



**INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ**

**MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA**

**RELAÇÃO ENTRE A PREVALÊNCIA DA ESTOMATITE AFTOSA  
RECORRENTE E O RISCO DE CÁRIE DENTÁRIA NUMA  
POPULAÇÃO INFANTOJUVENIL**

Trabalho submetido por  
**Cátia Sofia dos Santos Capelas**  
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

**outubro de 2020**





**INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ**

**MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA**

**RELAÇÃO ENTRE A PREVALÊNCIA DA ESTOMATITE AFTOSA  
RECORRENTE E O RISCO DE CÁRIE DENTÁRIA NUMA  
POPULAÇÃO INFANTOJUVENIL**

Trabalho submetido por  
**Cátia Sofia dos Santos Capelas**  
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por  
**Prof. Doutora Armanda Maria Subtil Amorim Rodrigues de Abreu**

e coorientado por  
**Prof. Doutor José Francisco Fernandes da Cruz Grillo Evangelista**  
**Mestre Teresa Maria Silva do Nascimento**

**outubro de 2020**



*“Muitos dizem que sou apenas mais um a tentar.*

*Eu digo que sou menos um a desistir.”*

Diego Marchi

Dedico este trabalho aos pilares da minha vida,

Aos meus pais, irmãos e avós.



## AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Prof. Doutora Armada Amorim, pela disponibilidade e dedicação desde o primeiro momento, pela confiança, paciência e profissionalismo. Com certeza, um exemplo a seguir.

À minha coorientadora, Mestre Teresa Nascimento, pelo tempo dedicado ao projeto, boa disposição e transmissão de conhecimentos. Sem dúvida, uma ajuda imprescindível na componente laboratorial.

Ao meu coorientador, Prof. Doutor José Grillo, pela ajuda e disponibilidade nos primeiros passos do projeto.

Ao Prof. Doutor Luís Proença, pela ajuda no tratamento de dados estatísticos.

Aos meus pais, que desde cedo me incutiram que devo lutar pelos meus sonhos, que cada pedra no caminho é uma oportunidade para crescer e ser melhor. Por terem feito sempre os possíveis e os impossíveis para me ajudarem a caminhar.

Aos meus irmãos, Rafael e Frederico, por estarem sempre ao meu lado, e me apoiarem incondicionalmente. Sem eles, a vida não teria o mesmo sabor.

Aos meus avós, por serem um abraço casa e pelo carinho.

À Laura, a melhor companheira desta aventura, juntas desde o primeiro dia. À Tatiana, por se ter juntado à box, numa altura em que reinava a dúvida e a incerteza. Ao Miguel, pela amizade e por nunca me deixar desistir. Ao Guilherme, pelo apoio e motivação.

À minha melhor amiga, Maria, por estar sempre disponível para me ouvir e por todos os bons momentos. À Teresa e à Amadina, que mesmo longe estão sempre perto. A todos os meus amigos, por todos os conselhos e divertimento ao longo dos anos.

A todos os voluntários do projeto, por vencerem o medo e me ajudarem.

Às técnicas do laboratório e auxiliares de farmácia da clínica, pela simpatia e auxílio precioso.

Ao Instituto Universitário Egas Moniz, pela possibilidade de concretização dos meus objetivos e a todos os que, de alguma forma, fizeram a diferença no meu percurso.





## RESUMO

**Objetivos:** A Estomatite Aftosa Recorrente é uma doença da cavidade oral de etiologia desconhecida. Contudo, foi sugerida como possível causa a suscetibilidade à atividade de determinados micro-organismos presentes na cavidade oral, entre os quais se destacam *Streptococcus sanguinis*. Dado um possível antagonismo com *Streptococcus mutans*, procurou-se estabelecer uma relação entre esta doença e o risco de Cárie Dentária.

**Materiais e Métodos:** Amostra de 30 participantes, entre os 6 e os 18 anos, dividida em 2 grupos, um grupo controlo e outro com Estomatite Aftosa Recorrente. Aplicou-se um questionário de recolha de história clínica, a ambos os grupos, e avaliou-se a Estomatite Aftosa Recorrente do grupo com a doença. De seguida, registaram-se índices para determinação do risco de Cárie Dentária. Complementou-se com recolha salivar para análise fenotípica e bioquímica das espécies bacterianas. A análise estatística descritiva e analítica foi efetuada com recurso ao programa SPSS.

**Resultados:** Obtiveram-se resultados estatisticamente significativos da existência de uma relação entre a prevalência da Estomatite Aftosa Recorrente e o risco de Cárie Dentária numa população infantojuvenil ( $p=0.022$ ). As contagens microbianas demonstraram um possível antagonismo bioquímico entre as espécies, com contagens elevadas para *Streptococcus sanguinis* e contagens baixas para *Streptococcus mutans*, o que levou a ponderar a existência da razão “*Streptococcus mutans*/ *Streptococcus sanguinis*”, que serve de indicador do risco de cárie. Contudo, as contagens foram semelhantes para ambos os grupos.

**Conclusões:** Os resultados permitem inferir que a Estomatite Aftosa Recorrente pode acarretar risco de Cárie Dentária. Sendo a Estomatite Aftosa Recorrente uma doença com impacto psicossocial e na qualidade de vida de crianças e adolescentes, a determinação da sua etiologia é fundamental, especialmente após a descoberta de uma associação com a Cárie Dentária. Quanto aos micro-organismos, a sua influência na relação entre as duas doenças permanece desconhecida.

**Palavras-Chave:** Estomatite Aftosa Recorrente, Cárie Dentária, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus mutans*



## ABSTRACT

**Objectives:** Recurrent Aphthous Stomatitis is a disease of the oral cavity of unknown etiology. Nevertheless, it was suggested as possible cause the susceptibility to the activity of certain microorganisms in the oral cavity, among which stand out *Streptococcus sanguinis*. Given possible antagonism with *Streptococcus mutans*, an attempt was made to establish an association between this disease and the risk of Dental Caries.

**Materials and Methods:** A sample of 30 study participants, aged between 6 and 18 years old, were divided into 2 groups, a control group and another with Recurrent Aphthous Stomatitis. It was applied a questionnaire in order to get informations about clinical history, to both groups, and evaluate Recurrent Aphthous Stomatitis of the disease group. Then, indices were recorded to determinate Dental Caries risk. This was complemented with saliva collection, for phenotypic and biochemical analysis of the species. A descriptive and analytical statistical analysis was performed using the SPSS program.

**Results:** Statistically significant results were obtained from the existence of a relation between the prevalence of Recurrent Aphthous Stomatitis and the risk of Dental Caries in a juvenile population ( $p=0.022$ ). Microbial counts demonstrated a possible biochemical antagonism between species, with high counts of *Streptococcus sanguinis* and low counts of *Streptococcus mutans*, which led to ponder the existence of a ratio “*Streptococcus mutans*/*Streptococcus sanguinis*”, as an indicator for caries risk. Despite this, the counts were similar for both groups.

**Conclusions:** The results allow to deduce that Recurrent Aphthous Stomatitis may carry risk of Dental Caries. Since Recurrent Aphthous Stomatitis is a disease with psychosocial impact and quality of life of children and adolescents, determining its etiology is essential, especially after the discovering of an association with Dental Caries. As for the microorganisms, their influence on the association between the two disease remains unknown.

**Keywords:** Recurrent Aphthous Stomatitis, Dental Caries, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus mutans*



## ÍNDICE GERAL

|       |                                                       |    |
|-------|-------------------------------------------------------|----|
| I.    | INTRODUÇÃO .....                                      | 17 |
| 1.    | SAÚDE ORAL INFANTIL .....                             | 17 |
| 2.    | ESTOMATITE AFTOSA RECORRENTE .....                    | 17 |
| 2.1   | Diagnóstico .....                                     | 18 |
| 2.2   | Classificação .....                                   | 21 |
| 2.3   | Epidemiologia .....                                   | 23 |
| 2.4   | Fatores precipitantes e predisponentes .....          | 23 |
| 2.5   | Tratamento .....                                      | 26 |
| 3.    | MICROBIOMA ORAL .....                                 | 29 |
| 3.1   | Microbioma saudável <i>versus</i> patológico .....    | 29 |
| 3.2   | Microbioma na Estomatite Aftosa Recorrente .....      | 32 |
| 3.3   | Antagonismo microbiano .....                          | 35 |
| II.   | OBJETIVOS .....                                       | 39 |
| III.  | HIPÓTESES .....                                       | 39 |
| IV.   | MATERIAIS E MÉTODOS .....                             | 41 |
| 1.    | SELEÇÃO DA AMOSTRA .....                              | 41 |
| 1.1   | Critérios de inclusão .....                           | 41 |
| 1.2   | Critérios de exclusão .....                           | 42 |
| 2.    | LOCAL DO ESTUDO .....                                 | 43 |
| 3.    | MATERIAIS .....                                       | 43 |
| 4.    | RECOLHA DE DADOS .....                                | 45 |
| 4.1   | Consentimento informado .....                         | 45 |
| 4.2   | Questionário de recolha de história clínica .....     | 45 |
| 4.3   | Observação clínica .....                              | 46 |
| 4.3.1 | Protocolo CAMBRA® .....                               | 46 |
| 4.3.2 | Índice de dentes cariados, perdidos e obturados ..... | 48 |

|                                                                                                       |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.3.3 Índices de placa e gengival.....                                                                | 49 |
| 4.3.4 Recolha de saliva.....                                                                          | 49 |
| 4.4 Análise laboratorial.....                                                                         | 50 |
| 4.4.1 Culturas bacterianas .....                                                                      | 50 |
| 4.4.2 Identificação bioquímica .....                                                                  | 53 |
| 5. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS.....                                                                          | 54 |
| 6. BASE DE DADOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA.....                                                           | 54 |
| V. RESULTADOS .....                                                                                   | 55 |
| 1. Caracterização da amostra.....                                                                     | 55 |
| 1.1 Grupo sem EAR (controlo) e Grupo com EAR (de estudo) .....                                        | 55 |
| 1.2 Idade.....                                                                                        | 55 |
| 1.3 Género.....                                                                                       | 56 |
| 1.4 Dentição .....                                                                                    | 56 |
| 1.5 Higiene Oral – Frequência de escovagem diária .....                                               | 57 |
| 1.6 Alimentação – Frequência de Ingestão de Hidratos de Carbono (sob a forma de <i>snacks</i> ) ..... | 57 |
| 1.7 Índice de Placa .....                                                                             | 58 |
| 1.8 Índice Gengival.....                                                                              | 58 |
| 1.9 Índice CPO.....                                                                                   | 58 |
| 1.10 Índice cpo.....                                                                                  | 59 |
| 1.11 Taxa de Fluxo Salivar Estimulado .....                                                           | 59 |
| 1.12 Taxa de Fluxo Salivar Não Estimulado .....                                                       | 60 |
| 1.13 Risco de Cárie .....                                                                             | 60 |
| 1.14 <i>Streptococcus mutans</i> .....                                                                | 61 |
| 1.15 <i>Streptococcus sanguinis</i> .....                                                             | 61 |
| 1.16 <i>Lactobacillus</i> .....                                                                       | 62 |
| 1.17 Outras espécies .....                                                                            | 62 |

|       |                                                     |    |
|-------|-----------------------------------------------------|----|
| 2.    | Caracterização da EAR .....                         | 63 |
| 2.1   | Frequência de aparecimento das lesões aftosas ..... | 63 |
| 2.2   | Número de lesões por crise aftosa .....             | 63 |
| 2.3   | Localização .....                                   | 64 |
| 2.4   | Tempo de cicatrização .....                         | 64 |
| 2.5   | Escala de dor .....                                 | 65 |
| 2.6   | Lesões precipitadas por trauma.....                 | 65 |
| 2.7   | Lesões precipitadas por stress .....                | 66 |
| 2.8   | Impacto na higiene oral.....                        | 66 |
| 2.9   | Impacto nos hábitos alimentares .....               | 67 |
| 2.10  | Influência Genética .....                           | 67 |
| 2.11  | Tratamento médico .....                             | 68 |
| 2.12  | Comunicação do problema ao Médico Dentista .....    | 68 |
| 3.    | Associação entre variáveis .....                    | 69 |
| 3.1   | EAR e Género .....                                  | 69 |
| 3.2   | EAR e Risco de Cárie Dentária .....                 | 69 |
| 3.3   | EAR e IP .....                                      | 69 |
| 3.4   | EAR e IG .....                                      | 70 |
| 3.5   | EAR e CPO .....                                     | 70 |
| 3.6   | EAR e cpo .....                                     | 70 |
| 3.7   | CPO e <i>Streptococcus mutans</i> .....             | 71 |
| 3.8   | CPO e <i>Lactobacillus</i> .....                    | 71 |
| VI.   | DISCUSSÃO .....                                     | 73 |
| VII.  | CONCLUSÃO.....                                      | 85 |
| VIII. | BIBLIOGRAFIA .....                                  | 87 |
| IX.   | ANEXOS .....                                        | 95 |





## ÍNDICE DE FIGURAS

|                                                                                                                                     |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1</b> - Lesões aftosas na mucosa .....                                                                                    | 20 |
| <b>Figura 2</b> - Lesão aftosa na língua .....                                                                                      | 20 |
| <b>Figura 3</b> - Lesões aftosas nos lábios .....                                                                                   | 20 |
| <b>Figura 4</b> - Equipamento de proteção individual .....                                                                          | 44 |
| <b>Figura 5</b> - Material de desinfecção .....                                                                                     | 45 |
| <b>Figura 6</b> - Kit básico e material para testes de fluxo salivar .....                                                          | 48 |
| <b>Figura 7</b> - Meio MSA com crescimento de UFC de <i>Streptococcus sanguinis</i> e outras espécies de <i>Streptococcus</i> ..... | 51 |
| <b>Figura 8</b> - Meio MSB com crescimento de UFC de <i>Streptococcus mutans</i> .....                                              | 52 |
| <b>Figura 9</b> - Meio Rogosa Agar com crescimento de UFC de <i>Lactobacillus</i> .....                                             | 52 |
| <b>Figura 10</b> - Galeria Api 20 Strep após inoculação de UFC .....                                                                | 53 |



## ÍNDICE DE TABELAS

|                                                                            |    |
|----------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela 1</b> - Materiais necessários.....                               | 44 |
| <b>Tabela 2</b> - Caracterização segundo a idade.....                      | 55 |
| <b>Tabela 3</b> - Caracterização segundo o índice de placa .....           | 58 |
| <b>Tabela 4</b> – Caracterização segundo o índice gengival.....            | 58 |
| <b>Tabela 5</b> – Caracterização segundo o índice CPO.....                 | 58 |
| <b>Tabela 6</b> - Caracterização segundo o índice cpo .....                | 59 |
| <b>Tabela 7</b> - Relação entre a EAR e o Género .....                     | 69 |
| <b>Tabela 8</b> - Relação entre a EAR e o Risco de Cárie Dentária .....    | 69 |
| <b>Tabela 9</b> - Relação entre a EAR e o IP .....                         | 69 |
| <b>Tabela 10</b> - Relação entre a EAR e o IG .....                        | 70 |
| <b>Tabela 11</b> - Relação entre a EAR e o CPO.....                        | 70 |
| <b>Tabela 12</b> - Relação entre a EAR e o cpo .....                       | 70 |
| <b>Tabela 13</b> - Relação entre o CPO e <i>Streptococcus mutans</i> ..... | 71 |
| <b>Tabela 14</b> - Relação entre o CPO e <i>Lactobacillus</i> .....        | 71 |



## ÍNDICE DE GRÁFICOS

|                                                                                             |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Gráfico 1</b> - Distribuição da amostra nos dois grupos .....                            | 55 |
| <b>Gráfico 2</b> - Caracterização segundo a idade .....                                     | 55 |
| <b>Gráfico 3</b> - Caracterização segundo o género .....                                    | 56 |
| <b>Gráfico 4</b> - Caracterização segundo a dentição .....                                  | 56 |
| <b>Gráfico 5</b> - Caracterização segundo a frequência de escovagem diária .....            | 57 |
| <b>Gráfico 6</b> - Caracterização segundo a frequência de ingestão de hidratos de carbono.. | 57 |
| <b>Gráfico 7</b> - Caracterização segundo a taxa de fluxo salivar estimulado .....          | 59 |
| <b>Gráfico 8</b> - Caracterização segundo a taxa de fluxo salivar não estimulado .....      | 60 |
| <b>Gráfico 9</b> - Caracterização segundo o risco de cárie .....                            | 60 |
| <b>Gráfico 10</b> - Caracterização quanto às UFC de <i>Streptococcus mutans</i> .....       | 61 |
| <b>Gráfico 11</b> - Caracterização quanto às UFC de <i>Streptococcus sanguinis</i> .....    | 61 |
| <b>Gráfico 12</b> - Caracterização quanto às UFC de <i>Lactobacillus</i> .....              | 62 |
| <b>Gráfico 13</b> - Caracterização quanto às UFC de outras espécies .....                   | 62 |
| <b>Gráfico 14</b> - Frequência de aparecimento das lesões aftosas .....                     | 63 |
| <b>Gráfico 15</b> - Número de lesões por crise aftosa.....                                  | 63 |
| <b>Gráfico 16</b> - Localização das lesões aftosas .....                                    | 64 |
| <b>Gráfico 17</b> - Tempo de cicatrização das lesões aftosas .....                          | 64 |
| <b>Gráfico 18</b> - Escala de dor das lesões aftosas .....                                  | 65 |
| <b>Gráfico 19</b> - Lesões aftosas precipitadas por trauma.....                             | 65 |
| <b>Gráfico 20</b> - Lesões aftosas precipitadas por stress .....                            | 66 |
| <b>Gráfico 21</b> - Impacto das lesões aftosas na higiene oral.....                         | 66 |
| <b>Gráfico 22</b> - Impacto das lesões aftosas nos hábitos alimentares .....                | 67 |
| <b>Gráfico 23</b> - Influência genética na prevalência de EAR .....                         | 67 |
| <b>Gráfico 24</b> - Tratamento médico numa crise aftosa.....                                | 68 |
| <b>Gráfico 25</b> - Comunicação do problema ao Médico Dentista .....                        | 68 |



## LISTA DE SIGLAS

OMS – Organização Mundial de Saúde

EAR – Estomatite Aftosa Recorrente

HSV – *Herpes Simplex Virus*

VZV – *Varicella-zoster Virus*

HIV – *Human Immunodeficiency Virus*

MAGIC - *Mouth and genital ulcers with inflamed cartilage*

PFAPA - *Periodic Fever, Aphthous stomatitis, Pharyngitis, Adenitis*

CD4+ - *Cluster of differentiation 4*

CD8+ - *Cluster of differentiation 8*

mRNA - *Messenger ribonucleic acid*

TNF- $\alpha$  – *Tumor necrosis factor alfa*

CAMBRA - *Caries Management by Risk Assessment*

ADA - *American Dental Association*

AAPD - *American Academy of Pediatric Dentistry*

CDA - *California Dental Association*

FDI – Ficha Dentária Internacional

CPO – Dentes cariados, perdidos e obturados

cpo – Dentes cariados, perdidos e obturados decíduos

IP – Índice de Placa

IG – Índice Gengival

SARS Cov-2 - *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*

TFSE – Taxa de fluxo salivar estimulado

TFSNE – Taxa de fluxo salivar não estimulado

SPSS - *Statistical Package for the Social Sciences*

UFC – Unidades formadoras de colónias

ADE – Água desionizada estéril

MSA – Mitis Salivarius Agar

MSB – Mitis Salivarius Bacitracina Agar

CRT – *Caries Risk Test*



## **I. INTRODUÇÃO**

### **1. SAÚDE ORAL INFANTIL**

A Organização Mundial de Saúde (OMS) (1948), definiu saúde como “estado de completo bem-estar físico, mental e social, e não apenas a ausência de doença ou enfermidade.”. A Saúde Oral não pode ser dissociada da saúde em geral, sendo fundamental para a qualidade de vida (Piovesan, Batista, Ferreira, & Ardenghi, 2009).

Apesar desta contextualização da saúde oral, enquanto contributo válido para um bem-estar de saúde geral, ainda são poucos os estudos a serem desenvolvidos, no sentido de confirmar o impacto que diversas patologias dentárias possam ter na auto-percepção e na qualidade de vida de crianças e adolescentes, relacionando as mesmas com o seu estilo de vida e o seu ambiente social. No entanto, os dados existentes indicam que os problemas de saúde oral têm vindo, gradualmente, a ser reconhecidos como importantes fatores de impacto negativo na performance diária e qualidade de vida, com influência no crescimento, fala, mastigação, no saborear dos alimentos, no aproveitar da vida e na socialização dos indivíduos (Piovesan et al., 2009).

Segundo um relatório da OMS (2003), as doenças orais desencadeiam dor, sofrimento, inibição psicológica e social, levando a perda de identidade individual e social. Ainda assim, continuam a ser escassos os estudos que enfatizem os seus efeitos a nível funcional, social e emocional nas crianças (Piovesan et al., 2009).

### **2. ESTOMATITE AFTOSA RECORRENTE**

A ulceração é um sinal que surge comumente num vasto espectro de doenças da cavidade oral, envolvendo diferentes fatores etiológicos. A maioria das lesões ulcerativas da cavidade oral são de uma destas 4 categorias: infeções, relacionadas com a imunidade, traumáticas ou neoplásicas (Fitzpatrick, Cohen, & Clark, 2019).

A maioria das lesões ulcerativas imunomediadas são caracterizadas por reincidência, persistência e recorrência frequente. É importante identificar possíveis gatilhos, como

medicação ou sintomas adversos que possam indicar uma doença sistémica associada (Fitzpatrick et al., 2019).

A Estomatite Aftosa Recorrente (EAR) é uma doença da cavidade oral, sendo conhecida como a lesão mais comum da mucosa oral (Edgar, Saleh, & Miller, 2017; Tarakji, Gazal, Al-Maweri, Azzeghaiby, & Alaizari, 2015) e uma inflamação crónica que afeta primariamente a mucosa não queratinizada (Bankvall et al., 2014).

Em 2012, Krisdapong et al., efetuaram um estudo para avaliar a prevalência e as características dos impactos orais atribuídos à EAR, numa amostra de crianças tailandesas, com 12 e 15 anos, pois apesar da elevada incidência da EAR, até à data da investigação, não existiam estudos sobre a extensão e características dos seus impactos na qualidade de vida dos indivíduos. Concluíram que a EAR apresenta impactos na vida quotidiana das crianças, reportados em 85.2% das crianças com 12 anos e em 83.3% das de 15 anos. Destacaram-se a alimentação e a escovagem dentária, como as atividades mais afetadas, como também a manutenção da estabilidade emocional, sendo esta a doença com maior impacto, em comparação com outras patologias da cavidade oral (Krisdapong, Sheiham, & Tsakos, 2012).

