

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

O PAPEL DOS PROBIÓTICOS NA PREVENÇÃO DE CÁRIES DENTÁRIAS EM CRIANÇAS

Trabalho submetido por
Edouard Jean Nicolas Starck
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

outubro de 2025

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

O PAPEL DOS PROBIÓTICOS NA PREVENÇÃO DE CÁRIES DENTÁRIAS EM CRIANÇAS

Trabalho submetido por
Edouard Jean Nicolas Starck
para a obtenção do grau de **Mestre** em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Prof. Doutora Cecília Rozan

e coorientado por
Prof. Doutora Carla Ascenso

outubro de 2025

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha orientadora, Prof.^a Doutora Cecília Rozan, pelo apoio constante, pelos conselhos sempre valiosos e por me ter transmitido o seu rigor científico e dedicação ao longo de todo o projeto.

Agradeço à minha coorientadora, Prof.^a Doutora Carla Ascenso, pela orientação clara e pelas contribuições sempre pertinentes ao longo deste trabalho.

Agradeço sinceramente à Prof.^a Doutora Helena Barroso pela sua valiosa ajuda no laboratório e pela disponibilidade constante, fundamentais para a realização deste estudo.

Agradeço ao Prof. Doutor Luís Proença pelo seu apoio e atenção ao longo do desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço à Egas Moniz pela formação de qualidade ao longo destes últimos cinco anos e pelas oportunidades académicas e científicas que me foram proporcionadas durante o meu percurso.

Agradeço também ao Centro Juvenil e Comunitário Padre Amadeu Pinto, e a todos os seus membros, pela confiança e colaboração, em especial à Ana Cláudia, pela sua disponibilidade, simpatia e contributo essencial na concretização deste projeto.

À mes parents et à ma sœur, merci infiniment pour votre soutien et votre amour inconditionnels, et de toujours m'avoir encouragé à suivre la voie que j'ai choisie.

À Alfred, merci pour ta présence indéfectible à mes côtés tout au long de cette aventure, sans toi toutes ces nuits au laboratoire n'auraient pas été les mêmes.

À mon binôme Guillaume, merci de m'avoir soutenu au fil des années, pour ta patience et pour toute l'aide précieuse que tu m'as apportée en clinique.

À Manon, Gilia, Perrine, Camille, Clara, Juliette, Maïwenn, Solène, Malou, Léa, Anna, Baptiste, Anatole, Alban, Arthur et tous mes amis du Portugal d'avoir été présents durant ces 5 années, vous les avez rendues si belles.

Je remercie sincèrement le Laboratoire Therascience et Vitalp[®] pour leur générosité et leur soutien matériel, essentiels à la réalisation de ce projet.

RESUMO

Introdução: Entre as doenças orais mais prevalentes, a cárie dentária constitui uma patologia crônica de elevada incidência mundial, afetando milhões de crianças. De origem multifatorial, resulta da interação entre fatores comportamentais, como alimentação rica em hidratos de carbono fermentáveis, condições inadequadas de saúde oral e desequilíbrio da microbiota. Este desequilíbrio promove a proliferação de bactérias cariogênicas, sobretudo *Streptococcus mutans* (*S. mutans*), central na etiopatogenia da cárie. Embora estratégias preventivas clássicas, como higiene oral rigorosa e alimentação equilibrada, permaneçam fundamentais, têm surgido abordagens complementares inovadoras. Entre estas, destaca-se a utilização de probióticos com aplicação oral, que tem despertado crescente interesse. Definidos como microrganismos vivos que, administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro, os probióticos estão consolidados na saúde gastrointestinal, sendo o seu potencial em saúde oral cada vez mais estudado.

Objetivos: Avaliar os efeitos da administração diária de uma pastilha probiótica sobre parâmetros clínicos e microbiológicos relacionados com a cárie dentária em crianças.

Materiais e Métodos: Neste contexto, realizou-se um estudo exploratório randomizado, controlado por placebo e duplamente cego, com 40 crianças entre os 6 e 14 anos, distribuídas aleatoriamente entre grupo de teste, que recebeu diariamente uma pastilha probiótica, e grupo placebo. A avaliação do impacto ocorreu antes e após 30 dias, recorrendo ao Sistema Internacional para a Detecção e Avaliação de Cárie (ICDAS), índices de placa (IP) e gengival (IG) de Løe e Silness, e recolha de saliva estimulada para medição do pH, da capacidade tampão e da concentração de *S. mutans*.

Resultados: A intervenção revelou boa tolerância e aceitabilidade. Observou-se uma tendência de melhoria em alguns parâmetros clínicos e microbiológicos, sem atingir significância estatística.

Conclusão: Estes achados sugerem um potencial efeito benéfico dos probióticos, cuja confirmação requer ensaios de maior duração e com amostras mais alargadas.

Palavras- Chave: Crianças; Cárie Dentária; Probiótico; *Streptococcus mutans*

ABSTRACT

Introduction: Among the most prevalent oral diseases, dental caries is a chronic condition with high global incidence, affecting millions of children. Of multifactorial origin, it results from the interaction of behavioral factors such as a diet rich in fermentable carbohydrates, inadequate oral health conditions, and imbalance of the oral microbiota. This imbalance promotes the proliferation of cariogenic bacteria, especially *Streptococcus mutans* (*S. mutans*), which plays a central role in the etiopathogenesis of dental caries. Although classical preventive strategies, such as rigorous oral hygiene and a balanced diet, remain essential, complementary and more innovative approaches have emerged. Among these, the use of orally administered probiotics has gained increasing attention. Defined as live microorganisms which, when administered in adequate amounts, confer health benefits to the host, probiotics are well established in gastrointestinal health, and their potential in oral health is being increasingly investigated.

Objectives: To evaluate the effects of daily administration of a probiotic lozenge on clinical and microbiological parameters related to dental caries in children.

Materials and Methods: An exploratory randomized, placebo-controlled, double-blind study was conducted with 40 children aged 6 to 14 years, randomly allocated to a test group, which received a daily probiotic lozenge, and a placebo group. The impact of the intervention was assessed before and after 30 days using the International Caries Detection and Assessment System (ICDAS), the plaque index (PI) and gingival index (GI) of Löe and Silness, as well as the collection of stimulated saliva to measure pH, buffering capacity, and *S. mutans* concentration.

Results: The intervention was well tolerated and showed good acceptability. A trend toward improvement was observed in some clinical and microbiological parameters, although without reaching statistical significance.

Conclusion: These findings suggest a potential beneficial effect of probiotics, whose confirmation requires longer-term trials with larger sample sizes.

Keywords: Children; Dental Caries; Probiotic; *Streptococcus mutans*

ÍNDICE GERAL

1. INTRODUÇÃO.....	13
1.1. Cárie Dentária	13
1.1.1. <i>Definição, prevalência e história da cárie dentária.....</i>	13
1.1.2. <i>Etiologia da cárie dentária</i>	14
1.1.3. <i>Diagnóstico e tratamento da cárie dentária</i>	23
1.2. Os Probióticos.....	26
1.2.1. <i>Definição e história dos probióticos.....</i>	26
1.2.2. <i>Prebióticos, simbióticos e alimentos fermentados.....</i>	27
1.2.3. <i>Funcionamento dos probióticos</i>	28
1.2.4. <i>Os probióticos de uso oral</i>	29
1.2.5. <i>Vias de administração.....</i>	31
1.2.6. <i>Legislação e dose.....</i>	31
1.2.7. <i>Efeitos adversos e limites dos probióticos</i>	32
1.3. Objetivos de estudo.....	33
1.4. Hipóteses de estudo.....	33
2. MATERIAIS E MÉTODOS	35
2.1. Pesquisa bibliográfica.....	35
2.2. Considerações éticas	35
2.3. Tipo de estudo.....	35
2.4. Seleção da amostra	36
2.5. Critérios de inclusão e exclusão	38
2.6. Recolha da amostra	39
2.7. Materiais utilizados	39
2.8. Produtos utilizados	41
2.8.1. <i>Descrição do probiótico.....</i>	41
2.8.2. <i>Descrição do placebo</i>	42
2.9. Testes realizados	43
2.9.1. <i>Teste in vitro</i>	43

2.9.2.	<i>Análises de pH e avaliação da capacidade tampão da saliva</i>	44
2.9.3.	<i>Análises microbiológicas</i>	46
2.9.4.	<i>Índices utilizados</i>	48
2.9.5.	<i>Calibragem</i>	49
2.9.6.	<i>Aplicação dos questionários</i>	49
2.9.7.	<i>Variáveis em estudo</i>	49
2.9.8.	<i>Análise estatística</i>	50
3.	RESULTADOS	51
3.1.	Teste <i>in vitro</i>	51
3.2.	Análise descritiva das variáveis sociodemográficas	52
3.2.1.	<i>Idade</i>	52
3.2.2.	<i>Gênero</i>	53
3.2.3.	<i>Etnia</i>	53
3.2.4.	<i>Doenças específicas mencionadas</i>	54
3.2.5.	<i>Hábitos de higiene oral</i>	54
3.2.6.	<i>Autopercepção da saúde oral</i>	59
3.3.	Variáveis Clínicas e Biológicas	60
3.3.1.	<i>Análises da prevalência da cárie dentária</i>	60
3.3.2.	<i>Análises de pH e da capacidade tampão</i>	61
3.3.3.	<i>Análises do Índice de placa e índice gengival de Løe e Silness</i>	63
3.3.4.	<i>Análises microbiológicas</i>	64
3.4.	Questionário final	65
4.	DISCUSSÃO	67
5.	CONCLUSÃO	75
6.	BIBLIOGRAFIA	77

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Sucessão microbiana dos géneros predominantes numa cavidade oral saudável	15
Figura 2: Desenvolvimento do Biofilme	18
Figura 3: Características microbiológicas de <i>S. Mutans</i>	18
Figura 4: O Equilíbrio de Fatores Patológicos e Protetores na Cárie Dentária	20
Figura 5: Estratégias de prevenção da cárie dentária	23
Figura 6: Progressão das lesões de cárie segundo os códigos ICDAS	24
Figura 7: Fluxograma do estudo	37
Figura 8: Fluxograma das atividades desenvolvidas no âmbito do estudo	38
Figura 9: Escala com emojis animados	39
Figura 10: Fotografia do material usado para a recolha de saliva estimulada no Centro Social e Paroquial Amadeu Pinto	40
Figura 11: Fotografia do material usado para a aplicação do IP IG e ICDAS no Centro Social e Paroquial Amadeu Pinto	40
Figura 12: Fotografia de Teoliance® oral na sua forma comercializada	41
Figura 13: Fotografia de Vitalp® TASTE Strawberry na sua forma comercializada	43
Figura 14: Equação da Capacidade tampão	45
Figura 15: Instalação utilizada para a medição do pH e da capacidade tampão das amostras de saliva no laboratório C305-A	45
Figura 16: Diversas diluições da amostra de saliva de um dos indivíduos do estudo, inoculadas em MSA, nas concentrações de 1:10 000, 1:100 000 e 1:1 000 000.....	47
Figura 17: Diversas diluições da amostra de saliva de um dos indivíduos do estudo, inoculadas em GS, nas concentrações de 1:1 000, 1:10 000 e 1:100 000.....	47
Figura 18: Resultados dos testes <i>in vitro</i>	51
Figura 19: Gráfico de distribuição percentual dos indivíduos por faixa etária, de acordo com a amostra total, o GE e o GC.	52
Figura 20: Gráfico da Distribuição das Frequências da Amostra por Género	53
Figura 21: Gráfico da Distribuição das Frequências em função da Última Consulta de Medicina Dentária.....	56
Figura 22: Gráfico do motivo da última consulta de Medicina dentária segundo a Amostra, o GE e o GC	57

Figura 23: Gráfico de Percepção de vergonha ou desconforto ao sorrir devido ao estado dos dentes: distribuição por grupo	58
Figura 24: Percepção da importância da escovagem dentária: distribuição por grupo ...	59
Figura 25: Exemplo de variação do pH salivar num indivíduo do GE entre T0 e T1 ...	61
Figura 26: Curvas de titulação de pH com HCl 0,1 mol/L para cada indivíduo em T1	63
Figura 27: Variação do IP entre T0 e T1 no GE e no GC.....	64
Figura 28: Variação do IG entre T0 e T1 no GE e no GC	64

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Tabela de classificação do ICDAS	25
Tabela 2: Critérios de seleção da amostra.....	38
Tabela 3: Classificação do Índice de Placa de Silness e Løe (1964).....	48
Tabela 4: Classificação do Índice de Placa de Silness e Løe (1963).....	48
Tabela 5: Variáveis em estudo, dependentes e independentes	50
Tabela 6: Análise descritiva da idade da amostra e dos grupos do estudo.....	52
Tabela 7: Distribuição das Frequências da Amostra por Género	53
Tabela 8: Distribuição das Frequências da Amostra e dos grupos por Etnia	54
Tabela 9: Distribuição das Frequências da Amostra e dos grupos por doença mencionada	54
Tabela 10: Distribuição das frequências de escovagem dos dentes.....	55
Tabela 11: Distribuição das Frequências em função da ajuda para lavar os dentes	55
Tabela 12: Distribuição das Frequências em função do Uso de Flúor.....	56
Tabela 13: Distribuição das Frequências em função do Última Consulta de Medicina Dentária	56
Tabela 14: Distribuição das Frequências em função do Motivo da Última Consulta de Medicina Dentária.....	57
Tabela 15: Percepção de vergonha ou desconforto ao sorrir devido ao estado dos dentes: distribuição por grupo	58
Tabela 16: Percepção da importância da escovagem dentária: distribuição por grupo ...	59
Tabela 17: Autopercepção do estado geral dos dentes, gengivas e dor oral: valores medianos e intervalos interquartis por grupo	59
Tabela 18: Distribuição das Superfícies Dentárias Avaliadas de Acordo com os Critérios ICDAS, por Amostra, GE e GC	60
Tabela 19: Variação do pH salivar após adição incremental de HCl (0,1 mol/L) em T0 e T1 no GE e no GC	62
Tabela 20: Capacidade tampão salivar nos momentos T0 e T1 e respetiva variação média	62
Tabela 21: Comparação dos valores dos índices de placa e gengival no GE e no GC..	63
Tabela 22: Análise comparativa dos microrganismos Streptococcaceae, anaeróbios e alfa-hemolíticos entre T0 e T1.....	65

Tabela 23: Percepções dos indivíduos quanto à higiene oral e ao uso de probióticos ao final do estudo 66

LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E ACRONIMOS

ADE: Água Destilada Esterilizada

CAMBRA: *Caries Management by Risk Assessment* (Gestão das Cáries pela Avaliação do Risco)

CCI: Correlação interclasse

CiiEM: Centro de Investigação Interdisciplinar Egas Moniz

EFSA: Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos

EPS: Exopolissacarídeos

FAO: *Food And Agriculture Organization* (Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura)

GC: Grupo de Controlo

GE: Grupo Experimental

GS: Gelose de Sangue

HCl: Ácido clorídrico

ICDAS: *International Caries Detection and Assessment System* (Sistema Internacional de Deteção e Avaliação de Cáries)

IG: Índice Gengival

IP: Índice de placa

ISAPP: Associação Científica Internacional para Probióticos e Prebióticos

IUEM: Instituto Universitário Egas Moniz

L. reuteri: Lactobacillus reuteri

L. rhamnosus: Lactobacillus rhamnosus

L. salivarius: Lactobacillus salivarius

MSA: Mitis-Salivarius-Agar

MSB: Mitis-Salivarius-Bacitracina

PAE: Película adquirida do esmalte

S. mutans: Streptococcus mutans

S. sobrinus: Streptococcus sobrinus

T0: Consulta inicial

T1: Consulta final

UFC: Unidades Formadoras de Colónias

WSL: *White Spot Lesions* (Lesões de mancha branca)

1. INTRODUÇÃO

1.1. Cárie Dentária

1.1.1. Definição, prevalência e história da cárie dentária

As doenças orais afetam cerca de 3,5 mil milhões de pessoas em todo o mundo, o que corresponde a aproximadamente 43 % da população mundial (Gupta, 2022). Dentro dessas doenças, a cárie dentária não tratada em dentes permanentes é reconhecida como a doença crónica mais prevalente em todo o mundo, e pode afetar indivíduos de todas as faixas etárias ao longo da vida toda (N. B. Pitts et al., 2017; World Health Organization, 2024). A nível mundial, cerca de 2,3 mil milhões de pessoas têm cáries que não foram tratadas, enquanto mais do que 530 milhões de crianças sofrem de cáries nos dentes decíduos (FDI World Dental Federation, 2020).

A cárie dentária é uma doença multifatorial, crónica e dinâmica caracterizada pela destruição localizada dos tecidos duros dentários na cavidade oral, causada pela presença de ácidos resultantes da fermentação bacteriana dos hidratos de carbono da dieta (Pitts et al., 2017). A doença desenvolve-se quando as bactérias se acumulam na cavidade oral, levando à formação de biofilme bacteriano, e de placa bacteriana (Cai & Kim, 2023). Esta película clara e aderente ao dente utiliza os hidratos de carbono presentes na alimentação para produzir ácidos criando variações do pH intra-oral e promovendo um ciclo alternado de desmineralização e remineralização dos tecidos duros dentários, que pode conduzir à sua destruição (Chen et al., 2020).

Além de provocar danos a nível da coroa dentária, pode também atingir as superfícies radiculares, particularmente quando estas estão expostas (Al-Harthy et al., 2023). Existe na literatura diversos estudos que demonstram que a carie dentária quando não é corretamente tratada poderá dar origem a dor, infeções e em última instância levar a perda dentária (Abikshyeet et al., 2022; Pitts et al., 2017).

Do ponto de vista histórico, embora a cárie dentária exista há milénios, a sua intensificação está associada às alterações nos hábitos alimentares decorrentes da

agricultura e da industrialização (Bertilsson et al., 2022). As primeiras tentativas de tratar lesões cariosas datam de há 13 000 anos (Spielman, 2023).

Durante séculos, acreditou-se em explicações míticas, como a do “verme dentário”, no entanto, a etiologia da cárie foi sendo progressivamente elucidada desde a identificação do açúcar como fator predisponente por Pierre Fauchard, até à descoberta, em 1924, de *S. mutans* como bactéria chave no seu desenvolvimento (History of dentistry, 2025). A história da cárie dentária é também marcada pelo desenvolvimento da “hipótese da placa ecológica”, proposta por Philip D. Marsh em 1994 (Nisha et al., 2017). Esta teoria introduziu uma nova perspetiva sobre a origem microbiana da doença, destacando a interação dinâmica entre o regime alimentar, o ambiente oral e a composição do biofilme microbiano (Spatafora et al., 2024). Segundo esta hipótese, alterações ambientais, como a ingestão frequente de açúcares, podem provocar um desequilíbrio (disbiose) na microbiota oral, favorecendo o crescimento de bactérias acidogénicas e acidúricas, como *S. mutans* (Angarita-Díaz et al., 2022). Ainda hoje, esta hipótese mantém-se válida de forma a explicar a origem microbiana desta doença (Rathee & Sapra, 2023).

1.1.2. Etiologia da cárie dentária

A cavidade oral oferece dois tipos de superfícies para a colonização bacteriana: os tecidos duros (dentes) e os tecidos moles (mucosa) (Sterzenbach et al., 2020). Um ambiente estável a 37°C e um pH entre 6,5 e 7, estando presentes os dentes, a língua, as bochechas, o sulco gengival, as amígdalas e o palato, favorecem o desenvolvimento de numerosas espécies microbianas (Deo & Deshmukh, 2019).

Neste contexto, a microbiota oral designa o conjunto de microrganismos presentes na cavidade oral humana, composto por mais de 1500 espécies microbianas conhecidas, incluindo bactérias, fungos, vírus, archaea e protozoários (Luo et al., 2024). A microbiota oral representa o segundo maior e mais diversificado conjunto microbiano do corpo humano, sendo apenas superado pelo intestino (Deo & Deshmukh, 2019).

Individuais e irrepetíveis, as microbiotas humanas são inicialmente moldadas por fatores genéticos, mas o seu estabelecimento inicia-se no nascimento, sendo fortemente influenciado pela via de parto (vaginal ou cesariana) e pela amamentação, que constituem as principais fontes iniciais de microrganismos e nutrientes moduladores da sua composição (Deo & Deshmukh, 2019).

Numa cavidade oral saudável observa-se uma evolução na composição bacteriana (Figura 1), sendo que, em crianças e adolescentes, predominam géneros como *Streptococcus*, *Rothia*, *Neisseria*, *Veillonella* e *Actinomyces* (Beattie, 2024). No entanto, outras bactérias, como *S. mutans*, *Streptococcus sobrinus* (*S. sobrinus*), *Prevotella denticola*, e *Scardovia wiggsiae*, estão frequentemente associadas ao desenvolvimento de lesões de cárie nesta faixa etária (Veenman et al., 2024).

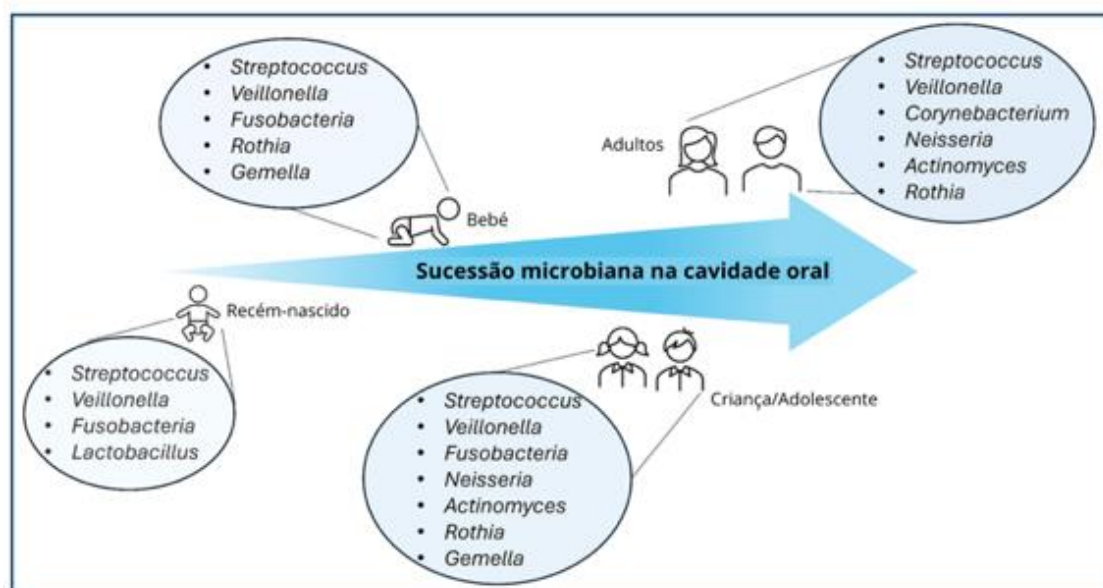


Figura 1: Sucessão microbiana dos géneros predominantes numa cavidade oral saudável (adaptado de Beattie, 2024).

Além disso, em ambientes naturais, as bactérias apresentam dois modos de existência: uma forma planctónica, caracterizada por células livres, e uma forma sésil, onde os micro-organismos formam colónias aderentes denominados biofilmes bacterianos (Salas-Jara et al., 2016).

Os biofilmes são comunidades microbianas complexas e organizadas, embebidas numa matriz de substâncias poliméricas extracelulares (EPS) produzidas pelos próprios microrganismos, sendo a placa dentária o biofilme oral mais prevalente e o mais extensivamente caracterizado em termos de estrutura e composição (Mohan Koka et al., 2021) cuja formação nas superfícies duras da cavidade oral ocorre sequencialmente em várias etapas (Grari et al., 2025).

De forma geral, a colonização bacteriana das superfícies dentárias limpas inicia-se pela fase de indução, marcada pela formação da película adquirida do esmalte (PAE), acelular e composta por glicoproteínas salivares (Arweiler & Netuschil, 2016). A etapa subsequente é a adesão, onde os microrganismos aderem inicialmente de forma reversível (Mohan Koka et al., 2021). Esta adesão consolida-se em duas fases: inicialmente ocorrem interações físicas intermoleculares, que antecedem o estabelecimento de ligações específicas entre as adesinas bacterianas (receptores proteicos) e a superfície colonizada (Słotwińska et al., 2020).

Entre os colonizadores primários, destacam-se *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus mitis* e as espécies de *Actinomyces* (Lemos et al., 2019). A síntese de EPS, incluindo glucanos e frutanos, por esses microrganismos permite uma adesão irreversível, oferecendo proteção contra os mecanismos de defesa do hospedeiro (antimicrobianos, anticorpos, bacteriófagos) e participando também na agregação bacteriana e no acesso aos nutrientes (Cugini et al., 2019). Os EPS desempenham um papel fundamental na manutenção da integridade estrutural do biofilme, conferindo resistência face a fatores ambientais adversos e modulando a resposta imunitária do hospedeiro (Salas-Jara et al., 2016).

O biofilme desenvolve-se continuamente através da comunicação intercelular mediada pelo *quorum sensing*, que permite uma regulação coordenada da expressão génica (Filik & Filik, 2024; Lin et al., 2021). Este processo facilita a incorporação progressiva de diversas espécies bacterianas, predominantemente Gram-positivo, mas também bactérias Gram-negativo, como *Fusobacterium nucleatum*, conhecida pela sua elevada capacidade de coagregação, essencial para a coesão e maturação do biofilme (Arweiler & Netuschil, 2016).

Na fase final de maturação, o biofilme adquire a capacidade de dispersão, libertando microrganismos viáveis que podem colonizar novas superfícies e iniciar a formação de novos biofilmes (Mohan Koka et al., 2021).

Num indivíduo saudável, as bactérias interagem entre si e com o sistema imunitário do hospedeiro, regulando-se mutuamente e estabelecendo um ecossistema oral equilibrado (Zhu et al., 2023), uma condição designada por simbiose que é sustentada por fatores tanto do hospedeiro como dos próprios microrganismos (Kilian et al., 2016).

No entanto, o biofilme pode ser afetado por vários fatores externos, como o açúcar, que favorece o desenvolvimento de certas bactérias patogénicas, desequilibrando o ecossistema e levando à disbiose (Hajishengallis et al., 2023).

Espécies bacterianas dos géneros *Actinomyces*, *Lactobacillus* e *Streptococcus*, como *S. mutans*, beneficiam de um crescimento aumentado no interior do biofilme, cujo desenvolvimento denso e atividade metabólica intensiva promovem o consumo do oxigénio disponível, originando microambientes anaeróbios (Rebelo et al., 2023) que, por sua vez, impulsionam a produção de ácidos orgânicos (Lemos et al., 2019), sendo o ácido láctico o principal produto desta via metabólica (Rathee & Sapro, 2023).

