

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

O PAPEL DO METABOLISMO DO BIOFILME ORAL NA DOENÇA CÁRIE: DADOS ACTUAIS

Trabalho submetido por
MEZIANE ABBAS
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

julho de 2024

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

O PAPEL DO METABOLISMO DO BIOFILME ORAL NA DOENÇA CÁRIE: DADOS ACTUAIS

Trabalho submetido por
MEZIANE ABBAS
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Prof. Doutor Carlos Manuel Lopes Monteiro

julho de 2024

AGRADECIMENTOS

Desejo expressar o meu profundo reconhecimento ao Instituto Universitário Egas Moniz, cujo apoio e recursos foram essenciais para a realização desta tese. Agradeço em particular ao corpo docente e administrativo, especialmente Sonia e Sabrina, pela sua disponibilidade e pelo seu empenho para com os estudantes.

Gostaria de expressar a minha profunda gratidão ao meu orientador de tese, Prof. Doutor Carlos Monteiro. A sua expertise, paciência e apoio constante foram indispensáveis ao longo deste projeto. Graças aos seus preciosos conselhos e ao seu rigoroso acompanhamento, consegui superar os desafios encontrados e levar a bom termo esta tese.

A todos os professores, por todas as aprendizagens transmitidas, pela paciência e apoio que me permitiram crescer tanto a nível pessoal como profissional.

À memória dos meus queridos pais, Hadda e Ahcène, que sempre me apoiaram e inspiraram, e cujo amor e incentivo me fazem falta todos os dias. Que esta tese seja uma homenagem à sua memória e a tudo o que fizeram por mim.

Dedico esta tese à minha querida esposa, Saida, cujo amor e apoio me levaram até ao fim desta aventura. Que esta realização seja um testemunho da minha gratidão e do meu amor por ti.

A minha família, cujo amor, apoio e encorajamento inabaláveis foram fundamentais ao longo deste percurso. A cada um de vocês, agradeço de coração por estarem sempre ao meu lado.

A todos os meus amigos e colegas da clínica, cujo apoio, amizade e colaboração foram inestimáveis ao longo deste percurso. Obrigado ao Djamel, Yacine, Zaky, Sarah, e Alexandre, meu parceiro da clínica. Agradeço a cada um de vocês por estarem sempre presentes, compartilhando conhecimentos, oferecendo palavras de encorajamento e tornando esta jornada mais leve e enriquecedora.

RESUMO

A atividade metabólica do biofilme na superfície da lesão cariiosa é a força motriz por detrás desta lesão. A desmineralização do esmalte e da dentina pode, portanto, ser vista como um reflexo direto da atividade metabólica do biofilme na superfície. O controlo desta atividade metabólica permite controlar a evolução da lesão cariiosa e, consequentemente, o seu prognóstico.

Esta tese reúne os conhecimentos actuais da bioquímica metabólica e as perspectivas terapêuticas que ela pode abrir. As técnicas ultraconservadoras (selagem cariostática, técnica de hall, etc.) baseiam-se na interrupção da cadeia metabólica da cárie, desligando a lesão cariiosa do seu "motor". Os agentes preventivos permitem igualmente controlar a atividade metabólica do biofilme nas fases iniciais da lesão de cárie. Este conhecimento permite igualmente desenvolver técnicas baseadas nas diferenças de propriedades entre os tecidos afectados e os tecidos sãos: é este o princípio da quimioexcavação.

A bioquímica metabólica permite compreender melhor a ação dos agentes preventivos. Embora estas técnicas tenham sido objeto de numerosos estudos clínicos, a sua utilização ainda não é generalizada. O objetivo é, portanto, fazer uma revisão crítica da literatura sobre esta abordagem da doença e do tratamento das lesões cariosas.

PALAVRAS-CHAVE :

Cárie. Cariostático. Biofilme. Bactérias. Escavação. Técnica ultraconservadora. Selagem cariostática.

ABSTRACT

The metabolic activity of the biofilm on the surface of the carious lesion is the driving force behind this lesion. The demineralization of enamel and dentin can, therefore, be seen as a direct reflection of the metabolic activity of the biofilm on the surface. Controlling this metabolic activity allows for controlling the progression of the carious lesion and, consequently, its prognosis.

This thesis brings together current knowledge of metabolic biochemistry and the therapeutic perspectives it can open. Ultraconservative techniques (caries sealing, Hall technique, etc.) are based on interrupting the metabolic chain of caries, disconnecting the carious lesion from its "engine." Preventive agents also allow for controlling the metabolic activity of the biofilm in the initial stages of carious lesion development. This knowledge also enables the development of techniques based on the differences in properties between affected tissues and healthy tissues: this is the principle of chemoexcavation.

Metabolic biochemistry allows for a better understanding of the action of preventive agents. Although these techniques have been the subject of numerous clinical studies, their use is still not widespread. The objective is, therefore, to provide a critical review of the literature on this approach to the disease and the treatment of carious lesions.

Keywords:

Caries. Cariostatic. Biofilm. Bacteria. Excavation. Ultraconservative technique. Caries sealing.

ÍNDICE GERAL

| | |
|---|-----------|
| I. Introdução..... | 11 |
| II. Desenvolvimento..... | 13 |
| 1. Fisiologia oral e fisiopatologia da cárie..... | 13 |
| 1.1 Estrutura do dente..... | 13 |
| 1.1.1. Esmalte..... | 13 |
| 1.1.2. Flúor e Esmalte..... | 16 |
| 1.1.3. Desmineralização do esmalte (lesão cariosa e efeitos dos ataques ácidos no esmalte)..... | 16 |
| 1.1.4. A saliva e o meio bucal e seus efeitos no esmalte..... | 18 |
| 1.1.5. Dentina e resposta dentinária à patologia cariosa..... | 20 |
| 1.2 Metabolismo bacteriano..... | 24 |
| 1.2.1. Metabolismo e meio oral..... | 24 |
| 1.2.1.1. Formação do biofilme..... | 24 |
| 1.2.1.2. O metabolismo..... | 30 |
| 1.2.2. Metabolismo glicolítico..... | 30 |
| 1.2.2.1. Transporte transmembranar de açúcares..... | 30 |
| 1.2.2.2. Metabolismo dos glúcidos em bactérias cariogénicas..... | 31 |
| 1.2.1.3. Potencial cariogénico dos glúcidos..... | 34 |
| 1.2.1.4. Fatores que modulam a cariogenicidade dos glúcidos..... | 36 |
| 1.2.3. Metabolismo proteolítico..... | 37 |
| 1.2.3.1. Metabolismo proteolítico das bactérias..... | 37 |
| 1.2.3.2. Degradação dentinária..... | 39 |
| 1.2.4. O papel do biofilme de superfície..... | 44 |
| 1.2.4.1. Distribuição das populações bacterianas de acordo com o local da lesão cariosa..... | 44 |
| 1.2.4.2. Aspecto dinâmico da lesão cariosa..... | 48 |
| 2. Papel do metabolismo no tratamento e prevenção da doença cárie..... | 53 |
| 2.1. Prevenção..... | 53 |
| 2.1.1. Papel do Flúor..... | 53 |
| 2.1.1.1. Efeito do Flúor no esmalte e na película adquirida..... | 53 |
| 2.1.1.2. Flúor, um inibidor do metabolismo bacteriano..... | 55 |
| 2.1.2. Novos agentes de prevenção alternativos..... | 57 |

| | |
|--|-----------|
| 2.1.2.1. Agente de prevenção promovendo a remineralização..... | 58 |
| 2.1.2.2. Inibição do metabolismo bacteriano e agentes bactericidas..... | 63 |
| 2.2. As técnicas não invasivas..... | 67 |
| 2.2.1. O tratamento ultraconservador das lesões: Selante cariostático e “técnica hall” | 67 |
| 2.2.1.1. O princípio: isolar a lesão cariiosa de sua “fonte” (biofilme oral)..... | 67 |
| 2.2.1.2. Princípio da técnica..... | 68 |
| 2.2.1.3. Variedade de espécies presentes sob restauração dentária..... | 68 |
| 2.2.1.4. A alteração metabólica bacteriana e a virulência das bactérias sob a obturação..... | 69 |
| 2.2.2. Os tratamentos baseados na bioquímica dos tecidos dentários..... | 71 |
| 2.2.2.1. Agentes de escavação quimomecânicos à base de hipoclorito..... | 71 |
| 2.2.2.2. Utilização de agentes enzimáticos para escavação..... | 75 |
| III. Conclusão..... | 79 |
| IV. Bibliografia..... | 81 |

INDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Esmalte ao microscópio eletrônico de varrimento (MEV). (www.histology.be)..... | 15 |
| Figura 2. Os três tipos de efeitos dos agentes desmineralizantes no esmalte (11)..... | 15 |
| Figura 3. A. Aspeto ao microscópio eletrônico de transmissão (MET) da borda externa do esmalte. B. Corrosão dos cristalitos da borda externa após o "amolecimento" do esmalte (11)..... | 17 |
| Figura 4. Ultraestrutura da dentina humana (18)..... | 22 |
| Figura 5. Dentina humana cariada (18)..... | 24 |
| Figura 6. Estrutura geral de um levano (19)..... | 28 |
| Figura 7. Estrutura geral de um mutano (19)..... | 29 |
| Figura 8. Dois sistemas de transporte de açúcares na célula bacteriana que funcionam alternadamente de acordo com a quantidade de açúcares (20)..... | 31 |
| Figura 9. As diferentes vias do catabolismo de glúcidos em bactérias cariogénicas (21)..... | 34 |
| Figura 10. Efeito da frequência das ingestões alimentares nos valores do pH da placa dentária na cavidade bucal (20)..... | 36 |
| Figura 11. Distribuição de Espécies Bacterianas em Diferentes Estádios de Cárie Dentária: Locais sem Cárie, Cárie de Esmalte e Cárie Dentinária (32)..... | 47 |
| Figura 12. Modo de penetração dos fluoretos na célula bacteriana (19)..... | 55 |
| Figura 13. Principais efeitos do ião fluoreto sobre o metabolismo bacteriano (19)..... | 57 |

Figura 14. Efeito do Fluoreto de Diamina de Prata (FDA) no Crescimento e Viabilidade de Biofilme Cariogénico em Dentina após 14 Dias (50).....65

Figura 15. O sistema Carisolv® (65).....73

LISTA DE ABREVIATURAS

- 16S rRNA:** (do inglês, *16S ribosomal RNA*)
- 1H NMR:** (do inglês, *Proton Nuclear Magnetic Resonance*)
- ACFP:** Fosfato de fluoreto de cálcio amorfo
- ACP:** Fosfopéptido de caseína amorfo
- ADA:** arginina desaminase
- AgNP:** Nanopartículas de prata
- ATP :** Adenosina Trifosfato
- ATPase:** Adenosina Trifosfatase
- CA:** anidrase carbônica
- CPP:** Fosfopéptido de caseína
- CSP:** Fosfosilicato de cálcio e sódio
- EAER:** Remineralização Acelerada e Melhorada Eletricamente
- FAP:** Fosfato de fluorapatite
- FDA:** Diaminafluoreto de prata
- Fig. :** Figura
- FMP:** Sistema de Força Motriz por Protões
- FPC:** frutose-6-fosfato fosfocetolase
- GBP:** Proteínas de ligação a glucano (do inglês: *Glucan-binding-proteins*)
- GK-101E:** Caridex™
- GTF-C:** Glycosyltransferases específicas C
- HPr:** Proteína termoestável (do inglês: *heat-stable-protein*)
- iCP:** Sistema de libertação controlada de ionômero
- IT:** Dentina intertubular
- ITMETs:** Inibidores endógenos de metaloproteinases teciduais
- JAD:** Junção amelodentinária
- Klk4:** calicreína-4
- LB:** Bactérias lácticas
- MEC:** Matiz extracelular
- MEPE:** fosfoglicoproteína extracelular da matriz (do inglês, *matrix extracellular phosphoglycoprotein*)
- MG1:** Mucina Glicoproteína
- MG2:** Mucina Glicoproteína 2

micro-HA: Micro-hidroxiapatite

MMP: Metaloproteinases matriciais

Msm: Sistema de metabolismo de múltiplos açúcares

MUC7: Mucina 7

MUCSB: Mucina Glicoproteína B Secretada pelas Glândulas Salivaras

nHA: Nano-hidroxiapatite

NMAB: Ácido N-monocloro-DL-2-aminobutírico

NMG: N-monocloroglicina

PEP: Fosfoenolpiruvato

PGA: produtos finais da glicação avançada

POs-Ca: fosfato de cálcio estabilizado ou fosforil oligossacarídeos de cálcio

PRG: Glicoproteína rica em prolina

PRL: Peptídeo rico em leucina

PRP: Proteína rica em prolina

PT: Dentina peritubular

RAAE: Remineralização Acelerada e Aumentada Eletricamente

S. mutans: *Streptococcus mutans*

SC: Zona de esclerose da dentina

SIBLING: (do inglês, *small integrin-binding linked glycoproteins*)

sp.: (do inglês, *pecies*)

STMP: Trimetafosfato de sódio

UFC: Unidades Formadoras de Colônias

RNA: (do inglês: *ribonucleic acid*)

I. Introdução

A cárie dentária é uma das patologias mais comuns no mundo, podendo afetar indivíduos de todas as idades e constitui o cotidiano do médico dentista (1, 2).

A questão frequente no tratamento das cáries está relacionada com a melhor abordagem a adotar: Que tecidos devem ser removidos? A que profundidade é necessário intervir? Qual é o limite a fixar para a escavação?

A prática da Medicina Dentária Conservadora tem como objetivo preservar o máximo possível dos tecidos dentários. Ao compreender melhor os processos patológicos das cáries, surge cada vez mais uma abordagem que prioriza a preservação da integridade do dente. As normas de tratamento estão a evoluir para métodos menos invasivos, favorecendo uma abordagem médica e preventiva (3).

A cavidade oral é um sistema biológico complexo que abriga uma variedade de bactérias e diversos elementos, como a saliva e os alimentos. Essas bactérias se agrupam em biofilme, cobrindo a superfície dos dentes, e interagem com o ambiente, gerando uma atividade metabólica e interações bioquímicas que podem levar ao aparecimento de cáries.

A cárie dentária pode ser vista como um processo dinâmico no qual os ácidos resultantes do metabolismo do biofilme causam a perda de minerais nos tecidos dentários. Controlar essa atividade ajuda a gerenciar o surgimento ou o desenvolvimento das cáries. Essa é uma abordagem adotada na prevenção primária, envolvendo a aplicação de selantes nas fissuras, o uso de flúor em consultório dentário, de pasta de dentes com flúor, de enxaguantes bucais com clorexidina em casa, consultas regulares ao dentista e educação dos indivíduos sobre a importância de usar uma alimentação não cariogénica (4).

No entanto, no que diz respeito às lesões de cárie, uma vez que é multifactorial, a questão central reside na identificação do principal motor dessas lesões, pois o tratamento implica a eliminação desse fator desencadeador. Durante muito tempo, todos os tecidos afetados pela cárie foram considerados como devendo ser removidos, porque eram considerados contaminados e suscetíveis de causar novas cáries, mesmo após a obturação. No entanto, os avanços na compreensão da patologia da cárie sugerem agora que deixar tecidos afetados no lugar não constitui um elemento que leve ao fracasso do tratamento.

Pelo contrário, isso representa uma abordagem menos invasiva para o dente, limitando assim algumas complicações potenciais, especialmente ao nível da polpa.

O biofilme desempenha um papel crucial no desencadeamento das lesões de cárie ao gerar os ácidos necessários para o seu início e subsequente progressão. O avanço da cárie reflete, na verdade, a atividade metabólica do biofilme na superfície da lesão cárie. Ao regular essa atividade metabólica, torna-se possível controlar a evolução da lesão cárie e, conseqüentemente, o seu prognóstico (5). Compreender o funcionamento do metabolismo e das interações envolvidas na cárie dentária oferece-nos uma nova perspectiva para lidar com a prevenção e o tratamento das lesões. Isso redefine os nossos objetivos de cuidado e introduz técnicas inovadoras. No entanto, este é apenas um dos aspectos a considerar. De facto, ter conhecimento da evolução dos tecidos dentários ao longo do processo de cárie abre novas oportunidades para prevenir e tratar esses tecidos. Além disso, melhora a nossa compreensão dos métodos de cuidado e prevenção atualmente utilizados.

Portanto, os métodos ultraconservadores (como o selamento cariostático, a técnica Hall, etc.), que se baseiam na interrupção do processo metabólico da cárie para cortar a lesão cariiosa da sua fonte, representam uma abordagem moderna ainda subutilizada pelos profissionais. A ideia é criar um vedamento hermético sobre uma lesão cariiosa existente, intervindo o mínimo possível, ou até mesmo não intervindo, nessa lesão (6).

Apesar de muitos estudos clínicos sobre estas técnicas, o seu uso ainda permanece limitado. O objetivo é explorar em profundidade a abordagem da cárie dentária através de uma análise aprofundada da literatura científica disponível, visando avaliar o impacto potencial dessa abordagem na prática diária dos dentistas.

II. Desenvolvimento

1. Fisiologia oral e fisiopatologia da cárie

1.1. Estrutura do dente

O dente é composto por tecidos mineralizados e não mineralizados, a polpa. Os tecidos mineralizados, a dentina e o esmalte, conferem ao dente a sua função essencial. Estas estruturas mineralizadas são as que estão envolvidas nas lesões cariosas. Ter um conhecimento aprofundado destas estruturas é essencial para compreender o processo de cárie e seu tratamento (7).

1.1.1. Esmalte

O esmalte dentário é a substância mais dura do corpo humano e serve como camada externa resistente ao desgaste da coroa dentária.

O esmalte maduro é composto por cerca de 95% de matéria mineral, 1 a 2% de matéria orgânica e 2 a 4% de água (8).

A composição orgânica desempenha um papel crucial no processo de formação do esmalte. É composta por proteínas agrupadas em duas categorias distintas: as amelogeninas (90% da matriz orgânica do esmalte) e as "não-amelogeninas", incluindo enamulina, ameloblastina, tuftelina e amelotina. Além das proteínas, esta matriz contém lipídios e fosfolipídios. Além disso, a metaloproteinase matricial-20 (Mmp20) e a calicreína-4 (Klk4) são duas enzimas necessárias para a formação correta do esmalte. Esta componente orgânica integrada entre os cristais da fase mineral do esmalte cria microporosidades, facilitando a difusão da água e permitindo trocas essenciais de íons e compostos orgânicos. A matriz orgânica tem o papel de orientar e desencadear a mineralização que ocorre fora das células, dentro de nanoestruturas ou túbulos formados por proteínas fosforiladas. Esse processo de maturação abrange a iniciação, o crescimento e a extensão de uma fase mineral que se manifesta no final desse processo na forma de cristalitos, promovendo a criação de estruturas amelaes acelulares (8,9,11).

A menor unidade mineral identificável no esmalte é o monocristal de hidroxiapatite carbonatada e magnesiada, geralmente medindo algumas dezenas de

angströms. Estes cristais agrupam-se em estruturas helicoidais para formar cristalitos. Entre o monocristal de hidroxiapatite e o cristalito, passamos de uma nanoestrutura (10 Å) para uma microestrutura do esmalte de 500 Å. Multiplicam-se, assim, os parâmetros por um fator de 50. Estes cristalitos podem estender-se ao longo de todo o comprimento da camada do esmalte (cerca de 1 a 2 mm). A estrutura do esmalte é caracterizada por dois tipos de organização distintos: o esmalte prismático e o esmalte aprismático (10,11).

O esmalte aprismático é composto por uma camada interna (em contacto com a dentina) e uma camada externa (em direção à cavidade bucal), correspondendo, respetivamente, ao início e ao fim do processo de amelogénese. A relação entre a formação de um esmalte não prismático e a ausência de prolongamentos de Tomes (evaginação da membrana plasmática no pólo apical do ameloblasto secretor) está bem estabelecida. Em contrapartida, o esmalte prismático corresponde a uma estrutura compósita que só aparece na presença de prolongamentos de Tomes. As unidades organizacionais fundamentais do esmalte são os prismas e o esmalte interprismático (11).

O prisma tem um diâmetro de 3 micrómetros. É irregular, apresentando nós (dilatações) e ventres (constricções) que se tornam mais evidentes após desmineralização ácida. A análise por microsonda mostra a acumulação de magnésio e carbonato nos nós, áreas mais vulneráveis a ataques ácidos ou efeitos da cárie, enquanto os ventres contêm menos desses elementos. Como mostra a figura 1, os prismas podem ser completamente ou parcialmente envolvidos por esmalte interprismático. A interface entre o esmalte prismático e o esmalte interprismático consiste em uma cobertura não mineralizada contendo uma matriz orgânica (11).

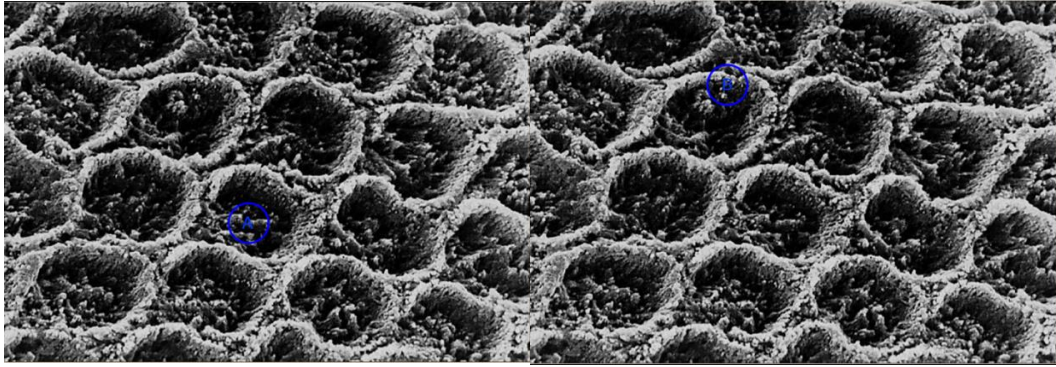


Figura 1. Esmalte ao microscópio eletrônico de varredura (MEV). A (imagem à esquerda): Cristais prismáticos. B (imagem à direita): Cristais interprismáticos. (www.histology.be)

Para avaliar o impacto dos agentes desmineralizantes na superfície do esmalte, estabeleceu-se uma classificação baseada na criação de relevos a partir de uma superfície do esmalte, seja ela lisa ou não. Esta classificação permite distinguir três tipos de esmalte tal como ilustrado na figura 2 :

- 1- Tipo 1 - Alteração do prisma com formação de um relevo.
- 2- Tipo 2 - Alteração da zona interprismática com formação de um relevo.
- 3- Tipo 3 - Formação de um relevo pouco pronunciado, indicando um ataque ácido limitado. Isso pode resultar ou de um esmalte enriquecido com flúor, resistente à dissolução, ou de uma dissolução de esmalte não prismático (11,12).

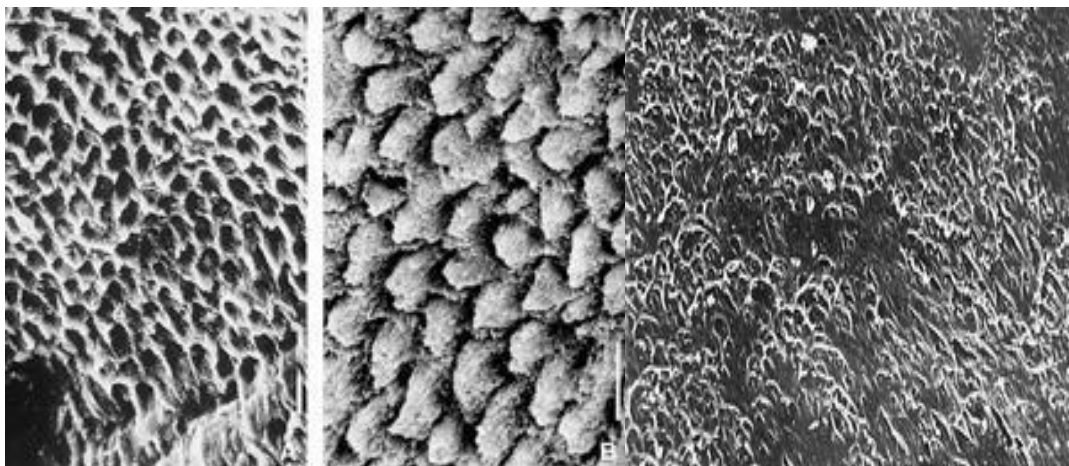


Figura 2. Os três tipos de efeitos dos agentes desmineralizantes no esmalte. Respetivamente, da esquerda para a direita: tipo 1 - alteração dos prismas, tipo 2 - alteração dos interprismas, tipo 3 - pouco relevo. Adaptado de (11)

1.1.2. Flúor e Esmalte

O flúor é o elemento químico de número atômico 9, representado pelo símbolo F. É o primeiro elemento do grupo dos halogénios.