A EAR caracteriza-se pela presença de múltiplas úlceras, que surgem recorrentemente, redondas ou ovais, com margens circunscritas, halos eritematosos e base amarelada ou acinzentada, com maior incidência em crianças e adolescentes (Jurge, Kuffer, Scully, & Porter, 2006), tendo tendência para diminuir a frequência e a severidade com o avançar da idade (Chavan et al., 2012; Cui, Bruce & Rogers, 2016).

## **2.1 Diagnóstico**

O diagnóstico da EAR é baseado, fundamentalmente, nas queixas do doente, observação clínica das úlceras e numa precisa história clínica (Scully, Gorsky, & Lozada-Nur, 2003; Tarakji et al., 2015), uma vez que não existem exames laboratoriais específicos disponíveis, que auxiliem o diagnóstico (Scully et al., 2003). Quanto às queixas dos doentes, estes descrevem crises de ulceração recorrentes das superfícies móveis da mucosa oral. Cada uma das crises dura algumas semanas, com cicatrização das úlceras, muitas vezes acompanhada do aparecimento de novas úlceras. O estado de saúde

geral dos doentes é normalmente bom, apesar da ulceração oral (Porter, Scully, & Pedersen, 1998).

Na observação clínica devem efetuar-se exames extraoral, com palpação dos gânglios linfáticos cervicais, e intraoral, com inspeção e palpação das úlceras, caracterizando-as quanto à base (necrótica, purulenta granular, ou coberta por muco), consistência da base (mole, firme ou dura), fixação às estruturas subjacentes, bordos (regulares ou irregulares, e consistência do bordo), e aparência do tecido envolvente (esbranquiçado, salpicado, eritematoso ou normal). Além das características intrínsecas às úlceras, deve saber-se a década de vida em que surgiram, número, tamanho, forma, duração, cicatrização e local (queratinizado ou não queratinizado) (Tarakji et al., 2015).

É essencial ponderar possíveis causas sistémicas, nomeadamente em adultos (após os 30 anos) com aparecimento repentino de úlceras, sem justificação, com eventual semelhança a uma EAR, pois, ou existem já fatores de predisposição para a EAR bem definidos, que despoletam a doença, ou então a ulceração não se trata de EAR, sendo antes parte de uma perturbação mais complexa (Scully et al., 2003). Importa, assim, observar potenciais condições médicas, como ulceração genital, problemas dermatológicos, distúrbios gastrointestinais e histórico de toxicodependência. Realizar também análises sanguíneas para contagem total de células, hemoglobina, ferritina, eritrócitos, velocidade de sedimentação, proteína C-reativa, vitamina B12, ácido fólico, anticorpos anti-gliadina e antiendomísio (Tarakji et al., 2015).

Um diagnóstico de EAR não pode ser efetuado, sem que antes tenham sido consideradas e descartadas outras patologias, ou seja, é um diagnóstico de exclusão (Edgar et al., 2017). Para tal, pode recorrer-se a biópsia, sendo que o resultado histológico para EAR indica ulceração não específica (Fitzpatrick et al., 2019). É, por isso, relevante estabelecer um diagnóstico diferencial das lesões ulceradas de EAR, de outras possíveis patologias, como infeções de *Herpes Simplex Virus* (HSV), *Varicella-zoster Virus* (VZV), a herpangina e a síndrome mãos-pés-boca. Lesões de eritema multiforme, líquen plano, lesões vesículo-bolhosas, como o pênfigo vulgar e o penfigoide, devem também ser excluídas para se poder considerar a EAR (Queiroz et al., 2018; Tarakji et al., 2015).

As lesões estão limitadas à mucosa oral, e como características prodrômicas temos a sensação de queimadura, que dura entre 2 a 48 horas antes da ulceração, desenvolvendo-

se na região um eritema (Akintoye & Greenberg, 2014), por infiltração de células mononucleares (linfocíticas) no epitélio. Esta fase pré-ulcerativa é seguida de um aumento da dor e do desenvolvimento de um edema papular local, pela vacuolização dos queratinócitos, rodeados por halos eritematosos, representando uma vasculite com um infiltrado de células mononucleares denso. As pápulas originam úlceras e uma membrana fibrosa, que contém sobretudo neutrófilos, linfócitos e células plasmáticas, cobre a úlcera. A recuperação dá-se por regeneração epitelial (Jurge et al., 2006; Scully et al., 2003). Surgem tipicamente em pessoas saudáveis, com localização preferencial pelas mucosas labial e bucal, e língua (Figuras 1, 2 e 3), raramente na mucosa queratinizada do palato e da gengiva (Akintoye & Greenberg, 2014).



**Figura 1** - Lesões aftosas na mucosa



**Figura 2** - Lesão aftosa na língua



**Figura 3** - Lesões aftosas nos lábios

## 2.2 Classificação

As úlceras podem ser classificadas segundo a sua severidade – leves (aftose simples) e severas (aftose complexa) (Cui et al., 2016) - ou a sua morfologia – minor, major e herpetiforme (Porter et al., 1998).

De acordo com a severidade, podemos ter:

### *Aftose Simples*

Afeta, de modo geral, pessoas saudáveis e é o tipo de lesões que afeta a maioria dos doentes com EAR. Caracterizada por úlceras em pequeno número, surgindo 3 a 6 vezes por ano, com resolução no espaço de tempo de 1 a 2 semanas (Cui et al., 2016; Rogers, 1997). O prognóstico é excelente, com poucos episódios e diminuição da severidade dos mesmos ao longo do tempo, com possível remissão para uma atividade mínima (Cui et al., 2016).

### *Aftose Complexa*

Úlceras numerosas, de grande diâmetro ou profundas, com dor pronunciada, e, por vezes, associadas a lesões genitais e perianais. Representam um quadro clínico severo, que possivelmente acompanha alterações sistêmicas, com ulceração contínua, por aparecimento de novas úlceras, logo após remissão das mais antigas (Rogers, 1997). Neste sentido, deve proceder-se à identificação de condições sistêmicas passíveis de sofrer terapêutica adequada, que resultarão na eventual redução da severidade e intensidade das lesões de EAR (Cui et al., 2016).

De acordo com a morfologia, podemos ter:

### *Estomatite Aftosa Recorrente Minor*

A forma mais comum são as úlceras minor, também denominadas de aftas de Mikulicz's, ou úlceras aftosas leves, afetando entre 75 e 85% dos doentes com EAR (Rogers, 1997; Scully et al., 2003). As úlceras são redondas ou ovais, geralmente com dimensão inferior a 10mm, com uma pseudomembrana acinzentada e um halo eritematoso. Surgem na mucosa oral não queratinizada, mais comumente nos lábios, no pavimento da boca e no ventre ou superfície lateral da língua, e raramente na gengiva,

palato ou dorso da língua. São autolimitadas e curam entre 10 a 14 dias, sem deixar cicatriz (Chavan et al., 2012; Jurge et al., 2006; Queiroz et al., 2018; Scully et al., 2003). As lesões podem recorrer frequentemente, no entanto a maioria dos doentes tem cerca de 2 a 4 episódios por ano, após períodos de remissão (Rogers, 1997).

#### *Estomatite Aftosa Recorrente Major*

As úlceras aftosas major representam uma forma mais severa de EAR (Jurge et al., 2006). Constituem cerca de 10 a 15% dos casos de EAR, conhecidas também por úlceras de Sutton's ou periadenite mucosa necrótica recorrente (Rogers, 1997; Scully et al., 2003). Estas lesões são semelhantes às úlceras minor, no entanto têm um diâmetro superior a 10mm, são mais profundas, podem deixar cicatriz e permanecem ativas desde semanas a meses. Surgem especialmente nos lábios, língua, palato mole e nas fauces palatinas, desencadeando dor e disfagia significativas (Queiroz et al., 2018; Tarakji et al., 2015). São frequentemente encontradas em doentes com *Human Immunodeficiency Virus* (HIV) (Tarakji et al., 2015). Este tipo de EAR despoleta após a puberdade e é crónica, persistindo por 20 anos ou mais após a primeira ocorrência (Chavan et al., 2012).

#### *Estomatite Aftosa Recorrente Herpetiforme*

É o tipo mais raro de EAR, surgindo em cerca de 5 a 10% dos casos. Não está relacionado com a infeção pelo HSV, apesar de se confundir devido ao termo herpetiforme, que se refere à morfologia agrupada das lesões. As lesões são numerosas, entre 5 a 100, redondas, evoluindo de uma pequena pápula de 1 a 2mm para uma pápulo-vesícula e, por fim, para uma úlcera. Tendem a fundir-se e a evoluir para úlceras maiores, que duram 10 a 14 dias (Queiroz et al., 2018; Rogers, 1997; Tarakji et al., 2015). Surgem caracteristicamente nas superfícies ventral e lateral da língua e no pavimento da boca, apesar de poderem surgir em qualquer zona da mucosa oral não queratinizada (Tarakji et al., 2015). Tem maior predisposição para mulheres e surge em idades mais avançadas, comparativamente aos outros tipos de EAR (Chavan et al., 2012).

Segundo Edgar et al., (2017), apesar das diferentes características que a doença possa apresentar, todas as formas de EAR têm um impacto significativo na qualidade de vida e interferem com as atividades quotidianas, comprometendo a fala, a deglutição e a manutenção da higiene oral.

## 2.3 Epidemiologia

Em termos epidemiológicos, a prevalência de EAR varia de acordo com a população estudada, entre 5 a 60%, dependendo da etnia e classe socioeconômica (Cui et al., 2016; Jurge et al., 2006), sendo estimado que cerca de 20% da população geral sofra da patologia (Akintoye & Greenberg, 2014), com 80% dos casos a surgir antes dos 30 anos (Scully et al., 2003). Algumas populações, como estudantes de Enfermagem, Medicina e de Medicina Dentária, apresentam uma das prevalências mais elevadas. No geral, afeta mais as mulheres, os jovens e classes socioeconômicas elevadas (Cui et al., 2016).

## 2.4 Fatores precipitantes e predisponentes

Para além do critério da população estudada, os critérios de diagnóstico aplicados e os fatores ambientais são também relevantes na variação da prevalência. Nas crianças a prevalência de EAR ronda os 39% e é influenciada pela hereditariedade, ou seja, pela presença de EAR num ou em ambos os progenitores (Akintoye & Greenberg, 2014; Chavan et al., 2012).

Fatores traumáticos, sistémicos, imunológicos, psicológicos, nutricionais, alergénios, genéticos e microbianos, são frequentemente considerados como precipitantes para o primeiro episódio de EAR (Akintoye & Greenberg, 2014; Chavan et al., 2012; Fitzpatrick et al., 2019; Tarakji et al., 2015), com picos de recorrência entre os 10 e os 19 anos (Chavan et al., 2012).

### 2.4.1 Fatores traumáticos

O trauma pode despoletar EAR em indivíduos com predisposição genética para a doença, induzindo edema e inflamação associados a um aumento da viscosidade da matriz extracelular da mucosa oral. Alterações na composição salivar, que afetem as propriedades locais da saliva, como o pH, ou um aumento do cortisol salivar induzido pelo stress podem estar relacionadas com a EAR (Akintoye & Greenberg, 2014; Chavan et al., 2012). Pacientes com EAR também reportam úlceras orais em locais de trauma, particularmente por escovagem, tratamentos dentários e anestésias locais (Tarakji et al., 2015).

#### 2.4.2 Fatores sistêmicos

Doenças sistêmicas severas associadas a ulceração oral, distinta da EAR, são a síndrome de Behcet's, síndrome *Mouth and genital ulcers with inflamed cartilage* (MAGIC), síndrome Sweet's, síndrome *Periodic Fever, Aphthous stomatitis, Pharyngitis, Adenitis* (PFAPA), neutropenia cíclica, HIV, doença celíaca e doença de Crohn (Akintoye & Greenberg, 2014; Chavan et al., 2012; Edgar et al., 2017; Fitzpatrick et al., 2019).

#### 2.4.3 Fatores imunológicos

Foi demonstrado que existe associação entre a severidade da EAR e proporções anormais de *cluster of differentiation 4* (CD4+) e *cluster of differentiation 8* (CD8+), alterações do rácio CD4+/CD8+, e níveis elevados de interleucina 2, interferão gama e *messenger ribonucleic acid* (mRNA) *tumor necrosis factor alfa* (TNF- $\alpha$ ) em lesões de EAR (Akintoye & Greenberg, 2014; Chavan et al., 2012).

#### 2.4.4 Fatores psicológicos

O stress pode propiciar o aparecimento de novas lesões de EAR em indivíduos suscetíveis. Um estudo reportou que o stress psicológico está mais fortemente relacionado com episódios de EAR, do que o stress físico, tendo mais influência no aparecimento das lesões do que na sua duração (Huling, Baccaglini, Choquette, Feinn, & Lalla, 2012). O stress académico pode funcionar como precipitante para a elevada prevalência de EAR em estudantes. Os profissionais de saúde oral devem, deste modo, questionar os doentes, se o stress psicossocial, físico ou ambiental tem influência nos seus episódios (Akintoye & Greenberg, 2014).

#### 2.4.5 Fatores nutricionais

Cerca de 5 a 10% dos doentes com EAR apresentam deficiências nutricionais em ferro, folato, zinco ou vitaminas B1, B2, B6 ou B12 (Akintoye & Greenberg, 2014; Chavan et al., 2012; Gomes, Gomez, Zina, & Amaral, 2016).



#### 2.4.6 Fatores alergénios

Não existe uma grande evidência de que alergias, ou hipersensibilidade, possam ser fatores major para a EAR, mas suspeita-se que alguns alimentos, micro-organismos orais, como *Streptococcus sanguinis*, e proteínas de choque térmico microbiano possam ter influência (Akintoye & Greenberg, 2014). Alergias a alimentos como chocolate, café, amendoins, cereais, amêndoas, morangos, queijo, tomate e farinha de trigo (contém glúten), podem estar presentes (Chavan et al., 2012; Scully et al., 2003; Tarakji et al., 2015).

Também o efeito desnaturante do laurilsulfato de sódio, habitualmente encontrado nas pastas de dentes, por erosão da camada de mucinas, que expõe o epitélio oral, foi avaliado. Apesar das pastas sem laurilsulfato de sódio não reduzirem o número de úlceras e episódios, tornaram o processo de cicatrização mais rápido, reduziram a dor e aumentaram a qualidade de vida do doente (Akintoye & Greenberg, 2014; Edgar et al., 2017; Shim, Choi, Ahn, & Kwon, 2012).

#### 2.4.7 Fatores genéticos

Crianças cujos pais tenham EAR têm 90% de probabilidade de desenvolver a patologia, comparativamente com os 20% de probabilidade de crianças sem familiares afetados pela doença (Chavan et al., 2012; Scully et al., 2003), sendo mencionada história familiar de doença em 24 a 46% de todos os casos (Tarakji et al., 2015). É de acrescentar, que as úlceras tendem a surgir numa idade mais precoce e com maior severidade e recorrência nas crianças com hereditariedade associada (Akintoye & Greenberg, 2014; Scully et al., 2003). A componente genética estabelece uma suscetibilidade para a doença, porém requer a interação de fatores ambientais, para que haja expressão clínica, podendo ser necessária a influência de um fator microbiano (Chavan et al., 2012).

#### 2.4.8 Fatores microbianos

Embora seja difícil indicar que o microbioma oral está implicado etiologicamente na EAR, devido à normal colonização da mucosa oral, acredita-se que bactérias, vírus e fungos possam ter um papel precipitante ou perpetuador da doença (Edgar et al., 2017).

O microbioma oral poderá explicar a razão pela qual, doentes com EAR, apenas sofrem de ulceração na mucosa oral (Jurge et al., 2006). A relação entre a EAR e desequilíbrios do microbioma da mucosa oral, é mais relevante que infeções despoletadas por micro-organismos específicos, de acordo com um estudo mais recente (Hijazi et al., 2015). Apesar destas evidências, vários estudos investigaram o possível envolvimento da espécie *Streptococcus* na etiologia da EAR, especialmente *Streptococcus sanguinis* 2A (Akintoye & Greenberg, 2014; Chavan et al., 2012; Jurge et al., 2006).

A bactéria *Helicobacter pylori*, um fator de risco comum para úlceras gástricas e duodenais, também já foi proposta para etiologia da EAR, embora não se possa confirmar a associação entre a presença desta bactéria com a EAR, pois localizou-se quer em mucosa ulcerada, quer não ulcerada (Akintoye & Greenberg, 2014; Chavan et al., 2012). Literatura mais recente, sugere que há maior probabilidade de *Helicobacter pylori* provocar uma infeção passageira, do que propriamente despoletar EAR (Edgar et al., 2017; Gomes et al., 2016). Também *Lactobacillus* foram estudados em pacientes com EAR, e não foram encontradas evidências de um papel etiológico (Akintoye & Greenberg, 2014; Chavan et al., 2012).

Há estudos que sugerem que a colonização por *E. coli* e *Alloprevotella* pode ser a causa de EAR, apesar de não ser uma sugestão conclusiva, pois encontrar uma associação não é o equivalente a encontrar a causa (Yang et al., 2020). Outros estudos indicam também a possibilidade de ocorrer ulceração oral por desequilíbrio entre as espécies *A. johnsonii* e *S. salivarius* (Kim et al., 2016).

## 2.5 Tratamento

O tratamento é sintomático, isto é, visa diminuir os sintomas associados, reduzir o número e tamanho das úlceras e aumentar o tempo entre as crises. Assim, o melhor tratamento é aquele que controla as úlceras durante um maior período de tempo, com o mínimo de efeitos adversos. A abordagem terapêutica deve ter em consideração a severidade da sintomatologia, a história médica do doente, a frequência das crises ulcerativas, e a capacidade do doente para tolerar a medicação. É importante tomar nota

dos fatores predisponentes e procurar eliminá-los, antes da aplicação de qualquer terapêutica (Chavan et al., 2012; Scully et al., 2003)

A dificuldade de estabelecimento de uma etiologia específica para a EAR, leva a que seja difícil encontrar um tratamento eficaz para a doença (Yang et al., 2020). Uma outra classificação que se pode utilizar, está de acordo com a apresentação clínica das lesões, para auxiliar na escolha da melhor estratégia terapêutica: Tipo A, Tipo B e Tipo C (Chavan et al., 2012; Scully et al., 2003).

#### *Tipo A*

Episódios de EAR pouco recorrentes, resumindo-se a alguns episódios num ano, com duração de apenas uns dias. A dor é tolerável e, perante esta situação, o clínico deve procurar saber a estratégia adotada pelo doente, para tratar a patologia. Se o tratamento efetuado pelo doente for efetivo e seguro, o clínico deve incentivá-lo a prosseguir com o mesmo. Se for identificado um fator precipitante, procede-se à sua eliminação, como por exemplo, no caso de trauma associado à escovagem, no qual se troca para uma escova de cerdas suaves e escovagem mais suave. A medicação pode não estar recomendada nestes casos (Chavan et al., 2012; Scully et al., 2003).

#### *Tipo B*

Episódios de EAR recorrentes mensalmente, com duração entre 3 e 10 dias. Devido à sintomatologia dolorosa, o doente tende a alterar os seus hábitos alimentares e de higiene oral. Se for identificado um fator precipitante dos episódios, é necessário discutir com o paciente alternativas, para a sua eliminação, ou medicação. Exemplos de fatores precipitantes são a higiene oral, o stress, trauma ou a dieta. Geralmente, na presença de úlceras, o tratamento é efetuado com bochechos de clorhexidina (sem álcool), e corticosteroides tópicos a curto-prazo. Devido à recorrência, deve elaborar-se um protocolo terapêutico para estes doentes (Chavan et al., 2012; Scully et al., 2003).

É essencial conseguir identificar sintomas prodrômicos, como parestesia e edema, para que se possam administrar corticosteroides, caso estejam indicados para o paciente em questão, de forma a evitar o desenvolvimento de um episódio. Se forem administrados corticosteroides, os pacientes devem ser acompanhados para o caso de eventual surgimento de infeção fúngica (Chavan et al., 2012; Scully et al., 2003).

### *Tipo C*

EAR na qual temos ulceração dolorosa contínua crónica, com úlceras a cicatrizar simultaneamente ao aparecimento de novas úlceras (Chavan et al., 2012; Scully et al., 2003).

O tratamento destes casos tem de ser efetuado por um especialista em patologia oral, que receitará potentes corticosteroides tópicos, corticosteroides sistémicos ou imunossupressores. Os corticosteroides tópicos, quando utilizados durante um curto período de tempo, são seguros e devem ser utilizados como tratamento de primeira linha para a EAR (Fitzpatrick et al., 2019; Scully et al., 2003). O especialista em patologia oral pode ainda administrar injeções de corticosteroides, como a betametasona, dexametasona ou triamcinolona, no interior das lesões, para potenciar a resposta local e diminuir a necessidade de corticosteroides sistémicos a longo prazo (Chavan et al., 2012; Scully et al., 2003).

Como se trata de uma doença de etiologia desconhecida, a nível de tratamentos, no geral, recorre-se a terapias de supressão de sintomas, que reduzem a severidade da ulceração, mas não diminuem a sua recorrência (Jurge et al., 2006; Scully et al., 2003). O alívio sintomático pode ser obtido com recurso a corticosteroides tópicos, acompanhados de agentes tópicos de imunomodulação ou com combinação de terapêuticas (Scully et al., 2003). Não existe evidência que suporte a maior eficácia de um agente farmacológico sobre outro, portanto um tratamento de sucesso requer normalmente a adoção de mais do que uma estratégia simultânea, adaptada às necessidades do doente (Montgomery-Cranny et al., 2015).

O tratamento em crianças deve começar pela sua educação, explicando a história natural da doença e o respetivo tratamento. Um registo diário das úlceras pode ser útil para o clínico e permite a participação ativa da criança durante o processo. Alguns fatores podem agravar a EAR, pelo que a sua identificação, ao anotá-los no diário, pode ser importante para a prevenção de futuras crises ulcerativas (Montgomery-Cranny et al., 2015).