Em meio ácido, observa-se a eliminação das espécies comensais sensíveis à acidez (Spatafora et al., 2024). Este desequilíbrio conduz a uma redução da diversidade microbiana do biofilme, permitindo a sobrevivência predominante de espécies acidotolerantes, como *S. mutans*, *Actinomyces*, *Bifidobacterium* e *Scardovia wiggisiae* (Rathee & Sapro, 2023).

Paralelamente, uma diminuição da produção de peróxido de hidrogénio (H₂O₂) por *Streptococcus gordonii* contribui igualmente para a proliferação de *S. mutans* (Rebelo et al., 2023), espécie-chave na adesão de outras bactérias patogénicas às superfícies dentárias e às mucosas orais (Zhu et al., 2023). A formação do biofilme em torno do núcleo constituído por *S. mutans* evidencia uma arquitetura específica e organizada (Hajishengallis et al., 2023), que permite às bactérias resistir às defesas do hospedeiro e aos agentes antibacterianos (Rebelo et al., 2023).

A Figura 2 ilustra as etapas do desenvolvimento do biofilme cariogénico:

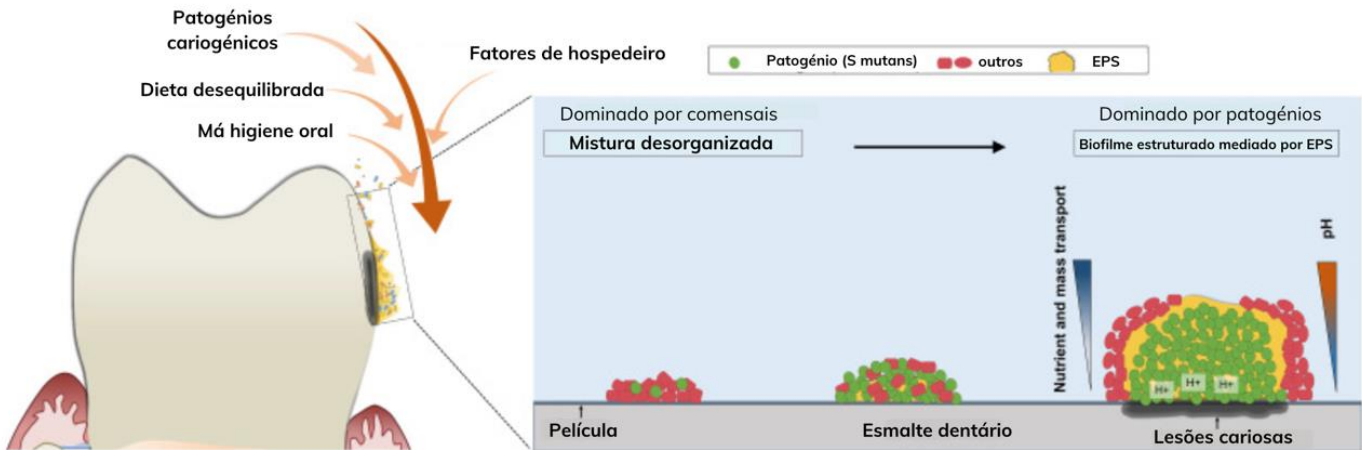


Figura 2: Desenvolvimento do Biofilme. A matriz de EPS desempenha um papel central na formação do biofilme, ao facilitar a adesão, coesão e acumulação das bactérias na superfície dentária. Esta matriz cria um ambiente estruturado, comunitário e estável, que favorece as interações entre microrganismos. Ela retém diversos compostos, como nutrientes, metabolitos e moléculas de comunicação interbacteriana (*quorum sensing*). Estas propriedades conduzem à organização de um núcleo bacteriano, constituído principalmente por *S. mutans*, rodeados por outras espécies bacterianas, originando variações locais de pH e de oxigénio, que promovem a desmineralização do esmalte dentário, adaptado do artigo de Cai & Kim (2023).

Residente natural da cavidade oral humana e elemento principal da microbiota oral (Lu et al., 2019), *S. mutans* é considerado o principal patogénico no desenvolvimento da cárie dentária (Lemos et al., 2019), embora o desenvolvimento do processo de cárie possa ocorrer na ausência desta bactéria (Rathee & Sapra, 2023). *S. mutans* pertence ao grupo de *Streptococcus viridans*, e apresenta características microbiológicas (Figura 3) como cocos Gram-positivo, esféricos, geralmente dispostos em cadeias, anaeróbios facultativos, catalase negativo, e alfa-hemolíticos em gelose de sangue (GS) (Lakshmi & Leela, 2022).

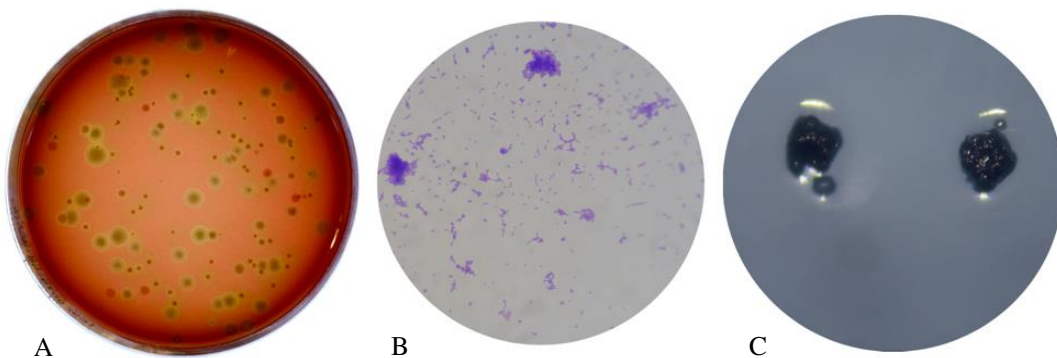


Figura 3: Características microbiológicas de *S. Mutans*: (A) Colónias observadas em meio Columbia Agar 5%, apresentando aspeto escuro, irregular e alfa-hemólise; (B) Coloração de Gram observada ao microscópio ótico, evidenciando bactérias Gram-positivo; (C) Colónias observadas à lupa, com morfologia irregular e coloração escura.

Para o isolamento e quantificação de *S. mutans* em amostras salivares, utiliza-se o meio de cultura seletivo Mitis-Salivarius-Bacitracina (MSB), que, embora promova seletivamente o seu crescimento, permite igualmente a deteção de outros estreptococos e de bactérias não estreptocócicas (Zeng et al., 2020). Adicionalmente, o ágar-sangue Columbia (5%) constitui um meio eficaz para a observação dos perfis de hemólise em estreptococos em geral (Aryal, 2022).

S. mutans distingue-se das outras bactérias colonizadoras pela sua virulência, caracterizada por uma elevada produção de EPS e de ácido láctico a partir da glicose, uma forte tolerância ao stress ácido e uma grande capacidade de adesão às superfícies dentárias (Luo et al., 2024) criando assim um ambiente favorável à proliferação de outras espécies acidogénicas e acidúricas, criando assim um ambiente favorável à proliferação de outras espécies acidogénicas e acidúricas (Lemos et al., 2019).

A nível patológico, a cárie dentária resulta de um processo dinâmico de desmineralização e remineralização dos tecidos duros dentários (Rebello et al., 2023). A exposição prolongada a um meio ácido conduz à dissolução dos cristais de hidroxiapatite e à libertação de cálcio e fosfato (Roberts et al., 2022), processo que se inicia quando o pH desce abaixo do valor crítico de aproximadamente 5,5 (Harper et al., 2021). Esta dissolução enfraquece o esmalte, tornando-o mais rugoso e poroso, o que favorece a adesão bacteriana e a progressão da lesão (Rathee & Sapra, 2023; Spatafora et al., 2024).

A remineralização pode reverter parcialmente os danos provocados pela desmineralização, sendo o flúor um dos principais agentes protetores contra a cárie (Roberts et al., 2022). O flúor promove a formação de fluoroapatite, mais resistente às variações de pH ácido, facilita a incorporação de cálcio e fosfato presentes na saliva (Motallaei et al., 2021), substitui sais solúveis perdidos durante o processo de desmineralização (Roberts et al., 2022) e exerce ação antimicrobiana ao inibir a enzima glicosiltransferase, reduzindo a síntese de polissacáridos extracelulares (Motallaei et al., 2021).

Os ciclos de desmineralização e remineralização sucedem-se de forma contínua e, quando há um desequilíbrio a favor da desmineralização, ocorre a progressão da cárie (Tulek et al., 2021). De acordo com a hipótese ecológica da placa, este processo desenvolve-se em três fases: uma fase de estabilidade dinâmica, na qual o biofilme se mantém em equilíbrio, uma fase de produção de ácidos, resultante da fermentação de açúcares, e uma fase acidúrica, caracterizada pela dominância de bactérias ácido-tolerantes (Zhu et al., 2023).

O desenvolvimento da cárie dentária pode ser representado como uma balança (Figura 4), em que o equilíbrio entre fatores de risco patológicos e fatores de proteção é determinante para a progressão ou estabilização da doença (Pitts et al., 2017). A gestão da cárie dentária baseia-se no restabelecimento do equilíbrio a favor dos fatores protetores, através da redução dos fatores de risco e do reforço dos mecanismos de proteção (Featherstone et al., 2021).

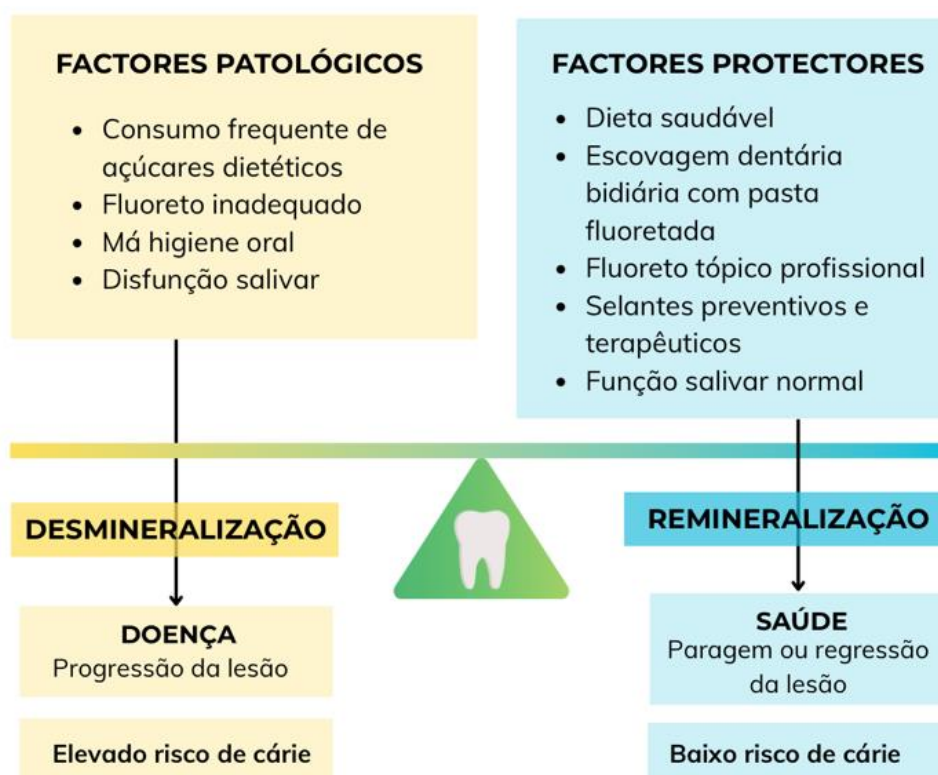


Figura 4: O Equilíbrio de Fatores Patológicos e Protetores na Cárie Dentária: A promoção dos fatores protetores favorece a remineralização e orienta o equilíbrio do processo de cárie para a saúde e a estabilização da lesão, enquanto a ausência de controlo dos fatores patológicos acelera a desmineralização e contribui para o desenvolvimento da doença, adaptado do artigo (N. Pitts, 2016).

Entre os fatores protetores, destaca-se a saliva, cuja capacidade tampão, assegurada por sistemas fosfatados, carbonatados e proteicos, neutraliza os ácidos e restabelece o pH salivar fisiológico entre 5,6 e 7,6 em indivíduos saudáveis (Rathee & Sapra, 2023; Zhang et al., 2022).

Além disso, as proteínas salivares ricas em prolina, presentes na película adquirida, inibem a precipitação de fosfato de cálcio, embora também possam limitar a difusão de iões remineralizantes para as lesões iniciais (Flemming et al., 2022).

Outros mecanismos protetores incluem a manutenção de hábitos de higiene oral adequados, a adoção de uma dieta equilibrada com limitação do consumo de açúcares fermentáveis (Featherstone et al., 2021; Roberts et al., 2022). De forma geral, a utilização de flúor em diferentes formas, presente em dentífricos, colutórios, géis e vernizes, promove a remineralização, reforça a resistência do esmalte e exerce uma ação antimicrobiana (Motallaei et al., 2021; Roberts et al., 2022).

A nível populacional, medidas de saúde pública como a fluoretação da água potável, recomendada pela OMS a concentração entre 0,5 e 1,0 mg/L, demonstraram reduzir a incidência de cárie em 30 a 50% e contribuir para a diminuição das desigualdades sociais em saúde oral (Motallaei et al., 2021; World Health Organization, 2019). Contudo, importa salientar que uma ingestão excessiva de flúor, especialmente durante o desenvolvimento dos dentes, pode causar fluorose dentária (Do & Ha, 2021).

No que se refere aos fatores de risco patológicos, a dieta rica em açúcares fermentáveis constitui o elemento etiológico primário da cárie dentária, sendo a sacarose o principal substrato envolvido no desenvolvimento da cárie dentária (Zabokova Bilbilova, 2020). A sacarose favorece o crescimento de estirpes bacterianas acidogénicas e ácido-tolerantes até níveis patogénicos (Motallaei et al., 2021), estando presente em refrigerantes e outros alimentos consumidos com elevada frequência por crianças e adolescentes (Schneider et al., 2021). O amido também é considerado cariogénico, uma vez que, quando retido nos dentes, é hidrolisado em dissacarídeos pela amilase salivar e subsequentemente metabolizado pelas bactérias do biofilme (Zabokova Bilbilova, 2020).

Outros fatores de risco incluem distúrbios alimentares, como anorexia e bulimia, nos quais o vômito frequente expõe o esmalte aos ácidos gástricos, bem como o refluxo gastroesofágico, que exerce um efeito erosivo semelhante (Butera et al., 2022).

Paralelamente, uma higiene oral deficiente, caracterizada por escovagem insuficiente ou irregular, associada à ausência de consultas dentárias regulares e ao uso de aparelhos ortodônticos que criam nichos de retenção de difícil higienização, favorece a acumulação de biofilme e aumenta o risco de progressão das lesões (Munteanu et al., 2022).

Adicionalmente, a quantidade e a qualidade insuficiente da saliva reduzem a proteção contra os ácidos e aumentam o risco de cárie (Butera et al., 2022). Os dentes decíduos são também mais vulneráveis devido à menor espessura do esmalte, à sua maior microporosidade e à presença de áreas hipomineralizadas (Assurance Maladie, 2025; Bagdasarova et al., 2024).

Os fatores socioeconômicos desempenham igualmente um papel importante, uma vez que crianças provenientes de famílias com baixo nível de escolaridade ou em situação de vulnerabilidade econômica apresentam maior prevalência de cárie devido ao acesso limitado a recursos de higiene, a cuidados dentários e a uma alimentação equilibrada (Butera et al., 2022). Para além destes fatores ambientais, a predisposição genética pode explicar até 65 % da variabilidade individual no risco de cárie, refletindo diferenças hereditárias na resposta ao ambiente cariogénico (Cogulu & Saglam, 2022; Zhu et al., 2023).

No âmbito das estratégias adicionais de prevenção (Figura 5), destaca-se a utilização de adoçantes não cariogénicos, como o xilitol, que apresenta propriedades anticariogénicas (Rathee & Sapra, 2023). Outras medidas incluem a utilização de colutórios à base de clorhexidina, selantes de fissura com polímeros adesivos, fluoreto de diamina ou controlo mecânico do biofilme pelo profissional de saúde (Siddiqui, 2022; Motallaei et al., 2021).

Finalmente, diversos protocolos de avaliação do risco de cárie, como o *Caries Management by Risk Assessment* (CAMBRA), integram fatores preventivos, fatores de risco biológicos e ambientais, indicadores da doença e observações clínicas, permitindo conceber a cárie dentária como uma balança cariogénica e promovendo mudanças personalizadas, sobretudo através da modificação dos comportamentos e estilos de vida (Featherstone et al., 2021). A educação para a saúde oral, incluindo a educação dos pais, é igualmente crucial, seja no incentivo da escovagem dentária diária, de uma alimentação saudável ou do uso adequado de flúor (Siddiqui, 2022; Stein et al., 2018).

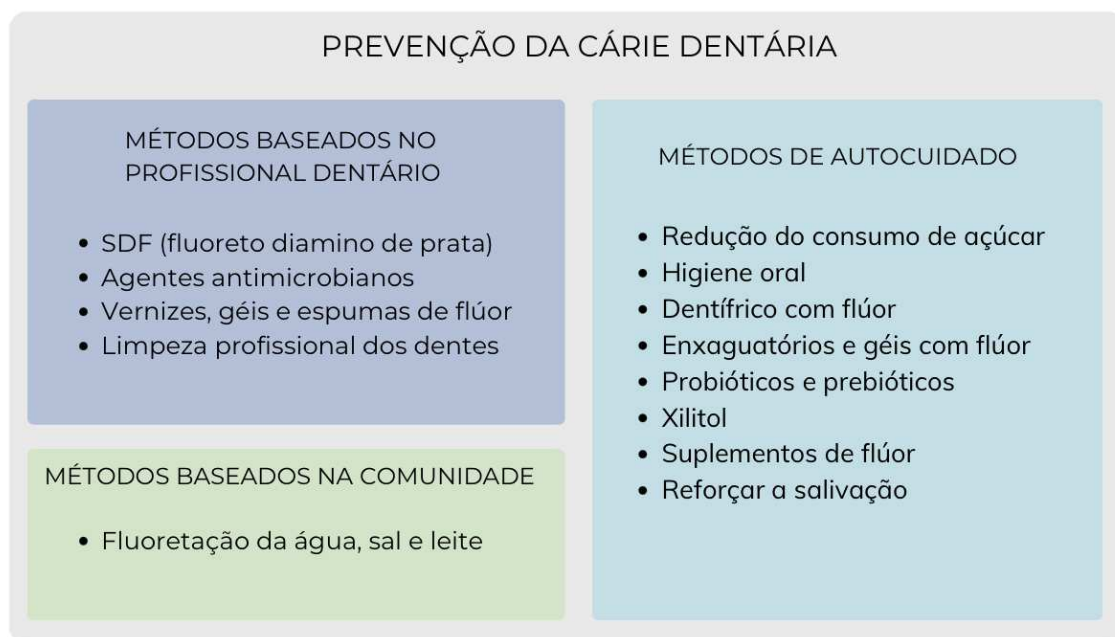


Figura 5: Estratégias de prevenção da cárie dentária, figura adaptada do artigo (Motallaei et al., 2021).

1.1.3. Diagnóstico e tratamento da cárie dentária

Quando as medidas preventivas se revelam insuficientes, torna-se necessário recorrer a terapias intervencionistas (Beattie, 2024). Neste contexto, a deteção precoce, a avaliação clínica e o diagnóstico da cárie dentária assumem um papel essencial (Mohanraj et al., 2016), permitindo identificar lesões iniciais, determinar a sua atividade e estimar o risco individual do desenvolvimento de cárie dentária (Rathee & Sapra, 2023). O diagnóstico baseia-se predominantemente num exame clínico visual e táctil realizado pelo profissional, frequentemente complementado por radiografias e por métodos auxiliares

de detecção, como a fluorescência, a transiluminação, a tomografia de coerência ótica ou a medição da condutividade elétrica (Walsh et al., 2022).

A necessidade de sistemas padronizados e sensíveis para a avaliação da cárie dentária levou ao desenvolvimento do ICDAS, um método de classificação visual e visual-táctil amplamente utilizado na prática clínica e na investigação (Walsh et al., 2022). Este sistema baseia-se na observação direta das lesões em diferentes estágios de evolução, permitindo uma análise detalhada da sua progressão (Figura 6) (Armas-Vega & Parise-Vasco, 2021).

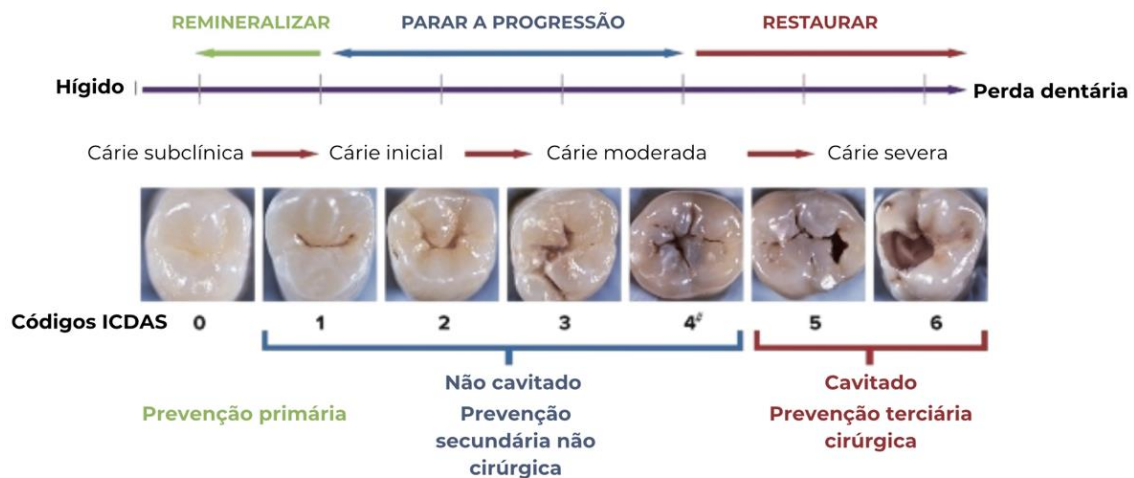


Figura 6: Progressão das lesões de cárie segundo os códigos ICDAS (0 a 6), desde o dente saudável até à cárie severa. As estratégias de intervenção variam consoante o estágio: prevenção primária (remineralização) para lesões iniciais, prevenção secundária não cirúrgica para lesões não cavitadas (códigos 1-4) e tratamento cirúrgico (prevenção terciária) para lesões cavitadas (códigos 5-6), adaptado de FDI World Dental Federation, (2017).

O ICDAS foi criado em 2002 para padronizar o diagnóstico da cárie dentária e para facilitar o estudo epidemiológico da cárie e a gestão clínica apropriada (N. Pitts, 2016). A observação deve ser realizada sobre os dentes limpos e secos, idealmente após cinco segundos da aplicação de ar comprimido, permitindo uma melhor visualização de certas lesões, como as *White Spot Lesions* (WSL) (N. Pitts, 2016), estágio inicial do desenvolvimento da cárie dentária (Lopes et al., 2024).

A coroa dentária é dividida em cinco superfícies: mesial, distal, palatina, vestibular e oclusal, sendo que a cada uma é atribuído um código composto por dois números, dos quais o primeiro caracteriza o estado de cada superfície dentária consoante

a presença ou ausência de restaurações e a sua condição, e o segundo caracteriza a progressão da cárie dentária (Tabela 1) (Armas-Vega & Parise-Vasco, 2021).

Tabela 1: Tabela de classificação do ICDAS (Armas-Vega & Parise-Vasco, 2021).

1º Código – Restaurações e selantes	2º Código – Cárie dentária	Dentes ausentes
0 = Sem restauração/selante	0 = Superfície dentária sã	96 = Visibilidade dificultada
1 = Com selante parcial	1 = Alteração primária do esmalte, visível	97 = Extraído por cárie
2 = Com selante total	2 = Alteração distinta do esmalte, visível	98 = Ausente por outro motivo
3 = Restauração de cor dentária	3 = Fratura do esmalte, sem dentina visível	99 = Não erupcionado
4 = Restauração amalgama	4 = Alteração/sombra dentina, sem cavidade na dentina	P = Implante
5 = Coroa aço inoxidável	5 = Cavidade com dentina visível	
6 = Coroas/faceta cerâmica, ouro, MC	6 = Cavidade extensa com dentina visível	
7 = Perda/fratura restauração		
8 = Restauração provisória		

A estratégia terapêutica para o tratamento das lesões de cárie depende diretamente do estágio de progressão da doença (lesões ativas, não cavitadas ou cavitadas) (Dhar et al., 2023). Quando as lesões são acessíveis à higienização, pode optar em abordagens não invasivas, promovendo remineralização, no controlo do biofilme e no selamento, no caso de lesões iniciais manchas brancas ou interproximais (Rathee & Sapra, 2023; Yu et al., 2021). Enquanto nas lesões cavitadas e ativas exigem abordagens invasivas para travar a progressão da cárie dentária, proteger a polpa e restabelecer a função e a estética dentária (Cheng et al., 2022).

O tratamento também varia conforme a classificação ICDAS: em lesões moderadas (3–4), privilegia-se a remoção seletiva da dentina cariada até à dentina sã, enquanto em lesões profundas (5–6) o objetivo é preservar a vitalidade pulpar, removendo apenas a dentina cariada (Cheng et al., 2022; Schwendicke et al., 2016). A escolha dos materiais restauradores, aplicados de forma direta ou indireta, dependem da localização da lesão e do dente, incluindo as resinas compostas (nano ou híbridas), os cimentos de ionómero de vidro (convencionais ou modificados por resina), a amálgama e as coroas pré-formadas (metálicas ou cerâmicas), frequentemente utilizadas em odontopediatria (Dhar et al., 2023).

Perante as limitações dos métodos clássicos de prevenção da cárie, focados no controlo do biofilme e promover o processo de remineralização do esmalte, e tendo em conta o papel fundamental de uma microbiota oral saudável, a administração de probióticos surge como uma nova estratégia promissora para promover um ecossistema oral protetor contra a cárie (Philip et al., 2018).

1.2. Os Probióticos

1.2.1. Definição e história dos probióticos

Introduzido por Lilly e Stillwell, o termo “probiótico” combina o latim “pro”, que significa “a favor de”, e o “biótico”, que significa “vida” (Parichat & Pongsak, 2023; Sarita et al., 2025). A definição consensual atualmente utilizada foi proposta em 2001 pela OMS, definindo os probióticos como “microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem um benefício à saúde do hospedeiro” (Beattie, 2024). Incluem principalmente bactérias, mas também leveduras presentes em alguns alimentos fermentados, suplementos alimentares ou adicionados a determinados produtos (National Institutes of Health Office of Dietary Supplements, 2025).

