



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
DOUTORADO EM ODONTOLOGIA



**AVALIAÇÃO CLÍNICA E LABORATORIAL
DO USO DE MATERIAIS BIOATIVOS PARA
PRESERVAÇÃO DE TECIDO
DESMINERALIZADO**



SÃO LUIS
2021

ANA CAROLINA SOARES DINIZ

**AVALIAÇÃO CLÍNICA E LABORATORIAL DO USO
DE MATERIAIS BIOATIVOS PARA PRESERVAÇÃO
DE TECIDO DESMINERALIZADO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Odontologia.

Orientador: Profa. Dra. Leily Macedo Firoozmand

Co-Orientador: Prof. Dr. José Roberto Bauer

SÃO LUÍS - MA

2021

Diniz, Ana Carolina Soares

Avaliação clínica e laboratorial do uso de materiais bioativos para preservação de tecido desmineralizado/ Ana Carolina Soares Diniz. – São Luís - MA, 2021.

Nº 97.

Orientadora: Profa. Dra. Leily Macedo Firoozmand

Tese (Doutorado em Odontologia) – Universidade Federal do Maranhão, UFMA, 2021.

1. Palavras-Chave: Materiais bioativos, ensaio clínico randomizado, selantes, dentina.

Avaliação clínica e laboratorial do uso de materiais bioativos para preservação de tecido desmineralizado

CDU 616.24 – 002.5

ANA CAROLINA SOARES DINIZ

AVALIAÇÃO CLÍNICA E LABORATORIAL DO USO DE MATERIAIS BIOATIVOS PARA PRESERVAÇÃO DE TECIDO DESMINERALIZADO

A Comissão julgadora da Defesa do Trabalho Final de Doutorado em Odontologia, em sessão pública realizada no dia 14/05/2021, considerou a candidata.

() APROVADO

() REPROVADO

- 1) Examinador: Prof. Dr. José Roberto de Oliveira Bauer
- 2) Examinador: Prof. Dr. Rudys Rodolfo De Jesus Tavares
- 3) Examinadora: Profa. Dra. Meire Coelho Ferreira
- 4) Examinadora: Profa. Dra. Graziela Ribeiro Batista
- 5) Presidente (Orientadora): Profa. Dra. Leily Macedo Firoozmand

Não é o crítico que importa; nem aquele que aponta onde foi que o homem tropeçou ou como o autor das façanhas poderia ter feito melhor. O crédito pertence ao homem que está por inteiro na arena da vida, cujo rosto está manchado de poeira, suor e sangue; que luta bravamente. que erra, que decepciona, porque não há esforço sem erros e decepções; mas que, na verdade, se empenha em seus feitos; que conhece o entusiasmo, as grandes paixões; que se entrega a uma causa digna; que, na melhor das hipóteses, conhece no final o triunfo da grande conquista e que, na pior, se fracassar, ao menos fracassa ousando grandemente.

Theodore Roosevelt

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho às três pessoas mais importantes da minha vida: minha mãe, minha irmã e minha madrinha. Sem vocês minha vida não seria a mesma. Obrigada por todo apoio, dedicação, auxílio e amor que vocês têm por mim. Sou grata por Deus ter colocado vocês na minha vida. Este trabalho foi concretizado, apesar das dificuldades, porque vocês me ensinaram a não desistir. Agradeço os ensinamentos que me foram passados, agradeço por tudo. Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

A Deus por ser bom o tempo todo, por ser minha fortaleza e meu sustento nos momentos mais difíceis, além de ser a fonte da minha felicidade.

À minha orientadora, mentora e inspiração profa. Dra. Leily Macedo Firoozmand. Não consigo expressar com palavras o tanto de gratidão que tenho por você, querida professora. Pessoa que me acolheu desde a minha iniciação científica, me introduziu neste mundo brilhante, onde percebemos que o conhecimento é o maior presente que podemos receber. Sou e serei eternamente grata por ter tido a honra de ser sua orientanda e por toda transformação que você fez na minha vida acadêmica. Muitíssimo obrigada por toda paciência, dedicação e carinho comigo! Gratidão!

Ao professor Dr. José Roberto Bauer, pela paciência e toda educação em me ensinar sobre os materiais bioativos, além de fornecer todos os materiais com os quais foi possível desenvolver esta pesquisa. Muito obrigada professor!

Ao professor Dr. Tarcísio Jorge Leitão por ter me cedido o local para que o ensaio clínico pudesse ser concluído, em meio à pandemia. Obrigada também por ter aberto as portas da especialização de Odontopediatria, onde pude recrutar alguns pacientes. Além de ter me ensinado com muita paciência como desenvolver um estudo microbiológico. Sou muito grata por tudo!

À profa. Dra. Ana Regina Moreira por ter realizado a randomização e aleatorização dos tratamentos da pesquisa clínica. Muito obrigada por ter feito com tanto carinho esta parte essencial da pesquisa.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da UFMA, por todos os conhecimentos compartilhados.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, por meio da qual obtive a bolsa durante todo o meu doutorado, o que viabilizou o desenvolvimento de toda minha pesquisa. Muito obrigada.

A todos os funcionários da UFMA, técnicos, porteiros, seguranças, equipe de suporte e em especial a querida Dona Meire, sempre com um sorriso no rosto e acolhedora com cada um de nós.

Aos meus familiares, mãe, pai, irmãos e em especial minha irmã Lissa Diniz, por todo apoio emocional que me deu durante todos esses quatro anos de doutorado, e em especial no ano de 2020. Amo vocês.

Às minhas queridas companheiras de pesquisa Geyna Aguiar, Thais Bordinassi, Fernanda Pereira, Danielle Tomaz, Marcela Nunes por todo suporte durante minha pesquisa clínica. Sem vocês não conseguiria nada disso. Vocês foram essenciais para o resultado desta tese.

À Fabia Regina Roma e Anna Cecy Brito por serem minhas companhias nos sábados, domingos e até feriados no Laboratório de Microbiologia. Obrigada meninas!

Aos meus queridos pacientes que promoveram a realização deste lindo trabalho, muito obrigada por me trazerem alegria e me proporcionarem momentos de crescimento pessoal e profissional. Aprendi muito com cada um de vocês!

A todos aqueles que, de forma direta ou indireta, me auxiliaram na realização deste sonho.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I

- Figura 1.** Metodologia empregada 31
- Figura 2.** Valores médios dos grupos experimentais ao longo do tempo (24h, 7, 30 e 60 dias)
A- Alteração de pH e B- Liberação de íons flúor acumulado. 37
- Figura 3.** Valores médios de microdureza para os grupos experimentais (colunas) e seus respectivos controles (linhas) avaliados de acordo com o tempo de avaliação e a profundidade do preparo. 38
- Figura 4.** A- Valores médios da acidogenicidade do biofilme; B- valores médios do peso úmido (UFC/ml) e quantidade de proteínas solúveis de acordo com o tratamento para os grupos experimentais 39
- Figura 5.** Valores médios da liberação de íons cálcio acumulado para os diferentes materiais. 40

Capítulo II

- Figura 1.** Diagrama de fluxo do ensaio clínico 54

Capítulo III

- Figura 1.** Diagrama de fluxo do ensaio clínico, incluindo informações detalhadas dos participantes incluídos e excluídos 77

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Capítulo I

Tabela 1 – Especificações dos materiais utilizados, composição e modo de manipulação	29
---	----

Capítulo III

Tabela 1. Materiais utilizados e Modo de Aplicação	72
Tabela 2. Escore de retenção (retenção total, parcial e perda total)	78
Tabela 3. Frequência dos escores para forma anatômica, adaptação marginal, textura superficial e descoloração marginal de acordo com o tipo de material aplicado, nos períodos de 1 mês e 3 a 6 meses.	79
Tabela 4. Frequência dos escores de ICDAS de acordo com o tipo de material e o tempo de avaliação.	79
Tabela 5. Avaliação microscópica do comprometimento marginal dos diferentes materiais	81
Tabela 6. Avaliação microscópica da retenção para os diferentes materiais	81
Quadro 1. Aspectos avaliados pelo critério USPHS modificado e seus escores	74
Quadro 2. Escores de comprometimento marginal modificado	76

RESUMO

Os materiais bioativos, apresentam-se como uma interessante alternativa de prevenção à desmineralização e manutenção do tecido dental, uma vez que são capazes de liberar íons remineralizantes ao meio. O objetivo do capítulo I foi avaliar a influência da associação de materiais bioativos (biovidro 45S5 e Niobiofosfato -NbG) ao cimento de ionômero de vidro modificado por resina (CIV-MR) quanto ao potencial alcalinizante, liberação de íons flúor e cálcio, capacidade antimicrobiana e potencial remineralizante da dentina. Metodologia: Foram confeccionadas amostras a partir dos seguintes materiais formando 3 grupos experimentais: **CIV-MR**- Cimento de Ionômero de Vidro Modificado por Resina; **45S5**- CIV-MR+10%45S5; **NbG**- CIV-MR+10%NbG. O potencial alcalinizante e liberação de flúor dos materiais foram avaliados em diferentes tempos, e o seu efeito sobre a microdureza em diferentes profundidades da dentina. Para microdureza, foram utilizados blocos de dentina, que foram submetidos à indução de cárie. O efeito antimicrobiano dos diferentes grupos experimentais foi avaliado, analisando-se as superfícies dos materiais expostos a colônias de *S. mutans* UA159. A liberação de íons cálcio foi avaliada neste meio com biofilme de *S. mutans*. Os testes ANOVA two-way e pos-hoc Scheffe e teste T foram utilizados para as análises ($\alpha=5\%$). O potencial alcalinizante e liberação de flúor foi maior para o 45S5 ($p=0,000$) ao longo de 60 dias. Na profundidade de 10 μ m o 45S5 e NbG apresentaram os maiores valores de microdureza ($p<0,001$). Não foi verificada diferença na quantidade de UFC entre os materiais, porém o 45S5 apresentou menor acidogenicidade do biofilme nos diferentes tempos ($p=0,000$). Além disso, o 45S5 apresentou maior liberação de íons cálcio no meio microbiano. Conclui-se que a associação dos materiais bioativos com destaque para o 45S5, apresentam-se como promissoras alternativas para o tratamento da dentina desmineralizada, visto que induzem a melhorias nas propriedades físico-químicas do ionômero resinoso. Para o capítulo II teve-se como objetivo apresentar um protocolo de estudo clínico que se propõe a avaliação da efetividade da associação do 45S5 ao cimento de ionômero de vidro modificado por resina (CIV-MR) na retenção e prevenção da progressão de lesões iniciais de cárie em molares permanentes. Metodologia: Um total de 36 pacientes, na faixa etária de 08 a 14 anos, com pelo menos dois molares permanentes homólogos com ICDAS (Sistema Internacional de Detecção e Avaliação de Cárie) 3 ou 4 serão selecionados, para participar do estudo clínico do tipo boca-dividida. O CPO-D (Índice de Dentes Cariados, Perdidos e Obturados), ICDAS, ISG (Índice de Sangramento Gengival) e IPV (Índice de Placa Visível) dos pacientes serão analisados. O exame radiográfico complementar será realizado para a avaliação da dentina subjacente à lesão. Os dentes selecionados serão

randomizados em 2 grupos: CIV-MR e CIV-MR+45S5. Parâmetros tais como retenção, desempenho clínico dos materiais e evolução da doença cárie serão avaliados nos dois grupos estudados. Um avaliador calibrado realizará as avaliações clínicas, radiográficas e microscópicas com 1, 6 e 12 meses de acompanhamento. Os resultados obtidos serão avaliados utilizando o teste Qui-quadrado. Conclusão: A aplicação da associação do 45S5 com o CIV-MR pode ser um material alternativo promissor para a prevenção da evolução de lesões de cárie com microcavidades em esmalte. No capítulo III o objetivo foi avaliar a retenção do cimento de ionômero de vidro modificado por resina (CIV-MR) associado ao biovidro 45S5 e sua influência na prevenção da progressão de lesões moderadas de cárie em molares permanentes. Metodologia: A partir de um total de 1.163 paciente foram selecionados 33 pacientes e tratados sessenta e seis molares permanentes homólogos com lesões moderadas de cárie, de pacientes com faixa etária de 8 a 14 anos, foram randomicamente tratados com CIV-MR ou CIV-MR associado ao biovidro 45S5. Foram registrados o International Caries Detection and Assessment System (ICDAS), índice de sangramento gengival (ISG) e índice de placa visível (IPV) e realizados os exames radiográficos iniciais. Após os tratamentos foram realizadas moldagens para análises microscópicas das superfícies tratadas. Como acompanhamento, foram realizados exames clínico e radiográfico, e a avaliação da retenção e da qualidade clínica dos materiais aplicados. Os dados foram analisados pelo teste Qui-quadrado de independência ($\chi^2=0,05$). Resultados: Após um mês, o CIV-MR apresentou maior retenção total ($p=0,046$), bem como melhor desempenho clínico ($p<0,05$). Porém os dois grupos apresentaram predomínio de dentes completamente selados e com ICDAS ≤ 3 ($p>0,05$). Microscopicamente não houve diferença na retenção dos materiais ($p=0,347$). Após período de 3-6 meses não houve diferença na retenção e nem no desempenho clínico dos materiais ($p>0,05$). Houve redução no ISG e IPV, e radiograficamente nenhum dos grupos apresentou progressão de cárie. Conclusão: O uso de CIV-MR+45S5, em lesões moderadas de cárie, parece ser uma alternativa promissora na prevenção da evolução da doença cárie apresentando desempenho clínico e microscópico equivalente ao CIV-MR.

