

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
RESIDÊNCIA INTEGRADA EM SAÚDE BUCAL  
ÁREA DE PERIODONTIA

JULIANE GONÇALVES DA FONSECA

**BIOFILME DENTAL DE PACIENTES SINTOMÁTICOS COM COVID-19 ABRIGA  
SARS-COV-2**

Porto Alegre

2021

JULIANE GONÇALVES DA FONSECA

**BIOFILME DENTAL DE PACIENTES SINTOMÁTICOS COM COVID-19 ABRIGA  
SARS-COV-2**

Trabalho de conclusão de curso de residência apresentado à Residência Integrada em Saúde Bucal – Periodontia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a obtenção do título de especialista em Periodontia.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Sabrina Carvalho  
Gomes

Porto Alegre

2021

Dedico este trabalho àqueles que nunca cedem ao medo do desconhecido e acreditam nas minhas escolhas: pai, Enedir Martins da Fonseca (*in memoriam*), mãe, Oraceli Gonçalves da Fonseca, e irmão, Enedir Martins da Fonseca Junior.

## AGRADECIMENTOS

Por acreditar que ainda mais importante que conquistar é ter com quem compartilhar, faço deste um espaço necessário. Agradeço tudo e todos que calçaram trilhas esburacadas para tornar possível a travessia deste trajeto, aos que abriram meus olhos diante os momentos que fechei sem a perspectiva de enxergar o fim, e todas as forças que atuaram quando a minha falhou.

Ao longo destes dois anos eu tive o privilégio de contar com a saúde da minha mãe, que usou disso para reunir esforços além dos habituais para me ofertar assistência em todos os âmbitos da vida. Ainda, contei com a sabedoria e perspicácia do meu irmão para me guiar nas decisões mais importantes. À vocês, meus amores maiores, palavras nunca serão suficientes, mas deixo aqui exposta minha eterna gratidão.

Elevadas na mesma importância que minha família, agradeço às minhas colegas, que hoje tenho a honra de chamar de amigas, minha R2 Sabrina Fachin e minha R1 Larissa Weber. Obrigada pela paciência, sensibilidade e camaradagem no dia-a-dia. Se eu tivesse como escolher minhas duplas, não teria acertado tanto!

Tamanha minha sorte em contar com uma rede de apoio tão extensa, mas é impossível não citar o nome do responsável por eu ter optado pela Residência como forma de educação continuada. Professor Matheus Neves, obrigada por ter sido meu norte diante tanta indecisão, mas, principalmente, por ter aguentado as consequências disso durante todos os dias desses dois anos.

Também inevitavelmente, deixo meus agradecimentos à família Reolon pelo acolhimento, abrigo, segurança e carinho. Não consigo imaginar o que seria desta jornada sem o suporte de vocês. Obrigada por tornarem isso tudo mais leve.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul e Faculdade de Odontologia, que me proporcionaram 7 anos de educação pública e de qualidade; às Professoras Sabrina Gomes e Patrícia Angst, que foram muito além da Periodontia para me possibilitar crescer; e todos os espaços que me foram abertos para auxiliar na construção da profissional de saúde que venho me tornando: meu muito obrigada!

## RESUMO

A síndrome respiratória aguda grave causada pelo novo coronavírus (COVID-19) foi conhecida no final de 2019 e desde então preocupa autoridades sanitárias ao redor do mundo. A doença é transmitida pela inalação ou contato com gotículas infectadas. No entanto, existem sugestões de que a transmissão possa dar-se de forma indireta também. Assim, é inegável a necessidade de conhecimento adequado das possíveis formas de contágio. Embora se saiba que o SARS-CoV-2 é um vírus capaz de colonizar uma ampla gama de nichos no corpo humano, sua presença no biofilme dental não está comprovada. O objetivo do estudo foi investigar a hipótese de que o biofilme dental pode abrigar o SARS-CoV-2 em indivíduos sintomáticos e positivos em amostras nasofaríngeas e orofaríngeas. Foi realizado um estudo clínico observacional de indivíduos com sintomas semelhantes aos da gripe entre julho e setembro de 2020. Amostras de biofilme dental (BIO) foram coletadas e analisadas usando reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real (RT-qPCR) para determinar a presença do vírus. Setenta participantes ( $40 \pm 9,8$  anos de idade, 71,4% mulheres) testaram positivo para presença de RNA do SARS-CoV-2 em amostras NASO/ORO e foram incluídos no estudo. Entre eles, 13 testaram positivo em amostras BIO (18,6%; IC 95%: [9,5, 27,7]). O intervalo mediano e interquartil da cicloquantificação (Cq) para amostras NASO/ORO e BIO foram 15,9 [6,9] e 35,9 [4,0] ( $p = 0,001$ ), respectivamente. Os participantes BIO-positivos mostraram uma carga de vírus mais alta em amostras NASO/ORO ( $p = 0,012$ ) do que aqueles com teste negativo (Cq = 20,4 [6,1]). Assim, é possível concluir que o biofilme dental de pacientes sintomáticos com COVID-19 abrigam RNA do SARS-CoV-2 e pode ser um potencial reservatório com um papel essencial na transmissão de COVID-19.

Palavras-chave: SARS-CoV-2, COVID-19, placa dentária, estudo observacional, pandemias.

## APRESENTAÇÃO

O presente trabalho de conclusão do curso de residência apresenta um estudo observacional, intitulado **Biofilme Dental De Pacientes Sintomáticos Com Covid-19 Abriga Sars-Cov-2**. O artigo foi publicado no mês de julho de 2021 pela revista **Journal Of Clinical Periodontology** (doi:10.1111/JCPE.13471) e seguiu as normas de formatação da mesma. A equipe de pesquisa foi composta por cinco professores e duas cirurgiãs-dentistas residentes em saúde bucal/periodontia, todos vinculados à Universidade Federal do Rio Grande do Sul. O trabalho foi realizado no Serviço de Medicina Ocupacional do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, onde eram atendidos os funcionários com sintomas semelhantes aos gripais. A pesquisa foi desenvolvida para suprir a necessidade confirmação da hipótese de presença de SARS-CoV-2 em biofilme dental. A relevância dos achados se dá ao fato de que a descoberta dos nichos que o vírus pode ser abrigado serve como uma forma de controlar a sua transmissão. O protocolo do estudo foi aprovado em 9 de junho de 2020, pelo Comitê de Ética do HCPA (CAAE: 30801120.0.0000.5327). Este estudo seguiu as diretrizes da declaração STARD.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	4
APRESENTAÇÃO.....	5
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>8</b>
<b>2 ARTIGO CIENTÍFICO .....</b>	<b>10</b>
RESUMO .....	12
ABSTRACT .....	12
Introdução.....	13
Materiais e Métodos .....	14
Resultados.....	16
Discussão .....	17
Referências .....	20
<b>3 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>26</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>27</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A síndrome respiratória aguda grave causada pelo novo coronavírus (COVID-19), denominada SARS-CoV-2, foi conhecida no final de 2019 e desde então preocupa autoridades sanitárias ao redor do mundo. A velocidade da contaminação pelo COVID-19, maior do que a observada em outras síndromes respiratórias (MEO et al., 2020, YI et al., 2020) é preocupante e ainda são levantadas questões sobre o escopo das medidas de controle disponíveis (ADHIKARI et al., 2020; XU; LI, 2020)