Embora os potenciais benefícios dos probióticos para a saúde oral tenham recentemente despertado um interesse crescente no meio científico (Chugh et al., 2020), a utilização de microrganismos teve origem na Antiguidade, período desde o qual produtos fermentados de diferentes tipos têm sido usados como potenciais agentes probióticos (Zommiti et al., 2020). A origem do conceito de probióticos é atribuída ao bacteriologista Elie Metchnikoff, que em 1907 observou que determinadas bactérias não patogénicas, presentes em produtos fermentados, podiam exercer efeitos benéficos sobre a saúde intestinal (Amargianitakis et al., 2021; Twetman & Stecksén-Blicks, 2008; World Gastroenterology Organisation Global Guidelines Probiotics and Prebiotics, 2023).

A utilização dos probióticos foi, posteriormente, progressivamente democratizada, começando pela área da saúde gastrointestinal (Beattie, 2024), nomeadamente no tratamento da diarreia infecciosa aguda, da síndrome do intestino

irritável, da infecção por *Helicobacter pylori* e da intolerância à lactose, entre outras condições (Gungor et al., 2015).

Mais recentemente, a área dos probióticos estendeu-se à medicina dentária (Gungor et al., 2015), com a primeira aplicação realizada em 1994 por Meurman, que demonstrou que a ingestão de um iogurte contendo a estirpe probiótica *Lactobacillus* GG permitia a sua colonização da cavidade oral (Meurman et al., 1994).

Desde então, os probióticos têm sido integrados na medicina dentária, na prevenção da candidíase oral (da hipossialia e da xerostomia), no tratamento das doenças periodontais (pela diminuição da inflamação gengival, da placa dentária e do número de *S. mutans*), bem como na redução da halitose e na restauração da homeostase oral, através de uma terapia de substituição bacteriana direcionada à eliminação de patógenos específicos (Reddy et al., 2011). Considerando que a cárie dentária resulta, entre outros fatores, de um desequilíbrio do microbiota oral, a investigação tem-se igualmente centrado na utilização de probióticos como estratégia de prevenção da cárie (Luo et al., 2024; Reddy et al., 2011).

1.2.2. Prebióticos, simbióticos e alimentos fermentados

Por definição, um prebiótico é um substrato que é seletivamente utilizado pelos microrganismos hospedeiros (Gibson et al., 2017), capaz de estimular o crescimento e/ou a atividade dos probióticos (Daliri & Lee, 2015). Trata-se de ingredientes alimentares não digeríveis, incluindo principalmente a inulina, os frutooligossacarídeos e os galactooligossacarídeos (Anusha et al., 2015).

A partir desta interação surge o conceito de simbiótico, definido como a combinação de probióticos e prebióticos, podendo assumir uma forma complementar, quando cada um exerce um efeito benéfico distinto, ou uma forma sinérgica, quando o prebiótico é especificamente destinado a potenciar a ação do probiótico associado (Kumar Yadav et al., 2022).

Em paralelo, importa distinguir os alimentos e bebidas fermentados, definidos como produtos obtidos através da ação controlada e intencional de microrganismos ou pela modificação enzimática dos seus componentes (Marco et al., 2021). Para que um alimento seja considerado probiótico, deve conter microrganismos vivos bem caracterizados, cujos efeitos benéficos para a saúde tenham sido cientificamente comprovados, o que significa que nem todos os alimentos fermentados podem ser classificados como probióticos, embora alguns efetivamente os contenham (Ibrahim et al., 2023).

1.2.3. Funcionamento dos probióticos

Embora nem todos os mecanismos de ação dos probióticos estejam totalmente esclarecidos, vários têm sido propostos na literatura (Amargianitakis et al., 2021). Uma estirpe probiótica eficaz pode colonizar o hospedeiro e deslocar patogénicos já presentes (Abikshyeet et al., 2022). Pode também reforçar as defesas do hospedeiro, influenciando o sistema imunitário inespecífico e modulando recetores envolvidos nas respostas humorais e celulares, como os recetores Toll (Amargianitakis et al., 2021; Bonifait et al., 2009; Daliri & Lee, 2015). Outro mecanismo importante é a inibição direta ou indireta de patogénicos, através da produção de ácidos gordos de cadeia curta, ácidos orgânicos, peróxido de hidrogénio, acetaldeído, acetoinas, diacetil e bacteriocinas de amplo espetro (Amargianitakis et al., 2021; Daliri & Lee, 2015; Kumar Yadav et al., 2022). As bacteriocinas correspondem a péptidos antimicrobianos sintetizados por diversas bactérias com o objetivo de eliminar competidores microbianos (Dillman et al., 2021). Os probióticos podem ainda competir com os patogénicos, bloqueando locais de adesão e disputando nutrientes (Kumar Yadav et al., 2022). Finalmente, ao modificar fatores como o pH ou o potencial de oxirredução, alteram o ambiente oral, tornando-o menos favorável ao crescimento de microrganismos patogénicos (Bonifait et al., 2009).

1.2.4. Os probióticos de uso oral

Os probióticos têm sido aplicados na saúde oral pela sua capacidade de modular a microbiota e inibir o desenvolvimento de bactérias associadas à periodontite e à cárie dentária (Mishra et al., 2020). Diferenciam-se dos probióticos intestinais pela adaptação evolutiva ao ambiente oral, que lhes confere maior resistência à acidez, melhor adesão às superfícies orais e integração eficiente no biofilme (Tagg et al., 2023). As estirpes ideais para uso oral produzem pouco ácido, conseguem substituir patogênicos orais e exercem efeitos indiretos relevantes, como a estimulação da resposta imunitária do hospedeiro e a regulação da permeabilidade mucosa (Abikshyeet et al., 2022; Gungor et al., 2015). Este efeito imunomodulador traduz-se, entre outros mecanismos, no aumento da produção de IgA secretora e na indução de linfócitos T reguladores; algumas estirpes de *Lactobacillus* são ainda capazes de modular citocinas pró-inflamatórias, como o fator de necrose tumoral e a interleucina 12 (Słotwińska et al., 2020).

Para além disso, certos probióticos contribuem para a homeostase local através da libertação de enzimas específicas, como a urease, que neutraliza a acidogénese, e a dextranase, que reduz a acumulação de placa dentária (Tagg et al., 2023). Outro mecanismo fundamental é a produção de bacteriocinas e moléculas relacionadas, que exercem uma ação antimicrobiana direta e favorecem o equilíbrio da microbiota oral (Anjana & Tiwari, 2022; Tagg et al., 2023).

Lactobacillus e Bifidobacterium

No âmbito da saúde oral, os géneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são os probióticos mais frequentemente estudados (Yadav et al., 2015). O género *Lactobacillus* integra as bactérias ácido-lácticas, constituídas por microrganismos Gram-positivo, não patogênicos e não produtores de toxinas, que fermentam hidratos de carbono com produção de ácido láctico, desempenhando um papel central na fermentação dos alimentos (World Gastroenterology Organisation Global Guidelines Probiotics and Prebiotics, 2023). As suas colónias distinguem-se pela elevada resistência e estabilidade, conferidas por componentes estruturais da parede celular, como polissacarídeos capsulares, ácidos gordos, proteínas (lipoteicoicos, lipoproteínas e proteínas de

superfície) e ácidos teicoicos, responsáveis pela hidrofobicidade bacteriana e pela forte capacidade de aglomeração (Słotwińska et al., 2020).

Lactobacillus reuteri (*L. reuteri*), naturalmente presente em plantas e alimentos fermentados como queijo e iogurte, consegue colonizar a cavidade oral, as superfícies dentárias, as gengivas e os tecidos periodontais, o que o torna um microrganismo relevante para a saúde oral, sobretudo na prevenção e controlo de patologias associadas ao desequilíbrio do microbiota oral (Liu et al., 2024). Uma das características do *L. reuteri* é a sua capacidade de produzir compostos antimicrobianos, nomeadamente a reuterina, que gera stress oxidativo, e a reuterociclina, que perturba o gradiente de pH através da membrana das células-alvo (Amargianitakis et al., 2021). *L. reuteri* forma um biofilme estável que impede a adesão de patogénicos e demonstrou reduzir a concentração de *S. mutans* na saliva ao inibir a formação e a atividade do biofilme dentário, sendo por isso considerado uma abordagem promissora na prevenção e tratamento da cárie dentária (Liu et al., 2024).

Lactobacillus salivarius (*L. salivarius*) produz bacteriocinas, como as salivaricinas, ativas contra *S. mutans* e *Streptococcus pyogenes*, e a sua administração em comprimidos demonstrou aumentar a capacidade tampão da saliva, sugerindo um efeito protetor contra a cárie dentária (Gul & Durante-Mangoni, 2024).

Lactobacillus rhamnosus (*L. rhamnosus*) apresenta propriedades antimicrobianas de largo espectro e capacidade de adesão às superfícies orais (Amargianitakis et al., 2021). Estudos demonstraram a sua integração nos biofilmes, onde pode reduzir a adesão de *S. mutans*, modular *Candida albicans* e enfraquecer *Streptococcus sanguinis* e *Fusobacterium nucleatum*, mantendo-se detetável na cavidade oral após a administração durante pelo menos duas semanas (Jiang et al., 2016).

O género *Bifidobacterium*, predominante na microbiota intestinal, também tem sido estudado pela sua atividade antimicrobiana e efeitos imunomoduladores, nomeadamente através da produção de bifidocina (Gul & Durante-Mangoni, 2024; Pyclik et al., 2020). No entanto, os resultados relativamente à saúde oral permanecem inconclusivos, já que alguns estudos relatam uma redução de *S. mutans* (Fleishman,

2023), enquanto meta-análises apontam para falta de evidência robusta e sublinham a necessidade de mais ensaios clínicos (Beattie, 2024).

Tendo em conta a diversidade funcional das estirpes, a associação de diferentes probióticos surge como uma estratégia promissora para potenciar efeitos benéficos na saúde oral, mas a sua eficácia requer ainda validação clínica rigorosa e adaptada (Hmar et al., 2023).

1.2.5. *Vias de administração*

Os probióticos são geralmente administrados através de quatro categorias: bebidas e alimentos, fibras prebióticas, produtos lácteos e em formas secas (em pó, cápsulas ou comprimidos de gelatina) (Anusha et al., 2015). No entanto, quando introduzidas em forma planctónica, as células probióticas enfrentam dificuldades em integrar-se numa comunidade microbiana já estabelecida no hospedeiro humano (Tagg et al., 2023). Por esse motivo, requerem técnicas de proteção, como o revestimento ou a encapsulação, que asseguram a sua sobrevivência e a libertação ativa no local de ação (Salas-Jara et al., 2016). Estas estratégias têm sido aplicadas em formulações como pastilhas e colutórios, permitindo uma libertação progressiva e prolongando a atividade benéfica dos microrganismos na cavidade oral (Mishra et al., 2020).

1.2.6. *Legislação e dose*

A legislação relativamente a produção de probióticos não é consensual a nível mundial e difere entre países (Sanders et al., 2018). De acordo com o critério estabelecido pela *Food and Agriculture Organization* (FAO) e pela OMS, com apoio da *International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics* (ISAPP), um microrganismo só pode ser considerado probiótico se tiver identificação taxonómica clara ao nível do género, espécie e subespécie, com um identificador alfanumérico. (Binda et al., 2020; *World Gastroenterology Organisation Global Guidelines Probiotics and Prebiotics*, 2023). A segurança de um probiótico deve ser assegurada pela demonstração da ausência de genes de resistência a antibióticos adquiridos e de fatores de virulência, sendo que a Autoridade

Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA) definiu uma lista de espécies classificadas como presumivelmente seguras para consumo humano (Binda et al., 2020).

Para além de um benefício clínico demonstrado, cuja eficácia só pode ser confirmada através de ensaios clínicos em humanos com a formulação final do probiótico, os efeitos positivos devem ultrapassar os resultados obtidos apenas em testes *in vitro* (Grumet et al., 2020). No mínimo, é necessário que um estudo científico rigoroso que comprove um impacto benéfico na saúde e, adicionalmente, que o probiótico apresente viabilidade assegurada, ou seja, que se mantenha vivo e em quantidade suficiente durante todo o período de conservação (Binda et al., 2020). No que se refere à quantidade, para que um alimento seja considerado probiótico, deve conter pelo menos 10^6 Unidades Formadoras de Colónias (UFC) de microrganismos viáveis, sendo recomendada uma ingestão diária entre 10^7 e 10^9 UFC para humanos (Gul & Durante-Mangoni, 2024).

1.2.7. Efeitos adversos e limites dos probióticos

Apesar dos benefícios reconhecidos, os probióticos podem apresentar riscos relevantes em indivíduos vulneráveis ou com doenças pré-existentes (Liu et al., 2024), como recém-nascidos, indivíduos em unidades de cuidados intensivos e pessoas imunodeprimidas (Sanders et al., 2016). Nestes casos, a administração de probióticos pode aumentar o risco de infeções oportunistas e favorecer o desenvolvimento de resistência aos antibióticos (Mishra et al., 2020). Além disso, o uso inadequado, nomeadamente a ingestão excessiva de estirpes como *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, pode estar associado a um maior risco de cárie dentária (Fleishman, 2023). De forma geral, a ingestão excessiva de probiótico pode originar efeitos adversos gastrointestinais, como distensão abdominal, flatulência ou diarreia (Sarita et al., 2025).

A eficácia clínica dos probióticos depende da presença de uma quantidade suficiente de microrganismos viáveis, mas esta é frequentemente limitada pela dificuldade em garantir a sua sobrevivência e uma libertação controlada, capaz de resistir a variações de pH, temperatura e outras condições ambientais (Liu et al., 2024). No âmbito da saúde oral, embora algumas estirpes, como *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, sejam consideradas seguras, a evidência científica disponível não é ainda conclusiva,

sendo esta lacuna agravada pela ausência de regulamentação padronizada e pela escassez de informação consistentes (Beattie, 2024).

Por fim, a adoção alargada dos probióticos na medicina dentária preventiva exige uma avaliação cuidadosa dos riscos em populações vulneráveis e reforça a importância da orientação profissional para garantir recomendações personalizadas (Liu et al., 2024). Paralelamente, a sua implementação generalizada requer investigações mais aprofundadas que permitam esclarecer os impactos clínicos, sociais e económicos a longo prazo (Beattie, 2024). Tendo em conta estas considerações, desenvolveu-se a presente investigação com o intuito de explorar o papel dos probióticos na saúde oral no contexto pediátrico.

1.3. Objetivos de estudo

Os objetivos do estudo são:

- Determinar o efeito dos probióticos na cárie dentária;
- Determinar o efeito dos probióticos na capacidade tampão e no pH da saliva;
- Determinar o efeito dos probióticos nas bactérias *S. mutans*;

1.4. Hipóteses de estudo

As hipóteses de estudo são:

- H0₁: O tratamento experimental com probióticos não apresenta diferenças significativas no IG, IP e ICDAS observado;
- H1₁: O tratamento experimental com probióticos apresenta diferenças significativas no IG, IP e ICDAS observado;
- H0₂: O tratamento experimental com probióticos não tem efeito no pH e na capacidade tampão da saliva;
- H1₂: O tratamento experimental com probióticos tem efeito no pH e na capacidade tampão da saliva;

- H0₃: O tratamento experimental com probióticos não apresenta diferenças significativas no controlo das bactérias *S. mutans* na saliva;
- H1₃: O tratamento experimental com probióticos apresenta diferenças significativas no controlo das bactérias *S. mutans* na saliva;

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Pesquisa bibliográfica

Foi efetuada uma pesquisa bibliográfica de artigos disponíveis em motores de busca, tais como, Pub-Med, B-on, Scielo e Google Scholar, como também em repositórios universitários, livros e bibliotecas.

2.2. Considerações éticas

A proposta de tese de mestrado foi submetida a análise pela Comissão Científica do Instituto Universitário Egas Moniz, tendo obtido aprovação (PT-566/24). Posteriormente, foi submetida à apreciação por parte da Comissão de Ética do Instituto Universitário Egas Moniz, que emitiu um parecer favorável. A Associação Padre Amadeu Pinto autorizou a realização deste estudo nas suas instalações. Todos os indivíduos assinaram o consentimento informado que foi entregue aos encarregados de educação, detalhando os objetivos do estudo, bem como os benefícios e riscos associados. A participação neste estudo foi completamente livre e voluntária, garantindo-se o anonimato e a confidencialidade de todos os indivíduos.

2.3. Tipo de estudo

Trata-se de um estudo exploratório randomizado com dois grupos, no qual os indivíduos são distribuídos aleatoriamente para receber um tratamento (probióticos) ou um placebo (pastilha com stevia), permitindo a comparação dos efeitos de ambos os tratamentos ao longo de um período determinado (Institute for Quality and Efficiency in Health Care, 2020).

Este estudo foi conduzido em *double blind* para evitar que os investigadores tratassem os grupos de forma desigual e para reduzir o risco de diferentes tipos de vieses que poderiam influenciar os resultados da investigação (David & Khandhar, 2023).

Este estudo foi realizado no Centro Juvenil e Comunitário Padre Amadeu Pinto, localizada na Rua do Lago 1, R/C 2825-004, Caparica, Almada. Para tal, foi disponibilizada uma sala no interior do centro para a aplicação de questionários, observação intra-oral e recolha de saliva.

As análises laboratoriais e microbiológicas deste estudo foram realizadas no Laboratório de Microbiologia do Centro de Investigação Interdisciplinar Egas Moniz (CiiEM) do Instituto Universitário Egas Moniz (IUEM), situado no Campus Universitário Egas Moniz – Cooperativa de Ensino Superior, CRL, Quinta da Granja, Monte de Caparica, 2829-511 Caparica, Portugal.

2.4. Seleção da amostra

O estudo foi realizado com indivíduos entre os 6 e os 14 anos que frequentaram o Centro Juvenil e Comunitário Padre Amadeu Pinto entre os meses de abril e junho do ano 2025. A amostra foi composta, por conveniência, por 40 indivíduos, que foram posteriormente distribuídas aleatoriamente em dois grupos: um Grupo de Controlo (GC), com administração de placebo, e um Grupo Experimental (GE), com administração de probiótico (Figura 7).

Foi requerida a cada indivíduo a adesão a um protocolo estruturado em seis etapas (atividades), visualmente apresentadas por meio de um fluxograma (Figura 8). Em ambos os momentos de recolha de informação e de amostras, primeiro efetuavam-se os questionários, seguido da observação clínica da cavidade oral com recurso a sonda periodontal e espelho, a fim de avaliar o Índice de Placa (IP), o Índice Gengival (IG) e o sistema ICDAS.

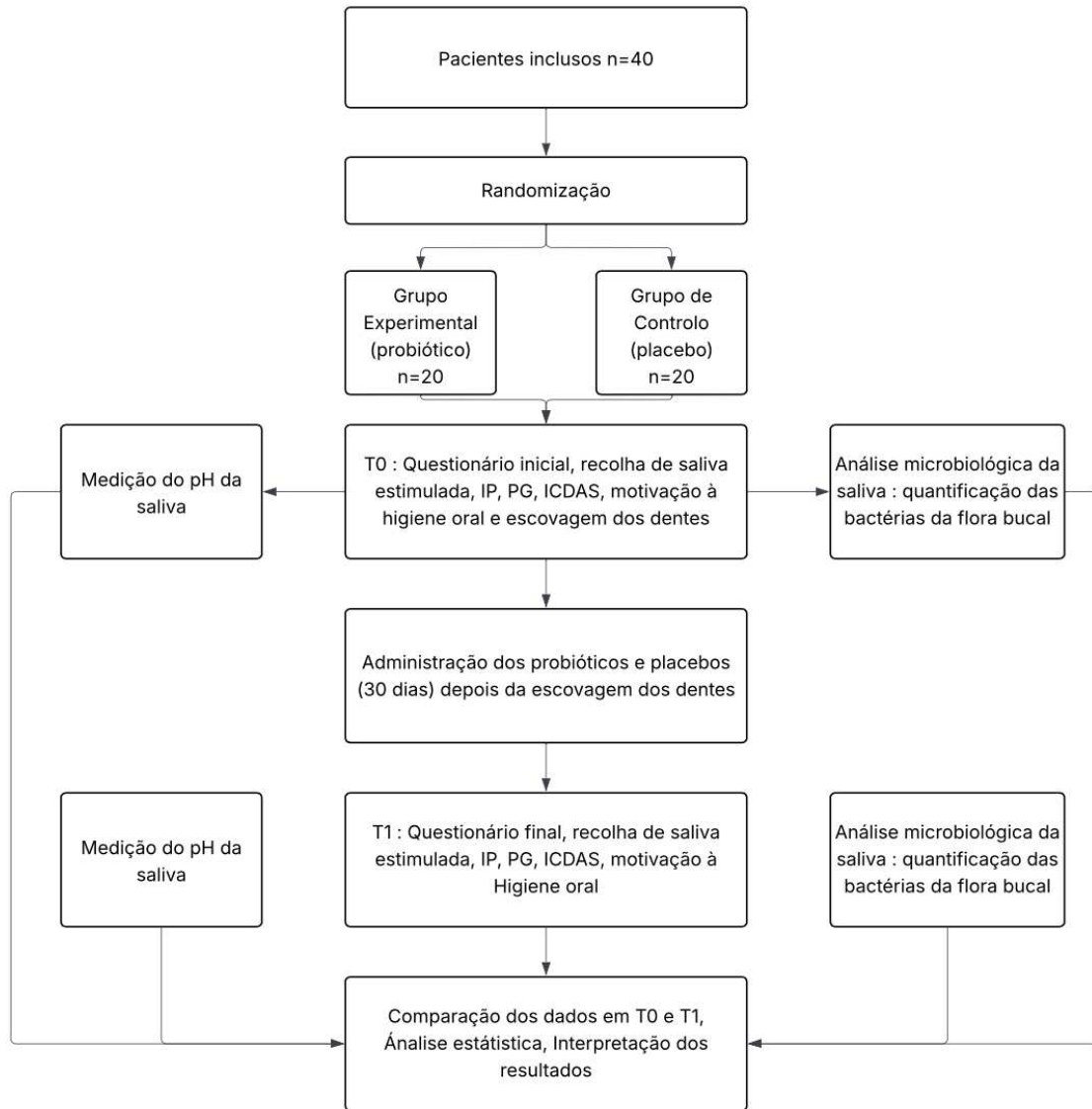


Figura 7: Fluxograma do estudo.

Após esta avaliação, foi concedido um intervalo para lanche. Posteriormente, realizou-se uma sessão de motivação para a higiene oral, imediatamente seguida da escovagem supervisionada dos dentes. A última etapa do circuito, só durante a consulta inicial, consistiu na administração de um comprimido, que podia corresponder a um placebo ou a um probiótico. O tempo médio estimado para a conclusão de todo o circuito foi de 20 minutos por indivíduo.

Nos 29 dias subsequentes, a administração diária dos comprimidos (placebo ou probiótico) foi assegurada pelos responsáveis do centro, após a escovagem dentária, com

base numa lista de distribuição por grupo. Paralelamente, foi realizada uma monitorização contínua de possíveis efeitos adversos.

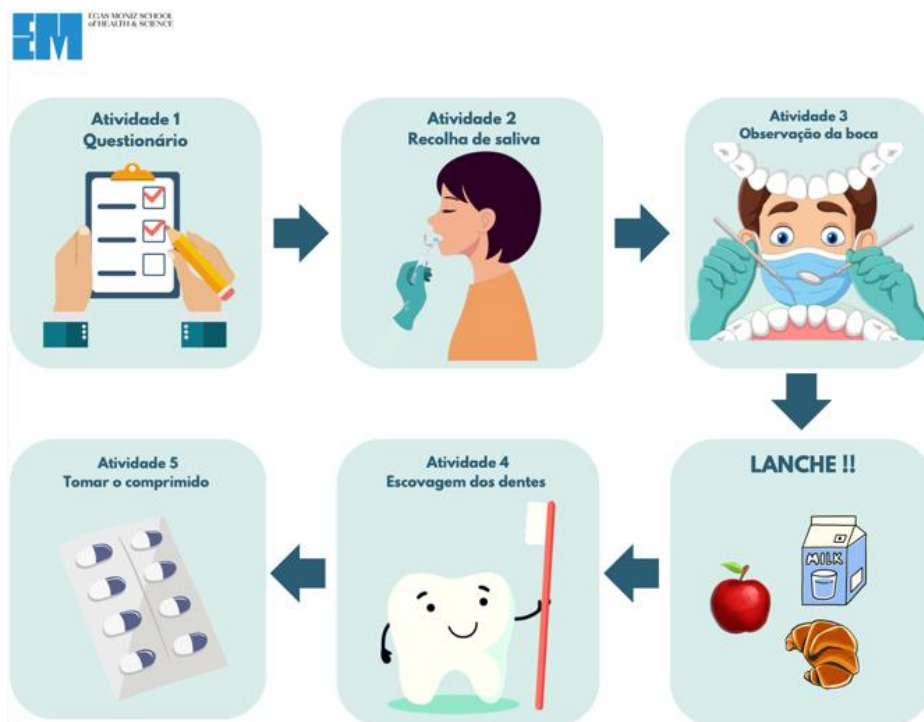


Figura 8: Fluxograma das atividades desenvolvidas no âmbito do estudo, que incluem a aplicação de questionários, a recolha de saliva, a observação da cavidade oral, a escovagem dentária e a administração de um comprimido, intercaladas por um lanche.

2.5. Critérios de inclusão e exclusão

Os indivíduos que integraram o estudo foram submetidos a critérios de inclusão e de exclusão, sintetizados na tabela 2:

Tabela 2 : Critérios de seleção da amostra - inclusão e exclusão.

Critérios de Inclusão	Critérios de Exclusão
<ul style="list-style-type: none"> - Ter entre 6 e 14 anos - Frequentar o Centro Juvenil e Comunitário Amadeu Pinto - Ter o consentimento informado assinado pelos pais ou responsáveis legais 	<ul style="list-style-type: none"> - Ter alergia/as ao/aos componente/es do probiótico - Uso recente de probióticos ou antibióticos nos 30 dias anteriores ao estudo - Uso de antibióticos sistémicos, corticosteroides e antissépticos orais nas 4 últimas semanas - Apresentar doenças sistémicas - Não consentiram a sua participação

2.6. Recolha da amostra

Neste estudo, optou-se pela utilização de uma amostra de saliva estimulada. A saliva estimulada origina-se predominantemente da glândula parótida, como resposta a diversos estímulos desempenhado um papel crucial na eliminação de ácidos provenientes da dieta, da placa bacteriana ou de fontes endógenas. A capacidade tampão da saliva estimulada é principalmente determinada pelo bicarbonato e pelos iões fosfato, sendo os níveis de bicarbonato cerca de 60 vezes superiores na saliva estimulada, em comparação com a saliva não estimulada (GC Australasia Dental, 2019; Kitasako et al., 2005). Foi realizada a recolha de saliva estimulada seguindo o protocolo de determinação de saliva estimulada mecanicamente (Anexo 6).