Os fluoretos são um elemento-chave na prevenção das cáries, atuando na fase inicial das lesões cariosas infraclínicas. Duas grandes teorias explicam esse processo:

De acordo com a primeira teoria, o flúor associa-se à hidroxiapatite do esmalte para formar fluoroapatite mais resistente à acidez e que se dissolve a um pH mais baixo (4.5 em vez de 5.5). A eficácia do flúor varia de acordo com a dose e pode resultar em fluorose se utilizado em excesso, especialmente durante a fase de maturação do esmalte. No entanto, concentrações elevadas de flúor podem levar à formação de fluoretos de cálcio, mais resistentes à desmineralização (11,13).

A segunda teoria sugere que o flúor atua bloqueando a dissolução dos cristais dentários por saturação, sem se integrar nos próprios cristais. Dessa forma, os espaços entre os prismas dentários poderiam ser preenchidos com flúor, transformando a hidroxiapatite em hidroxiapatite fluoretadas, em vez de fluoroapatite (11).

O flúor atua também como um agente antimicrobiano inibindo a enolase bacteriana. Esta enzima está envolvida na glicólise, isto é, na transformação de açúcares em ácidos. Além disso, o flúor tem um efeito bacteriostático ao bloquear a formação de polissacáridos tanto fora das células (que favorecem a coagregação das bactérias) quanto no seu interior (servindo como reservas metabólicas para as bactérias) (14).

A introdução de fluoretos inibe assim a desmineralização inicial, promove a remineralização de lesões incipientes e bloqueia o metabolismo das bactérias, impedindo a sua proliferação e a formação de ácidos cariogénicos. O flúor é, portanto, um elemento essencial na proteção contra a cárie.

No entanto, a quantidade de flúor ingerida deve ser ajustada de acordo com a idade e o peso da criança. A dose recomendada para prevenir a cárie é de 0,05 mg por quilo de peso corporal por dia, com um limite de 1 mg por dia. Todas as fontes de flúor devem ser consideradas para evitar qualquer risco de fluorose dentária, que altera os tecidos

dentários e resulta em discromia devido à absorção excessiva de flúor durante a mineralização das coroas dentárias (14,15).

1.1.3. Desmineralização do esmalte (lesão de cárie e efeitos dos ataques ácidos no esmalte)

A ação de ácidos, como aqueles presentes no sumo de limão ou em certas bebidas muito ácidas, provoca uma desmineralização superficial, resultando em amolecimento. Esse amolecimento torna o esmalte vulnerável aos abrasivos dos dentífricos, promovendo o surgimento de erosões, principalmente visíveis nas áreas expostas dos dentes, especialmente ao nível do colo dos dentes (11).

Além disso, o ataque por soluções ou géis ácidos com pH muito baixo, chamado de condicionamento ácido, elimina completamente uma fina camada de esmalte (2-4 μm), seguida por uma regeneração da superfície (fig. 3) (11).

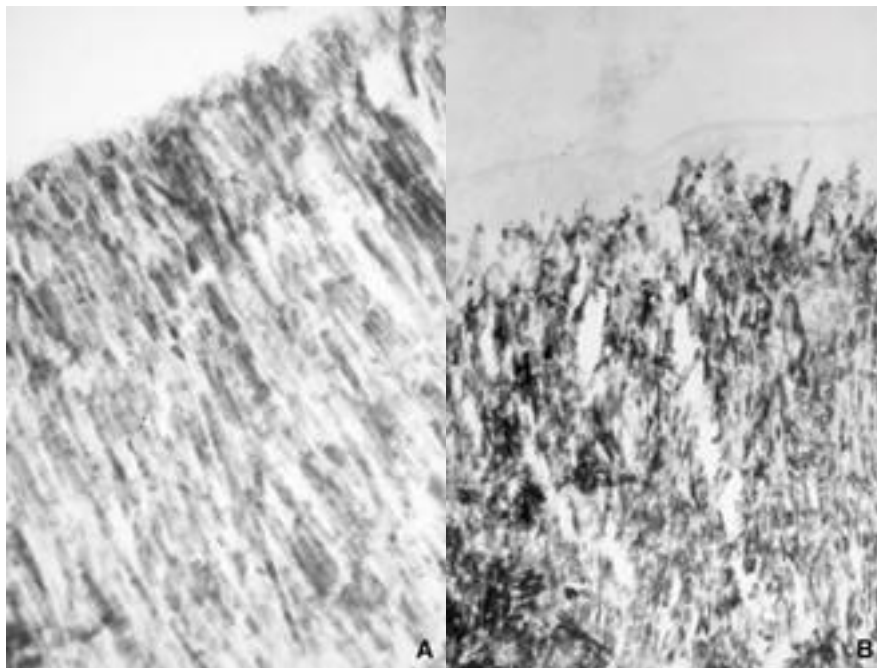


Figura 3. A. Aspeto ao microscópio eletrônico de transmissão (MET) da borda externa do esmalte. B. Corrosão dos cristalitos da borda externa após o "amolecimento" do esmalte. Adaptado de (11)

Os ácidos provenientes dos micro-organismos também contribuem para degradar lentamente o esmalte sob a placa dentária. Processos de desmineralização e remineralização mantêm um equilíbrio frágil, por vezes quebrado, iniciando assim uma

lesão inicial no esmalte. Essa lesão de cárie começa em uma área superficial, evoluindo para uma área subsuperficial, e é caracterizada por uma estrutura triangular, com o vértice orientado para a junção amelodentinária (11,16).

Na camada superficial, os cristalitos sofrem uma dissolução parcial, enquanto na zona subsuperficial, as bainhas se alargam e os prismas sofrem uma dissolução parcial com uma modificação na sua estrutura periódica. Sob condições modificadas por intervenções preventivas, a lesão pode parar, favorecendo assim a remineralização, transformando eventualmente as lesões brancas (*White spots*) iniciais em lesões inativas de cor castanho-avermelhada, ou mesmo desaparecendo completamente.

No entanto, um ambiente bucal cariogénico e uma higiene dentária deficiente incentivam o desenvolvimento dessas lesões, que, ao ultrapassarem a junção amelodentinária, podem se estender à dentina superficial, exigindo intervenções terapêuticas específicas (11,15).

1.1.4. A saliva e o meio bucal e os seus efeitos no esmalte.

O meio bucal, inspirado no conceito de meio interno, representa um espaço dinâmico onde vários elementos interagem. Engloba os componentes anatómicos, como os dentes, a língua, os lábios, as bochechas, o palato, o soalho da boca, as gengivas e as mucosas, bem como as secreções salivares, substâncias do fluido gengival, a presença da flora microbiana (residente ou de passagem), os alimentos em trânsito e o ar inalado e exalado. O estado fisiológico ou patológico dos dentes, do periodonto e das mucosas depende das interações entre todos esses elementos (17).

A saliva, crucial na defesa contra infeções e na manutenção do equilíbrio dos tecidos bucais (tanto duros quanto moles), é composta principalmente por água (99%), com uma pequena parte de proteínas e de iões (<1%). A sua composição e fluxo variam ao longo do dia (durante as refeições, enquanto se dorme). Além disso, a saliva incorpora elementos não salivares, como o fluido gengival, células epiteliais, agentes patogénicos, resíduos alimentares, fluoretos e secreções brônquicas (17).

A literatura estabelece o papel da saliva como um agente protetor contra a desmineralização do esmalte dentário. Além dos seus componentes iônicos, a saliva contém mucinas, glicoproteínas, principal constituinte do muco. As mucinas dividem-se em dois tipos de diferentes pesos moleculares e são secretadas pelas glândulas parótidas. Elas são conhecidas como glicoproteína 1 (MG1 ou MUCSB) e 2 (MG2 ou MUC7) e representam uma parte significativa da saliva, aproximadamente 26% das proteínas salivares são mucinas (17).

As mucinas colaboram na formação de uma barreira tanto bacteriostática como lubrificante. Na ausência dessas mucinas, o poder protetor da saliva no esmalte diminui para apenas 30%. As mucinas MUCSB, elementos-chave no biofilme, formam uma matriz que captura diferentes componentes salivares, incluindo agentes antibacterianos como a lactoferrina (17).

A mucina (MUC7) é produzida especificamente pelas glândulas submandibulares e sublinguais, e em menor quantidade pela traqueia. Em solução, a MUC7 atua capturando certos micro-organismos como *Porphyromonas gingivalis*, *Helicobacter pylori*, *Actinomyces naeslundii*, *Streptococcus sanguis*, o vírus da *Influenza* e *Candida albicans*. Ela impede que se fixem nas superfícies bucais através das suas adesinas, que se ligam às cadeias glicânicas, facilitando assim a eliminação dos germes pela deglutição (17).

A composição e a estrutura das proteínas e mucinas presentes no películo salivar influenciam a seleção de microrganismos que se fixam nas superfícies bucais e aqueles que são agrupados e depois eliminados pela deglutição. Reconhece-se que as glicoproteínas, especialmente as mucinas nos biofilmes, podem servir como fonte de nutrientes para a flora bacteriana da placa. Como nenhum microrganismo possui sozinho as enzimas necessárias, a cooperação bacteriana é essencial. Para obter glicídios a partir das cadeias glicanas das glicoproteínas, especialmente quando há uma ausência prolongada de fontes de açúcar na alimentação, a ação de várias enzimas hidrolíticas, como neuraminidases, glucosaminidases, beta-galactosidases, além de outras mannosidases ou fucosidases, é necessária (17).

Como nenhum microrganismo possui sozinho as enzimas necessárias, a cooperação bacteriana é essencial. Para obter glicídios a partir das cadeias glicanas das glicoproteínas, especialmente quando há uma ausência prolongada de fontes de açúcar na alimentação, a ação de várias enzimas hidrolíticas, como neuraminidases, glucosaminidases, beta-galactosidases, além de outras mannosidases ou fucosidases, é necessária.

A α -amilase ou ptialina é a enzima mais representada na saliva (cerca de 10% das proteínas salivares, 70% de origem da parótida). Ela catalisa a hidrólise das ligações α ($1 \rightarrow 4$) do amido (17).

A α -amilase presente na saliva possui locais de ligação ao esmalte e potenciais locais para se fixar às adesinas das bactérias. Em solução, essa enzima liga-se fortemente a alguns estreptococos, o que favorece tanto a eliminação quanto a fixação dessas bactérias na boca. No entanto, o *Streptococcus mutans* apresenta menor adesão à hidroxiapatite previamente exposta à saliva. A α -amilase associada a uma superfície bacteriana mantém cerca de 50% de sua atividade enzimática. Assim, quando ligada a uma bactéria, essa enzima pode decompor o amido em maltoses e dextrinas, que poderiam servir como fonte de nutrientes para as bactérias (17).

Um dos principais papéis da saliva reside na sua capacidade tampão. Estima-se que este efeito seja atribuído aos íons fosfatos (cerca de 25%), aos íons bicarbonatos (70 a 90%) durante a estimulação salivar (25% a 60% em repouso) e uma menor parte está associada ao poder tampão das proteínas salivares. Os bicarbonatos provêm das glândulas salivares (via anidrase carbónica II nas células) ou da anidrase carbónica VI, uma isoenzima produzida pelas células acinares serosas das glândulas submandibular e parótida de onde é secretada para a saliva, sendo incorporada na película proteica do esmalte dentário e nos biofilmes dentários, facilitando a neutralização ácida (17).

Os bicarbonatos provêm das glândulas salivares (via anidrase carbónica II nas células) ou da anidrase carbónica VI, uma isoenzima produzida pelas células acinares serosas das glândulas submandibular e parótida de onde é secretada para a saliva, sendo incorporada na película proteica do esmalte dentário e nos biofilmes dentários, facilitando a neutralização ácida.

1.1.5. Dentina e resposta dentinária à patologia da cárie

Geralmente, a fase mineral constitui cerca de 70% do peso total da dentina. Os restantes 30% dividem-se aproximadamente em 20% para a matriz orgânica, composta principalmente por 90% de colagénio e 10% de proteínas não colagénicas, bem como 10 a 11% de água. Em termos de volume, excluindo os canais dentinários, estima-se que a parte mineral represente cerca de 50%, a parte orgânica 30% e a água 20%. Comparada ao esmalte, a dentina é menos mineralizada, mas contém mais elementos minerais do que o osso e o cimento (18).

A dentina é composta por diferentes tipos de dentinas. As camadas mais superficiais de dentina (periféricas), chamadas dentina do manto, formam-se nas fases iniciais da odontogénese. Na coroa, é distinguido o manto dentinário, e duas camadas são especificamente observadas na periferia da raiz: a camada granular de Tomes e a camada hialina de Hopewell-Smith. Esta estreita margem não possui canalículos, pois os odontoblastos ainda não completaram sua diferenciação terminal e não apresentam extensões celulares nesta fase. Com uma espessura de 30 a 150 µm, ela confere a essa margem uma elasticidade que favorece a absorção de impactos (18).

Num nível mais interno está presente a dentina circumpulpar, conhecida como ortodentina em sua forma fisiológica. A dentina primária é produzida antes da oclusão dos dentes por células especializadas chamadas odontoblastos, cujos canais formam uma disposição em forma de S. Quando o dente entra em contato com seu antagonista, essa estrutura evolui para o que é chamado de dentina secundária. Essa dentina teoricamente forma-se ao longo da vida, sem limites temporais, mas sua produção diminui gradualmente em indivíduos mais velhos. Ambos os tipos de dentina são adjacentes e formam-se em continuidade. Ambos são considerados tipos de dentina fisiológica (18).

Esta dentina, quer seja primária ou secundária, é caracterizada pela presença de dois tipos de dentina: a dentina peritubular e a dentina intertubular (fig. 4). A dentina intercanalicular é formada pela transformação da predentina em dentina ao redor das extensões das células odontoblásticas, que formam os canalículos durante a formação da

dentina. Sua matriz extracelular é principalmente composta por colagénio tipo I e proteínas não colagénicas (18).

A fase mineral apresenta cristalitos com uma espessura total variando de 2 a 3 nm e um comprimento de 60 nm. Esses cristalitos estão ligados às lacunas presentes na rede de fibras de colagénio da matriz extracelular. Em cáries estabilizadas, esses cristalitos podem atingir uma espessura de 10 nm (18).

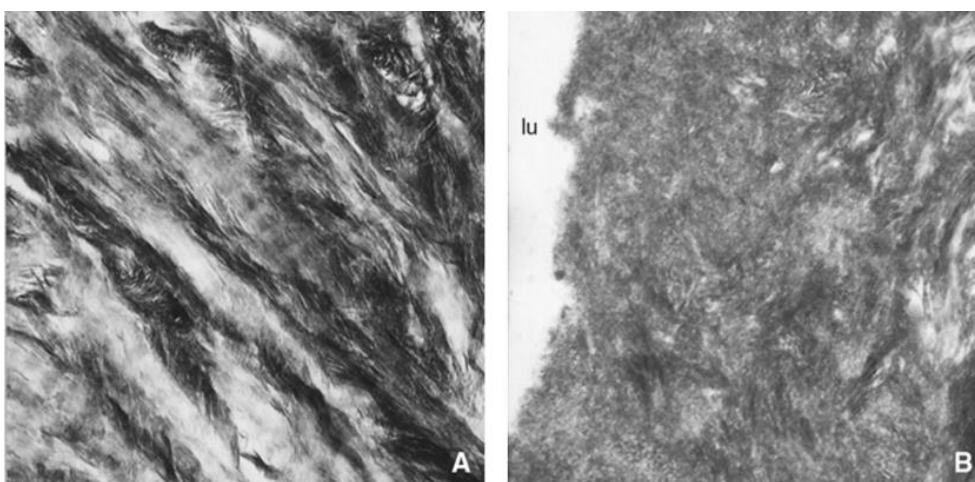


Figura 4. Ultraestrutura da dentina humana intertubular (A) e peritubular (B). Em B, a dentina peritubular delimita o lúmen (lu). Adaptado de (18)

A composição mineral da dentina peritubular inclui uma alta concentração de magnésio e carbonatos, tornando-a mais reativa aos ácidos do que a dentina intertubular. Essa estrutura apresenta uma forma de hidroxiapatite que não é pura, incluindo huntite (uma variante de apatite contendo magnésio e carbonatos) e *whitlockite* (outra variante de apatite contendo magnésio). Quando a dentina é exposta a um ataque ácido, observa-se uma dissolução heterogênea da sua estrutura mineral (18).

A dissolução dos cristalitos associados ao colagénio na dentina intertubular cria espaços vazios favoráveis à infiltração de resinas. Isso fortalece a aderência das restaurações dentárias e forma uma camada híbrida. No entanto, o alargamento dos canalículos desprovidos de dentina peritubular pode causar sensibilidade pós-operatória. Estes processos também promovem a propagação dos monómeros para a polpa, aumentando a toxicidade potencial das resinas dentárias (18).

A cárie afeta localmente a estrutura da dentina. Iniciada por lesões no esmalte ou no cimento, essa doença bacteriana avança e progride atravessando a junção amelodentinária (JAD), desenvolvendo-se ao longo dessa junção antes de afetar a superfície da dentina. Esse processo é caracterizado por uma separação entre o esmalte e a dentina na JAD, possivelmente influenciada por tensões mecânicas ou pela degradação da superfície dentária exposta. Análises histoquímicas sugerem que a JAD contém uma alta concentração de glicosaminoglicanos e proteoglicanos, potencialmente sendo substratos favoráveis para as bactérias responsáveis pela cárie (16,18).

A cárie dentária evolui em duas fases distintas. Inicialmente, as bactérias cariogênicas atacam a camada externa da dentina através das fissuras e depois propagam-se pelos túbulos dentinários em direção às camadas internas. Os túbulos dentinários densos facilitam a difusão das bactérias, enquanto suas enzimas gradualmente degradam a dentina, alargando os túbulos.

Inicialmente, os resíduos alimentares penetram na cavidade em formação, tornando a dentina superficial fortemente desmineralizada (18).

Conforme a cárie avança, a estrutura da dentina degrada-se, passando de uma textura macia para uma textura mais resistente, devido a uma desmineralização intensa seguida por uma desmineralização parcial. Os túbulos dentinários ainda servem como reservatórios para as bactérias, embora a dentina peritubular seja cada vez menos afetada (fig. 5).

Por fim, a cárie leva à formação de uma zona de dentina esclerosada, onde os canais são obstruídos por depósitos de fosfato de cálcio, marcando uma fase avançada da cárie dentária (18).

Neste contexto, à desmineralização por ácidos e quelantes bacterianos, somam-se fatores de modificação da estrutura orgânica: as proteínas salivares e suas metaloproteinases, bem como as metaloproteinases endógenas que podem ser ativadas mesmo em meio ácido (18).

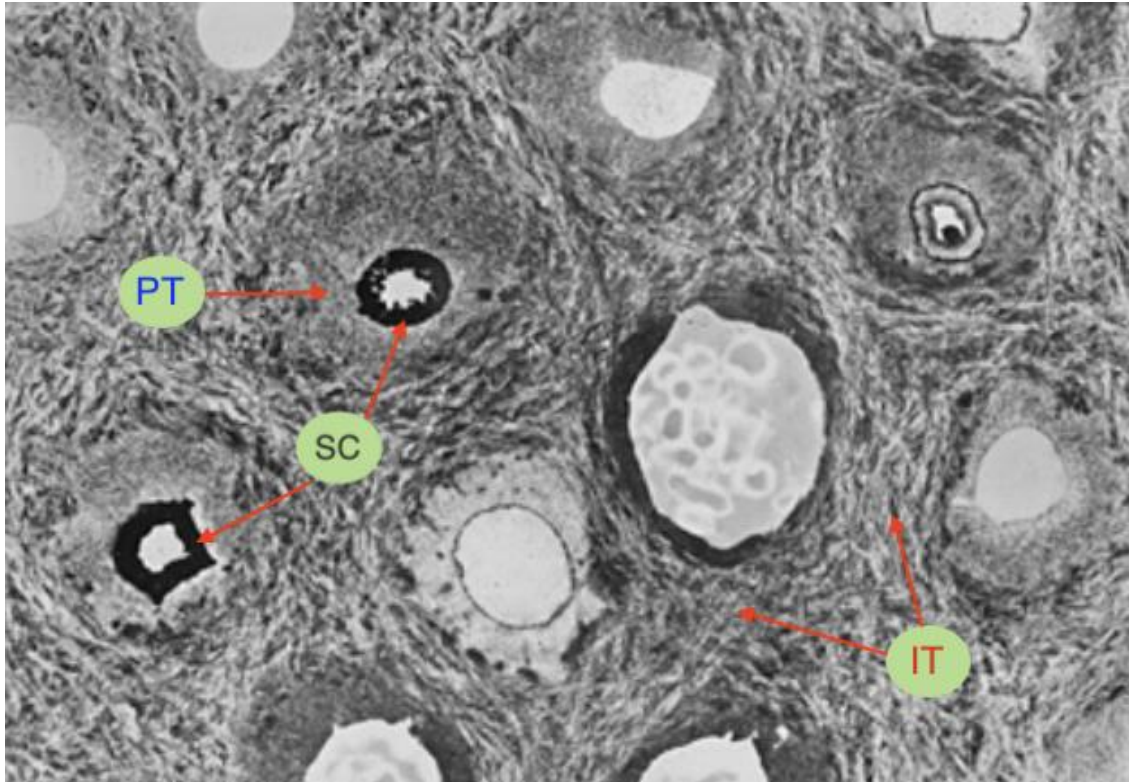


Figura 5. Dentina humana cariada. Alguns túbulos estão colonizados por micro-organismos bacterianos, enquanto precipitações ocorrem no lúmen dos túbulos (em preto). Dentina intertubular (IT), peritubular (PT) e zona de esclerose (SC). Adaptado de (18)

1.2. Metabolismo bacteriano

1.2.1. Metabolismo e meio oral

1.2.1.1. Formação do biofilme

Do ponto de vista fisiológico, várias proteínas salivares aderem à superfície do esmalte previamente exposto. Elas constituem a película adquirida também conhecida como "biofilme salivar". As velocidades de absorção variam de acordo com as diferentes proteínas (α -amílase, glicoproteína rica em prolina (PRG), cisteína A, mucinas). A adsorção é mais rápida para as proteínas ricas em prolina (PRP) nas suas formas curtas com 106 aminoácidos do que para as suas formas longas com 150 aminoácidos (19).

A anidrase carbónica VI (CA VI) produzida e secretada pelas glândulas salivares (ao contrário da CA II, que permanece no citoplasma das células acinosas e contribui para a produção de bicarbonato salivar), fixa-se ao esmalte e reforça a película externa

adquirida. Esta CA VI gera bicarbonato dentro do biofilme, o que reduz a diminuição de pH na placa dentária (19).

Uma vez fixadas no esmalte, as proteínas interagem criando ligações cruzadas entre elas através de uma enzima, a transglutaminase, secretada pelas glândulas salivares. Esta enzima promove a formação de ligações γ -glutamil/ ϵ -lisina entre as cadeias polipeptídicas de certas proteínas, como as PRP ácidas, estaterinas e/ou as cistatinas, reforçando assim a coesão do biofilme (19).

Para proteger o esmalte contra agentes desmineralizantes, como ácidos, é necessário que a película passe por um processo de maturação ao longo de vários dias (19).

Glicosiltransferases específicas (GTF-C), presentes sob forma solúvel e produzidas por estreptococos responsáveis pelas cáries, foram identificadas na película salivar. Elas podem desempenhar um papel na aderência bacteriana à superfície do esmalte (19).

As bactérias são transportadas passivamente para a superfície dentária pela saliva. Quando atingem a proximidade do dente, essas bactérias carregadas negativamente aderem de maneira reversível à película adquirida, que também é carregada negativamente por meio de interações de forças eletrostáticas repulsivas e forças de van der Waals atrativas. A adesão irreversível das primeiras bactérias (como *Streptococcus sanguis*, *gordonii*, *oralis e mitis*; *Actinomyces viscosus*) à película adquirida ocorre por meio de interações específicas do tipo "proteína-proteína" (19).