Apesar de testes e vacinas já terem eficácia comprovada, as intervenções não farmacêuticas, como distanciamento social, uso de máscaras faciais, medidas de higiene, esforços de diagnóstico maciços, rastreamento de contatos e quarentena continuam sendo as melhores opções para tentar interromper a propagação do vírus, evitando assim o contágio entre as pessoas (WIERSINGA et al., 2020; CHENG et al., 2020). De acordo com a literatura, a doença é transmitida pela inalação ou contato com gotículas infectadas (olhos, nariz e boca). No entanto, existem sugestões de que a transmissão possa dar-se de forma indireta também (CAI et al., 2020).

Nesse sentido, o conhecimento sobre os nichos capazes de abrigar o vírus SARS-CoV-2 é de importância inquestionável como forma de controle da propagação do vírus. Uma meta-análise recente avaliou a presença de SARSCoV-2 em diferentes espécimes clínicos. Os resultados mostraram que o SARS-CoV-2 foi detectado em amostras de nasofaringe e orofaringe, secreções do trato respiratório inferior, fluido de lavagem bronco alveolar, cotonetes retal, sangue e fezes (BWIRE et al., 2021). A literatura também identifica a saliva como uma das rotas mais críticas para a transmissão interindividual do SARS-COV-2 (CHENG et al., 2020; LI et al., 2020; WANG et al., 2004). No entanto, a saliva não é o único nicho intra-oral capaz de abrigar vírus e, portanto, é essencial investigar a presença do SARS-CoV-2 em outros nichos orais.

Dentes, sulco gengival, língua, bochechas, palato duro e mole, e amígdalas são nichos que abrigam muitos tipos de microrganismos, (DEWHIRST et al., 2010; TELES et al., 2013) incluindo vírus (BAKER et al., 2017; SLOTS, 2010). No entanto, é o nicho dentário que pode representar um desafio no atual contexto pandêmico, visto que o dente representa um reservatório não descamável e que provê condições de crescimento do biofilme. Este biofilme é conhecido hoje como uma comunidade polimicrobiana que abriga, também, fungos, protozoários, arqueias e vírus (GONZÁLEZ; EBERSOLE; HUANG, 2009; SLOTS, 2010; TELES et al., 2013; ZHANG et al., 2018; SLOTS; SLOTS, 2019). De acordo com Slots, 2015,

vírus presentes nos biofilmes podem se desalojar para a saliva e, assim, alcançar a circulação sanguínea.

Embora se saiba que o SARS-CoV-2 é um vírus muito contagioso, capaz de colonizar uma ampla gama de nichos no corpo humano, sua presença no biofilme dental não está comprovada. Portanto, neste estudo, foi levantada a hipótese de que o biofilme dental pode abrigar o SARS-CoV-2 em indivíduos sintomáticos e positivos em amostras nasofaríngeas e orofaríngeas.

## 2 ARTIGO CIENTÍFICO

### Dental biofilm of symptomatic COVID-19 patients harbors SARS-CoV-2

### Biofilme dental de pacientes sintomáticos com COVID-19 abriga SARS-CoV-2

Sabrina Carvalho Gomes<sup>1,2</sup>, Sabrina Fachin<sup>3</sup>, Juliane Gonçalves da Fonseca<sup>3</sup>, Patrícia Daniela Melchioris Angst<sup>4,2</sup>, Marcelo Lazzaron Lamers<sup>5</sup>, Ilma Simoni Brum da Silva<sup>6</sup>, Luciana Neves Nunes<sup>7</sup>

1 Doutor, Professor Associado, Departamento de Odontologia Conservadora, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

2 Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

3 Dentista, Residente em Periodontia, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

4 Doutor, Professor Adjunto, Departamento de Odontologia Conservadora, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

5 Doutor, Professor Associado, Departamento de Ciências Morfológicas, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

6 PhD, Professor Titular, Departamento de Fisiologia, Instituto de Ciências Básicas de Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

7 Doutor, Professor Associado, Instituto de Matemática e Estatística, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

**Autor Correspondente:**

Sabrina Carvalho Gomes  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Rua Ramiro Barcelos, 2492  
Porto Alegre/RS, Brasil  
ZIP Code: 90035-003  
Phone: +55 51 3308 5318  
Email: [sabrinagomes.perio@gmail.com](mailto:sabrinagomes.perio@gmail.com)

**Declaração de conflito de interesse e fonte de financiamento**

Os autores declaram não haver conflitos de interesse relacionados ao manuscrito. Os autores foram responsáveis pelo financiamento.

**Lógica Científica**

O biofilme dental é composto por vários tipos de microrganismos. Considerando a capacidade deste biofilme carregar vírus, acredita-se na possibilidade do vírus SARS-CoV-2 também colonizar este biofilme.

**Principais Descobertas**

Este é o primeiro relatório sobre o tema na literatura e ressalta a importância de investigar o SARS-CoV-2 em biofilme dental.

**Implicações Práticas**

Os resultados atuais ressaltam uma questão importante em relação aos nichos humanos do SARS-CoV-2 e podem ajudar a estabelecer estratégias de contenção do vírus. Dependendo dos resultados futuros, estratégias para romper o biofilme dental para eliminar SARS-CoV-2 o máximo possível do corpo humano deverão ser consideradas.