### 3. MICROBIOMA ORAL

Os micro-organismos presentes na cavidade oral são conhecidos como microflora, microbiota ou microbioma oral. A mais recente designação, microbioma, foi adotada pelo Projeto de Microbioma Humano e por investigadores, que consideram impossível compreender na íntegra os conceitos de saúde e doença no ser humano, sem que haja a compreensão do conjunto ser humano/microbioma, ou seja, sem que se proceda à identificação e caracterização filogenética dos grupos taxonómicos orais mais prevalentes na espécie humana (Dewhirst et al., 2010).

O Projeto de Microbioma Humano, iniciado em 2008, teve como objetivo determinar o microbioma de 242 indivíduos saudáveis em 7 nichos da cavidade oral, na cavidade nasal, pele e tratos gastrointestinal e urogenital. Os resultados indicaram que a diversidade e a abundância de micro-organismos apresentam uma variação, que depende de diversos fatores, e a determinação da constituição do microbioma de cada região do organismo, permite melhorar a compreensão sobre o impacto que o mesmo possa ter na saúde humana (Krishnan, Chen, & Paster, 2017).

#### 3.1 Microbioma saudável *versus* patológico

A cavidade oral é a maior porta de entrada para o organismo humano, sendo que o microbioma que a compõe pode facilmente propagar-se pelas superfícies epiteliais adjacentes, e ser responsável pela evolução de doenças infecciosas orais, bem como sistémicas (Dewhirst et al., 2010). A disseminação de infeções pode dar-se sob a forma de bacteriemia ou toxinas bacterianas circulantes, que desencadeiam a circulação de citocinas pro-inflamatórias e um sistema imunitário enfraquecido, assim como reações cruzadas entre bactérias e autoantígenos (Gomez & Nelson, 2017).

Embora haja esta possibilidade de ocorrência de infeções sistémicas, o microbioma comensal, geralmente, coexiste em harmonia com o hospedeiro, o que contribui para o aumento dos estados de saúde e bem estar, pelo que apenas em casos de alterações no ambiente oral, comprometedoras das interações microbianas no interior das comunidades, modificando a relação microbioma/hospedeiro, é que se proporciona disbiose, com aumento do risco de doenças (Marsh & Zaura, 2017).

Desde a descoberta de biomarcadores, até serem uma fonte poderosa de alvos terapêuticos e apresentarem uma oportunidade para o desenvolvimento de abordagens não invasivas para os cuidados de saúde, tornou-se claro que os micro-organismos podem sustentar a resposta no que toca à compreensão das doenças, não só orais, como sistêmicas (Gomez & Nelson, 2017). É, assim, necessário definir previamente a flora característica de uma cavidade oral saudável, e depois então determinar o papel das bactérias orais no desenvolvimento do processo de doença (Aas, Paster, Stokes, Olsen, & Dewhirst, 2005; Corby et al., 2005).

Apesar de existir pouca evidência de uma associação entre doenças da cavidade oral e a saúde em geral nas crianças, alguns estudos têm providenciado dados importantes. Por exemplo, crianças com doença celíaca, a fazer dietas livres de glúten, apresentam um microbioma salivar menos diverso comparativamente com crianças sem esta patologia, e um aumento da concentração de grupos taxonómicos cariogénicos. Outra evidência constata-se em crianças com Doença de Crohn, em que ocorre algo semelhante, mas especificamente no microbioma da língua. Também é possível verificar o inverso, ou seja, ter um sistema imunitário enfraquecido, como nos casos de infeção por HIV, e consequentemente ter compromisso da saúde oral (Gomez & Nelson, 2017).

Existem perfis bacterianos emergentes que ajudam a definir uma cavidade oral saudável (Aas et al., 2005). Múltiplos micro-organismos colonizam a cavidade oral, e alguns deles encontram-se unicamente neste nicho, uma vez que desenvolveram uma especificidade para este meio, criando microambientes nas superfícies duras e lisas dos dentes e nas superfícies epiteliais das membranas mucosas (Lamont, Koo, & Hajishengallis, 2018).

Há que ter em conta que, para se passar de um perfil saudável a patológico, requer-se a ação de mais do que um único agente patogénico, pois o processo implica a interação de vários agentes entre si e o meio. Fundamentalmente, as doenças orais são desencadeadas por infeções oportunistas, e exigem condições especiais por parte do hospedeiro para prosperarem. As condições do meio oral são fortemente influenciadas pelo crescimento e o metabolismo das espécies colonizadoras primárias, que modificam o potencial redox local, o pH, a coagregação e a disponibilidade de nutrientes, o que possibilita a colonização por parte de mais micro-organismos (Krishnan et al., 2017).

Os géneros bacterianos predominantes numa cavidade oral saudável variam consoante o indivíduo, no entanto predominam 9 filos: Firmicutes, Proteobacteria, Bacteroidetes, Actinobacteria, Fusobacteria, TM7, Spirochaetes e Synergistes (Seoudi, Bergmeier, Drobniewski, Paster, & Fortune, 2015). A classe Bacilli do filo Firmicutes inclui o género *Streptococcus*, cujas espécies são as mais abundantes (Dewhirst et al., 2010). Os *Streptococcus* do grupo Mitis, que inclui *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus parasanguinis*, *Streptococcus oralis* e *Streptococcus mitis*, são considerados comensais da cavidade oral e colonizadores primários abundantes das superfícies dentárias, especialmente devido à expressão de numerosas adesinas (Lamont et al., 2018). Entre as espécies de *Streptococcus*, enquanto colonizadoras primárias, destacam-se *Streptococcus salivarius* essencialmente presente na língua, *Streptococcus mitis* na mucosa jugal e *Streptococcus sanguinis* nos dentes (Krishnan et al., 2017), e ainda as espécies *Streptococcus mutans*, *Streptococcus epidermidis* e *Fusobacterium* (Gomez & Nelson, 2017).

Após colonização inicial, o microbioma oral parece ser fortemente influenciado pelas condições ambientais (Gomez & Nelson, 2017). Durante o crescimento será caracterizado por uma elevada variabilidade e, com base no conhecimento atual, atinge a estabilidade de um microbioma adulto por volta dos 2 anos de idade (Dzidic et al., 2018). Um dos fatores que molda o microbioma oral infantil é a combinação de diferentes microbiomas da mãe, como o intestinal, o vaginal, a pele e o leite materno, assim como as primeiras refeições da criança. Os *Streptococcus* surgem em grande número associados à presença de estímulos de oligossacarídeos, especialmente *Streptococcus mutans*, conforme há uma evolução no envolvimento de fatores externos no ambiente oral, acompanhada pelo crescimento do ser humano (Gomez & Nelson, 2017).

O consumo de sacarose nos primeiros anos de vida parece ser uma das principais causas para o aumento da colonização por *Streptococcus mutans*, o maior fator preditivo de Cárie Dentária. Durante o processo, a dinâmica metabólica de sacarose, a homeostase do pH e a formação de biofilme têm forte impacto no desenvolvimento da doença (Gomez & Nelson, 2017).

Na ausência de uma dieta rica em hidratos de carbono, os comensais estreptocócicos tendem a manter-se em níveis elevados na placa bacteriana, sendo esta dominância

associada a uma boa saúde dentária. Com o aumento da frequência de consumo de hidratos de carbono, e por consequência da sua fermentação, com uma má higiene oral associada, observa-se um aumento na produção de uma matriz de glucanos bacterianos, que irá criar uma rede celular, que impede a difusão dos metabolitos, levando a um microambiente ácido. Os colonizadores iniciais não estão preparados para se adaptar a este ambiente, pelo que o crescimento de micro-organismos, como *Streptococcus mutans*, *Veillonella* spp. e *Lactobacillus* spp., que são acidúricos, está facilitado. Com a colonização destas espécies acidúricas, aumenta a desmineralização do esmalte e diminui a sua remineralização, o que conduz à progressão clínica da Cárie Dentária (Abranches et al., 2018; Baker & Edlund, 2019; Gomez & Nelson, 2017).

Como mencionado anteriormente, a presença de elevadas concentrações de micro-organismos comensais do grupo Mitis dos *Streptococcus* está associada a saúde oral, apesar de poder ter influência no desenvolvimento de doenças oportunistas, noutras partes do organismo. No entanto, frisa-se que na cavidade oral são benéficas e a sua presença está geralmente associada à diminuição de espécies cariogénicas, como *Streptococcus mutans* (Abranches et al., 2018).

### 3.2 Microbioma na Estomatite Aftosa Recorrente

A determinação da etiologia da EAR poderá clarificar um tratamento eficiente da doença (Yang et al. 2020). Diversas espécies *Streptococcus* são suspeitas de estar envolvidas no desenvolvimento da EAR, e a sua relação foi sugerida por observação de reações autoimunes contra o epitélio oral, por ativação de proteínas de choque térmico libertadas por estas bactérias (Kim et al., 2016; Marchini, Campos, Silva, Paulino, & Nobrega, 2007; Yang et al., 2020). Apesar destas evidências, não existe interligação direta comprovada entre uma infeção bacteriana e a EAR (Yang et al. 2020).

Yang et al. (2020) realizaram um estudo com colheita de amostras bacterianas de superfícies normais e ulceradas da mucosa oral de 24 doentes com EAR. A maior percentagem de flora bacteriana detetada pertence a um destes três filos: Firmicutes, Proteobacteria e Bacteroidetes. Os 10 géneros mais abundantes nas amostras foram *Streptococcus*, *Prevotella*, *Haemophilus*, *Neisseria*, *Actionobacillus*, *Alloprevotella*, *Veillonella*, *Escherichia-Shigella*, *Candidatus Competibacter* e *Porphyrromonas*. É



importante salientar, que estes três filos e os 10 géneros representam 99.41% e 81.90% de todas as bactérias, respetivamente.

Com recurso à análise da composição das comunidades bacterianas da mucosa oral e das úlceras aftosas, percebeu-se que os grupos bacterianos da mucosa oral e os presentes nas úlceras aftosas são claramente distintos. Tal sugere uma diferença significativa entre a composição das comunidades bacterianas dos dois tipos de microbiomas, embora em termos de quantidade e diversidade as comunidades sejam semelhantes. Constatou-se que as amostras representativas da mucosa oral saudável, em termos de composição, possuem maioritariamente micro-organismos do filo Firmicutes, classe Bacilli, ordem Lactobacillales, família Streptococcaceae, e género *Streptococcus*. Por sua vez, as amostras de micro-organismos das úlceras aftosas são constituídas em grande parte pela ordem Enterobacteriales, família Enterobacteriaceae, géneros *Escherichia-Shigella* e *Alloprevotella*, e espécie *Escherichia coli* (Yang et al. 2020).

Neste estudo percebeu-se que o aumento de *Escherichia coli* e *Alloprevotella*, assim como a diminuição de *Streptococcus*, está significativamente associado às úlceras aftosas (Yang et al. 2020).

É necessário considerar que outras condições podem influenciar o ambiente oral e a comunidade bacteriana. São exemplo disto, as doenças sistémicas e o uso de medicação, que não foram incluídas no estudo como critérios de exclusão, uma vez que se assumiu que não são fatores major modificadores do microbioma oral. Por outro lado, as amostras coletadas cingiram-se a indivíduos com a doença, pelo que não há termo comparativo com indivíduos saudáveis, pois considerou-se que as variações individuais poderiam acarretar dificuldades no estudo das bactérias associadas à EAR, portanto o controlo preconizado como ideal foi a mucosa saudável. Realça-se ainda a importância destas descobertas, pois têm potencial para conduzir a novas terapêuticas para a EAR, o que possivelmente inclui impedir a colonização de *Escherichia coli* com recurso a antibióticos (Yang et al. 2020).

O papel das cadeias de *Streptococcus* nas infeções bacterianas tem sido extensamente estudado desde a sua descoberta em lesões ulceradas de EAR, enfatizando a presença de *Streptococcus sanguinis*. No entanto, a associação entre *Streptococcus sanguinis* e a EAR

foi mais tarde questionada, pela baixa detecção de *Streptococcus sanguinis* na EAR, comparativamente a controlos saudáveis (Kim et al., 2016).

Assim sendo, Kim et al., (2016) concretizaram um estudo para caracterização do microbioma oral da mucosa e da saliva em doentes com EAR e em pacientes controlo. Por pirosequenciação obtiveram com sucesso uma caracterização do microbioma oral destes doentes e identificaram duas espécies associadas ao risco de doença. O microbioma das lesões ulcerativas foi caracterizado por uma diminuição das espécies tipicamente saudáveis, e um aumento de espécies raras, estando a diminuição de *Streptococcus salivarius* e aumento de *A. johnsonii* associados a risco de EAR.

Este estudo de Kim et al., (2016) demonstrou que desequilíbrios no microbioma da mucosa oral e da saliva estão associados à EAR. Entre as 15 espécies cujas concentrações estavam reduzidas na EAR comparativamente aos controlos, 9 delas pertencem ao designado microbioma oral normal, ou seja, as espécies *S. salivarius*, *S. parasanguinis*, *S. peroris*, *S. vestibularis*, *S. lactarius*, *V. dispar*, *Rothia dentocariosa*, *Campylobacter concisus*, *Actinomyces odontolyticus* e *P. histicola*. As 6 espécies restantes também pertencem ao género *Streptococcus* e *Prevotella*. Das 7 espécies cujas concentrações eram mais elevadas na EAR do que nos controlos, nenhuma se encontra na flora normal.

O índice de disbiose criado, recorrendo à relação de abundância entre a espécie *A. johnsonii* e a *S. salivarius*, previu corretamente a presença ou ausência de EAR em 83% dos casos. Tendo em consideração que este foi um estudo *cross-sectional*, não se pode concluir que as bactérias com concentrações mais elevadas na EAR, sejam efetivamente as responsáveis pela iniciação ou progressão da doença. Embora, estudos sobre a Cárie Dentária e a Doença Periodontal permitam inferir que as espécies presentes em maior número nas lesões, possam incluir as bactérias patogénicas major da doença. De destacar que a espécie *A. johnsonii* inibiu consideravelmente a proliferação de células do epitélio gengival, e apresentou citotoxicidade aumentada contra as células epiteliais. Desta forma, o desequilíbrio entre as duas espécies com potencial risco pode contribuir para a ulceração, atraso da cicatrização e dor severa, despoletada pelas citocinas inflamatórias (Kim et al., 2016).

Se este desequilíbrio entre as espécies saudáveis, como *Streptococcus salivarius*, e as espécies potencialmente patogénicas, como *A. johnsonii*, for confirmado como etiologia

da EAR, o restabelecimento do equilíbrio será possível, providenciando a cura da EAR, por aplicação de probióticos de *Streptococcus salivarius* ou antibióticos que seletivamente eliminem espécies patogénicas (Kim et al., 2016).

Apesar destas evidências mais recentes, Barile et al., em 1963, propuseram que *Streptococcus sanguinis* 2 A é o principal agente bacteriano associado à EAR, através da sua forma L instável, que o converte num agente patogénico transitório, enquanto a sua forma L estável se encontra inativa (Bankvall et al., 2014).

Um estudo, no qual foram avaliadas as microfloras de 3 grupos – EAR, ulcerações orais experimentais e mucosa oral normal - demonstrou que a microflora predominante na EAR é constituída por *Streptococcus*  $\alpha$ -hemolíticos, *Staphylococcus* e *Neisseria*. A ocorrência de *Streptococcus*  $\alpha$ -hemolíticos na EAR não foi diferente dos restantes dois grupos, no entanto nas ulcerações orais experimentais e na mucosa oral normal as contagens de colónias bacterianas eram cerca de 10 a 100 vezes inferiores, respetivamente, às do grupo com EAR. Em termos de classificação dos 15 *Streptococcus*  $\alpha$ -hemolíticos encontrados em cultura, subdividiram-se em 5 grupos, sendo destacáveis os *Streptococcus sanguinis* (11/15) e os *Streptococcus mutans* (3/15) (Donatsky, Justesen, Lind, & Vestergaard, 1977).

A elevada ocorrência de *Streptococcus*  $\alpha$ -hemolíticos na EAR encontrada no estudo de Donatsky et al. (1977), conjugada com as análises de imunofluorescência de outro estudo, que demonstrou hipersensibilidade humoral na presença de *Streptococcus sanguinis* 2 A em doentes com EAR, podem indicar a influência dos micro-organismos estreptocócicos  $\alpha$ -hemolíticos na patogénese da doença (Donatsky & Dabelsteen, 1974). Apesar disto, no estudo de Donatsky e Dabelsteen (1974) permaneceu a dúvida se a resposta humoral ao *Streptococcus sanguinis* 2 A derivava da sua associação direta à EAR, ou se seria consequência de uma infeção secundária das úlceras aftosas.

### 3.3 Antagonismo microbiano

De acordo com o estudo *Global Burden Disease* de 2016, a cárie nos dentes definitivos é a doença mais prevalente da cavidade oral em todo o mundo, com uma prevalência de 2.44 biliões de pessoas, enquanto nos dentes decíduos está classificada em

17º lugar (Collaborators GBD, 2017). Quando não tratada, esta doença pode despoletar dor, abscessos dentários, destruição óssea, assim como outras complicações mais severas. Tendo em conta estes dados, as doenças orais são consideradas um problema de saúde pública major (Zhu, Macleod, Kitten, & Xu, 2018).

*Streptococcus sanguinis* são micro-organismos associados a um biofilme dentário saudável. São espécies Gram positivas e anaeróbias facultativas, colonizadoras primárias da cavidade oral, que desempenham um papel crucial no desenvolvimento dos biofilmes orais, auxiliando na fixação de outros micro-organismos. É um comensal que está distribuído de forma ampla pela cavidade oral, presente nas superfícies dentárias, mucosas e saliva (Zhu et al., 2018).

De acordo com alguns estudos, *Streptococcus sanguinis* é a única espécie, por comparação de números de UFC em amostras de lesões de cárie e amostras saudáveis, que está significativamente associada a saúde dentária. É uma espécie que surge na maioria das crianças, pouco depois da erupção dos primeiros dentes, e a sua presença atrasa a colonização por *Streptococcus mutans* (Becker et al., 2002).

Várias pesquisas sugerem a existência de um possível antagonismo bioquímico entre as espécies *Streptococcus sanguinis* e *Streptococcus mutans*, uma vez que ambas competem pela colonização das superfícies dentárias. Pode-se até afirmar que existe uma razão *Streptococcus mutans*/ *Streptococcus sanguinis* que serve de indicador de risco de cárie, sendo que quanto menor a razão, menor o risco de cárie. Este papel antagonista de *Streptococcus sanguinis* sobre *Streptococcus mutans* torna este micro-organismo um possível candidato para a aplicação de terapias probióticas contra a Cárie Dentária, assim como contra a Doença Periodontal associada a micro-organismos bacterianos (Caufield et al., 2000).

O antagonismo entre estas espécies pode ser constatado pela repressão do crescimento de *Streptococcus mutans*, através da produção de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> por parte de *Streptococcus sanguinis*. Uma relação inversa ocorre através da secreção de mutacinas I e IV por parte de *Streptococcus mutans*, influenciando as condições de subsistência de *Streptococcus sanguinis* (Zhu et al., 2018).

O  $H_2O_2$  produzido por *Streptococcus sanguinis* é um agente reativo, que induz defeitos nas macromoléculas. Este composto, não só afeta *Streptococcus mutans*, como também pode levar à autólise de *Streptococcus sanguinis*, sendo então estas últimas, bactérias que apresentam proteínas na sua composição que contribuem para a sua própria resistência ao  $H_2O_2$  (Zhu et al., 2018).

*Streptococcus mutans* recorrem às mutacinas para combater a ação dos micro-organismos estreptocócicos comensais, pelo que *Streptococcus sanguinis* suprimem os genes expressores do péptido que estimula a produção de mutacinas, anulando a sua atividade. As bactérias cariogénicas têm a capacidade de propiciar ambientes ácidos, por fermentação de açúcares, prejudiciais à sobrevivência de *Streptococcus sanguinis*, diminuindo a sua concentração previa ou simultaneamente ao aparecimento de Cárie Dentária. Em caso de atividade de *Streptococcus mutans*, as bactérias comensais, especialmente *Streptococcus sanguinis*, produzem substâncias alcalinas, de forma a aumentar o pH do meio, através do metabolismo de arginina. Estudos mais recentes têm demonstrado que, a combinação de tratamentos de arginina com o flúor apresenta resultados quanto à atividade das espécies comensais. Tal sucede através de uma diminuição da concentração de espécies cariogénicas, o que origina um atraso no processo de desmineralização das superfícies dentárias. Apesar destas evidências, mais estudos são necessários para determinar o papel de *Streptococcus sanguinis* na Cárie Dentária (Zhu et al., 2018).

Posto isto, propõe-se a realização de um estudo, com base na razão existente entre os micro-organismos *Streptococcus sanguinis* e *Streptococcus mutans*, e em índices de cálculo de risco, que permita correlacionar a EAR com a Cárie Dentária, de modo a compreender o impacto que a EAR possa ter na criação, ou não, de um ambiente propício ao desenvolvimento de outras patologias orais, neste caso a Cárie Dentária.



## **II. OBJETIVOS**

Determinar a relação entre a prevalência da Estomatite Aftosa Recorrente e o risco de Cárie Dentária, em crianças e adolescentes, dos 6 aos 18 anos, através de observação clínica intraoral, índices de cálculo de risco de cárie e culturas bacterianas.

## **III. HIPÓTESES**

Hipótese Nula ( $H_0$ ) – Não existe uma relação entre a prevalência da Estomatite Aftosa Recorrente e o risco de Cárie Dentária, numa população infantojuvenil.

Hipótese Alternativa ( $H_1$ ) – Existe uma relação entre a prevalência da Estomatite Aftosa Recorrente e o risco de Cárie Dentária, numa população infantojuvenil.





## IV. MATERIAIS E MÉTODOS

Para atingir os objetivos propostos foi realizada uma investigação aplicada e mista, com um desenho de estudo correlacional/epidemiológico.

### 1. SELEÇÃO DA AMOSTRA

A amostra foi de conveniência, sendo constituída por 30 participantes, com idades compreendidas entre os 6 e os 18 anos, recrutada no mês de julho de 2020, que aceitou voluntariamente a participação no estudo e se enquadrou nos critérios de inclusão e de exclusão.

O valor amostral é mais reduzido que o indicado na proposta, no entanto dadas as circunstâncias de pandemia *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2* (SARS Cov-2), ocorreram muitas desistências na participação do estudo.