As adesinas, presentes na superfície das bactérias na forma de fímbrias ou pili, desempenham um papel crucial na adesão microbiana às proteínas salivares que já sofreram uma mudança conformacional ao fixarem-se à hidroxiapatite. As fímbrias do tipo 1 são responsáveis pela adesão à película adquirida, usando ligantes como glicoproteínas, mucinas salivares, oligossacáridos de membranas celulares, e até mesmo amilase salivar (por exemplo, para *Streptococcus gordonii*). Ao mesmo tempo, as fímbrias do tipo 2, como as de *Actinomyces viscosus* ou *naeslundii*, parecem formar

ligações do tipo "lectina" (ligação entre um resíduo glicídico e uma proteína) seja com outras bactérias (coagregação com estreptococos, especialmente do grupo *mutans*) ou com as células epiteliais (19).

Algumas bactérias, como o *Actinomyces naeslundii* e o *Actinomyces viscosus*, sintetizam neuraminidases, enquanto a *Porphyromonas gingivalis* produz proteases. Estas enzimas, através de clivagem, expõem sítios recetores epiteliais ou do biofilme, modulando assim a aderência a outras bactérias ou a elas próprias. Ao mesmo tempo, moléculas salivares que permanecem em solução, especialmente as imunoglobulinas IgAs, podem aglutinar as bactérias entre si, impedindo uma futura aderência (19).

À medida que a placa dentária se desenvolve, apenas as bactérias capazes de sobreviver em anaerobiose parcial ou total conseguem permanecer em contacto com os tecidos dentários mineralizados. Na placa supragengival, são principalmente o *Streptococcus sanguis* e os estreptococos do grupo *mutans*. Uma análise sorológica dos polissacáridos das paredes dos estreptococos do grupo *mutans* identificou diferentes sorotipos (*Streptococcus mutans*, *rattus*, *cricketus*, *sobrinus*, *downei*, *ferus*, *macacae*). Esses polissacáridos de sorotipo (glicose, ramnose, galactose, etc.) podem participar em ligações com lectinas, proteínas que se ligam, de um modo estável, a hidratos de carbono de origem não imunológica, capazes de aglutinar células, existentes na película adquirida de origem salivar. Além disso, agregações de bactérias da mesma espécie ou de espécies diferentes também podem ser observadas (12,19).

Os diversos mecanismos de aderência facilitaram uma colonização inicial das superfícies dentárias, seguida pela agregação e coagregação de bactérias. A placa dentária jovem, graças a essas interações bacterianas, já abriga bactérias com a capacidade de transformar sacarose em polímeros extracelulares, quer sejam solúveis (como os formados pelos estreptococos dos grupos *mutans* e *salivarius*, e *Actinomyces naeslundii*) ou insolúveis (como os formados pelos estreptococos do grupo *mutans*) (12,19).

Muitas estirpes de *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* e de *Actinomyces* produzem vários tipos de proteínas de ligação a glucano (GBP), como as GTF da parede, que geram e fixam glicanos após proteólise. As pseudolectinas, desprovidas de atividade enzimática, reconhecem sequências α (1---> 6) -glicanos. Os exopolissacarídeos

provenientes das GTF livres ou das paredes servem como locais de ligação para a aderência seletiva das bactérias portadoras de GBP.

Essas interações glicânicas, dependentes de sacarose, fortalecem a placa, tornando-a mais densa, e promovem a anaerobiose das bactérias mais internas, ao mesmo tempo que limitam a saída dos ácidos produzidos localmente, aumentando assim o potencial cariogénico da placa. A inibição *in vitro* das GTF por iões metálicos divalentes (Fe^{2+}) reduz o caráter cariogénico da placa (12,19).

As bactérias cariogénicas da placa obtêm principalmente sua energia pela hidrólise dos hidratos de carbono provenientes da alimentação do hospedeiro. Esses hidratos de carbono transportados pela saliva, difundem-se através da placa em direção às bactérias próximas aos tecidos dentários mineralizados. A sacarose, principal hidrato de carbono alimentar, penetra em 90% na célula bacteriana e é metabolizado em cerca de 10% no espaço peribacteriano sob a influência da frutossiltransferase (FTF) ou de uma das glicosiltransferases (GTF) (12,19).

Algumas bactérias podem sintetizar polímeros de hidratos de carbono fora de seus corpos a partir da sacarose, atendendo à necessidade de armazenamento diante das flutuações de oferta abundante e escassez de glúcidos. Essas reações de polimerização extracelular requerem um conjunto específico de enzimas e uma fonte de energia. Os estreptococos e os *Actinomyces*, especialmente o *Streptococcus* do grupo *mutans*, *gordonii*, *Actinomyces naeslundii*, *viscosus*, são os principais protagonistas dessas polimerizações extracelulares, e a capacidade das bactérias de formar esses polímeros está relacionada ao seu potencial cariogénico (12,19).

A síntese das enzimas (FTF) e (GTF) presentes na superfície ou na periferia das bactérias é constitutiva, mas o número e as propriedades das GTF podem variar de acordo com as espécies de estreptococos orais. Essas enzimas têm como único substrato a sacarose, um dissacárido de frutose e glicose cuja ligação contém uma energia potencial de (-29 kJ/mol), recuperável para a reação de recondensação em exopolissacárido bacteriano recém-sintetizado (12,19).

A frutossiltransferase (FTF) catalisa a transferência do resíduo de frutose da sacarose. Utiliza a energia recuperada da ligação osídica para formar um polímero solúvel, o levano, com 85% dos resíduos de frutose em uma cadeia β (2 \rightarrow 6) -D-fructano e 15% em ramificações ligadas à cadeia principal por ligações β (2 \rightarrow 1) -D-fructano (fig. 6). Embora não estejam envolvidos na adesão, esses polímeros servem como armazenamento extracelular de frutose em períodos de escassez. O resíduo de glicose rejeitado pode ser metabolizado dentro da célula bacteriana. A FTF de *Streptococcus salivarius* está associada à membrana bacteriana, enquanto em outras bactérias, é secretada na massa da placa (19).

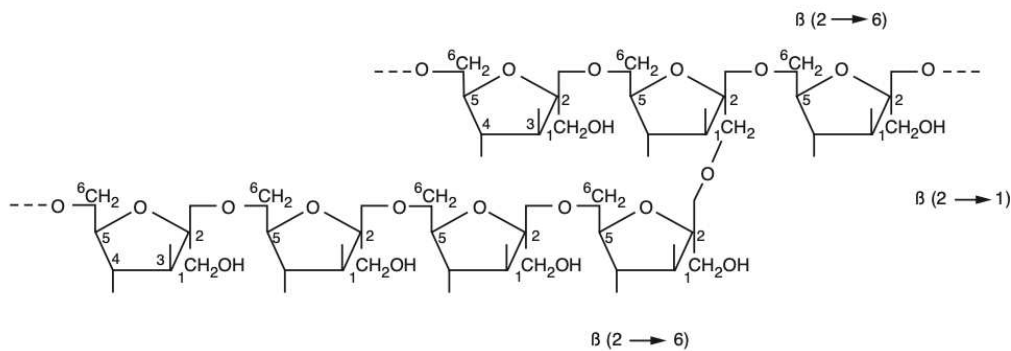


Figura 6. Estrutura geral de um levano. Adaptado de (19)

Existem quatro grupos de GTF (glucosiltransferases) com base na produção de polímeros solúveis ou insolúveis e na necessidade de um iniciador de dextrano. As GTF S (S para solúvel) catalisam a transferência de unidades glicosil desprendidas da sacarose para formar um polímero solúvel principalmente composto por ligações α (1 \rightarrow 6) -D-glicano. As GTF I (I para insolúvel) formam ligações α (1 \rightarrow 3) para criar polímeros insolúveis envolvidos na adesão. Essas enzimas trabalham em conjunto, mas com intensidade variável dependendo das bactérias. Se a atividade da GTF S predominar, o polímero formado, principalmente dextrano, é pouco ramificado e solúvel. Por outro lado, se as ramificações do tipo α (1 \rightarrow 3) forem frequentes, o polímero torna-se insolúvel, como o mutano (fig. 7), conhecido por sua aderência, e seria responsável pela retenção da placa nas superfícies dentárias (19).

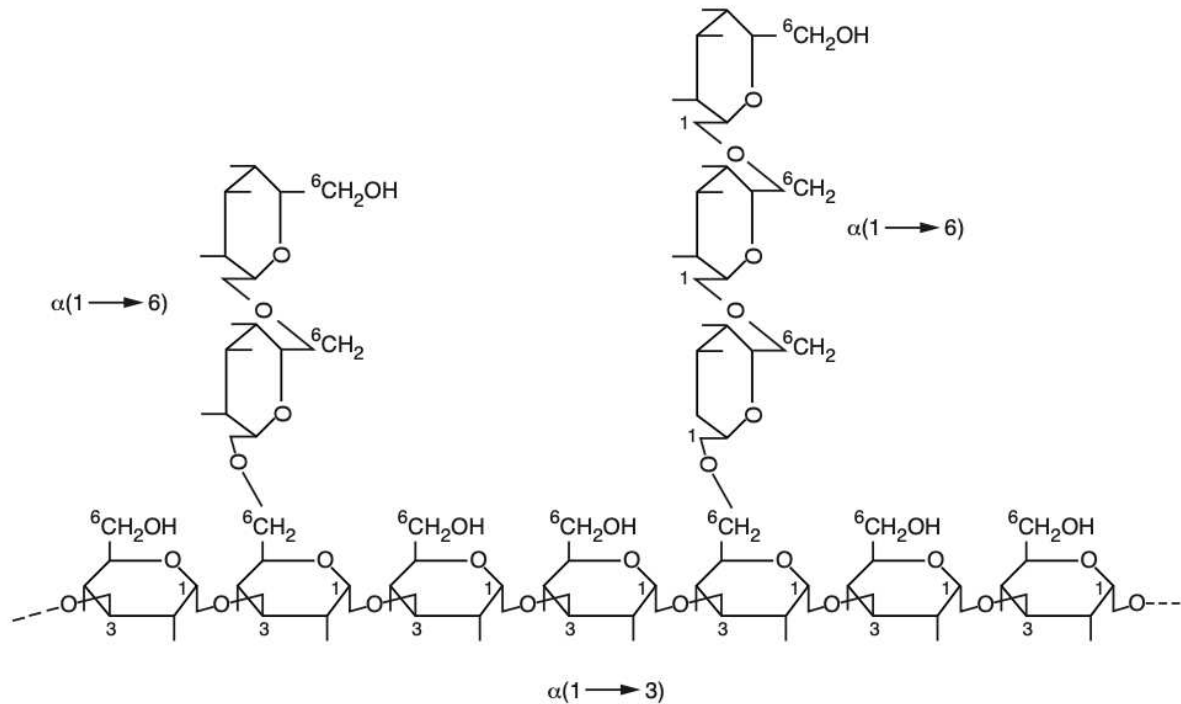


Figura 7. Estrutura geral de um mutano. Adaptado de (19)

As glicosiltransferases (GTF) são principalmente produzidas por estreptococos como *mutans*, *sobrinus* e *salivarius*, bem como por actinomicetos. Uma variante extracelular da GTF foi identificada na matriz da placa bacteriana (19).

A síntese de polissacáridos, tanto intra como extracelulares, ocorre quando os níveis de glúcidos são adequados. Em caso de carência, a degradação desses polissacáridos é desencadeada. Atividades do tipo glicanase (ou dextranase) foram identificadas em várias espécies bacterianas, tais como *Bacteroides*, *Lactobacillus*, *Cytophaga*, *Fusobacterium* e *Actinomyces*, nomeadamente em estirpes produtoras de substrato glicânico, como *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* e *Streptococcus downei*. Certas dextranases extracelulares parecem ter a capacidade de se ligar aos glicanos, enquanto as formas intracelulares não apresentam nenhum domínio de ligação glicânica (12,19).

1.2.1.2. O metabolismo

1.2.2. Metabolismo glicolítico

1.2.2.1. Transporte transmembranar dos açúcares

As bactérias dependem de açúcares alimentares para o seu crescimento, necessitando de mecanismos de transporte através de sua membrana celular. A regulação da síntese desses sistemas permite que as bactérias se adaptem ao seu ambiente. Três mecanismos de transporte de glúcidos são identificados em células procarióticas, incluindo o sistema de fosfotransferase (PTS), o sistema de força motriz por protões (FMP) e o sistema de metabolismo de múltiplos açúcares (Msm), específico para os *estreptococos do grupo mutans* (19,20).

O sistema PTS é o principal mecanismo de absorção de glúcidos em bactérias orais acidogénicas como os estreptococos, os lactobacilos e os actinomicetos. Sua atividade depende das condições ambientais, atingindo uma eficácia ótima em pH neutro e na presença de baixas concentrações de glúcidos. Constitutivo para alguns glúcidos (sacarose, glicose, frutose, manose), é induzido para o transporte de lactose e pentoses (sorbitol, manitol). O sistema envolve um complexo proteico transmembranar EII específico para o glúcido, bem como duas ou três proteínas solúveis no citoplasma (EI, HPr (do inglês, heat-stable-protein) e, por vezes, EIII), permitindo a transferência de um fosfato do fosfoenolpiruvato para o glúcido importado, formando um fosfato de ose (19,20).

Em concentrações elevadas de glúcidos, o sistema PTS é inibido, permitindo que o sistema FMP assuma o transporte dos açúcares. O sistema FMP baseia-se na teoria quimiosmótica, onde um gradiente de protões é mantido em bactérias anaeróbias pela expulsão de protões por uma bomba H^+ /ATPase e por um efluxo de lactato e H^+ provenientes da glicólise. Os açúcares como a glicose são introduzidos na célula bacteriana por uma permease, contra um gradiente de concentração desfavorável, simultaneamente com um protão que se move para o espaço intracelular tornado hipotónico pela bomba H^+ /ATPase. Este sistema funciona eficientemente em níveis de pH ácido e durante fases de crescimento bacteriano intenso (fig. 8) (19,20).

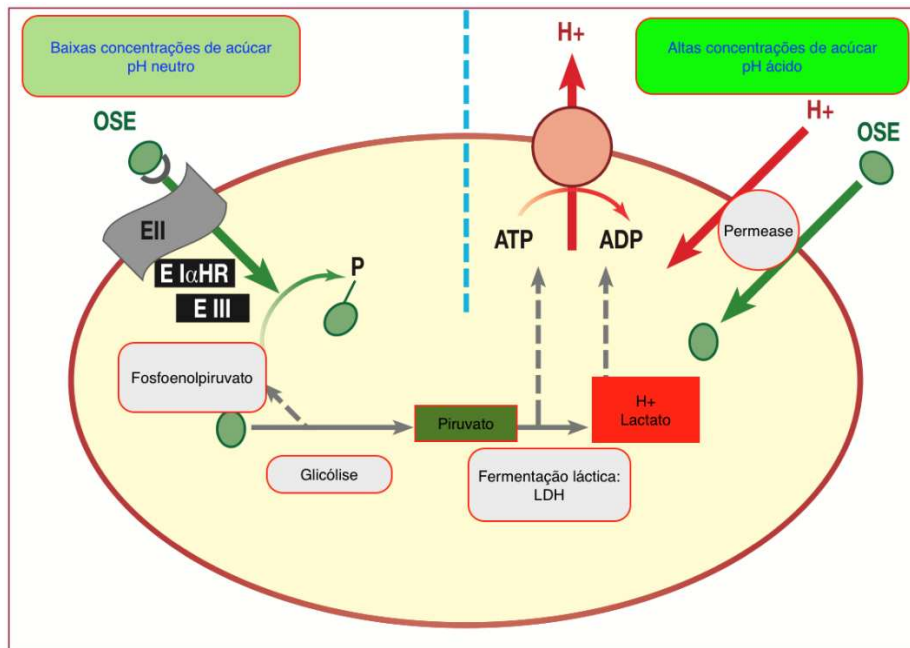


Figura 8. Dois sistemas de transporte de açúcares na célula bacteriana que funcionam alternadamente de acordo com a quantidade de açúcares. Quando essa quantidade é significativa, o sistema de transporte ativo é ativado, mantendo um gradiente de prótons e permitindo que a bactéria liberte também os prótons produzidos pela fermentação láctica. Adaptado de (20)

Muitos estreptococos do grupo *mutans*, além do sistema PTS, possuem outra maneira de transportar glúcidos em suas células bacterianas, chamado sistema Msm (Sistema de Transporte de Metabolismo Multissacarídeos). Embora semelhante ao sistema PTS, o Msm tem a peculiaridade de permitir a entrada de açúcares menos comuns, como melibiose, rafinose e isomaltoses, além dos açúcares clássicos. O papel exato desse sistema de transporte no ecossistema bacteriano ainda não é bem compreendido, mas parece estar envolvido no transporte intracelular de resíduos da degradação de polissacarídeos extracelulares solúveis, especialmente durante períodos de privação nutricional (19,20).

1.2.1.2. Metabolismo dos glúcidos em bactérias cariogénicas

Uma vez que o glúcido penetrou no espaço intracelular, duas opções se apresentam: ele pode ser armazenado na forma de glicogénio, composto por cadeias curtas de glicopirranose ligadas por ligações α (1 \rightarrow 4) e ramificadas em α (1 \rightarrow 6), ou pode ser imediatamente metabolizado. Na presença de oxigénio, a glicólise é seguida por uma cadeia respiratória. Na ausência de oxigénio, se a bactéria for capaz de se adaptar

(anaeróbia estrita ou facultativa), a degradação do glúcido termina em fermentação (19,21).

Quando uma bactéria está isolada da superfície da placa por outras bactérias, ela é obrigada a viver em condições de anaerobiose, uma condição que pode variar em intensidade dependendo de seus equipamentos enzimáticos. Em anaerobiose, a glicólise é limitada à conversão de glicose em piruvato, pois a descarboxilação do piruvato em acetilcoenzima A, uma etapa oxidativa, requer imperativamente a presença de oxigênio. Na ausência de oxigênio, a bactéria é forçada a prosseguir com o catabolismo da glicose apenas através de uma via de fermentação (19,21).

A natureza da fermentação varia de acordo com a espécie bacteriana. Em caso de abundância de glúcidos, os estreptococos, os lactobacilos e os actinomicetos prolongam a glicólise reduzindo o piruvato em lactato, catalisado pela lactato desidrogenase (LDH) e gerando NAD oxidado e ATP pela via homofermentativa. O lactato assim formado combina-se com prótons intracelulares e é expelido da bactéria na forma de ácido láctico, através de um processo de difusão eletroneutra. A atividade da bomba de prótons dependente de ATP facilita a saída passiva dos prótons, criando um gradiente favorável e prevenindo a acumulação de lactato no citoplasma bacteriano (19,21).

O ácido láctico, um ácido orgânico libertado por algumas bactérias como os estreptococos do grupo *mutans*, *Streptococcus sobrinus* e os lactobacilos, desmineraliza os tecidos dentários, contribuindo assim para a cariogénese. Em caso de restrição na ingestão de glúcidos ou em certas espécies mutantes desprovidas de lactato desidrogenase (LDH), a fermentação do piruvato pode seguir a via da piruvato-formiato-liase, produzindo ácidos fracos como formiato e acetato, bem como etanol. O *Actinomyces naeslundii* também utiliza essa via na presença de bicarbonato (19,21).

Outras bactérias produzem ácidos como acetato, butirato, propionato e formiato. Os lactobacilos heterofermentativos utilizam a D-xilulose-5-fosfato fosfocetolase através da via heterofermentativa para gerar ácido láctico, ácido acético e Dióxido de Carbono (CO₂). A degradação de uma molécula de glicose leva à formação de uma molécula de lactato, uma molécula de etanol (CH₃CH₂OH), um CO₂ e um ATP. Os ácidos formados contribuem para a desmineralização do esmalte dentário, sendo o ácido láctico

particularmente significativo, especialmente durante períodos de alto consumo de açúcares. Na ausência de açúcares, ácidos fracos com efeito desmineralizante moderado predominam na placa dentária, especialmente durante o período pós-noturno (19,21).

Existe ainda a via (o caminho) da frutose-6-P fosfoacetolase (FPC) ilustrada na figura 9, que é a via seguida pelas bactérias do género *Bifidobacterium* (21).

Poucas bactérias conseguem sobreviver em condições de pH baixo (*Actinomyces naeslundii* e *Streptococcus sanguis*). Ao contrário destas, os estreptococos do grupo *mutans* e os lactobacilos não apenas podem produzir um ácido forte, o ácido láctico, mas também se adaptam perfeitamente para tolerar ambientes muito ácidos. Essa tolerância deve-se à capacidade de manter um pH intracelular alcalino por meio de mecanismos como aumento da atividade glicolítica, aumento da entrada de açúcares na célula bacteriana, repressão do sistema PTS, aumento da atividade da bomba H^+ /ATPase que bombeia prótons para o espaço extracelular, adoção de um metabolismo homofermentativo (produção exclusiva de ácido láctico) e síntese de proteínas de resposta ao stress (19).

Algumas bactérias presentes na placa dentária, como *Veillonella* ou *Neisseria*, têm a capacidade de decompor o lactato, produzindo ácidos fracos ou voláteis. Essa característica pode ser uma explicação potencial para algumas variações de patogenicidade observadas (19).

A replicação bacteriana envolve uma síntese intensiva de ácidos nucleicos, requerendo a produção de pentoses. Em aerobiose, essa síntese de pentoses ocorre pela via oxidativa da 6-P-gluconato (catalisada pela G-6-P-desidrogenase), enquanto na ausência de oxigénio, ela segue a via não oxidativa envolvendo a transcetolase/transaldolase. Alguns organismos como *Streptococcus mutans* e *salivarius*, que carecem de G-6-P-desidrogenase, utilizam esta última via em anaerobiose (19).

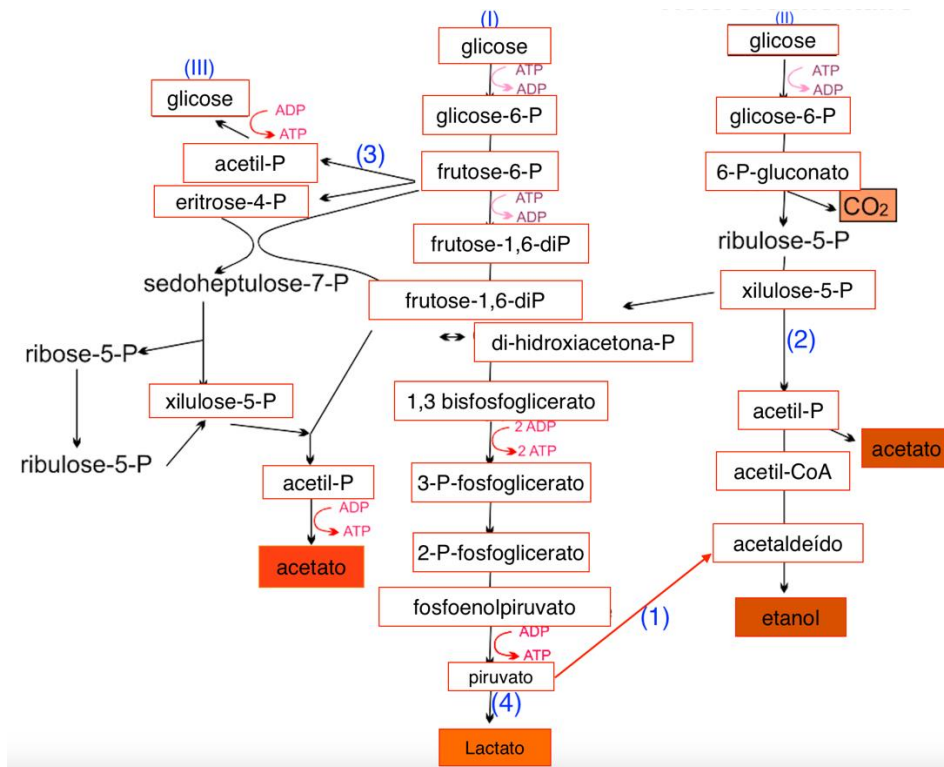


Figura 9. As diferentes vias do catabolismo de glúcidos em bactérias cariogénicas
 (I): Via homofermentativa, (II): Via heterofermentativa, (III): Via da frutose-6-P fosfoacetolase (FPC)
 (1): Piruvato formiato liase, (2): D-xilulose-5-fosfato fosfoacetolase, (3): Frutose 6-P fosfoacetolase, (4):
 Lactato desidrogenase. Adaptado de (21)

1.2.1.3. Potencial Cariogénico dos glúcidos

A alimentação afeta diretamente o metabolismo da placa dentária, especialmente na produção de ácidos. Medir o pH intraoral é um método simples para avaliar a capacidade cariogénica dos alimentos, que depende principalmente do seu teor de açúcar.