## RESUMO

**Objetivo:** O RNA do SARS-CoV-2 foi encontrado em diferentes locais no corpo humano, incluindo a boca. O presente estudo teve como objetivo investigar a presença do RNA do SARS-CoV-2 no biofilme dental de pacientes sintomáticos com teste positivo em amostras de nasofaringe e orofaringe (NASO/ORO). **Materiais e Métodos:** Um estudo clínico observacional de indivíduos com sintomas semelhantes aos da gripe foi realizado entre julho e setembro de 2020. Amostras de biofilme dental (BIO) foram coletadas e analisadas usando reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real (RT-qPCR) para determinar a presença do vírus. **Resultados:** Setenta participantes ( $40 \pm 9,8$  anos de idade, 71,4% mulheres) testaram positivo para presença de RNA do SARS-CoV-2 em amostras NASO/ORO e foram incluídos no estudo. Entre eles, 13 testaram positivo em amostras BIO (18,6%; IC 95%: [9,5, 27,7]). O intervalo mediano e interquartil da cicloquantificação (Cq) para amostras NASO/ORO e BIO foram 15,9 [6,9] e 35,9 [4,0] ( $p = 0,001$ ), respectivamente. Os participantes BIO-positivos mostraram uma carga de vírus mais alta em amostras NASO/ORO ( $p = 0,012$ ) do que aqueles com teste negativo ( $Cq = 20,4 [6,1]$ ). **Conclusões:** Biofilme dental de pacientes sintomáticos com COVID-19 abrigam RNA do SARS-CoV-2 e pode ser um potencial reservatório com um papel essencial na transmissão de COVID-19.

**Palavras-chave:** SARS-CoV-2, COVID-19, placa dentária, estudo observacional, pandemias.

## ABSTRACT

**Aims:** SARS-CoV-2 RNA has been recovered from different sites in the human body, including the mouth. The present study aimed to investigate the presence of SARS-CoV-2 RNA in the dental biofilm of symptomatic patients who tested positive in nasopharyngeal and oropharyngeal (NASO/ORO) samples. **Materials & Methods:** An observational clinical study of individuals with flu-like symptoms was conducted between July and September 2020. Dental biofilm (BIO) samples were collected and analyzed using real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) to determine the virus's presence. **Results:** Seventy participants ( $40 \pm 9.8$  years of age, 71.4% female) tested positive for SARS-CoV-2 RNA in NASO/ORO samples and were included in the study. Among them, 13 tested positive in BIO samples (18.6%; 95% CI: [9.5, 27.7]). The median and interquartile range of cycle quantification (Cq) for NASO/ORO and BIO samples were 15.9 [6.9] and 35.9 [4.0] ( $p=0.001$ ), respectively. BIO-positive participants showed a higher virus load in NASO/ORO samples ( $p=0.012$ ) than those testing negative ( $Cq=20.4 [6.1]$ ). **Conclusions:** Dental biofilms from symptomatic COVID-19 patients harbor SARS-CoV-2 RNA and might be a potential reservoir with an essential role in COVID-19 transmission.

**Keywords:** SARS-CoV-2, COVID-19, dental plaque, observational study, pandemics.

## **Introdução**

Desde que surgiu no final de 2019, a doença coronavírus 2019 (COVID-19), causada pelo vírus SARS-CoV-2, afetou milhões de pessoas em todo o mundo, constituindo uma das mais desafiadoras questões de saúde pública na história da humanidade. Enquanto muitos países ainda estão lidando com a chamada "primeira onda de COVID-19", uma "segunda onda" foi observada, levantando questões sobre o escopo das medidas de controle disponíveis (Adhikari et al., 2020; de Brouwer et al., 2020; Xu & Li, 2020).

Várias intervenções – como distanciamento social, máscaras faciais, medidas de higiene, massivos esforços de diagnóstico, rastreamento de contato e quarentenas – continuam sendo a melhor opção para tentar conter a propagação do vírus, diminuindo assim o risco de contágio entre as pessoas até que haja quantidade suficiente de vacinas (Lewnard & Lo, 2020; Wiersinga et al., 2020).

Compreender os locais dentro do corpo humano capazes de abrigar o RNA do SARS-CoV-2 é crucial para entender os pontos de entrada do vírus e reduzir sua disseminação. Uma meta-análise avaliando a presença de RNA do SARS-CoV-2 em diferentes amostras clínicas detectou RNA viral nas amostras de nasofaringes e orofaringes, secreções do trato respiratório inferior, fluido de lavagem broncoalveolar, esfregaços retais, sangue e fezes (Bwire et al., 2021). A literatura também identifica a saliva como uma das rotas mais críticas de transmissão interindividual de SARS-CoV-2 (Cheng et al., 2020; Li et al., 2020; Wang et al., 2020), e o RNA viral foi recentemente observado em glândulas salivares (Huang et al., 2020).

No entanto, a saliva pode não ser o único nicho intra-oral capaz de abrigar vírus. Portanto, é essencial para investigar a presença de RNA do SARS-CoV-2 em outros locais intra-orais. Os dentes, sulco gengival, língua, mucosa da bochecha, palatos duro e mole e amígdalas são todos nichos que abrigam vários tipos de microrganismos (Dewhirst et al., 2010; Teles et al., 2013), incluindo vírus (Baker et al., 2017; Slots, 2010). Recentemente, o RNA do SARS-CoV-2 foi detectado no fluido crevicular gengival (Gupta et al., 2021).

Além disso, a estrutura do dente e os tecidos adjacentes podem representar um potencial local de abrigo do vírus no contexto da atual pandemia. Uma vez que os dentes têm uma superfície não solta, eles abrigam microrganismos no biofilme da superfície, que podem resistir às defesas inflamatórias e imunológicas do hospedeiro e tratamentos farmacêuticos, a menos que seja rompido mecanicamente (Bjarnsholt et al., 2018; Harrel & Molinari, 2004). Ainda, o processo de formação e maturação do biofilme pressupõe uma fase de desprendimento, durante a qual os microrganismos podem se deslocar para outras partes do corpo humano (Talsma, 2007). De

acordo com a literatura, os vírus do biofilme dental também podem se infiltrar na corrente sanguínea (Slots, 2015).

O SARS-CoV-2 depende da presença de receptores da enzima conversora de angiotensina II (ACE2) – que exibem alta expressão nas células epiteliais da mucosa oral (Xu et al., 2020) – para aderir, entrar e se multiplicar, levando à infecção. Alternativamente, ele também pode permanecer no estágio viral (ou seja, uma partícula viral completa que constitui uma forma infecciosa de um vírus fora da célula hospedeira; Lodish et al., 2000).