Palavras-chave: Bioatividade, Dentina desmineralizada, Materiais bioativos, Selantes ionoméricos

ABSTRACT

Bioactive materials are an interesting alternative to prevent demineralization and maintenance of dental tissue, since they are able to release remineralizing ions into the environment. The aim of Chapter I was to evaluate the influence of the association of bioactive materials (45S5 and Niobiophosphate -NbG) with resin-modified glass ionomer cement (CIV-MR) regarding the alkalizing potential, release of fluoride ions, demineralized dentin microhardness and its antimicrobial effect. Methodology: Four experimental groups composed of: RC- Composite Resin; CIV-MR- Resin Modified Glass Ionomer Cement; 45S5- CIV-MR+10%45S5; NbG- CIV-MR+10%NbG were evaluated. The alkalizing potential and fluoride release of the materials were evaluated at different times, and their effect on microhardness at different depths of dentin. For microhardness, dentin slabs were used, which were subjected to caries induction, performing treatment in one half of the slab and the other half remained as a control. The antimicrobial effect of the different experimental groups was evaluated by analyzing the surfaces of materials exposed to colonies of *S. mutans* UA159. The two-way, three-way ANOVA and T-tests and post-hoc tests were used for the different outcomes evaluated. Results: The alkalizing potential and fluoride release was higher for 45S5 ($p = 0.000$) over 60 days. At a depth of 10 μ m, 45S5 and NbG showed the highest microhardness values ($p < 0.001$). Regarding acidity of the biofilm, 45S5 presented the highest pH values, and a difference was observed between the different materials and times ($p = 0.000$). Conclusion: The 45S5 bioactive glass associated with the CIV-MR has greater alkalizing potential and fluoride release, over time, increasing the microhardness of demineralized dentin, and decreasing the acidity of the biofilm. The objective of Chapter II was to present a pragmatic study that proposes the evaluation of the effectiveness of the association of 45S5 with resin-modified glass ionomer cement (CIV-MR) in retaining and preventing the progression of initial carious lesions in permanent molars. Methodology: A total of 36 patients, aged 8 to 14 years, with at least two permanent molars homologous with ICDAS (International Caries Detection and Assessment System) 3 or 4 will be selected to participate in the clinical study of the split-mouth type. The DMF-T (Decayed, Missed and Filled Teeth index), ICDAS, BOP (Bleeding on probing), and VPI (Visible Plaque Index) will be analyzed. The complementary radiographic exam will be performed to assess the dentin underlying lesion. The selected teeth will be randomly assigned into 2 groups: GIC-MR and GIC-MR + 45S5. Parameters such as retention, the clinical performance of materials, and caries evolution will be evaluated into the two studied groups. A calibrated evaluator will perform clinical, radiographic, and microscopic evaluations at 1, 6,

and 12 months of follow-up. The results obtained will be evaluated using the Chi-square test. The intention to treat protocol will be followed. Conclusion: The application of the 45S5 association with the GIC-MR may be a promising alternative material for the prevention of the caries lesions evolution with enamel microcavities. In Chapter III, the objective was to evaluate the retention of resin-modified glass ionomer cement (CIV-MR) associated with 45S5 bioglass and its influence in preventing the progression of moderate caries lesions in permanent molars. Methodology: From a total of 1,161 patients, 31 patients were selected and sixty-two permanent homologous molars with moderate lesions of caries, from patients aged 8 to 14 years, were randomly treated with CIV-MR or CIV-MR associated with the 45S5 bioglass. The index of decayed, missing and filled teeth (DMFT), International Caries Detection and Assessment System (ICDAS), Bleeding on probing (BOP), and Visible Plaque Index (VPI) were recorded and initial radiographic examinations were performed. After 1 month, a clinical and radiographic examination was performed, and the retention and clinical quality of the applied material were assessed. The data were analyzed using the Chi-square test of independence ($\chi^2 = 0.05$). Results: After one month, there was a difference in the degree of retention of materials ($p = 0.031$), with total retention predominating in the CIV-MR group. The CIV-MR showed better clinical performance (anatomical shape, marginal adaptation, superficial texture and marginal discoloration) when compared to the CIV-MR + 45S5 ($p < 0.05$). There was a significant reduction from ICDAS 3 and 4 to ICDAS 0 (fully sealed tooth) and 3 ($p < 0.05$), with no significant difference between groups ($p = 0.053$). During this period, there was an increase in BOP and VPI. Radiographically, none of the groups showed progression of caries lesions. Conclusion: The materials CIV-MR and CIV-MR + 45S5 showed favorable results in controlling the evolution of caries disease, despite the fact that bioactive materials still need improvements to obtain better retention and quality of the material.

Key-words: Bioactivity, Demineralized dentin, Bioactive materials

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	13
LISTA DE TABELAS E QUADROS	14
RESUMO	15
ABSTRACT	17
INTRODUÇÃO GERAL	22
CAPÍTULO I -	24
RESUMO	25
ABSTRACT	26
1 INTRODUÇÃO	27
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	28
2.1. Avaliação físico-química: Potencial alcalinizante e liberação de flúor em meio ácido.....	29
2.2. Potencial remineralizante: microdureza transversal.....	30
2.3. Potencial antimicrobiano.....	33
2.4. Liberação de íons cálcio.....	35
2.5. Análise estatística.....	35
3 RESULTADOS.....	36
3.1 Avaliação físico-química: Potencial alcalinizante e liberação de flúor em meio ácido.....	36
3.2 Potencial remineralizante: microdureza transversal.....	38
3.3 Potencial antimicrobiano.....	39
3.4 Liberação de íons cálcio	39
4 DISCUSSÃO.....	40
5 CONCLUSÃO.....	43
AGRADECIMENTOS.....	43
REFERÊNCIAS.....	43

CAPÍTULO II -	49
RESUMO	50
ABSTRACT	51
1 INTRODUÇÃO	52
2 MÉTODOS.....	53
2.1 Aspectos Éticos e Registros.....	53
2.2 Desenho do Estudo.....	54
2.3 Cálculo do Tamanho da Amostra.....	55
2.4 Elegibilidade.....	55
2.5 Recrutamento e Alocação.....	55
2.6 Randomização e Alocação dos Grupos (Protocolo do Estudo).....	55
2.7 Intervenções.....	56
2.8 Orientações pós-tratamento.....	57
2.9 Acompanhamento.....	57
2.9.1 Avaliação direta das propriedades funcionais e biológicas do material.....	57
2.9.2 Avaliação indireta das propriedades funcionais do material.....	57
3 ANÁLISE DOS DADOS.....	58
4 DISCUSSÃO.....	58
5 CONCLUSÃO.....	60
REFERÊNCIAS.....	60

CAPÍTULO III -	65
RESUMO	66
ABSTRACT	67
1 INTRODUÇÃO	68
2 METODOLOGIA	69
Desenho do estudo e considerações éticas.....	69
Critérios de inclusão e exclusão.....	69
Desenho do estudo e cálculo amostral.....	70
Sequência de Randomização e Alocação dos Grupos.....	70
Calibração do operador e avaliador	72
Intervenção do Estudo.....	72
Orientações aos pacientes.....	73
Avaliações periódicas.....	73
Avaliação direta das propriedades funcionais e biológicas do material.....	74
Avaliação indireta das propriedades funcionais do material.....	75
Análise Estatística.....	76
3 RESULTADOS.....	76
4 DISCUSSÃO.....	81
5 CONCLUSÃO.....	84
AGRADECIMENTOS.....	84
REFERÊNCIAS.....	84
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	88
REFERÊNCIAS GERAIS.....	89
APENDICES	
ANEXOS	

1 INTRODUÇÃO GERAL

Materiais bioativos tem sido amplamente pesquisados na literatura¹⁻³. Tais materiais têm demonstrado um alto potencial remineralizante³ em tecidos desmineralizados, devido sua capacidade de liberar íons, dentre eles os íons cálcio e fósforo⁴. A fim de promover remineralização nos tecidos dentais, a incorporação destes materiais bioativos vem sendo estudada em diferentes materiais odontológicos^{1,2,5}.

45S5 Bioglass[®] (45% em peso de SiO₂, 24,5% em peso de Na₂O, 24,5% em peso de CaO, 6% em peso de P₂O₅), que foi inventado pela primeira vez por Hench no final dos anos 1960^{6,7}, é conhecido por seu alto índice de bioatividade⁸, bem como por suas desejáveis propriedades antimicrobianas⁹. Entretanto, o Bioglass[®] que pertence à categoria de materiais mais bioativos⁶, normalmente exibe propriedades mecânicas inferiores; assim, como aditivo, pode diminuir a resistência à compressão e a microdureza dos CIVs¹⁰.

Em contra partida, parece ser interessante sua adição ao cimento de ionômero de vidro modificado por resina (CIV-MR), uma vez que a incorporação de componentes resinosos conferem maior resistência mecânica e ao desgaste¹¹ a este material. Porém, em alguns casos, o CIV-MR pode apresentar menor capacidade de liberação dos íons flúor quando comparado ao CIV convencional¹², fator que poderia vir a ser sanado com a incorporação do biovidro.

Materiais bioativos são aqueles que podem levar a certa biomineralização dentro de seu ambiente clínico por meio da liberação de quantidades substanciais de íons¹³. De acordo com essa afirmação, os CIVs podem ser considerados bioativos, pois são capazes de lixiviar íons por meio da dissolução de partículas de vidro de aluminossilicato de cálcio que podem potencialmente promover a interação dos CIVs com a HA da dentina. No entanto, sua bioatividade pode ser melhorada e explorada pela incorporação de vidros bioativos¹⁴.

Sendo assim, parece interessante a incorporação de materiais bioativos ao CIV-MR, uma vez que o mesmo apresenta uma menor liberação de íons quando comparado aos CIVs convencionais¹², assim suas propriedades biológicas poderiam ser melhoradas após esta incorporação, auxiliando na remineralização de tecidos desmineralizados.

Logo, materiais que propõem a remineralização dos tecidos dentais parecem ser uma interessante manobra clínica. Com tecidos dentais remineralizados consegue-se preservar a estrutura dental e até mesmo evitar a entrada dos dentes no ciclo restaurador, como indicado pela odontologia minimamente conservadora¹⁵. Deste modo estratégias que induzam medidas preventivas são altamente recomendadas para manutenção da integridade da estrutura dental¹⁶.

A fim de se manter a integridade da estrutura dental, é essencial que haja a detecção precoce da doença cárie, podendo ser utilizados critérios visual-tátil para facilitar o diagnóstico. Dentre eles podemos citar o ICDAS (International Caries Detection and Assessment System), sistema que consiste em escores de ampla avaliação para a cárie¹⁷. O método ICDAS de avaliação é dividido em sete escores variando desde o dente sadio até lesões com cavidade extensa com dentina visível¹⁸.

Assim, tem sido ampliada a indicação de métodos conservadores para manutenção da estrutura dental, dentre eles a aplicação de selantes¹⁹. É vista na literatura a indicação de selantes em casos de lesões iniciais (ICDAS 1 e 2) de cárie a fim de evitar a sua progressão, funcionando como uma barreira entre o meio oral externo e o biofilme dental, com isso ocorre a preservação da estrutura dental¹⁹. Já foi demonstrado que a aplicação de selantes em lesões micro-cavitadas tem a habilidade de deter a progressão da lesão, não havendo influência do tipo de selante utilizado²⁰. Entretanto a literatura ainda é escassa de evidências que indiquem a aplicação de selantes em lesões moderadas (ICDAS 3 e 4)¹⁹.

Mediante o exposto parece inicialmente ser interessante avaliar o comportamento de materiais bioativos na dentina desmineralizada, para em seguida poder extrapolar estes dados para uma avaliação clínica. Desta forma, o objetivo do capítulo I foi avaliar a influência da associação de materiais bioativos (45S5 e Niobiofosfato -NbG) ao cimento de ionômero de vidro modificado por resina (CIV-MR) no potencial alcalinizante, liberação de íons flúor e cálcio, microdureza da dentina desmineralizada e seu efeito antimicrobiano. Uma vez que os melhores resultados laboratoriais podem ser observados com o uso do vidro bioativo 45S5, a efetividade deste material em lesões moderadas de cárie foi proposta nos capítulos II e III. O capítulo II apresenta um protocolo de estudo para o capítulo III. O objetivo do capítulo II foi propor a avaliação da efetividade da associação do 45S5 ao cimento de ionômero de vidro modificado por resina (CIV-MR) na retenção e prevenção da progressão de lesões moderadas de cárie em molares permanentes. Enquanto o capítulo III abordou a aplicação do CIV-MR associado ao 45S5 em molares com lesões moderadas de cárie. O objetivo deste estudo foi avaliar clínica e microscopicamente a retenção e qualidade do cimento de ionômero de vidro modificado por resina (CIV-MR) associado ao biovidro 45S5 e sua influência na prevenção da progressão de lesões moderadas de cárie em molares permanentes.

2 CAPÍTULO I

POTENCIAL ALCALINIZANTE, REMINERALIZANTE E ANTIMICROBIANO DE MATERIAIS BIOATIVOS EXPERIMENTAIS APLICADOS NA DENTINA DESMINERALIZADA

(A ser submetido à Revista Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials)

Diniz, Ana Carolina Soares¹; Firoozmand, Leily Macedo¹.

¹Departamento do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal do Maranhão (UFMA), São Luís, Brasil

Autor Correspondente: Leily Macedo Firoozmand, Departamento do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal do Maranhão (UFMA), Av. dos Portugueses, 1966, CEP: 65085680, São Luís, Maranhão, Brasil, Tel:+55(98) 3272-8503. E-mail: leilyfiroozmand@hotmail.com

Highlights

- A associação CIV-MR+45S5 apresenta maior liberação de íons flúor e cálcio e maior potencial alcalinizante ao longo de 60 dias
- CIV-MR associado ao NbG e 45S5 aumentaram os valores de microdureza da dentina, sugerindo capacidade de induzir remineralização da dentina desmineralizada.
- O CIV-MR associado ao NbG e 45S5 não influenciaram nos resultados de UFC/mg, porém o CIV-MR 45S5 promoveu menor acidogenicidade do biofilme.

RESUMO

Objetivo: Avaliar a influência da associação de materiais bioativos (45S5 e Niobiofosfato - NbG) ao cimento de ionômero de vidro modificado por resina (CIV-MR) quanto ao seu potencial alcalinizante, liberação de íons flúor e cálcio, capacidade antimicrobiana e potencial remineralizante da dentina. **Métodos:** Foram confeccionadas amostras a partir dos seguintes materiais formando 3 grupos experimentais: **CIV-MR-** Cimento de Ionômero de Vidro Modificado por Resina; **45S5-** CIV-MR+10%45S5; **NbG-** CIV-MR+10%NbG. Para o potencial remineralizante foram utilizados blocos de dentina submetidos à indução de cárie. Foram analisados o efeito alcalinizante, liberação de flúor, potencial antimicrobiano com biofilme de *Streptococcus mutans* UA159, além de analisar a liberação de íons cálcio em meio microbiológico em diferentes tempos experimentais. Por meio do teste de microdureza o potencial remineralizante da dentina nas diferentes profundidades ao longo de 60 dias também foi avaliado. Os testes ANOVA two-way e pos-hoc Scheffe e teste T foram utilizados para as análises ($\alpha=5\%$). **Resultados:** O potencial alcalinizante e liberação de flúor foram maiores para o 45S5 ($p=0,000$) ao longo de 60 dias. Nos grupos 45S5 e NbG, a $10\mu\text{m}$ de profundidade, observou-se um aumento da microdureza da dentina desmineralizada ($p<0,001$). Não foi verificada diferença na quantidade de UFC entre os materiais bioativos, porém o 45S5 apresentou menor acidogenicidade do biofilme nos diferentes tempos ($p=0,000$). Além disso, o 45S5 apresentou maior liberação de íons cálcio no meio microbiano. **Conclusão:** Conclui-se que a associação dos materiais bioativos com destaque para o 45S5, apresentam-se como promissoras alternativas para o tratamento da dentina desmineralizada, visto que induzem a melhorias nas propriedades físico-químicas do ionômero resinoso.