A sacarose, sendo facilmente fermentada em ácidos pelas bactérias bucais, é altamente cariogénica. Ela contribui para o estabelecimento de *Streptococcus mutans* na boca e aumenta a placa dentária, favorecendo a criação de polissacáridos extracelulares. Além disso, um aumento no consumo de sacarose está associado a um aumento de *Streptococcus mutans* na cavidade bucal (20).

As pesquisas indicam que a glicose e a frutose são altamente cariogénicas, enquanto a lactose é menos cariogénica. Os testes de pH da placa dentária revelam uma redução do pH com todos esses açúcares, especialmente com frutose, glicose, maltose e sacarose. No entanto, alguns especialistas consideram que o impacto desses açúcares nas cáries é limitado em comparação com a sacarose, devido às características dos alimentos

que os contêm. Não há evidências diretas que conectem o consumo de frutas ao surgimento de cáries. Embora algumas frutas ácidas possam causar erosões dentárias não cariogênicas, elas também promovem a produção de saliva (20).

O impacto cariogênico do amido depende da sua forma. Natural e não cozido, é menos cariogênico do que outros açúcares. No entanto, combinado com sacarose, sua cariogenicidade aumenta, especialmente com um consumo frequente. O amido, complexo, não é metabolizado diretamente pelas bactérias e, portanto, tem um baixo potencial cariogênico. Por outro lado, na boca, é decomposto pela α -amilase salivar e enzimas bacterianas em substâncias cariogênicas como glicose, maltose, maltotrioses e dextrinas. No entanto, uma dieta exclusivamente baseada em amido não levaria a lesões cariosas (20).

Pesquisas, Fioretti, e Haikel,(20) investigaram alternativas à sacarose, resultando em vários adoçantes, calóricos ou não, cujo uso é limitado e regulamentado. Substitutos não calóricos como a sacarina, o ciclamato e o aspartame, frequentemente utilizados em bebidas, café e chá, não são cariogênicos.

Os edulcorantes como sorbitol, licassina e xilitol são menos propensos a causar cáries, sendo o potencial cariogênico do xilitol considerado nulo. O xilitol penetra no citoplasma bacteriano usando a proteína transmembranar EII do sistema PTS, específica para a frutose. Ele é então transformado em xilitol-5-fosfato por enzimas bacterianas, mas a bactéria é incapaz de continuar o catabolismo desse metabólito, que se acumula em seu citoplasma. Isso é conhecido como o ciclo fútil do xilitol. A acumulação de xilitol-5-fosfato na bactéria inibe seu consumo de açúcares metabolizáveis e, portanto, seu crescimento (19,20).

Essas substâncias são comumente utilizadas em produtos como chicletes e medicamentos, mas seu consumo excessivo pode causar efeitos laxativos e reduzir sua capacidade de proteger contra as cáries. É importante notar que o risco de cáries está mais relacionado à frequência de consumo de alimentos açucarados do que ao tipo de açúcar consumido (fig. 10). Portanto, uma dieta rica em açúcar, tanto em quantidade quanto em frequência, é mais preocupante para a saúde dentária (20).

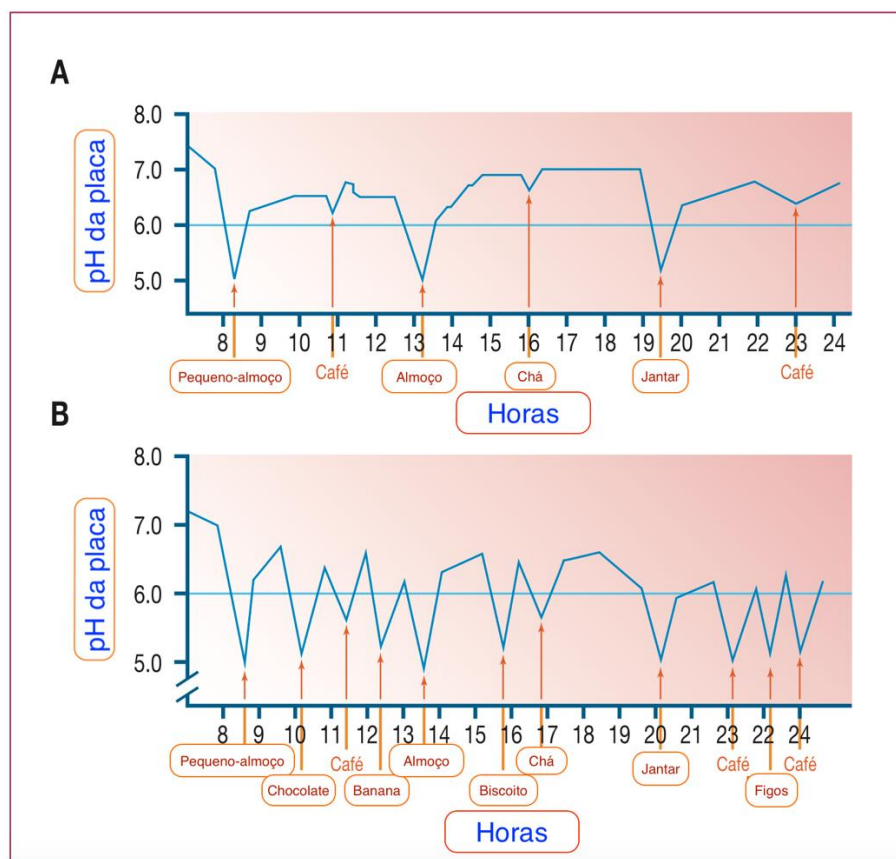


Figura 10. Efeito da frequência das ingestões alimentares nos valores do pH da placa dentária na cavidade bucal. A: baixa frequência, B: frequência alta. Adaptado de (20)

1.2.1.4. Fatores Moduladores da Cariogenicidade dos glúcidos

A cariogenicidade dos açúcares é afetada não apenas pela composição dos hidratos de carbonos, mas também pelas propriedades físicas e gustativas dos alimentos e pelos hábitos de mastigação. Fatores como textura, solubilidade e estimulação da saliva desempenham um papel na duração da presença dos açúcares na boca. Alimentos sólidos açucarados, que favorecem a salivagem, geralmente são menos cariogênicos do que bebidas açucaradas (20).

Os açúcares presentes em frutas, legumes e bebidas geralmente são eliminados da boca em cinco minutos, enquanto os encontrados em chicletes, caramelos e rebuçados podem permanecer na boca até 40 minutos. A duração da presença dos açúcares na boca é reduzida pela mastigação de certos alimentos mais resistentes e pelo consumo de gorduras. Além disso, a mastigação de sacarose, queijos, amendoins e chiclete sem açúcar ajuda a neutralizar rapidamente o pH da placa dentária (20).

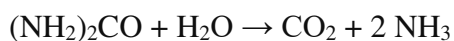
Certos alimentos reduzem os efeitos dos açúcares nos dentes, impedindo a desmineralização e a formação de ácidos na placa dentária. Substâncias como o ácido fítico nos cereais, o ácido glicirrizínico no alcaçuz e um composto não identificado no cacau são conhecidos por essas propriedades. Os queijos também são benéficos para a saúde dentária devido à sua alta concentração de fosfato, cálcio, caseína e à capacidade de inibir a glicólise. Além disso, a presença de fluoretos na água potável desempenha um papel essencial ao proteger as superfícies dentárias e torná-las menos solúveis em ácidos (20).

Mascar pastilhas elásticas sem açúcar estimula a produção de saliva, promovendo a remineralização dentária, melhorando o metabolismo da placa e ajudando a remover os lactatos. Aditivos alimentares, como fosfatos orgânicos e inorgânicos, são sugeridos para inibir a dissolução ácida do esmalte dentário (20).

1.2.3. Metabolismo Proteolítico

1.2.3.1. Metabolismo Proteolítico das Bactérias

O azoto desempenha um papel tão crucial quanto o carbono para as bactérias bucais, como permite a formação de aminoácidos. A ureia, presente no fluido oral (0,5 a 4,5 mmol/L) e proveniente das secreções gengivais, é a principal fonte de azoto para essas bactérias. Algumas bactérias, como *Streptococcus salivarius*, *Staphylococcus haemolyticus* e outras, convertem a ureia em amónia e CO₂ por meio da enzima urease.



A amónia pode tanto alcalinizar a placa dentária como transformar-se em glutamato e, posteriormente, em glutamina. O glutamato também pode converter-se em alanina reagindo com o piruvato. Este processo ilustra a interação estreita entre o metabolismo dos hidratos de carbono e o do azoto (12, 19).

Existe outro mecanismo chamado Metabolismo da arginina por bactérias orais através do sistema de arginina desaminase (ADS), que aumenta o pH local, neutralizando

os efeitos da acidificação do metabolismo dos hidratos de carbonos e reduzindo a cariogenicidade dos biofilmes orais (22).

A arginase favorece um aumento mais rápido do pH após o consumo de glicose ou sacarose. A arginase converte a arginina alimentar em ornitina e ureia, o que é feito pela urease. A ornitina é finalmente convertida em amoníaco e acetato (12).

A saliva bucal contém muitos aminoácidos livres. Sua transformação em acetato e propionato por meio de pentanoatos de aminoácidos é um mecanismo metabólico chave. Embora alguns aminoácidos, como a prolina, sejam menos utilizados, outros como a lisina, a glicina, o glutamato e a arginina são ativamente metabolizados. A arginina, em particular, é decomposta pelo sistema de arginina desaminase (ADA) em citrulina e amoníaco, este último ajudando a neutralizar o ácido láctico nas cáries e não só, mas diminuindo as cáries. A adição de arginina em alguns produtos odontológicos, confirmada por estudos recentes, parece influenciar o metabolismo da sacarose e a composição microbiana salivar. Curiosamente, a saliva em si é uma fonte natural de arginina e outros aminoácidos, provenientes da degradação de proteínas salivares e celulares (23).

Estudos experimentais com animais realizados por Orland e col. na década de 1950 mostraram que as bactérias são cruciais na iniciação e desenvolvimento das cáries dentárias. As cáries são principalmente causadas por bactérias Gram-positivas como os *Streptococcus mutans* e os lactobacilos, bem como por bactérias Gram-negativas como *Veillonella spp.*, *Prevotella*, *Porphyromonas spp.* e *Fusobacterium spp.* A composição microbiana das cáries é complexa e varia de uma cárie para outra (24).

As cáries no esmalte começam com a formação de uma lesão abaixo da superfície do esmalte, devido à dissolução dos cristais pelo ácido láctico produzido por espécies como *Lactobacillus*, *Streptococcus* e *Actinomyces*. Essas lesões manifestam-se clinicamente como manchas brancas. Ao progredir em direção à junção amelodentinária, o processo estende-se por todo o esmalte, depois espalha-se lateralmente e em direção à polpa através da dentina desmineralizada (24).

Uma sucessão bacteriana ocorre durante a evolução da cárie, com uma mudança na microflora devido a variações ambientais, como a redução de hidratos de carbono disponíveis, diminuição de Oxigénio e aumento do pH. Isso favorece a transição de bactérias aeróbias produtoras de ácido para bactérias anaeróbias que degradam o colagénio e fermentam aminoácidos. Estudos confirmam a predominância dessas bactérias anaeróbias em cáries avançadas.

Nas cáries profundas, as bactérias Gram-positivas, principalmente anaeróbias como *Lactobacillus spp.*, predominam, seguidas por cocos como *Peptococcus* e *Peptostreptococcus spp.* À medida que a cárie se aprofunda, o número de bastonetes anaeróbios Gram-negativos, incluindo *Prevotella*, *Porphyromonas* e *Fusobacterium*, aumenta (24).

A leitura da literatura revela um número limitado de estudos que relatam a microbiologia da cárie profunda, mas indicam uma predominância de bactérias anaeróbias. O uso de PCR em tempo real possibilita uma identificação e quantificação mais precisa dessa microflora. No entanto, um estudo de Martin e col. revela que apenas cerca de 12% dos anaeróbios na dentina cariada são identificados, apesar das técnicas avançadas. Essa situação destaca a dificuldade de identificar com precisão as bactérias em um ambiente tão complexo, lembrando que, em muitos ambientes naturais, menos de 1% dos organismos são cultiváveis. Estudos adicionais são necessários para identificar essas bactérias desconhecidas, compreender seu papel nas cáries e na patologia pulpar, e desenvolver ferramentas de diagnóstico e tratamentos eficazes para abordar as cáries como uma infecção (24).

1.2.3.2. Degradação Dentinária

A velocidade de progressão das cáries é mais rápida na dentina do que no esmalte, devido às diferenças na sua composição e estrutura. O esmalte é composto por 99% de minerais e apenas 1% de matéria orgânica, enquanto a dentina contém cerca de 70% de minerais e 20% de matéria orgânica (18). Os ácidos produzidos pela placa dentária podem ser parcialmente neutralizados pelos tampões salivares na superfície do esmalte, retardando assim sua dissolução. Por outro lado, na dentina cariada após cavitação, o pH

da placa é muito mais ácido, alterando a flora bacteriana para uma predominância de lactobacilos acidogénicos. Enquanto a lesão no esmalte é geralmente assintomática, o comprometimento da dentina resulta em sensibilidade devido à presença de fluido dentinário, prolongamentos odontoblásticos e fibras nervosas nos túbulos (16).

Existem duas formas distintas de cáries dentárias: as cáries ativas, caracterizadas por uma dentina de cor amarelo-pálido e amolecida, e as cáries crónicas de progressão lenta, onde a dentina é acastanhada e mais dura. Inicialmente, os ácidos produzidos pela placa bacteriana dissolvem os sais minerais da dentina, expondo a rede de colagénio que se transforma posteriormente em gelatina sob a ação dos ácidos e sais de cálcio. As proteases bacterianas degradam estas estruturas proteicas em aminoácidos e péptidos de baixo peso molecular, que são então utilizados para sintetizar proteínas microbianas (16).

O desenvolvimento do biofilme começa com a fixação de bactérias pioneiras nas superfícies, e no caso das cáries, a ligação de estreptococos bucais ao colagénio da dentina é essencial para a evolução do biofilme. É reconhecido que o colagénio da dentina sofre uma reticulação, que consiste na formação de ligações cruzadas entre as suas fibras, ligada à glicose com o envelhecimento ou em casos de doença. No entanto, o impacto dessa reticulação do colagénio na adesão inicial dos estreptococos bucais e na formação subsequente do biofilme até 2021 ainda não era conhecido (25).

No passado, acreditava-se que a degradação da matriz orgânica da dentina era causada por proteases libertadas por bactérias responsáveis por cáries. No entanto, Chaussain e col. (26) mostraram que as collagenases produzidas por essas bactérias são extremamente sensíveis às variações de pH e não podem sobreviver em um meio muito ácido (pH 4,3) durante o processo de desmineralização em um ciclo de pH. Isso indica que o impacto dessas enzimas na alteração da matriz dentária pode ser restrito. Como resultado, começou-se a considerar a possível contribuição de proteases de origem humana, especialmente as metaloproteinases (MMP), na degradação dessa matriz (26).

Chaussain e col. (26) e Femiano e col. (27), em trabalhos independentes revelaram presença de enzimas proteolíticas, como as metaloproteinases MMP-2, MMP-9 e MMP-3, na dentina, essenciais para o seu desenvolvimento. Essas enzimas, uma vez que a dentina recém-formada é mineralizada, permanecem aprisionadas na matriz

endurecida, seja na forma activa, ou na forma de proenzimas, inactivas. É plausível que a desmineralização causada por cáries não apenas liberte essas enzimas, mas também as ative. Além disso, a saliva que envolve a área afetada pela cárie dentária contém várias proteases que podem contribuir para a degradação da matriz orgânica (26,27).

As metaloproteinases (MMP) constituem uma extensa família de endopeptidases dependentes de zinco e cálcio, que contribuem para a degradação da matriz extracelular (MEC), participam no desenvolvimento do dente, na progressão das cáries dentinárias e na degradação da camada híbrida em restaurações associadas à resina e à dentina. As principais MMP identificadas na polpa, odontoblastos e compartimentos pré-dentina/dentina incluem a colagenase MMP-8, as gelatinases MMP-2 e MMP-9, a estromelina-1 (MMP-3), o ativador de MMP-2 MMP-14 (MT1-MMP), MMP-13, e a enamelinase (MMP-20). Inibidores endógenos de metaloproteinases teciduais (TIMPs) também foram detectados, mas em níveis de expressão mais baixos. Nos estádios mais avançados da dentinogênese, foi demonstrado que o MMP-2 e o MMP-9 estão localizados próximos à junção amelodentinária. O MMP-2 foi isolado da matriz de dentina mineralizada madura humana e identificado também na dentina desmineralizada, sugerindo um papel potencial na degradação da matriz extracelular da dentina durante o processo cariioso. Observou-se que a atividade do MMP-9 diminui da camada profunda para a camada superficial da dentina. Essa variação de concentração pode influenciar a taxa de degradação do colagénio na dentina, especialmente em um contexto cariioso (26, 27).

A estromelina-1, ou MMP-3, foi detectada na pré-dentina e na dentina, especialmente nas áreas intertubulares e ao longo das fibrilas de colagénio. Esta enzima, ativa na dentina desmineralizada, desempenha um papel no processo de mineralização e na progressão da cárie ao degradar vários proteoglicanos como decorina e biglicano, bem como proteínas da família SIBLING (do inglês, *small integrin-binding linked glycoproteins*) como sialoproteína óssea, fosfoglicoproteína extracelular da matriz (MEPE) e osteopontina. A função da MMP-3 na degradação desses componentes da matriz poderia não apenas desorganizar a matriz dentária, mas também libertar citocinas que ativam outras MMPs, amplificando a degradação da matriz (28).

As MMPs são inicialmente secretadas como proenzimas inativas na MEC e precisam ser ativadas para degradar os componentes da matriz. A acidez resultante da atividade bacteriana durante a cárie dentária pode induzir a ativação das MMPs endógenas, por meio de uma mudança conformacional que facilita sua ativação. Embora essas MMPs ativadas permaneçam estáveis em um ambiente ácido, a sua funcionalidade requer um pH neutro, que pode ser alcançado pelos sistemas tampão da dentina e da saliva. Além disso, as proteínas fosforiladas liberadas pela ação ácida das bactérias no colagénio podem reativar as MMPs inibidas, acentuando a degradação da matriz. As catepsinas, outra família de enzimas presente na dentina e na saliva, também podem ativar as MMPs latentes. Estudos têm mostrado que a atividade das catepsinas é mais pronunciada na dentina cariada, especialmente nas lesões mais profundas, o que sugere o seu papel potencial na ativação das MMPs e na progressão das cáries (28).

Na Medicina Dentária Restauradora, a adesão da resina à dentina é essencial para o sucesso das restaurações. Essa adesão pode ser realizada por métodos de condicionamento enxaguatório ou de autocondicionamento. O primeiro método envolve a aplicação de um ácido na dentina para desmineralizar preferencialmente a camada superficial da dentina e expor a rede de colagénio, que será então infiltrada por um adesivo. O autocondicionamento combina o condicionamento e a infiltração numa única etapa. Esse processo ativa as MMPs endógenas presentes em forma latente na dentina, levando à degradação do colagénio na camada híbrida. Especificamente, o método de condicionamento enxaguatório pode deixar parte do colagénio não infiltrado, expondo essa camada à degradação pelas MMPs. Essa deterioração pode levar a vários problemas clínicos, como aumento da sensibilidade dentária, recorrência de cáries, descoloração e pulpites, devido à degradação do colagénio, à hidrólise dos componentes da resina e à ação das proteases exógenas, incluindo as MMPs de origem bacteriana (29).

A pesquisa sobre inibidores de MMP evoluiu para o desenvolvimento de moléculas com maior especificidade, capazes de direcionar seletivamente as MMPs ativas por meio de abordagens inovadoras em engenharia de proteínas. Esses avanços levaram à criação de terapias mais direcionadas, como inibidores baseados em anticorpos monoclonais e pequenas moléculas que visam sítios ativos específicos de MMPs (29).

Na Medicina Dentária, o uso de inibidores exógenos para proteger a dentina e prevenir a desmineralização inclui uma variedade de compostos, tanto sintéticos quanto naturais, capazes de inibir as atividades proteolíticas das MMPs. Entre eles, a clorexidina, agentes fluoretados, indometacina, tetraciclina, trimetafosfato de sódio, cloreto de benzalcônio, etanol, compostos de amônio quaternário, bem como produtos naturais como chá verde, extratos de sementes de uva e curcumina, são frequentemente utilizados. Esses agentes são importantes inibidores de MMPs no campo da Medicina Dentária Restauradora, oferecendo um potencial terapêutico significativo para a prevenção e tratamento de patologias dentárias relacionadas à atividade das MMPs (29).

A clorexidina atua como um poderoso inibidor das metaloproteinases da matriz (MMP), limitando a degradação do colagénio por enzimas de acção colagenolíticas, como as MMPs e a catepsina, família de proteases de cisteína. A sua acção inibidora estende-se a ambientes ácidos, típicos do condicionamento ácido e de cáries, onde pode prevenir a ativação das MMPs. Estudos adicionais demonstraram que a clorexidina pode reduzir parcialmente a atividade das MMPs, mesmo após a aplicação de primers autocondicionantes, sugerindo uma proteção potencial contra a degradação da camada híbrida de dentina por vários agentes desmineralizantes (29).

O esmalte protege o colagénio da dentina contra a glicação. Quando degradado pelas cáries, a dentina fica vulnerável às substâncias presentes na boca, especialmente aos açúcares dos alimentos e bebidas, que podem contribuir para a sua deterioração. A destruição do esmalte também facilita a passagem de líquidos da polpa para o exterior, transportando açúcares que podem induzir a glicação do colagénio dentinário e a formação dos produtos finais da glicação avançada (PGA): a reação de Maillard, especialmente ao redor dos túbulos dentinários, acelerando assim os processos de glicação nas áreas cariadas (30).

Na dentina saudável, os PGA estão principalmente ao redor dos túbulos dentinários. Durante o processo de cárie, enzimas como as metaloproteinases da matriz (MMPs) presentes na dentina ou a colagenase bacteriana contribuem para a degradação do colagénio. Após essa destruição, os açúcares redutores provenientes da dieta infiltram-se na matriz colagénica da dentina intertubular e induzem a glicação dentro da dentina cariada. A infecção bacteriana avança ao longo dos túbulos dentinários, afetando

inicialmente apenas as áreas periféricas dos túbulos, o que leva à formação de PGA principalmente na dentina peritubular (30).

A acumulação de produtos de glicação avançada (PGA) na dentina aumenta a resistência mecânica desta face à ação de enzimas como as metaloproteinases da matriz (MMPs) e a colagenase, que decompõem as proteínas em pequenos péptidos. Este fenómeno indica que as fibras de colagénio enriquecidas em PGA tornam-se mais resistentes à degradação por acção ácida e enzimática. À medida que a quantidade de PGA na dentina aumenta com a idade, supõe-se que a progressão das cáries dentárias em pessoas idosas seja menos rápida do que em jovens. A imersão prolongada em açúcares redutores torna a dentina cariada mais escura e mais dura, mas também mais frágil, o que poderia retardar a progressão das cáries, como observado nas cáries crónicas. A exposição da dentina à cavidade oral favorece a glicação do colagénio dentinário, e os PGA resultantes estão fisiologicamente ligados a vários sintomas de cárie, como descoloração, fragilidade e cronicidade das cáries (30).

1.2.4. O papel do biofilme superficial

1.2.4.1. Distribuição das populações bacterianas de acordo com o local da lesão cárie

A flora microbiana presente na boca inclui um total de mais de 700 espécies bacterianas, entre as quais cerca de 30% permanecem não cultivadas. Essas diferentes espécies ocupam nichos específicos dentro da cavidade oral (31).