Até o momento, a presença de SARS-CoV-2 no biofilme dental não foi explorada. O presente estudo foi desenvolvido para explorar a presença do RNA de SARS-CoV-2 no biofilme dental de pacientes sintomáticos com teste positivo em amostras de nasofaringe e orofaringe (NASO/ORO).

## **Materiais e Métodos**

### **Considerações éticas**

Um estudo clínico observacional foi realizado no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), que é afiliado à Universidade Federal do Rio Grande do Sul em Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. O protocolo do estudo foi aprovado em 09 de junho de 2020, pelo Comitê de Ética do HCPA (CAAE: 30801120.0.0000.5327). Este estudo seguiu as diretrizes da declaração STARD.

### **Seleção de amostra e coleta de dados**

De acordo com o protocolo do hospital, todos os profissionais da instituição com sintomas semelhantes aos da gripe devem ser testados para SARS-CoV-2 no serviço de medicina ocupacional (SMO). Aqueles que procuraram consulta entre 14 de julho e 9 de setembro de 2020, foram recrutados para o presente estudo. Aqueles que atenderam aos critérios de elegibilidade do estudo, assinaram o termo de consentimento informado e testaram positivo para RNA viral nas amostras NASO/ORO foram incluídos no estudo, compondo a amostra. Os dados demográficos foram coletados para definir as características de todos os indivíduos participantes do estudo.

Após serem examinados pela equipe médica, amostras de biofilme foram coletadas dos participantes por dois dentistas treinados (SF e JF). Antes da coleta da amostra, os indivíduos enxaguaram a boca com água duas vezes, por um minuto cada vez. No entanto, dada a possibilidade de que cuspir água liberaria gotículas no ambiente, os participantes receberam um copo de água mineral para enxaguar suas bocas e foram instruídos a engolir ao terminar. Além

disso, durante a coleta, as bochechas, língua, e os lábios foram afastados usando uma espátula de madeira esterilizada, e rolos de algodão foram colocados na parte inferior dos vestibulos labial e lingual. Durante a coleta de biofilme, o número de dentes e presença de biofilme dental visível foram registrados. Cotonetes dentais esterilizados (tamanho normal; escova KG Sorensen, São Paulo, SP, Brasil) foram usados para coletar o biofilme dental da região dento-gengival; as amostras foram coletadas das superfícies vestibular e lingual de todos dentes (vestibular superior direito e esquerdo; vestibular inferior direito e esquerdo; lingual inferior direito e esquerdo). Um total de seis cotonetes dentais para cada participante foram agrupados em um tubo falcon codificado, constituindo uma mostra por indivíduo, e armazenada a  $-80^{\circ}\text{C}$  até ser enviada ao laboratório para realização de uma análise cega (Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul).

### **Análise laboratorial**

#### **Preparação das amostras**

No laboratório, foram adicionados 3 ml de solução salina a cada tubo, em seguida os tubos foram mantidos refrigerados até o processamento. Todas as amostras foram manuseadas em nível de segurança II - câmara B2 seguindo as recomendações para diagnóstico viral do Ministério da Saúde do Brasil. Durante o processamento, as amostras foram submetidas a vórtex e três alíquotas de 1 ml foram extraídas. Duas das alíquotas foram armazenadas a  $-80^{\circ}\text{C}$  como amostras reservas, enquanto a terceira foi usada para extrair material genético viral usando um kit QIAamp Viral RNA Mini (QIAGEN, Hilden, Alemanha) seguindo as instruções do fabricante. As amostras de RNA extraídas também foram armazenadas a  $-80^{\circ}\text{C}$ . Antes do isolamento do RNA, foram adicionados 200  $\mu\text{l}$  de tampão.

#### **Reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real (RT-qPCR)**

A determinação da presença do vírus SARS-CoV-2 foi realizada em reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real (RT-qPCR, também conhecida como RT-PCR). O protocolo Charité (Corman et al., 2020) foi usado juntamente com o kit AgPath-ID One-Step RT-PCR Reagents (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, EUA). Além disso, um ensaio de controle foi executado com ribonuclease P (RNase P) de acordo com o protocolo do Centro de Controle de Doenças dos EUA e Prevenção (CDC, 2020). Amostras que apresentaram amplificação com quantificação de Ciclo (Cq)  $<40$  para vírus e genes controle foram considerados controles positivos para SARS-CoV-2. Amostras onde apenas um dos genes virais foram amplificados foram classificados como inconclusivos e o RT-qPCR foi repetido.

Amostras sem amplificação de qualquer um dos genes foram consideradas inadequadas, e a extração do RNA e o RT-qPCR foram repetidos. Um total de três amostras tiveram que ser repetidas (uma vez cada).

### **Análise de dados**

A média (desvio padrão) ou mediana (intervalo interquartil) foi calculada para cada variável, de acordo com sua distribuição. As frequências de distribuição foram determinadas para variáveis categóricas. A proporção de resultados positivos para o RNA do SARS-CoV-2 foi explorada usando intervalos de confiança de 95% ([https://istats.shinyapps.io/Inference\\_prop/](https://istats.shinyapps.io/Inference_prop/)). O teste de classificação sinalizada de pares combinados de Wilcoxon foi usado para comparar Cq de amostras NASO/ORO e Cq de amostras BIO positivas. O teste U de Mann-Whitney foi usado para comparar os valores Cq de amostras NASO/ORO para participantes com teste positivo e negativo em amostras BIO. As análises estatísticas foram realizadas usando o Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) para Windows versão 18.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA). As análises foram conduzidas a nível individual e o nível de significância foi estabelecido em 5%.

### **Resultados**

Os registros médicos dos funcionários do SMO mostraram que 70 indivíduos testaram positivo para SARS-CoV-2 em amostras NASO/ORO, compondo a presente amostra ( $40 \pm 9,8$  anos, 71,4% mulheres). Destes, 13 indivíduos (18,6%) testaram positivo para SARS-CoV-2 no biofilme dental (Tabela 1).

Dados sociodemográficos, número de dentes, presença de biofilme dental visível e distribuição de comorbidades para a amostra total e os participantes com teste positivo para RNA do SARS-CoV-2 nas amostras de BIO são relatadas na Tabela 1. Hipertensão, a comorbidade mais comum, mostrou uma distribuição semelhante na amostra total (12,9%) e nas amostras BIO positivas (15,4%).