#### 1.1 Critérios de inclusão

##### Grupo com Estomatite Aftosa Recorrente

- Indivíduos com Estomatite Aftosa Recorrente;
- Indivíduos com idades entre os 6 e os 18 anos;
- Indivíduos (ou seus representantes legais) que assinem o consentimento informado para participar no estudo.

##### Grupo Sem Estomatite Aftosa Recorrente:

- Indivíduos sem Estomatite Aftosa Recorrente;
- Indivíduos com idades entre os 6 e os 18 anos;
- Indivíduos (ou seus representantes legais) que assinem o consentimento informado para participar no estudo.

## **1.2 Critérios de exclusão**

### Grupo com Estomatite Aftosa Recorrente

- Indivíduos sem Estomatite Aftosa Recorrente;
- Indivíduos (ou seus representantes legais) que não assinem o consentimento informado para participar no estudo;
- Indivíduos com lesões herpéticas (Herpes simplex HSV-1) (Edgar et al., 2017; Fitzpatrick et al., 2019);
- Indivíduos com Síndrome de Behçet (Edgar et al., 2017; Fitzpatrick et al., 2019; Seoudi et al., 2015);
- Indivíduos em tratamento ortodôntico (Akintoye & Greenberg, 2014; Cui et al., 2016; Edgar et al., 2017);
- Indivíduos que tomem medicação que afete a mucosa oral (Edgar et al., 2017; Fitzpatrick et al., 2019);
- Indivíduos portadores de HIV (Edgar et al., 2017; Fitzpatrick et al., 2019; Seoudi et al., 2015);
- Indivíduos que tenham feito antibioterapia há menos de 6 meses ou que façam profilaxia antibiótica (Struzycka, 2014).

### Grupo Sem Estomatite Aftosa Recorrente

- Indivíduos com Estomatite Aftosa Recorrente;
- Indivíduos (ou seus representantes legais) que não assinem o consentimento informado para participar no estudo;
- Indivíduos com lesões herpéticas (Herpes simplex – HSV-1) (Edgar et al., 2017; Fitzpatrick et al., 2019);
- Indivíduos com Síndrome de Behçet (Edgar et al., 2017; Fitzpatrick et al., 2019; Seoudi et al., 2015);
- Indivíduos em tratamento ortodôntico (Akintoye & Greenberg, 2014; Cui et al., 2016; Edgar et al., 2017);
- Indivíduos que tomem medicação que afete a mucosa oral (Edgar et al., 2017; Fitzpatrick et al., 2019);
- Indivíduos portadores de HIV (Edgar et al., 2017; Fitzpatrick et al., 2019; Seoudi et al., 2015);

- Indivíduos que tenham feito antibioterapia há menos de 6 meses ou que façam profilaxia antibiótica (Struzycka, 2014).

Os critérios de inclusão e de exclusão foram verificados por aplicação de um questionário de recolha de história clínica.

## 2. LOCAL DO ESTUDO

O recrutamento de participantes e a recolha de dados teve lugar numa paróquia da Amadora. A componente laboratorial foi realizada no laboratório de microbiologia do IUEM.

## 3. MATERIAIS

Para a realização do exame clínico objetivo, protocolo de recolha de saliva e análise laboratorial foram utilizados os seguintes materiais (Tabela 1). Tendo em consideração o atual estado de pandemia por SARS Cov-2, tomou-se especial atenção ao equipamento de proteção individual e material de desinfeção (Figuras 4 e 5):

|                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p><b>Material básico</b></p> <p>Kit básico (espelho, pinça, sonda exploratória e sonda periodontal);</p> <p>Corrente para babete e babete;</p> <p>Copos descartáveis.</p>                                                                                                 | <p><b>Material de recolha</b></p> <p>Compressas estéreis;</p> <p>Seringas graduadas (Henry Schein ®);</p> <p>Contentores para recolha de saliva 50ml (Normax ®);</p> <p>Pastilhas de parafina.</p> |
| <p><b>Equipamento de proteção individual e material de desinfeção</b></p> <p>Luvas, máscara FFP2, óculos, viseira, touca, proteção de calçado, fato do equipamento de proteção individual, kit de desinfeção (álcool + álcool gel + desinfetante), lanterna de cabeça.</p> | <p><b>Material de laboratório</b></p> <p>Micropipetas de 100 e 1000µl (Labnet Biopette™ autoclavable P3942-100 e P3942-1000);</p> <p>Escala de McFarland (Biomérieux Densimat REF 99234);</p>      |

| <b>Material de registo</b>                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Canetas esferográficas azul, preta e vermelha;<br>Caneta de acetato;<br>Protocolo CAMBRA® + Ficha de registo de índice de placa, índice gengival, ficha dentária internacional e taxas de fluxo salivar;<br>Programa APIWEB (Biomérieux REF 40011);<br>Programa SPSS (IBM®). | Vórtex (VELP <i>Scientifica ZX3 Advanced Vortex Mixer</i> );<br>Centrífuga (Techne);<br>Estufa de incubação a 37°C (memmert);<br>Câmara a 4°C;<br>Ansas de inoculação (Normax®);<br>Zaragatoas;<br>Pontas amarelas e azuis estéreis;<br>Caixas de petri descartáveis;<br>Eppendorfs estéreis;<br>Geradores de CO <sub>2</sub> (Biomérieux REF 96126);<br>Meios de suspensão 2ml (Biomérieux REF 70700);<br>Reagente NIN (Biomérieux REF 70491);<br>VP 1 e VP 2 (Biomérieux REF 70422);<br>ZYM A (Biomérieux REF 70494);<br>ZYM B (Biomérieux REF 70493);<br>Óleo de parafina (Biomérieux REF 70100);<br>Galerias API 20 Strep (Biomérieux REF 20600);<br>Gelose de Rogosa (Biokar diagnostics REF BK033HA);<br>Mitis Salivarius Agar (BD Difco <sup>TM</sup> REF 229810);<br>Bacitracin BioChemica (PanReac AppliChem REF A0623,0005). |

**Tabela 1** - Materiais necessários



**Figura 4** - Equipamento de proteção individual



**Figura 5** - Material de desinfecção

## **4. RECOLHA DE DADOS**

### **4.1 Consentimento informado**

Antes de realizar qualquer recolha de informação, foram entregues os consentimentos informados aos participantes voluntários (Anexo I). O consentimento foi lido e esclarecido, tendo sido assinado em duplicado, com verificação das assinaturas de ambos, sendo que um dos consentimentos ficou na posse do participante.

### **4.2 Questionário de recolha de história clínica**

Efetuuou-se a recolha de uma história clínica, através da aplicação de um questionário (Anexo II) aos encarregados de educação, crianças e adolescentes envolvidos, de modo a formar 2 grupos, um grupo controlo, sem EAR, e um grupo com a doença, com caracterização das lesões aftosas deste segundo grupo.

O questionário é composto por 2 partes. A primeira é constituída por uma história clínica geral, com recolha de informações sobre a idade, hábitos de higiene oral, tratamento ortodôntico, medicação antibiótica, presença de herpes labial, alergias, doenças sistémicas e medicação diária. Este conjunto de perguntas permitiu validar os critérios de inclusão e de exclusão da amostra. A pergunta “Costumas ter aftas?” teve como objetivo separar os dois grupos de estudo. Os participantes que responderam “sim” à pergunta, prosseguiram para a segunda parte do questionário. A segunda parte é relativa a perguntas de caracterização das lesões aftosas, mais especificamente quanto à sua frequência, número, localização, duração, intensidade, circunstâncias em que surgem,

alteração de hábitos de higiene oral e alimentares, prevalência nos progenitores, modo de atuação perante uma crise e comunicação do problema ao Médico Dentista.

### **4.3 Observação clínica**

Após preenchimento do questionário e confirmação dos critérios de inclusão e de exclusão, procedeu-se à observação clínica dos participantes.

#### **4.3.1 Protocolo CAMBRA®**

Primeiramente recorreu-se ao protocolo *Caries Management by Risk Assessment* (CAMBRA®), cujo foco principal é a avaliação do risco de Cárie Dentária, para posterior gestão de cuidados de saúde oral, com base na evidência e na Medicina Dentária minimamente invasiva (Hurlbutt, 2011; Silla & Company, 2013).

Através deste protocolo, efetua-se a avaliação individual dos indicadores de doença, fatores de risco e fatores protetores, que determinam o desenvolvimento e o futuro da doença cárie. Existem diferentes protocolos CAMBRA®, desenhados pela *American Dental Association* (ADA), pela *American Academy of Pediatric Dentistry* (AAPD) e pela *California Dental Association* (CDA), em que todos eles avaliam as variáveis acima mencionadas, embora possam diferir nos indicadores e fatores, concordando entre si que o fator preditivo de cáries futuras mais importante é a experiência de cárie passada ou atual (Hurlbutt, 2011).

Tendo em conta isto, optou-se por utilizar o protocolo CAMBRA® da CDA, que apresenta duas fórmulas: uma para doentes com idade inferior a 5 anos, e outra, a escolhida, para doentes com idade superior a 6 anos. Este protocolo tem de ser acompanhado pela execução de testes salivares e culturais para determinar os níveis de bactérias cariogénicas.

Os indicadores de doença, em número de quatro, são descritos como observações clínicas, que permitem inferir sobre a história passada e atual de cáries e a sua atividade. Estes indicadores não dizem nada sobre as possíveis causas de doença ou como tratá-la, apenas descrevem sinais clínicos, que terão tendência a continuar ou a agravar, a não ser que se faça intervenção precoce. Uma resposta positiva a um destes quatro indicadores de doença, coloca automaticamente o doente numa categoria de elevado risco de cárie, se

não efetuar intervenção terapêutica imediata (Featherstone, Domejean-Orliaguet, Jenson, Wolff, & Young, 2007).

A detecção e diagnóstico das lesões foram efetuados visualmente e com inspeção tátil com sonda de exploração, pelo que o indicador de risco número 2, que implica a execução de um exame radiográfico, não foi considerado (Featherstone et al., 2007; Hurlbutt, 2011).

Quanto aos fatores de risco, são nove e constituem-se de fatores biológicos, que predis põem para o aparecimento de lesões de cárie no futuro ou o progresso das lesões existentes. Se não existirem quaisquer indicadores de risco a assinalar, serão estes fatores de risco que irão determinar a atividade de cárie. Quanto mais severos, maior será a necessidade de existirem fatores protetores que mantenham o equilíbrio, ou que revertam o processo de cárie (Featherstone et al., 2007).

Os fatores protetores deste protocolo são onze e consistem em fatores biológicos ou terapêuticos, utilizados na prevenção ou combate dos processos patológicos de cárie, despoletados pelos fatores de risco previamente descritos (Featherstone et al., 2007).

Este protocolo consiste, assim, no preenchimento do questionário sobre o risco de cárie (Anexo IV), em que se assinalam os indicadores de doença, fatores de risco e fatores protetores existentes, para de seguida se classificar o doente consoante o equilíbrio existente entre estas variáveis, como doente de risco baixo, moderado, elevado ou extremo. Esta classificação requer ponderação clínica sobre a severidade dos indicadores de risco e fatores de risco, por exemplo um indivíduo com história passada e presente de lesões cariosas é considerado de elevado risco, mas um indivíduo com baixos níveis de colónias bacterianas, necessita de mais fatores de risco presentes para se considerar de risco moderado (Featherstone et al., 2007).

Como complemento deste questionário do protocolo CAMBRA® da CDA, alguns fatores de risco incidiram sobre a contagem de colónias bacterianas de *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus* e as taxas de fluxo salivar, pelo que foi necessário efetuar posteriormente métodos de cultura bacteriana e testes de fluxo salivar (Hurlbutt, 2011).

#### 4.3.2 Índice de dentes cariados, perdidos e obturados

O exame objetivo à cavidade oral permite determinar o número de dentes cariados, perdidos e obturados. A avaliação visual e tátil foi efetuada com recurso a um kit básico individual, composto por um espelho intraoral, uma sonda curva e uma pinça. Não se realizou qualquer exame radiográfico (Figura 6).



**Figura 6** - Kit básico e material para testes de fluxo salivar

Os indicadores de severidade de cárie são dados pela história pregressa de cárie, que pode ser analisada através do Índice de Dentes Cariados, Perdidos e Obturados para dentição definitiva (CPO-D) e/ou dentição decídua (cpo-d), que é o índice universalmente mais utilizado, dada a sua simplicidade e praticidade (Martincorena, 2013).

O número de dentes cariados é respeitante à presença de lesões cariosas nos dentes, enquanto os dentes perdidos e obturados informam sobre a história pregressa de cárie, em que esta última continua a ser considerada o maior fator preditivo da doença. Deste modo, aquando do preenchimento da Ficha Dentária Internacional (FDI), em crianças com dentição mista, a prevalência de cáries em dentes decíduos, permite prever fielmente o risco de cárie na futura dentição definitiva (Silla & Company, 2013).

CPO (Martincorena, 2013):

C - Dentes cariados;

P - Dentes que foram perdidos por motivos de cárie;

O – Dentes sujeitos a tratamento restaurador em consequência de cárie.

O valor do índice é calculado somando as 3 componentes (C+P+O).



#### 4.3.3 Índices de placa e gengival

Os Índices de Placa (IP) e Gengival (IG) são medidas objetivas que correlacionam a higiene oral do paciente com o seu risco de cárie, para além de serem importantes instrumentos na monitorização e no reforço de condutas de boa higiene oral (Silla & Company, 2013).

O IP foi medido, em ambos os grupos, com recurso a uma sonda periodontal, registando a presença, ou não, de placa dentária nas superfícies distal, vestibular, mesial e palatina/lingual de todos os dentes, excluindo-se assim da contagem as superfícies incisal/oclusal, por não se encontrarem em contacto com o sulco gengival. Após o término de cada quadrante, verificou-se a presença ou ausência de hemorragia gengival nos dentes em que foi medido o IP, efetuando-se assim o registo do IG (Silveira, Oliveira, & Padilha, 2002).

O IP, para determinação do nível de higiene oral dos participantes, foi obtido através da contabilização das superfícies dentárias com acumulação de placa bacteriana em relação ao número total de superfícies dentárias presentes (Silveira et al., 2002). O mesmo método foi aplicado para o IG, que determina o nível de inflamação dos tecidos moles.

#### 4.3.4 Recolha de saliva

A recolha de saliva foi efetuada após a observação clínica e medição dos índices CPO, IP e IG (Anexo III).

##### 4.3.4.1 Taxas de fluxo salivar estimulado e não estimulado

Antes da execução dos testes salivares, foi necessário dar indicação ao paciente para não comer, nem beber até cerca de 1h antes do teste (Navazesh & Kumar, 2008).

As taxas de fluxo salivar foram determinadas através da medição da Taxa de Fluxo Salivar Estimulado (TFSE) e da Taxa de Fluxo Salivar Não Estimulado (TFSNE). Para a TFSE o paciente mastigou uma pastilha de parafina durante 5 minutos, dos quais 2 minutos foram dispensados, para desprezar restos alimentares e salivares. A quantidade de saliva obtida durante 3 minutos foi dividida pelo tempo, obtendo-se assim a taxa de fluxo salivar. Para a TFSNE indicou-se ao paciente para se sentar e permanecer imóvel, com os olhos abertos e a cabeça ligeiramente inclinada para a frente. O paciente foi

instruído para durante 5 minutos não fazer movimentos de mastigação e deixar a saliva escorrer, sem cuspir, para um copo. Mais uma vez, a quantidade de saliva foi dividida pelo tempo, obtendo-se assim a taxa de fluxo salivar (Hurlbutt, 2011; Navazesh & Kumar, 2008).

Para a interpretação dos resultados, que dizem respeito à TFSE, considerou-se (Falcão, Mota, Pires, & Bezerra, 2013):

- ✓ Taxa de secreção salivar estimulada muito baixa -  $<0.7$  ml/min;
- ✓ Taxa de secreção salivar estimulada baixa –  $0.7-1.0$  ml/min;
- ✓ Taxa de secreção salivar estimulada normal -  $>1.0$  ml/min.

Para a interpretação dos resultados, que dizem respeito à TFSNE, considerou-se (Falcão et al., 2013):

- ✓ Taxa de secreção salivar não estimulada muito baixa -  $<0.1$  ml/min;
- ✓ Taxa de secreção salivar não estimulada baixa –  $0.1-0.25$  ml/min;
- ✓ Taxa de secreção salivar não estimulada normal -  $>0.25$  ml/min.

#### 4.3.4.2 Conservação das amostras salivares recolhidas

A saliva foi recolhida para tubos coletores de saliva de 50ml e foi armazenada a uma temperatura de 4°C, até ser realizada a sua análise microbiológica.

A identificação das amostras, após a recolha da saliva, foi codificada do mesmo modo que os questionários, atribuindo o código do questionário ao tubo coletor correspondente. Esta codificação respeita o direito de privacidade do dador, de acordo com a lei n.º12/2005, publicado no Diário da República, garantindo, assim, a rastreabilidade da amostra e a separação de dados pessoais, clínicos e laboratoriais.

### **4.4 Análise laboratorial**

#### 4.4.1 Culturas bacterianas

Para avaliação do risco de cárie, por meio de análise microbiológica, existem provas biológicas inespecíficas e específicas. Concretizaram-se métodos de análise específicos, como a contagem de colónias bacterianas, segundo o princípio de que elevados níveis de

bactérias cariogénicas na saliva, correspondem a maior atividade de cárie (Silla & Company, 2013).

O objetivo foi avaliar a presença de *Streptococcus mutans*, responsáveis pelo início do processo de cárie, em que já se demonstrou que existe associação entre o número de lesões de cárie e o número de colónias bacterianas presentes na saliva e na placa bacteriana. Também os *Lactobacillus* têm um papel neste processo, não no início, mas na progressão das lesões já cavitadas, sendo que a sua presença está associada a uma dieta rica em açúcar, portanto a sua contagem foi também realizada (Silla & Company, 2013).

Contagens bacterianas elevadas na saliva superiores a  $10^5$  Unidades Formadoras de Colónias/ml (UFC/ml) *Streptococcus mutans* e/ ou *Lactobacillus* indicam elevado risco de cárie (Hurlbutt, 2011).

Também se procurou efetuar a contagem de UFC de *Streptococcus sanguinis*, para determinar maiores contagens, ou não, nas amostras correspondentes ao grupo com EAR.

Este método requer meios de cultura em agar, que são inoculados e incubados durante 48 a 72h (Hurlbutt, 2011).

Desta forma, inocularam-se as 30 amostras de saliva em 3 meios de cultura: Mitis Salivarius Agar (MSA) (Figura 7), Mitis Salivarius Bacitracina Agar (MSB) (Figura 8) e Man Rogosa Sharpe Agar (MRS) (Figura 9), a fim de observar o crescimento das espécies *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus*, respetivamente.



**Figura 7** - Meio MSA com crescimento de UFC de *Streptococcus sanguinis* e outras espécies de *Streptococcus*



**Figura 8** - Meio MSB com crescimento de UFC de *Streptococcus mutans*



**Figura 9** - Meio Rogosa Agar com crescimento de UFC de *Lactobacillus*

O protocolo experimental de inoculação dos meios de cultura foi o seguinte:

1. Codificação de tubos de Falcon de 15ml, com o respetivo código das amostras recolhidas, e transferência da saliva dos tubos coletores de saliva, para estes mesmos tubos;
2. Centrifugação das amostras a 1800rpm/ 10 min na centrífuga;
3. Retirou-se parte do sobrenadante, deixando cerca de 1ml do mesmo;
4. Ressuspendeu-se o precipitado com o resto de sobrenadante no vórtex;
5. Inoculou-se por espalhamento 100µl da suspensão nos 3 meios de cultura;
6. Colocou-se as placas na estufa a 37°C durante 48h. Os meios MSA e MSB foram colocados em atmosfera com CO<sub>2</sub> a 5%;
7. Leitura dos meios, com identificação morfológica das colónias, e contagem das UFC.

Nos meios cuja densidade de UFC foi muito elevada, impossibilitando a contagem, efetuou-se a diluição da suspensão. Procedeu-se à adição de 900µl de água desionizada

estéril (ADE), e dessa diluição inocularam-se 100µl nas placas, para nova incubação a 37°C e contagem ao fim de 48h.

Após este processo, repicaram-se algumas colônias para os meios MSB e MSA, de forma a obter culturas puras das espécies em estudo, para efetuar a sua identificação bioquímica com recurso a galerias API. A seleção das colônias foi realizada de acordo com a sua morfologia, cor e tamanho.

#### 4.4.2 Identificação bioquímica

Como método de identificação bioquímica, neste estudo recorreu-se às Galerias API 20 Strep (Biomérieux ®), um método padronizado, que associa 20 testes bioquímicos, com elevado poder discriminatório (Figura 10).



**Figura 10** - Galeria Api 20 Strep após inoculação de UFC

A Galeria API 20 Strep é utilizada para a identificação e diagnóstico de grupo ou de espécie para a maioria dos géneros bacterianos *Enterococcus* e *Streptococcus*. É constituída por vários compostos passíveis de metabolização pelos micro-organismos, com produção de um resultado colorimétrico, através do qual se obtém um perfil bacteriano e posteriormente uma identificação, após a leitura no banco de dados (Díez, 2011).

As galerias, após inoculação de acordo com as instruções do fabricante, foram colocadas na estufa de incubação a 37°C durante 24 horas (Díez, 2011).

É possível realizar a primeira leitura após 4 horas de incubação, no entanto apenas se realizou esta leitura ao fim de 24 horas. Adicionaram-se agentes reativos aos poços de caracterização da atividade enzimática, que levam a alteração colorimétrica dos poços,

ou não. De seguida anotaram-se as observações consoante as instruções que acompanham o kit das galerias, o que possibilitou concluir se a prova era positiva ou negativa, consoante a cor obtida (Díez, 2011).

## **5. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS**

O presente estudo foi aprovado pela Comissão Científica, e posteriormente, pela Comissão de Ética do Instituto Universitário Egas Moniz (Anexo V).

Os participantes foram previamente esclarecidos acerca dos objetivos do estudo e informados sobre a confidencialidade dos dados, bem como sobre a possibilidade de desistirem em qualquer momento, por meio de um consentimento informado.

Todos os dados recolhidos destinam-se unicamente a tratamento estatístico, e posterior publicação, respeitando o anonimato dos participantes, com a sua identificação codificada por um número (1-100) e uma letra (A-Z) aleatórios. Garante-se a proteção dos dados recolhidos e a sua confidencialidade.