Não existe uma composição bacteriana uniforme para lesões de cárie dentária. Estas variam de acordo com diversos fatores, como a idade, alimentação, saúde geral do indivíduo, bem como a localização e estágio da lesão. Estudos realizados com uma amostra adequada de participantes permitem caracterizar o microbiota associado a diferentes fases da cárie. Entre as espécies bacterianas presentes em diversos tipos de lesões cariosas, encontramos *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e *Scardovia*. No entanto, dada a complexidade do microbioma oral e suas interações, questiona-se o papel específico das espécies individuais na doença (32).

De acordo com a hipótese da placa ecológica, as cáries iniciais frequentemente se manifestam como manchas brancas (em inglês, *white spot*) resultantes da colonização do biofilme por bactérias mais acidogênicas e tolerantes ao ácido. Estudos têm confirmado a presença de *Streptococcus mutans* e lactobacilos nessas lesões, bem como outras espécies bacterianas como *Actinomyces*, *Streptococcus*, *Veillonella* e *Bacteroides*, embora as suas proporções possam variar (32).

As populações microbianas variam conforme as superfícies, com diferenças significativas entre aquelas das superfícies sadias e aquelas apresentando lesões dentárias. Algumas bactérias como *Actinomyces gerencseriae*, *A. naeslundii*, *A. israelii*, *A. viscosus*, *Prevotella nigrescens*, *Dialister micraerophilus*, *Eubacterium_XI G 1 infirmum*, *Streptococcus sp_oral_Taxon_065* e *Corynebacterium matruchotii* são mais abundantes nas superfícies apresentando lesões iniciais de manchas brancas. Estudos também indicam que outras bactérias além de *S. mutans* podem desempenhar um papel importante nas cáries. As lesões de cárie dentária estão associadas a uma comunidade diversificada de bactérias, incluindo *Lactobacillus*, *Shlegelella*, *Pseudoramibacter* e *Atopobium*, e os lactobacilos são frequentemente encontrados nas cavidades da dentina (33).

Nos anos 1970, estudos sobre a cárie radicular revelaram um microbiota complexo incluindo espécies como *S. mutans*, *S. sanguinis*, *Actinomyces viscosus*, *Lactobacillus* e *Veillonella*. Pesquisas posteriores identificaram outras bactérias acidogênicas associadas à cárie radicular, incluindo bifidobactérias e leveduras como *Candida dubliniensis*. Métodos moleculares confirmaram essa diversidade microbiana, destacando espécies como *S. mutans*, *Enterococcus faecalis*, *Actinomyces*, *Lactobacillus*, entre outras. No entanto, a composição microbiana varia de indivíduo para indivíduo. Um estudo recente questiona o papel patogênico dos *Actinomyces*, sugerindo que eles podem atuar como comensais ou contribuir para a formação de um ambiente propício à cariogênese devido à sua capacidade de sobreviver em ambientes ácidos e fermentar hidratos de carbonos (32).

A cárie dentária ocorre após a quebra do esmalte e apresenta uma diversidade microbiológica complexa, embora estudos não tenham mostrado diferenças significativas no microbioma conforme a profundidade da lesão. Espécies como *S. mutans*, *Rothia*

dentocariosa e *Propionibacterium acidifaciens* são frequentemente detectadas, mas as principais espécies variam de acordo com as técnicas de detecção utilizadas. A composição do microbioma também varia conforme o pH da lesão, com uma prevalência aumentada de lactobacilos em lesões mais ácidas, enquanto lesões menos ácidas estão associadas a uma diversidade microbiológica mais elevada, dominada por espécies de *Prevotella* (fig. 11). Os micro-organismos profundamente inseridos na dentina são menos dependentes de hidratos de carbono fermentáveis do que nas cáries coronárias, mas são sensíveis às condições microambientais nas superfícies radiculares expostas. Fatores como nutrientes disponíveis, Oxigénio, defesas imunológicas do hospedeiro e antibióticos podem influenciar a composição do microbioma e a progressão das cáries. As bactérias associadas à dentina e às cáries podem contribuir para a desmineralização e a ação proteolítica nas lesões, com uma diversidade metabólica refletindo as diferenças de ecologia entre a cárie dentária profunda e a cárie coronária (32).

O ambiente ácido resultante do metabolismo do biofilme favorece a seleção de bactérias específicas com fatores de virulência distintos. Uma pesquisa recente acompanhou pela primeira vez *in vivo* o contínuo processo de progressão e interrupção da cárie dentária, revelando uma maturação do biofilme associada a um aumento de anaeróbios Gram-negativos e espécies bacterianas específicas, bem como um aumento das concentrações de certos metabólitos. Esses resultados fornecem uma visão dos mecanismos reais envolvidos na progressão e interrupção das cáries, o que pode ajudar na identificação de pacientes que necessitam de estratégias de prevenção de cáries e na gestão eficaz da doença. Eles também abrem caminho para a identificação de biomarcadores clinicamente relevantes (33).

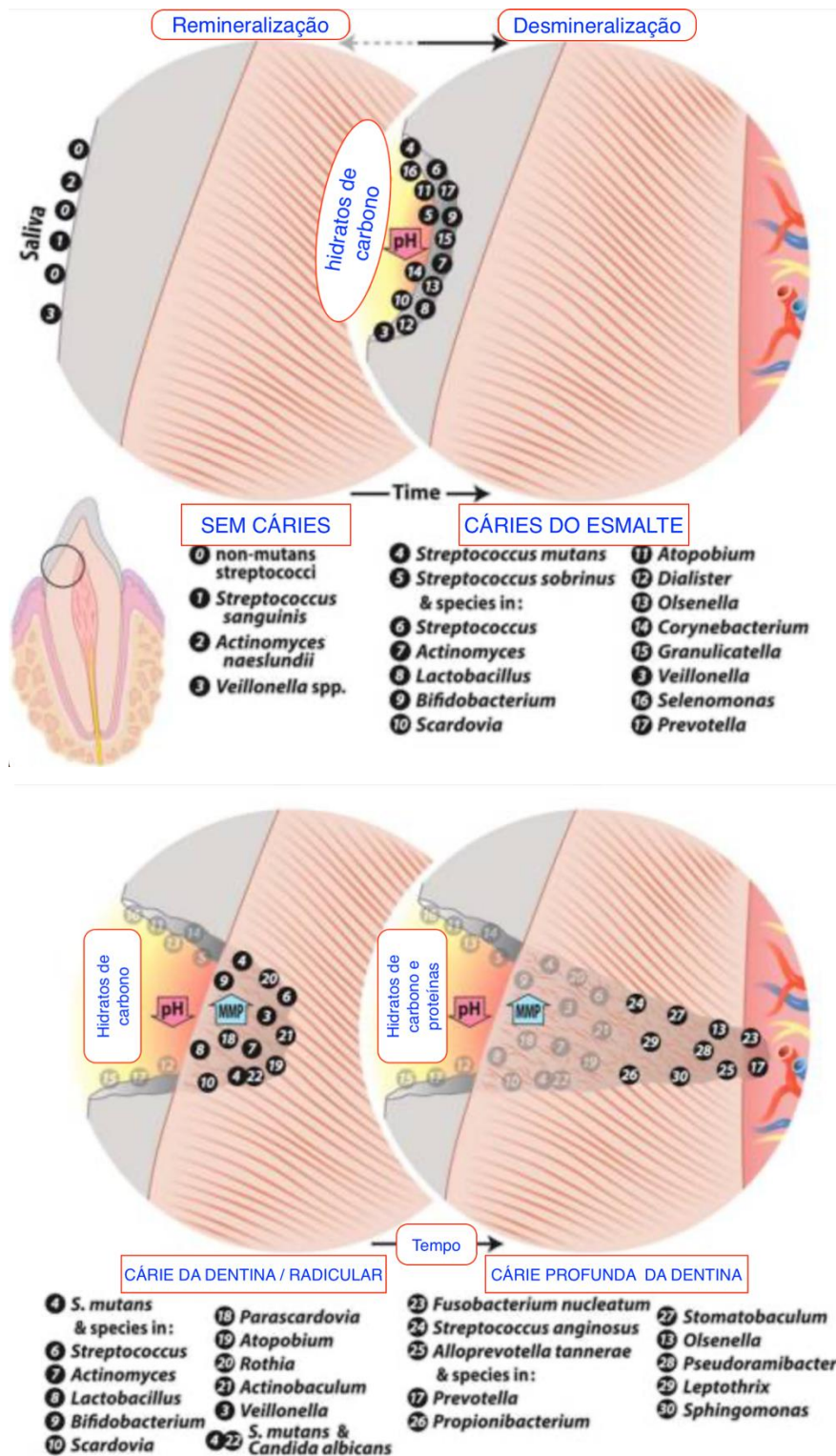


Figura 11. As principais espécies bacterianas identificadas em locais sem cáries, com cáries no esmalte e cáries dentinárias são apresentadas, ilustrando a colonização microbiológica associada a essas condições. As cáries no esmalte são caracterizadas por um aumento de espécies altamente acidogênicas e supressão de espécies sensíveis ao ácido, o que reduz a diversidade da comunidade. As cáries dentinárias, incluindo cáries radiculares, geralmente apresentam uma diversidade microbiológica maior do que as cáries no esmalte, com espécies moderadamente acidogênicas devido ao menor teor mineral da dentina. A progressão das cáries na dentina pode envolver desmineralização ácida e aumento da atividade proteolítica, levando a valores de pH mais elevados nas lesões profundas. Adaptado de (32)

1.2.4.2 Aspecto dinâmico da lesão cariiosa

Um estudo anterior examinou o pH e o perfil de ácido orgânico nas lesões cariosas, revelando níveis elevados de lactato associados a lactobacilos e estreptococos acidogénicos em lesões altamente ácidas (pH médio de 4,9). As lesões menos ácidas (pH médio de 5,7) estavam relacionadas com ácidos acético e propiónico, produzidos principalmente por bactérias gram-negativas como prevotelas. Os estreptococos estavam presentes nas camadas superficiais das lesões, favorecendo o acesso aos substratos exógenos, mas sua abundância não estava correlacionada com o pH. Existe uma interação complexa entre o pH do ambiente, a composição bacteriana e a disponibilidade de substratos metabólicos, influenciando a seleção microbiana nas diferentes partes da lesão cariiosa (34).

O pH das lesões cariosas difere significativamente entre as lesões ativas e as lesões em estagnação, confirmando as conclusões de estudos anteriores. As diferenças de pH entre as lesões ativas e as lesões em estagnação refletem provavelmente a atividade diferenciada das bactérias cariogénicas. Os estreptococos orais, especialmente *S. mutans*, são predominantes nas lesões cariosas, mas nenhuma correlação foi observada entre o pH e a presença de *S. mutans* ou *S. sobrinus* nas lesões cariosas cavitárias. Foi observada uma prevalência mais elevada de *Lactobacillus spp.* nas lesões ativas em comparação com as lesões em estagnação, confirmando assim que as populações de bactérias cariogénicas diferem entre as lesões ativas e as lesões em estagnação. A acidificação ambiental é o principal determinante das mudanças fenotípicas e genotípicas da microflora durante as cáries. A medição do pH das lesões cariosas pode servir como um indicador para o diagnóstico em tempo real da atividade cariiosa e facilitar o acompanhamento dos tratamentos (36).

Quando há uma frequente ingestão de açúcar ou baixa produção salivar que não neutraliza os ácidos, o pH da placa dentária diminui mais rapidamente e severamente. Essa variação ambiental pode fortalecer a capacidade das bactérias comensais e produzir

ácidos e resistir à acidez de forma adaptativa. Estudos têm mostrado que estreptococos comensais, como *S. sanguinis* e *S. oralis*, expostos a um ambiente ácido, aumentam sua capacidade de produzir ácidos e sua resistência ao meio ácido. Isso provavelmente se deve a mecanismos como o aumento da impermeabilidade da membrana aos prótons, a ativação da ATPase de translocação de prótons e a indução do sistema de arginina desiminase. Esses mecanismos foram observados em estreptococos não mutantes após incubação em pH baixo (35).

As cáries resultam de alterações na comunidade bacteriana presente na superfície dos dentes, com espécies acidogênicas desempenhando um papel chave no seu desenvolvimento. *Streptococcus mutans* está frequentemente associado às cáries, mas outras espécies como *S. salivarius*, *S. sobrinus* e *S. parasanguinis* também podem estar envolvidas, especialmente em indivíduos com níveis baixos ou inativos de *S. mutans*. Um estudo demonstrou que Veillonella, um metabolizador de lactato, estava associado às cáries e poderia prever o seu desenvolvimento em crianças sem histórico de cárie. A diversidade das comunidades bacterianas estava reduzida nos dentes cariados em comparação com os dentes saudáveis, pois muitas espécies pareciam ocorrer em níveis inferiores ou serem perdidas à medida que as cáries avançavam, incluindo o grupo *Streptococcus mitis*, *Neisseria* e *Streptococcus sanguinis*, o que poderia influenciar a capacidade da comunidade bacteriana de se restabelecer e promover a saúde bucal (37).

Uma cooperação funcional entre certas espécies de *Streptococcus* e *Veillonella* permite a colonização em diferentes pH. Muitas bactérias não identificadas também podem influenciar o gradiente de pH nas lesões de cárie. Estudos sugerem que *S. mutans* e lactobacilos dominam as lesões com pH de 5 ou menos, mas nenhum domínio foi observado *in vivo*. Após a destruição do esmalte, a composição da dentina cria um ambiente diferente, favorecendo a colonização de táxons bacterianos menos acidogênicos. Espécies gram-negativas, menos tolerantes ao ácido, também podem colonizar as áreas menos ácidas das lesões, formando uma comunidade bacteriana mais complexa. O pH, a disponibilidade de substratos metabólicos e a falta de Oxigênio condicionam essa seleção microbiana (34).

O estudo de Kianoush e col. (34), revelou a presença de um gradiente de pH através da lesão de cárie, destacando uma forte associação entre a quantidade de lactobacilos e o intervalo de pH mais baixa (pH 4,5 a 5,0). Os estreptococos estavam principalmente presentes nas camadas mais superficiais da lesão, mas nenhuma correlação significativa com o valor do pH foi observada. As prevotelas preferiram o intervalo de pH de 5,5 a 6,0. No entanto, a representação total desses quatro géneros bacterianos não ultrapassou um quarto da carga bacteriana total na maioria das amostras cariosas. Esses resultados destacam a importância do pH na colonização bacteriana das lesões de cárie e sugerem mecanismos distintos de preferência bacteriana dependendo do pH (34).

A cárie dentária é uma doença dinâmica caracterizada por fases de desmineralização e remineralização. O ambiente ácido resultante do metabolismo bacteriano do biofilme oral favorece populações bacterianas específicas com fatores de virulência distintos. A utilização do sequenciamento do gene do 16S rRNA e a espectroscopia de ¹H NMR permitiram examinar pela primeira vez *in vivo* a mudança na composição do microbioma durante a progressão e interrupção das lesões de cárie. Observamos um aumento de anaeróbios Gram negativos, especialmente *Veillonella* e *Prevotella*, assim como outras espécies bacterianas como *Kingella oralis*, *Rothia dentocariosa*, *Gemella sp.* e *Alloprevotella sp.*, acompanhado por um aumento nas concentrações de vários metabolitos (33).

A análise do microbiota associado às cáries agressivas oferece uma visão crucial das espécies bacterianas envolvidas na progressão desta doença. Pesquisas, especialmente aquelas conduzidas na década de 1970 pelo laboratório de Walter Loesche, identificaram um microbiota complexo incluindo espécies como *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguinis*, *Actinomyces viscosus*, *Lactobacillus* e *Veillonella* em crianças com lesões cariosas extensas até a dentina. Estudos mais recentes também destacaram uma maior diversidade de espécies de *Lactobacillus* em crianças com cáries graves, com uma correlação entre a dieta rica em açúcares e a prevalência de *Streptococcus mutans*. Nos Estados Unidos, a cárie severa da primeira infância foi associada a uma maior diversidade microbiótica, incluindo especialmente *Streptococcus mutans*, *Actinomyces*, *Bifidobacterium* (especificamente *Scardovia wiggsiae*), *Veillonella* e estreptococos não *mutans*. O uso de métodos moleculares detectou níveis significativamente mais elevados

de *Streptococcus mutans* em crianças com cárie severa. Além disso, uma reduzida diversidade microbiótica, característica das lesões cáries ativas, foi observada, com uma predominância de espécies acidogênicas e tolerantes ao ácido, incluindo *Lactobacillus* e outros estreptococos. Estudos também revelaram uma forte associação entre os *Streptococcus mutans* e as cáries agressivas, embora outras espécies bacterianas, como certas cepas de *Streptococcus* e *Actinomyces*, possam desempenhar um papel significativo, especialmente em crianças sem *Streptococcus mutans* detectável. Pesquisas sobre formas de cárie dentária que progridem rapidamente destacam a importância das espécies bacterianas acidogênicas e tolerantes ao ácido no microbioma cariogênico, sugerindo uma correlação entre a composição microbiótica e a atividade da doença cáries (32).

As cáries dentárias resultam de um aumento do consumo de açúcar ou de uma diminuição do fluxo salivar, favorecendo a formação de biofilmes expostos a pH baixos por períodos prolongados. Esta condição seleciona organismos bacterianos capazes de tolerar um ambiente ácido ou de produzir ácidos, em detrimento das bactérias que se desenvolvem em condições neutras ou que contribuem para neutralizar o pH. Embora tradicionalmente associado à cárie desde a sua descoberta em 1924, o *Streptococcus mutans* já não é considerado o único agente responsável. Estudos recentes identificaram uma diversidade de espécies bacterianas nos biofilmes cariogênicos, incluindo *Catonella morbi* e *Granulicatela elegans*. Por exemplo, uma análise de 2018 revelou um aumento significativo de diferentes espécies de *Streptococcus* em pacientes com cáries dentárias, nomeadamente *S. parasanguinis*, *S. australis*, *S. salivarius*, *S. intermedius*, *S. constellatus* e *S. vestibularis*. Estes resultados sugerem que o aparecimento de cáries dentárias não pode ser atribuído a uma única bactéria, mas sim a uma perturbação do equilíbrio do ecossistema bucal como um todo (38).

Os primeiros estádios da cárie manifestam-se através da deterioração da superfície do esmalte. A observação ao microscópio eletrónico revelou que as primeiras áreas a dissolver-se são os espaços entre os prismas do esmalte, o que, após ataques repetidos, resulta numa aparência opaca do esmalte. Este estádio é comumente designado como "white spot", uma lesão inicial do esmalte. Esta lesão pode progredir, por vezes afetando uma grande parte da espessura do esmalte, sem comprometer a sua integridade

superficial. De facto, não é recomendado usar uma sonda pontiaguda para explorar uma superfície de esmalte cariado mas não rompido. A criação de uma microcavidade neste caso poderia servir como um local de ancoragem para o biofilme, bem como um nicho de retenção para os produtos de catabolismo ácido. Enquanto a integridade da superfície do esmalte for preservada, as bactérias não podem penetrar no esmalte ou mesmo alcançar a dentina. No entanto, o tecido pode tornar-se mais macio e acidificado (39).

Na verdade, o processo de cárie dentária baseia-se numa variação de acidez que favorece certas bactérias, especialmente aquelas do grupo *Streptococcus* (como *mutans* e *sobrinus*), que proliferam em ambientes ácidos. A capacidade delas de tolerar e produzir acidez facilita o seu desenvolvimento. Essas bactérias, sendo continuamente alimentadas por hidratos de carbono fermentáveis através do biofilme superficial, encontram os nutrientes necessários para sua sobrevivência. Depois de afetar o esmalte, a cárie frequentemente atinge a dentina, especialmente depois de atravessar o esmalte já cariado. Um estudo realizado por Kianoush e col. (34), mostrou que, numa lesão cariada, a camada mais superficial da dentina era a mais ácida, abrigo assim as bactérias mais acidófilas. Por outro lado, as camadas mais profundas e saudáveis da dentina são menos ácidas e abrigam uma flora mais diversificada. Esta camada superficial da dentina desempenha um duplo papel: está em contato tanto com o biofilme cariogénico quanto com os resíduos alimentares ricos em hidratos de carbono. Esta posição particular torna-a um reservatório de acidez, pois os produtos metabólicos como o lactato permanecem retidos ali. Apesar do banho salivar na cavidade, o fluxo salivar não é suficiente para dispersar os substratos e os produtos do metabolismo bacteriano. Assim, o pH da superfície dentária aumenta rapidamente. O mesmo estudo analisou cinco camadas concêntricas de dentina, indo da mais mole e superficial à mais interna e saudável. O pH varia de 4,5 a 5,0 para a dentina superficial, para um pH superior a 6,5 para a dentina dura mas afetada. Segundo o estudo de Kuribayashi e col. (36), as lesões ativas apresentavam em média um pH de $5,5 \pm 0,3$, enquanto as lesões estagnadas exibiam um pH médio de $6,1 \pm 0,2$. Foi observada uma diferença significativa nos valores de pH entre as lesões ativas e inativas (34, 36).

Embora a presença de uma diversidade bacteriana significativa possa parecer paradoxal, vários fatores podem explicá-la. A dentina, que é atravessada por túbulos, é inicialmente permeável às bactérias antes da esclerose dos canalículos. Quando há uma lesão no esmalte já cariado, a superfície da dentina exposta às bactérias sofre ataques

ácidos e proteolíticos, resultando numa zona de degradação. Além disso, a ação das bactérias contribui para alargar os canalículos dentinários. Esta dentina localizada sob a área de destruição, estando afastada dos aportes regulares de nutrientes provenientes da cavidade bucal, não apresenta um metabolismo acidogénico pronunciado na sua flora. Em contrapartida, na superfície, o biofilme que metaboliza a placa resulta numa diminuição do pH e favorece a seleção de uma flora acidófila. Este meio dentinário muito ácido, com um pH próximo de 4, oferece condições favoráveis ao crescimento de Lactobacilos, mas é menos propício aos Streptococcus mutans, que têm tendência a colonizar camadas mais superficiais menos ácidas, mas mais ricas em hidratos de carbono provenientes da cavidade bucal (34).

No que diz respeito à progressão da cárie, na fase inicial do esmalte, o principal fator é evidentemente o biofilme de superfície, que gera ácidos a partir dos nutrientes disponíveis. Quando a cavitação começa, o biofilme de superfície difunde iões H^+ para o meio subjacente (esmalte e dentina), favorecendo assim a progressão da cárie, especialmente quando as bactérias no início da cavidade não têm acesso ideal aos nutrientes e não podem acidificar eficientemente seu ambiente. No momento da formação de uma cavidade acentuada ao nível da dentina, a camada mais superficial torna-se a mais ácida. O biofilme, agora presente na cavidade, coloniza esta superfície dentária e abriga bactérias acidófilas. Assim, o biofilme desempenha um papel central no processo de formação da cárie, produzindo os ácidos responsáveis pela desmineralização dos tecidos circundantes. As bactérias presentes nos tecidos dentários mais profundos não participam diretamente na acidificação de seu ambiente ou na dissolução dos tecidos dentários, pois estão muito distantes das fontes de nutrientes provenientes da cavidade bucal (34, 40).

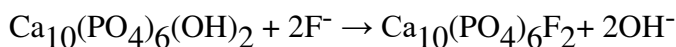
2. O Papel do Metabolismo no Tratamento e Prevenção da Cárie Dentária.

2.1. Prevenção

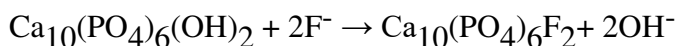
2.1.1. O Papel do Flúor

2.1.1.1. Efeito do Flúor no Esmalte e na Película Adquirida

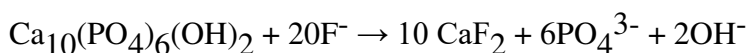
Três reações principais descrevem a reatividade do íão fluoreto com a apatite :
A troca entre (F⁻) e (OH⁻) no nível da apatite, onde os íões fluoreto substituem os íões hidroxilo na estrutura da apatita:



A formação de cristais de fluoroapatite a partir de uma solução saturada contendo íões cálcio, íões fosfato e íões fluoreto:



Em concentrações elevadas de íões fluoreto (F⁻) na solução, a apatite sofre um processo de dissolução, resultando na formação de fluoreto de cálcio (CaF₂).