A expressão do RNA viral foi maior nas amostras NASO/ORO ( $p = 0,001$ ), conforme expresso pela mediana de Cq menor, em comparação com amostras BIO-positivas (Tabela 2). Além disso, a expressão do vírus em amostras NASO/ORO foi significativamente maior para aqueles que testaram positivo para RNA do SARS-CoV-2 em amostras de BIO em comparação com aqueles com teste negativo ( $p = 0,012$ ).

Resultados descritivos relacionados a sintomas semelhantes aos da gripe e marcadores sistêmicos para a amostra total e para os participantes com teste positivo para RNA de SARS-

CoV-2 no biofilme dental são mostrados na Tabela 3. Uma grande proporção dos participantes BIO-positivos (46,2%) exibiu cinco sintomas semelhantes a gripe (dados não mostrados).

### **Discussão**

Os achados do presente estudo confirmam, pela primeira vez, a hipótese de que o biofilme dental abriga RNA do SARS-CoV-2 em indivíduos com sintomas semelhantes aos da gripe. Esta observação é importante porque pode impactar as estratégias de controle da COVID-19 para prevenir a propagação da doença, bem como potenciais medidas terapêuticas. A presença de RNA viral em 13 das 70 amostras de biofilme (18,6%) é concordante com a literatura, que mostra que a prevalência de SARS-CoV-2 RNA varia amplamente, dependendo do método da amostragem, de 91,8% para lavagem broncoalveolar à 7,6% para esfregaços orofaríngeos (Bwire et al.,2021). Curiosamente, o RNA do SARS-CoV-2 foi detectado em fluido crevicular gengival com 63,64% de sensibilidade em uma amostra de 33 pacientes, onde 14 (42,42%) foram considerados como tendo doença gengival após exame adicional (Gupta et al., 2021). Sabe-se que os resultados de testes moleculares, como RT-qPCR, não medem viabilidade de microorganismos (Burton et al., 2021; Keer & Birch, 2003; Polonyi et al., 2013) e que o SARS-CoV-2 requer que os receptores de conversão da angiotensina entrem na célula e se reproduzam (Xu et al.,2020). No entanto, o SARS-CoV-2 viral também pode sobreviver em diferentes ambientes e em várias superfícies (van Doremalen et al., 2020).

O RT-qPCR mostrou um Cq mediano de 35,9 [4,0] em amostras de BIO, que foi significativamente maior que aquele observado para NASO/ORO (15,9 [6,9]). Isso demonstra uma carga menor de RNA do SARS-CoV-2 no biofilme dental. Por outro lado, a alta expressão de RNA do vírus para amostras NASO/ORO, denotado pelos valores de Cq mais baixos para os participantes com teste positivo em amostras de BIO, sugere uma associação entre a carga NASO/ORO e a presença de RNA viral no biofilme dental.

No entanto, é essencial destacar que o número de pacientes com teste positivo para RNA do SARS-CoV-2 nas amostras BIO era muito baixo para suportar análises estatísticas confiáveis. Além disso, devido à incerteza substancial em relação à carga viral e sua relação com o nível de infecciosidade ou gravidade da doença (Walsh et al., 2020), nenhuma conclusão pode ser tirada sobre isso.

O presente estudo não foi desenhado para determinar o mecanismo de colonização do biofilme dental pelo vírus, os caminhos potenciais envolvidos ou a ocorrência de contaminação cruzada da saliva, exalações de orofaringe, ou sangue, garantindo a necessidade de mais investigações. No entanto, a simples presença de SARS-CoV-2 no biofilme dental, independente da carga

viral, pode definir a cavidade como um reservatório potencial para o vírus. No futuro, os pesquisadores devem sempre considerar o papel da cavidade oral na transmissão de SARS-CoV-2 (Herrera et al., 2020), prestar muita atenção na grande quantidade de receptores ACE2 no dorso da língua (Xu et al., 2020), e continuar a definir vias e mecanismos de colonização. Até o momento, houve muito poucos casos registrados de transmissão viral e infecção no ambiente de clínica odontológica. Em novembro de 2020, Estrich e colaboradores relataram uma taxa de prevalência de 0,9% entre dentistas nos Estados Unidos, com base em um estudo transversal que incluiu mais de 2.000 dentistas praticantes (Estrich et al., 2020). Os autores concluíram que a adesão ao uso de equipamentos de proteção individual, incluindo máscaras N-95, contribuíram para o baixo número de casos e tornou a prática clínica segura para pacientes e dentistas. Embora bochechos contendo agentes químicos (iodopovidona, clorexidina, cloreto de cetilpiridínio, peróxido de oxigênio, óleos essenciais, beta-ciclodextrina e citrox) sejam usados atualmente para controlar a carga de SARS-CoV-2 antes de procedimentos clínicos, ainda está faltando comprovação científica de eficácia. (Burton et al., 2020; Gottsauner et al., 2020; Herrera et al., 2020; Mendez e Villasanti, 2020; Moosavi et al., 2020).

No entanto, o uso de enxaguatório bucal combinado com a ruptura mecânica do biofilme pelo profissional pode ajudar a reduzir a propagação do vírus durante o tratamento clínico. Outra situação que ainda não foi explorada é que o SARS-CoV-2 pode ser transferido do biofilme dentário para a cavidade oral por meio de medidas rotineiras de higiene dental, como escovação ou uso do fio dental. Isso sugere a necessidade de estudos futuros sobre a disseminação viral e estratégias de contenção com foco em procedimentos de atendimento odontológico.

A literatura sugere que febre, tosse e fadiga são os principais sintomas observados em pacientes positivados (Adil et al., 2021). Aqui, febre, dor de garganta e dor de cabeça foram os principais sintomas semelhantes aos da gripe relatados pelos participantes. No entanto, sintomas como febre, tosse e dor de garganta foram cerca de 2-3 vezes mais prevalentes no grupo BIO-positivo do que no grupo BIO-negativo. Em conclusão, a presença de RNA do SARS-CoV-2 no biofilme dental apoia a hipótese de que a cavidade oral pode ser uma fonte potencial de infecção viral. Esta fonte deve ser considerada ao se definir medidas preventivas adequadas para impedir a propagação do vírus e reverter o aumento no número de casos.