Foram respeitadas e aplicadas medidas de desinfeção das amostras e materiais utilizados, a fim de prevenir infeção cruzada.

O estudo requereu apoio financeiro do Instituto Universitário Egas Moniz.

## **6. BASE DE DADOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Os dados clínicos e laboratoriais obtidos foram introduzidos e codificados no *software* Microsoft Excel da Windows®, criando assim uma base de dados para facilitar a análise estatística no *software* de análise estatística *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) Statistics versão 26 da IBM®.

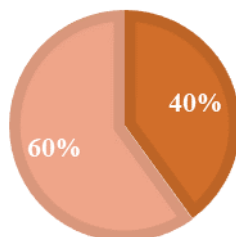
Utilizaram-se técnicas de análise estatística descritiva e analítica, após obtenção dos resultados, através do programa SPSS, para valores de significância de  $p < 0.05$ .

## V. RESULTADOS

### 1. Caracterização da amostra

#### 1.1 Grupo sem EAR (controlo) e Grupo com EAR (de estudo)

■ Grupo sem EAR ■ Grupo com EAR



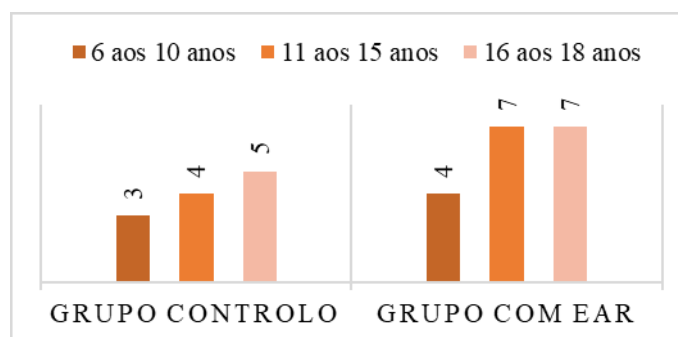
**Gráfico 1** - Distribuição da amostra nos dois grupos

A amostra é composta por 30 indivíduos, distribuídos por dois grupos: um grupo sem EAR (grupo controlo), e um grupo com EAR (grupo de estudo). Destes 30 indivíduos, 12 (40%) são crianças e adolescentes sem EAR e 18 (60%) são crianças e adolescentes com EAR (Gráfico 1).

#### 1.2 Idade

|                | Média        | Mínimo   | Máximo    | Desvio Padrão |
|----------------|--------------|----------|-----------|---------------|
| Grupo Controlo | <b>13.25</b> | <b>6</b> | <b>18</b> | <b>1.122</b>  |
| Grupo com EAR  | <b>13.83</b> | <b>6</b> | <b>18</b> | <b>0.879</b>  |

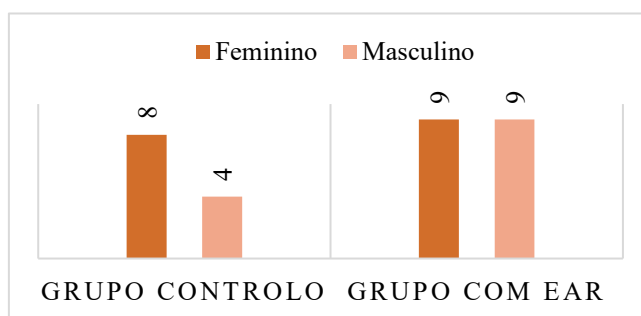
**Tabela 2** - Caracterização segundo a idade



**Gráfico 2** - Caracterização segundo a idade

Dos 30 elementos que compõem a amostra, as idades estão compreendidas entre os 6 e os 18 anos, em ambos os grupos. O grupo controlo apresenta uma média de idades de 13.25 anos, com 3 indivíduos dos 6 aos 10 anos (25%), 4 dos 11 aos 15 anos (33%) e 5 dos 16 aos 18 anos (42%). O grupo com EAR apresenta uma média de idades de 13.83 anos, com 4 indivíduos dos 6 aos 10 anos (22%), 7 dos 11 aos 15 anos (39%) e 7 dos 16 aos 18 anos (39%) (Tabela 2 e Gráfico 2).

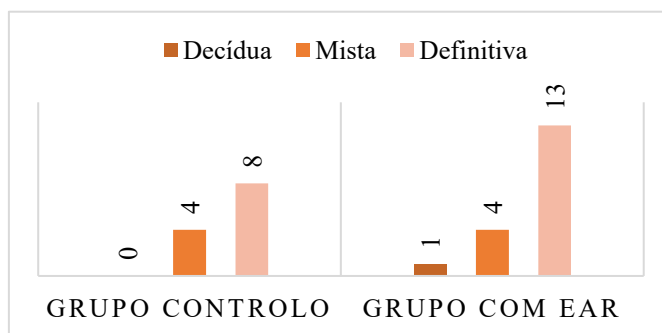
### 1.3 Género



**Gráfico 3** - Caracterização segundo o género

A amostra é constituída por indivíduos de ambos os géneros. O grupo controlo é composto por 12 elementos, dos quais 8 (67%) são do género feminino e 4 (33%) são do género masculino. No grupo com EAR, composto por 18 elementos, 9 (50%) são do género feminino e 9 (50%) são do género masculino (Gráfico 3).

### 1.4 Dentição

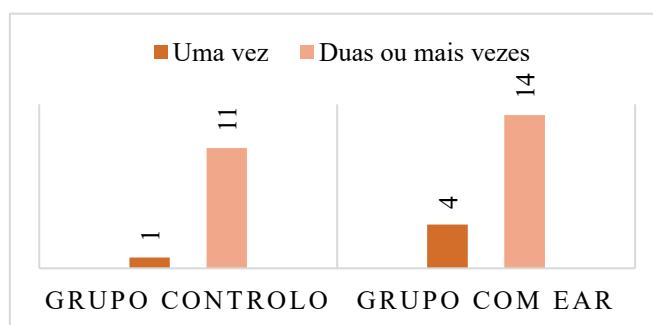


**Gráfico 4** - Caracterização segundo a dentição



A amostra, em termos de dentição, apresenta indivíduos com dentição decídua, mista e definitiva. No grupo controlo nenhuma criança tem dentição decídua, 4 (33%) indivíduos têm dentição mista e 8 (67%) têm dentição definitiva. No grupo com EAR, 1 (6%) criança tem dentição decídua, 4 (22%) indivíduos têm dentição mista e 13 (72%) têm dentição definitiva (Gráfico 4).

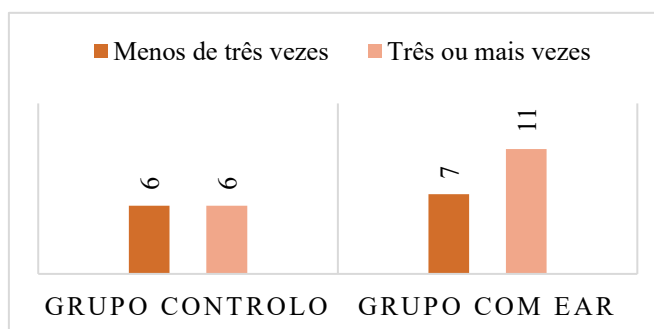
### 1.5 Higiene Oral – Frequência de escovagem diária



**Gráfico 5** - Caracterização segundo a frequência de escovagem diária

Relativamente à frequência de escovagem diária, no grupo controlo, 11 (92%) elementos escovam os dentes duas ou mais vezes por dia, e apenas 1 (8%) escova uma vez por dia. Por sua vez, no grupo com EAR, 14 elementos (78%) escovam os dentes duas ou mais vezes por dia, e 4 (22%) escovam uma vez por dia (Gráfico 5).

### 1.6 Alimentação – Frequência de Ingestão de Hidratos de Carbono (sob a forma de *snacks*)



**Gráfico 6** - Caracterização segundo a frequência de ingestão de hidratos de carbono

Em termos de frequência de ingestão de hidratos de carbono, sob a forma de *snacks*, no grupo controlo, 6 (50%) indivíduos ingerem-nos menos de três vezes por dia e os

outros 6 (50%) três ou mais vezes por dia, enquanto no grupo com EAR, 7 (39%) indivíduos fazem uma ingestão destes mesmos hidratos de carbono menos de três vezes por dia, e 11 (61%) três ou mais vezes por dia (Gráfico 6).

### 1.7 Índice de Placa

|                | Média        | Mínimo   | Máximo    | Desvio Padrão |
|----------------|--------------|----------|-----------|---------------|
| Grupo Controlo | <b>15.42</b> | <b>1</b> | <b>46</b> | <b>3.907</b>  |
| Grupo com EAR  | <b>18.83</b> | <b>2</b> | <b>51</b> | <b>2.981</b>  |

**Tabela 3** - Caracterização segundo o índice de placa

No grupo controlo, a média de índice de placa é de 15.42%, sendo que o valor mínimo registado foi de 1% e o máximo de 46%. No grupo com EAR, a média atingiu os 18.83% de índice de placa, com um valor mínimo de 2% e um máximo de 51% (Tabela 3).

### 1.8 Índice Gengival

|                | Média       | Mínimo   | Máximo    | Desvio Padrão |
|----------------|-------------|----------|-----------|---------------|
| Grupo Controlo | <b>0.67</b> | <b>0</b> | <b>5</b>  | <b>0.432</b>  |
| Grupo com EAR  | <b>2.17</b> | <b>0</b> | <b>11</b> | <b>0.692</b>  |

**Tabela 4** – Caracterização segundo o índice gengival

No grupo controlo, a média de índice gengival é de 0.67%, sendo que o valor mínimo registado foi de 0% e o máximo de 5%. No grupo com EAR, a média atingiu os 2.17% de índice de placa, com um valor mínimo de 0% e um máximo de 11% (Tabela 4).

### 1.9 Índice CPO

|                | Média       | Mínimo   | Máximo   | Desvio Padrão | Nº de amostra |
|----------------|-------------|----------|----------|---------------|---------------|
| Grupo Controlo | <b>0.67</b> | <b>0</b> | <b>4</b> | <b>0.396</b>  | <b>12</b>     |
| Grupo com EAR  | <b>1.71</b> | <b>0</b> | <b>4</b> | <b>0.371</b>  | <b>17</b>     |

**Tabela 5** – Caracterização segundo o índice CPO

Quanto ao índice CPO, no grupo controlo (n=12) a média atingiu os 0.67 dentes definitivos, com um mínimo de 0 dentes cariados, perdidos e obturados e um máximo de

4. No grupo com EAR (n=17), a média foi de 1.71 dentes definitivos, com um mínimo de 0 dentes cariados, perdidos e obturados e um máximo de 4 (Tabela 5).

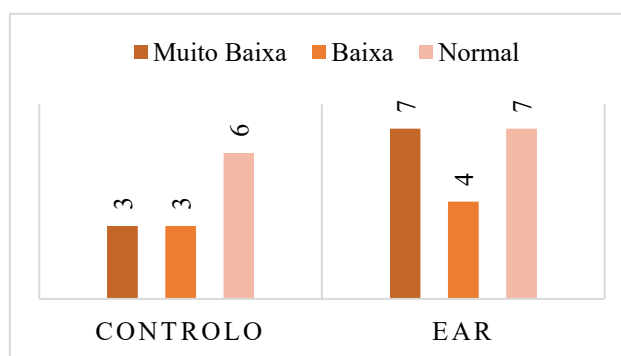
### 1.10 Índice cpo

|                | Média | Mínimo | Máximo | Desvio Padrão | Nº de amostra |
|----------------|-------|--------|--------|---------------|---------------|
| Grupo Controlo | 1.50  | 0      | 5      | 1.190         | 4             |
| Grupo com EAR  | 3.50  | 0      | 12     | 2.872         | 4             |

**Tabela 6** - Caracterização segundo o índice cpo

Relativamente ao índice cpo, no grupo controlo (n=4) a média foi de 1.50 dentes decíduos, com um mínimo de 0 dentes cariados, perdidos e obturados e um máximo de 5. No grupo com EAR (n=4) a média atingiu os 3.50 dentes decíduos, com um mínimo de 0 dentes cariados, perdidos e obturados e um máximo de 12 (Tabela 6).

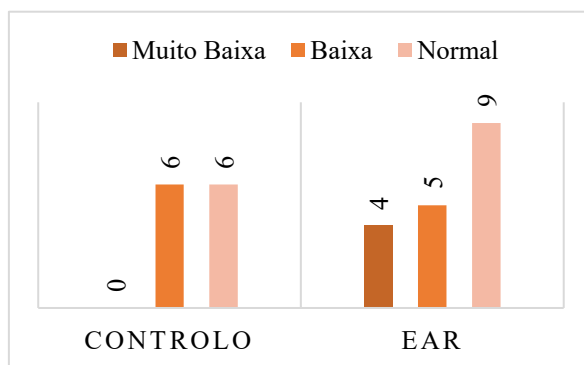
### 1.11 Taxa de Fluxo Salivar Estimulado



**Gráfico 7** - Caracterização segundo a taxa de fluxo salivar estimulado

Em termos de taxa de fluxo salivar estimulado, no grupo controlo, metade dos indivíduos apresenta taxas muito baixas (25%) e baixas (25%), e os restantes 50% taxas normais. No grupo com EAR, 78% apresentam taxas muito baixas (39%) e normal (39%), enquanto 22% apresenta taxas baixas (Gráfico 7).

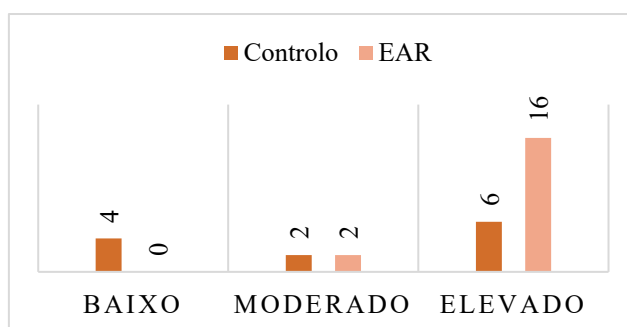
### 1.12 Taxa de Fluxo Salivar Não Estimulado



**Gráfico 8** - Caracterização segundo a taxa de fluxo salivar não estimulado

Em termos de taxa de fluxo salivar não estimulado, no grupo controlo, nenhum indivíduo apresenta taxas muito baixas, sendo que 50% tem taxas baixas e outros 50% tem taxas normais. No grupo com EAR, 22% tem taxas de fluxo salivar muito baixas, 28% baixas e 50% normais (Gráfico 8).

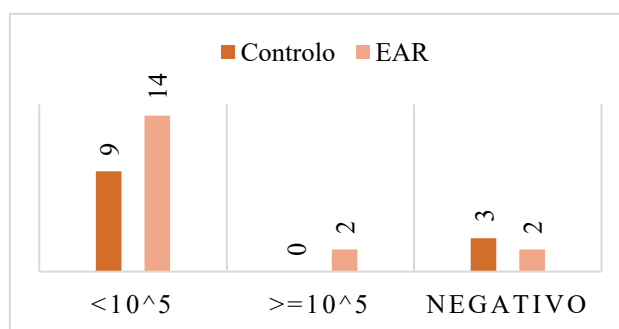
### 1.13 Risco de Cárie



**Gráfico 9** - Caracterização segundo o risco de cárie

No Gráfico 9, apresenta-se a distribuição dos indivíduos consoante o risco de cárie. No grupo controlo temos 4 (33%) indivíduos com baixo risco de cárie, 2 (17%) com risco moderado e 6 (50%) com elevado risco de cárie. No grupo com EAR não temos indivíduos com baixo risco de cárie, apenas com risco moderado e elevado, 2 (11%) e 16 (89%) indivíduos, respetivamente.

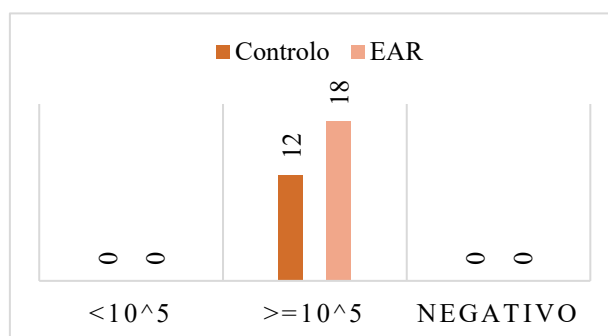
### 1.14 *Streptococcus mutans*



**Gráfico 10** - Caracterização quanto às UFC de *Streptococcus mutans*

Relativamente à quantidade de micro-organismos *Streptococcus mutans* presente nas amostras, quantificou-se as UFC/ml quanto à potência de  $10^5$ , visto ser a referência utilizada para considerar a existência de risco de cárie no indivíduo. Para valores iguais ou superiores a  $10^5$  de UFC/ml de *Streptococcus mutans*, existe risco de cárie. Assim, observou-se um número relativamente baixo de UFC, quer no grupo controle, quer no grupo com EAR, destacando-se que no grupo com EAR obteve-se 78% dos indivíduos com valores inferiores a  $10^5$  e 11% iguais ou superiores a  $10^5$ , enquanto no grupo controle 75% dos indivíduos tem valores inferiores a  $10^5$  e nenhum indivíduo com valores iguais ou superiores a  $10^5$  (Gráfico 10).

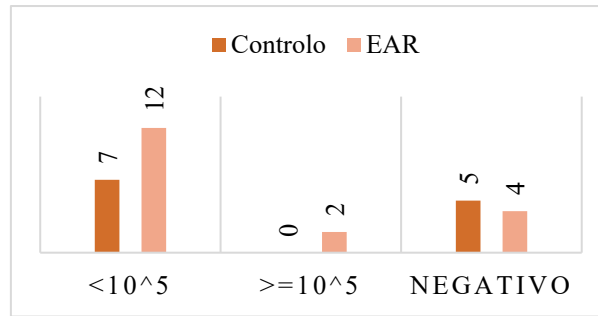
### 1.15 *Streptococcus sanguinis*



**Gráfico 11** - Caracterização quanto às UFC de *Streptococcus sanguinis*

Quanto às UFC de *Streptococcus sanguinis*, observaram-se contagens iguais ou superiores que  $10^5$  em todos os 30 elementos da amostra (Gráfico 11).

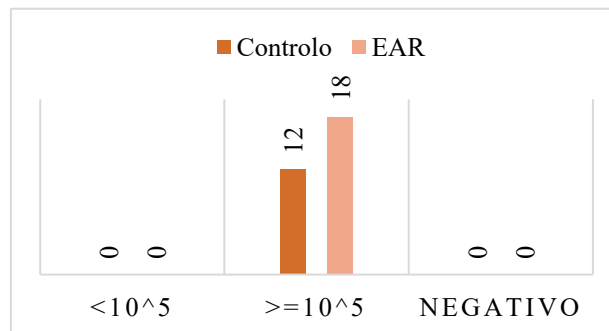
### 1.16 *Lactobacillus*



**Gráfico 12** - Caracterização quanto às UFC de *Lactobacillus*

No que consta a UFC de *Lactobacillus*, realizou-se a mesma análise aplicada nos *Streptococcus mutans*, obtendo-se contagens inferiores a  $10^5$  em 67% e 58% dos indivíduos para os grupos com EAR e controlo, respetivamente. Contagens iguais ou superiores a  $10^5$  foram encontradas apenas no grupo com EAR em 11% dos indivíduos (Gráfico 12).

### 1.17 Outras espécies



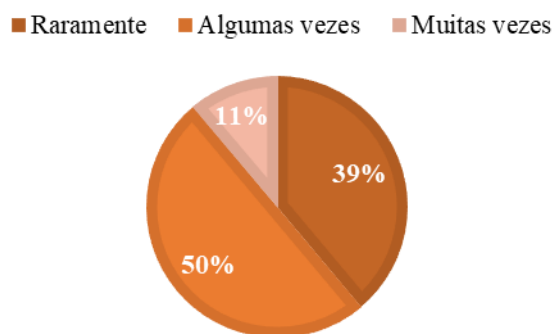
**Gráfico 13** - Caracterização quanto às UFC de outras espécies

Quanto às UFC de outras espécies, observaram-se contagens iguais ou superiores que  $10^5$  em todos os 30 elementos da amostra, com identificação das espécies *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus constellatus*, *Streptococcus equinus* e *Enterococcus avium* (Gráfico 13).

## 2. Caracterização da EAR

O grupo com EAR foi inquirido sobre a sua doença, de forma a ser possível avaliar alguns parâmetros de caracterização das lesões aftosas e determinar possíveis fatores precipitantes e predisponentes, com maior prevalência na amostra.

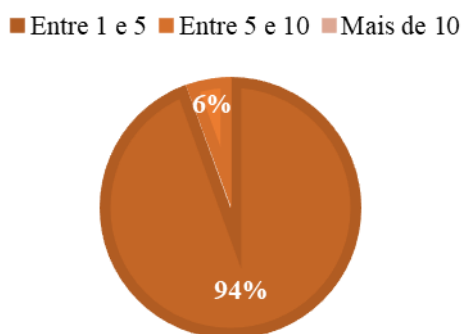
### 2.1 Frequência de aparecimento das lesões aftosas



**Gráfico 14** - Frequência de aparecimento das lesões aftosas

Em termos de frequência de aparecimento das lesões aftosas, 39% dos inquiridos disse “Raramente” ter aftas, 50% respondeu “Algumas vezes” e 11% “Muitas vezes” (Gráfico 14).

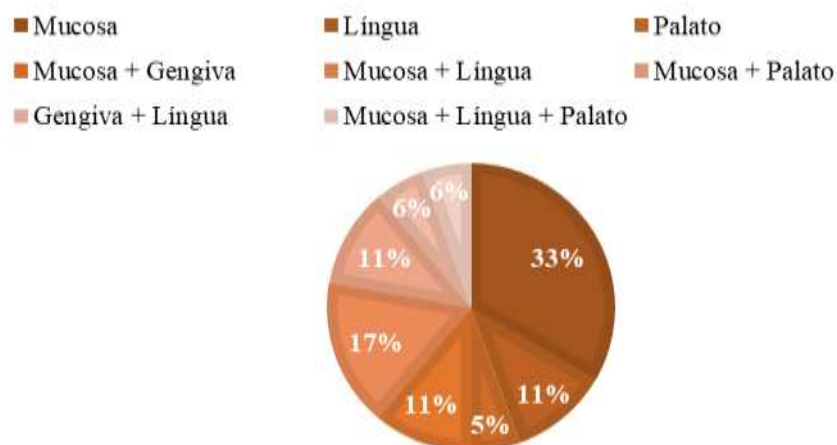
### 2.2 Número de lesões por crise aftosa



**Gráfico 15** - Número de lesões por crise aftosa

Relativamente ao número de lesões aftosas que surgem por crise de EAR, 94% dos indivíduos respondeu “Entre 1 e 5” e 6% respondeu “Entre 5 e 10” (Gráfico 15).