Estas duas primeiras reações são desencadeadas pela exposição prolongada a baixos níveis de fluoreto na solução (entre 0,1 e 10 ppm), ou por fontes tópicas.

Os níveis de concentração influenciam a natureza do produto da reação: em concentrações mais baixas, o fluoreto é incorporado na estrutura da apatite, enquanto em concentrações mais altas (100 a 10000 ppm), o fluoreto de cálcio torna-se dominante (como na terceira reação). Este precipitado (CaF₂), sob a influência dos fosfatos presentes na saliva, assume uma forma esférica (41).

Estudos têm demonstrado que o fluoreto de cálcio permanece estável na superfície dentária após uma aplicação tópica, devido à sua insolubilidade na saliva a pH neutro e à sua interação com o fosfato de cálcio e as proteínas. Durante os ataques de cárie, a libertação de íões de fluoreto do fluoreto de cálcio é favorecida pela diminuição dos íões de fosfato, sendo então integrada à hidroxiapatite dentária. Após uma cárie, o fluoreto de cálcio é restaurado por proteínas e fosfato, atuando como um reservatório de fluoreto regulado pelo pH no esmalte. A contaminação do fluoreto de cálcio pelo fosfato pode aumentar sua solubilidade, tendo implicações clínicas para aplicações tópicas de fluoreto. Reforçar o potencial de formação de fluoreto de cálcio nos agentes de fluoretação é recomendado para uma eficácia a longo prazo. Métodos como prolongamento da exposição, aumento da concentração, diminuição do pH e pré-tratamento com saliva e cálcio têm sido eficazes para aumentar a deposição de fluoreto de cálcio no esmalte em estudos *in vitro* (41,11,42).

2.1.1.1. Flúor, um inibidor do metabolismo bacteriano

A aplicação regular de fluoretos tópicos é reconhecida como a medida profilática mais eficaz contra as cáries. Estes fluoretos carregam a placa dentária com iões de flúor, formando assim um reservatório acessível. Podem precipitar-se sob a forma de cristais de fluorohidroxiapatite nos dentes em desenvolvimento, reduzindo a sua vulnerabilidade à desmineralização. Também formam uma fina camada de fluoreto de cálcio sobre as superfícies dentárias, atuando como um reservatório imediatamente disponível durante as diminuições bruscas de pH. As interações dos fluoretos com o metabolismo glicídico bacteriano são benéficas. A entrada de fluoretos é favorecida porque o ácido fluorídrico (HF) atravessa a membrana e o fluoreto não e o HF existe a pH ácido como mostra a figura 12. Quanto maior a diferença de pH entre o interior e o exterior da célula bacteriana, mais sensível ela é aos fluoretos, como é o caso do *Streptococcus mutans*, que mantém um gradiente de pH elevado e, portanto, apresenta uma sensibilidade aumentada aos fluoretos (19, 43, 44).

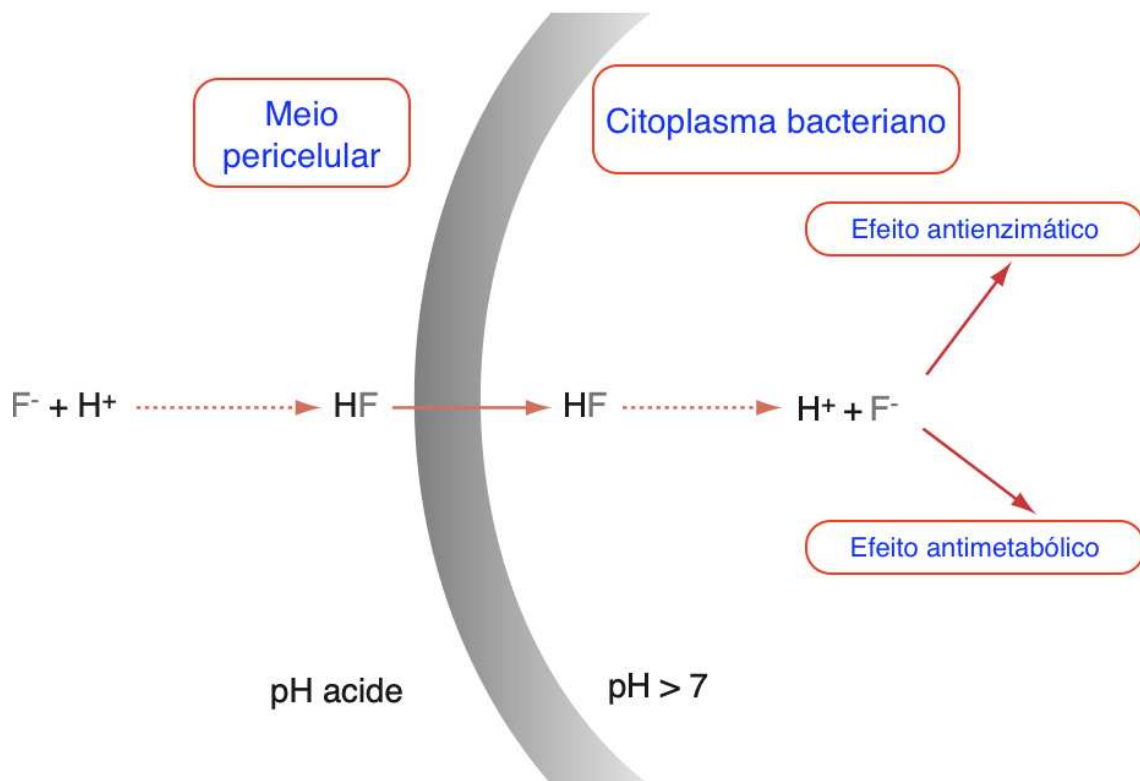


Figura 12. Modo de penetração dos fluoretos na célula bacteriana. Adaptado de (19)

Dentro da célula bacteriana, a dissociação do fluoreto de hidrogénio (HF) liberta iões H^+ que tendem a diminuir o pH intracelular, reduzindo assim o gradiente de pH com o exterior. Esta perturbação do pH contraria o metabolismo bacteriano, limitando o seu crescimento. Os iões fluoretos dividem-se entre uma fração fracamente ligada a proteínas e outras moléculas e uma fração fortemente ligada, sendo que apenas cerca de 1% está na forma livre (19,43).

A enolase, uma metaloenzima essencial na via da glicólise, representa o principal alvo dos fluoretos dentro da célula bacteriana. A inibição da enolase interrompe a glicólise, resultando na acumulação de 2-fosfoglicerato e perturbando o sistema de transporte dehidratos de carbono por fosfotransferase. A inibição da enolase, por um lado, e a perturbação do PTS, por outro, alteram o metabolismo energético da bactéria e limitam a sua capacidade de produzir ácidos por fermentação a partir do piruvato (19,43).

Além disso, os iões fluoretos inibem diretamente a bomba extrusiva H^+ /ATPase, impedindo assim a subida do pH no citoplasma e bloqueando o sistema de transporte FMP (fig. 13). Portanto, o efeito predominante dos fluoretos sobre as bactérias orais parece ser uma redução da sua tolerância ácida (19,43).

Além disso, podem limitar a síntese de glicogénio intracelular e perturbar a biossíntese de exopolissacarídeos e outras enzimas bacterianas (19,43).

Os fluoretos tópicos atuam reforçando a resistência dos dentes à desmineralização e perturbando o metabolismo bacteriano, reduzindo assim o risco de cáries dentárias (19,43).

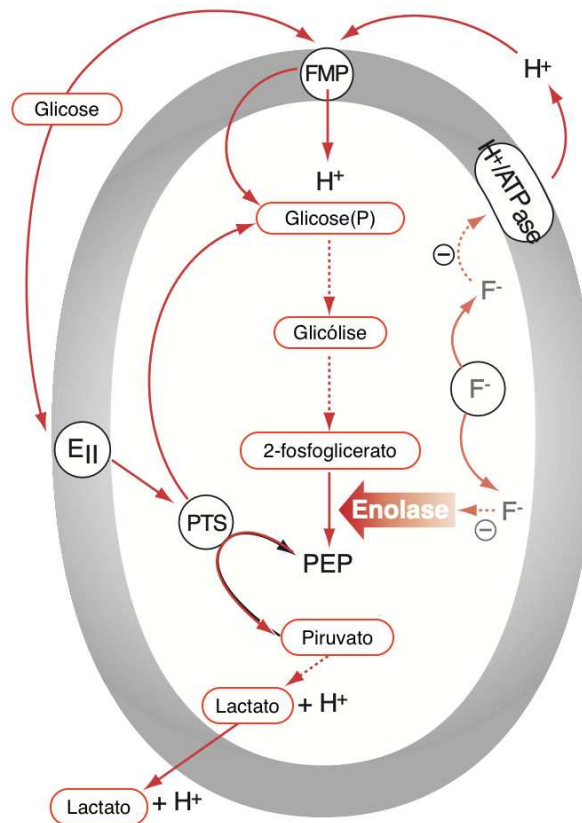


Figura 13. Principais efeitos do íon fluoreto sobre o metabolismo bacteriano. FMP: sistema de força motriz por prótons; PEP: fosfoenolpiruvato; PTS: sistema de fosfotransferase; ATPase: adenosina trifosfatase. Adaptado de (19)

2.1.2. Novos agentes de prevenção alternativos

Para criar uma alternativa eficaz ao flúor, os agentes de remineralização devem satisfazer várias exigências. Eles devem ser capazes de penetrar profundamente nas lesões cáries para permitir uma remineralização adequada, ao mesmo tempo que fornecem concentrações apropriadas. No entanto, é crucial que não induzam uma sobrecarga de cálcio, o que poderia favorecer a formação de tártaro por saturação. Dado que os pacientes afetados frequentemente apresentam um alto risco de cáries e têm um biofilme cariogénico, o agente de prevenção deve ser ativo num ambiente ácido. Além disso, deve ser eficaz mesmo em pacientes com xerostomia e aproveitar ao máximo as propriedades remineralizantes da saliva. Por fim, para ser considerada uma alternativa viável aos fluoretos, esta solução deve demonstrar alguma eficácia e idealmente oferecer outros benefícios, como por exemplo, propriedades antimicrobianas ou anti-inflamatórias (45), que poderiam contribuir para o controle da cárie.

2.1.2.1. Agente de prevenção que promove a remineralização

Tecnologia de fosfato de cálcio amorfo e fosfopéptido de caseína (CPP-ACP) :

Os nanocomplexos de fosfato de cálcio amorfo da caseína (Recaldent™ (CPP-ACP)) são uma tecnologia baseada no ACP estabilizado por CPP. O fosfato de cálcio amorfo (ACP) é uma substância sólida resultante da reação de soluções ricas em cálcio e fosfato. Moléculas análogas aos fosfopéptidos e fosfoproteínas naturalmente presentes na saliva foram identificadas, incluindo derivados de caseína, uma família de proteínas encontradas no leite. Os fosfopéptidos de caseína são péptidos fosforilados derivados da caseína, e o CPP-ACP, comercializado sob o nome de Recaldent™, foi integrado em produtos dentários como gomas de mascar e doces sem açúcar, bem como em cremes e pastas de dentes (45,46).

Os CPP têm uma forte capacidade de ligação a diversos iões, nomeadamente cálcio, fosfato e fluoreto. Esta ligação promove a remineralização das lesões sob a superfície do esmalte dentário. O CPP-ACP apresenta-se sob a forma de nano-aglomerados, permitindo uma melhor biodisponibilidade dos compostos para a remineralização. O mecanismo anticariogénico do CPP-ACP reside na sua capacidade de manter o ACP na placa dentária, promovendo assim um ambiente supersaturado em iões de cálcio e fosfato, o que reduz a desmineralização e reforça a remineralização. Além disso, os CPP têm efeitos antibacterianos, inibindo o crescimento e a aderência de certas bactérias associadas às cáries (45,46).

Estudos demonstraram que a incorporação de CPP-ACP em produtos dentários reduz a desmineralização e promove a remineralização das lesões cariosas. A utilização de CPP-ACP com fluoreto aumenta a sua eficácia na prevenção de cáries. A adição de CPP-ACP a diversos produtos, como dentífricos, enxaguatórios bucais e até mesmo leite, demonstrou efeitos benéficos na remineralização (45,46).

No entanto, apesar de resultados promissores, alguns estudos destacam que as evidências clínicas sobre a eficácia a longo prazo dos derivados de caseína na prevenção de cáries ainda são insuficientes. Algumas pesquisas também relataram resultados mistos quanto à eficácia clínica do CPP-ACP na prevenção ou remineralização de lesões *white*

spot. Embora alguns estudos clínicos tenham demonstrado benefícios, outros não encontraram diferença significativa ao usar CPP-ACP em complemento à higiene oral normal por períodos limitados (45,46).

Tecnologia NovaMin™:

A tecnologia NovaMin™ baseia-se no uso de vidro bioativo à base de fosfosilicato de cálcio e sódio, projetado para libertar iões de cálcio e fosfato na cavidade oral para promover o processo natural de reparação dos dentes. No entanto, apesar das alegações sobre seus benefícios potenciais, nenhum estudo publicado até o momento corroborou sua eficácia na remineralização das lesões do esmalte dentário, quer em laboratório quer em condições reais. Além disso, nenhuma pesquisa demonstrou a sua eficácia na prevenção de cáries, seja por meio de estudos em animais, modelos de cárie em laboratório ou ensaios clínicos controlados e randomizados. Essas constatações sugerem que a tecnologia NovaMin™ ainda está em estadios de desenvolvimento preliminar (46).

Estudos têm sugerido a eficácia potencial da tecnologia Enamelon™ em modelos experimentais, mas os resultados são divergentes. Alguns mostraram eficácia superior aos dentifrícios padrões com flúor, enquanto outros relataram resultados inferiores. Essa variação pode dever-se à forma como a tecnologia Enamelon™ é aplicada e às diferenças nas dietas dos sujeitos em estudo. Estudos *in vitro* e *in situ* também mostraram resultados mistos quanto à sua eficácia em comparação com os dentifrícios padrões com flúor (46).

Nenhum estudo clínico conseguiu demonstrar de forma conclusiva que a tecnologia Enamelon™ pode retardar a progressão das cáries ou promover sua regressão. Preocupações foram levantadas sobre a natureza não estabilizada do ACP nessa tecnologia, que poderia promover a formação de tártaro. Além disso, na presença de iões de flúor, isso poderia levar à formação de fluoroapatita, reduzindo assim a capacidade dos iões de flúor de remineralizar o esmalte subsuperficial durante a exposição ácida (46).

Fosforil oligossacarídeos de cálcio (POs-Ca)

O flúor é amplamente reconhecido pela sua eficácia na prevenção de cáries fortalecendo o esmalte dentário. No entanto, a remineralização associada ao flúor pode ser limitada pela disponibilidade de iões de cálcio e fosfato. Pesquisas recentes, como a de Tanaka et col. (47), mostraram que o uso combinado de fosfato de cálcio estabilizado (POs-Ca) e flúor aumenta os níveis de iões de cálcio e flúor na saliva, promovendo assim a restauração e o fortalecimento de lesões no esmalte (47).

Experiências realizadas por Tanaka e col. (47), confirmaram que mesmo em concentrações elevadas de flúor, os iões de cálcio foram estabilizados na presença de POs-Ca, favorecendo a remineralização. Além disso, concentrações ótimas de flúor e uma relação molar cálcio/fosfato foram identificadas para uma remineralização eficaz (47).

Os POs-Ca, combinados com flúor, mostraram uma melhoria significativa na remineralização do esmalte em comparação com outras fontes de iões de cálcio, aumentando a solubilidade dos iões em condições de pH neutro (47).

Análises microscópicas confirmaram a incorporação do flúor nas amostras tratadas com POs-Ca e flúor, promovendo a formação de fosfato de fluoroapatite (FAP), benéfico para a resistência do esmalte (47).

A utilização simultânea de POs-Ca e flúor oferece uma abordagem promissora para fortalecer o esmalte, aumentando os níveis de iões de cálcio e flúor disponíveis, promovendo assim a remineralização. Isso abre perspectivas interessantes para a prevenção eficaz de cáries dentárias (47).

Polipeptídeos e derivados de amelogenina

A utilização de amelogenina para a remineralização de lesões precoces de cárie e defeitos no esmalte demonstra um grande potencial, como detalhado numa revisão por Ruan e Moradian-Oldak (74). Estudos têm mostrado que a amelogenina, usada em solução ou em géis de agar, promove a formação de cristais de esmalte e aumenta a microdureza da superfície do esmalte. No entanto, ensaios clínicos ainda estão em curso, em parte devido aos altos custos de purificação da proteína de amelogenina.

Diversos derivados peptídicos da amelogenina, como o peptídeo rico em leucina (PRL), têm despertado grande interesse. Estudos *in vitro* demonstraram que o PRL pode reduzir

a profundidade das lesões, promover o crescimento dos cristais de esmalte e bloquear a desmineralização, superando até mesmo a eficácia da amelogenina. Sistemas de hidrogel contendo PRL também demonstraram uma melhoria significativa na remineralização de lesões precoces de cárie, inibindo a formação de biofilme bacteriano (48).

A utilização de um derivado da matriz do esmalte, Emdogain® (EMD), também foi explorada para a regeneração tecidual periodontal e correção de defeitos do esmalte. Estudos *in vitro* demonstraram a formação bem-sucedida de estruturas semelhantes aos prismas do esmalte.

No entanto, os processos de remineralização com amelogenina ou seus derivados levam tempo, e evidências clínicas ainda são necessárias para confirmar os resultados promissores observados em laboratório (48).

Nano-hidroxiapatite (nHA, cristalina)

A nano-hidroxiapatite (nHA) é reconhecida como um material altamente biocompatível e bioativo, estudado pela sua capacidade de reconstruir o esmalte dentário e prevenir cáries. As suas dimensões nanométricas e semelhança com a estrutura do esmalte tornam-na uma candidata promissora para a remineralização de lesões precoces no esmalte. Estudos *in vitro* demonstraram que a nHA promove a remineralização mesmo em condições de pH neutro, ao contrário da micro-hidroxiapatite (micro-HA) (45,48).

As nanopartículas de nHA apresentam propriedades únicas, como uma maior capacidade de adsorção e capacidade de se ligar a fragmentos de placa e a bactérias na cavidade bucal. No entanto, o mecanismo exato da reação da nHA com o esmalte durante a remineralização ainda precisa ser esclarecido, embora seja sugerido que a nHA atue como um reservatório de cálcio e fosfato, promovendo assim a formação de uma nova camada de esmalte sintético.

Vários estudos *in vitro* têm demonstrado a eficácia da nHA na remineralização do esmalte, mostrando resultados comparáveis ou até mesmo superiores aos do fluoreto. No entanto, estudos *in vivo* e ensaios clínicos de longo prazo ainda são limitados. Alguns

ensaios clínicos têm mostrado resultados promissores, mas são necessárias mais estudos para confirmar a eficácia da nHA e a sua utilização prática nos cuidados dentários (45,48).

Outros agentes remineralizantes:

Biovidro de fosfosilicato de cálcio e sódio (CSP, amorfo)

O fosfosilicato de cálcio e sódio é um composto inorgânico que, ao entrar em contato com a água, liberta gradualmente íons de cálcio, sódio e fosfato. Originalmente concebido para regeneração óssea, este composto também demonstrou a sua eficácia no encerramento dos túbulos dentinários, promovendo a formação de uma camada mineral semelhante à hidroxiapatite. Comercializado sob o nome de NovaMin™, foi referido como eficaz para a remineralização de lesões dentárias. No entanto, os dados de estudos *in vitro* e *in situ* são limitados e contraditórios. Um ensaio clínico recente sobre o uso de NovaMin™ para reparar lesões causadas pelo clareamento dental não mostrou nenhum efeito significativo na remineralização. Uma revisão recente também questionou a eficácia do NovaMin™ em comparação com dentifrícios tradicionais. Para avaliar totalmente o potencial do CSP na remineralização, são necessários mais estudos *in vivo* e clínicos, levando em consideração diferentes formulações e condições de aplicação (45,48).

Polifosfatos alcalinos ou alcalino-terrosos

Os polifosfatos, especialmente o trimetafosfato de sódio (STMP), são desenvolvimentos recentes no campo dos dentifrícios, frequentemente usados como substitutos parciais do fluoreto. O STMP, encontrado especialmente no dentifrício Oral-B Pro-Expert, é considerado o agente anti-cárie mais eficaz atualmente. Ele age impedindo a desmineralização enquanto promove a remineralização (48).

O STMP ($\text{Na}_3\text{P}_3\text{O}_9$) liga-se estreitamente aos fosfatos no esmalte, formando assim uma camada protetora que limita a difusão dos íons H^+ , sem afetar a difusão do cálcio e do fosfato. Também é capaz de minimizar a perda de minerais, mesmo na presença de baixas concentrações de fluoreto, como demonstrado por vários estudos *in vitro*, *in situ* e *in vivo* (48).

Ao contrário da maioria dos fosfatos de cálcio, o STMP tem sido alvo de vários ensaios clínicos para avaliar a sua eficácia. Embora os resultados de avaliações clínicas anteriores tenham sido contraditórios, um estudo recente de 18 meses mostrou que um dentífrico com baixo teor de fluoreto de 500 ppm contendo STMP era mais eficaz do que um dentífrico com fluoreto de 1100 ppm para reduzir lesões precoces de cárie. No entanto, são necessários estudos clínicos de longo prazo para confirmar se o STMP pode induzir uma remineralização eficaz na ausência de fluoreto (48).

Remineralização Acelerada e Aumentada Eletricamente (RAAE).

A Remineralização Acelerada e Aumentada Eletricamente (RAAE) é um método recente de remineralização desenvolvido por Wu e col. (75). Ao contrário de outros sistemas, como o iCP (sistema de libertação controlada de ionômero), a RAAE não utiliza proteínas da matriz ou captura orgânica de iões para regenerar o esmalte perdido. Em vez disso, utiliza a iontoforese para acelerar o fluxo de iões mineralizantes para a parte mais profunda da lesão. Além disso, a RAAE reduz o tempo necessário para a mineralização em comparação com os métodos de remineralização clássicos. Embora os primeiros estudos *in vitro* mostrem resultados promissores, a sua eficácia total dependerá dos resultados dos próximos estudos *in vivo* (48).

2.1.2.2. Inibição do metabolismo bacteriano e agentes bactericidas

Ação do fluoreto de diamina de prata na prevenção de cáries

Os tratamentos com solução de fluoreto de diamina de prata (FDA) demonstraram uma redução significativa no crescimento bacteriano, especialmente do *Streptococcus mutans*, na dentina tratada em comparação com a não tratada. Estudos mostraram uma diminuição das unidades formadoras de colónias (UFC) de *S. mutans*, *Actinomyces naeslundii* e outras cepas bacterianas cariogénicas após a aplicação de FDA, com um aumento de bactérias inativas. Os biofilmes multi-espécies cariogénicos também foram afetados, com uma redução das UFC após o tratamento com FDA. Além disso, o FDA inibiu a aderência de *S. mutans* às superfícies dentárias. As concentrações mínimas inibitórias e bactericidas de FDA contra *S. mutans* foram de 33,3 µg/ml e 50,0 µg/ml,

respectivamente, demonstrando uma eficácia superior à do fluoreto de sódio e à da prata isoladamente (49).

Um estudo usando imunomarcação revelou que o tratamento com FDA preservou uma quantidade maior de colagénio intacto na superfície da dentina em comparação com o tratamento com água (controle). A dentina tratada com FDA mostrou uma redução significativa na libertação de hidroxiprolina, indicando uma menor degradação do colagénio em comparação com a dentina tratada com água. Além disso, o FDA inibiu a atividade das metaloproteinases matriciais (MMP), que são enzimas envolvidas na degradação do colagénio, especialmente a MMP-2, a MMP-8 e a MMP-9. O FDA também inibiu a atividade das catepsinas cisteínicas, outras enzimas proteolíticas envolvidas na degradação do colagénio dentinário (49,50).

Os compostos de prata, como o FDA, libertam iões de prata quando entram em contato com a água e fluidos biológicos. Esses iões de prata têm vários estados de oxidação e exercem seu efeito antimicrobiano de várias maneiras, incluindo interferência com enzimas bacterianas, ligação com as membranas celulares das bactérias e danos ao seu DNA. Apesar da complexidade dos biofilmes bacterianos, o FDA a 38% demonstrou uma forte atividade inibitória contra o seu desenvolvimento. Além disso, a prata pode ser incorporada na estrutura cristalina da hidroxiapatite, o que pode reduzir a adesão bacteriana e a citotoxicidade tecidual (50).