### **Agradecimentos**

Os autores agradecem ao Prof. Francisco Arsego e à Prof. Eunice Chaves pelo apoio logístico que permitiu que a equipe odontológica atendesse os pacientes do serviço de medicina

ocupacional do HCPA. Agradecimentos especiais ao colega Marcelo WB Araujo, DDS, MS, PhD (American Dental Association, Chief Science Officer) pela leitura final e sugestões que nos ajudaram a melhorar o manuscrito.

## Referências

- Adhikari, S. P., Meng, S., Wu, Y.-J., Mao, Y.-P., Ye, R.-X., Wang, Q.-Z., Sun, C., Sylvia, S., Rozelle, S., Raat, H. & Zhou, H. (2020). Epidemiology, causes, clinical manifestation and diagnosis, prevention and control of coronavirus disease (COVID-19) during the early outbreak period: a scoping review. *Infectious Diseases of Poverty*, 9, 29. <https://doi.org/10.1186/s40249-020-00646-x>
- Adil, M. T., Rahman, R., Whitelaw, D., Jain, V., Al-Ta'an, O., Rashid, F., Munasinghe, A. & Jambulingam, P. (2021). SARS-CoV-2 and the pandemic of COVID-19. *Postgraduate Medical Journal*, 97, 110–116. <https://doi.org/10.1136/postgradmedj-2020-138386>
- Baker, J. L., Bor, B., Agnello, M., Shi, W. & He, X. (2017). Ecology of the Oral Microbiome: Beyond Bacteria. *Trends in Microbiology*, 25, 362–374. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.12.012>
- Bjarnsholt, T., Buhlin, K., Dufrêne, Y. F., Gomelsky, M., Moroni, A., Ramstedt, M., Rumbaugh, K. P., Schulte, T., Sun, L., Åkerlund, B. & Römling, U. (2018). Biofilm formation - what we can learn from recent developments. *Journal of Internal Medicine*, 284, 332–345. <https://doi.org/10.1111/joim.12782>
- Burton, J., Love, H., Richards, K., Burton, C., Summers, S., Pitman, J., Easterbrook, L., Davies, K., Spencer, P., Killip, M., Cane, P., Bruce, C. & Roberts, A. D. G. (2021). The effect of heat treatment on SARS-CoV-2 viability and detection. *Journal of Virological Methods*, 290, 114087. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2021.114087>.
- Burton, M. J., Clarkson, J. E., Goulao, B., Glenney, A.-M., McBain, A. J., Schilder, A. G., Webster, K. E. & Worthington, H. V. (2020). Antimicrobial mouthwashes (gargling) and nasal sprays administered to patients with suspected or confirmed COVID-19 infection to improve patient outcomes and to protect healthcare workers treating them. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 9, CD013627. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD013627.pub2>
- Bwire, G. M., Majigo, M. V, Njiro, B. J. & Mawazo, A. (2021). Detection profile of SARS-CoV-2 using RT-PCR in different types of clinical specimens: A systematic review and metaanalysis. *Journal of Medical Virology*, 93, 719–725. <https://doi.org/10.1002/jmv.26349>
- CDC - Division of Viral Diseases. (2020). CDC 2019-Novel Coronavirus (2019-nCoV) Real-Time RT-PCR Diagnostic Panel For Emergency Use Only Instructions for Use. <https://www.fda.gov/media/134922/download>
- Cheng, V. C.-C., Wong, S.-C., Chuang, V. W.-M., So, S. Y.-C., Chen, J. H.-K., Sridhar, S., To, K. K.-W., Chan, J. F.-W., Hung, I. F.-N., Ho, P.-L. & Yuen, K.-Y. (2020). The role of community-wide wearing of face mask for control of coronavirus disease 2019 (COVID-19) epidemic due to SARS-CoV-2. *The Journal of Infection*, 81, 107–114. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.04.024>
- Corman, V. M., Landt, O., Kaiser, M., Molenkamp, R., Meijer, A., Chu, D. K., Bleicker, T., Brünink, S., Schneider, J., Schmidt, M. L., Mulders, D. G., Haagmans, B. L., van der Veer, B., van den Brink, S., Wijsman, L., Goderski, G., Romette, J.-L., Ellis, J., Zambon, M., Drosten, C. (2020). Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveillance*: Bulletin European Sur Les Maladies Transmissibles = European

Communicable Disease Bulletin, 25, 2000045. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045>

de Brouwer, R., van Veldhuisen, D. J. & de Boer, R. A. (2020). Surviving the first COVID-19 wave and learning lessons for the second. *European Journal of Heart Failure*, 22, 975–977. <https://doi.org/10.1002/ejhf.1938>

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

Estrich, C. G., Mikkelsen, M., Morrissey, R., Geisinger, M. L., Ioannidou, E., Vujicic, M. & Araujo, M. W. B. (2020). Estimating COVID-19 prevalence and infection control practices among US dentists. *Journal of the American Dental Association (1939)*, 151, 815–824. <https://doi.org/10.1016/j.adaj.2020.09.005>

Gottsauer, M. J., Michaelides, I., Schmidt, B., Scholz, K. J., Buchalla, W., Widbiller, M., Hitzenbichler, F., Ettl, T., Reichert, T. E., Bohr, C., Vielsmeier, V. & Cieplik, F. (2020). A prospective clinical pilot study on the effects of a hydrogen peroxide mouthrinse on the intraoral viral load of SARS-CoV-2. *Clinical Oral Investigations*, 24, 3707–3713. <https://doi.org/10.1007/s00784-020-03549-1>

Gupta, S., Mohindra, R., Chauhan, P. K., Singla, V., Goyal, K., Sahni, V., Gaur, R., Verma, D.K., Ghosh, A., Soni, R. K., Suri, V., Bhalla, A. & Singh, M. P. (2021). SARS-CoV-2 Detection in Gingival Crevicular Fluid. *Journal of Dental Research*, 100, 187–193. <https://doi.org/10.1177/0022034520970536>

Harrel, S. K. & Molinari, J. (2004). Aerosols and splatter in dentistry: a brief review of the literature and infection control implications. *Journal of the American Dental Association (1939)*, 135, 429–437. <https://doi.org/10.14219/jada.archive.2004.0207>