Palavras-chave: Desmineralização dentinária, Vidros bioativos, Bioatividade, Dentina

ABSTRACT

Objectives: To evaluate the influence of the association of bioactive materials (45S5 and Niobiophosphate -NbG) with resin-modified glass ionomer cement (**RM-GIC**) regarding its alkalizing potential, release of fluoride and calcium ions, antimicrobial capacity and dentin remineralizing potential. **Methods:** The treatments were divided into 3 experimental groups composed by: **RM-GIC**- Resin Modified Glass Inomer Cement; 45S5- **RM-GIC** + 10% 45S5; NbG- **RM-GIC** + 10% NbG. Dentin blocks subjected to caries induction were used for remineralizing potential. The alkalizing effect, fluoride release, antimicrobial potential with biofilm of *Streptococcus mutans* UA159 were analyzed, in addition to analyzing the release of calcium ions in this microbiological medium at different times. Through the microhardness test, the remineralizing potential of dentin at different depths over 60 days was also evaluated. The two-way Anova and pos-hoc Scheffe tests and the T test were used for the analyzes ($\alpha = 5\%$). **Results:** The alkalizing potential and fluoride release were higher for 45S5 ($p = 0.000$) over 60 days. In groups 45S5 and NbG, at 10 μm deep, an increase in the microhardness of demineralized dentin was observed ($p < 0.001$). There was no difference in the amount of CFU between the bioactive materials, however the 45S5 showed less acidity of the biofilm at different times ($p = 0.000$). In addition, 45S5 showed a higher release of calcium ions in the microbial environment. **Conclusion:** It is concluded that the association of bioactive materials with prominence for 45S5, presents itself as promising alternatives for the treatment of demineralized dentin, since they induce improvements in the physicochemical properties of the resinous ionomer.

Key-words: Dentin demineralization, Bioactive glasses, Bioactivity, Dentin

1. Introdução

A fim de proporcionar maior conservação do tecido dental, novas estratégias que possibilitem a remineralização da dentina parcialmente desmineralizada têm sido estudadas(Liu et al., 2011).

A remineralização dentinária ocorre desde que o dente possua uma polpa saudável capaz de atuar neste processo. Sendo assim, na intenção de manter a integridade dental, é preconizado que seja removida somente a dentina infectada e mantida a dentina afetada (Krokhar and Tewari, 2018). Para auxiliar o processo de reparação, é desejado que os materiais utilizados possam além de promover a proteção do complexo-dentino-pulpar, também estimulem a remineralização e reparação da dentina (Sakoolnamarka et al., 2005).

Para tratamentos restauradores atraumáticos (ART) e adequação do meio bucal, o cimento de ionômero de vidro convencional (CIV) é um dos principais materiais de escolha(Zhang et al., 2019), principalmente pela sua capacidade de liberação de flúor (Garcez et al., 2007). A fim de obter maior resistência mecânica e ao desgaste, componentes resinosos foram incorporados ao cimento de ionômero de vidro (Di Nicolo et al., 2007). Porém, em alguns casos, os cimentos de ionômero de vidro modificados por resina (CIV-MR) podem apresentar menor capacidade de liberação dos íons flúor quando comparados aos CIV convencionais(Kucukyilmaz et al., 2017). O potencial remineralizante (Milly et al., 2014), alcalinizante e capacidade de liberação de flúor de materiais restauradores(Qvist et al., 2010) podem influenciar na resposta e conservação da dentina afetada. Porém, é continua a busca por materiais que estimulem a ação reparadora do tecido pulpar, promovendo uma maior remineralização dos tecidos.

Nesta perspectiva materiais bioativos tem sido amplamente estudados(Bakry et al., 2014; Bauer et al., 2019; Santos Cardoso et al., 2018) principalmente por serem capazes de penetrar na estrutura dentinária, estimular a formação de hidroxiapatita(Bakry et al., 2014; Yang et al., 2013) e até aumentar o pH do meio(Saito et al., 2003). Dentre os materiais bioativos estudados, pode-se citar o biovidro 45S5 e o vidro bioativo experimental de Niobiofosfato (NbG) que são materiais que interagem com a dentina desmineralizada(Mohn et al., 2010). Enquanto o 45S5 é capaz de liberar íons de fosfato de cálcio, transformando-se em cristais de hidroxiapatita(Bakry et al., 2014; Yang et al., 2013), o NbG é um vidro bioativo experimental que possui alta estabilidade química e biocompatibilidade, interagindo na deposição de íons(Carvalho et al., 2016), aumento da microdureza(Bauer et al., 2016) e ação antimicrobiana(Carvalho et al., 2016). Desta forma, a incorporação de materiais bioativos aos

CIV-MR poderia potencialmente melhorar as propriedades biológicas do material restaurador, quando comparados a produtos apresentados no mercado.

São escassos os estudos que avaliam a interação e efeito terapêutico destes materiais bioativos na dentina desmineralizada em tratamentos expectantes, bem como para capeamentos pulpares indiretos. Além disto, o efeito antimicrobiano dos materiais é outro fator de grande importância para que não ocorra progressão de lesões de cárie recorrentes em dentinas desmineralizadas (Cheng et al., 2017).

Assim, o objetivo deste estudo *in vitro* foi avaliar a influência da incorporação de 10% de 45S5 e NbG ao CIV-MR no potencial alcalinizante, na liberação de íons flúor e cálcio, na capacidade de remineralização da dentina desmineralizada, e na ação antimicrobiana em biofilme de *Streptococcus mutans*, em diferentes tempos de avaliação. As hipóteses nulas testadas são de que não há diferença; (1) no potencial alcalinizante em meio ácido e liberação de íons flúor dos diferentes materiais e tempos testados; (2) na microdureza da dentina tratada com os diferentes materiais, nas diferentes profundidades dentinária (10, 50, 100 e 200µm) e tempos (24 horas, 7, 30 e 60 dias); (3) na ação antimicrobiana e (4) na liberação de íons cálcio nos meios de cultura dos diferentes materiais testados.

2. Materiais e Métodos

Para realização dos testes experimentais foram confeccionados corpos-de-prova com: **CIV-MR**- Cimento de Ionômero de Vidro Modificado por Resina (Vitro Fil LC, DFL, Rio de Janeiro, RJ, BR); **45S5**- CIV-MR+ 10% 45S5 (Bioactive glass SYLC/ Osspray Ltd, London, UK); **NbG**- CIV-MR+ 10% NbG. Os materiais bioativos foram incorporados ao CIV-MR com auxílio de uma balança de precisão. Foram removidos do frasco 10% em peso do pó de CIV-MR e adicionado a mesma proporção do material bioativo (45S5 ou NbG) obtendo-se os materiais experimentais. Em seguida, para uniformização do material, os frascos contendo as misturas foram agitados por meio de um Vortex durante 5 minutos (Tabela 1).

Todos os materiais foram fotopolimerizados de acordo com as especificações do fabricante com o aparelho LED Bluephase N (Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein) com intensidade de 1.200mW/cm².

Tabela 1 – Especificações dos materiais utilizados, composição e modo de manipulação.

GRUPOS	MATERIAL/ FABRICANTE	COMPOSIÇÃO	MANIPULAÇÃO
CIV- MR	Vitro Fil LC A3/ DFL, Rio de Janeiro, RJ, BR	Pó: Silicato de Estrôncio-Alumínio, Carga, Ativadores e Óxido de Ferro. Líquido: 2-Hidroxietil Metacrilato, Solução Aquosa de Ácidos Poliacrílico e Tartárico, Peróxido de Benzoíla e Canforoquinona. Primer: Poliacidos Metacrilados Modificados, Estabilizante, Catalisador e Álcool Etilico	1. Aplicação do primer com microbrush na superfície da dentina desmineralizada a ser tratada, seguido por fotoativação por 20 segundos; 2. Espatulação de uma medida de pó para duas gotas de líquido, aplicação do material sobre a superfície da dentina. 3. Fotoativação por 20 segundos.
CIV-MR+45S5	Bioactive glass SYLC/ Osspray Ltd, London, UK	45% SiO ₂ ; 24.5% Na ₂ O; 24.5% CaO; 6% P ₂ O ₅	1. Incorporação de 10% do SYLC ao pó do CIV-MR com auxílio de balança de alta precisão (Ohaus, Nova Jersey, EUA); 2. Aplicação do material conforme o protocolo de manipulação do Vitro Fil LC A3 (DFL, Rio de Janeiro, Brasil).
CIV-MR+NbG	Niobiophosphate bioactive glass	41.8% Nb ₂ O ₅ ; 32.5% P ₂ O ₅ ; 18.8% CaO; 2.7% Al ₂ O ₃ ; 1.2% Na ₂ O; 0.04% SrO	1. Incorporação de 10% de NbG ao pó do CIV-MR com auxílio de balança de alta precisão (Ohaus, Nova Jersey, EUA); 2. Realização do mesmo protocolo de manipulação do Vitro Fil LC A3 (DFL, Rio de Janeiro, Brasil).

2.1. Avaliação físico-química: Potencial alcalinizante e liberação de flúor em meio ácido

Para confecção dos corpos-de-prova (n=4) foi utilizada uma matriz de aço circular com 10mm de diâmetro e 2mm de profundidade. Os materiais foram inseridos na matriz de acordo com os grupos previamente especificados e manipulados seguindo as recomendações do fabricante (Tabela 1).

2.1.1. Avaliação do potencial alcalinizante

Os corpos-de-prova foram imersos em soluções preparadas em frascos com 5ml de água deionizada com adição de HCl, ajustado em pH 4. Em seguida, os corpos-de-prova foram armazenados em estufa bacteriológica à $37 \pm 1^\circ\text{C}$, e realizou-se a avaliação do pH das soluções após 24h, 7, 30 e 60 dias.

Para leitura do pH, um eletrodo específico (Quimis, Diadema, SP, Brasil) foi calibrado e em seguida inserido em cada frasco contendo os corpos-de-prova. A mensuração do pH foi realizada três vezes para obtenção de uma média para cada corpo-de-prova, sendo considerada como o valor final de cada corpo-de-prova e registrado para cada tempo de avaliação.

2.1.2. Avaliação da liberação de flúor

As mesmas soluções das avaliações de pH foram avaliadas quanto a liberação dos íons flúor após 24h, 7, 30 e 60 dias. A quantidade de liberação de flúor (ppm e mV) foi registrada pelo eletrodo (Quimis, Diadema, SP, Brasil) acoplado com um analisador digital de íon.

O eletrodo foi calibrado a cada tempo de avaliação, com soluções padrões, a fim de formar duas curvas de análise, cada uma com 5 pontos. As soluções para curva de baixa concentração de flúor tiveram como os pontos de referência: 0,0625; 0,125; 0,25; 0,5 e 1ppm e 6,25; 12,5; 25; 50 e 100ppm para curva de alta concentração.

Para manter a força iônica constante, bem como verificar a presença de flúor e ajustar o pH da solução, os mesmos volumes da solução de pH analisada foram adicionados ao composto TISAB II (Thermo, Orion, São Paulo, SP, BR) na proporção de 0,5:0,5 mL (relação 1:1).

2.2. Potencial remineralizante: Microdureza transversal

Trinta e seis incisivos bovinos, hígidos, recém-extraídos, armazenados em água destilada foram utilizados para a avaliação da microdureza da dentina. Os dentes foram seccionados no sentido vestibulo-pulpar em blocos envolvendo esmalte e dentina (4x4x1 mm) com auxílio da máquina de corte IsoMet 1000 Precision Saw, (Buehler Leake Bluff, New Jersey, EUA) (Figura 1 A) (SILVA et al., 2015).

Os dentes foram posicionados em bases de resina acrílica (Jet-clássico, São Paulo, SP, Brasil), com o auxílio de cera pegajosa (NewWax, Rio de Janeiro, RJ, Brasil). O esmalte vestibular foi totalmente removido com a utilização da politriz Aropol-E (Arotec, Cotia, SP, Brasil), utilizando-se lixas na seguinte sequência de granulação #120, #600, #1200, (3M, Minnesota, EUA), posteriormente as superfícies foram polidas com disco de lixa #2000, #4000 e discos de feltro e pasta de polimento de 2-4 microns (Diamond Excel, FGM, Joinville, SC, Brasil) (Figura 1 B).