2.7. Materiais utilizados

O material utilizado para a aplicação dos questionários consistiu em computadores com acesso ao *Google Forms*, recorrendo-se a uma escala com *emojis* animados para avaliar o estado dos dentes, das gengivas e a dor (Figura 9). Esta escala demonstrou ser a mais adequada para a avaliação da dor em crianças, por se revelar mais fácil de compreender e a preferida pelas próprias crianças, em comparação com outras escalas convencionais.

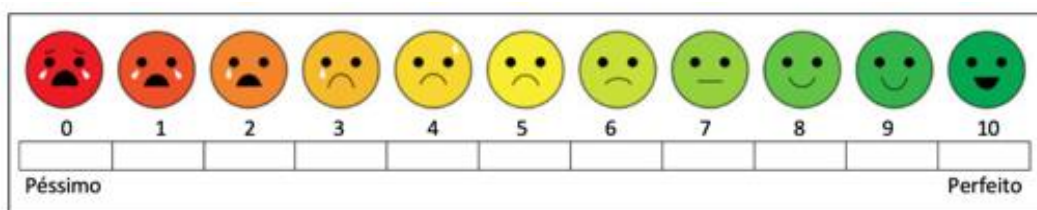


Figura 9: Escala com emojis animados variando de 0 (Péssimo) a 10 (Perfeito), representada por diferentes expressões faciais e cores graduais.

Para a recolha de saliva, foi utilizado um conjunto de materiais composto por tubos de recolha (Falcon 50 mL) identificados pelos números dos indivíduos, babetes descartáveis, rolos de algodão estéreis, copos descartáveis, papel higiénico, uma caixa

térmica com gelo e um suporte para os tubos, bem como máscaras e luvas destinadas ao examinador (Figura 10).



Figura 10 : Fotografia do material usado para a recolha de saliva estimulada no Centro Social e Paroquial Amadeu Pinto.

O material utilizado para recolha de dados para o estudo dos Índices IP, IG e ICDAS foi uma sonda periodontal, compressas esterilizadas, luvas e máscaras (Figura 11), sendo todos substituídos após a observação de cada indivíduo. Foi também utilizada uma lanterna colocada na cabeça do observador para melhor visualização, ambos desinfetados com álcool a 70% após cada observação. As superfícies como as mesas e cadeiras foram desinfetadas com um desinfetante de superfície entre cada indivíduo.



Figura 11: Fotografia do material usado para a aplicação do IP IG e ICDAS no Centro Social e Paroquial Amadeu Pinto.

Todos os indivíduos receberam uma escova de dentes e uma pasta dentífrica, ambas devidamente identificadas com o respetivo nome.

2.8. Produtos utilizados

2.8.1. Descrição do probiótico

Teoliance[®] Oral é um suplemento alimentar com edulcorantes, apresentado sob a forma de comprimido para dissolução oral, pertencente à gama oral do Laboratório Thérascience (França) (Figura 12), que cedeu os produtos necessários à realização deste estudo. Cada comprimido contém 2 mil milhões de UFC de quatro estirpes probióticas, microencapsuladas individualmente: *L. reuteri* LR92, *L. salivarius* SP2, *L. rhamnosus* GG e *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* BS01. De acordo com o fabricante, a eficácia destas estirpes encontra-se clinicamente comprovada.

Essas estirpes são combinadas com 80 mg de fibras prebióticas compostas por 50 mg de frutooligosacarídeos e 30 mg de inulina, além de cálcio, vitamina C e vitamina D3 (colecalfiferol), todos com uma composição de 15% da ingestão de referência, microencapsulados individualmente.

Para além dos ingredientes acima referidos, Teoliance[®] oral contém igualmente edulcorantes como o sorbitol e o glicosídeo de esteviol da Stevia, carbonato de cálcio, estearato de magnésio (agente antiaglomerante) e aroma natural de morango.



Figura 12: Fotografia de Teoliance[®] oral na sua forma comercializada.

Teoliance® Oral possui 3 selos de qualidade:

Clean label: assegura fórmulas naturais, com ativos e excipientes sem corantes ou aromatizantes artificiais, sem aspartame, sem dióxido de titânio, sem Organismo Geneticamente Modificado, sem nanopartículas, não irradiado, sem sílica coloidal, sem conservantes, não testado em animais e fabricado na Europa.

Probio-protect: uma biotecnologia patenteada de microencapsulação individual das estirpes probióticas, permitindo a liberação dos ativos no intestino e garantindo eficácia e sinergia na ação.

Suvimine protect: a microencapsulação das vitaminas, que as protege de interações com as estirpes de probióticos.

O produto Teoliance® oral é comercializado em embalagens de 30 comprimidos. Recomenda-se a administração de 1 a 2 comprimidos após as refeições, de preferência após a escovagem dos dentes, durante um período mínimo de 15 dias, com possibilidade de renovação do tratamento se necessário. No entanto, o consumo excessivo pode ter efeitos laxantes. Além disso, os suplementos alimentares devem ser utilizados no âmbito de um estilo de vida saudável e não como substitutos de uma alimentação variada e equilibrada, sendo importante não exceder a dose diária recomendada e manter o produto fora do alcance das crianças.

2.8.2. Descrição do placebo

O placebo utilizado no presente estudo correspondeu ao produto Vitalp® TASTE Strawberry, pastilhas sem açúcar da marca Vitalp® (Suíça) (Figura 13), fornecido gratuitamente pela empresa para a realização do estudo. A sua composição inclui morangos (1,9%, provenientes de sumo concentrado), ácido málico, aroma natural, óleo vegetal de coco e concentrado de sumo de cenoura preta. As características nutricionais e de fabrico do produto incluem ser isento de açúcar, sem corantes artificiais, sem conservantes, com 100% de aromas naturais, sem glúten e sem lactose, sendo ainda adequado para veganos. O produto é comercializado em embalagens de 25g.



Figura 13: Fotografia de Vitalp® TASTE Strawberry na sua forma comercializada.

Este produto foi selecionado como placebo devido à ausência de efeito terapêutico associada à sua composição, bem como ao seu sabor a morango, semelhante ao do probiótico (Stanhope et al., 2023), embora a forma do placebo não seja idêntica à do probiótico.

2.9. Testes realizados

2.9.1. *Teste in vitro*

Os estudos *in vitro* permitem examinar as propriedades bioquímicas das bactérias probióticas e a sua interação com as bactérias orais. Ao estudar parâmetros como a inibição do crescimento de *S. mutans*, os testes *in vitro* permitem identificar as estirpes mais promissoras para a prevenção da cárie dentária (Twetman & Keller, 2012).

Foram realizados testes *in vitro* de sensibilidade com o objetivo de avaliar a eficácia do produto na inibição da bactéria *S. mutans*. Os testes em meio líquido, baseados na análise da turvação, não foram conclusivos devido à interferência provocada pelo pó do produto probiótico, que comprometeu as medições. Relativamente aos testes em meio sólido, foram utilizados 2 mL de saliva artificial, com o intuito de simular a saliva presente sob a língua de cada indivíduo. Um comprimido do probiótico Teoliance® oral foi então esmagado e dissolvido na saliva artificial durante 3 minutos em tubos de 50 mL,

sendo depois agitado com um agitador vórtex. Uma vez dissolvido o produto, os testes de sensibilidade foram realizados em meio sólido. Para o teste em meio sólido, bactérias *S. mutans* ATCC 25176, com crescimento *overnight* (de forma a se encontrarem na fase exponencial de crescimento), diluídas a uma turvação de 1 na escala de MacFarland (equivalente a uma concentração de 10^8 UFC/mL), foram inoculadas num meio Mueller Hinton. Discos contendo 15 μ L de saliva artificial com probióticos esmagados foram posteriormente depositados sobre este meio, e as caixas de Petri foram colocadas na estufa durante 48 horas a 37°C.

Foram realizados outros testes semelhantes com diferentes espécies de *Streptococcus*, nomeadamente *Streptococcus sanguinis* ATCC 10556, *Streptococcus anginosus* ATCC 10213, *Streptococcus mitis* ATCC 6249, *Streptococcus agalactiae* ATCC 13813, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 10015, *Streptococcus pyogenes* ATCC 12344, *Streptococcus bovis* ATCC 33311 e *Streptococcus salivarius*.

2.9.2. Análises de pH e avaliação da capacidade tampão da saliva

Neste estudo, foram medidos o pH e a capacidade tampão. O pH foi inventado em 1909 pelo bioquímico dinamarquês S.P.L. Sørensen, definindo-se como a concentração de iões de hidrogénio numa solução ou como a atividade destes iões numa solução. O pH é determinado através de um medidor de pH, permitindo quantificar o grau de acidez ou basicidade de uma solução numa escala de 0 a 14. Uma solução é considerada neutra quando apresenta um pH de 7, ácida quando o pH é inferior a 7 e básica quando é superior a 7 (Bardez, 2010; Tantray et al., 2023).

A capacidade tampão (Figura 14) é definida como a capacidade de um material resistir a alterações de pH (Sun et al., 2021). A capacidade tampão da saliva é crucial para manter um pH neutro na cavidade oral, desempenhado um papel importante na proteção do esmalte dentário contra a desmineralização (Uchida & Ovitt, 2022).

$$\beta = \frac{n}{\Delta pH}$$

β : capacidade tampão

n : número de moles de ácido ou base (adicionados à solução tampão) por litro da solução tampão

ΔpH : diferença entre o pH inicial da solução tampão e o pH após a adição

Figura 14 : Equação da Capacidade tampão (Chem Talk, n.d.)

As análises de pH e de capacidade tampão foram realizadas no próprio dia da recolha de saliva, após a última recolha. As amostras de saliva foram posteriormente transportadas para o laboratório do Instituto Egas Moniz (Figura 14).

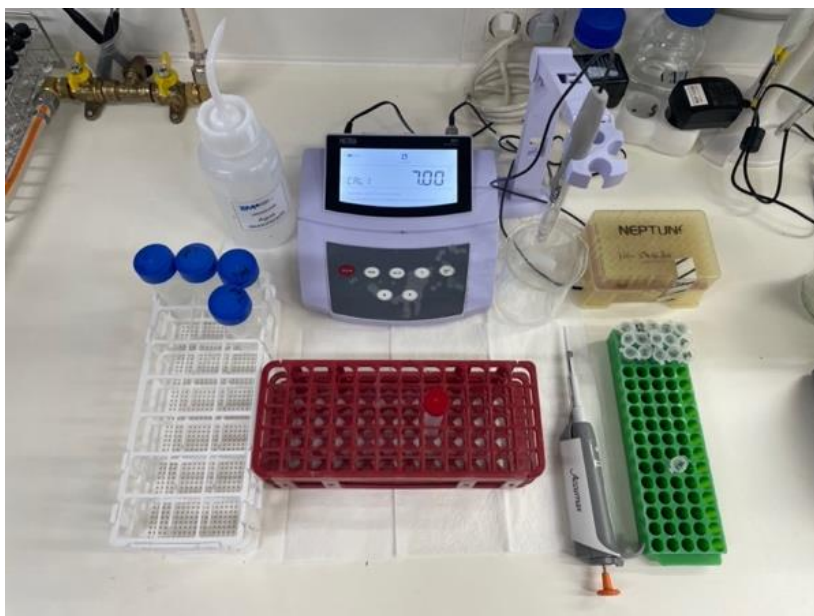


Figura 15: Instalação utilizada para a medição do pH e da capacidade tampão das amostras de saliva no laboratório C305-A. À esquerda, observam-se os tubos contendo as soluções tampão padrão; ao centro, o tubo com a amostra de saliva a ser analisada; à direita, os tubos com ácido clorídrico (HCl) 0,1 M, uma micropipeta de 20 μL com as respetivas pontas, o medidor de pH e água destilada.

Os tubos disponibilizados foram abertos sob uma câmara de fluxo laminar, devidamente preparada para esse fim. De cada tubo, foram retirados 100 μL para análises microbiológicas. De seguinte foi retirado 1 mL de saliva, o qual foi transferido para um tubo Falcon com 15 mL de capacidade, destinado à realização das análises laboratoriais de medição de pH e capacidade tampão. O pH foi determinado diretamente recorrendo a um potenciómetro equipado com um eléctrodo apropriado, imerso na amostra a analisar. O medidor de pH foi previamente calibrado no mesmo dia, utilizando soluções padrão

tampão de pH 4, 7 e 10. Antes de iniciar as medições de pH, foi igualmente calibrado um tampão padrão de pH 2, a fim de assegurar a máxima precisão possível. A precisão do medidor foi verificada a intervalos regulares para garantir a fiabilidade das leituras. Entre cada amostra, o eletrodo foi lavado com água destilada e cuidadosamente seco com papel absorvente entre medições. De seguida, foi medida a capacidade tampão através de uma titulação com ácido clorídrico (HCl). Nos tubos contendo 1 mL de saliva, foi adicionado HCl a 0,1 mol/L numa relação de 3:1, imediatamente após a medição do pH inicial. Realizou-se a titulação com um total de 320 µL de HCl 0,1 Mol, adicionados em incrementos de 20 µL nos tubos de saliva. Os valores de pH foram registados a cada incremento diretamente num ficheiro Excel, permitindo construir as curvas de titulação para cada indivíduo e determinar a capacidade tampão da saliva de cada um.

Todas as amostras foram comparadas após a adição de 80, 100 e 120 µL, estabelecendo um ponto de referência normalizado em que as diferenças na capacidade tampão se tornaram comparáveis entre os grupos. O artigo de Kitasako e colaboradores (Kitasako et al., 2005) serviu de base para o protocolo de medição de pH, mais recentemente mencionado no estudo de Villavicencio e colaboradores (Villavicencio et al., 2018). Por fim, a capacidade tampão de cada indivíduo foi calculada no intervalo entre 80 e 120 µL de HCl e posteriormente comparada entre a consulta inicial (T0) e a consulta final (T1).

2.9.3. Análises microbiológicas

As análises microbiológicas foram realizadas no mesmo dia da recolha das amostras sob câmara de fluxo laminar. De cada amostra de saliva recolhida aos indivíduos, foram efetuadas diluições decimais: foram retirados 100 µL, os quais foram adicionados a 900 µL de água destilada estéril (ADE) previamente preparados em microtubos de 1,5 mL, de forma a obter uma diluição de 1:10. Em seguida, 100 µL desta primeira diluição foram adicionados a 900 µL de ADE num novo tubo, repetindo-se o processo sucessivamente até se atingirem diluições da ordem de 1:1 000 000. As diluições de 1:1 000, 1:10 000 e 1:100 000 foram inoculadas em meio seletivo Mitis-Salivarius-Agar (MSA), apropriado para o crescimento de microrganismos pertencentes ao grupo *Streptococcaceae* (Figura 16). A escolha destas concentrações baseou-se na carga

bacteriana estimada da população pediátrica estudada. Paralelamente, as diluições de 1:10 000, 1:100 000 e 1:1 000 000 foram inoculadas em meio GS, permitindo a detecção abrangente de microrganismos anaeróbios presentes na saliva (Figura 17).

Após a inoculação, as amostras foram incubadas em estufa a 37°C durante 48 horas. Posteriormente, procedeu-se à quantificação das colónias de *S. mutans* em cada amostra, através da contagem visual das colónias bacterianas (utilizando uma lupa para auxiliar na contagem). As contagens de *S. mutans* em UFC por mL de saliva foram convertidas em logaritmo base 10 (\log_{10} UFC/mL).



Figura 16: Diversas diluições da amostra de saliva de um dos indivíduos do estudo, inoculadas em MSA, nas concentrações de 1:10 000, 1:100 000 e 1:1 000 000.



Figura 17: Diversas diluições da amostra de saliva de um dos indivíduos do estudo, inoculadas em GS, nas concentrações de 1:1 000, 1:10 000 e 1:100 000.

2.9.4. Índices utilizados

Neste estudo, os índices usados foram o ICDAS, o IP e IG observados de Silness e Løe. O ICDAS foi utilizado para diagnosticar as lesões de cárie dentária e avaliar uma eventual progressão da sua evolução (Armas-Vega & Parise-Vasco, 2021).

Sendo a placa bacteriana diretamente associada ao desenvolvimento da cárie dentária, o IP foi utilizado com o objetivo de avaliar o risco de cárie (Nagarathna & Aishwarya, 2019). O IP de Silness e Løe foi criado em 1964 e consiste na atribuição de uma pontuação de 0 a 3 (Tabela 3) às quatro superfícies de cada dente: vestibular, mesial, distal e palatina/lingual (Ayan & Dayı, 2023). Neste estudo, seis dentes índice específicos foram usados: 16, 21, 24, 36, 41 e 44. Na ausência de um dente permanente, avaliava-se o dente decíduo correspondente; caso este também estivesse ausente, selecionava-se um dente adjacente como substituto.

Tabela 3: Classificação do Índice de Placa de Silness e Løe (1964) (Ayan & Dayı, 2023).

Pontuação	Descrição
0	Ausência de placa na zona adjacente à margem gengival
1	Presença de um filme fino de placa ao longo da margem gengival, apenas detetável com sonda
2	Placa visível na bolsa gengival e ao longo da margem gengival
3	Acumulação abundante de placa na bolsa gengival e sobre a margem gengival

Enquanto o IP permite quantificar a presença de placa dentária, o IG avalia as suas consequências teciduais, proporcionando assim uma visão abrangente do estado de saúde oral do indivíduo (Idrees et al., 2014). Esse índice permite determinar a saúde gengival por meio da avaliação do sangramento à sondagem (Chouchene et al., 2023). O IG de Silness e Løe, criado em 1963, atribui uma pontuação de 0 a 3 (Tabela 4) às quatro superfícies de cada dente (vestibular, mesial, distal e palatina/lingual), sendo o índice o valor médio dessas pontuações (Løe & Silness, 1963). Tal como o IP e o ICDAS, o IG foi aplicado em seis dentes índice: 16, 21, 24, 36, 41 e 44.

Tabela 4: Classificação do Índice de Placa de Silness e Løe (1963) (Løe & Silness, 1963).

Pontuação	Descrição
0	Ausência de inflamação
1	Inflamação ligeira – ligeira alteração na cor e pouca alteração na textura
2	Inflamação moderada – aspecto moderadamente brilhante, rubor, edema e hipertrofia. Hemorragia à pressão
3	Inflamação severa – rubor e hipertrofia marcados, tendência para hemorragia espontânea, ulceração

2.9.5. Calibragem

Neste estudo foi realizada uma calibragem, permitindo avaliar com precisão cada teste realizado e conseqüentemente, favorecer a autoregulação e a aprendizagem (Bol et al., 2012).

A calibragem decorreu através de uma fase de observação e calibragem interobservadores, na qual foram escolhidos 5 indivíduos aleatoriamente que se encontravam na consulta de Medicina preventiva e comunitária da Clínica Universitária Egas Moniz e com idades compreendidas entre os 23 e 25 anos. Os indivíduos foram examinados pelos observadores a ser calibrados e pelo observador experiente relativamente aos índices de IP, IG e ICDAS, que foram depois comparados. Tendo em conta que para o ICDAS e o IG não houve variação entre observadores a avaliação da calibração foi direta, com 100% de concordância. No que diz respeito ao IP, os valores de concordância obtidos através do coeficiente de correlação interclasse (CCI) foram bastante elevados, atingindo 83,9%, garantindo assim uma precisão suficiente para continuar a investigação.

2.9.6. Aplicação dos questionários

Os questionários inicial e final foram aplicados no Centro Juvenil e Comunitário Padre Amadeu Pinto, após o preenchimento dos consentimentos informados pelos respetivos responsáveis legais.

2.9.7. Variáveis em estudo

Durante este estudo, foram estudados dois tipos de variáveis: as variáveis dependentes e as variáveis independentes. As independentes influenciam outras variáveis numa relação de causa e efeito, representando a causa presumida num estudo, enquanto as variáveis dependentes são influenciadas pelas variáveis independentes e representam o efeito ou o resultado que se pretende compreender ou prever (Flannelly et al., 2014).

As variáveis deste estudo são resumidas na tabela 5:

Tabela 5: Variáveis em estudo, dependentes e independentes.

Independentes	Dependentes
<ul style="list-style-type: none">- Respostas questionário inicial: dados sociodemográficos da história clínica, hábitos de higiene oral, Autopercepção da saúde oral	<ul style="list-style-type: none">- pH e capacidade tampão- IP- IG- ICDAS- Controlo <i>S. mutans</i>- Respostas questionário final : Mudanças na Higiene oral, tolerância ao tratamento, Mudança na saúde oral, Sabor e aceitação do probiótico

2.9.8. Análise estatística

Os dados recolhidos foram inseridos em Microsoft® Office Excel®. Todos os dados foram analisados utilizando o software IBM-SPSS® Statistics V30. Foram calculadas estatísticas descritivas, incluindo médias e desvios padrão para todas as variáveis. A escolha dos testes estatísticos baseou-se na distribuição dos dados, avaliada através dos testes de normalidade. Consoante o tipo de variável e a normalidade dos dados, foram aplicados testes t de Student ou testes de Wilcoxon e Mann-Whitney, para comparar os valores antes e após o tratamento, bem como entre os grupos. Um valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

3. RESULTADOS

3.1. Teste *in vitro*

Após 48 horas, foi possível observar halos de inibição em torno dos discos contendo o probiótico. Como não se tratava de halos de inibição total, procedeu-se à colheita nessa zona e à re-inoculação em GS. Após 48 horas de incubação, o crescimento observado de colónias bacterianas permite concluir que o efeito dos probióticos é tendencialmente bacteriostático. Foram igualmente observados alguns halos ligeiros em *Streptococcus sobrinus*.

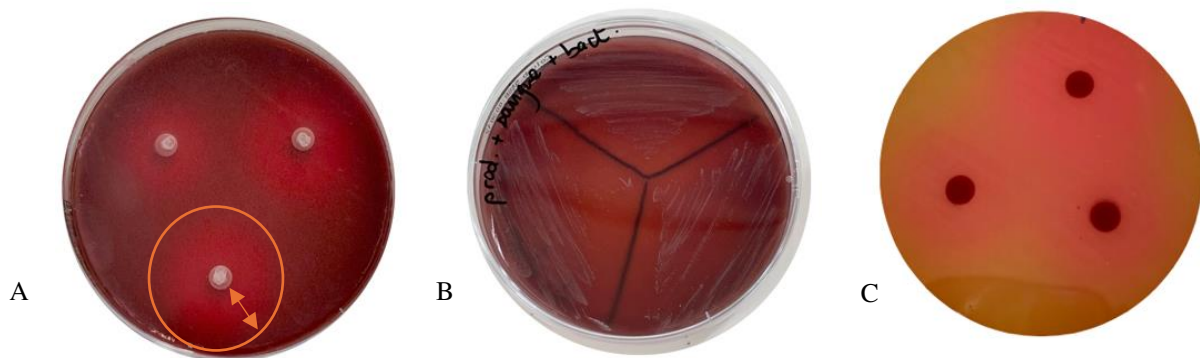


Figura 18: Resultados dos testes *in vitro*: (A) Observação de halo de inibição ao redor dos discos contendo saliva artificial e probiótico; (B) Colónias de *S. mutans* após 48h de crescimento na estufa; (C) Ligeiros halos de inibição em meio com *S. Sobrinus*.

Nenhum dos testes com *S. sanguinis* ATCC 10556, *S. anginosus* ATCC 10213, *S. mitis* ATCC 6249, *S. agalactiae* ATCC 13813, *S. pneumoniae* ATCC 10015, *S. pyogenes* ATCC 12344, *S. bovis* ATCC 33311 e *S. salivarius* ATCC demonstraram qualquer efeito inibitório significativo dos probióticos sobre estas bactérias.

3.2. Análise descritiva das variáveis sociodemográficas

3.2.1. Idade

A faixa etária da amostra estendeu-se entre 6 e 14 anos, sendo a média de idades de $10,25 \pm 2,48$ anos e mediana de 10,5 anos. No GE, a idade média foi de $10,1 \pm 2,61$ anos, com mediana de 10,5 anos, variando entre 6 e 14 anos. No GC, a média foi de $10,4 \pm 2,39$ anos, com mediana de 10,5 anos, mínimo de 7 e máximo de 14 anos (Tabela 6).

A distribuição etária revelou maior prevalência aos 11 anos (17,5%), seguida pelas idades de 8, 10 e 13 anos (12,5% cada) (Figura 19).

Tabela 6: Análise descritiva da idade da amostra e dos grupos do estudo.

	Amostra	GE	GC
Média	$10,25 \pm 2,48$	$10,1 \pm 2,61$	$10,4 \pm 2,39$
Mediana	10,5	10,5	10,5
Mínimo	6	6	7
Máximo	14	14	14

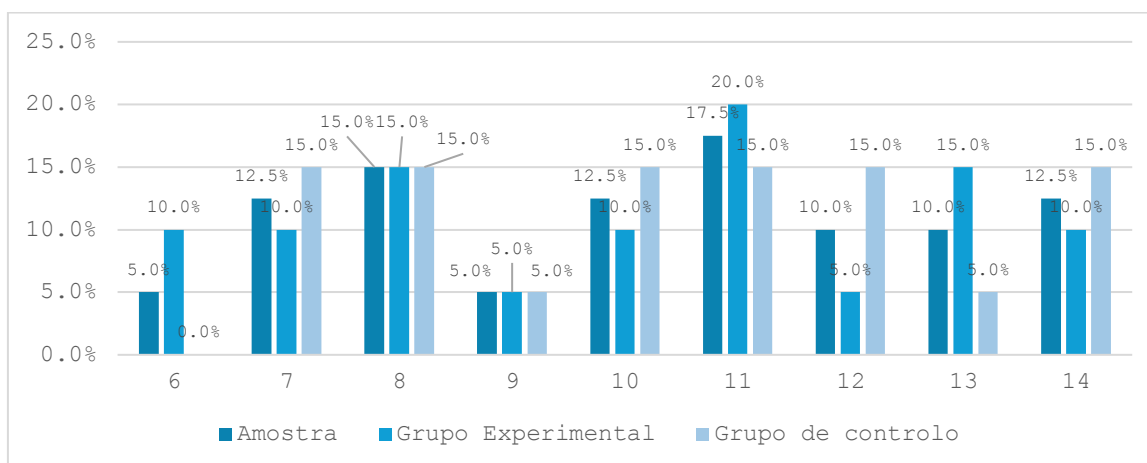


Figura 19: Gráfico de distribuição percentual dos indivíduos por faixa etária, de acordo com a amostra total, o GE e o GC.

3.2.2. Género

A nível do género, a amostra foi composta por 23 indivíduos do género feminino (57,5%) e 17 indivíduos do género masculino (42,5%). No GE, observou-se uma distribuição equilibrada, com 10 indivíduos do género feminino (50%) e 10 do género masculino (50%). No GC, predominaram os indivíduos do género feminino, num total de 13 (65%), em comparação com 7 indivíduos do género masculino (35%) (Tabela 7 e Figura 20).