Herrera, D., Serrano, J., Roldán, S. & Sanz, M. (2020). Is the oral cavity relevant in SARS-CoV-2 pandemic? *Clinical Oral Investigations*, 24, 2925–2930. <https://doi.org/10.1007/s00784-020-03413-2>

Huang, N., Perez, P., Kato, T., Mikami, Y., Okuda, K., Gilmore, R. C., Domínguez Conde, C., Gasmi, B., Stein, S., Beach, M., Pelayo, E., Maldonado, J., LaFont, B., Padilla, R., Murrá, V., Maile, R., Lovell, W., Wallet, S., Bowman, N. M., ... Byrd, K. M. (2020). Integrated Single-Cell Atlases Reveal an Oral SARS-CoV-2 Infection and Transmission Axis. *MedRxiv*: The Preprint Server for Health Sciences. <https://doi.org/10.1101/2020.10.26.20219089>

Keer, J. T. & Birch, L. (2003). Molecular methods for the assessment of bacterial viability. *Journal of Microbiological Methods*, 53, 175–183. [https://doi.org/10.1016/s0167-7012\(03\)00025-3](https://doi.org/10.1016/s0167-7012(03)00025-3)

Lewnard, J. A. & Lo, N. C. (2020). Scientific and ethical basis for social-distancing interventions against COVID-19. *The Lancet. Infectious Diseases*, 20, 631–633. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30190-0](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30190-0)

- Li, Y., Ren, B., Peng, X., Hu, T., Li, J., Gong, T., Tang, B., Xu, X. & Zhou, X. (2020). Saliva is a non-negligible factor in the spread of COVID-19. *Molecular Oral Microbiology*, 35, 141–145. <https://doi.org/10.1111/omi.12289>
- Lodish, H., Berk, A., Zipursky, S. L., Matsudaira, P., Baltimore, D. & Darnell, J. (2000). *Viruses: Structure, Function, and Uses*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21523/>
- Mendez, J. & Villasanti, U. (2020). Use of povidone as a mouthrinse to decrease the viral load of Covid-19 before dental care: Review of the literature. *American Journal of Dentistry*, 33, 248–250. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33017527>
- Moosavi, M.-S., Aminishakib, P. & Ansari, M. (2020). Antiviral mouthwashes: possible benefit for COVID-19 with evidence-based approach. *Journal of Oral Microbiology*, 12, 1794363. <https://doi.org/10.1080/20002297.2020.1794363>
- Polonyi, M., Prenninger, N., Arweiler, N. B., Haririan, H., Winklehner, P. & Kierstein, S. (2013). Assessment of viable periodontal pathogens by reverse transcription quantitative polymerase chain reaction. *Journal of Periodontal Research*, 48, 671–676. <https://doi.org/10.1111/jre.12052>
- Slots, J. (2010). Human viruses in periodontitis. *Periodontology 2000*, 53, 89–110. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2009.00325.x>
- Slots, J. (2015). Periodontal herpesviruses: prevalence, pathogenicity, systemic risk. *Periodontology 2000*, 69, 28–45. <https://doi.org/10.1111/prd.12085>
- Talsma, S. S. (2007). Biofilms on medical devices. *Home Healthcare Nurse*, 25, 589–594. <https://doi.org/10.1097/01.NHH.0000296117.87061.14>
- Teles, R., Teles, F., Frias-Lopez, J., Paster, B. & Haffajee, A. (2013). Lessons learned and unlearned in periodontal microbiology. *Periodontology 2000*, 62, 95–162. <https://doi.org/10.1111/prd.12010>
- van Doremalen, N., Bushmaker, T., Morris, D. H., Holbrook, M. G., Gamble, A., Williamson, B.N., Tamin, A., Harcourt, J. L., Thornburg, N. J., Gerber, S. I., Lloyd-Smith, J. O., de Wit, E. & Munster, V. J. (2020). Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1. *The New England Journal of Medicine*, 382, 1564–1567. <https://doi.org/10.1056/NEJMC2004973>
- Walsh, K. A., Jordan, K., Clyne, B., Rohde, D., Drummond, L., Byrne, P., Ahern, S., Carty, P. G., O'Brien, K. K., O'Murchu, E., O'Neill, M., Smith, S. M., Ryan, M. & Harrington, P. (2020). SARS-CoV-2 detection, viral load and infectivity over the course of an infection. *The Journal of Infection*, 81, 357–371. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.06.067>
- Wang, W., Xu, Y., Gao, R., Lu, R., Han, K., Wu, G. & Tan, W. (2020). Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens. *JAMA*, 323, 1843–1844. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.3786>

Wiersinga, W. J., Rhodes, A., Cheng, A. C., Peacock, S. J. & Prescott, H. C. (2020). Pathophysiology, Transmission, Diagnosis, and Treatment of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Review. *JAMA*, 324, 782–793. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.12839>

Xu, H., Zhong, L., Deng, J., Peng, J., Dan, H., Zeng, X., Li, T. & Chen, Q. (2020). High expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa. *International Journal of Oral Science*, 12, 8. <https://doi.org/10.1038/s41368-020-0074-x>

Xu, S. & Li, Y. (2020). Beware of the second wave of COVID-19. *Lancet* (London, England), 395, 1321–1322. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30845-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30845-X)

**Tabela 1.** Dados sociodemográficos, número de dentes, presença de biofilme dental visível e presença de comorbidades sistêmicas para a amostra total (n = 70) e para participantes positivos para SARS-CoV-2 no biofilme dental (BIO; n = 13).

<b>Indicador</b>	<b>Amostra total</b>	<b>BIO positivos</b>
Idade‡	40 ± 9.8	42 ± 10.6
Participantes mulheres¶	50 (71.4)	10 (76.9)
Número de dentes‡	28 ± 3.1	27 ± 3.2
Presença de biofilme dental¶	28 (40.0)	5 (38.4)
Presença de comorbidades		
Diabetes¶	5 (7.1)	1 (7.7)
Hipertensão¶	9 (12.9)	2 (15.4)
Doença cardíaca¶	1 (1.4)	0 (0.0)

‡ Média ± Desvio Padrão; ¶ Número (porcentagem).

**Tabela 2.** Quantificação de ciclo (Cq) da reação RT-qPCr em amostras NASO/ORO e BIO

	<b>NASO/ORO‡</b>	<b>BIO‡</b>	<b>p*</b>
Amostra total (n=70)	19.5 [7.4]	NA	
BIO positivos (n=13)	15.9 [6.9]	35.9 [4.0]	0.001
BIO negativos (n=54)	20.4 [6.1]	NA	
p**	0.012		

‡ Mediana [intervalo interquartil]; NASO/ORO: amostras nasofaríngeas e orofaríngeas; BIO: amostras de biofilme; NA: não disponível.