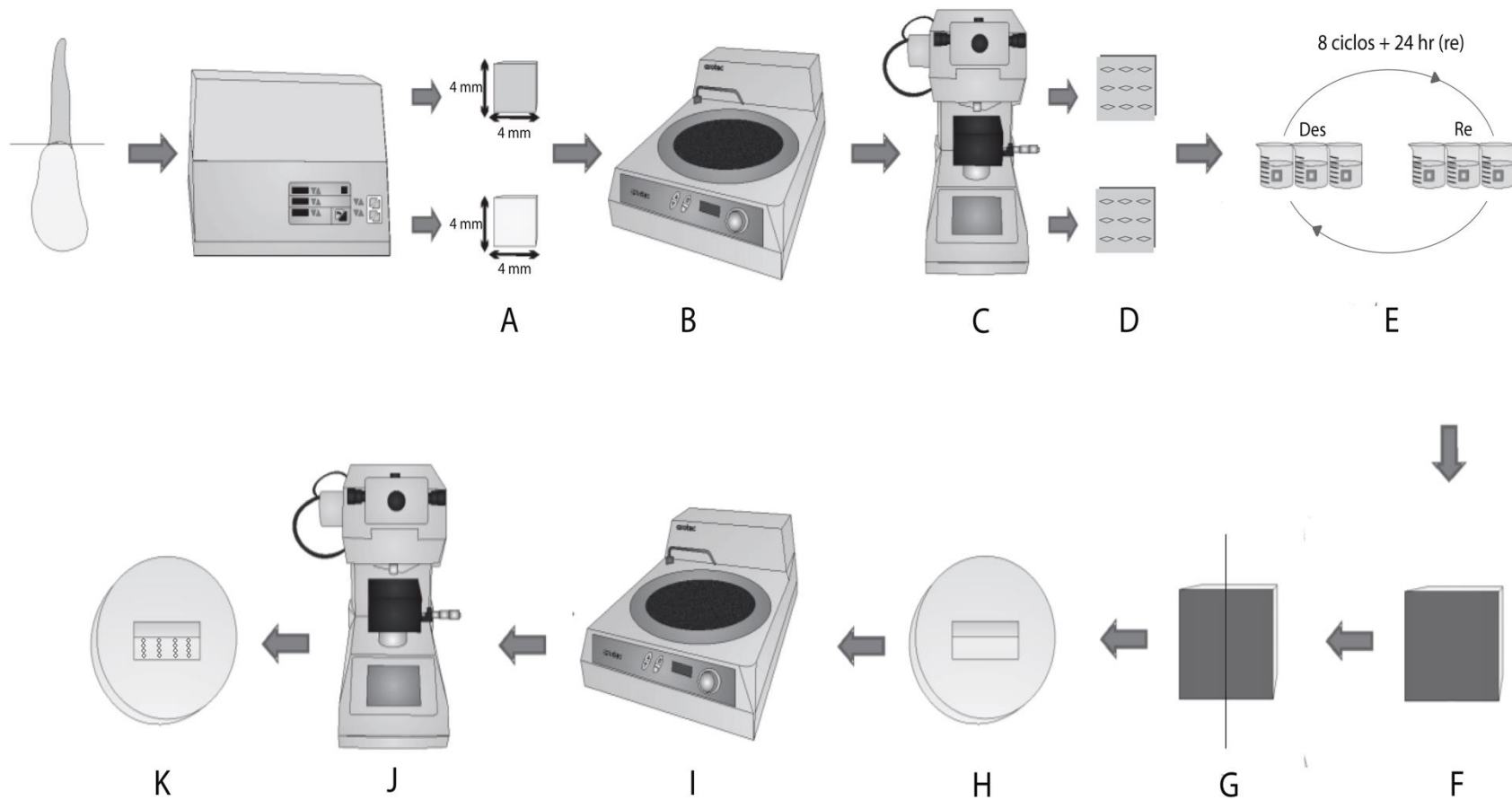


Figura 1. Metodologia empregada. (A) Obtenção de blocos de esmalte e dentina; (B) Remoção do esmalte e polimento dos blocos de dentina; (C) Mensuração de microdureza inicial; (D) Blocos de dentina após as indentações; (E) Indução de cárie; (F) Espécime após ciclos de pH. (G) Secção dos espécimes; (H) Amostra aderida na base de acrílico perpendicularmente à superfície desmineralizada. (I) Polimento da amostra para mensuração de microdureza final. (J) Análise de microdureza em 24h, 7 dias, 1 mês, 2 meses; (K) Orientação final das indentações na amostra (SILVA et al., 2015).

2.2.1. Análise da microdureza superficial

Os blocos de dentina foram fixados em uma base de acrílico (Jet Acrylic Resin-Classic, Campo Limpo Paulista, SP, Brasil) para a mensuração da Microdureza Knoop Inicial da superfície dentinária (MKI). Foi utilizado o microdurômetro HMTV-G20 (Shimadzu -Future-Tech Corporation, Tóquio, Japão) sob uma carga de 50g durante 15 segundos (Figura 1 C).

Inicialmente três indentações foram realizadas com espaçamento de 1000µm a partir do centro em três fileiras da superfície da amostra. Foi realizada a média destes valores, obtendo-se o valor final da microdureza inicial (Figura 1 D).

2.2.2. Distribuição dos grupos experimentais

Após a leitura da microdureza, os corpos-de-prova foram distribuídos em três grupos experimentais (n=12) de forma estratificada de acordo com os valores iniciais de microdureza.

Posteriormente, a dentina foi submetida a ciclos de indução de lesão de cárie. Apenas a superfície vestibular externa da dentina permaneceu exposta e as demais faces foram isoladas com um verniz ácido-resistente (Colorama Maybelline Ltda, São Paulo, SP, Brasil).

2.2.3. Indução de lesão de cárie

A indução artificial de lesão de cárie na dentina foi realizada utilizando o protocolo validado por Queiroz et al., (2008)(Queiroz et al., 2008). O protocolo consistiu na aplicação em um modelo de ciclos com alternância de pH em blocos de dentina bovina (Figura 1 E).

A indução da lesão artificial de cárie consistiu na imersão dos corpos-de-prova em solução desmineralizante composta por 2,2 mM de CaCl_2 , 2,2 mM NaH_2PO_4 , e 50 mM de ácido acético com o pH ajustado a 4,47 à 37°C, por 4 horas. Seguida pela imersão destes por 20h em solução remineralizante, composta por 1,5 mM CaCl_2 , 0,9 mM NaH_2PO_4 , 130 mM KCl, e 20 mM solução tampão, com o pH ajustado a 7,0 à 37°C(El-Wassefy, 2017).

Este protocolo foi realizado por 8 dias consecutivos, sem agitação. Previamente à troca de solução, os corpos-de-prova foram lavados em água destilada, para não haver contaminação. As soluções do ciclo de pH foram renovadas a cada 4 dias.

2.2.4. Tratamento da dentina

Posteriormente ao ciclo de indução de lesão de cárie, os corpos-de-prova foram randomizados e distribuídos em três grupos experimentais (CIV-MR; CIV-MR+45S5; CIV-MR+NbG) de acordo com o tratamento realizado.

Os corpos-de-prova foram seccionados ao meio, no sentido vestibulo-pulpar. A superfície vestibular de uma das metades foi submetida ao tratamento (Figura 1.F-G), enquanto a outra metade permaneceu em água destilada servindo como controle.

Os tratamentos foram manipulados, aplicados e fotopolimerizados obedecendo às especificações indicadas pelo fabricante (Tabela 1). Após a manipulação e aplicação dos materiais sobre a superfície da dentina desmineralizada, estas foram armazenadas em estufa bacteriológica a $37\pm 1^{\circ}\text{C}$.

A primeira avaliação foi realizada após 24h da confecção dos corpos-de-prova. Tanto os que receberam tratamento, quanto os não tratados (grupo controle) foram submetidos à nova análise da microdureza subsuperficial, considerando as distâncias de 10, 50, 100 e 200 μm a partir da superfície dentinária externa da dentina. As leituras foram realizadas nos períodos de 24h, 7, 30 e 60 dias após o tratamento (Figura 1 J-K) (SILVA et al., 2015).

2.3. Potencial antimicrobiano

O efeito antimicrobiano dos materiais bioativos foi testado com biofilmes de *S. mutans* UA159 formados sobre a superfície dos materiais testados (n=3). Utilizando uma matriz de aço circular com 6mm de diâmetro e 2mm de profundidade, os materiais estudados foram inseridos na matriz de acordo com as especificações do fabricante (Tabela 1).

Todos os corpos-de-prova foram esterilizados com óxido de etileno e posteriormente foram submetidos a etapas de indução de lesão de cárie.

As variáveis dependentes analisadas foram: peso úmido, viabilidade bacteriana, e pH do meio de cultura, utilizado como indicador de acidogenicidade do biofilme. Para a avaliação estatística, a média da duplicata (n=3) foi considerada um bloco experimental.

2.3.1. Coleta e processamento da saliva

No primeiro dia do experimento, com o auxílio de um voluntário/pesquisador (em jejum) foram coletadas 40 ml de saliva, em tubos de ensaio estéreis, mantidos em recipiente com gelo até o processamento da mesma. Essa saliva foi distribuída em tubos de *ependorf's* e levada para a centrifuga, durante 10 minutos a 4°C . O sobrenadante foi coletado e para 20 ml de saliva foram adicionados 20 ml de tampão absorção e 200 μl de PMSF (M Phenylmethylsulfonyl Fluoride) depois, filtrado por membrana (0,22 μm) e acondicionado em recipiente estéril. Em seguida, 1 ml de saliva clarificada foi distribuída em cada poço de uma placa para cultura de células de 24 poços e os espécimes submergidos por 30 minutos para a

formação de película salivar adquirida nos blocos dos diferentes tratamentos (Giacaman et al., 2013).

2.3.2. Crescimento do biofilme

Após a formação da película adquirida, os blocos dos tratamentos foram colocados em uma placa de cultura estéril contendo 2ml de meio preparado com 15 µL do inóculo (feito previamente com 15 µL de *S. mutans* UA159 em 10 ml de meio de cultura Brain Heart Infusion–BHI, KASVI, São José do Pinhais, PR, Brasil), 90% de meio BHI e 10% de sacarose durante 8h a 37° C, 10% de CO₂.

Após esse período de incubação, os blocos foram transferidos para novos poços contendo 2 ml de um meio novo feito com 9ml de BHI e 1ml de glicose onde permaneceram durante toda a noite.

No dia seguinte foram iniciados os banhos de sacarose, onde os corpos-de-prova foram lavados três vezes em solução de NaCl 0,01% e em seguida expostas à sacarose por 3 minutos. Posteriormente, foram imersas em um novo meio de cultura com 2 ml de BHI e glicose.

Deste modo, os tratamentos foram expostos 8 × / dia (8:00, 9:30, 11:00, 12:00, 13:30, 15:00, 16:00 e 17:30 h) à solução de sacarose a 10% por 3 min., sendo realizada sempre a mesma sequência, onde após cada exposição à sacarose, os biofilmes eram lavados 3 vezes em solução de NaCl 0,01%. O meio foi trocado no início da manhã e após a última exposição do dia e o pH de cada meio foi medido para verificação da acidogenicidade do biofilme. O processo durou 120 horas (Amaechi et al., 2019).

2.3.3. Coleta de biofilme

Após as 120 horas de experimento, o biofilme formado nos corpos-de-prova foi coletado separadamente. Inicialmente os corpos-de-prova foram lavados três vezes em 0,9% de NaCl, para remover o material frouxamente aderido. Em seguida os corpos-de-prova foram imersos em tubos de *ependorf* com 1 ml de solução salina estéril, e submetidos à sonicação em uma potência de 7W por 30 seg (Branson, Sonifier 50, Danbury, CT, USA) para remoção dos biofilmes formados sobre os corpos-de-prova. Em seguida os corpos-de-prova foram removidos dos *ependorf's* para realização da diluição seriada das alíquotas da suspensão. As alíquotas foram usadas para determinar a viabilidade bacteriana do biofilme e peso úmido.

2.3.4. Viabilidade bacteriana e peso úmido

Uma alíquota de 100 µL da suspensão foi diluída em 1ml de solução de NaCl 0,9% estéril em série até 10^{-8} , e duas gotas de 20 µL de cada diluição seriada foram inoculadas em BHI ágar (BD, Sparks, USA). As placas foram incubadas por 48 h a 37°C, 10% de CO₂. As unidades formadoras de colônias foram contadas e expressas como Unidades Formadoras de Colônia - UFC / mg de peso úmido de biofilme.

Após ter realizado a diluição seriada, os *ependorfs* contendo as alíquotas foram submetidos a centrifugação por 10 min., objetivando a sedimentação do inóculo no fundo do *ependorf* e aspirar a solução salina contida na alíquota. A centrifugação foi repetida até observar-se que toda solução salina já havia sido aspirada. Após a remoção de toda solução de NaCl, os *ependorfs* foram pesados em balança de alta precisão e os valores anotados para determinação do peso úmido de cada grupo.

2.4. Liberação de íons cálcio

A fim de quantificar a liberação de íons cálcio pelos materiais submetidos aos meios de cultura foram realizadas mensurações após 24h e 120h de exposição ao meio microbiano.

Para avaliação da liberação de íons cálcio foi inicialmente confeccionada a curva de aferição com 5 pontos (0,030; 0,050; 0,100; 0,150; 0,200). Realizada a curva de aferição, o meio de cultura de cada grupo era misturado com Arsenazo III para então serem submetidos ao teste Elisa no espectrofotômetro Elx800 (BioTek Instruments, Winooski, USA). A análise foi realizada em triplicata (Carneiro et al., 2016).

2.5. Análise Estatística

Os dados do potencial alcalinizante e liberação de flúor apresentaram $p < 0,05$ para o teste de Levene. A influência do tempo nos valores de alteração de pH e liberação de flúor foram avaliados por meio dos testes ANOVA two-way e pos-hoc Scheffe ($p < 0,05$).

Para o teste de microdureza, após a constatação da normalidade dos dados (Shapiro-Wilk, $p > 0,05$) os dados foram submetidos ao teste ANOVA three-way com delineamento misto (independente para as variáveis Tratamento e Profundidade e repetido para a variável Tempo). O teste T de *student* para amostras independentes foi aplicado para comparar as médias de microdureza dos grupos experimentais com seus respectivos grupos controles no mesmo tempo de avaliação e na mesma profundidade.

Na avaliação da ação antimicrobiana, apresentaram $p < 0,05$ para o teste de Levene. Sendo a influência do tempo nos valores da acidogenicidade do biofilme avaliados por meio do

teste Anova two-way e pos-hoc Scheffe ($p < 0,05$). Enquanto para avaliação da UFC foi utilizado o Anova com post-hoc Tukey.

Para avaliação da liberação de íons cálcio dos meios de cultura, os dados apresentaram $p < 0,05$ para o teste de Levene. Os dados foram avaliados pelo teste ANOVA two-way e pos-hoc de Scheffe ($p < 0,05$).

O programa estatístico utilizado foi o *IBM SPSS Statistic Base* v.22.0 (Chicago, IL, Estados Unidos), considerando o nível de significância ($p = 0,05$).

3. Resultados

3.1. Avaliação físico-química: Potencial alcalinizante e liberação de flúor em meio ácido

Devido a condição de desmineralização ocorrer em meio ácido, a alteração de pH e liberação acumulada de íons flúor dos materiais, ao longo dos 60 dias foi avaliada (Figura 2). O efeito interação material *versus* tempo foi significativo para o potencial alcalinizante e para liberação de íons flúor ($p < 0,001$).

Em meio ácido, o grupo 45S5 apresentou maior potencial alcalinizante e induziu maior liberação de íons flúor quando comparado ao NbG e CIV-MR ($p < 0,001$) (Figura 2- A). Foram verificados os maiores valores de pH para todos os grupos nos períodos de tempos após 7 e 30 dias ($p < 0,001$).