Tabela 7: Distribuição das Frequências da Amostra por Género.

	Género Feminino		Género Masculino	
	Frequência absoluta (n)	Frequência relativa (%)	Frequência absoluta (n)	Frequência relativa (%)
Amostra	23	57,5%	17	42,5%
GE	10	50%	10	50%
GC	13	65%	7	35%

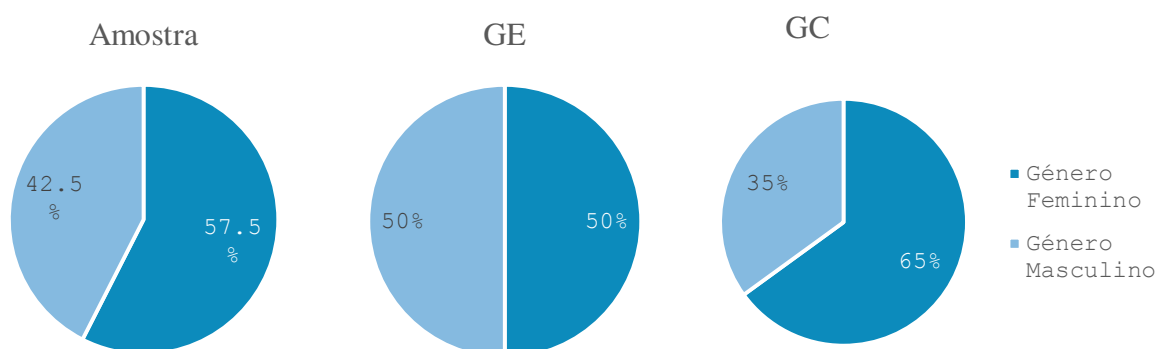


Figura 20: Gráfico da Distribuição das Frequências da Amostra por Género.

3.2.3. Etnia

Quanto à etnia, a amostra foi composta por 31 indivíduos de etnia africana (77,5%), 7 de etnia caucasiana (17,5%) e 2 de outra etnia (5%). No GE, predominaram os indivíduos de etnia africana, com 16 indivíduos (80%), seguindo-se os de etnia caucasiana, com 2 indivíduos (10%), e os de outra etnia, também com 2 indivíduos (10%). No GC, verificou-se igualmente uma predominância de indivíduos de etnia africana, com

15 indivíduos (75%), acompanhados de 5 de etnia caucasiana (25%), não tendo sido registados indivíduos noutras etnias (Tabela 8).

Tabela 8: Distribuição das Frequências da Amostra e dos grupos por Etnia.

		Amostra	GE	GC
Africana	Frequência (n)	31	16	15
	Frequência relativa (%)	77,5	80	75
Caucasiana	Frequência (n)	7	2	5
	Frequência relativa (%)	17,5	10	25
Outra	Frequência (n)	2	2	0
	Frequência relativa (%)	5	10	0

3.2.4. Doenças específicas mencionadas

A maioria dos indivíduos não apresentou nenhuma condição clínica relevante, totalizando 32 indivíduos (80%). A asma foi reportada por 5 indivíduos (12,5%), sendo 4 indivíduos no GE (20%) e 1 indivíduo no GC (5%). Adicionalmente, no GE, 3 indivíduos (15%) declararam não saber ou optaram por não responder (Tabela 9).

Tabela 9: Distribuição das Frequências da Amostra e dos grupos por doença mencionada.

	Amostra		GE		GC	
	Frequência (n)	Frequência relativa (%)	Frequência (n)	Frequência relativa (%)	Frequência (n)	Frequência relativa (%)
Asma	5	12,5	4	20	1	5
Nenhuma	32	80	13	65	19	95
Não Sabe / Não Responde	3	7,5	3	15	0	0

3.2.5. Hábitos de higiene oral

No que diz respeito aos hábitos de escovagem dentária, verificou-se que 13 indivíduos indicaram escovar os dentes uma vez por dia (32,5%), 20 indivíduos indicaram duas ou mais vezes por dia (50%) e 7 indivíduos indicaram às vezes (17,5%). No GE, 12 indivíduos indicaram escovar os dentes duas ou mais vezes por dia (60%), 3 indivíduos uma vez por dia (15%) e 5 indivíduos às vezes (25%). No GC, 10 indivíduos indicaram

escovar os dentes uma vez por dia (50%), 8 indivíduos duas ou mais vezes (40%) e 2 indivíduos às vezes (10%) (Tabela 10).

Tabela 10: Distribuição das frequências de escovagem dos dentes.

	Amostra		GE		GC	
	Frequência (n)	Frequência Relativa (%)	Frequência (n)	Frequência Relativa (%)	Frequência (n)	Frequência Relativa (%)
Uma vez por dia	13	32,5	3	15	10	50
Duas vezes ou mais por dia	20	50	12	60	8	40
Às vezes	7	17,5	5	25	2	10

Relativamente à ajuda na escovagem dentária, 38 indivíduos afirmaram não precisar de ajuda (95%), enquanto apenas 2 indivíduos, todos do GC, referiram necessitar de ajuda (5%). No GE, a totalidade dos indivíduos declarou não precisar de ajuda (Tabela 11).

Tabela 11: Distribuição das Frequências em função da ajuda para lavar os dentes.

	Amostra		GE		GC	
	Frequência (n)	Frequência Relativa (%)	Frequência (n)	Frequência Relativa (%)	Frequência (n)	Frequência Relativa (%)
Tem ajuda para lavar os teus dentes?						
Não	38	95	20	100	18	90
Sim	2	5	0	0	2	10

Relativamente ao uso de flúor, observou-se que 37 indivíduos da amostra referiram utilizar dentífrico com flúor (92,5%), enquanto 3 indivíduos declararam não saber ou não responderam à questão (7,5%). No GE, 17 indivíduos indicaram usar dentífrico com flúor (85%) e 3 indivíduos não souberam ou não quiseram responder (15%). No GC, todos os indivíduos referiram utilizar dentífrico com flúor (Tabela 12).

Tabela 12: Distribuição das Frequências em função do Uso de Flúor.

	Amostra		GE		GC	
	Frequência (n)	Frequência Relativa (%)	Frequência (n)	Frequência Relativa (%)	Frequência (n)	Frequência Relativa (%)
Dentífrico	37	92,5	17	85	20	100
Não Sabe/Não Responde	3	7,5	3	15	0	0

Relativamente à última consulta de medicina dentária, 23 indivíduos afirmaram ter recorrido ao dentista há mais de um ano (57,5%). Apenas 8 indivíduos indicaram uma consulta há menos de um ano (20%), enquanto 9 indivíduos não souberam ou não quiseram responder (22,5%). No GE, 14 indivíduos referiram ter consultado o dentista há mais de um ano (70%), 2 indivíduos há menos de um ano (10%) e 4 indivíduos não souberam ou não quiseram responder (20%). No GC, 9 indivíduos declararam uma consulta há mais de um ano (45%), 6 indivíduos há menos de um ano (30%) e 5 indivíduos não responderam (25%) (Tabela 13 e Figura 21).

Tabela 13: Distribuição das Frequências em função do Última Consulta de Medicina Dentária.

	Amostra		GE		GC	
	Frequência Absoluta (n)	Frequência Relativa (%)	Frequência Absoluta (n)	Frequência Relativa (%)	Frequência Absoluta (n)	Frequência Relativa (%)
Há menos de um ano	8	20	2	10	6	30
Há mais de um ano	23	57,5	14	70	9	45
Não Sabe/Não Responde	9	22,5	4	20	5	25

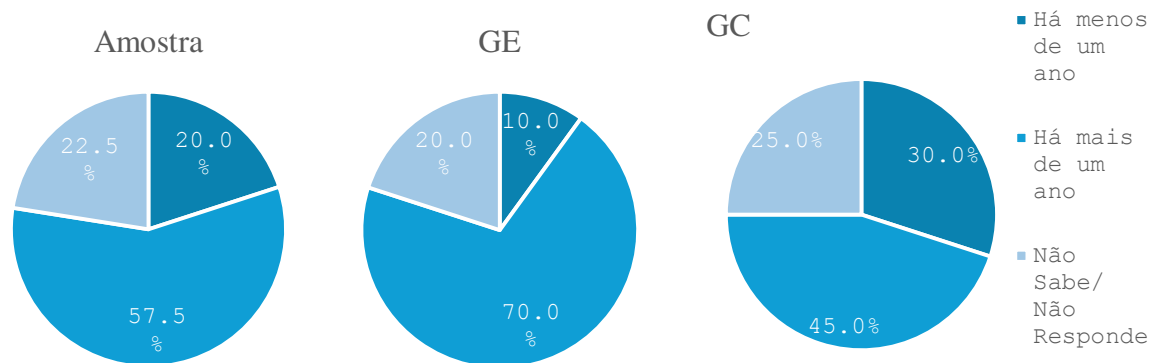


Figura 21: Gráfico da Distribuição das Frequências em função da Última Consulta de Medicina Dentária.

Relativamente ao motivo da última visita ao dentista, 9 indivíduos referiram tratamento dentário (22,5%), 8 indivíduos rotina (20%), 8 indivíduos limpeza (20%), 5 indivíduos extração (12,5%), 1 indivíduo outra razão (2,5%) e 9 indivíduos não souberam ou não responderam (22,5%). No GE, 7 indivíduos referiram tratamento dentário (35%), 4 indivíduos limpeza (20%), 2 indivíduos rotina (10%), 3 indivíduos extração (15%) e 4 indivíduos não responderam (20%). No GC, 6 indivíduos referiram rotina (30%), 4 indivíduos limpeza (20%), 2 indivíduos tratamento dentário (10%), 2 indivíduos extração (10%), 1 indivíduo outra razão (5%) e 5 indivíduos não responderam (25%) (Tabela 14 e Figura 22).

Tabela 14: Distribuição das Frequências em função do Motivo da Última Consulta de Medicina Dentária.

Motivo da última visita ao dentista	Amostra		GE		GC	
	Frequência Absoluta (n)	Frequência Relativa (%)	Frequência Absoluta (n)	Frequência Relativa (%)	Frequência Absoluta (n)	Frequência Relativa (%)
Não Sabe / Não Responde	9	22,5	4	20	5	25
Tratamento dentário	9	22,5	7	35	2	10
Limpeza	8	20	4	20	4	20
Rotina	8	20	2	10	6	30
Extração	5	12,5	3	15	2	10
Outro	1	2,5	0	0	1	5

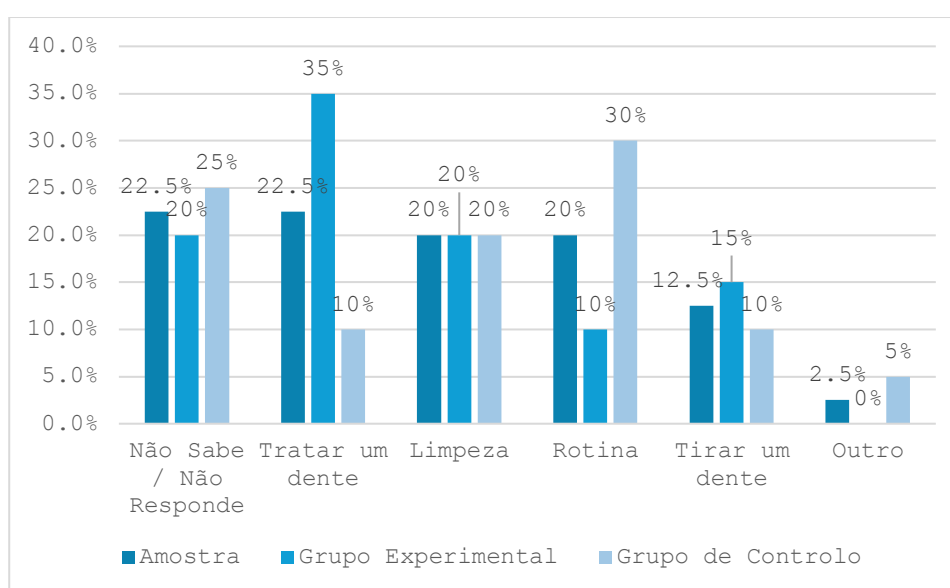


Figura 22: Gráfico do motivo da última consulta de Medicina dentária segundo a Amostra, o GC e o GE.

Relativamente à percepção de vergonha ou incómodo ao sorrir devido ao estado dos dentes, 27 indivíduos referiram não sentir vergonha (67,5%), enquanto 13 indivíduos afirmaram sentir-se incomodados (32,5%). No GE, 11 indivíduos declararam não sentir vergonha (55%), ao passo que 9 indivíduos referiram sentir-se incomodados (45%). No GC, 16 indivíduos indicaram não sentir vergonha (80%), enquanto 4 indivíduos afirmaram sentir vergonha ou desconforto ao sorrir (20%) (Tabela 15 e Figura 23).

Tabela 15: Percepção de vergonha ou desconforto ao sorrir devido ao estado dos dentes: distribuição por grupo.

	Amostra		GE		GC	
	Frequência Absoluta (n)	Frequência Relativa (%)	Frequência Absoluta (n)	Frequência Relativa (%)	Frequência Absoluta (n)	Frequência Relativa (%)
Não	27	67,5	11	55	16	80
Sim	13	32,5	9	45	4	20

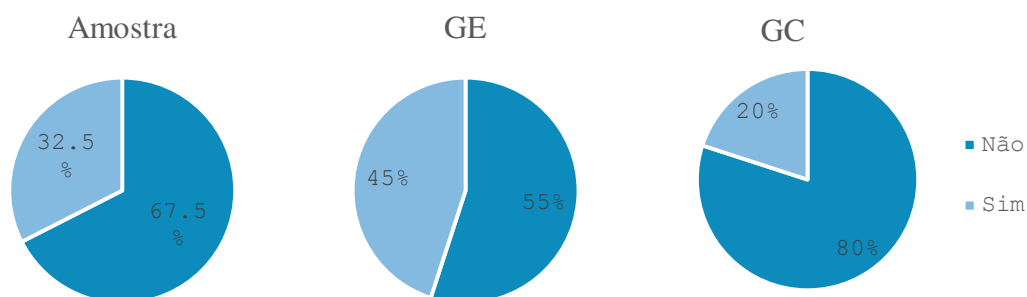
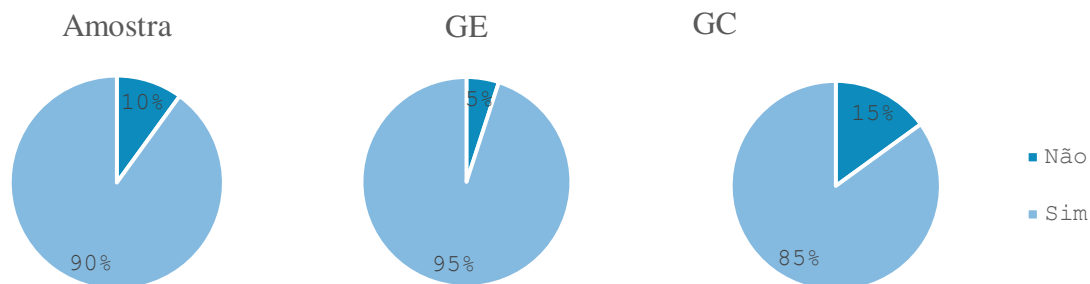


Figura 23: Gráfico de Percepção de vergonha ou desconforto ao sorrir devido ao estado dos dentes: distribuição por grupo.

Relativamente à percepção da importância da escovagem dentária 36 indivíduos consideraram a escovagem importante (90%), enquanto 4 indivíduos responderam negativamente (10%). No GE, 19 indivíduos referiram considerar a escovagem dentária importante (95%), contra 1 indivíduo que respondeu negativamente (5%). No GC, 17 indivíduos consideraram a escovagem dentária importante (85%), enquanto 3 indivíduos não a consideraram (15%) (Tabela 16 e Figura 24).

Tabela 16: Percepção da importância da escovagem dentária: distribuição por grupo.

	Amostra		GE		GC	
	Frequência Absoluta (n)	Frequência Relativa (%)	Frequência Absoluta (n)	Frequência Relativa (%)	Frequência Absoluta (n)	Frequência Relativa (%)
Não	4	10	1	5	3	15
Sim	36	90	19	95	17	85

**Figura 24:** Percepção da importância da escovagem dentária: distribuição por grupo.

3.2.6. Autopercepção da saúde oral

Relativamente à Autopercepção do estado oral geral, a mediana atribuída ao estado dos dentes foi de 7 em todos os grupos. Quanto ao estado da gengiva, a mediana correspondeu a 8,5 na amostra, a 9 no GE, e a 8 no GC. Relativamente à dor oral percebida, a mediana foi de 4,5 na amostra, 2 no GE e 6,5 no GC (Tabela 17).

Tabela 17: Autopercepção do estado geral dos dentes, gengivas e dor oral: valores medianos e intervalos interquartis por grupo.

		Amostra	GE	GC
Estado Geral dentes	Mediana	7	7	7
	Amplitude interquartil	1,87	2,16	1,54
Estado Geral gengiva	Mediana	8,5	9	8
	Amplitude interquartil	1,98	2,17	1,82
Dor	Mediana	4,5	2	6,5
	Amplitude interquartil	3,82	3,44	4,01

3.3. Variáveis Clínicas e Biológicas

3.3.1. Análises da prevalência da cárie dentária

Foram avaliadas as superfícies dos seis dentes índice por indivíduo, totalizando 1120 superfícies examinadas segundo os critérios do sistema ICDAS. Relativamente aos selamentos, observaram-se 10 superfícies com selamento total (4 no GE e 6 no GC) e 15 com selamento parcial (8 no GE e 7 no GC). No GC, foi registada uma superfície com selamento parcial e alteração primária (código 1.1) e outra com selamento parcial e alteração distinta (código 1.2). As alterações primárias sem restauração (código 0.1) foram identificadas em 10 casos (4 no GE e 6 no GC). As alterações distintas sem restauração (código 0.2) foram observadas em 3 superfícies (1 no GE e 2 no GC). No que respeita às lesões de cárie, registaram-se 6 superfícies com cavidade visível e dentina exposta (código 0.5) (5 no GE e 1 no GC), e 1 lesão extensa (código 0.6), observada apenas no GE. Quanto às restaurações, foram verificadas 8 superfícies com restauração de cor dentária (código 3.0) (7 no GE e 1 no GC). As alterações associadas às restaurações foram menos frequentes: 2 superfícies com alteração primária (código 3.1) e 1 com alteração secundária (código 3.2), todas no GE (Tabela 18).

Não se detetaram diferenças entre T0 e T1 nas superfícies, com exceção de uma superfície que passou de uma alteração distinta (código 0.2) para uma restauração da cor dentária (código 3.0) no GE.

Tabela 18: Distribuição das Superfícies Dentárias Avaliadas de Acordo com os Critérios ICDAS, por Amostra, GE e GC.

	Amostra	GE	GC
Selante total (2.0)	10	4	6
Selante total e alteração primária (2.1)	1	0	1
Selante parcial (1.0)	15	8	7
Selante parcial e alteração primária (1.1)	1	0	1
Selante parcial e alteração distinta (1.2.)	1	0	1
Sem restauração e alteração primária (0.1)	10	4	6
Sem restauração e alteração distinta (0.2)	3	1	2
Dente ausente por outro motivo (98)	0	0	0
Sem restauração e Cavidade com dentina visível (0.5)	6	5	1
Sem restauração e Cavidade extensa com dentina visível (0.6)	1	1	0
Restauração de cor dentária (3.0)	8	7	1
Restauração de cor dentária e alteração primária (3.1)	2	2	0
Restauração de cor dentária e alteração secundária (3.2)	1	1	0

3.3.2. Análises de pH e da capacidade tampão

Os valores de pH salivar antes e após a adição de HCl 0,1 Mol foram medidos em cada indivíduo, permitindo traçar curvas que evidenciam a variação do pH antes e depois do tratamento (Figura 25).

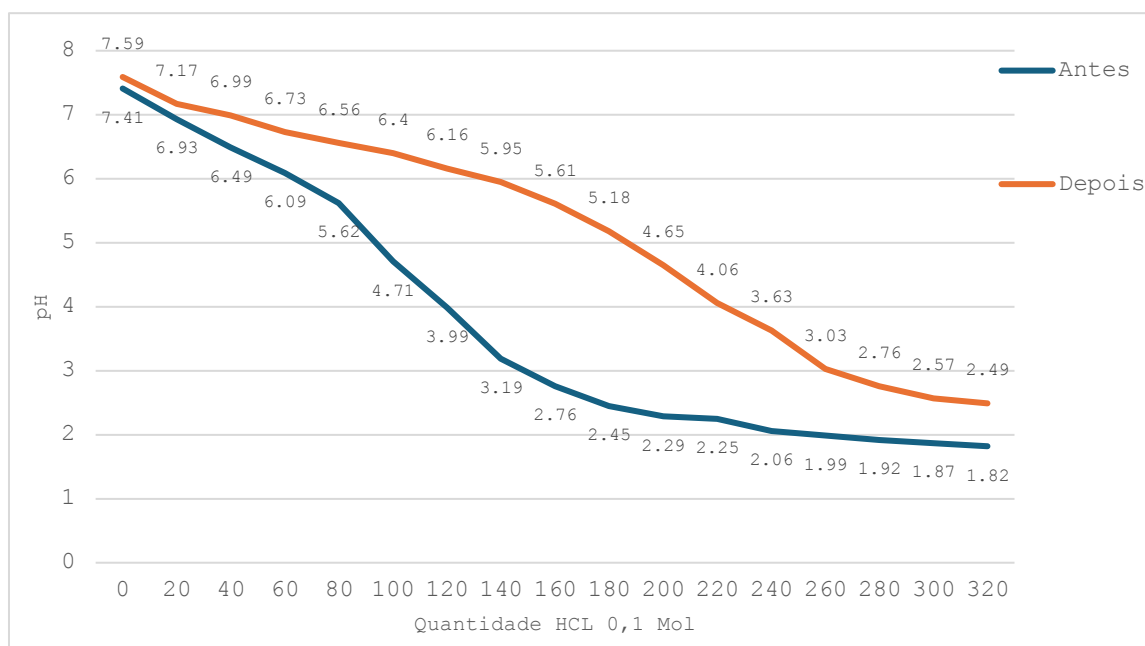


Figura 25: Exemplo de variação do pH salivar num indivíduo do GE entre T0 e T1. Uma descida lenta da curva indica boa capacidade tampão.

Após a adição de volumes crescentes de HCl, observaram-se variações nos valores médios de pH entre os momentos T0 e T1, nos dois grupos. Nos valores de adição de 80, 100 e 120 μ L de HCl, no GE, os incrementos médios de pH foram de $0,13 \pm 0,40$, $0,16 \pm 0,56$ e $0,30 \pm 0,78$, respetivamente, enquanto no GC foram de $0,09 \pm 0,76$, $0,10 \pm 0,95$ e $0,11 \pm 1,03$. A diferença mais acentuada foi verificada após a adição de 120 μ L no GE (Δ pH = 0,30) no entanto, estas variações não são estatisticamente significativas ($p = 0,11$) (Tabela 19).

Além disso, a comparação entre os dois grupos quanto à variação do pH não evidenciou diferenças estatisticamente significativas ($p = 0,83$, $p = 0,81$ e $p = 0,51$).

Tabela 19: Variação do pH salivar após adição incremental de HCl (0,1 mol/L) em T0 e T1 no GE e no GC.

	GE	GC
Média do pH após adição de 80 µL HCl em T0	6,11 ± 0,53	6,22 ± 0,66
Média do pH após adição de 80 µL HCl em T1	6,24 ± 0,44	6,31 ± 0,35
ΔpH (T1 -T0) após adição de 80 µL	0,13 ± 0,40	0,09 ± 0,76
Valor de p (80 µL)	0,26	0,97
Média do pH após adição de 100 µL HCl em T0	5,73 ± 0,64	5,91 ± 0,87
Média do pH após adição de 100 µL HCl em T1	5,89 ± 0,62	6,01 ± 0,50
ΔpH (T1 -T0) após adição de 100 µL	0,16 ± 0,56	0,10 ± 0,95
Valor de p (100 µL)	0,23	0,94
Média do pH após adição de 120 µL HCl em T0	5,25 ± 0,88	5,49 ± 0,96
Média do pH após adição de 120 µL HCl em T1	5,55 ± 0,79	5,59 ± 0,72
ΔpH (T1 -T0) após adição de 120 µL	0,30 ± 0,78	0,11 ± 1,03
Valor de p (120 µL)	0,11	0,70

Adicionalmente, os valores de capacidade tampão foram medidos no intervalo de 80 a 120 µL de adição de HCl em T0 e T1 (Figura 26). A análise da capacidade tampão salivar revelou uma ligeira melhoria entre T0 e T1 no GE ($4,41 \times 10^{-8} \pm 9,99 \times 10^{-8}$ mol/ΔpH). No entanto, esta diferença não atingiu significância estatística ($p = 0,06$). No GC, observou-se uma ligeira diminuição média da capacidade tampão entre T0 e T1 ($-8,73 \times 10^{-9} \pm 1,13 \times 10^{-9}$ mol/ΔpH), também sem significância estatística ($p = 0,73$) (Tabela 20).

A comparação entre os dois grupos quanto à variação da capacidade tampão não evidenciou diferenças estatisticamente significativas ($p = 0,12$).

Tabela 20: Capacidade tampão salivar nos momentos T0 e T1 e respetiva variação média.