### 2.3 Localização



**Gráfico 16** - Localização das lesões aftosas

Quanto à localização das lesões aftosas, algumas crianças e adolescentes indicaram localizações únicas, sendo que 33% disseram ter lesões na mucosa, 11% na língua e 5% no palato. As restantes referiram lesões em mais do que uma localização, sendo que 11% usualmente tem lesões na mucosa e na gengiva, 17% na mucosa e na língua, 11% na mucosa e no palato, 6% na gengiva e na língua e 6% na mucosa, língua e palato (Gráfico 16).

### 2.4 Tempo de cicatrização

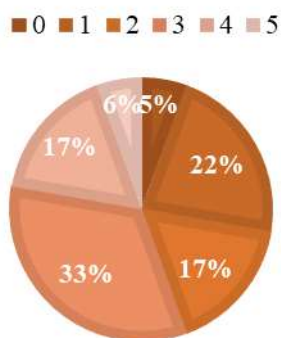


**Gráfico 17** - Tempo de cicatrização das lesões aftosas

O tempo de cicatrização varia entre 4 a 7 dias em 83% dos indivíduos com EAR e entre 7 a 10 dias em 17% (Gráfico 17).



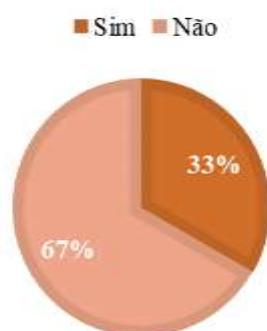
## 2.5 Escala de dor



**Gráfico 18** - Escala de dor das lesões aftosas

Numa escala de dor de 0 a 5, 5% dos indivíduos referiu não ter dor, 22% indicou 1 na escala de dor, 17% referiu dor nível 2, 33% dor nível 3, 17% dor nível 4 e 6% dor nível máximo, isto é, nível 5 (Gráfico 18).

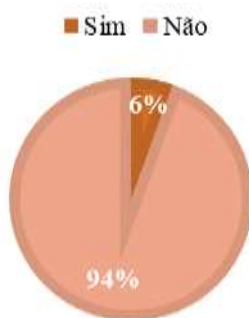
## 2.6 Lesões precipitadas por trauma



**Gráfico 19** - Lesões aftosas precipitadas por trauma

Em termos de trauma, 33% dos inquiridos indicou ter lesões aftosas após trauma dos tecidos moles, enquanto 67% respondeu “Não” (Gráfico 19).

## 2.7 Lesões precipitadas por stress



**Gráfico 20** - Lesões aftosas precipitadas por stress

Quanto à influência do stress, apenas 6% respondeu ter crises de lesões aftosas em situações de stress, enquanto 94% respondeu que o stress não tem influência (Gráfico 20).

## 2.8 Impacto na higiene oral

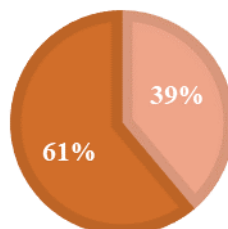


**Gráfico 21** - Impacto das lesões aftosas na higiene oral

Dos indivíduos com EAR, 44% disse não sentir o impacto das lesões aftosas nos hábitos de higiene oral, 6% respondeu “Sim, escovo menos vezes/ Não escovo os dentes”, 44% “Sim, evito escovar no local da(s) afta(s)” e 6% indicou “Sim, bochecho com colutório, além de escovar” (Gráfico 21).

## 2.9 Impacto nos hábitos alimentares

- Não, consigo comer normalmente
- Sim, tenho dificuldade em mastigar certos alimentos

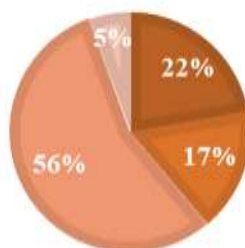


**Gráfico 22** - Impacto das lesões aftosas nos hábitos alimentares

Quanto ao impacto das lesões aftosas nos hábitos alimentares, 39% respondeu que não altera os seus hábitos alimentares e 61% respondeu que tem dificuldade em mastigar certos alimentos (Gráfico 22).

## 2.10 Influência Genética

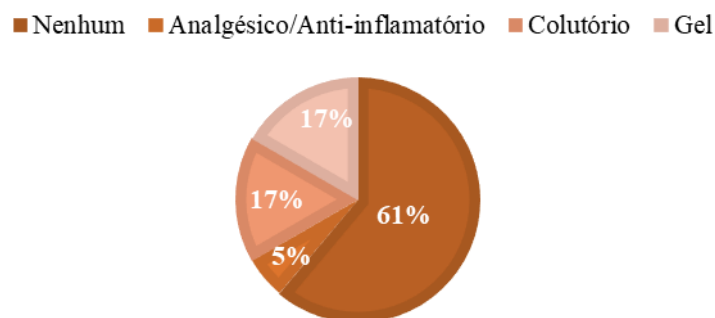
- Mãe
- Pai
- Nenhum
- Ambos



**Gráfico 23** - Influência genética na prevalência de EAR

Em termos de hereditariedade da EAR, 56% dos indivíduos com a doença indicaram que “Nenhum” dos progenitores sofre da patologia, enquanto 22% disse que a “Mãe” também tinha EAR, 17% respondeu “Pai” e 5% “Ambos” (Gráfico 23).

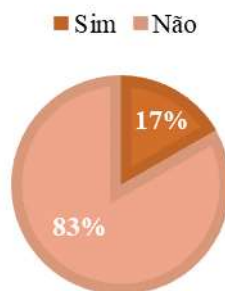
### 2.11 Tratamento médico



**Gráfico 24** - Tratamento médico numa crise aftosa

Perante uma crise de lesões aftosas de EAR, 61% dos elementos não efetua qualquer tipo de tratamento. Dos elementos que fazem tratamento, 5% toma analgésicos/ anti-inflamatórios para alívio da dor, 17% bochecha com colutórios e outros 17% aplica um gel tópico (Gráfico 24).

### 2.12 Comunicação do problema ao Médico Dentista



**Gráfico 25** - Comunicação do problema ao Médico Dentista

Apenas 17% dos inquiridos comunicou ao seu Médico Dentista a patologia, sendo que 83% não se pronunciou sobre as crises em contexto de consulta (Gráfico 25).

### 3. Associação entre variáveis

#### 3.1 EAR e Género

|                                | P            |
|--------------------------------|--------------|
| <i>Qui-quadrado de Pearson</i> | <b>0.367</b> |

**Tabela 7** - Relação entre a EAR e o Género

Em termos de relação entre a EAR e o género, obteve-se um  $p > 0.05$  ( $p = 0.367$ ), pelo que não existe uma relação estatisticamente significativa entre as variáveis (Tabela 7).

#### 3.2 EAR e Risco de Cárie Dentária

|                                | P            |
|--------------------------------|--------------|
| <i>Qui-quadrado de Pearson</i> | <b>0.022</b> |

**Tabela 8** - Relação entre a EAR e o Risco de Cárie Dentária

Através do teste Qui-quadrado de Pearson, obteve-se um  $p = 0.022$ , ou seja,  $p < 0.05$ , pelo que se pode afirmar que existe uma relação estatisticamente significativa entre a EAR e o risco de Cárie Dentária (Tabela 8).

#### 3.3 EAR e IP

|                                | P            |
|--------------------------------|--------------|
| <i>Teste U de Mann-Whitney</i> | <b>0.415</b> |

**Tabela 9** - Relação entre a EAR e o IP

Com a aplicação do teste U de Mann-Whitney, obteve-se um  $p = 0.415$ , pelo que entre a EAR e o IP não existe uma relação estatisticamente significativa, pois o  $p > 0.05$  (Tabela 9).

### 3.4 EAR e IG

| P                              |              |
|--------------------------------|--------------|
| <i>Teste U de Mann-Whitney</i> | <b>0.053</b> |

**Tabela 10** - Relação entre a EAR e o IG

Através do teste U de Mann-Whitney, o valor obtido de  $p=0.053$  indica que entre a EAR e o IG não existe uma relação estatisticamente significativa, pois o  $p>0.05$  (Tabela 10).

### 3.5 EAR e CPO

| P                              |              |
|--------------------------------|--------------|
| <i>Teste U de Mann-Whitney</i> | <b>0.027</b> |

**Tabela 11** - Relação entre a EAR e o CPO

Através do teste U de Mann-Whitney, obteve-se um  $p=0.027$ , ou seja,  $p<0.05$ , pelo que se pode afirmar que existe uma relação estatisticamente significativa entre a EAR e o CPO (Tabela 11).

### 3.6 EAR e cpo

| P                              |              |
|--------------------------------|--------------|
| <i>Teste U de Mann-Whitney</i> | <b>0.886</b> |

**Tabela 12** - Relação entre a EAR e o cpo

Um valor de  $p=0.886$  foi obtido através do teste U de Mann-Whitney, para as variáveis EAR e cpo. Por ser um  $p>0.05$ , afirma-se que entre a EAR e o cpo não existe uma relação estatisticamente significativa (Tabela 12).

### 3.7 CPO e *Streptococcus mutans*

|             | Média    |      | Mínimo   |     | Máximo   |     | Desvio-padrão |       |
|-------------|----------|------|----------|-----|----------|-----|---------------|-------|
|             | Controlo | EAR  | Controlo | EAR | Controlo | EAR | Controlo      | EAR   |
| $<10^5$     | 0.56     | 1.46 | 0        | 0   | 4        | 4   | 0.444         | 0.402 |
| $\geq 10^5$ | -        | 4.00 | -        | 4   | -        | 4   | -             | 0.000 |
| Negativo    | 1.00     | 1.00 | 0        | 1   | 3        | 1   | 1.000         | 0.000 |

**Tabela 13** - Relação entre o CPO e *Streptococcus mutans*

### 3.8 CPO e *Lactobacillus*

|             | Média    |      | Mínimo   |     | Máximo   |     | Desvio-padrão |       |
|-------------|----------|------|----------|-----|----------|-----|---------------|-------|
|             | Controlo | EAR  | Controlo | EAR | Controlo | EAR | Controlo      | EAR   |
| $<10^5$     | 0.00     | 1.64 | 0        | 0   | 0        | 4   | 0.000         | 0.491 |
| $\geq 10^5$ | -        | 3.00 | -        | 2   | -        | 4   | -             | 1.000 |
| Negativo    | 1.60     | 1.25 | 0        | 0   | 4        | 3   | 0.812         | 0.629 |

**Tabela 14** - Relação entre o CPO e *Lactobacillus*

Nas tabelas 13 e 14, observa-se que no grupo controlo não existiram UFC de *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus*, respetivamente, com contagens iguais ou superiores a  $10^5$ , pelo que não foi possível ver a sua relação com o CPO deste grupo. Contudo, no grupo com EAR é possível inferir que o CPO é superior para estes valores de UFC do que para valores negativos ou inferiores a  $10^5$ .





## VI. DISCUSSÃO

A saúde oral, enquanto parte de um todo, apresenta um impacto significativo no bem-estar geral de crianças e adolescentes, assim como no seu crescimento e desenvolvimento. Uma saúde oral comprometida, de acordo com a *Child Health Insurance Initiative* (2003), pode desencadear doenças orais nas crianças, limitando a sua participação nas atividades escolares em cerca de 51 milhões de horas num ano. A *Healthy People 2010* reforça a necessidade da existência de cuidados orais nas camadas mais jovens da população, com melhora no acesso a serviços de saúde oral (Peterson-Sweeney & Stevens, 2010).

*Guidelines* baseadas na evidência para triagem, educação e monitorização dos serviços de saúde oral são ferramentas fundamentais para os promotores destes cuidados e para a população, no que requer à compreensão da interligação saúde oral/saúde geral. Desta forma, é possível identificar os fatores prejudiciais e promover saúde, no sentido de os erradicar e proporcionar às crianças e adolescentes saúde oral (Peterson-Sweeney & Stevens, 2010).

A Estomatite Aftosa Recorrente, enquanto uma das doenças da mucosa oral mais comuns, mas com etiologia desconhecida, é uma doença que, apesar de ainda ser subestimada como condição de pobre saúde oral, especialmente por parte dos pais, tem impacto psicossocial e afeta a qualidade de vida dos mais jovens (Tecco et al., 2018).

Desta forma, enveredou-se por um estudo de relação entre a EAR e a Cárie Dentária, sendo esta última conhecida como uma das doenças mais prevalentes em todo o mundo (Johansson, Witkowska, Kaveh, Lif Holgerson, & Tanner, 2016), a fim de procurar estabelecer um elo entre as duas doenças e determinar a possível influência do microbioma oral de doentes com EAR no aparecimento e desenvolvimento de lesões cáries.

Para a concretização do estudo, como mencionado anteriormente, foram recrutados 30 participantes (n=30), que, após responderem a um questionário produzido única e exclusivamente para o estudo, foram distribuídos por dois grupos. Em termos de composição, a amostra do grupo controlo é composta por 12 indivíduos (n=12), e a do

grupo com EAR por 18 (n=18). Assim, pretende-se efetuar comparação entre variáveis para ambos os grupos.

Sendo a EAR uma doença que surge tipicamente na infância e adolescência (Jurge et al., 2006), especialmente entre os 10 e os 19 anos (Chavan et al., 2012), com tendência para diminuir a sua frequência e severidade com o avançar da idade (Cui et al., 2016), definiu-se um intervalo de idades dos 6 aos 18 anos, pelo que a média de idades de ambos os grupos ronda os 13/14 anos.

Estudos defendem que não só pessoas mais jovens são mais afetadas, como as mulheres têm maior predisposição para sofrer da patologia (Cui et al., 2016; Huling et al., 2012; Rogers, 1997), embora neste estudo, em termos de distribuição da amostra por género, exista uma equidade no número de indivíduos dos géneros feminino e masculino no grupo com EAR, pelo que não se pode afirmar uma maior tendência para um género ou para outro (p=0.367).

Caracterizando as lesões em si, começou-se por avaliar a sua recorrência/frequência de aparecimento. Verificou-se que 39% dos doentes “Raramente” tem lesões aftosas, 50% tem “Algumas vezes” e apenas 11% tem “Muitas vezes”, ou seja, considera-se que a recorrência no geral da amostra poderá ser entre 3 a 6 episódios por ano de EAR, o que em termos de severidade, se traduz em aftose simples (Rogers, 1997).

Para além de se classificar relativamente à recorrência, o número de lesões por crise de EAR deve também ser notado. A maioria dos doentes (94%), afirmou ter entre 1 a 5 lesões por crise, sendo que nenhum indicou ter mais de 10 por crise. Mais uma vez, tende-se a classificar, quanto à severidade, como aftose simples, caracterizada pela presença de poucas lesões por crise (Rogers, 1997). Quanto à morfologia, poderão ser lesões de EAR minor ou major, consoante avaliação dos restantes critérios, uma vez que estas variam, respetivamente, entre 1 e 5 lesões, e entre 1 e 10 lesões (Akintoye & Greenberg, 2014; Edgar et al., 2017).

Quanto à localização, 49% dos doentes apresentam lesões de localização única e 51% assinalou ter lesões em múltiplos locais. A mucosa é a localização mais assinalada, em que isoladamente representa 33% dos casos, mas em conjunto com as localizações gengiva, língua e palato, representa 78%. Apenas 5% referiu palato, como lesão isolada,

e 17% palato com outra região. Segundo os estudos, habitualmente as lesões de EAR minor concentram-se em maior número na região anterior da cavidade oral e o palato é a localização mais frequente em lesões de EAR major (Tarakji et al., 2015).

Por fim, solicitou-se uma estimativa do tempo de cicatrização. Em 83% dos indivíduos com EAR constou-se um tempo de cicatrização entre 4 a 7 dias, geralmente associado a lesões de EAR minor, pois este tipo de lesões tendem a desaparecer no prazo de 4 a 14 dias (Edgar et al., 2017).

A classificação da EAR depende de todas as variáveis supracitadas. Pode então concluir-se que a amostra é composta essencialmente por crianças e adolescentes com EAR minor, sem predileção no género, uma vez que não se observaram patologias sistémicas envolvidas, as úlceras têm uma duração inferior a 2 semanas, localização maioritariamente anterior, lesões em pequeno número, tempo de cicatrização curto e uma idade de incidência coincidente com outras evidências (Montgomery-Cranny et al., 2015). Seria recomendável ter inquirido também acerca da dimensão das lesões aftosas, para um diagnóstico mais completo.

Procurou-se ainda classificar as úlceras quanto à dor, numa escala de 0 a 5, em que a maior percentagem incidiu numa dor nível 3 (33%), seguida de dor nível 1 (22%), com apenas 6% a referir dor nível 5. A dor é uma componente importante da caracterização da doença, uma vez que o nível de dor e o stress psicológico associado a este oscila e a gestão da doença deve ser feita, de acordo com o impacto que tem na qualidade de vida (Montgomery-Cranny et al., 2015).

Diversos fatores predisponentes e precipitantes foram mencionados neste trabalho, tendo sido inquiridos os participantes do grupo com EAR, em relação a lesões desencadeadas por trauma, stress ou com influência genética. Para cada um destes fatores, as respostas obtidas indicam que mais de 50% da amostra não é afetada pelos mesmos, pelo que podem existir outros fatores predisponentes ou precipitantes a provocar a incidência e prevalência da doença.

As úlceras aftosas podem ter influência nos hábitos diários dos doentes, tais como os hábitos alimentares. Verificou-se que 61% dos doentes com EAR apresenta dificuldade em mastigar certos alimentos, aquando de uma crise. Também a sua higiene oral sofre

alterações, com 56% dos indivíduos a alterar os seus hábitos, em que escova menos vezes, ou não escova os dentes (6%), evita escovar no local da(s) afta(s) (44%) ou bochecha com um colutório, além de escovar (6%). Portanto, estes resultados vão de encontro a observações de outros estudos, de que as úlceras limitam os doentes na alimentação e comprometem a sua higiene oral, o que pode desencadear o aparecimento de outras doenças, como a Cárie Dentária e a Doença Periodontal. Salienta-se, assim, que a EAR representa um problema major de saúde pública, na medida em que a sua elevada prevalência, dor associada, e impacto na qualidade de vida, afetam as experiências quotidianas individuais (Huling et al., 2012).

Ambos os grupos foram inquiridos acerca dos hábitos de higiene oral e de ingestão de hidratos de carbono. No que diz respeito à frequência de escovagem diária, a amostra no geral está educada para boas práticas de higiene oral, em que 78% do grupo com EAR e 92% do grupo controlo escova os dentes duas ou mais vezes por dia, com nenhum elemento a não escovar os dentes diariamente. Todavia, quanto à frequência de ingestão de hidratos de carbono, é de realçar a maior tendência no grupo com EAR para o hábito de *snacking* três ou mais vezes por dia (61%), comparativamente ao grupo controlo (50%). A Cárie Dentária resulta de um processo de desmineralização dos tecidos dentários, através dos ácidos produzidos na fermentação bacteriana de hidratos de carbono da dieta. O prognóstico da doença pode ser modificado de acordo com a resistência inerente do hospedeiro, a sua suscetibilidade e o estilo de vida, como as práticas de higiene oral, a dieta e a exposição ao flúor (Johansson et al., 2016). Deste modo, é importante educar estes indivíduos para hábitos dietéticos mais saudáveis, dado o comprometimento da higiene oral aquando das crises.

Entre os métodos aplicados para avaliar a higiene oral dos doentes, encontram-se os índices de placa e gengival. Constatou-se que, o grupo com EAR tem índices superiores ao grupo controlo, com uma média de IP de 18.83% e um máximo registado de 51% e uma média de IG de 2.17% e um máximo de 11%. Isto pode dever-se ao facto dos doentes com EAR, perante uma crise de aftas, sentirem necessidade de adaptar os seus hábitos de higiene oral, com uma pequena percentagem a escovar menos vezes ou a não escovar os dentes. Contudo, mais estudos são necessários a fim de avaliar o IP e o IG entre períodos de crises aftosas e períodos de remissão, uma vez que em termos estatísticos não se

encontraram relações estatisticamente significativas entre os índices e a EAR ( $p=0.415$  e  $p=0.053$ , respectivamente).

A EAR como potencial problema de saúde pública, com risco de suscitar outras patologias na cavidade oral, deve ter o devido acompanhamento, por um especialista em saúde oral, embora na amostra em estudo se tenha observado precisamente o oposto. Somente 17% dos inquiridos com EAR comunicou a patologia ao seu médico dentista, o que compromete o correto diagnóstico e tratamento, para além da devida promoção da saúde oral junto destes doentes. De destacar também que 61% dos doentes não efetuam qualquer tratamento para as úlceras, pelo que faz “esperoterapia”, 17% aplica um gel tópico, 17% bochecha com um colutório e outros 5% faz medicação para alívio da dor. Estes últimos valores vêm reforçar a necessidade de acompanhamento por parte de um profissional.

Para determinar o risco de cárie, existe um conjunto de parâmetros a avaliar, entre os quais se destacam os fatores de risco e de proteção individuais. A incipiência da cárie depende do equilíbrio entre esses mesmos fatores (Inquimbert et al., 2019).

Os doentes classificados como baixo risco apresentavam uma combinação de fatores, em que os fatores protetores se sobrepuseram aos fatores de risco, protegendo-os do desenvolvimento de cárie. No entanto, não quer isto dizer que, se ocorrerem alterações no equilíbrio entre os fatores, por adição de medicações sistémicas com efeitos secundários de hipossalivação, por exemplo, não venham a ser reclassificados enquanto doentes de risco elevado ou extremo. Assim como, a presença de restaurações, ou ausência de peças dentárias, não implica que não sejam de baixo risco, uma vez que são doentes que foram sujeitos a tratamento e que atingiram um nível de equilíbrio. Mantendo os cuidados necessários e o nível de alerta, pela sua história pregressa, podem ser observados por um médico dentista em intervalos de tempo mais prolongados (Featherstone et al., 2007).