A liberação de flúor apresentou significativo aumento para os materiais ao longo dos 60 dias ($p < 0,001$) (Figura 2- B)

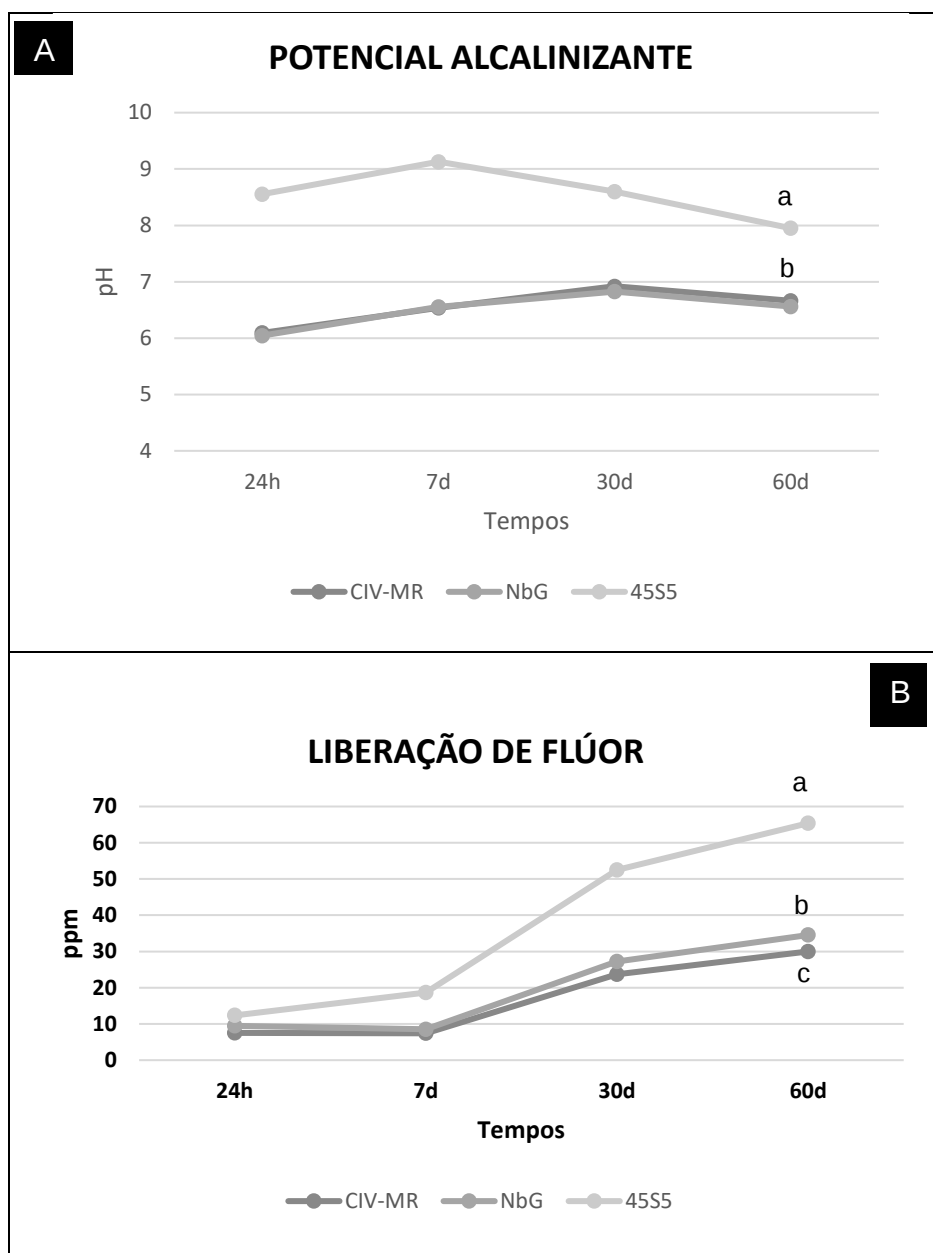


Figura 2. Valores médios dos grupos experimentais ao longo do tempo (24h, 7, 30 e 60 dias)
A- Alteração de pH e B- Liberação de íons flúor acumulado.

*Letras diferentes representam diferença estatística entre os materiais significativa ($p < 0,05$).

3.2. Potencial remineralizante: microdureza transversal

Os tratamentos avaliados ($p<0,001$), os tempos de avaliação ($p<0,001$) e as profundidades ($p<0,001$) influenciaram no potencial remineralizante da dentina desmineralizada (Figura 3). A associação das variáveis material *versus* tempo apresentou a diferença significativa ($p<0,001$), e a interação tempo *versus* profundidade também apresentou diferença significativa ($p<0,001$).

Apenas a microdureza na profundidade de 10 μ m foi estatisticamente superior as demais ($p<0,001$). O aumento da microdureza ao longo do tempo dependeu da profundidade ($p<0,001$). Os valores médios da microdureza foram influenciados pelo tipo de material aplicado durante os tempos de avaliação ($p<0,001$).

A dentina desmineralizada (grupos controles) mantiveram os valores médios de microdureza similares ao longo dos 60 dias. O teste T para amostras independentes demonstrou que os tratamentos (CIV-MR, 45S5 e NbG) diferiram da dentina desmineralizada (controle), quando avaliados nos mesmos tempos de avaliação e profundidade ($p<0,05$). Houve um efeito significativo do tipo de material aplicado na dentina sobre os valores médios da microdureza ($p<0,001$). Vale ressaltar que enquanto a diferença entre CIV-MR aos demais grupos o valor de p foi $<0,001$, a diferença entre os grupos 45S5 e NbG apresentou um valor de p de 0,040.

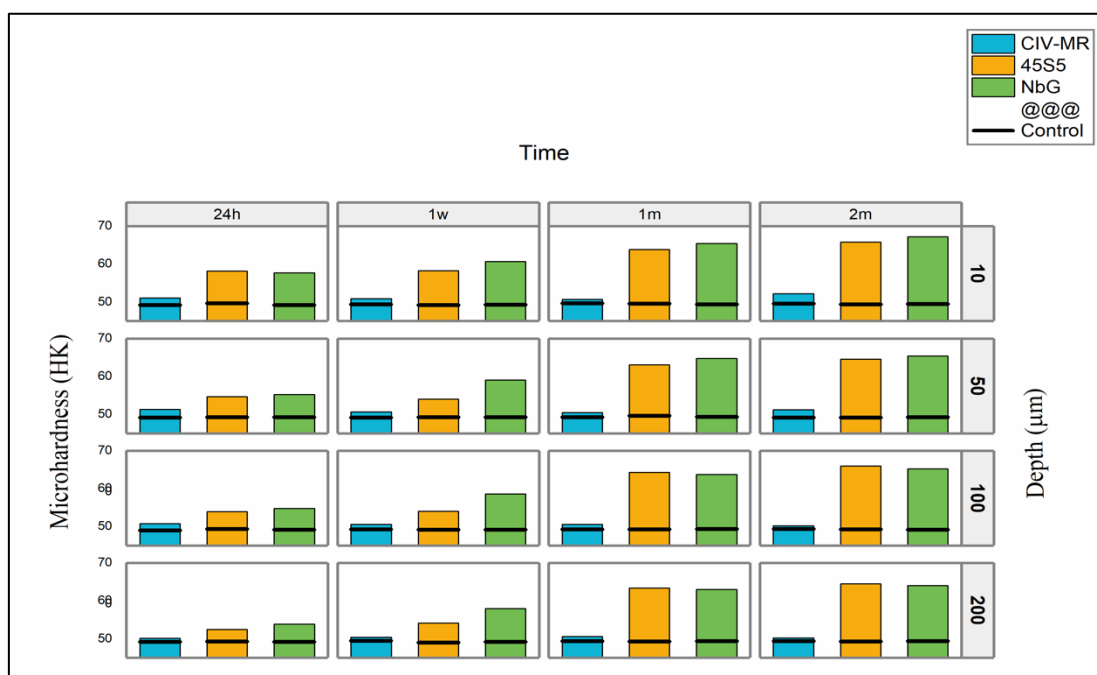


Figura 3. Valores médios de microdureza para os grupos experimentais (colunas) e seus respectivos controles (linhas), avaliados de acordo com o tempo de avaliação e a profundidade do preparo.

3.3. Potencial antimicrobiano

3.3.1 Avaliação da acidogenicidade do biofilme e viabilidade bacteriana

Verificou-se diferença significativa na alteração de pH dos grupos avaliados nos diferentes tempos experimentais (48h, 72h, 96h e 120h) ($p < 0,001$), e nos diferentes grupos, sendo os maiores valores de pH encontrados para o grupo 45S5 ($p < 0,001$) (Figura 4-A).

A viabilidade bacteriana no biofilme, normalizada pelo peso úmido (Figura 4-B) não mostrou diferença entre os grupos ($p > 0,05$).

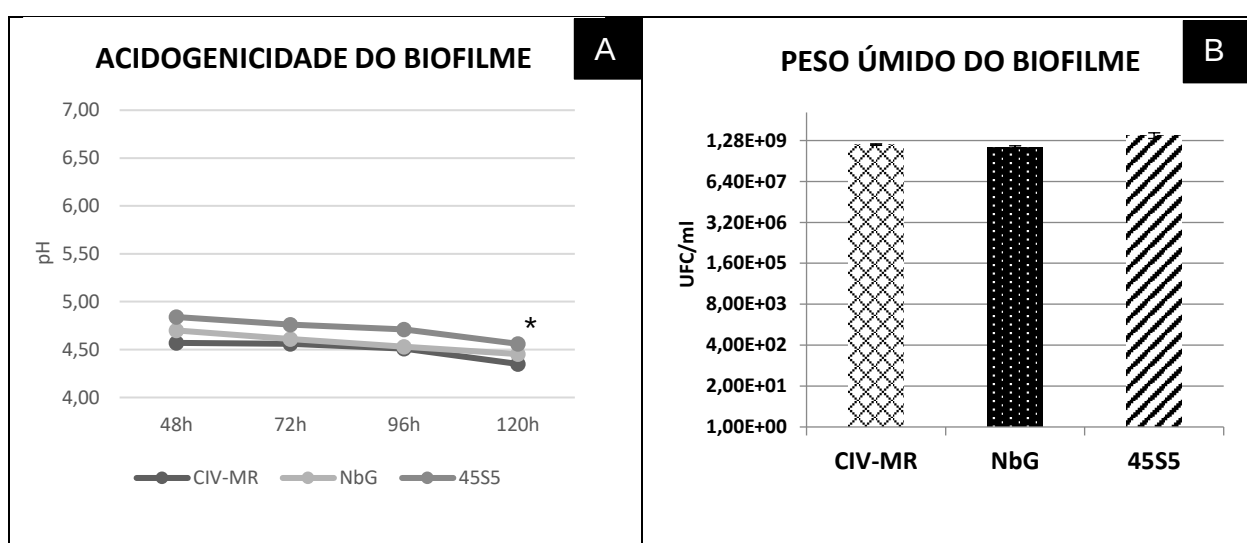


Figura 4. A- Valores médios da acidogenicidade do biofilme; B- valores médios do peso úmido (UFC/ml) e quantidade de proteínas solúveis, de acordo com o tratamento para os grupos experimentais. (*) Representa diferença estatística significativa ($p < 0,05$).

3.4 Liberação de íons cálcio

No meio microbiano, observou-se diferença estatisticamente significativa para a liberação de íons cálcio nos diferentes grupos e tempos de avaliação ($p < 0,001$). Os maiores valores de liberação de cálcio foram observados após 120h (Figura 6), e o 45S5 apresentou maior liberação de cálcio, nestas condições, quando comparado aos demais grupos ($p < 0,001$) (Figura 5).

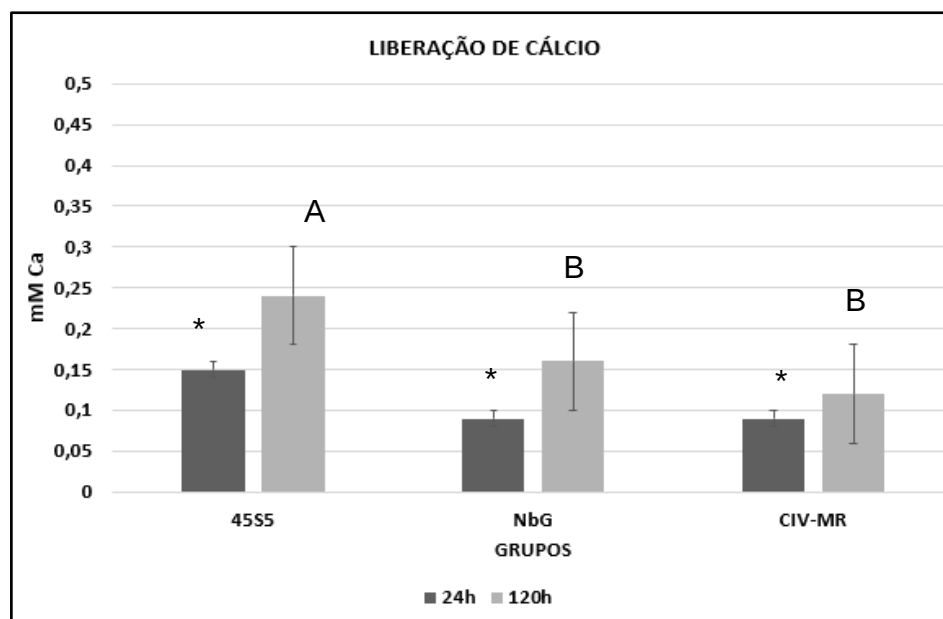


Figura 5: Valores médios da liberação de íons cálcio acumulado para os diferentes materiais. Letras maiúsculas diferentes representam diferença estatística entre os materiais ($p < 0,05$). Presença de símbolos (*) representa diferença estatística entre os tempos (24 e 120h) ($p < 0,05$).

4. DISCUSSÃO

Estudos clínicos (Franzon et al., 2014; Maltz et al., 2013) evidenciam que a manutenção da dentina afetada pode promover maior conservação da estrutura dental e aumentar os índices de sucesso clínico (Franzon et al., 2014; Maltz et al., 2013) e radiográfico ao longo do tempo (Krokhar and Tewari, 2018). Dentro desta perspectiva, o presente estudo avaliou a influência da incorporação de vidros bioativos (45S5 e NbG) ao cimento de ionômero de vidro modificado por resina, na concentração de 10%, em diferentes aspectos que podem influenciar na remineralização da dentina. Verificou-se que o CIV-MR+45S5 foi o material bioativo que apresentou maior potencial de alcalinização do meio ácido e do meio de cultura microbiano, além de maior liberação de íons flúor e cálcio. Quanto aos valores de microdureza, os melhores resultados foram vistos pelo CIV-MR+NbG e CIV-MR+45S5. Logo, as hipóteses levantadas neste estudo foram rejeitadas.