\* Teste de classificação sinalizada de pares combinados de Wilcoxon. Comparação entre amostras NASO/ORO quantificação C (Cq) de participantes com testes positivos em biofilme dental e amostras BIO Cq.

\*\* Teste U de Mann-Whitney. Comparação de amostras NASO/ORO Cq entre participantes que testaram positivo e negativo em amostras BIO.

**Tabela 3.** Sintomas semelhantes aos da gripe e marcadores sistêmicos para a amostra total (n = 70) e para os participantes positivos para RNA da SARS-CoV-2 no biofilme dental (BIO; n = 13).

	<b>Amostra total</b>	<b>BIO positivos</b>
<b>Sintomas gripais¶</b>		
Febre	31 (44.3)	10 (76.9)
Tosse	23 (32.9)	8 (61.5)
Fadiga	29 (41.4)	6 (46.2)
Nariz escorrendo	33 (47.1)	7 (53.8)
Dor de garganta	20 (28.6)	10 (76.9)
Dor no corpo	30 (42.9)	7 (53.8)
Dor de cabeça	43 (61.4)	10 (76.9)
Perda do paladar	23 (32.9)	2 (15.4)
Perda de olfato	29 (41.4)	4 (30.8)
<b>Marcadores sistêmicos‡</b>		
Temperatura corporal (°C)	36.5 ± 0.7	36.7 ± 0.7
Saturação	98.5 ± 1.7	99.1 ± 1.4

¶ Número (porcentagem); ‡ Média ± Desvio Padrão

### **3 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O presente trabalho de conclusão do curso de residência pôde investigar a hipótese de que o biofilme dental pode abrigar o SARS-CoV-2 em indivíduos sintomáticos e positivos em amostras nasofaríngeas e orofaríngeas. Foram 18% dos pacientes que apresentaram RNA do SARS-CoV-2 no biofilme, e estes também mostraram uma carga de vírus mais alta em amostras NASO/ORO do que aqueles com teste negativo em biofilme.

Sendo assim, a presença de RNA do SARS-CoV-2 no biofilme dental apoia a hipótese de que a cavidade oral pode ser uma fonte potencial de infecção viral. Apesar de existir conhecimento sólido quanto o mecanismo de colonização do biofilme dental pelo vírus, esta fonte deve ser considerada ao se definir medidas preventivas adequadas para impedir a propagação do vírus e reverter o aumento no número de casos.

## REFERÊNCIAS

- ADHIKARI, S. P. et al. Epidemiology, causes, clinical manifestation and diagnosis, prevention and control of coronavirus disease (COVID-19) during the early outbreak period: a scoping review. **Infectious Diseases of Poverty**, v. 9, p. 29, 17 mar. 2020.
- BAKER, J. L. et al. Ecology of the Oral Microbiome: Beyond Bacteria. **Trends in Microbiology**, v. 25, n. 5, p. 362–374, maio 2017.
- BWIRE, G. M. et al. Detection profile of SARS-CoV-2 using RT-PCR in different types of clinical specimens: A systematic review and meta-analysis. **Journal of Medical Virology**, v. 93, n. 2, p. 719–725, fev. 2021.
- CAI, J. et al. Indirect Virus Transmission in Cluster of COVID-19 Cases, Wenzhou, China, 2020 - Volume 26, Number 6—June 2020 - Emerging Infectious Diseases journal - CDC. [s.d.].
- CHENG, V. C.-C. et al. The role of community-wide wearing of face mask for control of coronavirus disease 2019 (COVID-19) epidemic due to SARS-CoV-2. **The Journal of Infection**, v. 81, n. 1, p. 107–114, jul. 2020.
- DEWHIRST, F. E. et al. The human oral microbiome. **Journal of Bacteriology**, v. 192, n. 19, p. 5002–5017, out. 2010.
- GONZÁLEZ, O. A.; EBERSOLE, J. L.; HUANG, C. B. Oral infectious diseases: a potential risk factor for HIV virus recrudescence? **Oral Diseases**, v. 15, n. 5, p. 313–327, jul. 2009.
- LI, Y. et al. Saliva is a non-negligible factor in the spread of COVID-19. **Mol Oral Microbiol**, p. 141–145, 2020.
- MEO, S. A. et al. Novel coronavirus 2019-nCoV: prevalence, biological and clinical characteristics comparison with SARS-CoV and MERS-CoV. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v. 24, n. 4, p. 2012–2019, fev. 2020.
- SLOTS, J. Human viruses in periodontitis. **Periodontology 2000**, v. 53, p. 89–110, jun. 2010.
- SLOTS, J. Periodontal herpesviruses: prevalence, pathogenicity, systemic risk. **Periodontology 2000**, v. 69, n. 1, p. 28–45, out. 2015.
- SLOTS, J.; SLOTS, H. Periodontal herpesvirus morbidity and treatment. **Periodontology 2000**, v. 79, n. 1, p. 210–220, 2019.
- TELES, R. et al. Lessons learned and unlearned in periodontal microbiology. **Periodontology 2000**, v. 62, n. 1, p. 95–162, jun. 2013.
- WANG, W.-K. et al. Detection of SARS-associated Coronavirus in Throat Wash and Saliva in Early Diagnosis. **Emerging Infectious Diseases**, v. 10, n. 7, p. 1213–1219, jul. 2004.
- WIERSINGA, W. J. et al. Pathophysiology, Transmission, Diagnosis, and Treatment of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Review. **JAMA**, v. 324, n. 8, p. 782–793, 25 ago. 2020.

XU, S.; LI, Y. Beware of the second wave of COVID-19. **Lancet (London, England)**, v. 395, n. 10233, p. 1321–1322, 2020.

YI, Y. et al. COVID-19: what has been learned and to be learned about the novel coronavirus disease. **International Journal of Biological Sciences**, v. 16, n. 10, p. 1753–1766, 2020.

ZHANG, Y. et al. Human oral microbiota and its modulation for oral health. **Biomedicine & Pharmacotherapy = Biomedecine & Pharmacotherapie**, v. 99, p. 883–893, mar. 2018.