Doentes de risco moderado são aqueles que, por definição, têm mais fatores de risco do que os doentes de baixo risco. São doentes que não apresentavam cáries ativas, mas que tinham predisposição para desequilíbrio dos seus fatores e se tornarem doentes de risco elevado. Devem ser vigiados com maior frequência que os de baixo risco, consoante

os seus fatores de risco e a opinião do profissional de saúde, como também devem adotar medidas de intervenção preventivas (Featherstone et al., 2007).

A categoria de elevado risco de cárie foi considerada nos participantes com lesões de cárie ativas, mais conhecidas por lesões cavitadas. As cavitações são indicadores de risco, que indicam a progressão da doença, a menos que haja intervenção terapêutica, a fim de diminuir a microflora bacteriana cariogénica e promover a remineralização. Também se classificaram como doentes de elevado risco, os casos em que não havia lesões cavitadas, porém tinham dois ou mais fatores de risco elevado, ou outro indicador de risco, como *whitespots* nas superfícies lisas, ou restaurações nos últimos 3 anos. A frequência de visitas ao médico dentista deve ser mais regular e os tratamentos mais agressivos (Featherstone et al., 2007).

Nenhum participante foi classificado como doente de risco extremo de cárie, visto esta classificação aplicar-se apenas em casos com necessidade de tratamento da hipossalivação severa (Featherstone et al., 2007). Tratando-se de crianças e adolescentes saudáveis, que não fazem medicações sistémicas com efeitos secundários de hipossalivação, considerou-se que os registos de TFSE e TFSNE “muito baixas” (explicados com detalhe mais adiante) não devem predispor estes indivíduos para o risco extremo de cárie, pois observou-se casos com TFSE “muito baixas”, sem uma única lesão de cárie, *white spots* nas superfícies lisas, ou restaurações nos últimos 3 anos, ou seja, sem os indicadores de risco ponderados. Além disto, as crianças mais novas são especialmente mais difíceis de controlar, no sentido de não deglutirem a saliva durante o processo de recolha, pelo que se admite um viés nos valores registados.

A avaliação dos parâmetros para o risco de cárie efetuou-se com recurso ao protocolo CAMBRA® da CDA. Este protocolo preconiza a aplicação de testes salivares. A saliva é um método de avaliação do risco de cárie bem conhecido, através da determinação do fluxo salivar e da sua capacidade tampão. Taxas de secreção salivar baixas são consideradas fatores de risco para a cárie a partir de valores inferiores a 0.7 ml/min de fluxo salivar estimulado (Silla & Company, 2013). Quanto às TFSE, o grupo com EAR apresenta taxas de secreção salivar “muito baixas” superiores às do grupo controlo, o que torna este grupo mais suscetível para a cárie, visto não ter a saliva como fator protetor, embora neste mesmo grupo, um número de doentes equivalente apresente valores de taxas

“normais”. Em termos de TFSNE, metade dos indivíduos com EAR apresenta taxas “normais”. A capacidade tampão permite inferir acerca da capacidade da saliva de neutralizar a ação dos ácidos na cavidade oral (Hurlbutt, 2011), mas, apesar de ser um teste mais rápido e sensível, tem menor destaque entre os testes de avaliação de risco de cárie (Silla & Company, 2013), pelo que, tendo em consideração que não se conseguiu encomendar os kits CRT Buffer®, se optou por não efetuar este teste.

O preenchimento de uma FDI, para cálculo do CPO e cpo, foi fundamental para a determinação do risco de cárie. Primeiramente, definiu-se a amostra quanto ao tipo de dentição. No grupo controlo há elementos apenas com dentição mista e definitiva, 33% e 67%, respetivamente. No grupo com EAR é clara a prevalência de indivíduos com dentição definitiva (72%), tendo também uma criança com dentição decídua (6%), e as restantes com dentição mista (22%). Estes valores são justificados pela idade de cada participante, uma vez que a maioria tem entre 11 e 18 anos, logo os dentes definitivos prevalecem.

Ao saber-se a dentição de cada participante, registou-se o CPO e o cpo. Quanto ao primeiro, os participantes com EAR apresentam uma média de 1.71 dentes cariados, perdidos e obturados, comparativamente ao grupo controlo, que tem uma média de 0.67 dentes cariados, perdidos e obturados. No que respeita ao cpo, o grupo com EAR atinge um máximo de 12, com média de 3.50 dentes cariados, perdidos e obturados, enquanto o grupo controlo regista 1.50.

Uma relação estatisticamente significativa foi encontrada entre as variáveis EAR e CPO ( $p=0.027$ ), o que vai de encontro aos dados de evidências anteriores, que constatarem que há maior prevalência de lesões aftosas em crianças com CPO superiores a 0, em comparação com crianças saudáveis. A conclusão retirada dessas evidências foi que em crianças com CPO superior a 0, o risco de desenvolver EAR minor é 3 vezes superior (Tecco et al., 2018). Uma limitação deste índice é a indiferenciação dos dados correspondentes a dentes cariados, perdidos ou obturados, pelo que não se consegue determinar qual a variável que teve maior peso no resultado do CPO (Martinicorena, 2013). No estudo de Tecco et al. (2018), observaram que não existe uma relação estatisticamente significativa entre as aftas e os dentes obturados, pelo que se deduz que as cáries em fase ativa têm maior predisposição para a incidência de EAR.

O cpo não tem uma relação estatisticamente significativa com a EAR ( $p=0.886$ ), porém o valor amostral é muito baixo, pelo que não se devem retirar conclusões.

A contagem de UFC de *Lactobacillus* e *Streptococcus mutans* constitui parte do protocolo CAMBRA®, para avaliação do risco de cárie, tendo sido considerados valores de referência de  $10^5$  UFC/ml (Hurlbutt, 2011). Alguns estudos demonstram associação entre as lesões cariosas e *Streptococcus mutans*, e durante vários anos foi considerado o principal agente patogénico responsável pela incipiência da cárie. Porém, outros estudos questionam esta associação, pelo facto de ocorrer a doença cárie na ausência destes micro-organismos, o que confirma que *Streptococcus mutans*, por si só, não podem determinar o risco de cárie. A bactéria *Lactobacillus*, por sua vez, tem uma relação comprovada com a Cárie Dentária, embora a nível de prognóstico, e não tanto no seu desenvolvimento, pois através da sua adesão à superfície dentária, promovem a fixação de ácidos orgânicos por outras espécies, o que modifica o microambiente oral, enriquecendo-o em microflora acidúrica. Pode concluir-se que os *Lactobacillus* estão indiretamente relacionados com a progressão da cárie, apesar de também surgirem em indivíduos saudáveis (Inquimbert et al., 2019).

A relação entre o CPO e as bactérias *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus* não foi passível de ser esclarecida estatisticamente, quanto à significância. Mas, a média permite constatar valores de CPO mais elevados para contagens iguais ou superiores a  $10^5$  UFC/ml, unicamente no grupo com EAR. Estes valores vão de encontro ao que outras pesquisas afirmam, indicando a possibilidade de a microflora associada a cáries ser dominada por espécies Gram-positivas, particularmente dos géneros *Actinomyces*, *Streptococcus*, com predominância de *Streptococcus mutans*, e *Lactobacillus* (Corby et al., 2005).

Neste estudo, verificou-se que, quer *Streptococcus mutans*, quer *Lactobacillus* surgiram maioritariamente com contagens de UFC inferiores a  $10^5$  em ambos os grupos, e não se aplicaram testes de significância, dado o baixo valor amostral, que resultou em números menores que 5 ( $n<5$ ) para algumas variáveis. Assim, não é possível concluir se existe uma relação estatisticamente significativa entre o número de UFC de cada espécie e a EAR, apesar de percentualmente não existir uma tendência para a prevalência da presença destas espécies na EAR.



Também *Streptococcus salivarius*, colonizadores primários, com localização preferencial na língua (Smith, Anderson, King, van Houte, & Taubman, 1993), estão associados à cárie pela sua atividade altamente cariogénica (Inquimbert et al., 2019). São consideradas as espécies predominantes na cavidade oral de recém-nascidos, permanecendo em concentrações elevadas durante a infância. No entanto, a prevalência destas espécies diminui para menos de 10% após a erupção dentária (Smith et al., 1993). Apesar da sua associação à cárie, tal como ocorreu no estudo de Inquimbert et al. (2019), também neste estudo esta bactéria foi encontrada em todos os indivíduos com contagens semelhantes. Deste modo, foram contabilizadas junto com outras espécies identificadas bioquimicamente, como *Streptococcus constellatus*, *Streptococcus equinus* e *Enterococcus avium*, já que não foram as espécies alvo de estudo.

Após recolha dos índices de cálculo de risco de cárie, classificou-se os participantes em doentes de baixo, moderado e elevado risco de cárie. Obtiveram-se resultados significativos de uma associação entre a EAR e o risco de cárie ( $p=0.022$ ), com 89% dos elementos do grupo com EAR a ter elevado risco de cárie, comparado a 50% do grupo controlo, o que implica aceitar a hipótese alternativa ( $H_1$ ) deste estudo como válida: Existe relação entre a prevalência da Estomatite Aftosa Recorrente e o risco de Cárie Dentária, numa população infantojuvenil.

Após análise do risco de cárie, reforça-se que, embora o risco de cárie seja superior em indivíduos com EAR, 78% deste grupo apresentou valores inferiores a  $10^5$ , com apenas 11% a manifestar elevadas contagens da espécie *Streptococcus mutans*. O mesmo se verificou com os *Lactobacillus*, com 67% do grupo com EAR com UFC abaixo de  $10^5$ .

Com a hipótese alternativa válida, é importante procurar o cerne da relação entre as doenças EAR e Cárie Dentária, e determinar se serão manifestações clínicas com fatores causais comuns, ou se uma doença poderá desencadear a outra. O proposto neste estudo, consistiu em evidenciar uma relação através do antagonismo existente entre as espécies conhecidas pela sua influência na EAR e na Cárie Dentária, procedendo-se ao cultivo de meios de crescimento bacteriano e à sua identificação fenotípica e bioquímica.

*Streptococcus sanguinis* estão significativamente associados a saúde dentária e são conhecidos como agentes de colonização primária da cavidade oral (Inquimbert et al., 2019). Surgem na cavidade oral após a erupção dentária, pelo que as evidências sugerem

que os dentes providenciam zonas retentivas ou recetores necessários para a sua colonização inicial. Posteriormente, tornam-se componentes major da placa bacteriana e a sua concentração na saliva é elevada o suficiente para colonizar locais do epitélio oral com menor afinidade (Smith et al., 1993).

As bactérias podem contribuir para a patogénese da EAR, seja como patógenos, ou como fonte de antígenos que induzem a produção de anticorpos, com reações cruzadas com os queratinócitos da cavidade oral. A natureza recorrente da EAR pode ser explicada pela ação de *Streptococcus sanguinis* 2A, como agentes causais da EAR, em que a sua forma L instável se converte num patógeno responsável pela progressão da doença, enquanto a forma L estável se mantém inativa. Todavia, a associação direta entre a EAR e este micro-organismo ainda não foi confirmada (Bankvall et al., 2014).

Os *Streptococcus* competem pela adesão às superfícies dentárias e são capazes de produzir compostos antimicrobianos, como as bacteriocinas e o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Quando *Streptococcus sanguinis* estão presentes em elevadas concentrações no biofilme oral, conseguem antagonizar a atividade de *Streptococcus mutans*. Porém, *Streptococcus mutans*, caso se tornem dominantes no biofilme, levam ao desenvolvimento de cárie. A sua dominância irá depender da competição com *Streptococcus sanguinis* e é influenciada pela produção dos compostos antimicrobianos, as mutacinas I e IV por parte de *Streptococcus mutans* e o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> por parte de *Streptococcus sanguinis* (Kreth, Zhang, & Herzberg, 2008).

Acredita-se num papel protetor de *Streptococcus sanguinis* contra *Streptococcus mutans*. Investigadores obtiveram resultados que levam a crer que existe uma interação entre ambas as espécies. As suas descobertas permitem não só afirmar que os *Streptococcus mutans* não são os únicos responsáveis pelo risco de cárie, como também sugerem que a interação das espécies pode desempenhar um papel fulcral na experiência de cárie em crianças (Ge, Caufield, Fisch, & Li, 2008).

No estudo de Inquimbert et al. (2019), os resultados indicaram uma quantidade de *Streptococcus sanguinis* cerca de 90 vezes superior à de *Streptococcus mutans* na cavidade oral. No presente estudo observaram-se, de facto, contagens elevadas de UFC de *Streptococcus sanguinis*, enquanto as contagens de UFC de *Streptococcus mutans* foram baixas na maioria da amostra.

De destacar que, quanto às contagens de *Streptococcus sanguinis*, esta espécie foi identificada unicamente pelo seu fenótipo, porque em termos bioquímicos não se conseguiu identificá-la, por dificuldade no isolamento cultural das colónias, o que tornou este método ineficiente na deteção da espécie. Sugere-se que, para efeitos de futuros estudos, se realize análise e identificação molecular das espécies bacterianas.

Apesar da razão entre *Streptococcus sanguinis*/*Streptococcus mutans* estar de acordo com estudos prévios, as contagens das duas espécies para ambos os grupos foram semelhantes, logo não é exequível clarificar o envolvimento microbiano na relação existente entre a EAR e a Cárie Dentária, pelo que mais estudos são necessários para determinar o fator chave que define a razão pela qual a prevalência de Estomatite Aftosa Recorrente está associada ao risco de Cárie Dentária.

O estudo apresenta limitações, entre as quais se encontra a recolha de dados efetuada em ambulatório, sem um espaço médico dentário preparado. Apesar de se ter procurado cumprir com todos os requisitos necessários para um correto diagnóstico de lesões de cárie e registo de índices, podem existir erros associados à recolha por este motivo. Para além disso, a recolha de dados para caracterização das aftas, e aplicação dos critérios de inclusão da amostra, foi via questionário, pelo que algumas respostas podem ter sido menos sinceras e precisas, por parte das crianças e adolescentes, embora se tivesse o cuidado de esclarecer quaisquer dúvidas que surgissem durante o processo.



## VII. CONCLUSÃO

O objetivo do presente estudo foi determinar a possível existência de uma relação entre a prevalência da Estomatite Aftosa Recorrente e o risco de Cárie Dentária, numa população infantojuvenil, com recurso a observação clínica intraoral, índices de cálculo de risco de cárie e culturas bacterianas.

Das 30 crianças e adolescentes recrutados para o estudo, 60% integrou o grupo com Estomatite Aftosa Recorrente. Caracterizou-se a doença através de um questionário e concluiu-se que a maioria dos participantes aparenta sofrer de Estomatite Aftosa Recorrente minor e aftose simples.

No que consta ao IP e ao IG, o grupo com Estomatite Aftosa Recorrente apresenta valores superiores aos do grupo controlo, embora os hábitos de higiene oral sejam semelhantes entre ambos, o que leva a questionar a influência da redução dos hábitos de higiene oral durante períodos de crises de lesões aftosas nestes índices.

Quanto ao CPO, verificou-se que existe uma relação estatisticamente significativa entre este e a Estomatite Aftosa Recorrente ( $p=0.027$ ). Este resultado é reforçado pela confirmação de uma relação entre a Estomatite Aftosa Recorrente e o risco de Cárie Dentária ( $p=0.022$ ), o que implica aceitar a hipótese alternativa deste estudo.

Com o objetivo de esclarecer o fundamento desta relação, procurou-se determinar a influência dos micro-organismos, que se julgam patogénicos principais de cada doença.

Observaram-se contagens elevadas de UFC/ml de *Streptococcus sanguinis* ( $\geq 10^5$ ) e contagens baixas de UFC/ml de *Streptococcus mutans* ( $< 10^5$ ), para os dois grupos. Apesar de se encontrar um possível antagonismo entre estas espécies, nenhuma conclusão foi retirada quanto à sua influência na relação entre as duas doenças.

Deste modo, sugere-se a concretização de mais estudos, por forma a determinar a razão pela qual existe relação entre a prevalência de Estomatite Aftosa Recorrente e o risco de Cárie Dentária, numa população infantojuvenil.



## VIII. BIBLIOGRAFIA

- Aas, J. A., Paster, B. J., Stokes, L. N., Olsen, I., & Dewhirst, F. E. (2005). Defining the Normal Bacterial Flora of the Oral Cavity. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(11), 5721–5732. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.11.5721>
- Abranches, J., Zeng, L., Kajfasz, J. K., Palmer, S. R., Chakraborty, B., Wen, Z. T., ... Lemos, J. A. (2018). Biology of Oral Streptococci. *Microbial Spectrum*, 6(5), 1–12. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0042-2018.Biology>
- Akintoye, S. O., & Greenberg, M. S. (2014). Recurrent Aphthous Stomatitis. *Dental Clinics of North America*, 58(2), 281–297. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2013.12.002>
- Baker, J. L., & Edlund, A. (2019). Exploiting the Oral Microbiome to Prevent Tooth Decay : Has Evolution Already Provided the Best Tools ? *Frontiers in Microbiology*, 9, 1–7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.03323>
- Bankvall, M., Sjöberg, F., Gale, G., Wold, A., Jontell, M., & Östman, S. (2014). The oral microbiota of patients with recurrent aphthous stomatitis. *Journal of Oral Microbiology*, 6, 1–11. <https://doi.org/10.3402/jom.v6.25739>
- Becker, M. R., Paster, B. J., Leys, E. J., Moeschberger, M. L., Kenyon, S. G., Galvin, J. L., ... Griffen, A. L. (2002). Molecular Analysis of Bacterial Species Associated with Childhood Caries. *Journal of Clinical Microbiology*, 40(3), 1001–1009. <https://doi.org/10.1128/JCM.40.3.1001>
- Caufield, P. W., Dasanayake, A. P., Li, Y., Pan, Y., Hsu, J., & Hardin, J. M. (2000). Natural history of Streptococcus sanguinis in the oral cavity of infants: Evidence for a discrete window of infectivity. *Infection and Immunity*, 68(7), 4018–4023. <https://doi.org/10.1128/IAI.68.7.4018-4023.2000>
- Chavan, M., Jain, H., Diwan, N., Khedkar, S., Shete, A., & Durkar, S. (2012). Recurrent aphthous stomatitis: A review. *Journal of Oral Pathology and Medicine*, 41(8), 577–583. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.2012.01134.x>
- Collaborators GBD, 2016 Disease and Injury Incidence and Prevalence. (2017). Global,

- regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 328 diseases and injuries for 195 countries, 1990-2016: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet*, 390(10100), 1211–1259. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)32154-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)32154-2)
- Corby, P. M., Lyons-Weiler, J., Bretz, W. A., Hart, T. C., Aas, J. A., Boumenna, T., ... Paster, B. J. (2005). Microbial risk indicators of early childhood caries. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(11), 5753–5759. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.11.5753-5759.2005>
- Cui, R. Z., Bruce, A. J., & Rogers, R. S. (2016). Recurrent aphthous stomatitis. *Clinics in Dermatology*, 34(4), 475–481. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2016.02.020>
- Dewhirst, F. E., Chen, T., Izard, J., Paster, B. J., Tanner, A. C. R., Yu, W.-H., ... Wade, W. G. (2010). The Human Oral Microbiome. *Journal of Bacteriology*, 192(19), 5002–5017. <https://doi.org/10.1128/JB.00542-10>
- Díez, I. L. (2011). Caracterización Bioquímica y Tecnológica de Cepas Acido Lácticas Aisladas de Leche Cruda de Oveja en el Proceso de Elaboración de Queso Artesano de Teruel (Tese de Mestrado). Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria. Madrid
- Donatsky, O., & Dabelsteen, E. (1974). An Immunofluorescence Study on the Humoral Immunity To Strep. 2A in Recurrent Aphthous Stomatitis. *Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica Section B Microbiology and Immunology*, 82(1), 107–112. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.1974.tb01658.x>
- Donatsky, O., Justesen, T., Lind, K., & Vestergaard, B. F. (1977). Microorganisms in recurrent aphthous ulcerations. *European Journal of Oral Sciences*, 85(6), 426–433. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0722.1977.tb00576.x>
- Dzidic, M., Collado, M. C., Abrahamsson, T., Artacho, A., Stensson, M., Jenmalm, M. C., & Mira, A. (2018). Oral microbiome development during childhood: an ecological succession influenced by postnatal factors and associated with tooth decay. *The ISME Journal*, 12(9), 2292–2306. <https://doi.org/10.1038/s41396-018-0204-z>
- Edgar, N. R., Saleh, D., & Miller, R. A. (2017). Recurrent Aphthous Stomatitis: A



- Review. *The Journal of Clinical and Aesthetic Dermatology*, 10(3), 26–36.
- Falcão, D. P., Mota, L. M. H., Pires, A. L., & Bezerra, A. C. B. (2013). Sialometry : aspects of clinical interest. *Sociedade Brasileira de Reumatologia*, 53(6), 525–531. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.rbre.2013.03.001>
- Featherstone, J. D. B., Domejean-Orliaguet, S., Jenson, L., Wolff, M., & Young, D. A. (2007). Caries Risk Assessment in Practice for Age 6 Through Adult. *Journal of California Dental Association*, 35(10), 703–713.
- Fitzpatrick, S. G., Cohen, D. M., & Clark, A. N. (2019). Ulcerated Lesions of the Oral Mucosa : Clinical and Histologic Review. *Head and Neck Pathology*, 13(1), 91–102. <https://doi.org/10.1007/s12105-018-0981-8>
- Ge, Y., Caufield, P. W., Fisch, G. S., & Li, Y. (2008). Streptococcus mutans and Streptococcus sanguinis colonization correlated with caries experience in children. *Caries Research*, 42(6), 444–448. <https://doi.org/10.1159/000159608>
- Gomes, C. C., Gomez, R. S., Zina, L. G., & Amaral, F. R. (2016). Recurrent aphthous stomatitis and Helicobacter pylori. *Medicina Oral, Patologia Oral y Cirugia Bucal*, 21(2), 187–191. <https://doi.org/10.4317/medoral.20872>
- Gomez, A., & Nelson, K. E. (2017). The Oral Microbiome of Children: Development, Disease and Implications Beyond Oral Health. *Microbial Ecology*, 73(2), 492–503. <https://doi.org/10.1007/s00248-016-0854-1>.The
- Hijazi, K., Lowe, T., Meharg, C., Berry, S. H., Foley, J., & Hold, G. L. (2015). Mucosal Microbiome in Patients with Recurrent Aphthous Stomatitis. *Journal of Dental Research*, 94(3), 87–94. <https://doi.org/10.1177/0022034514565458>
- Huling, L. B., Baccaglini, L., Choquette, L., Feinn, R. S., & Lalla, R. V. (2012). Effect of stressful life events on the onset and duration of recurrent aphthous stomatitis. *Journal of Oral Pathology and Medicine*, 41(2), 149–152. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.2011.01102.x>
- Hurlbutt, M. (2011). CAMBRA: Best Practices in Dental Caries Management. *The Academy of Dental Therapeutics and Stomatology*.
- Informação genética pessoal e informação de saúde, decreto-lei n.º12/2005 de 26 de

janeiro (2005)