A avaliação de novos materiais que visem a remineralização da estrutura dental é de fundamental importância, uma vez que o meio ácido corrobora no desenvolvimento da cárie (Peric et al., 2015). Para se obter resultados satisfatórios quanto a remineralização da dentina desmineralizada preconiza-se aguardar um período de 30 a 60 dias, quando se observa um significativo reparo pulpar e formação de dentina reparadora (Hebling et al., 1999),

diminuindo a recidiva da lesão cariosa(Mjör et al., 2008). A avaliação do potencial alcalinizante do CIV-MR+45S5 e CIV-MR+NbG, bem como a capacidade de liberação de íons flúor foi proposta pois estes desfechos são importantes para a remineralização dentinária. A presença de íons flúor durante os processos de remineralização é importante pois colabora para diminuição da progressão e da profundidade da lesão cariosa(Prabhakar et al., 2013) inibindo a desmineralização da estrutura dental. A incorporação do 45S5 na concentração de 10% (em peso) ao material resinoso, foi utilizada pois a literatura indica que nesta concentração as propriedades químico-mecânicas não são afetadas (Sfalcin et al., 2017).

Os resultados deste estudo demonstraram que maior alcalinização do meio e liberação de flúor foram encontrados para os materiais bioativos estudados (CIV-MR+45S5 e CIV-MR+NbG), corroborando com achados da literatura(Alhashimi et al., 2017; El-Wassefy, 2017). Na análise de pH, o grupo CIV-MR+45S5 apresentou maior potencial alcalinizante do meio ácido, fator que pode auxiliar na remineralização(Saito et al., 2003), e formação de precipitados na dentina (Vollenweider et al., 2007). Este resultado talvez seja explicado pela liberação rápida de íons de caráter básico (como o sódio) e captura de prótons de hidrogênio, que são incorporados à superfície das partículas(Tauböck et al., 2014). Este comportamento poderia diminuir a manutenção do “pH crítico” diminuindo a desmineralização na estrutura dental e risco de progressão da cárie (Peric et al., 2015).

Quando comparado com os cimentos convencionais o CIV-MR apresenta menor liberação de fluoreto, devido a presença do HEMA que é capaz de alterar a reação da base ácida e levar à formação de uma rede de gel mais fraca(Kucukyilmaz et al., 2017). Nesta perspectiva a incorporação de materiais bioativos pode auxiliar esta problemática. Foi observado que os maiores valores de liberação de íons flúor também foram encontrados para CIV-MR+45S5 (Figura 2).

Neste estudo o potencial remineralizante dos materiais sobre a dentina desmineralizada foi avaliada por meio do teste de microdureza, já que é possível correlacionar as taxas de Ca:P com os valores de microdureza(Sakoolnamarka et al., 2005). Após a remoção seletiva da cárie a remineralização dentinária promove maior longevidade da interface dentina-resina(Abuna et al., 2016). O CIV-MR não apresentou alterações na microdureza da dentina e maiores valores de microdureza da dentina foram observados pelos grupos CIV-MR+NbG e CIV-MR+45S5. O aumento de microdureza pelos materiais bioativos podem ser explicados pelo fato de que os materiais bioativos, tais como o 45S5, podem auxiliar no restabelecimento do padrão de mineralização. O 45S5 é capaz de estimular a deposição de hidroxiapatita gerando uma ligação estável com a dentina(E. M. Carvalho et al., 2015). Este fator pode influenciar nas

características mecânicas da estrutura dentária (Bauer et al., 2016), pelo aumento da microdureza dentinária (Santos Cardoso et al., 2018). Além disso, nas primeiras 24 horas, os materiais bioativos (45S5 e NbG) parecem apresentar maior interação com a dentina, mantendo um aumento da microdureza ao longo do tempo (Huang et al., 2016), conforme também verificado no presente estudo.

Uma vez que o aumento de pH (Hu et al., 2009) e a liberação de íons de materiais bioativos é capaz de inibir o crescimento bacteriano (Yoshihara et al., 2017), no presente estudo a atividade antimicrobiana dos materiais foi avaliada, por ser um fator coadjuvante no processo de formação das lesões cariosas. Assim, foram formados biofilmes de *Streptococcus mutans* UA159, a principal espécie relacionada à cárie, que representa o gênero estreptococo dominante no biofilme da placa dentária (Balhaddad et al., 2019).

Porém, foi verificado que o peso úmido do biofilme formado sobre os materiais bioativos (CIV-MR+45S5 e CIV-MR+NbG) apresentaram-se estatisticamente semelhantes ao grupo controle CIV-MR. Yoshihara et al., 2017 (Yoshihara et al., 2017) também verificou que apesar da liberação de íons dos materiais bioativos, o crescimento bacteriano não foi inibido, e que o aumento da rugosidade superficial promoveu a formação do biofilme (Yoshihara et al., 2017), o que corrobora com os achados desta pesquisa. Apesar do CIV-MR+45S5 e CIV-MR+NbG terem apresentado um potencial alcalinizante satisfatório em meio ácido (pH 4,0) na presença de bactérias acidogênicas e acidúricas (*S. mutans*), estes materiais não apresentaram resultados superiores ao grupo controle CIV-MR quanto ao crescimento bacteriano. Nossos achados divergem de estudos anteriores que demonstram atividade antibacteriana pelos biovidros 45S5 e NbG (Bauer et al., 2019; Carvalho et al., 2016), pois enquanto na metodologia do presente trabalho foi utilizado um corpo-de-prova de CIV-MR incorporado por 10% de 45S5 no trabalho de Bauer et al., 2019 foi utilizada uma suspensão contendo 20% do 45S5. Assim, um corpo-de-prova sólido poderia ter menor probabilidade de atuação antimicrobiana do que o material apresentado na forma de pó ou suspensão.

A liberação de íons cálcio em meio microbiológico foi maior no grupo 45S5, porém em todos os grupos observou-se uma significativa liberação de íons cálcio ao longo do tempo. A literatura demonstra que o biovidro 45S5 é uma fonte de íons cálcio e sílica (Vollenweider et al., 2007), proporcionando a remineralização da dentina após 30 dias de tratamento com o biovidro 45S5 nano particulado (Vollenweider et al., 2007), corroborando com os resultados aqui encontrados. O NbG apresentou resultados para liberação de cálcio semelhantes ao do CIV-MR. Estes resultados podem refletir a capacidade retardada de liberação iônica pelo NbG (Carneiro et al., 2016). Foi observado por Carneiro et al., 2018 que o pico de cálcio,

liberado pelo NbG, foi obtido após 90 dias de avaliação (Carneiro et al., 2018). Entretanto, no presente estudo, o período de avaliação de liberação de cálcio restringiu-se as 120h equivalentes ao protocolo do teste microbiológico. Talvez fosse necessário um período maior a fim de ser possível observar a total liberação de íons cálcio do NbG ao meio. O NbG apresenta uma estabilidade química, o que talvez possa explicar a manutenção do pH ao longo do tempo (C. N. Carvalho et al., 2015).

Desta maneira, é possível verificar que a incorporação de agentes bioativos (45S5 e NbG) ao CIV-MR é capaz de auxiliar na remineralização da dentina desmineralizada, uma vez que a liberação de íons flúor e alcalinização do meio podem auxiliar no processo de remineralização (Peric et al., 2015). Entretanto mais pesquisas devem ser realizadas a fim de que possam vir a complementar os achados obtidos neste estudo.

5. CONCLUSÃO

De acordo com a metodologia empregada e dentro das limitações deste estudo *in vitro*, é possível concluir que a incorporação de materiais bioativos (45S5 e NbG) ao CIV-MR apresentam-se como promissores materiais coadjuvantes na remineralização da dentina desmineralizada. Maior evidência é dada à incorporação do 45S5 ao CIV-MR que promoveu maiores valores de alcalinização e liberação de íons flúor e cálcio.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

REFERÊNCIAS

- Abuna, G., Feitosa, V., Correr, A., Cama, G., Giannini, M., Sinhoreti, M., Pashley, D., Sauro, S., 2016. Bonding performance of experimental bioactive/biomimetic self-etch adhesives doped with calcium-phosphate fillers and biomimetic analogs of phosphoproteins. *J. Dent.* 52, 79–86. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2016.07.016>
- Alhashimi, R.A., Mannocci, F., Sauro, S., 2017. Bioactivity, cytocompatibility and thermal properties of experimental Bioglass-reinforced composites as potential root-canal filling materials. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 69, 355–361.

- <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2017.01.022>
- Amaechi, B.T., Tenuta, L.M.A., Ricomini Filho, A.P., Cury, J.A., 2019. Protocols to Study Dental Caries In Vitro: Microbial Caries Models. *Methods Mol Biol* 1922, 357–368. https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9012-2_32
- Bakry, A., Takahashi, H., Otsuki, M., Tagami, J., 2014. Evaluation of new treatment for incipient enamel demineralization using 45S5 bioglass. *Dent. Mater.* 30, 314–320. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2013.12.002>
- Balhaddad, A., Kansara, A., Hidan, D., Weir, M., Xu, H., Melo, M., 2019. Toward dental caries: Exploring nanoparticle-based platforms and calcium phosphate compounds for dental restorative materials. *Bioact. Mater.* 4, 43–55. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2018.12.002>
- Bauer, J., Carvalho, E.M., Carvalho, C.N., Meier, M.M., Souza, J.P. de, Carvalho, R.M. de, Loguercio, A.D., 2016. Development of a simplified etch-and-rinse adhesive containing niobiophosphate bioactive glass. *Int. J. Adhes. Adhes.* 69, 110–114. <https://doi.org/10.1016/j.ijadhadh.2016.03.015>
- Bauer, J., Silva e Silva, A., Carvalho, E.M., Ferreira, P.V.C., Carvalho, C.N., Manso, A.P., Carvalho, R.M., 2019. Dentin pretreatment with 45S5 and niobophosphate bioactive glass: Effects on pH, antibacterial, mechanical properties of the interface and microtensile bond strength. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 90, 374–380. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2018.10.029>
- Carneiro, K., Araujo, T., Carvalho, E., Meier, M., Tanaka, A., Carvalho, C., Bauer, J., 2018. Bioactivity and properties of an adhesive system functionalized with an experimental niobium-based glass. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 78, 188–195. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2017.11.016>
- Carneiro, K.K., Meier, M.M., Santos, C.C., Maciel, A.P., Carvalho, C.N., Bauer, J., 2016. Adhesives Doped with Bioactive Niobophosphate Micro-Filler: Degree of Conversion and Microtensile Bond Strength. *Braz. Dent. J.* 27, 705–711. <https://doi.org/10.1590/0103-6440201601110> LK - <http://xv9lx6cm3j.search.serialssolutions.com/?sid=EMBASE&issn=18064760&id=doi:10.1590%2F0103-6440201601110&atitle=Adhesives+Doped+with+Bioactive+Niobophosphate+Micro-Filler%3A+Degree+of+Conversion+and+Microtensile+Bond+Strength&stitle=Braz+Dent+J&title=Brazilian+dental+journal&volume=27&issue=6&spage=705&epage=711&aulast=Carneiro&aufirst=Karina+Kato&auinit=K.K.&aufull=Carneiro+K.K.&coden=&is>

- bn=&pages=705-711&date=2016&auinit1=K&auinitm=K.
- Carvalho, C.N., Freire, L.G., De Carvalho, A.P.L., Siqueira, E.L., Bauer, J., Gritti, G.C., De Souza, J.P., Gavini, G., 2015. The Influence of Dentine on the pH of Calcium Hydroxide, Chlorhexidine Gel, and Experimental Bioactive Glass-Based Root Canal Medicament. *Sci. World J.* 2015, 1–5. <https://doi.org/10.1155/2015/686259>
- Carvalho, C.N., Wang, Z., Shen, Y., Gavini, G., Martinelli, J.R., Manso, A., Haapasalo, M., 2016. Comparative analyses of ion release, pH and multispecies biofilm formation between conventional and bioactive gutta-percha. *Int. Endod. J.* 49, 1048–1056. <https://doi.org/10.1111/iej.12558>
- Carvalho, E.M., Lima, D.M., Carvalho, C.N., Loguercio, A.D., Martinelli, J.R., Bauer, J., 2015. Effect of airborne-particle abrasion on dentin with experimental niobophosphate bioactive glass on the microtensile bond strength of resin cements. *J. Prosthodont. Res.* 59, 129–135. <https://doi.org/10.1016/j.jpor.2015.01.001>
- Cheng, L., Zhang, K., Zhang, N., Melo, M.A.S., Weir, M.D., Zhou, X.D., Bai, Y.X., Reynolds, M.A., Xu, H.H.K., 2017. Developing a New Generation of Antimicrobial and Bioactive Dental Resins. *J. Dent. Res.* 96, 855–863. <https://doi.org/10.1177/0022034517709739>
- Di Nicolo, R., Shintome, L., Myaki, S., Nagayassu, M., 2007. Bond strength of resin modified glass ionomer cement to primary dentin after cutting with different bur types and dentin conditioning. *J. Appl. Oral Sci.* 15, 459–464. <https://doi.org/10.1590/S1678-77572007000500016>
- El-Wassefy, N.A., 2017. Remineralizing effect of cold plasma and/or bioglass on demineralized enamel. *Dent. Mater. J.* 36, 157–167. <https://doi.org/10.4012/dmj.2016-219>
- Franzon, R., Guimarães, L., Magalhães, C., Haas, A., Araujo, F., 2014. Outcomes of one-step incomplete and complete excavation in primary teeth: a 24-month randomized controlled trial. *Caries Res.* 48, 376–383. <https://doi.org/10.1159/000357628>
- Garcez, R., Buzalaf, M., De Araújo, P., 2007. Fluoride release of six restorative materials in water and pH-cycling solutions. *J. Appl. Oral Sci.* 15, 406–411. <https://doi.org/10.1590/S1678-77572007000500006>
- Giacaman, R., Campos, P., Muñoz-Sandoval, C., Castro, R., 2013. Cariogenic potential of commercial sweeteners in an experimental biofilm caries model on enamel. *Arch. Oral Biol.* 58, 1116–1122. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2013.03.005>
- Hebling, J., Giro, E.M.A., De Souza Costa, C.A., 1999. Biocompatibility of an adhesive