	GE	GC
Capacidade tampão antes (mol/ΔpH)	$1,88 \times 10^{-7} \pm 1,02 \times 10^{-7}$	$2,10 \times 10^{-7} \pm 1,1 \times 10^{-7}$
Capacidade tampão depois (mol/ΔpH)	$2,32 \times 10^{-7} \pm 1,19 \times 10^{-7}$	$2,01 \times 10^{-7} \pm 8,88 \times 10^{-8}$
Variação (mol/ΔpH)	$4,41 \times 10^{-8} \pm 9,99 \times 10^{-8}$	$-8,73 \times 10^{-9} \pm 1,13 \times 10^{-9}$
Valor de p	0,06	0,73

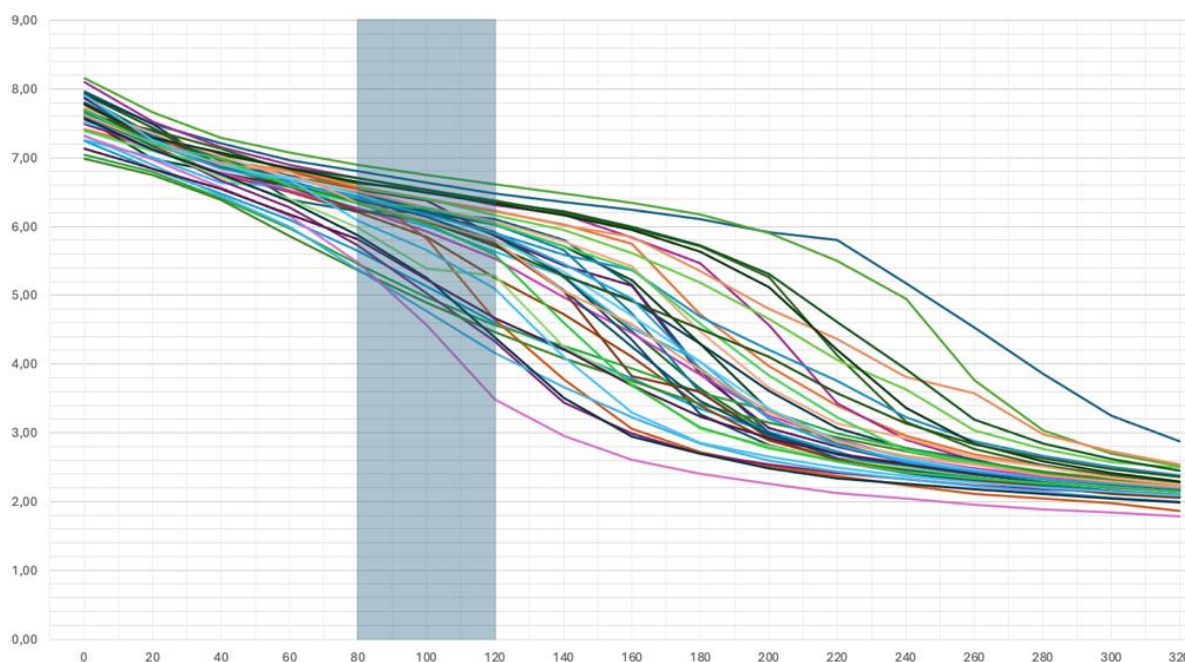


Figura 26: Curvas de titulação de pH com HCl 0,1 mol/L para cada indivíduo em T1. Representam-se as curvas de variação de pH de cada indivíduo após a adição progressiva do ácido. A área sombreada indica o intervalo em que foi medida a capacidade tampão salivar individual.

3.3.3. Análises do Índice de placa e índice gengival de Løe e Silness

No GE, observou-se uma redução de $0,14 \pm 0,31$ no IP entre T0 e T1, considerada estatisticamente significativa ($p = 0,003$). Neste grupo, o IG também apresentou uma diminuição de $0,04 \pm 0,1$, embora sem significância estatística ($p = 0,21$). No GC, a redução do IP entre T0 e T1 foi de $0,14 \pm 0,28$, considerada estatisticamente significativa ($p < 0,001$), enquanto o IG apresentou uma diminuição de $0,01 \pm 0,05$, não considerada significativa (Tabela 21, Figura 27 e Figura 28).

A comparação intergrupos das diferenças não revelou diferenças significativas entre os grupos, quer para o IP ($p = 0,96$), quer para o IG ($p = 0,35$).

Tabela 21: Comparação dos valores dos índices de placa e gengival no GE e no GC.

	IP		IG	
	GE	GC	GE	GC
Média T0	$0,41 \pm 0,26$	$0,42 \pm 0,33$	$0,08 \pm 0,12$	$0,04 \pm 0,07$
Média T1	$0,27 \pm 0,25$	$0,27 \pm 0,24$	$0,05 \pm 0,08$	$0,03 \pm 0,07$
Δ (T1-T0)	$-0,14 \pm 0,31$	$-0,14 \pm 0,28$	$-0,04 \pm 0,1$	$-0,01 \pm 0,05$
Valor de p	0,003	<0,001	0,21	0,35

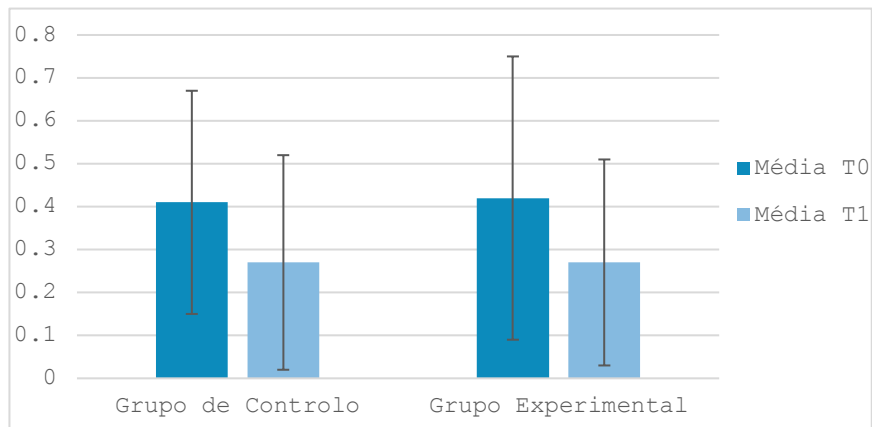


Figura 27: Variação do IP entre T0 e T1 no GE e no GC.

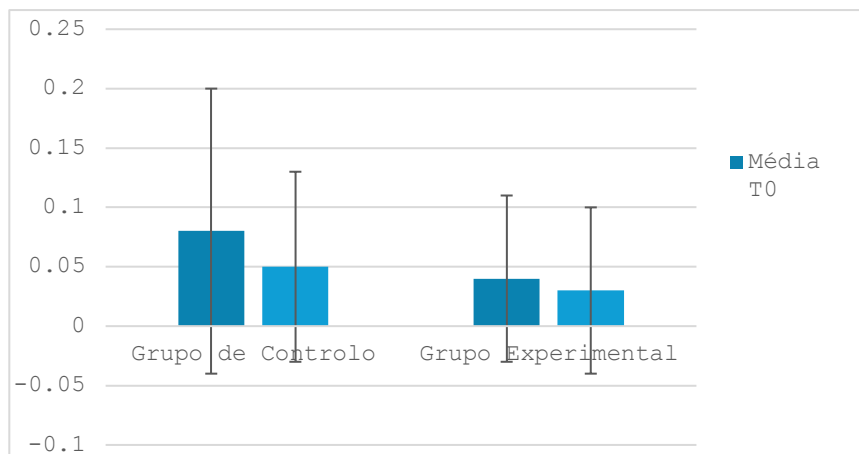


Figura 28: Variação do IG entre T0 e T1 no GE e no GC.

3.3.4. Análises microbiológicas

Os microrganismos da família *Streptococcaceae* foram quantificados em \log_{10} UFC antes e após o tratamento. A média inicial foi de $7,56 \pm 0,57 \log_{10}$ UFC no GE e $7,39 \pm 0,45 \log_{10}$ UFC no GC. Após o tratamento, os valores médios foram de $7,38 \pm 0,59$ e $7,17 \pm 0,67 \log_{10}$ UFC, respetivamente. Verificaram-se reduções moderadas em ambos os grupos, sem significância estatística ($p = 0,34$ e $p = 0,10$). A comparação entre grupos também não revelou diferenças significativas ($p = 0,86$).

Para os microrganismos anaeróbios totais, a contagem média inicial foi de $7,82 \pm 0,45 \log_{10}$ UFC no GE e $7,75 \pm 0,35 \log_{10}$ UFC no GC, reduzindo para $7,71 \pm 0,56$ e $7,73 \pm 0,43 \log_{10}$ UFC, respetivamente, após o tratamento. As variações registadas não foram estatisticamente significativas ($p = 0,56$ e $p = 0,87$), nem se observaram diferenças intergrupos relevantes ($p = 0,69$).

Quanto aos microrganismos alfa-hemolíticos, a média antes da intervenção foi de $7,24 \pm 0,41 \log_{10}$ UFC no GE e $7,27 \pm 0,28 \log_{10}$ UFC no GC, diminuindo para $7,14 \pm 0,65$ e $7,12 \pm 0,62 \log_{10}$ UFC, respetivamente. Tal como nos casos anteriores, as alterações foram ligeiras e sem significância estatística ($p = 0,50$ e $p = 0,28$), com ausência de diferenças significativas entre os grupos ($p = 0,87$) (Tabela 22).

Tabela 22: Análise comparativa dos microrganismos *Streptococcaceae*, anaeróbios e alfa-hemolíticos entre T0 e T1.

	GE	GC
Microrganismos da família <i>Streptococaceae</i> em log (UFC) em T0	$7,56 \pm 0,57$	$7,39 \pm 0,45$
Microrganismos da família <i>Streptococaceae</i> em log (UFC) em T1	$7,38 \pm 0,59$	$7,17 \pm 0,67$
Δ Microrganismos da família <i>Streptococaceae</i> (T1-T0) em log (UFC)	0,18	0,22
Valor de p	0,34	0,10
Microrganismos anaeróbios totais em log (UFC) em T0	$7,82 \pm 0,45$	$7,75 \pm 0,35$
Microrganismos anaeróbios totais em log (UFC) em T1	$7,71 \pm 0,56$	$7,73 \pm 0,43$
Δ Microrganismos anaeróbios totais (T1-T0) em log (UFC)	0,11	0,02
Valor de p	0,56	0,87
Microrganismos alfa-hemolíticos em log (UFC) em T0	$7,24 \pm 0,41$	$7,27 \pm 0,28$
Microrganismos alfa-hemolíticos em log (UFC) em T1	$7,14 \pm 0,65$	$7,12 \pm 0,62$
Δ Microrganismos alfa-hemolíticos (T1-T0) em log (UFC)	0,10	0,15
Valor de p	0,50	0,28

3.4. Questionário final

De acordo com os dados do questionário final, 75% dos indivíduos do GE e 50% do GC referiram escovar os dentes duas ou mais vezes por dia. Quanto à higiene oral, 45% do GC afirmaram ter sido mais rigorosos nos últimos 30 dias, comparando com 25% no GE. Relativamente ao hálito, 40% do GE e 15% do GC reportaram melhoria. Quanto à perceção de dentes mais limpos, 75% do GE e 65% do GC consideraram que os dentes

pareciam mais limpos após a toma dos probióticos. No que respeita ao contributo dos probióticos para a saúde oral, 65% do GE e 80% do GC afirmaram que ajudaram a manter os dentes saudáveis. Apenas 10% do GE e 5% do GC referiram algum desconforto na boca associado ao consumo, e 15% do GE e 20% do GC indicaram alguma dificuldade em tomar os probióticos. Quanto à sensação de dentes mais fortes, 55% do GE e 50% do GC partilharam essa perceção. Uma redução da dor dentária foi reportada por 30% do GE e 10% do GC. A maioria considerou o sabor agradável (75% no GE e 80% no GC) e fácil de dissolver (90% e 85%, respetivamente). Por fim, 85% do GE e 90% do GC afirmaram que gostariam de continuar a tomar probióticos para cuidar dos dentes (Tabela 23).

Tabela 23: Perceções dos indivíduos quanto à higiene oral e ao uso de probióticos ao final do estudo.

	Amostra	GE	GC
Escovagem dentes 2x ou mais por dia	62,5%	75%	50%
Mais rigoroso na higiene oral	35%	25%	45%
Sentiu melhoria no hálito	27,5%	40%	15%
Dentes pareciam mais limpos	70%	75%	65%
Os probióticos ajudaram a manter os dentes saudáveis	72,5%	65%	80%
Desconforto na boca quando tomava probióticos	7,5%	10%	5%
Dificuldade para tomar probióticos	17,5%	15%	20%
Sensação de dentes mais fortes	52,5%	55%	50%
Menos dor dentária	20%	30%	10%
Gostou do Sabor	77,5%	75%	80%
Fácil para dissolver	87,5%	90%	85%
Gostava de continuar	87,5%	85%	90%

4. DISCUSSÃO

A cárie dentária constitui um importante problema de saúde pública, frequentemente designado como uma “epidemia silenciosa”, que afeta anualmente milhões de crianças em todo o mundo (Duangthip & Chu, 2020).

Entre as estratégias de prevenção emergentes, a utilização de probióticos constitui uma abordagem inovadora, baseada em mecanismos biológicos naturais e não invasivos. O foco na população infantil revela-se particularmente pertinente, na medida em que permite reduzir a necessidade de futuros tratamentos mais complexos, invasivos e onerosos, ao mesmo tempo que promove uma saúde oral duradoura nesta faixa etária. (Splieth et al., 2020).

Por outro lado, a implementação precoce de intervenções em crianças de contextos socioeconómicos desfavorecidos, mais vulneráveis a fatores de risco, poderá desempenhar um papel determinante na redução das desigualdades na saúde oral (Van Meijeren-van Lunteren et al., 2023).

É neste contexto que o nosso estudo foi realizado junto da população do Centro Juvenil e Comunitário Padre Amadeu Pinto, em Almada, com o objetivo de avaliar o efeito da administração diária de probióticos sobre parâmetros clínicos e microbiológicos associados ao risco de cárie dentária.

Estudos conduzidos por Alamoudi e colaboradores (Alamoudi et al., 2018), Villavicencio e colaboradores (Villavicencio et al., 2018), Matuq Badri e colaboradores (Matuq Badri et al., 2021) e Salim e colaboradores (Salim et al., 2023) serviram de base para a realização desta investigação.

A nossa amostra era inicialmente composta por 44 indivíduos. Dois indivíduos foram excluídos durante a consulta inicial e 2 outros indivíduos não compareceram à consulta final, resultando numa amostra final de 40 indivíduos.

O produto administrado combinava quatro estirpes probióticas (*L. reuteri*, *L. salivarius*, *L. rhamnosus* e *Bifidobacterium*) numa concentração de 2×10^9 UFC, valor superior ao limiar geralmente referido na literatura como necessário para assegurar a viabilidade dos microrganismos (Gomes et al., 2015). Até à data, não foi realizado nenhum estudo clínico que avaliasse o efeito da utilização conjunta destas quatro estirpes na prevenção da cárie em crianças. Embora cada estirpe tenha já sido estudada individualmente, pelas suas propriedades antimicrobianas, imunomoduladoras ou acidogénicas, a eficácia potencial da sua ação combinada continua por comprovar cientificamente.

A administração do probiótico, no presente estudo, foi realizada sob a forma de comprimidos para dissolver na boca, com o objetivo de favorecer a colonização da cavidade oral. As respostas ao questionário final revelaram uma boa tolerância a esta forma de administração. A maioria dos indivíduos, considerou o sabor agradável e não referiu qualquer desconforto relevante, o que sugere uma aceitação globalmente positiva e uma adesão satisfatória ao protocolo. Este aspeto assume particular importância em contexto pediátrico, uma vez que o sabor e a simplicidade de administração condicionam fortemente a eficácia das intervenções preventivas (Kapoor et al., 2024).

A análise das características sociodemográficas da amostra evidencia uma população relativamente homogénea. A idade média dos indivíduos foi de 10,25 anos, correspondente a uma fase escolar crítica para a aquisição e consolidação de comportamentos de saúde oral. A distribuição por género revelou-se equilibrada, com uma ligeira predominância do género feminino (57,5 %), garantindo uma representatividade global da população estudada.

No que respeita às condições médicas, 80% das indivíduos não reportaram qualquer patologia sistémica, sendo os casos de asma pouco frequentes e concentrados no GE.

Os hábitos de higiene oral mostraram-se, de forma geral, encorajadores: metade dos indivíduos (50 %) referiu realizar a escovagem dentária duas vezes por dia, em conformidade com as recomendações internacionais, e a utilização de dentífrico fluoretado era amplamente reportada. A maioria tinha consultado o dentista há mais de 1 ano (57,5 %), embora 22,5 % não se recordasse da sua última visita, o que poderá refletir alguma irregularidade no acompanhamento preventivo.

A avaliação do pH salivar após a adição incremental de HCl (0,1 mol/L) revelou variações discretas entre T0 e T1 em ambos os grupos. No GE, observou-se uma tendência para valores médios de pH ligeiramente superiores após a intervenção, nomeadamente nas concentrações de 80, 100 e 120 µL, mas sem alcançar significância estatística ($p > 0,05$). Esta ligeira melhoria pode sugerir uma potencial influência positiva dos probióticos na resistência à acidificação salivar, embora sem efeito clinicamente conclusivo na amostra estudada. Estes resultados estão em consonância com os de Borrell e colaboradores (Borrell García et al., 2021), que também não registaram alterações significativas do pH salivar após a administração de *L. reuteri* sob a forma de pastilhas durante 28 dias.

Relativamente à capacidade tampão, estimada no intervalo de 80 a 120 µL de HCl, verificou-se uma ligeira melhoria no GE ($\Delta\text{pH} = 4,41 \times 10^{-8} \text{ mol}/\Delta\text{pH}$), embora sem significância estatística ($p = 0,06$). No GC, houve uma diminuição da capacidade tampão. Os nossos resultados corroboram os de Villavicencio e colaboradores (Villavicencio et al., 2018), que observaram um aumento da capacidade tampão após administração prolongada (9 meses) de leite enriquecido com *Bifidobacterium* e *L. rhamnosus* ($p < 0,05$) o que sugere que, se a duração do nosso protocolo tivesse sido mais longa, poderiam ter sido obtidos resultados estatisticamente significativos.

A análise do IP mostrou uma redução estatisticamente significativa em ambos os grupos após a intervenção ($p = 0,003$ no GE e $p < 0,001$ no GC). Esta melhoria poderá estar associada a fatores como a maior motivação dos indivíduos, o reforço das instruções de higiene oral ou simplesmente ao acompanhamento clínico regular. Contudo, não se verificaram diferenças significativas entre os grupos, o que sugere que a administração de probióticos não proporcionou um benefício adicional no controlo da placa em comparação com o placebo. Estes resultados diferem dos de Matuq Badri e colaboradores (Matuq Badri et al., 2021), que observaram uma redução significativa do IP após 15 e 30 dias de tratamento com probióticos ($p < 0,05$), mas confirmam os achados de Ebrahim e colaboradores (Ebrahim et al., 2022) que também não encontraram diferenças significativas entre grupos tratados com probióticos contendo *S. salivarius* e GC.

A análise do IG evidenciou uma ligeira redução dos valores médios entre T0 e T1 em ambos os grupos. No entanto, nenhuma destas variações atingiu significância estatística ($p = 0,21$ no GE e $p = 0,35$ no GC). Estes resultados estão em consonância com os de Borrell García e colaboradores (Borrell García et al., 2021), que, ao testar uma associação de duas estirpes de *L. reuteri*, também não observaram diferenças significativas entre os grupos. Do mesmo modo, uma revisão sistemática recente (Mayta-Tovalino et al., 2024) confirma a ausência de efeito conclusivo dos probióticos sobre o IG em vários ensaios clínicos randomizados, sugerindo que o seu impacto na inflamação gengival permanece limitado.

A avaliação das superfícies dentárias através do sistema ICDAS revelou que a maioria das lesões correspondia aos códigos 1 e 2, indicativos de estádios iniciais de cárie. Este padrão reflete a elevada prevalência de lesões precoces nesta faixa etária. A intervenção com probióticos não demonstrou impacto significativo na progressão nem na regressão destas lesões ao longo do período estudado. Estes resultados reforçam a necessidade de estudos de maior duração, acompanhados de um seguimento clínico regular, a fim de determinar o eventual papel dos probióticos na prevenção ou no abrandamento da evolução da cárie.

A análise microbiológica teve como objetivo principal a quantificação de *S. mutans*, reconhecido como um dos principais agentes cariogénicos, incluído na família *Streptococcaceae*. Com o intuito de obter uma visão mais abrangente da dinâmica microbiana, o estudo também considerou os microrganismos anaeróbios totais, representativos da flora global do biofilme, bem como os estreptococos alfa-hemolíticos, que englobam diferentes espécies comensais e patogénicas. Os resultados evidenciaram uma tendência geral para a diminuição da carga bacteriana entre T0 e T1, tanto no GE como no GC. Contudo, as diferenças observadas foram pouco expressivas ($\leq 0,22$ log UFC) e não atingiram significância estatística ($p > 0,05$).

Estes resultados estão em consonância com os de Borrell García e colaboradores (Borrell García et al. 2021), que não observaram diferenças estatisticamente significativas entre os GE e GC na quantificação de *S. mutans* ($p > 0,05$). Em contrapartida, o estudo de Villavicencio e colaboradores (Villavicencio et al., 2018), utilizando uma associação de *L. rhamnosus* e *Bifidobacterium*, descreveu uma ligeira diminuição no GE em

comparação com o GC, embora essa tendência não tenha atingido significância estatística ($p > 0,05$).

Por outro lado, Matuq Badri e colaboradores (Matuq Badri et al., 2021) relataram resultados significativos, com uma redução do número de *S. mutans* tanto no GE como na comparação intergrupos ($p < 0,05$). Esta heterogeneidade dos dados disponíveis evidencia a variabilidade dos efeitos observados em função das estirpes, das formulações e dos protocolos utilizados nos diferentes ensaios clínicos.

A ausência de diferenças estatisticamente significativas observada no presente estudo pode ser explicada por vários fatores. Por um lado, uma resistência intrínseca própria de cada indivíduo poderá favorecer a rápida reconstituição do biofilme, limitando assim o impacto potencial dos probióticos administrados. Por outro lado, certas bactérias anaeróbias, organizadas em biofilmes estruturados, são de difícil acesso às intervenções externas e apresentam uma resistência natural à colonização pelas estirpes probióticas.

Por fim, a duração relativamente curta do protocolo poderá não ter sido suficiente para induzir efeitos microbiológicos duradouros e mensuráveis.

Importa igualmente salientar que os efeitos dos probióticos variam consideravelmente em função das estirpes, sendo que cada uma possui propriedades biológicas específicas. Assim, os benefícios observados não podem ser generalizados a todos os probióticos, devendo ser interpretados à escala de cada estirpe. Esta especificidade poderá explicar a eficácia limitada constatada no presente estudo. Tal como referido por Beattie (2024), as estirpes pertencentes aos géneros *Bifidobacterium* continuam pouco documentadas no domínio da saúde oral, não existindo até à data evidência robusta de benefícios clínicos específicos associados a estirpes individuais destes géneros.

As condições experimentais do presente estudo poderão ter limitado a eficácia observada. A forma galénica escolhida, nomeadamente as pastilhas para dissolver, poderá ter reduzido o tempo de contacto das estirpes probióticas com a mucosa oral, comprometendo a sua adesão e ação local. Vários trabalhos salientaram que os probióticos administrados sob a forma de comprimidos para dissolver não apresentam capacidade de colonização duradoura da cavidade oral (Cagetti et al., 2013). De forma consistente, a meta-análise de Chen e colaboradores (Chen et al., 2023) identificou

diversos ensaios clínicos que não evidenciaram efeitos benéficos dos probióticos, todos utilizando este mesmo modo de administração. É igualmente plausível que alguns indivíduos tenham engolido as pastilhas antes da sua dissolução completa, reduzindo a libertação progressiva das estirpes e a sua eficácia potencial. Como recordam Udawatte e colaboradores (Udawatte et al., 2025), a substância dos probióticos, ou seja, a sua capacidade de persistir no meio oral, constitui um fator determinante para maximizar o seu impacto clínico.

Além disso, as condições em que o estudo foi realizado poderão não ter sido as mais adequadas. A duração relativamente curta do tratamento poderá justificar que a diminuição observada das bactérias não tenha atingido significância estatística, embora uma meta-análise recente realizada em crianças tenha demonstrado que, mesmo em estudos de vários meses, nem sempre se obtêm resultados significativos em parâmetros clínicos como o pH salivar ou o IP (Shi et al., 2023).

Algumas limitações metodológicas devem ser consideradas. A população estudada, composta exclusivamente por crianças, poderá não ser totalmente representativa, dado que a microbiota oral nesta fase etária é particularmente dinâmica e sujeita a alterações decorrentes do estilo de vida e do ambiente (Freire et al., 2020).

A adesão ao protocolo revelou-se imperfeita em alguns indivíduos, o que poderá ter introduzido viés e reduzido a fiabilidade dos resultados.

Além disso, o contexto socioeconómico das crianças incluídas constitui um fator determinante. Diversos estudos demonstraram que o nível socioeconómico influencia diretamente a saúde oral desde a infância, através de uma alimentação menos equilibrada, de um acesso limitado aos cuidados de saúde e de uma educação em saúde frequentemente insuficiente (Almajed et al., 2024; Mohamed Rasheed et al., 2024). Estes elementos poderão ter contribuído para limitar o impacto do probiótico e acentuar a variabilidade interindividual observada.

Por outro lado, a amostra foi relativamente pequena, o que poderá ter limitado a capacidade de identificar diferenças estatisticamente significativas entre os grupos (Yang & Berdine, 2023). Esta limitação pode explicar a ausência de resultados significativos, apesar das tendências observadas. O cálculo amostral realizado demonstrou que, para alcançar significância com um nível de confiança de 95 % e uma potência de 80 %, seriam necessários 64 indivíduos (32 por grupo) para a análise de *S. mutans*, 88 indivíduos para

a avaliação do pH salivar (44 por grupo) e até 364 indivíduos para o estudo do IP (182 por grupo). Estes dados reforçam a necessidade de desenvolver ensaios clínicos com amostras de maior dimensão, de forma a confirmar ou refutar os resultados preliminares obtidos neste trabalho.

Para investigações futuras, várias perspectivas devem ser consideradas. A escolha do veículo de administração poderá ser otimizada, privilegiando-se suportes alimentares de consumo corrente em vez de pastilhas para dissolver, de modo a favorecer a adesão ao protocolo e a aumentar o tempo de contacto das estirpes probióticas com a cavidade oral. Seria igualmente pertinente prolongar o período de acompanhamento e incluir avaliações adicionais após a intervenção (por exemplo, ao fim de um mês ou mais), de modo a verificar a possível existência de um efeito diferido. Além disso, estudos em populações adultas, com condições socioeconómicas mais favoráveis, poderiam avaliar a influência do contexto social na eficácia dos probióticos. Finalmente, tendo em conta que *S. mutans* não é a única bactéria envolvida na etiologia da cárie dentária, seria relevante alargar a análise microbiológica a outras espécies cariogénicas, de forma a compreender melhor o impacto global dos probióticos na microbiota oral.

Este trabalho abre perspectivas para novas investigações sobre o papel dos probióticos em saúde oral. A sua integração numa estratégia preventiva abrangente, combinando higiene oral, alimentação equilibrada e acompanhamento regular, poderá contribuir para reduzir a incidência da cárie dentária, sobretudo em populações vulneráveis. Embora os resultados sejam exploratórios, reforçam o interesse científico no tema e apelam à continuidade da investigação, de modo a clarificar benefícios, limitações e condições de utilização.