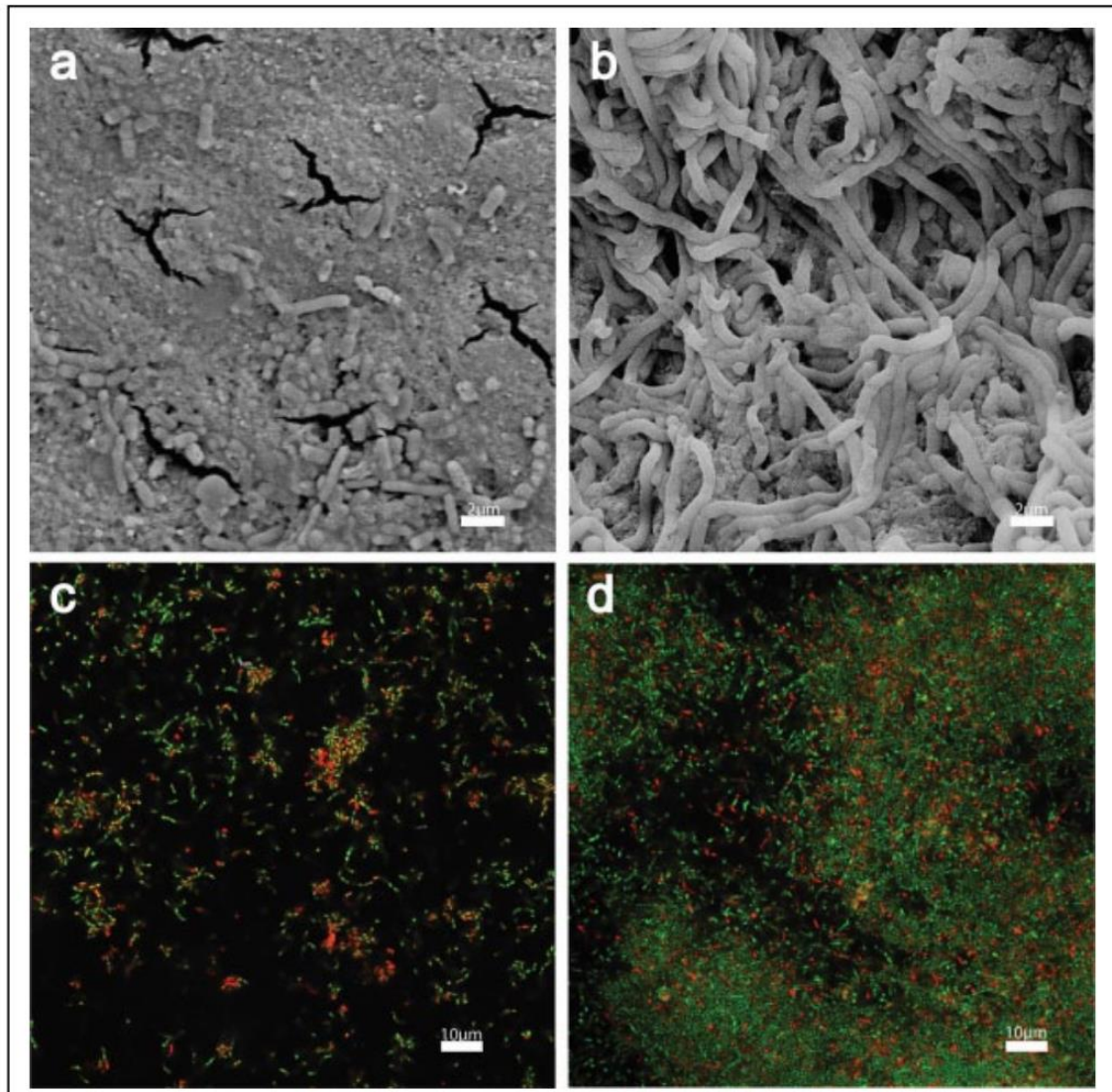


Figura 14. Crescimento do biofilme cariogénico de várias espécies (*Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus* e *Actinomyces naeslundii*) em dentina tratada com fluoreto de diamina de prata (FDA) e água (controlo) após 14 dias. (A) Micrografia eletrónica de varredura da dentina tratada com FDA mostrando a agregação induzida por FDA de bactérias na superfície da dentina. (B) Micrografia eletrónica de varredura da superfície da dentina tratada com água mostrando um biofilme cariogénico de várias espécies no grupo controlo estava confluenta. (C) Micrografia de varredura a laser confocal da dentina tratada com FDA. (D) Micrografia de varredura a laser confocal da dentina tratada com água. A relação vermelho-verde foi calculada para indicar a proporção entre bactérias mortas e vivas, e mostrou proporções significativamente mais altas no grupo FDA do que nos grupos controlo. Adaptado de (50)

O FDA apresenta eficácia comprovada no encerramento dos túbulos da dentina, reduzindo assim a sensibilidade ao frio ao limitar o fluxo de fluido. Ele também age como um poderoso agente antimicrobiano, reduzindo significativamente a formação de biofilme e o aparecimento de novas cáries, além de controlar as cáries existentes. No entanto, a coloração das cáries escuras pode ser um problema social, às vezes afetando a interação de crianças com dentes anteriores escurecidos. A restauração após a aplicação

do FDA pode ser complexa, e é essencial estudar os efeitos a curto e longo prazo na aderência dos materiais de obturação. As nanopartículas de prata são consideradas uma alternativa promissora ao FDA devido ao seu potencial antimicrobiano, mas são necessários estudos clínicos detalhados para avaliar sua eficácia na prática. Apesar da reputação de segurança e eficácia das soluções de FDA, pesquisas clínicas de longo prazo ainda são necessárias para confirmar sua segurança e eficácia, especialmente para as novas soluções contendo nanopartículas de prata (51).

Um estudo compara a eficácia de diferentes agentes, incluindo nanopartículas de prata (AgNP) seguidas de um verniz de fluoreto de sódio (NaF), o FDA, AgNP e NaF, na remineralização de cáries radiculares artificiais. Os resultados mostram que o FDA apresenta o maior potencial para deter a desmineralização e prevenir a progressão das cáries, seguido por AgNP+NaF ou NaF, enquanto as AgNP apresentam o menor potencial. A microdureza da superfície mostra diferenças significativas após o ciclo de desmineralização/remineralização. O FDA parece formar uma camada protetora que limita a desmineralização, enquanto as AgNP e AgNP+NaF não apresentam essa característica. Iões de prata e fluoreto desempenham um papel importante na inibição da desmineralização e promoção da remineralização. No entanto, as AgNP podem apresentar desafios potenciais em termos de toxicidade, embora estudos anteriores tenham mostrado baixa toxicidade em certas condições. Estudos clínicos e de segurança adicionais são necessários para avaliar completamente a eficácia e segurança das AgNP no tratamento de cáries (52).

Outro agente de prevenção que inibe o metabolismo é o xilitol, amplamente estudado pelo seu papel bem conhecido. O xilitol é um poliol, um tipo de álcool açucarado, usado como adoçante em produtos como gomas de mascar e alguns dentifrícios (como Miradent®). Este composto penetra no citoplasma das bactérias através do seu sistema PTS, usando uma proteína transportadora transmembranar específica para a frutose. Uma vez dentro, o xilitol é convertido em xilitol-5-P, mas as bactérias não conseguem prosseguir no processo metabólico, impedindo-as de metabolizar o produto. Como resultado, o xilitol-5-P se acumula e prejudica a absorção dos açúcares metabolizáveis pela bactéria (19). Outros açúcares, embora não inibam completamente o ciclo metabólico bacteriano, como o sorbitol e o licassina, apresentam um potencial cariogénico baixo (20).

2.2. Técnicas não invasivas

2.2.1. Tratamento ultraconservador de lesões: Selante cariostático e "técnica do hall"

2.2.1.1. O princípio: cortar a lesão cariosa de sua "fonte" (biofilme oral)

A cárie dentária, como enfatizamos, é um processo dinâmico iniciado pelo biofilme de superfície. Este último é o principal impulsionador da desmineralização do esmalte e da dentina. Assim, a modificação do biofilme pode influenciar a progressão da lesão cariosa, principalmente com a aplicação regular de flúor. No entanto, quando a cárie origina cavitação o biofilme pode persistir apesar da escovação, necessitando de intervenção (53).

Então, surge a questão de saber, se o biofilme de superfície continua a ser o principal impulsionador da cárie nas lesões cavitárias, ou se a dentina infectada também desempenha um papel crucial, ou mesmo compartilhado. Parece que o biofilme é de fato o iniciador da lesão, em vez do tecido cariado, mesmo dentinário. Assim, a quantidade de tecido cariado a remover torna-se menos relevante, sendo o objetivo restaurar a cavidade de forma hermética para isolar permanentemente o biofilme e os substratos alimentares, permitindo assim o controle do biofilme e da atividade cariogénica (53).

Apesar disso, a remoção dos tecidos afetados e a sua substituição por um material de obturação permanecem a prática mais comum para gerir lesões cariosas. Esta abordagem, defendida desde 1859 por Tomes, favorecia a preservação de uma camada de dentina colorida no fundo da cavidade em vez de atingir a polpa. No entanto, a noção de escavação total, promovida por Black em 1908, tornou-se mais predominante.

Existem diferentes protocolos clínicos para o tratamento mínimo de lesões cariosas, desde simples selamentos até técnicas mais conservadoras. Essas abordagens, às vezes descritas como "ultraconservadoras", exigem um estudo detalhado dos resultados clínicos, do destino dos tecidos cariados, das bactérias e dos materiais utilizados, bem como dos mecanismos subjacentes que explicam seu sucesso ou fracasso (53).

1.2.1.2. Princípio da técnica

As abordagens chamadas ultraconservadoras abrangem vários protocolos, mas o seu princípio geral é minimizar a intervenção na dentina, deixando até mesmo a dentina infectada no fundo da cavidade, e garantindo um preenchimento hermético como critério principal. Alguns autores defendem uma leve preparação do esmalte e da dentina cariada para fornecer uma base para o preenchimento. O sucesso dessa abordagem depende da separação da lesão cariada do biofilme de superfície pelo preenchimento, com ênfase particular na vedação e durabilidade do preenchimento. Além disso, a restauração visa restaurar a integridade da superfície dentária e facilitar o controlo da placa bacteriana (53).

Handelman, Buonocore e Heseck (54), foram alguns dos primeiros a apresentar uma abordagem de tratamento de lesões cariosas em 1972. Estes autores fizeram uma proposta baseada nos resultados clínicos das proteções pulpares indiretas. Eles extrapolam esses resultados para sugerir a cobertura das lesões cariosas dentinárias que começam nos sulcos e não apresentam quebra do esmalte com um selante (54).

Alguns profissionais em odontopediatria adotam um novo paradigma de cuidados ao desenvolver o que chamam de "técnica do hall". Este método consiste em isolar a lesão cariada usando coroas pediátricas pré-formadas (55).

O selamento hermético das lesões cariosas resulta numa diminuição gradual do número de bactérias viáveis ao longo do tempo, sugerindo que a progressão das lesões cariosas sob os materiais de selamento não é fundamentada. Enquanto o selante estiver intacto, há uma diminuição gradual do número de bactérias viáveis, e eventualmente a lesão pode-se tornar inativa (56).

2.2.1.3. Variedade de espécies presentes sob a obturação dentária.

Desde a década de 1940, sabe-se que as bactérias lácticas (LB) estão associadas à dentina cariada, levantando questões sobre o seu papel no processo de cárie. Um estudo de Kneist e col. (57), analisou 70 molares decíduos afetados por cáries, tratando-os para compreender quais espécies de LB estavam envolvidas.

Os resultados mostraram que espécies como *L. rhamnosus*, *L. para casei subsp. tolerans* e *L. paracasei subsp. paracasei* estavam presentes na dentina cariada. Após o tratamento, a diversidade das espécies de LB diminuiu, permanecendo apenas a *L. rhamnosus* e *L. paracasei subsp. paracasei*. *L. rhamnosus* permaneceu presente mesmo após um período de observação de 11 meses, sugerindo uma ligação persistente com as lesões cariosas (57).

Outros estudos também sugeriram o papel de *L. rhamnosus* na inflamação pulpar, mas a questão de se estas bactérias lácticas são patógenas reais ou oportunistas, como apontado em um estudo de 2010 (57), requer pesquisas mais recentes para ser totalmente esclarecida. Embora geralmente consideradas seguras, algumas cepas de *L. rhamnosus* demonstraram características patogênicas, como a aderência aos tecidos e a capacidade de provocar inflamação (57).

Outros estudos também sugeriram o papel de *L. rhamnosus* na inflamação pulpar. Algumas cepas de *L. rhamnosus* demonstraram características patogênicas, como a aderência aos tecidos e a capacidade de provocar inflamação (57).

2.2.1.4. A alteração metabólica bacteriana e a virulência das bactérias sob a obturação

Acredita-se que as bactérias residuais após o selamento sofram pressão seletiva devido à limitação de nutrientes, potencialmente alterando seu metabolismo. As mudanças observadas nos genótipos bacterianos podem ser resultado dessa seleção pós-selamento. Além disso, os componentes das bactérias mortas podem servir como fonte de nutrientes para as bactérias sobreviventes sob as restaurações.

Apesar da presença residual de bactérias após o selamento, a dentina cariada torna-se menos infectada e apresenta características de lesões inativas. Não há diferenças significativas nas características de virulência de *S. mutans* antes e depois do selamento (58).

O selamento das cavidades cariosas resulta numa redução da diversidade genética de *S. mutans*, mas não afeta as suas características de virulência. As estirpes de *S. mutans*

sobreviventes sob as restaurações apresentam um potencial cariogénico semelhante ao das encontradas antes do selamento (58).

É claro que a vedação da obturação desempenha um papel crucial no sucesso do tratamento. O aumento do pH observado nas lesões seladas é atribuível a uma redução no número de patógenos, mas principalmente a uma restrição de acesso aos nutrientes, em vez de uma diminuição na sua capacidade acidogénica. De facto, o potencial cariogénico das estirpes de *Streptococcus mutans* permanece inalterado antes e depois do selamento. O que realmente ocorre é uma alteração metabólica (58).

Após a restauração dentária, as bactérias encontram a sua principal fonte de nutrientes nas glicoproteínas séricas, uma vez que os hidratos de carbono alimentares não estão mais disponíveis. Isso leva a um metabolismo menos ácido e mais lento nessas bactérias. Além disso, as bactérias mortas sob a restauração também fornecem nutrientes para as que sobrevivem. As bactérias acidófilas, que anteriormente utilizavam os hidratos de carbono alimentares, agora podem decompor as cadeias de glicoproteínas para obter hidratos de carbono, embora esse processo seja menos eficaz para expressar a sua virulência. Essas bactérias clivam as extremidades N-terminais das glicoproteínas, libertando ácidos siálicos, galactose e N-acetilglicosamina, que são utilizados como fontes de carbono para o crescimento bacteriano. No entanto, apenas as bactérias capazes de clivar esses resíduos osídicos podem sobreviver sob a restauração, criando uma pressão seletiva. A longo prazo, a esclerose dentinária reduz o fluxo de fluido dentinário, diminuindo assim os nutrientes disponíveis e resultando num declínio na população bacteriana. Além do espectro enzimático, a viabilidade das bactérias também é influenciada pelo seu sistema de transporte de hidratos de carbono, que varia de acordo com as espécies. O selamento da restauração também reduz a diversidade genética bacteriana, promovendo a sobrevivência das espécies residuais (59,60).

2.2.2. Tratamentos baseados na bioquímica dos tecidos dentários

2.2.2.1. Agentes de escavação químico-mecânica à base de hipoclorito

O Carisolv®

Carisolv® é um método inovador desenvolvido em 1998 pela empresa sueca MediTeam para permitir a dissolução química da cárie. Este sistema baseia-se na utilização de um gel específico contendo hipoclorito de sódio, hidróxido de sódio e aminoácidos, combinado com curetagem manual utilizando instrumentos especializados. O objetivo é degradar o colagénio afetado pela cárie, facilitando assim a sua remoção (61).

O processo biológico deste método é baseado num ataque direcionado ao colagénio degradado da dentina cariada por uma solução clorada, modificando a sua estrutura e permitindo a sua escavação. Embora o Carisolv® seja eficaz e biocompatível com os tecidos pulpaes, é importante notar que pode ser menos eficaz do que alguns lasers específicos (61).

Apesar do seu potencial, alguns profissionais permanecem céticos devido a decepções passadas com tecnologias similares, como o Caridex® em 1986. No entanto, o Carisolv® representa um complemento útil na Medicina Dentária Pediátrica, oferecendo uma alternativa microinvasiva para o tratamento da cárie dentária, respeitando os tecidos saudáveis (61).

O Caridex®, em comparação com os instrumentos rotativos, reduzia o uso de anestesia local, mas prolongava o tempo de tratamento. No entanto, não houve diferença significativa na taxa de remoção da cárie entre os dois métodos (62).

O modo de ação do gel Carisolv® baseia-se na dissolução do colagénio alterado pelo processo carioso. Três aminoácidos (leucina, lisina e ácido glutâmico) sofrem cloração pelo ião ClO^- do hipoclorito de sódio, reduzindo assim seu impacto prejudicial nos tecidos saudáveis e permitindo uma ação específica dos cloro-aminonácidos. Esses aminoácidos modificados atuam nas ligações de hidrogénio e outras forças que

estabilizam a estrutura do colagénio alterado. A remoção do colagénio alterado é realizada com o auxílio de instrumentos manuais especializados, evitando as vibrações e dores potenciais da fresagem (63).

Do ponto de vista clínico, o uso do gel Carisolv® é seguro, permitindo uma remoção eficaz da dentina infectada e parece ser menos doloroso do que a escavação manual tradicional. Parâmetros como tempo de escavação, eficácia e necessidade de anestesia não diferem significativamente entre a escavação manual e o uso do gel. No entanto, é importante notar a ação antisséptica do gel, preservando mais a dentina ativa em comparação com a fresagem convencional, embora essa diferença seja difícil de observar clinicamente (63).

A cárie dentária, além de seu aspecto contagioso, é causada por uma associação complexa de bactérias, principalmente lactobacilos e *Streptococcus mutans* e *S. sobrinus*. O uso do Carisolv® reduz o número de bactérias residuais devido à presença de hipoclorito de sódio (63).

Equipamento e interesse na prática diária

Em 1998, o Carisolv® foi criado, composto por duas seringas. A primeira continha carboximetilcelulose, aminoácidos e eritrosina para facilitar a visualização da área a ser tratada, enquanto a segunda continha NaOCl. Em 2004, uma versão modificada, Carisolv™, foi introduzida com uma concentração mais alta de NaOCl e sem o elemento de cor, distribuída com uma ponta de mistura. Em 2013, o sistema Carisolv foi melhorado com a adição de ferramentas de ponta não cortante (fig. 15). Vários estudos mostraram sua eficácia semelhante ao método cirúrgico convencional, embora menos desconfortável para os pacientes. No entanto, o seu uso é limitado devido ao seu custo elevado, curto prazo de validade e outras restrições logísticas e práticas (64).

Estes instrumentos oferecem uma precisão superior aos escavadores dentários convencionais, reduzindo assim a agressividade durante a remoção da dentina. Além disso, o seu uso pode evitar a anestesia a uma distância superior a 2 mm da polpa, exceto em casos de hipersensibilidade dentária ou hiperemia pulpar. São particularmente benéficos para pacientes ansiosos, especialmente crianças, pois contradizem alguns

preconceitos sobre os cuidados dentários, promovendo assim a confiança e a cooperação. Além disso, esses instrumentos limitam o risco de remoção excessiva e perfuração pulpar, o que é crucial em crianças com dentes temporários ou dentes permanentes em desenvolvimento. No entanto, desafios permanecem quanto ao tempo de intervenção e ao custo dessa técnica, o que dificulta a sua generalização (65).



Figura 15. O sistema Carisolv®. Adaptado de (65)

Comparação do sistema Carisolv® com o método clássico

Numerosas pesquisas e análises têm sido realizadas sobre a eficácia do Carisolv® no tratamento de cáries, com várias conclusões significativas. Primeiramente, demonstrou-se que o Carisolv® é eficaz na remoção de cáries, reduzindo assim a necessidade de anestesia e melhorando o conforto do paciente. No entanto, os pacientes geralmente percebem o tratamento como mais rápido com o Carisolv® em comparação com o método tradicional. Embora o Carisolv® seja benéfico em Medicina Dentária

Pediátrica, é interessante notar que as crianças muitas vezes preferem o método clássico devido à ausência de sabor residual após o tratamento (61).

Este protocolo não foi usado para cáries radiculares, que são mais comuns em pacientes idosos, mas a literatura indica que a ação do produto é notavelmente mais rápida e se aproxima daquela de uma remoção mecânica com instrumentos rotativos (61). Além disso, não foram observadas reações adversas a longo prazo nos dentes tratados, embora a aplicação direta do Carisolv® na polpa possa resultar na sua necrose (61).

Os resultados do estudo de Lima e col. (66), não mostram diferenças significativas entre as duas técnicas de remoção de cáries; no entanto, o método quimio-mecânico mostrou-se mais eficaz na remoção completa de *S. mutans*. Estes resultados atuais corroboram com pesquisas anteriores ao confirmar que ambos os métodos são semelhantes na redução de *Lactobacillus*, mas que o Carisolv® é mais eficaz na eliminação de *S. mutans*. Segundo o estudo de Ammari e col. (66), as abordagens quimio-mecânicas não demonstraram uma melhoria significativa na redução dos microorganismos cariogênicos dentro das lesões de cárie dentária em comparação com a escavação manual (66).

A eficácia de diferentes técnicas de escavação de cárie dentária foi comparada à escavação manual, mostrando que a escavação com broca foi a mais rápida e eficaz, enquanto o uso do gel Carisolv™ foi mais demorado, especialmente na prática clínica. As soluções de ZnCl₂ deixaram depósitos significativos de fibras de colagénio na superfície dentária desmineralizada. O sistema de remoção de cáries quimio-mecânico baseado em ZnCl₂ parece preservar a rede de colagénio, oferecendo assim a possibilidade de restauração adesiva direta sem a necessidade de condicionamento ácido. Esta abordagem menos invasiva pode oferecer uma alternativa promissora para o tratamento de cáries, mas avaliações clínicas adicionais são necessárias para confirmar sua eficácia (69).

Caridex ® (GK-101E)

O GK-101E, também conhecido como Caridex™, é derivado etílico do ácido N-monocloro-DL-2-aminobutírico (NMAB), uma variação da solução GK-101 N-

monocloroglicina (NMG). Estudos sugeriram que esta formulação do GK-101E melhora a especificidade da solução em relação à proteína desnaturada da dentina infetada por cáries, agindo de maneira semelhante à NMG, clorando o colagénio parcialmente degradado e convertendo a hidroxiprolina em ácido pirrol-2-carboxílico. Além disso, parece reduzir o tempo necessário para a escavação das cáries, eliminando o período de "atraso" observado com a solução NMG. Contudo, apesar da sua aprovação pela FDA em 1984 e das avaliações positivas da sua eficácia, biocompatibilidade e segurança, vários estudos constataram que a utilização de Caridex não superava a irrigação das lesões cariosas com uma solução salina isotónica em termos de remoção de cáries. Ademais, a complexidade do equipamento necessário para utilizar Caridex e a sua falta de melhoria significativa em relação aos métodos convencionais limitaram a sua utilização clínica e adoção (68).

O GK-101E, também conhecido como Caridex™, é derivado etílico do NMAB (N-monocloro-DL-2 amino butirato), uma variação da solução GK-101 N-monocloroglicina (NMG). Estudos sugeriram que essa formulação do GK-101E melhora a especificidade da solução em relação à proteína desnaturada da dentina infectada por cáries, agindo de maneira semelhante à NMG, clorando o colagénio parcialmente degradado e convertendo a hidroxiprolina em ácido pirrol-2-carboxílico. Além disso, parece reduzir o tempo necessário para a escavação das cáries, eliminando o período de "atraso" observado com a solução NMG. No entanto, apesar de sua aprovação pela FDA em 1984 e das avaliações positivas de sua eficácia, biocompatibilidade e segurança, vários estudos constataram que o uso de Caridex não superava a irrigação das lesões cariosas com uma solução salina isotónica em termos de remoção de cáries. Além disso, a complexidade do equipamento necessário para usar Caridex e a sua falta de melhoria significativa em relação aos métodos convencionais limitaram sua utilização clínica e adoção (68).