- Inquimbert, C., Bourgeois, D., Bravo, M., Viennot, S., Tramini, P., Llodra, J. C., ... Carrouel, F. (2019). The oral bacterial microbiome of interdental surfaces in adolescents according to carious risk. *Microorganisms*, 7(9), 1–24. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7090319>
- Johansson, I., Witkowska, E., Kaveh, B., Lif Holgerson, P., & Tanner, A. C. R. (2016). The Microbiome in Populations with a Low and High Prevalence of Caries. *Journal of Dental Research*, 95(1), 80–86. <https://doi.org/10.1177/0022034515609554>
- Jurge, S., Kuffer, R., Scully, C., & Porter, S. R. (2006). Number VI Recurrent aphthous stomatitis. *Oral Diseases*, 12(1), 1–21. <https://doi.org/10.1111/j.1601-0825.2005.01143.x>
- Kim, Y. J., Choi, Y. S., Baek, K. J., Yoon, S. H., Park, H. K., & Choi, Y. (2016). Mucosal and salivary microbiota associated with recurrent aphthous stomatitis. *BMC Microbiology*, 16(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12866-016-0673-z>
- Kreth, J., Zhang, Y., & Herzberg, M. C. (2008). Streptococcal antagonism in oral biofilms: Streptococcus sanguinis and Streptococcus gordonii interference with Streptococcus mutans. *Journal of Bacteriology*, 190(13), 4632–4640. <https://doi.org/10.1128/JB.00276-08>
- Krisdapong, S., Sheiham, A., & Tsakos, G. (2012). Impacts of recurrent aphthous stomatitis on quality of life of 12- and 15-year-old Thai children. *Quality of Life Research*, 21(1), 71–76. <https://doi.org/10.1007/s11136-011-9925-4>
- 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. <https://doi.org/10.1111/odi.12509>
- 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>.The
- Marchini, L., Campos, M. S., Silva, A. M., Paulino, L. C., & Nobrega, F. G. (2007). Bacterial diversity in aphthous ulcers. *Oral Microbiology and Immunology*, 22(4), 225–231. <https://doi.org/10.1111/j.1399-302X.2006.00345.x>

- Marsh, P. D., & Zaura, E. (2017). Dental biofilm : ecological interactions in health and disease. *Journal of Clinical Periodontology*, 44, 12–22. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12679>
- Martinicorena, F. J. C. (2013). Medición de la salud y la enfermedad en odontología comunitaria. In E. C. Sala & P. B. García (Eds.), *Odontología preventiva y comunitaria - Principios, métodos y aplicaciones* (4ª edição, pp. 47–59). Barcelona, Espanha: Elsevier Masson.
- Montgomery-Cranny, J. A., Wallace, A., Rogers, H. J., Hughes, S. C., Hegarty, A. M., & Zaitoun, H. (2015). Management of Recurrent Aphthous Stomatitis in Children. *Dental Update*, 42(6), 564–572. <https://doi.org/https://doi.org/10.12968/denu.2015.42.6.564>
- Navazesh, M., & Kumar, S. (2008). Measuring salivary flow. *The Journal of the American Dental Association*, 139, 35S–40S. <https://doi.org/10.14219/jada.archive.2008.0353>
- Peterson-Sweeney, K., & Stevens, J. (2010). Optimizing the health of infants and children: Their oral health counts! *Journal of Pediatric Nursing*, 25(4), 244–249. <https://doi.org/10.1016/j.pedn.2009.03.003>
- Piovesan, C., Batista, A., Ferreira, F. V., & Ardenghi, T. M. (2009). Oral health-related quality of life in children: Conceptual issues. *Revista Odonto Ciência*, 24(1), 81–85.
- Porter, S. R., Scully, C., & Pedersen, A. (1998). RECURRENT APHTHOUS STOMATITIS. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 9(3), 306–321.
- Queiroz, S. I. M. L., Silva, M. V. A., Medeiros, A. M. C., Oliveira, P. T., Gurgel, B. C. de V., & Silveira, É. J. D. (2018). Recurrent aphthous ulceration: An epidemiological study of etiological factors, treatment and differential diagnosis. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 93(3), 341–346. <https://doi.org/10.1590/abd1806-4841.20186228>
- Rogers, R. S. (1997). Recurrent aphthous stomatitis: Clinical characteristics and associated systemic disorders. *Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery*, 16(4), 278–283. [https://doi.org/10.1016/S1085-5629\(97\)80017-X](https://doi.org/10.1016/S1085-5629(97)80017-X)
- Scully, C., Gorsky, M., & Lozada-Nur, F. (2003). The diagnosis and management of

- recurrent aphthous stomatitis: A consensus approach. *Journal of the American Dental Association*, 134(2), 200–207.  
<https://doi.org/10.14219/jada.archive.2003.0134>
- Seoudi, N., Bergmeier, L. A., Drobniowski, F., Paster, B., & Fortune, F. (2015). The oral mucosal and salivary microbial community of Behçet's syndrome and recurrent aphthous stomatitis. *Journal of Oral Microbiology*, 7(1), 1–9.  
<https://doi.org/10.3402/jom.v7.27150>
- Shim, Y. J., Choi, J., Ahn, H., & Kwon, J. (2012). Effect of sodium lauryl sulfate on recurrent aphthous stomatitis : a randomized controlled clinical trial. *Oral Diseases*, 18(7), 655–660. <https://doi.org/10.1111/j.1601-0825.2012.01920.x>
- Silla, J. M. A., & Company, J. M. M. (2013). Riesgo de caries: evaluación y control. In E. C. Sala & P. B. García (Eds.), *Odontología preventiva y comunitaria - Principios, métodos y aplicaciones* (4ª Edição, pp. 107–117). Barcelona, Espanha: Elsevier Masson.
- Silveira, J. L. G. C., Oliveira, V., & Padilha, W. W. N. (2002). Avaliação da redução do índice de placa visível e do índice de sangramento gengival em uma prática de promoção de saúde bucal com crianças. *Pesquisa Odontológica Brasileira*, 16(2), 169–174. <https://doi.org/10.1590/s1517-74912002000200013>
- Smith, D. J., Anderson, J. M., King, W. F., van Houte, J., & Taubman, M. A. (1993). Oral streptococcal colonization of infants. *Oral Microbiology and Immunology*, 8(1), 1–4. <https://doi.org/10.1111/j.1399-302X.1993.tb00535.x>
- Struzycka, I. (2014). The oral microbiome in dental caries. *Polish Journal of Microbiology*, 63(2), 127–135. <https://doi.org/10.33073/pjm-2014-018>
- Tarakji, B., Gazal, G., Al-Maweri, S. A., Azzeghaiby, S. N., & Alaizari, N. (2015). Guideline for the diagnosis and treatment of recurrent aphthous stomatitis for dental practitioners. *Journal of International Oral Health : JIOH*, 7(5), 74–80. Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4441245/>
- Tecco, S., Sciara, S., Pantaleo, G., Nota, A., Visone, A., Germani, S., ... Gherlone, E. F. (2018). The association between minor recurrent aphthous stomatitis (RAS), children's poor oral condition, and underlying negative psychosocial habits and

- attitudes towards oral hygiene. *BMC Pediatrics*, 18(1), 1–9.  
<https://doi.org/10.1186/s12887-018-1094-y>
- Yang, Z., Cui, Q., An, R., Wang, J., Song, X., Shen, Y., ... Xu, H. (2020). Comparison of microbiomes in ulcerative and normal mucosa of recurrent aphthous stomatitis (RAS ) -affected patients. *BMC Oral Health*, 20(1), 1–8.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1186/s12903-020-01115-5>
- Zhu, B., Macleod, L. C., Kitten, T., & Xu, P. (2018). Streptococcus sanguinis biofilm formation & interaction with oral pathogens. *Future Microbiology*, 13(8), 915–932.  
<https://doi.org/10.2217/fmb-2018-0043>



## IX. ANEXOS

### Anexo I – Consentimento Informado



Monte de Caparica, \_\_de \_\_de \_\_\_\_

Exmo.(a) Sr.(a),

No âmbito do Mestrado Integrado em Medicina Dentária na Unidade Curricular de Orientação Tutorial de Projeto Final do Instituto Universitário Egas Moniz, sob a orientação da Professora Doutora Armanda Maria Subtil Amorim Rodrigues de Abreu, solicita-se autorização para a participação no estudo intitulado **“Relação entre a prevalência da Estomatite Aftosa Recorrente e o risco de Cárie Dentária numa população infantojuvenil”**, que terá como público alvo crianças e adolescentes dos 6 aos 18 anos.

O objetivo do estudo é avaliar a prevalência da Estomatite Aftosa Recorrente, comumente conhecida por aftas, em crianças e adolescentes, dos 6 aos 18 anos, e a sua relação com o risco de desenvolvimento de Cárie Dentária, que consiste na seguinte participação:

1. Recolha da história clínica, através da aplicação de um questionário, intitulado **“Questionário de recolha de História Clínica e avaliação da Estomatite Aftosa Recorrente”** (exemplar em anexo), para determinar se existe, ou não, a presença de lesões aftosas recorrentes, no local em que o participante frequenta a catequese. Este procedimento leva cerca de 10 minutos;
2. Observação clínica intraoral e realização dos índices de placa (IP) e gengival (IG) (avaliam, respetivamente, a higiene oral e a inflamação gengival), CPO (dentes cariados, perdidos e obturados) e o protocolo CAMBRA (questionário acompanhado de testes salivares e culturas bacterianas), não levando mais de 20 minutos para a concretização desta etapa;
3. Recolha de saliva, num meio apropriado, codificado para preservar o anonimato, também no local em que o participante frequenta a catequese, para futura análise microbiológica em laboratório no Instituto Universitário Egas Moniz.

A participação neste estudo é voluntária. A sua não participação não lhe trará qualquer prejuízo, podendo desistir a qualquer momento, se assim o entender.

Este estudo pode trazer benefícios, tais como uma melhor abordagem da prevenção e do tratamento da Estomatite Aftosa Recorrente, por compreensão da sua influência noutras patologias da cavidade oral, assim como incentivar ao progresso do conhecimento.



## Consentimento Informado

Código | [BAP/ESAP/17\\_03](#)

A informação recolhida destina-se unicamente a tratamento estatístico e/ou publicação e será tratada pelo(s) orientador(es) e/ou pelos seus mandatados. A sua recolha é anónima e confidencial, garantindo-se a proteção dos dados recolhidos do participante.

*(Riscar o que não interessa)*

**ACEITO/NÃO ACEITO** participar neste estudo, confirmando que fui esclarecido sobre as condições do mesmo e que não tenho dúvidas.

---

*(Assinatura do participante ou, no caso de menores, do pai/mãe ou tutor legal)*



## Anexo II – Questionário de Recolha de História Clínica



### Questionário de recolha de História Clínica e avaliação da Estomatite Aftosa Recorrente

Nº do Questionário: \_\_\_\_\_

Idade \_\_\_\_\_

Género: F ☐ M ☐

Assinala da seguinte forma ☒ a(s) resposta(s) correspondente(s) à tua situação. Se tiveres dúvidas, responde ao questionário com um adulto.

➤ Quantas vezes por dia escovas os dentes?

Nenhuma ☐ 1 vez por dia ☐ 2 ou mais vezes por dia ☐

➤ Estás a usar aparelho ortodôntico (corrigir os dentes) neste momento?

Sim ☐ Não ☐

➤ Tomaste algum antibiótico nos últimos 6 meses?

Sim ☐ Não ☐

➤ Costumas ter herpes labial?

Sim ☐ Não ☐

➤ Tens alguma alergia?

Sim ☐ Não ☐

Se sim, qual? \_\_\_\_\_

➤ Tens alguma doença sistémica?

Sim ☐ Não ☐

Se sim, qual? \_\_\_\_\_

➤ Tomas algum medicamento?

Sim ☐ Não ☐

Se sim, qual? \_\_\_\_\_

➤ Costumas ter aftas?

Sim ☐ Não ☐

Se respondeste não, terminas o questionário aqui.

➤ Com que frequência te surgem as aftas?

Raramente ☐ Algumas vezes ☐ Muitas vezes ☐

➤ Quantas aftas te surgem de cada vez?

Entre 1 e 5 ☐ Entre 5 e 10 ☐ Mais de 10 ☐

➤ Em que locais da boca aparecem as aftas?

Mucosa (interior dos lábios/bochecha) ☐

Gengiva ☐

Língua ☐

Palato (Céu da boca) ☐

Pavimento da boca (debaixo da língua) ☐

➤ Geralmente, quanto tempo demora para as aftas cicatrizarem?

4 a 7 dias ☐ 7 a 10 dias ☐ Mais de 2 semanas ☐

- Como é a dor que sentes quando tens aftas, numa escala de 0 a 5 (0 corresponde a “sem dor” e 5 a “dor muito forte”)?

0 ☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5 ☐

- As aftas aparecem depois de ferires um local da boca? (por exemplo, morder um lábio ou língua, ou magoares a gengiva ao escovar os dentes)

Sim ☐ Não ☐

- As aftas aparecem quando te sentes mais nervoso(a)? (por exemplo, antes de um teste)

Sim ☐ Não ☐

- Consideras que a presença das aftas afeta a tua higiene oral? (tens dificuldade em escovar os dentes)

Não, escovo normalmente ☐

Sim, escovo menos vezes/não escovo os dentes ☐

Sim, evito escovar no local da(s) afta(s) ☐

Sim, bochecho com um colutório, além de escovar ☐

- Consideras que a presença das aftas altera os teus hábitos alimentares? (tens dificuldade em comer certos alimentos)

Não, consigo comer normalmente ☐

Sim, tenho dificuldade em mastigar certos alimentos ☐

- É frequente algum dos teus pais ter aftas?

Mãe ☐ Pai ☐ Nenhum ☐

➤ O que costumavas fazer quando tens aftas?

Nada, espero que passem ☐

Tomo comprimidos para as dores ☐ Se sim, quais? \_\_\_\_\_

Bochecho com colutório ☐ Se sim, qual? \_\_\_\_\_

Uso um gel no local ☐ Se sim, qual? \_\_\_\_\_

➤ Já falaste com o teu médico dentista sobre as tuas aftas?

Sim ☐ Não ☐

Obrigada pela tua colaboração!

### Anexo III – Ficha de registo

**Data:**

**Código:**

IP =

IG =

## Ficha Dentária Internacional

|    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 18 | 17 | 16 | 15 | 14 | 13 | 12 | 11 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 |
|    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
|    |    |    | 55 | 54 | 53 | 52 | 51 | 61 | 62 | 63 | 64 | 65 |    |    |    |
|    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
|    |    |    | 85 | 84 | 83 | 82 | 81 | 71 | 72 | 73 | 74 | 75 |    |    |    |
|    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 48 | 47 | 46 | 45 | 44 | 43 | 42 | 41 | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | 36 | 37 | 38 |

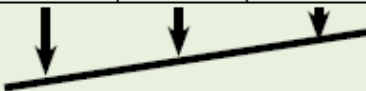
DENTIÇÃO DECÍDUA | Nº. de dentes Cariados \_\_\_\_\_ Perdidos \_\_\_\_\_ Obturados \_\_\_\_\_

DENTIÇÃO DEFINITIVA | Nº. de dentes Cariados \_\_\_\_\_ Perdidos \_\_\_\_\_ Obturados \_\_\_\_\_

Fluxo salivar estimulado:

Fluxo salivar não estimulado:

## Anexo IV – Questionário CAMBRA®

| Caries Risk Assessment Form — Children Age 6 and Over/Adults                                                                                                                                                                                                                                       |              |                |              |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|----------------|--------------|
| Patient Name: _____                                                                                                                                                                                                                                                                                |              | Chart #: _____ | Date: _____  |
| Assessment Date: Is this (please circle) base line or recall                                                                                                                                                                                                                                       |              |                |              |
| Disease Indicators (Any one "YES" signifies likely "High Risk" and to do a bacteria test**)                                                                                                                                                                                                        | YES - CIRCLE | YES - CIRCLE   | YES - CIRCLE |
| Visible cavities or radiographic penetration of the dentin                                                                                                                                                                                                                                         | YES          |                |              |
| Radiographic approximal enamel lesions (not in dentin)                                                                                                                                                                                                                                             | YES          |                |              |
| White spots on smooth surfaces                                                                                                                                                                                                                                                                     | YES          |                |              |
| Restorations last 3 years                                                                                                                                                                                                                                                                          | YES          |                |              |
| Risk Factors (Biological predisposing factors)                                                                                                                                                                                                                                                     |              | YES            |              |
| MS and LB both medium or high (by culture*)                                                                                                                                                                                                                                                        |              | YES            |              |
| Visible heavy plaque on teeth                                                                                                                                                                                                                                                                      |              | YES            |              |
| Frequent snack (> 3x daily between meals)                                                                                                                                                                                                                                                          |              | YES            |              |
| Deep pits and fissures                                                                                                                                                                                                                                                                             |              | YES            |              |
| Recreational drug use                                                                                                                                                                                                                                                                              |              | YES            |              |
| Inadequate saliva flow by observation or measurement (**if measured, note the flow rate below)                                                                                                                                                                                                     |              | YES            |              |
| Saliva reducing factors (medications/radiation/systemic)                                                                                                                                                                                                                                           |              | YES            |              |
| Exposed roots                                                                                                                                                                                                                                                                                      |              | YES            |              |
| Orthodontic appliances                                                                                                                                                                                                                                                                             |              | YES            |              |
| Protective Factors                                                                                                                                                                                                                                                                                 |              |                |              |
| Lives/work/school fluoridated community                                                                                                                                                                                                                                                            |              |                | YES          |
| Fluoride toothpaste at least once daily                                                                                                                                                                                                                                                            |              |                | YES          |
| Fluoride toothpaste at least 2x daily                                                                                                                                                                                                                                                              |              |                | YES          |
| Fluoride mouthrinse (0.05% NaF) daily                                                                                                                                                                                                                                                              |              |                | YES          |
| 5,000 ppm F fluoride toothpaste daily                                                                                                                                                                                                                                                              |              |                | YES          |
| Fluoride varnish in last 6 months                                                                                                                                                                                                                                                                  |              |                | YES          |
| Office F topical in last 6 months                                                                                                                                                                                                                                                                  |              |                | YES          |
| Chlorhexidine prescribed/used one week each of last 6 months                                                                                                                                                                                                                                       |              |                | YES          |
| Xylitol gum/lozenges 4x daily last 6 months                                                                                                                                                                                                                                                        |              |                | YES          |
| Calcium and phosphate paste during last 6 months                                                                                                                                                                                                                                                   |              |                | YES          |
| Adequate saliva flow (> 1 ml/min stimulated)                                                                                                                                                                                                                                                       |              |                | YES          |
| **Bacteria/Saliva Test Results: MS: LB: Flow Rate: ml/min. Date: _____                                                                                                                                                                                                                             |              |                |              |
| <p>VISUALIZE CARIES BALANCE<br/>(Use circled indicators/factors above)<br/>(EXTREME RISK = HIGH RISK + SEVERE SALIVARY GLAND HYPOFUNCTION)<br/>CARIES RISK ASSESSMENT (CIRCLE): EXTREME HIGH MODERATE LOW</p>  |              |                |              |
| Doctor signature/#: _____                                                                                                                                                                                                                                                                          |              | Date: _____    |              |

## Anexo V – Aprovação da Comissão de Ética

Comissão de Ética EGAS MONIZ



Proc. Interno nº 825

Ex.ma Senhora

**Cátia Sofia dos Santos Capelas**

Monte de Caparica, 19 de dezembro de 2019.

Ex.ma Senhora,

Em resposta ao Pedido de Parecer que submeteu à apreciação da Comissão de Ética da Egas Moniz, com o tema denominado **“Relação entre a prevalência da Estomatite Aftosa recorrente e o risco de cárie dentária numa população infantojuvenil”**, foi aprovado por unanimidade.

Com os melhores cumprimentos,

A Presidente da Comissão de Ética da Egas Moniz

  
Prof.ª Doutora Maria Fernanda de Mesquita

## Anexo VI – Consentimento Livre e Esclarecido para autorização fotográfica e publicação

Data: 15/10/20

### Consentimento Livre e Esclarecido para autorização fotográfica e publicação

Concordo com a obtenção de fotografias por parte da discente Cátia Sofia dos Santos Capelas, da minha imagem ou partes do meu corpo, relacionada com os procedimentos realizados no âmbito do Mestrado Integrado em Medicina Dentária, Unidade Curricular de Orientação Tutorial de Projeto Final, sob orientação da Prof. Doutora Armanda Maria Subtil Amorim Rodrigues de Abreu. Concordo também com a publicação de tais registos sob a forma de publicação científica.

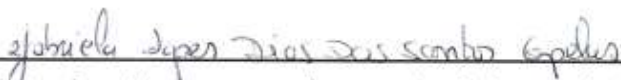
Não serei identificado pelo nome em qualquer publicação, assim como nenhum membro da minha família.

Entendo que tenho o direito de revogar esta autorização por escrito, a qualquer momento, mas se o fizer não terá qualquer efeito sobre quaisquer ações tomadas antes da minha revogação.

Entendo que posso recusar assinar esta autorização e tal recusa não terá efeito na minha participação, enquanto voluntário do projeto.

Eu liberto e autorizo a discente, a Egas Moniz Cooperativa de Ensino Superior, o editor e todas as partes, agindo sob sua licença e autoridade de todos os direitos que eu possa ter nos registos e qualquer reivindicação que eu possa ter sobre tal publicação, incluindo qualquer reivindicação de pagamento relacionada à distribuição ou publicação dos registos em qualquer meio de publicação científica.

Eu consinto livre e de forma esclarecida com esta contribuição voluntária, no interesse de incentivar ao progresso do conhecimento, e certifico que li o Consentimento Livre e Esclarecido para autorização fotográfica e publicação, e entendo na íntegra os seus termos.

  
(Assinatura do participante ou, no caso de menores, do pai/mãe ou tutor legal)