5. CONCLUSÃO

Para concluir, nas condições do presente estudo:

- O tratamento experimental com probióticos não apresentou diferenças significativas em relação ao IG, IP e ICDAS;
- O tratamento experimental com probióticos não teve efeito significativo no pH e na capacidade tampão da saliva;
- O tratamento experimental com probióticos não apresentou diferenças significativas no controlo das bactérias *S. mutans* na saliva;

6. BIBLIOGRAFIA

- Abikshyeet, P., Mishra, P., Bhuyan, L., Kumar, V., Mahapatra, N., & Adhikary, T. (2022). Probiotics. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, *14*(Suppl 1), S34–S38. https://doi.org/10.4103/jpbs.jpbs_801_21
- Alamoudi, N. M., Almagbadi, E. S., El Ashiry, E. A., & El Derwi, D. A. (2018). Effect of probiotic *Lactobacillus reuterion* salivary cariogenic bacterial counts among groups of preschool children in Jeddah, Saudi Arabia: A randomized clinical trial. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, *42*(5), 331–337. <https://doi.org/10.17796/1053-4625-42.5.2>
- Al-Harthy, N., Qutieshat, A., Petropoulou, P., Chopra, H., & Ruiz, E. F. (2023). A preventive strategy against root caries for the general dentist: A cross-sectional clinical study. *The Open Dentistry Journal*, *17*(1), Article e187421062308240. <https://doi.org/10.2174/18742106-v17-230824-2022-175>
- Almajed, O. S., Aljouie, A. A., Alharbi, M. S., & Alsulaimi, L. M. (2024). The impact of socioeconomic factors on pediatric oral health: A review. *Cureus*, *16*(8), e53567. <https://doi.org/10.7759/cureus.53567>
- Amargianitakis, M., Antoniadou, M., Rahiotis, C., & Varzakas, T. (2021). Probiotics, prebiotics, synbiotics and dental caries: New perspectives, suggestions, and patient coaching approach for a cavity-free mouth. *Applied Sciences*, *11*(12), 5472. <https://doi.org/10.3390/app11125472>
- Angarita-Díaz, M. del P., Fong, C., Bedoya-Correa, C. M., & Cabrera-Arango, C. L. (2022). Does high sugar intake really alter the oral microbiota? A systematic review. *Clinical and Experimental Dental Research*, *8*(6), 1376–1390. <https://doi.org/10.1002/cre2.640>
- Anjana, & Tiwari, S. K. (2022). Bacteriocin-producing probiotic lactic acid bacteria in controlling dysbiosis of the gut microbiota. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *12*, 851140. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.851140>
- Anusha, R. L., Umar, D., Basheer, B., & Baroudi, K. (2015). The magic of magic bugs in oral cavity: Probiotics. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, *6*(2), 43–47. <https://doi.org/10.4103/2231-4040.154526>

- Armas-Vega, A., & Parise-Vasco, J. M. (2020). ICDAS: Una herramienta para el diagnóstico de la caries dental. *Analysis*, 27(6), 1–9. <https://doi.org/10.5281/zenodo.4599813>
- Arweiler, N. B., & Netuschil, L. (2016). The oral microbiota. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 902, 45–60. https://doi.org/10.1007/978-3-319-31248-4_4
- Aryal, S. (2022). Columbia agar with 5% sheep blood: Composition, principle, preparation, results, uses. *Microbiology Info*. <https://microbiologyinfo.com/columbia-agar-with-5-sheep-blood-composition-principle-preparation-results-uses/>
- Assurance Maladie. (2025, 1er avril). *L'importance des dents de lait et les risques liés aux caries chez le tout petit*. Ameli.fr. <https://www.ameli.fr/assure/sante/themes/poussee-dentaire/dents-lait-importance-risque-lie-caries>
- Ayan, G., & Dayı, B. (2023). Evaluation of plaque index, gingival index and oral health-related quality of life in obese patients. *Odovtos - International Journal of Dental Sciences*, 25(1), 166–178. <https://doi.org/10.15517/ijds.2022.52533>
- Bagdasarova, I. V., Kostinskaya, M. V., & Miral, A. K. (2024). Features of temporary teeth hard tissues affecting caries resistance. *Endodontics Today*, 21(4), 293–298. <https://doi.org/10.36377/1683-2981-2023-21-4-293-298>
- Bardez, É., & Société Chimique de France. (2010, April). Il y a cent ans... naissait le pH. *L'Actualité Chimique*, 340, 35. <https://new.societechimiquedefrance.fr/numero/il-y-a-cent-ans-naissait-le-ph-p35-n340/>
- Beattie, R. E. (2024). Probiotics for oral health: A critical evaluation of bacterial strains. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1430810. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1430810>
- Bertilsson, C., Borg, E., Sten, S., Hessman, E., Sjöblom, H., & Lingström, P. (2022). Prevalence of dental caries in past European populations: A systematic review. *Caries Research*, 56(1), 15–30. <https://doi.org/10.1159/000522326>
- Binda, S., Hill, C., Johansen, E., Obis, D., Pot, B., Sanders, M. E., Tremblay, A., & Ouwehand, A. C. (2020). Criteria to qualify microorganisms as “probiotic” in foods and dietary supplements. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1662. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01662>

- Bol, L., Hacker, D. J., Myran, S., Kitsantas, A., & Andrade, H. (2012). Calibration research: Where do we go from here? *Frontiers in Psychology*, 3, 229. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2012.00229>
- Bonifait, L., Chandad, F., & Grenier, D. (2009). Probiotics for oral health: Myth or reality? *Journal of the Canadian Dental Association*, 75(8), 585. <https://www.cda-adc.ca/jcda/vol-75/issue-8/585.html>
- Borrell García, C., Ribelles Llop, M., García Esparza, M. Á., Flichy-Fernández, A. J., Marqués Martínez, L., & Izquierdo Fort, R. (2021). The use of *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 and ATCC PTA 5289 on oral health indexes in a school population: A pilot randomized clinical trial. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, 35, 20587384211031107. <https://doi.org/10.1177/20587384211031107>
- Butera, A., Maiorani, C., Morandini, A., Simonini, M., Morittu, S., Trombini, J., & Scribante, A. (2022). Evaluation of children caries risk factors: A narrative review of nutritional aspects, oral hygiene habits, and bacterial alterations. *Children*, 9(2), 262. <https://doi.org/10.3390/children9020262>
- Cagetti, M. G., Mastroberardino, S., Milia, E., Cocco, F., Lingström, P., & Campus, G. (2013). The use of probiotic strains in caries prevention: A systematic review. *Nutrients*, 5(7), 2530–2550. <https://doi.org/10.3390/nu5072530>
- Cai, J. N., & Kim, D. (2023). Biofilm ecology associated with dental caries: Understanding of microbial interactions in oral communities leads to development of therapeutic strategies targeting cariogenic biofilms. *Advances in Applied Microbiology*, 122, 27–75. <https://doi.org/10.1016/bs.aambs.2023.02.001>
- ChemTalk. (n.d.). Buffer capacity & calculations. *ChemistryTalk* Retrieved June 19, 2025, from <https://chemistrytalk.org/buffer-capacity-calculations/>
- Chen, W., Ren, J., Li, J., Peng, S., Zhang, C., & Lin, Y. (2023). Effects of probiotics on the oral health of patients undergoing orthodontic treatment: A systematic review and meta-analysis. *European Journal of Orthodontics*, 45(5), 599–611. <https://doi.org/10.1093/ejo/cjad046>
- Chen, X., Daliri, E. B.-M., Kim, N., Kim, J. R., Yoo, D., & Oh, D. H. (2020). Microbial etiology and prevention of dental caries: Exploiting natural products to inhibit cariogenic biofilms. *Pathogens*, 9(7), 569. <https://doi.org/10.3390/pathogens9070569>

- Cheng, L., Zhang, L., Yue, L., Ling, J., Fan, M., Yang, D., Huang, Z., Niu, Y., Liu, J., Zhao, J., Li, Y., Guo, B., Chen, Z., & Zhou, X. (2022). Expert consensus on dental caries management. *International Journal of Oral Science*, *14*, 52. <https://doi.org/10.1038/s41368-022-00167-3>
- Chouchene, F., Masmoudi, F., Baaziz, A., Maatouk, F., & Ghedira, H. (2023). Clinical status and assessment of caries on first permanent molars in a group of 6- to 13-year-old Tunisian school children. *Clinical and Experimental Dental Research*, *9*(1), 240–248. <https://doi.org/10.1002/cre2.676>
- Chugh, P., Dutt, R., Sharma, A., Bhagat, N., & Dhar, M. S. (2020). A critical appraisal of the effects of probiotics on oral health. *Journal of Functional Foods*, *70*, 103985. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103985>
- Cogulu, D., & Saglam, C. (2022). Genetic aspects of dental caries. *Frontiers in Dental Medicine*, *3*, 1060177. <https://doi.org/10.3389/fdmed.2022.1060177>
- Cugini, C., Shanmugam, M., Landge, N., & Ramasubbu, N. (2019). The role of exopolysaccharides in oral biofilms. *Journal of Dental Research*, *98*(7), 739–747. <https://doi.org/10.1177/0022034519845001>
- Daliri, E. B. M., & Lee, B. H. (2015). New perspectives on probiotics in health and disease. *Food Science and Human Wellness*, *4*(2), 56–65. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2015.06.002>
- David, S., & Khandhar, P. B. (2023). Double-blind study. In F. R. Volkmar (Ed.), *Encyclopedia of autism spectrum disorders* (pp. 1517–1518). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-319-91280-6_1235
- Deo, P. N., & Deshmukh, R. (2019). Oral microbiome: Unveiling the fundamentals. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, *23*(1), 122–128. https://doi.org/10.4103/jomfp.jomfp_304_18
- Dhar, V., Pilcher, L., Fontana, M., González-Cabezas, C., Keels, M. A., Mascarenhas, A. K., Nascimento, M., Platt, J. A., Sabino, G. J., Slayton, R., Tinanoff, N., Young, D. A., Zero, D. T., Pahlke, S., Urquhart, O., O'Brien, K. K., & Carrasco-Labra, A. (2023). Evidence-based clinical practice guideline on restorative treatments for caries lesions: A report from the American Dental Association. *Journal of the American Dental Association*, *154*(7), 551–566.e51. <https://doi.org/10.1016/j.adaj.2023.04.011>

- Dillman, A. R., Baidara, P., Zendo, T., & Morones-Ramírez, J. R. (2021). Bacteriocins: An overview of antimicrobial, toxicity, and biosafety assessment by *in vivo* models. *Frontiers in Microbiology*, *12*, 630695. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.630695>
- Do, L. G., & Ha, D. H. (2021). Dental fluorosis: Epidemiological aspects. In O. Fejerskov, B. Nyvad, & E. A. M. Kidd (Eds.), *Dental caries: The disease and its clinical management* (pp. 121–132). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-030-50123-5_7
- Duangthip, D., & Chu, C. H. (2020). Challenges in oral hygiene and oral health policy. *Frontiers in Oral Health*, *1*, 575428. <https://doi.org/10.3389/froh.2020.575428>
- Ebrahim, F., Malek, S., James, K., Macdonald, K., Cadieux, P., Burton, J., Cioffi, I., Lévesque, C., & Gong, S. G. (2022). Effectiveness of the Lorodent probiotic lozenges in reducing plaque and *Streptococcus mutans* levels in orthodontic patients: A double-blind randomized control trial. *Frontiers in Oral Health*, *3*, 884683. <https://doi.org/10.3389/froh.2022.884683>
- FDI World Dental Federation. (2017). *Caries prevention and management chairside guide*. <https://www.fdiworlddental.org/caries-prevention-and-management-chairside-guide>
- FDI World Dental Federation. (2020). *Oral health conditions*. FDI World Dental Federation. <https://www.fdiworlddental.org/oral-health-conditions>
- Featherstone, J. D. B., Crystal, Y. O., Alston, P., Chaffee, B. W., Doméjean, S., Rechmann, P., Zhan, L., & Ramos-Gomez, F. (2021). Evidence-based caries management for all ages: Practical guidelines. *Frontiers in Oral Health*, *2*, 657518. <https://doi.org/10.3389/froh.2021.657518>
- Filik, N., & Filik, F. (2024). City of bacteria. *Open Journal of Nano-Nurdan*, 11–21. <https://doi.org/10.56171/ojn.1446829>
- Flannelly, L. T., Flannelly, K. J., & Jankowski, K. R. B. (2014). Independent, dependent, and other variables in healthcare and chaplaincy research. *Journal of Health Care Chaplaincy*, *20*(4), 161–170. <https://doi.org/10.1080/08854726.2014.959374>
- Fleishman, C. (2023). Potential of probiotics to prevent dental caries. *International Probiotics Association (IPA)*. <https://internationalprobiotics.org>
- Flemming, J., Hannig, C., & Hannig, M. (2022). Caries management: The role of surface interactions in de- and remineralization processes. *Journal of Clinical Medicine*, *11*(23), 7044. <https://doi.org/10.3390/jcm11237044>

- Freire, M., Moustafa, A., Harkins, D. M., Torralba, M. G., Zhang, Y., Leong, P., Saffery, R., Bockmann, M., Kuelbs, C., Hughes, T., Craig, J. M., & Nelson, K. E. (2020). Longitudinal study of oral microbiome variation in twins. *Scientific Reports*, *10*(1), 7954. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-64747-1>
- GC Australasia Dental. (2019). *Saliva testing: Good practice, good sense*. <https://www.gcaustralasia.com>
- Gibson, G. R., Hutkins, R. W., Sanders, M. E., Prescott, S. L., Reimer, R. A., Salminen, S. J., Scott, K., Stanton, C., Swanson, K. S., Cani, P. D., Verbeke, K., & Gregor, R. (2017). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, *14*, 491–502. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.75>
- Gomes, R., Miyazak, M., & Zotarelli Filho, I. J. (2015). Action of probiotics on oral pathogens: Efficacy and controversies. *Dental, Oral and Craniofacial Research*, *1*(4), 1–6. <https://doi.org/10.15761/docr.1000129>
- Grari, O., Ezrari, S., El Yandouzi, I., Benaissa, E., Ben Lahlou, Y., Lahmer, M., Saddari, A., Elouennass, M., & Maleb, A. (2025). A comprehensive review on biofilm-associated infections: Mechanisms, diagnostic challenges, and innovative therapeutic strategies. *The Microbe*, *8*, 100436. <https://doi.org/10.1016/j.microb.2025.100436>
- Grumet, L., Tromp, Y., & Stiegelbauer, V. (2020). The development of high-quality multispecies probiotic formulations: From bench to market. *Nutrients*, *12*(8), 2453. <https://doi.org/10.3390/nu12082453>
- Gul, S., & Durante-Mangoni, E. (2024). Unraveling the puzzle: Health benefits of probiotics—A comprehensive review. *Journal of Clinical Medicine*, *13*(5), 1436. <https://doi.org/10.3390/jcm13051436>
- Gungor, O. E., Kirzioglu, Z., & Kivanc, M. (2015). Probiotics: Can they be used to improve oral health? *Beneficial Microbes*, *6*(5), 647–656. <https://doi.org/10.3920/bm2014.0167>
- Gupta, D. (2022). Oral health: An unmet need. *The Open Dentistry Journal*, *16*(1), e2203150. <https://doi.org/10.2174/18742106-v16-e2203150>
- Hajishengallis, G., Lamont, R. J., & Koo, H. (2023). Oral polymicrobial communities: Assembly, function and impact on diseases. *Cell Host & Microbe*, *31*(4), 528–538. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2023.02.009>

- Harper, R. A., Shelton, R. M., James, J. D., Salvati, E., Besnard, C., Korsunsky, A. M., & Landini, G. (2021). Acid-induced demineralisation of human enamel as a function of time and pH observed using X-ray and polarised light imaging. *Acta Biomaterialia*, *120*, 240–248. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2020.04.045>
- History of dentistry. (2025). History of dental caries: Facts and history of cariology. *History of Dentistry*. <https://www.historyofdentistry.net/dentistry-history/history-of-dental-caries/>
- Hmar, E. B. L., Paul, S., & Sharma, H. K. (2023). An insight into the combination of probiotics and their implications for human health. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders – Drug Targets*, *24*(1), 1–12. <https://doi.org/10.2174/1871530323666230502141717>
- Ibrahim, S. A., Yeboah, P. J., Ayivi, R. D., Eddin, A. S., Wijemanna, N. D., Paidari, S., & Bakhshayesh, R. V. (2023). A review and comparative perspective on health benefits of probiotic and fermented foods. *International Journal of Food Science & Technology*, *58*(10), 4948–4964. <https://doi.org/10.1111/ijfs.16619>
- Idrees, M. M., Azzeghaiby, S. N., Hammad, M. M., & Kujan, O. B. (2014). Prevalence and severity of plaque-induced gingivitis in a Saudi adult population. *Saudi Medical Journal*, *35*(11), 1373–1378. <https://smj.org.sa/content/35/11/1373>
- Institute for Quality and Efficiency in Health Care (IQWiG). (2020). *In brief: What types of studies are there?* [InformedHealth.org. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279578/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279578/)
- Jiang, Q., Stamatova, I., Kainulainen, V., Korpela, R., & Meurman, J. H. (2016). Interactions between *Lactobacillus rhamnosus* GG and oral micro-organisms in an in vitro biofilm model. *BMC Microbiology*, *16*, 149. <https://doi.org/10.1186/s12866-016-0759-7>
- Kapoor, D. U., Garg, R., Gaur, M., Patel, M. B., Minglani, V. V., Prajapati, B. G., Huanbutta, K., Sangnim, T., & Sriamornsak, P. (2024). Pediatric drug delivery challenges: Enhancing compliance through age-appropriate formulations and safety measures. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, *96*, 105720. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2024.105720>
- Kilian, M., Chapple, I. L. C., Hannig, M., Marsh, P. D., Meuric, V., Pedersen, A. M. L., Tonetti, M. S., Wade, W. G., & Zaura, E. (2016). The oral microbiome: An update for oral healthcare professionals. *British Dental Journal*, *221*(10), 657–666. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2016.865>

- Kitasako, Y., Moritsuka, M., Foxton, R. M., Ikeda, M., Tagami, J., & Nomura, S. (2005). Simplified and quantitative saliva buffer capacity test using a hand-held pH meter. *American Journal of Dentistry*, 18(3), 147–150. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16158802/>
- Kumar Yadav, M., Kumari, I., Singh, B., Sharma, K. K., & Tiwari, S. K. (2022). Probiotics, prebiotics and synbiotics: Safe options for next-generation therapeutics. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 106(1), 505–521. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11646-8>
- Lakshmi, S. S. J., & Leela, K. V. (2022). A review on updated species list of *Viridans* streptococci causing infective endocarditis. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 16(3), 1590–1594. <https://doi.org/10.22207/jpam.16.3.26>
- Lemos, J. A., Palmer, S. R., Zeng, L., Wen, Z. T., Kajfasz, J. K., Freires, I. A., Abranches, J., & Brady, L. J. (2019). The biology of *Streptococcus mutans*. *Microbiology Spectrum*, 7(1), GPP3-0051-2018. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.gpp3-0051-2018>
- Lin, Y., Chen, J., Zhou, X., & Li, Y. (2021). Inhibition of *Streptococcus mutans* biofilm formation by strategies targeting the metabolism of exopolysaccharides. *Critical Reviews in Microbiology*, 47(4), 443–453. <https://doi.org/10.1080/1040841x.2021.1915959>
- Liu, X., Zhao, H., & Wong, A. (2024). Accounting for the health risk of probiotics. *Heliyon*, 10(6), e27908. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e27908>
- Liu, Z., Cao, Q., Wang, W., Wang, B., Yang, Y., Xian, C. J., Li, T., & Zhai, Y. (2024). The impact of *Lactobacillus reuterion* oral and systemic health: A comprehensive review of recent research. *Microorganisms*, 13(1), 45. <https://doi.org/10.3390/microorganisms13010045>
- Löe, H., & Silness, J. (1963). Periodontal disease in pregnancy. *Acta Odontologica Scandinavica*, 21(6), 533–551. <https://doi.org/10.3109/00016356309011240>
- Lopes, P. C., Carvalho, T., Gomes, A. T. P. C., Veiga, N., Blanco, L., Correia, M. J., & Mello-Moura, A. C. V. (2024). White spot lesions: Diagnosis and treatment – A systematic review. *BMC Oral Health*, 24(1), 58. <https://doi.org/10.1186/s12903-023-03720-6>
- Lu, M., Xuan, S., & Wang, Z. (2019). Oral microbiota: A new view of body health. *Food Science and Human Wellness*, 8(1), 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2018.12.001>

- Luo, S. C., Wei, S. M., Luo, X. T., Yang, Q. Q., Wong, K. H., Cheung, P. C. K., & Zhang, B. B. (2024). How probiotics, prebiotics, synbiotics, and postbiotics prevent dental caries: An oral microbiota perspective. *NPJ Biofilms and Microbiomes*, *10*(1), 24. <https://doi.org/10.1038/s41522-024-00488-7>
- Marco, M. L., Sanders, M. E., Gänzle, M., Arrieta, M. C., Cotter, P. D., De Vuyst, L., Hill, C., Holzapfel, W., Lebeer, S., Merenstein, D., Reid, G., Wolfe, B. E., & Hutkins, R. (2021). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on fermented foods. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, *18*(3), 196–208. <https://doi.org/10.1038/s41575-020-00390-5>
- Matuq Badri, S., Felemban, E. H., Alnajjar, G. K., Alotaibi, F. M., Aljahdali, S. T., Maher, Y. A., & Fathi, A. (2021). Effectiveness of probiotic lozenges and chlorhexidine mouthwash on plaque index, salivary pH, and *Streptococcus mutans* count among school children in Makkah, Saudi Arabia. *Saudi Dental Journal*, *33*(7), 635–641. <https://doi.org/10.1016/j.sdentj.2020.05.006>
- Meurman, J. H., Antila, H., & Salminen, S. (1994). Recovery of *Lactobacillus* strain GG (ATCC 53103) from saliva of healthy volunteers after consumption of yoghurt prepared with the bacterium. *Microbial Ecology in Health and Disease*, *7*(6), 295–298. <https://doi.org/10.3109/08910609409141368>
- Mishra, S., Rath, S., & Mohanty, N. (2020). Probiotics—A complete oral healthcare package. *Journal of Integrative Medicine*, *18*(6), 462–469. <https://doi.org/10.1016/j.joim.2020.08.005>
- Mohamed Rasheed, Z. B., Sheng, C. W., Norfitriah, E., Nasruddin, N. S., & Yazid, F. (2024). Oral microbiome dynamics in treated childhood caries: A comparative study. *Life*, *14*(12), 1576. <https://doi.org/10.3390/life14121576>
- Mohan Koka, K., Pillarisetti, P., Kumar Yasangi, M., Mannem, D., Reddy Karra, S., & Author, C. (2021). Dental plaque biofilm: Development, pathogenicity and analysis. *International Journal of Science and Healthcare Research*, *6*(3), 127–134. <https://doi.org/10.52403/ijshr.20210721>
- Mohanraj, M., Prabhu, V., & Senthil, R. (2016). Diagnostic methods for early detection of dental caries: A review. *Journal of Applied Dental and Medical Sciences*, *2*(4), 64–71. [No DOI]
- Motallaei, M. N., Yazdani, M., Tebyanian, H., Tahmasebi, E., Alam, M., Abbasi, K., Seifalian, A., Ranjbar, R., & Yazdani, A. (2021). The current strategies in

- controlling oral diseases by herbal and chemical materials. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021, 3423001. <https://doi.org/10.1155/2021/3423001>
- Munteanu, A., Holban, A. M., Păuna, M. R., Imre, M., Farcașiu, A. T., & Farcașiu, C. (2022). Review of professionally applied fluorides for preventing dental caries in children and adolescents. *Applied Sciences*, 12(3), 1054. <https://doi.org/10.3390/app12031054>
- Nagarathna, C., & Aishwarya, N. (2019). In vivo assessment of plaque accumulation for caries risk in children. *Journal of Health Sciences & Research*, 10(1), 7–10. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10042-1077>
- National Institutes of Health Office of Dietary Supplements. (2025). *Probiotics: Health professional fact sheet*. <https://ods.od.nih.gov/factsheets/Probiotics-HealthProfessional/>
- Nisha, S., Samyuktha, G., Shashikumar, P., & Chandra, S. (2017). Periodontal disease – Historical and contemporary hypothesis: A review. *SRM Journal of Research in Dental Sciences*, 8(3), 121–125. https://doi.org/10.4103/srmjrds.srmjrds_15_17
- Parichat, P., & Pongsak, R. (2023). Probiotics: Sources, selection and health benefits. *Research Journal of Biotechnology*, 18(5), 102–113. <https://doi.org/10.25303/1805rjbt1020113>
- Philip, N., Suneja, B., & Walsh, L. J. (2018). Ecological approaches to dental caries prevention: Paradigm shift or shibboleth? *Caries Research*, 52(1–2), 153–165. <https://doi.org/10.1159/000484985>
- Pitts, N. (2016). Understanding dental caries: From pathogenesis to prevention and therapy. In *Understanding dental caries: From pathogenesis to prevention and therapy* (pp. 3–9). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-319-30552-3_1
- Pitts, N. B., Zero, D. T., Marsh, P. D., Ekstrand, K., Weintraub, J. A., Ramos-Gomez, F., Tagami, J., Twetman, S., Tsakos, G., & Ismail, A. (2017). Dental caries. *Nature Reviews Disease Primers*, 3, 17030. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.30>
- Pyclik, M., Srutkova, D., Schwarzer, M., & Górska, S. (2020). Bifidobacteria cell wall-derived exopolysaccharides, lipoteichoic acids, peptidoglycans, polar lipids and proteins: Their chemical structure and biological attributes. *International Journal of Biological Macromolecules*, 147, 333–349. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.227>

- Rathee, M., & Sapra, A. (2023). Dental caries. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551699/>
- Rebelo, M. B., Oliveira, C. S., & Tavaría, F. K. (2023). Novel strategies for preventing dysbiosis in the oral cavity. *Frontiers in Bioscience – Elite Edition*, 15(4), 23–35.
<https://doi.org/10.31083/j.fbe1504023>
- Reddy, R. S., Swapna, L. A., Ramesh, T., Singh, T. R., Vijayalaxmi, N., & Lavanya, R. (2011). Bacteria in oral health: Probiotics and prebiotics – A review. *International Journal of Biological & Medical Research*, 2(4), 1226–1233.
<https://www.researchgate.net/publication/266806606>
- Roberts, W. E., Mangum, J. E., & Schneider, P. M. (2022). Pathophysiology of demineralization, Part I: Attrition, erosion, abfraction, and noncarious cervical lesions. *Current Osteoporosis Reports*, 20(1), 90–100.
<https://doi.org/10.1007/s11914-022-00722-1>
- Salas-Jara, M. J., Ilabaca, A., Vega, M., & García, A. (2016). Biofilm forming *Lactobacillus*: New challenges for the development of probiotics. *Microorganisms*, 4(3), 35. <https://doi.org/10.3390/microorganisms4030035>
- Salim, H. P., Mallikarjun, S. B., Raju, S., & Surendranath, A. R. (2023). Randomized clinical trial of oral probiotic *Streptococcus salivarius* M18 on salivary *Streptococcus mutans* in preprimary children. *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 16(2), 259–263. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10005-2527>
- Sanders, M. E., Merenstein, D. J., Ouwehand, A. C., Reid, G., Salminen, S., Cabana, M. D., Paraskevagos, G., & Leyer, G. (2016). Probiotic use in at-risk populations. *Journal of the American Pharmacists Association*, 56(6), 680–686.
<https://doi.org/10.1016/j.japh.2016.07.001>
- Sanders, M. E., Merenstein, D., Merrifield, C. A., & Hutkins, R. (2018). Probiotics for human use. *Nutrition Bulletin*, 43(3), 212–225. <https://doi.org/10.1111/nbu.12334>
- Sarita, B., Samadhan, D., Hassan, M. Z., & Kovaleva, E. G. (2025). A comprehensive review of probiotics and human health: Current prospective and applications. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1487641.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1487641>
- Schneider, S., Schilling, L., & Osenbrügge, N. (2021). Determinants of soft drink consumption among children and adolescents in developed countries: A systematic