- system applied to exposed human dental pulp. *J. Endod.* 25, 676–682.
[https://doi.org/10.1016/S0099-2399\(99\)80354-9](https://doi.org/10.1016/S0099-2399(99)80354-9)
- Hu, S., Chang, J., Liu, M., Ning, C., 2009. Study on antibacterial effect of 45S5 Bioglass®. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 20, 281–286. <https://doi.org/10.1007/s10856-008-3564-5>
- Huang, M., Hill, R.G., Rawlinson, S.C.F., 2016. Strontium (Sr) elicits odontogenic differentiation of human dental pulp stem cells (hDPSCs): A therapeutic role for Sr in dentine repair? *Acta Biomater.* 38, 201–211. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2016.04.037>
- Krokhar, M., Tewari, S., 2018. Outcomes of partial and complete caries excavation in permanent teeth: a 18 month clinical study. *Contemp. Clin. Dent.* 9, 468–73.
<https://doi.org/10.4103/ccd.ccd>
- Kucukyilmaz, E., Savas, S., Kavrik, F., Yasa, B., Botsali, M., 2017. Fluoride release/recharging ability and bond strength of glass ionomer cements to sound and caries-affected dentin. *Niger. J. Clin. Pract.* 20, 226–234. <https://doi.org/10.4103/1119-3077.178917>
- Liu, Y., Tjäderhane, L., Breschi, L., Mazzoni, A., Li, N., Mao, J., Pashley, D.H., Tay, F.R., 2011. Limitations in bonding to dentin and experimental strategies to prevent bond degradation. *J. Dent. Res.* 90, 953–968. <https://doi.org/10.1177/0022034510391799>
- Maltz, M., Jardim, J., Mestrinho, H., Yamaguti, P., Podestá, K., Moura, M., de Paula, L., 2013. Partial removal of carious dentine: A multicenter randomized controlled trial and 18-month follow-up results. *Caries Res.* 47, 103–109. <https://doi.org/10.1159/000344013>
- Milly, H., Festy, F., Watson, T., Thompson, I., Banerjee, A., 2014. Enamel white spot lesions can remineralise using bio-active glass and polyacrylic acid-modified bio-active glass powders. *J. Dent.* 42, 158–166. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2013.11.012>
- Mjör, I., Holst, D., Eriksen, H., 2008. Caries and Restoration Prevention. *J. Am. Dent. Assoc.* 139, 565–570. <https://doi.org/10.14219/jada.archive.2008.0216>
- Mohn, D., Bruhin, C., Luechinger, N.A., Stark, W.J., Imfeld, T., Zehnder, M., 2010. Composites made of flame-sprayed bioactive glass 45S5 and polymers: Bioactivity and immediate sealing properties. *Int. Endod. J.* 43, 1037–1046.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2010.01772.x>
- Peric, T., Markovic, D., Petrovic, B., Radojevic, V., Todorovic, T., Radicevic, B., Heinemann, R., Susic, G., Popadic, A., Spiric, V., 2015. Efficacy of pastes containing CPP-ACP and CPP-ACFP in patients with Sjögren's syndrome. *Clin. Oral Investig.* 19, 2153–2165. <https://doi.org/10.1007/s00784-015-1444-1>
- Prabhakar, A., Manojkumar, A., Basappa, N., 2013. In vitro remineralization of enamel

- subsurface lesions and assessment of dentine tubule occlusion from NaF dentifrices with and without calcium. *J. Indian Soc. Pedod. Prev. Dent.* 31, 29–35.
<https://doi.org/10.4103/0970-4388.112403>
- Queiroz, C.S., Hara, A.T., Paes Leme, A.F., Cury, J.A., 2008. pH-cycling models to evaluate the effect of low fluoride dentifrice on enamel de- and remineralization. *Braz. Dent. J.* 19, 21–27. <https://doi.org/10.1590/s0103-64402008000100004>
- Qvist, V., Poulsen, A., Teglers, P., Mjor, I., 2010. Fluorides leaching from restorative materials and the effect on adjacent teeth. *Int. Dent. J.* 60, 156–160.
<https://doi.org/10.1922/IDJ>
- Saito, T., Toyooka, H., Ito, S., Crenshaw, M., 2003. In vitro study of remineralization of dentin: effects of ions on mineral induction by decalcified dentin matrix. *Caries Res.* 37, 445–449. <https://doi.org/10.1159/000073398>
- Sakoolnamarka, R., Burrow, M.F., Swain, M., Tyas, M.J., 2005. Microhardness and Ca:P ratio of carious and CarisolvTM treated caries-affected dentine using an ultra-micro-indentation system and energy dispersive analysis of x-rays - A pilot study. *Aust. Dent. J.* 50, 246–250. <https://doi.org/10.1111/j.1834-7819.2005.tb00368.x>
- Santos Cardoso, O., Coelho Ferreira, M., Moreno Carvalho, E., Campos Ferreira, P., Bauer, J., Nunes Carvalho, C., 2018. Effect of root repair materials and bioactive glasses on microhardness of dentin. *Iran. Endod. J.* 13, 337–341.
<https://doi.org/10.22037/iej.v13i3.20565>
- Sfalcin, R.A., Correr, A.B., Morbidelli, L.R., Araújo, T.G.F., Feitosa, V.P., Correr-Sobrinho, L., Watson, T.F., Sauro, S., 2017. Influence of bioactive particles on the chemical-mechanical properties of experimental enamel resin infiltrants. *Clin. Oral Investig.* 21, 2143–2151. <https://doi.org/10.1007/s00784-016-2005-y>
- SILVA, A.P.P. da, GONÇALVES, R.S., BORGES, A.F.S., BEDRAN-RUSSO, A.K., SHINOHARA, M.S., 2015. Effectiveness of plant-derived proanthocyanidins on demineralization on enamel and dentin under artificial cariogenic challenge. *J. Appl. Oral Sci.* 23, 302–309. <https://doi.org/10.1590/1678-775720140304>
- Tauböck, T.T., Zehnder, M., Schweizer, T., Stark, W.J., Attin, T., Mohn, D., 2014. Functionalizing a dentin bonding resin to become bioactive. *Dent. Mater.* 30, 868–875.
<https://doi.org/10.1016/j.dental.2014.05.029>
- Vollenweider, M., Brunner, T.J., Knecht, S., Grass, R.N., Zehnder, M., Imfeld, T., Stark, W.J., 2007. Remineralization of human dentin using ultrafine bioactive glass particles. *Acta Biomater.* 3, 936–943. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2007.04.003>

- Yang, S.Y., Piao, Y.Z., Kim, S.M., Lee, Y.K., Kim, K.N., Kim, K.M., 2013. Acid neutralizing, mechanical and physical properties of pit and fissure sealants containing melt-derived 45S5 bioactive glass. *Dent. Mater.* 29, 1228–1235.
<https://doi.org/10.1016/j.dental.2013.09.007>
- Yoshihara, K., Nagaoka, N., Maruo, Y., Sano, H., Yoshida, Y., Van Meerbeek, B., 2017. Bacterial adhesion not inhibited by ion-releasing bioactive glass filler. *Dent. Mater.* 33, 723–734. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2017.04.002>
- Zhang, W., Mulder, J., Frencken, J.E., 2019. Is preventing micro-cavities in dentine from progressing with a sealant successful? *Br. Dent. J.* 226, 590–594.
<https://doi.org/10.1038/s41415-019-0195-9>

CAPÍTULO II

EFETIVIDADE CLÍNICA DA ASSOCIAÇÃO DO 45S5 AO CIMENTO DE IONÔMERO DE VIDRO RESINOSO EM LESÕES MODERADAS DE CÁRIE: Ensaio clínico randomizado pragmático

(A ser submetido à Contemporary Clinical Trials Communications)

Diniz, Ana Carolina Soares¹; Firoozmand, Leily Macedo¹.

¹Departamento do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal do Maranhão (UFMA), São Luís, Brasil

Autor Correspondente: Leily Macedo Firoozmand, Departamento do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal do Maranhão (UFMA), Av. dos Portugueses, 1966, CEP: 65085680, São Luís, Maranhão, Brasil, Tel:+55(98) 3272-8503. E-mail: leilyfiroozmand@hotmail.com

RESUMO

Introdução: Materiais bioativos capazes de liberar íons remineralizantes, apresentam-se como uma interessante alternativa de prevenção do desenvolvimento de lesões iniciais de cárie. **Objetivo:** Avaliar a efetividade da associação do 45S5 ao cimento de ionômero de vidro modificado por resina (CIV-MR) na retenção e prevenção da progressão de lesões iniciais de cárie em molares permanentes. **Métodos:** Um total de 36 pacientes, na faixa etária de 08 a 14 anos, com pelo menos dois molares permanentes homólogos com ICDAS (Sistema Internacional de Detecção e Avaliação de Cárie) 3 ou 4 serão selecionados, para participar do estudo clínico do tipo boca-dividida. O CPO-D (Índice de Dentes Cariados, Perdidos e Obturados), ICDAS, ISG (Índice de Sangramento Gengival) e IPV (Índice de Placa Visível) dos pacientes serão analisados. O exame radiográfico complementar será realizado para a avaliação da dentina subjacente à lesão. Os dentes selecionados serão randomizados em 2 grupos: CIV-MR e CIV-MR+45S5. Parâmetros como retenção, desempenho clínico dos materiais e evolução da doença cárie serão avaliados nos dois grupos estudados. Um avaliador calibrado realizará as avaliações clínicas, radiográficas e microscópicas com 1, 6 e 12 meses de acompanhamento. Os resultados obtidos serão avaliados utilizando o teste Qui-quadrado. Será seguido o protocolo de intenção de tratar. **Conclusão:** A aplicação da associação do 45S5 com o CIV-MR pode ser um material alternativo promissor para a prevenção da evolução de lesões de cárie com microcavidades em esmalte.

Palavras-chave: Selantes de cicatrículas e fissuras, Biovidro, Cimento de ionômero de vidro, Ensaio clínico randomizado

ABSTRACT

Background: Bioactive materials that are capable of releasing remineralizing ions seems to be an interesting alternative to prevent the development of carious lesions. **Aim:** To evaluate the effectiveness of the association of 45S5 with resin-modified glass ionomer cement (GIC-MR) for conservation and prevention of the progression of initial carious lesions in permanent molars. **Methods/Design:** A total of 36 patients, aged 8 to 14 years, with at least two permanent molars homologous with ICDAS (International Caries Detection and Assessment System) 3 or 4 will be selected to participate in the clinical study of the split-mouth type. The DMF-T (Decayed, Missed and Filled Teeth index), ICDAS, BOP (Bleeding on probing), and VPI (Visible Plaque Index) will be analyzed. The complementary radiographic exam will be performed to assess the dentin underlying lesion. The selected teeth will be randomly assigned into 2 groups: GIC-MR and GIC-MR + 45S5. Parameters such as retention, the clinical performance of materials, and caries evolution will be evaluated into the two studied groups. A calibrated evaluator will perform clinical, radiographic, and microscopic evaluations at 1, 6, and 12 months of follow-up. The results obtained will be evaluated using the Chi-square test. The intention to treat protocol will be followed. **Conclusion:** The application of the 45S5 association with the GIC-MR may be a promising alternative material for the prevention of the caries lesions evolution with enamel microcavities.

Keywords: Pit and Fissure Sealants, Bioglass, Glass ionomer cement, Randomized Controlled Trial.

1. INTRODUÇÃO

A cárie dentária tem um grande impacto na saúde bucal, influenciando de forma significativa a qualidade de vida das pessoas[1]. O desenvolvimento da cárie pode gerar irritação, limitação mastigatória e dor, além de poder impactar nos aspectos psicológicos e sociais do público infantil[2].

Apesar da população mundial apresentar uma redução dos índices de desenvolvimento da doença cárie ao longo dos últimos anos[3], ainda é necessário buscar tratamentos preventivos e curativos, que previnam seus impactos[4].

A evolução dos conceitos e atualização nos diagnósticos, técnicas e biomateriais tem gerado uma nova perspectiva quanto a prevenção e controle da doença cárie. Aliado a estes fatores, uma mudança na abordagem de intervenção corrobora para o desenvolvimento de uma Odontologia minimamente invasiva[5]. A Odontologia contemporânea preconiza a não remoção de lesões de cárie, nos casos em que não há exposição visível da dentina[6]. Assim, é necessário acompanhar o desenvolvimento das lesões de cárie categorizando-as em lesões paralisadas ou ativas[5]. Essa estratégia parece ser uma manobra atraente de minimizar a intervenção e preservar a estrutura dentária[7]. Apenas alguns sistemas validados para avaliar a atividade da lesão estão disponíveis; isso inclui o Sistema Internacional de Detecção e Avaliação de Cárie (ICDAS)[8].

Dentro deste contexto, a aplicação de selantes em dentes com lesões não-cavitadas apresenta uma menor chance de progressão da cárie quando comparada à lesões não-seladas[9]. Em lesões de ICDAS-3, o uso de selantes foi eficaz no controle da evolução da lesão cariiosa[10].

O cimento de ionômero de vidro modificado por resina (CIV-MR) é um material que apresenta satisfatória resistência mecânica e ao desgaste[11], além de altas taxas de retenção[12]. Porém, o CIV-MR pode apresentar uma limitada capacidade em liberar íons flúor quando comparado aos CIV convencionais[13].

Materiais bioativos têm sido avaliados quanto aos seus efeitos na capacidade antimicrobiana[14,15], liberação de minerais e influência no pH do meio[16,17]. O vidro 45S5 apresenta-se como um dos materiais bioativos amplamente difundido e com a capacidade de liberação de íons cálcio e fosfato[17]. O 45S5 (45% SiO₂, 24.5% Na₂O, CaO, 6%P₂O₅) em meio aquoso desenvolve reações que resultam na formação de uma camada superficial feita de hidroxiapatita e/ou apatita hidroxicarbonatada[18]. A formação de uma camada interativa,

resistente à abrasão e transformada em cristais de hidroxiapatita, quando na presença de solução remineralizante, é uma característica do vidro 45S5[19].