2.2.2.2. Utilização de agentes enzimáticos para escavação

Papacárie ®

Uma nova formulação à base de papaína foi desenvolvida no Brasil em 2003 e é comercializada sob o nome de Papacárie®. A papaína, uma protease de cisteína

naturalmente presente em mamões e abacaxis, possui propriedades anti-inflamatórias e antibacterianas. Seu mecanismo de ação baseia-se na diferenciação entre tecidos saudáveis e cariados, graças à $\alpha 1$ -antitripsina plasmática, que possui atividade antiproteolítica (70).

No entanto, o Papacárie® contém cloraminas, o que significa que também se baseia em parte na cloração do colagénio afetado e na quebra das ligações de hidrogénio que mantêm a conformação tridimensional do colagénio. Essa ação leva à dissolução da dentina cariada e à redução do número de bactérias devido a um efeito bactericida (70).

O estudo de Alhumaid e col. (78), não mostra diferenças estatisticamente significativas entre o Carisolv e o Papacárie, sugerindo um potencial benefício do Papacárie em termos de eficácia na remoção da cárie, redução do tecido residual e tempo de procedimento (71).

Biosolve®

Um novo método de tratamento enzimático foi desenvolvido em 2006 pela empresa 3M sob o nome de Biosolv®. Este tratamento está disponível em duas versões, SFC-V e SFC-VIII. O SFC-V é composto por ácido fosfórico, difosfato de sódio, pepsina e um agente gelificante, enquanto o SFC-VIII também contém pepsina, mas sem hipoclorito na sua composição. Seu modo de ação está bem estabelecido. Primeiro, o ácido fosfórico dissolve o componente mineral do tecido cariado, permitindo que a pepsina aja sobre o componente orgânico. A pepsina, por sua vez, é responsável pela degradação das fibras de colagénio desnaturadas. Em seguida, o operador pode proceder à escavação dos tecidos tratados com o auxílio de um instrumento de plástico fornecido com o tratamento (72).

O estudo de Banerjee e col. (72), demonstrou que a escavação químico-mecânica mais ácida realizada pelo SFC-V "Biosolv" resulta numa superfície dentária mais suave e rugosa com uma camada de *smear layer* variável, contrastando com as amostras tratadas com Carisolv™. Pesquisas posteriores, conduzidas por Neves et al., trouxeram nuances a essa afirmação. De facto, o seu estudo sugere que a composição do Carisolv™, especialmente a sua concentração de ácido fosfórico, o torna particularmente agressivo,

até mesmo o mais agressivo entre os agentes de escavação químio-mecânica. Essa propriedade agressiva pode ser explicada pela sua ação solvente na dentina saudável (72, 73).

III. Conclusão

O biofilme oral, um ecossistema bacteriano dinâmico, desempenha um papel central no desenvolvimento da lesão de cárie. Esta é caracterizada por interações complexas entre os microrganismos do biofilme, os nutrientes presentes na cavidade oral e os tecidos duros do dente.

A análise da lesão de cárie pode ser realizada levando em consideração a composição bacteriana e parâmetros fisiológicos como o pH, que reflete a atividade metabólica do biofilme e o seu impacto nos tecidos dentários (34).

Como vimos, o biofilme, seja na superfície do esmalte nos estádios iniciais da lesão ou na superfície da dentina numa lesão cariiosa mais avançada, é o principal local de produção de ácidos. Esta zona ácida, caracterizada por um pH baixo, é o ponto de partida para a desmineralização e progressão da lesão de cárie, desde que seja alimentada por hidratos de carbonos fermentáveis provenientes da saliva (34).

Tendo em consideração o papel central do biofilme na progressão da lesão de cárie, a remoção sistemática da dentina, mesmo que infectada, nem sempre é necessária. De facto, isolar as bactérias dentro da dentina selada resulta numa diminuição do seu número devido ao crescimento inibido. No entanto, essas bactérias cariogénicas podem sobreviver neste novo ambiente sem perder a sua virulência. No entanto, elas não a expressam porque adotam um metabolismo mais lento, adaptado a um ambiente pobre em nutrientes que não é ótimo para elas (39).

Infelizmente, esta realidade é frequentemente negligenciada por muitos dentistas que encaram a lesão de cárie como uma "gangrena" que requer a remoção total dos tecidos afetados (39).

A eficácia dos métodos ultraconservadores no tratamento das lesões de cárie vem confirmar o papel central do biofilme superficial no desenvolvimento dessas lesões. Embora promissoras, essas técnicas ainda apresentam algumas limitações. De facto, o sucesso dessas abordagens depende do isolamento eficaz das populações bacterianas, tornando a estanqueidade e a integridade das lesões primordiais (39).

Apesar da sua eficácia, essas técnicas ainda carecem de evidências clínicas sólidas, especialmente no que diz respeito à escolha dos materiais mais adequados. No entanto, elas ilustram a evolução da Medicina Dentária Conservadora para um modelo mais médico e menos invasivo. A remoção total do tecido cariado, questionada por estudos recentes em favor de técnicas mais conservadoras que respeitem o complexo pulpodentinário, ainda está muito presente na prática clínica diária (39)

IV. Bibliografia

- 1- Hong J, Whelton H, Douglas G, Kang J. Consumption frequency of added sugars and UK children's dental caries. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2018;46(5):457-464. <https://doi.org/10.1111/cdoe.12413>
- 2- Marquillier T. Carie de la petite enfance: déterminants et prévention. Etude épidémiologique dans la région des Hauts-de-France [thèse]. Paris: Université Paris-Nord-Paris XIII ; 2021.
- 3- Warreth A. Dental Caries and Its Management. *Int J Dent.* 2023;2023:9365845. doi: 10.1155/2023/9365845
- 4- Veiga N, Figueiredo R, Correia P, Lopes P, Couto P, Fernandes GVO. Methods of primary clinical prevention of dental caries in the adult patient: An integrative review. *Healthcare.* 2023;11(11):1635. doi: 10.3390/healthcare11111635
- 5- Kidd EA, Fejerskov O. *Essentials of dental caries.* Oxford: Oxford University Press; 2016.
- 6- Schwendicke F, Walsh T, Lamont T, Al-Yaseen W, Bjørndal L, Clarkson JE, et al. Interventions for treating cavitated or dentine carious lesions. *Cochrane Database Syst Rev.* 2021 Jul 22;7(7):CD013039. doi: 10.1002/14651858.CD013039.pub2.
- 7- Arola DD, Gao S, Zhang H, Masri R. The Tooth: Its Structure and Properties. *Dent Clin North Am.* 2017 Oct;61(4):651-668. doi: 10.1016/j.cden.2017.05.001.
- 8- Lacruz RS, Habelitz S, Wright JT, Paine ML. Dental Enamel Formation and Implications for Oral Health and Disease. *Physiol Rev.* 2017 Jul 1;97(3):939-993. doi: 10.1152/physrev.00030.2016.
- 9- Gil-Bona A, Bidlack FB. Tooth Enamel and its Dynamic Protein Matrix. *Int J Mol Sci.* 2020 Jun 23;21(12):4458. doi:10.3390/ijms21124458.

- 10- Gil-Bona A, Bidlack FB. Tooth Enamel and its Dynamic Protein Matrix. *Int J Mol Sci.* 2020 Jun 23;21(12):4458. doi:10.3390/ijms21124458.
- 11- Goldberg M. *Histologie de l'émail.* EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), *Stomatologie*, 22-007-A-10, 2007, *Médecine buccale*, 28-090-A-10, 2008
- 12- Levine M. *Topics in Dental Biochemistry.* 2nd ed. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag; 2011. p. 267-87.
- 13- Bédry R. Fluor et fluorures minéraux : toxicité générale et industrielle. EMC - *Pathologie professionnelle et de l'environnement.* 2019;14(2):1-9. Article 16-002-F-20.
- 14- Lussi A, Hellwig E, Klimek J. Fluorides - mode of action and recommendations for use. *Schweizer Monatsschrift fur Zahnmedizin = Revue mensuelle suisse d'odontostomatologie = Rivista mensile svizzera di odontologia e stomatologia.*2012;122(11):1030-42.
- 15- Moulis E, Chabadel O, Goldsmith MC, Canal P. Prévention des caries dentaires et orthodontie. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), *Pédiatrie.* 2008;4-002-G-70.
- 16- Séguier S, Le May O. Histopathologie de la lésion carieuse de l'émail et de la dentine. *Encycl Méd Chir (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris, tous droits réservés), Odontologie.* 2002;23-010-C-10:12 p.
- 17- Pellat B. Salives et milieu buccal. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), *Médecine buccale.* 2010;28-080-A-10.
- 18- Goldberg M. *Histologie du complexe dentinaire.* EMC - *Médecine buccale.* 2016;11(6):1-24 [Article 28-090-B-10].
- 19- Pellat B, Miller C, Guez D. Plaques bactériennes dentaires : approche biochimique. Potentiels cariogène et parodontopathogène. *Encycl Méd Chir (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris, tous droits réservés), Odontologie.* 2002;23-010-A-15:12 p.

- 20- Fioretti F, Haikel Y. Carie et sucres: caries and sugars. *Médecine des maladies Métaboliques*. 2010;4(5):543-9.
- 21- Loubiere P, Cocaign-Bousquet M. Métabolisme des bactéries lactiques, Devenir du carbone. In: Drider D, Prévost H, editors. *Bactéries lactiques, Physiologie, Métabolisme, Génomique et Applications industrielles*. Paris: Economica; 2009. p. Chap II.
- 22- Nascimento MM, Liu Y, Kalra R, Perry S, Adewumi A, Xu X, ... Burne RA. Oral arginine metabolism may decrease the risk for dental caries in children. *J Dent Res*. 2013;92(7):604-8.
- 23- Carpenter GH. Salivary Factors that Maintain the Normal Oral Commensal Microflora. *J Dent Res*. 2020;99(6):644-9. doi: 10.1177/0022034520915486.
- 24- Martin FE. Pulpite carieuse : considérations microbiologiques et histopathologiques. *Revue endodontique australienne : la revue de l'Australian Society of Endodontology Inc*. 2003;29(3):134-7. doi: 10.1111/j.1747-4477.2003.tb00538.x.
- 25- Schuh CMAP, Benso B, Naulin PA, Barrera NP, Bozec L, Aguayo S. Modulatory Effect of Glycated Collagen on Oral Streptococcal Nanoadhesion. *J Dent Res*. 2021;100(1):82-9. doi: 10.1177/0022034520946320.
- 26- Chaussain C, Boukpepsi T, Khaddam M, Tjaderhane L, George A, Menashi S. Dentin matrix degradation by host matrix metalloproteinases: inhibition and clinical perspectives toward regeneration. *Front Physiol*. 2013;4:308. doi: 10.3389/fphys.2013.00308.
- 27- Femiano F, Femiano R, Femiano L, Jamilian A, Rullo R, Perillo L. Dentin caries progression and the role of metalloproteinases: an update. *Eur J Paediatr Dent*. 2016;17:243-7.
- 28- Mazzoni A, Tjäderhane L, Checchi V, Di Lenarda R, Salo T, Tay FR, Pashley DH, Breschi L. Role of dentin MMPs in caries progression and bond stability. *J Dent Res*. 2015;94(2):241-51. doi: 10.1177/0022034514562833.

- 29- Elgezawi M, Haridy R, Almas K, Abdalla MA, Omar O, Abuohashish H, Elembaby A, Wölfle UC, Siddiqui Y, Kaisarly D. Matrix Metalloproteinases in Dental and Periodontal Tissues and Their Current Inhibitors: Developmental, Degradational and Pathological Aspects. *Int J Mol Sci.* 2022 Aug 11;23(16):8929. doi: 10.3390/ijms23168929.
- 30- Matsuda Y, Miura J, Shimizu M, et al. Influence of Nonenzymatic Glycation in Dentinal Collagen on Dental Caries. *J Dent Res.* 2016 Dec;95(13):1528-34. doi: 10.1177/002203451666224.
- 31- Schulze-Schweifing K, Banerjee A, Wade WG. Comparison of bacterial culture and 16S rRNA community profiling by clonal analysis and pyrosequencing for the characterization of the dentine caries-associated microbiome. *Front Cell Infect Microbiol.* 2014;4:164. [doi: 10.3389/fcimb.2014.00164]
- 32- Spatafora G, Li Y, He X, Cowan A, Tanner ACR. The Evolving Microbiome of Dental Caries. *Microorganisms.* 2024 Jan 4;12(1):121. doi: 10.3390/microorganisms12010121.
- 33- Ribeiro AA, Paster BJ. Dental caries and their microbiomes in children: what do we do now? *J Oral Microbiol.* 2023;15(1):2198433. doi: 10.1080/20002297.2023.2198433.
- 34- Kianoush N, Nguyen KA, Browne GV, Simonian M, Hunter N. pH gradient and distribution of streptococci, lactobacilli, prevotellae, and fusobacteria in carious dentine. *Clin Oral Investig.* 2014 Feb;18(2):659-69. doi: 10.1007/s00784-013-1009-0.
- 35- Takahashi N, Nyvad B. The role of bacteria in the caries process: ecological perspectives. *J Dent Res.* 2011 Mar;90(3):294-303. doi: 10.1177/0022034510379602.
- 36- Kuribayashi M, Kitasako Y, Matin K, Sadr A, Shida K, Tagami J. Intraoral pH measurement of carious lesions with qPCR of cariogenic bacteria to differentiate caries activity. *J Dent.* 2012 Mar;40(3):222-8. doi: 10.1016/j.jdent.2011.12.013.

- 37- Gross EL, Beall CJ, Kutsch SR, Firestone ND, Leys EJ, Griffen AL. Beyond *Streptococcus mutans*: dental caries onset linked to multiple species by 16S rRNA community analysis. *PLoS One*. 2012 Oct 24;7(10):e47722. doi:10.1371/journal.pone.0047722.
- 38- Boyer É, Bonnaure-Mallet M, Meuric V. Le microbiote buccal: bases fondamentales et applications en physiopathologie. *EMC-Médecine buccale* [en ligne]. 2017;14:Article 28-080-B-30.
- 39- Kidd EA. Clinical threshold for carious tissue removal. *Dent Clin North Am*. 2010 Jul;54(3):541-9. doi:10.1016/j.cden.2010.03.001.
- 40- Kidd EA, Fejerskov O. What constitutes dental caries? Histopathology of carious enamel and dentin related to the action of cariogenic biofilms. *J Dent Res*. 2004;83 Spec No C:C35-C38. doi:10.1177/154405910408301s07
- 41- Rošin-Grget K, Peroš K, Sutej I, Bašić K. The cariostatic mechanisms of fluoride. *Acta Med Acad*. 2013;42(2):179-188. doi:10.5644/ama2006-124.85
- 42- Goldberg M. Lésions carieuses initiales. *EMC - Médecine buccale*. 2021;14(6):1-17 [Article 28-090-B-15].
- 43- Pandit S, Cai JN, Jung JE, Jeon JG. Effet du traitement au fluorure d'une minute sur la virulence potentielle et la viabilité d'un biofilm cariogène. *Caries Res*. 2015;49(4):449-457. doi:10.1159/000434731
- 44- Chau NP, Pandit S, Jung JE, Jeon JG. Évaluation de l'adhésion de *Streptococcus mutans* aux vernis fluorés et modification subséquente de l'accumulation et de l'acidogénicité du biofilm. *J Dent*. 2014 Jun;42(6):726-34. doi:10.1016/j.jdent.2014.03.009.
- 45- Jefferies SR. Advances in remineralization for early carious lesions: a comprehensive review. *Compend Contin Educ Dent*. 2014 Apr;35(4):237-43; quiz 244.

46- Reynolds EC. Calcium phosphate-based remineralization systems: scientific evidence?. *Aust Dent J*. 2008 Sep;53(3):268-73. doi: 10.1111/j.1834-7819.2008.00061.x.

47- Tanaka T, Kobayashi T, Tamenori Y, Sakanaka A, Kuriki T, Amano A. Phosphoryl oligosaccharides of calcium enhance mineral availability and FAp formation. *Arch Oral Biol*. 2019 May;101:135-141. doi: 10.1016/j.archoralbio.2019.03.018.

48- écrire cette bibliographie sous forme Vancouver: Grohe, B., & Mittler, S. (2021). Advanced non-fluoride approaches to dental enamel remineralization: The next level in enamel repair management. *Biomaterials and biosystems*, 4, 100029. <https://doi.org/10.1016/j.bbiosy.2021.100029>

49- Zhao IS, Gao SS, Hiraishi N, Burrow MF, Duangthip D, Mei ML, Lo EC, Chu CH. Mécanismes du fluorure de diamine d'argent sur l'arrêt des caries : une revue de la littérature. *Int Dent J*. 2018 Apr;68(2):67-76. doi: 10.1111/idj.12320.

50- Mei ML, Lo ECM, Chu CH. Arrêter les caries de la dentine avec du fluorure de diamine d'argent : qu'est-ce qui se cache derrière ?. *J Dent Res*. 2018 Jul;97(7):751-758. doi: 10.1177/0022034518774778.

51- Burgess JO, Vaghela PM. Silver Diamine Fluoride: A Successful Anticariogenic Solution with Limits. *Adv Dent Res*. 2018 Jan;29(1):131-134. doi: 10.1177/0022034517740123.

52- Kongyodsueb P, Poolthong S, Chumprasert S, Sae-Ear P, Tantilertanant Y. The effect of silver nanoparticles in addition to sodium fluoride on remineralization of artificial root dentin caries. *Australian dental journal*. 2024;69(1):56-66. doi:10.1111/adj.12985

53- Kidd EAM. How 'clean' must a cavity be before restoration? *Caries research*. 2004;38(3):305-13.

- 54- Handelman SL, Buonocore MG, Heseck DJ. A preliminary report on the effect of fissure sealant on bacteria in dental caries. *J Prosthet Dent.* 1972;27(4):390-392. [https://doi.org/10.1016/0022-3913\(72\)90287-9](https://doi.org/10.1016/0022-3913(72)90287-9)
- 55- Santamaría RM, Innes NPT, Machiulskiene V, Schmoeckel J, Alkilzy M, Splieth CH. Options alternatives de gestion des caries pour les molaires primaires : résultats sur 2,5 ans d'un essai clinique randomisé. *Caries Res.* 2017;51(6):605-14. doi: 10.1159/000477855.
- 56- Jensen OE, Handelman SL. Effect of an autopolymerizing sealant on viability of microflora in occlusal dental caries. *Scand J Dent Res.* 1980;88(5):382-8. doi: 10.1111/j.1600-0722.1980.tb01243.x.
- 57- Kneist S, Schmidt F, Callaway A, Willershausen B, Rupf S, Wicht M, Thiede B. Diversité des espèces de *Lactobacillus* dans les lésions carieuses profondes des molaires primaires. *Eur Arch Paediatr Dent.* 2010 Aug;11(4):181-6. doi:10.1007/BF03262741.
- 58- Damé-Teixeira N, Arthur RA, Parolo CC, Maltz M. Diversité génotypique et traits de virulence de *Streptococcus mutans* isolés de la dentine carieuse après élimination et scellage partiels de la carie. *ScientificWorldJournal.* 2014;2014:165201. doi: 10.1155/2014/165201.
- 59- Paddick JS, Brailsford SR, Kidd EA, Beighton D. Phenotypic and genotypic selection of microbiota surviving under dental restorations. *Appl Environ Microbiol.* 2005 May;71(5):2467-72. doi: 10.1128/AEM.71.5.2467-2472.2005.
- 60- Maltz M, Henz SL, de Oliveira EF, Jardim JJ. Conventional caries removal and sealed caries in permanent teeth: a microbiological evaluation. *J Dent.* 2012 Sep;40(9):776-82. doi: 10.1016/j.jdent.2012.05.011.
- 61- Nancy J, Delbos Y. Carisolv® ou la dissolution chimique de la carie à la portée de tous enfin opérationnelle. *Rev Odonto Stomatol (Paris).* 2005;34(4):293-300.

- 62- Li R, Zhao Y, Ye L. How to make choice of the carious removal methods, Carisolv or traditional drilling? A meta-analysis. *J Oral Rehabil*. 2014 Jun;41(6):432-42. doi: 10.1111/joor.12161.
- 63- Tassery H, Victor J-L, Coudert G, Brouillet J-L, Koubi S. Dentisterie restauratrice a minima. EMC (Elsevier SAS, Paris), Odontologie. 2006;23-145-A-05.
- 64- Maashi MS, Elkhodary HM, Alamoudi NM, Bamashmous NO. Chemomechanical caries removal methods: a literature review. *Saudi Dent J*. 2023 Mar;35(3):233-43.
- 65- Kathuria V, Ankola AV, Hebbal M, Mocherla M. Carisolv- an innovative method of caries removal. *J Clin Diagn Res*. 2013 Dec;7(12):3111-5. doi: 10.7860/JCDR/2013/6676.3873.
- 66- Ammari MM, Moliterno LF, Hirata Júnior R, Séllos MC, Soviero VM, Coutinho Filho WP. Efficacy of chemomechanical caries removal in reducing cariogenic microbiota: a randomized clinical trial. *Braz Oral Res [Internet]*. 2014 [cited 2024 Jul 22];28:S1806-83242014000100242. Available from: <https://doi.org/10.1590/1807-3107bor-2014.vol28.0031>
- 67- Lima GQ, Oliveira EG, Souza JI, Monteiro Neto V. Comparison of the efficacy of chemomechanical and mechanical methods of caries removal in the reduction of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* spp in carious dentine of primary teeth. *J Appl Oral Sci [Internet]*. 2005 [cited 2024 Jul 22];13(4):399-405. Available from: <https://doi.org/10.1590/s1678-77572005000400016>
- 68- Hamama H, Yiu C, Burrow M. Current update of chemomechanical caries removal methods. *Aust Dent J [Internet]*. 2014 [cited 2024 Jul 22];59(4):446-525. Available from: <https://doi.org/10.1111/adj.12214>
- 69- Wu YT, Lu PW, Lin CA, Chang LY, Jaihao C, Peng TY, et al. Développement d'un système chimio-mécanique à base de chlorure de zinc pour un système potentiel d'élimination des caries dentaires peu invasive. *J Dent Sci [Internet]*. 2024 [cited 2024 Jul 22];19(2):919-28. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jds.2023.08.004>

- 70- Piva E, Ogliari FA, Moraes RR, Corá F, Henn S, Correr-Sobrinho L. Gel à base de papaine pour l'élimination biochimique des caries: influence sur la force de liaison microtensile à la dentine. *Braz Oral Res.* 2008;22(4):364-370. <https://doi.org/10.1590/s1806-83242008000400014>
- 71- AlHumaid J, Al-Harbi F, El Tantawi M, Elembaby A. X-ray microtomography assessment of Carisolv and Papacarie effect on dentin mineral density and amount of removed tissue. *Acta Odontol Scand.* 2018;76(4):236-40. doi: 10.1080/00016357.2017.1406614
- 72- Banerjee A, Kellow S, Mannocci F, Cook RJ, Watson TF. An in vitro evaluation of microtensile bond strengths of two dentin bonding agents to residual dentin following caries excavation using three excavation techniques. *J Dent.* 2010;38(6):480-9. doi: 10.1016/j.jdent.2010.03.002
- 73- Neves AA, Coutinho E, De Munck J, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Does DIAGNOdent provide a reliable parameter for caries removal? *J Dent.* 2011;39(5):351-60. doi: 10.1016/j.jdent.2011.02.005
- 74- Ruan Q, Moradian-Oldak J. Amelogenin and Enamel Biomimetics. *J Mater Chem B.* 2015;3:3112-9. doi:10.1039/C5TB00163C.
- 75- Wu, X.-T., Mei, M.L., Li, Q.-L., Cao, C.Y., Chen, J.-L., Xia, R., Zhang, Z.-H., & Chu, C.H. (2015). A direct electric field-aided biomimetic mineralization system for inducing the remineralization of dentin collagen matrix. *Materials (Basel, Switzerland)*, 8(11), 7889-7899.