- review. *Central European Journal of Public Health*, 29(4), 290–300. <https://doi.org/10.21101/cejph.a6755>
- Schwendicke, F., Frencken, J. E., Bjørndal, L., Maltz, M., Manton, D. J., Ricketts, D., Van Landuyt, K., Banerjee, A., Campus, G., Doméjean, S., Fontana, M., Leal, S., Lo, E., Machiulskiene, V., Schulte, A., Splieth, C., Zandona, A. F., & Innes, N. P. T. (2016). Managing carious lesions. *Advances in Dental Research*, 28(2), 58–67. <https://doi.org/10.1177/0022034516639271>
- Shi, J., Wang, Q., Ruan, G., Chen, Y., Zhao, M., Shi, D., Pan, B., Xu, Z., Zhang, T., Wang, F., & Xu, C. (2023). *Efficacy of probiotics against dental caries in children: a systematic review and meta-analysis*. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(29), 9977–9994. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2077693>
- Siddiqui, A. A. (2022). The preventions of dental caries in children: A short scoping review. *Open Access Journal of Biomedical Science*, 4(2), 416. <https://doi.org/10.38125/oajbs.000416>
- Słotwińska, M., Kaźmierczyk-Winciorek, M., Nędzi-Góra, M., & Słotwińska, S. M. (2020). The immunomodulating role of probiotics in the prevention and treatment of oral diseases. *Central-European Journal of Immunology*, 45(4), 469–474. <https://doi.org/10.5114/ceji.2021.104412>
- Spatafora, G., Li, Y., He, X., Cowan, A., & Tanner, A. C. R. (2024). The evolving microbiome of dental caries. *Microorganisms*, 12(1), 121. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12010121>
- Spielman, A. I. (2023). Early Neolithic tradition of dentistry. In *Illustrated encyclopedia of the history of dentistry*. Springer Nature. <https://doi.org/10.1038/440755a>
- Splieth, C. H., Banerjee, A., Bottenberg, P., Breschi, L., Campus, G., Ekstrand, K. R., Giacaman, R. A., Haak, R., Hannig, M., Hickel, R., Juric, H., Lussi, A., Machiulskiene, V., Manton, D. J., Jablonski-Momeni, A., Opdam, N. J. M., Paris, S., Santamaría, R. M., Schwendicke, F., Doméjean, S. (2020). How to intervene in the caries process in children: A joint ORCA and EFCD expert Delphi consensus statement. *Caries Research*, 54(4), 297–305. <https://doi.org/10.1159/000507692>
- Stanhope, J., Salter, A., & Weinstein, P. (2023). “A wolf in sheep’s clothing”: When so-called placebo interventions are not what they seem. *Medical Journal of Australia*, 218(6), 244–246. <https://doi.org/10.5694/mja2.51881>
- Stein, C., Santos, N. M. L., Hilgert, J. B., & Hugo, F. N. (2018). Effectiveness of oral health education on oral hygiene and dental caries in schoolchildren: Systematic

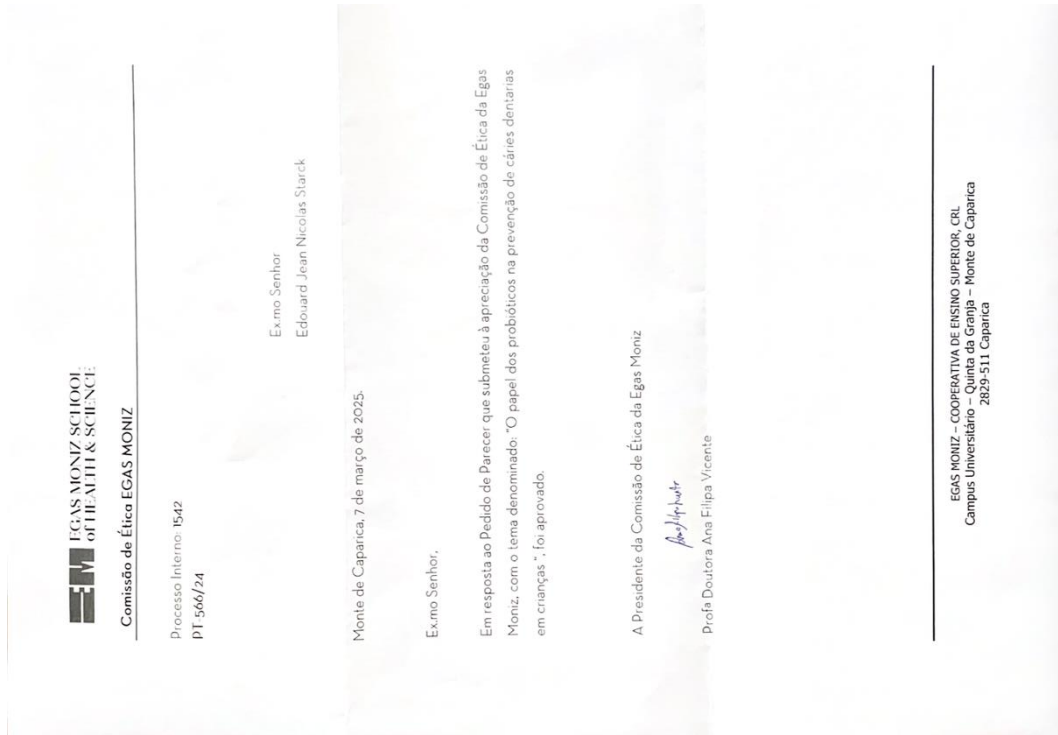
- review and meta-analysis. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*, 46(1), 30–37. <https://doi.org/10.1111/cdoe.12325>
- Sterzenbach, T., Helbig, R., Hannig, C., & Hannig, M. (2020). Bioadhesion in the oral cavity and approaches for biofilm management by surface modifications. *Clinical Oral Investigations*, 24(12), 4167–4182. <https://doi.org/10.1007/s00784-020-03646-1>
- Sun, H., Cui, X., Li, R., Guo, J., & Dong, R. (2021). Ensiling process for efficient biogas production from lignocellulosic substrates: Methods, mechanisms, and measures. *Bioresource Technology*, 342, 125928. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125928>
- Tagg, J. R., Harold, L. K., Jain, R., & Hale, J. D. F. (2023). Beneficial modulation of human health in the oral cavity and beyond using bacteriocin-like inhibitory substance-producing streptococcal probiotics. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1161155. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1161155>
- Tantray, J. A., Mansoor, S., Wani, R. F. C., & Nissa, N. U. (2023). pH meter: Its use and calibration. In *Basic life science methods* (pp. 9–10). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-443-19174-9.00003-9>
- Tulek, A., Mulic, A., Runningen, M., Lillemo, J., Utheim, T. P., Khan, Q., & Sehic, A. (2021). Genetic aspects of dental erosive wear and dental caries. *International Journal of Dentistry*, 2021, 1–9. Hindawi Limited. <https://doi.org/10.1155/2021/5566733>
- Twetman, S., & Keller, M. K. (2012). Probiotics for caries prevention and control. *Advances in Dental Research*, 24(2), 98–102. <https://doi.org/10.1177/0022034512449465>
- Twetman, S., & Stecksén-Blicks, C. (2008). Probiotics and oral health effects in children. *International Journal of Paediatric Dentistry*, 18(1), 3–10. <https://doi.org/10.1111/j.1365-263X.2007.00885.x>
- Uchida, H., & Ovitt, C. E. (2022). Novel impacts of saliva with regard to oral health. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 127(3), 383–391. <https://doi.org/10.1016/j.prosdent.2021.05.009>
- Udawatte, N. S., Liu, C., Staples, R., Han, P., Kumar, P. S., Arumugam, T. V., Ivanovski, S., & Seneviratne, C. J. (2025). Short-term probiotic colonization alters molecular dynamics of 3D oral biofilms. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(13), 6403. <https://doi.org/10.3390/ijms26136403>

- Van Meijeren-van Lunteren, A. W., You, Y., Raat, H., Wolvius, E. B., & Kragt, L. (2023). Caries preventive interventions and oral health inequalities: A scoping review. *JDR Clinical and Translational Research*, 8(4), 311–325. <https://doi.org/10.1177/23800844221109116>
- Veenman, F., van Dijk, A., Arredondo, A., Medina-Gomez, C., Wolvius, E., Rivadeneira, F., Álvarez, G., Blanc, V., & Kragt, L. (2024). Oral microbiota of adolescents with dental caries: A systematic review. *Archives of Oral Biology*, 161, 105933. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2024.105933>
- Villavicencio, J., Villegas, L. M., Arango, M. C., Arias, S., & Triana, F. (2018). Effects of a food enriched with probiotics on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* spp. salivary counts in preschool children: A cluster randomized trial. *Journal of Applied Oral Science*, 26, e20170318. <https://doi.org/10.1590/1678-7757-2017-0318>
- Walsh, T., Macey, R., Ricketts, D., Carrasco Labra, A., Worthington, H., Sutton, A. J., Freeman, S., Glenny, A. M., Riley, P., Clarkson, J., & Cerullo, E. (2022). Enamel caries detection and diagnosis: An analysis of systematic reviews. *Journal of Dental Research*, 101(3), 261–269. <https://doi.org/10.1177/00220345211042795>
- World Gastroenterology Organisation. (2023). *Global guidelines: Probiotics and prebiotics*. <https://www.worldgastroenterology.org>
- World Health Organization. (2019). *Preventing disease through healthy environments: Inadequate or excess fluoride—A major public health concern*. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/329481>
- World Health Organization. (2024). *Oral health*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/oral-health>
- Yadav, P., Agarwal, G., Ingle, N. A., Kaur, N., Ingle, E., & Charania, Z. (2015). Probiotics and oral health: A review. *Journal of International Oral Health*, 7(10), 128–132. <https://www.researchgate.net/publication/283443188>
- Yang, S., & Berdine, G. (2023). Small sample size. *Southwest Respiratory and Critical Care Chronicles*, 11(49), 317–319. <https://doi.org/10.12746/swrccc.v11i49.1251>
- Yu, O. Y., Lam, W. Y. H., Wong, A. W. Y., Duangthip, D., & Chu, C. H. (2021). Nonrestorative management of dental caries. *Dentistry Journal*, 9(10), 121. <https://doi.org/10.3390/dj9100121>
- Zabokova Bilbilova, E. (2020). Dietary factors, salivary parameters, and dental caries. In *Dental caries* (pp. 1–14). IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.92392>

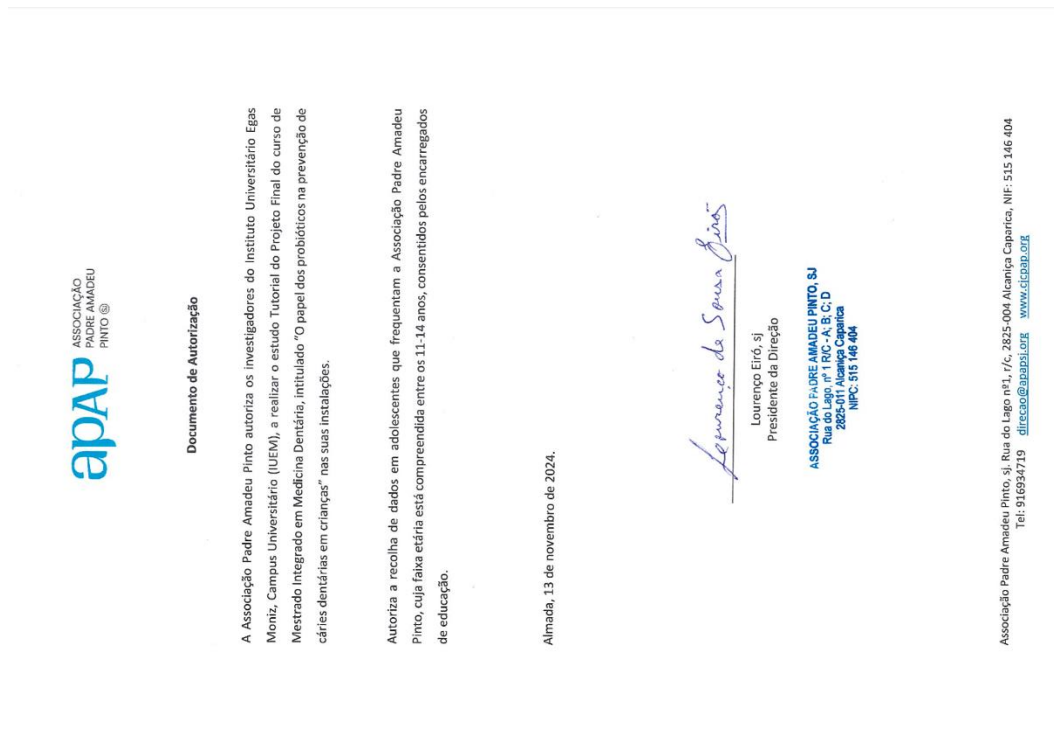
- Zeng, Y., Youssef, M., Wang, L., Alkhars, N., Thomas, M., Cacciato, R., Qing, S., Ly-Mapes, O., & Xiao, J. (2020). Identification of non-*Streptococcus mutans* bacteria from predente infant saliva grown on mitis-salivarius-bacitracin agar. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, *44*(1), 28–34. <https://doi.org/10.17796/1053-4625-44.1.5>
- Zhang, D., Jiang, H., Chen, J., & Wang, X. (2022). Buffering capacity of saliva influences the perception of acid-related sensory properties. *Food Quality and Preference*, *97*, 104454. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2021.104454>
- Zhu, Y., Wang, Y., Zhang, S., Li, J., Li, X., Ying, Y., Yuan, J., Chen, K., Deng, S., & Wang, Q. (2023). Association of polymicrobial interactions with dental caries development and prevention. *Frontiers in Microbiology*, *14*, 1162380. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1162380>
- Zommiti, M., Feuilleley, M. G. J., & Connil, N. (2020). Update of probiotics in human world: A nonstop source of benefactions till the end of time. *Microorganisms*, *8*(12), 1907. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8121907>

7. ANEXOS

Anexo 1 - Carta de Aprovação da Comissão de Ética da Egas Moniz



Anexo 2 - Documento de autorização para realizar o estudo no Centro Juvenil e Comunitário Padre Amadeu Pinto



Anexo 3 - Consentimento informado



EGAS MONIZ SCHOOL
OF HEALTH & SCIENCE

Consentimento Informado

Código | IMP-EM-FE-17_03

Monte de Caparica, _____ de _____ 2025

Exmo. (a) Sr. (a),

No âmbito do mestrado integrado em Medicina Dentária, na Unidade Curricular de Orientação Tutorial de Projeto Final na Egas Moniz School of Health & Science, sob a orientação da Prof. Doutora Cecília Rozan, solicita-se autorização para a participação no projeto intitulado "O papel dos probióticos na prevenção de cáries dentárias em crianças" destinado à população do Centro Juvenil e Comunitário Padre Amadeu Pinto, com idades entre 6 e 14 anos. O objetivo do estudo é determinar o efeito de um comprimido que contém probióticos (bactérias "boas") no controlo da placa que fica aderida aos dentes e no controlo da bactéria que é responsável pela doença "cárie dentária". A participação neste estudo implica duas consultas:

- Uma consulta inicial onde será aplicado um questionário para avaliar os hábitos de higiene oral da população em estudo, seguido de recolha de saliva e observação da cavidade oral. De seguida, será realizada uma motivação à higiene oral. Este procedimento demora aproximadamente 20 minutos;
- Cada paciente deverá tomar um comprimido (probiótico, no grupo estudo, ou pastilha de stévia, no grupo placebo) por dia durante 30 dias depois de escovar os dentes;
- Uma consulta final onde será repetido todo o procedimento da consulta inicial.

A participação neste estudo é voluntária. A sua não participação não lhe trará qualquer prejuízo.

Este estudo pode trazer benefícios tais como a diminuição do risco de cárie dentária, melhoria da saúde oral e melhoria dos conhecimentos da higiene oral. Este estudo pode apresentar alguns riscos associados ao uso de probióticos, como distúrbios digestivos. Estas reações são temporárias e reversíveis.

A informação recolhida destina-se unicamente a tratamento estatístico e/ou publicação e será tratada pelo(s) orientador(es) e/ou pelos seus mandatados. A sua recolha é anónima e confidencial.

Egas Moniz - Cooperativa de Ensino Superior, CRL
Campus Universitário - Quinta da Granja
Rua do Campo Alegre, 1005-016 Monte de Caparica, Portugal
NIF 504 218 611



EGAS MONIZ SCHOOL
OF HEALTH & SCIENCE

Consentimento Informado

Código | IMP-EM-FE-17_03

(Riscar o que não interessa)

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

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

(Assinatura do investigador responsável pelo estudo)

Egas Moniz - Cooperativa de Ensino Superior, CRL
Campus Universitário - Quinta da Granja
Rua do Campo Alegre, 1005-016 Monte de Caparica, Portugal
NIF 504 218 611

Anexo 4 - Questionário inicial

Número: _____
Data: ____/____/____

**EGAS MONIZ SCHOOL
OF HEALTH & SCIENCE**

Questionário Inicial
"O papel dos probióticos na prevenção de cáries dentárias em crianças"
Estudo conduzido pelo aluno Edouard Starck sob a orientação da Professora Doutora Cecília Rozan.

No âmbito do Projeto Final do Mestrado Integrado em Medicina Dentária, do Instituto Universitário Egas Moniz, solicito a sua participação no estudo "O papel dos probióticos na prevenção de cáries dentárias em crianças" através da realização do seguinte questionário.
Obrigada pela sua colaboração.

1. História Clínica

1.1. Idade (anos): _____

1.2. Etnia:
 Caucasiana
 Negra
 Asiática
 Outra
 Não sabe/não responde

1.3. Género:
 F
 M
 Outro
 Não sabe/não responde

1.4. Nível de escolaridade:
 Básico
 Secundário
 Não sabe/não responde

1.5. Fez um tratamento antibiótico ou com probióticos nos últimos 30 dias ou usou antibióticos sistémicos ou corticosteroides nas últimas 4 semanas?
 Sim
 Não
 Não sabe/não responde

1

**EGAS MONIZ SCHOOL
OF HEALTH & SCIENCE**

Questionário Inicial
"O papel dos probióticos na prevenção de cáries dentárias em crianças"
Estudo conduzido pelo aluno Edouard Starck sob a orientação da Professora Doutora Cecília Rozan.

1.6. Tem alergia/as ao/aos componentes/es seguintes :
 Vitamina D3 (colecalfiferol)
 Sorbitol
 Fruto-oligosacarídeos (FOS) e Inulina
 Estearato de magnésio
 Óleo vegetal (coco)
 Isomalt
 Glicósidos de estéviol (stevia)
 Ácido málico
 Cenoura
 Marango
 Não sabe/não responde

1.7. Tem ou já teve uma doença específica a mencionar?
 Doença cardíaca
 Doença renal
 Doença hepática
 Doença da tireóide
 Hipertensão
 Epilepsia
 Asma
 Doença pulmonar
 Diabetes
 Câncer
 AVC
 Doenças autoimunes ou imunodeficiências
 Não sabe/não responde

2

Questionário Inicial

"O papel dos probióticos na prevenção de cáries dentárias em crianças"
Estudo conduzido pelo aluno Edouard Starck sob a orientação da Professora Doutora Cecília Rozan.

- Tratar um dente
- Tirar um dente
- Outro
- Não sabe/não responde

3. Autopercepção da saúde oral

3.1. De 0 a 10 como avalia o estado geral dos seus dentes?

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Péssimo										Perfeito

3.2. De 0 a 10 como avalia o estado geral da sua gengiva?

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Péssimo										Perfeito

3.3. Sentiu dor recentemente? Se sim, avalia esta dor de 0 a 10:

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Péssimo										Perfeito

3.4. Já sentiu vergonha ou ficou incomodado(a) de sorrir por causa dos seus dentes?

- Sim
- Não
- Não sabe/não responde

3.5. Sabe por que é importante escovar os dentes?

- Sim
- Não
- Não sabe/não responde

Questionário Inicial

"O papel dos probióticos na prevenção de cáries dentárias em crianças"
Estudo conduzido pelo aluno Edouard Starck sob a orientação da Professora Doutora Cecília Rozan.

2. Hábitos de Higiene Oral

2.1. Escovagem dos dentes

- Nunca
- Às vezes
- Uma vez por dia
- Duas ou mais vezes por dia
- Não sabe/não responde

2.2. Tem ajuda para lavar os seus dentes?

- Sim
- Não
- Não sabe/não responde

2.3. Uso de flúor

- Dentífrico
- Solução bochecho
- Outro
- Não sabe/não responde

2.4. Última visita ao dentista

- Há menos de um ano
- Há mais de um ano
- Não sabe/não responde

2.5. Motivo da última visita ao dentista

- Rotina
- Limpeza

Questionário Inicial

"O papel dos probióticos na prevenção de cáries dentárias em crianças"
Estudo conduzido pelo aluno Edouard Starck sob a orientação da Professora Doutora Cecília Rozan.

Índice Gingival de Silness e Løe (IG-r):

D	18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28	D	37	38
V																	V		
M																	M		
P																	P		
L																	L		
D																	D		
M																	M		
V																	V		
	48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38			
				85	84	83	82	81	71	72	73	74	75						

Código	Critério
0	Gengiva sã. Não apresenta inchaço, alteração de cor nem hemorragia à sondagem
1	Ligeira inflamação. Apresenta ligeiro edema e ligeira alteração de cor, embora sem hemorragia à sondagem
2	Inflamação moderada. Apresenta edema e vermelhidão moderados, com hemorragia à sondagem
3	Inflamação acentuada. Apresenta edema, ulceração, vermelhidão acentuada e tendência a hemorragia espontânea

Questionário Inicial

"O papel dos probióticos na prevenção de cáries dentárias em crianças"
Estudo conduzido pelo aluno Edouard Starck sob a orientação da Professora Doutora Cecília Rozan.

Índice de Placa de Silness e Løe (IP6):

D	18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28	D	37	38
V																	V		
M																	M		
P																	P		
L																	L		
D																	D		
M																	M		
V																	V		
	48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38			
				85	84	83	82	81	71	72	73	74	75						

Código	Critério
0	Ausência de placa na zona gengival Ausência de placa bacteriana visível a olho nu, no entanto há presença de uma fina película de placa bacteriana aderida à margem gengival livre e à área adjacente do dente. Só é visível passando com a sonda na superfície do dente ou utilizando revelador de placa bacteriana
2	Acumulação moderada de placa visível a olho nu
3	Acumulação abundante de placa visível a olho nu, presente na margem gengival ou na superfície do dente, podendo haver presença de tártaro

Anexo 5 - Questionário final



Número: _____
Data: ____/____/____

Questionário Final

"O papel dos probióticos na prevenção de cáries dentárias em crianças"
Estudo conduzido pelo aluno Eduardo Starck sob a orientação da Professora Doutora Cecília Rozan.

2. Tolerância ao tratamento

2.1. Teve algum desconforto na boca enquanto tomava os probióticos?

- Sim
 Não
 Não sabe/não responde

2.2. Teve dificuldade para tomar os probióticos diariamente?

- Sim
 Não
 Não sabe/não responde

3. Mudanças na saúde oral

3.1. Percebeu que seus dentes ficaram mais fortes enquanto tomava os probióticos?

- Sim
 Não
 Não sabe/não responde

3.2. Se já tinha dor antes do tratamento, teve menos dor de dente enquanto tomava os probióticos?

- Sim
 Não
 Não sabe/não responde

2

Questionário Final

"O papel dos probióticos na prevenção de cáries dentárias em crianças"
Estudo conduzido pelo aluno Eduardo Starck sob a orientação da Professora Doutora Cecília Rozan.

1. Mudanças na Higiene Oral

1.1. Nos últimos 30 dias, com que frequência escovou os dentes por dia?

- Nunca
 Às vezes
 Uma vez por dia
 Duas ou mais vezes por dia
 Não sabe/não responde

1.2. Tem sido mais rigoroso nos seus hábitos de higienização oral nos últimos 30 dias?

- Sim
 Não
 Não sabe/não responde

1.3. Percebeu alguma mudança no cheiro da sua boca (hálito) durante o uso dos probióticos?

- Sim
 Não
 Não sabe/não responde

1.4. Seus dentes pareciam mais limpos depois de tomar os probióticos?

- Sim
 Não
 Não sabe/não responde

1.5. Acha que os probióticos ajudaram a manter seus dentes saudáveis?

- Sim
 Não
 Não sabe/não responde

1

Anexo 6 – Protocolo de determinação de saliva estimulada mecanicamente



Protocolo de determinação da saliva estimulada mecanicamente

"O papel dos probióticos na prevenção de cáries dentárias em crianças"

Estudo conduzido pelo aluno Edouard Starck sob a orientação da Professora Doutora Cecília Rozan.

1. Preparar o copo, o tubo graduado e o rolo de algodão, colocando-os sobre um babete estéril disposto numa mesa.
2. Sentar o paciente numa posição relaxada, com os cotovelos apoiados sobre a mesa onde se encontra o babete estéril.
3. Pedir ao paciente para mastigar um rolo de algodão estéril.
4. Solicitar ao paciente que incline a cabeça para a frente para deixar cair a saliva no copo disponibilizado.
5. Descartar a saliva dos primeiros 2 minutos. Colocar o tubo graduado e recolher a saliva segregada pelo paciente até atingir uma quantidade mínima de 2 mL (se houver produção de espuma em excesso, colocar o tubo graduado num recipiente com gelo).
6. Quando tiver uma quantidade suficiente, pedir ao paciente para cuspir o resto da saliva que ainda estiver na boca. Fechar o tubo graduado.