Estudos clínicos randomizados que reportem o comportamento clínico destes materiais bioativos para a prevenção da evolução de lesões cáries moderadas são escassos na literatura. Devido a necessidade de informações clínicas que confirmem os resultados *in vitro*, o objetivo deste ensaio clínico pragmático é propor a avaliação clínica da efetividade do 45S5 associado ao CIV-MR na prevenção da progressão de lesões cáries moderadas em molares permanentes. Além disso, este estudo propõe a avaliação dos critérios de retenção e qualidade do material remanescente nos diferentes períodos de avaliação, assim como verificar a condição de saúde bucal dos pacientes. As hipóteses nulas testadas são as de que não haverá diferença na; (1) retenção dos diferentes materiais avaliados; (2) qualidade do material remanescente de cada grupo; (3) alteração do ICDAS dos dentes tratados.

2. MÉTODOS

Este protocolo seguiu as recomendações do Standard Protocol Items: Recommendations for Interventional Trials (SPIRIT).

2.1 Aspectos Éticos e Registros

Este ensaio foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Maranhão, sob o número de parecer n.2.284.768, e inscrito na base de dados primária para estudos clínicos: Registro Brasileiro para Estudos Clínicos (ReBEC) com registro RBR-389y6y.

O estudo será realizado na cidade de São Luís, no estado do Maranhão, Brasil. A autorização para os voluntários participarem da pesquisa será por meio da assinatura de um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) pelos pais/responsáveis dos pacientes, assim como um termo de assentimento livre e esclarecido (TALE) pelas crianças.

Todos os pacientes serão codificados por um número em ordem para garantir a confidência das informações. No caso de arquivos contendo dados identificáveis, esses serão armazenados

2.2 Desenho do Estudo

O desenho será de um estudo clínico triplo-cego, boca-dividida, randomizado, no qual os pacientes, operador e avaliador não saberão qual tratamento estará sendo aplicado em cada lado. O tipo de estudo é de superioridade, onde se acredita que o grupo experimental apresentará resultados satisfatórios sobre o grupo controle. O fluxograma das etapas do estudo, intervenções e diagrama de avaliação é mostrado na Figura 1.

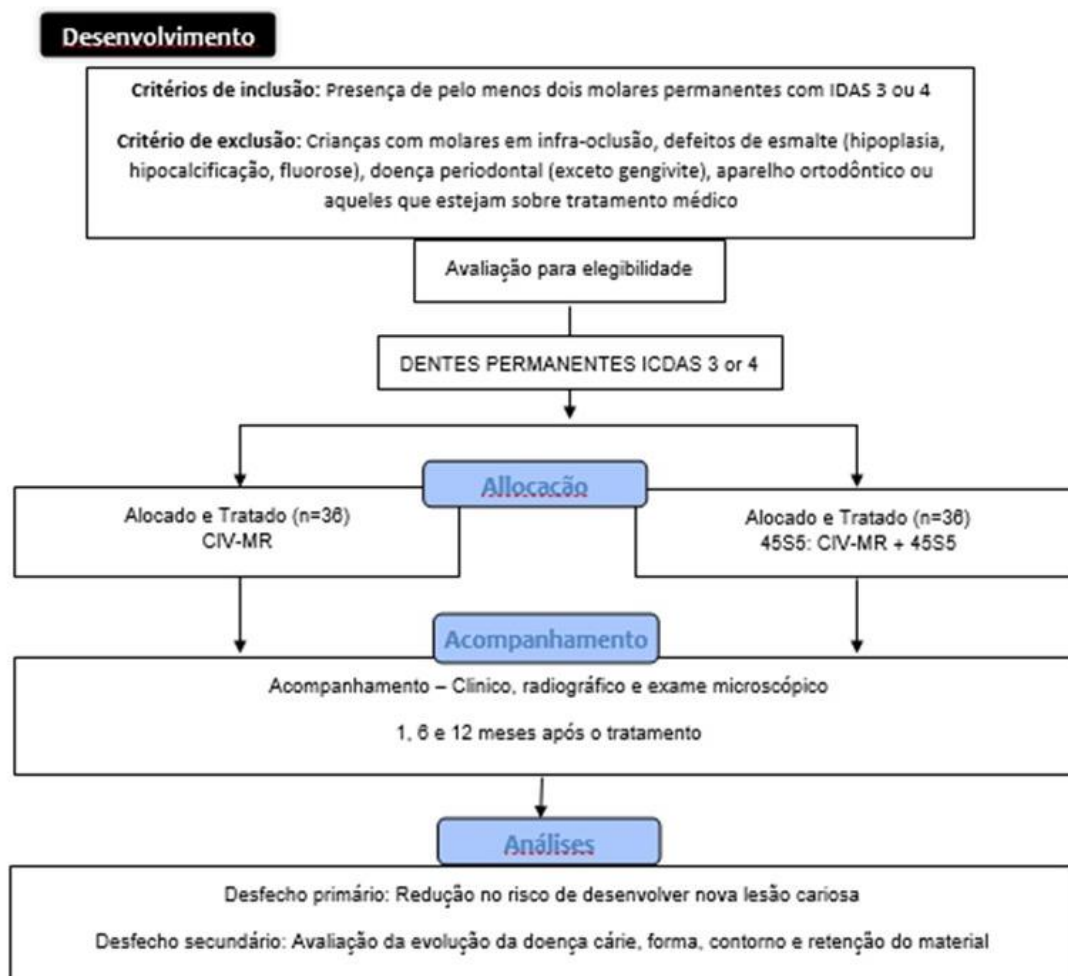


Figura 1. Diagrama de fluxo do ensaio clínico

2.3 Cálculo do Tamanho da Amostra

O desfecho primário do estudo foi a redução no risco de desenvolver nova lesão de cárie. O cálculo do tamanho da amostra, realizado pelo sistema www.sealedenvelope.com, foi baseado na taxa referente à redução no risco de desenvolver cárie com selante de ionômero de vidro modificado por resina, o que foi relatado como sendo de aproximadamente 56%[20]. Assim, 64 pacientes tinham que ter uma possibilidade de 80% de detectar uma redução significativa na medida do resultado primário, a partir de 56% no grupo controle para 86% no grupo experimental, no nível de 5%. Uma vez que a pesquisa será do tipo boca-dividida o número de pacientes será de 32. Considerando uma possível taxa de perdas dos pacientes, aumentou-se o n amostral em 10%, sendo assim o número de pacientes envolvidos será de 36.

2.4 Elegibilidade

Serão incluídos nesta pesquisa voluntários com idade entre 8 a 14 anos, com boa saúde bucal em geral, que tenham pelo menos dois molares com lesão cariosa ICDAS entre os scores 3 e 4, verificadas por meio de exame clínico e radiográfico. Além disso estes dentes deverão estar com vitalidade pulpar; livres de lesões cavitadas de cárie e de restaurações em qualquer uma das faces do dente tratado, todos estes itens serão registrados em uma ficha clínica de anamnese.

Serão excluídos voluntários que apresentem periodontite, estejam em tratamento ortodôntico, apresentem alterações sistêmicas ou que relatem alergias prévias ao material.

2.5 Recrutamento e Alocação

O recrutamento será realizado entre setembro até dezembro de 2020, nas clínicas de cursos de pós-graduação em Odontopediatria (São Luís, MA, Brasil). Cada paciente estará envolvido no estudo cerca de 13 meses: 1 mês para realização do tratamento e 12 meses de acompanhamento.

2.6 Randomização e Alocação dos Grupos (Protocolo do Estudo)

A randomização será realizada por meio de um sistema especializado, o site www.sealedenvelope.com. Detalhes da alocação serão registrados em cartões armazenados em envelopes opacos, numerados sequencialmente e selados por uma pessoa cega às condições e que não participará de outras etapas do trabalho.

Uma vez que o paciente for elegível para o procedimento, a atribuição de alocação será revelada por este envelope a ser aberto no momento da aplicação dos tratamentos pelo auxiliar, que disponibilizará o material sorteado ao operador.

Os tratamentos serão com Cimento de ionômero de vidro – modificado por resina (CIV-MR) e o CIV-MR associado ao 45S5 (CIV-MR+45S5). Os rótulos dos tratamentos serão vedados sendo identificados apenas como A e B, de modo que nem o operador ou os pacientes identifiquem qual tratamento estará sendo aplicado de cada lado.

2.7 Intervenções

Os procedimentos serão realizados nas clínicas de Odontologia da Universidade Federal do Maranhão (São Luís, MA, Brasil). Previamente à realização dos tratamentos, os pacientes passarão por uma triagem, a fim de selecionar aquelas que estiverem dentro dos critérios de inclusão. Os pacientes selecionados para a pesquisa, nesta etapa serão orientados e convidados a assinar o TCLE e o TALE.

Para o exame clínico será utilizado espelho bucal, sonda exploradora e sonda milimetrada para auxiliar na coleta dos dados referentes ao índice de placa visível (IPV), índice de sangramento gengival (ISG), índice de dentes cariados, perdidos e obturados (CPO-D) e condições da saúde bucal. Serão realizadas radiografias interproximais, e todos os dados serão anotados na ficha clínica dos pacientes.

Após o exame clínico será realizada a profilaxia dos dentes com pedra-pomes e água. Em seguida será realizado o isolamento absoluto dos dentes a serem tratados, primeiramente do lado direito. Após o isolamento, o envelope contendo o tratamento randomizado para cada paciente será aberto, sendo revelado o material que será aplicado no dente do lado direito.

A aplicação do tratamento será realizada de acordo com o fabricante do cimento de ionômero de vidro modificado por resina Vitro Fil LC (Nova DFL, Rio de Janeiro, RJ, Brasil). Inicialmente será realizado o condicionamento com ácido poliacrílico da superfície de esmalte por 30s e em seguida removido e lavado abundantemente por 30s. Após o condicionamento ácido, será aplicado o primer e fotopolimerizado por 20s. Então o material será aplicado, na região de sulcos, fósulas e fissuras da superfície oclusal, com o auxílio de uma sonda exploradora de ponta romba, e fotopolimerizado por 20 segundos, seguindo as recomendações do fabricante. Realizada a aplicação dos tratamentos a oclusão será checada para remoção de possíveis contatos prematuros. Por fim uma camada de glaze será aplicada e fotopolimerizada por 20s.

2.8 Orientações pós-tratamento

Os pacientes serão orientados a escovarem seus dentes regularmente usando creme dental fluoretado e a realizarem uso de fio dental. Também serão fornecidos folhetos com orientações de higiene bucal.

Todos os pacientes serão orientados a retornar às consultas para avaliação de todos os dentes selados após 1 mês, 6 meses e 1 ano.

Serão realizadas avaliações direta e indireta das propriedades biológicas e funcionais do material. Os avaliadores estarão calibrados e mascarados quanto ao tipo de tratamento avaliado.

2.9 Acompanhamento

2.9.1 Avaliação direta das propriedades funcionais e biológicas do material

Quanto às propriedades funcionais do material, serão avaliados os seguintes aspectos: forma e contorno anatômico, descoloração marginal, fratura e retenção do material. Os aspectos de forma, contorno anatômico e descoloração marginal serão avaliados segundo o critério USPHS modificado[21]. Enquanto a retenção do material será de acordo com os critérios de Simonsen et al., 1991: 1- retenção total do selante, 2- perda parcial (qualquer perda de material) e 3- perda total[22].

Quanto aos aspectos biológicos, será avaliada a evolução ou estagnação da cárie. Este controle será realizado clinicamente e complementado por acompanhamento radiográfico, pela técnica bite-wing. Nas avaliações clínicas, em casos de perda do material, será verificada visualmente a presença de opacidade e alteração de cor (branca/escurecida) do esmalte, ou pela rugosidade com auxílio de um explorador. Será empregado o método ICDAS para diagnóstico de cárie. No caso de evolução da cárie os pacientes serão encaminhados para tratamento restaurador, caso necessário. Um único avaliador calibrado realizará todas as avaliações clínicas.

2.9.2 Avaliação indireta das propriedades funcionais do material

Serão realizadas moldagens, dos dentes tratados, com silicona de adição no baseline e em todos períodos de avaliação, estas moldagens serão vazadas em resina epóxi e os modelos serão avaliados em estereomicroscópio. Aspectos tais como, a adaptação marginal, presença de trincas, fissuras e fraturas do material serão analisadas, por um avaliador calibrado, por meio de avaliação clínica indireta.

3. ANÁLISE DOS DADOS

A análise será realizada seguindo o protocolo de intenção de tratar, e envolverá todos os pacientes que serão aleatoriamente designados[23]

No caso de perda de dados, a última observação será levada adiante. O estatístico será mascarado para os grupos de estudo.

Quando os dados apresentarem distribuição normal será empregado o teste T-student pareado. As variáveis qualitativas serão analisadas pelo teste Qui-quadrado de independência. Para todos os testes aplicados será considerado o valor de alfa em 5% - intervalo de confiança em 95%. O programa estatístico utilizado será o IBM SPSS Statistics 21.

4. DISCUSSÃO

O controle de lesões cariosas é uma problemática que merece constante investigação, devido à importância da preservação da estrutura dental[24] e manutenção da qualidade de vida[1]. Deste modo, um diagnóstico minucioso e adequado é fundamental para verificar a condição clínica da lesão cariosa, podendo ser ativas ou inativas. As lesões inativas podem deixar clinicamente uma "cicatriz" ou ser radiograficamente representada por uma radiolucidez radiográfica residual, porém isto não é necessariamente um problema ou risco para a saúde do paciente[5].

As estratégias com mínima intervenção associadas a técnicas adesivas podem ser no futuro tratadas com materiais remineralizadores biomiméticos, moduladores do biofilme e da engenharia de tecidos[5]. Assim, a investigação de materiais bioativos que auxiliem na remineralização e diminuam os processos de desmineralização vem ganhando grande destaque.

A fim de auxiliar na identificação do estágio da doença cárie o ICDAS (International Caries Detection and Assessment System) apresenta-se como um instrumento sensível e amplamente difundido e para a análise dos estágios das lesões de cárie[25]. Este instrumento garante uma maior flexibilidade quanto a categoria do estágio da doença cárie, subdividindo as lesões em cavitadas ou não cavitadas[26]. Os métodos de avaliação da cárie devem ser precisos, devendo se verificar as manifestações do processo de cárie em qualquer estágio, e diferenciar o comportamento da lesão (progressão, parada e / ou regressão)[27]. O exame visual é o método mais utilizado para o diagnóstico de cárie. Porém, técnicas auxiliares para o diagnóstico final, tais como as radiografias bite-wing, também podem ser empregados[27].

A reincorporação de minerais às estruturas desmineralizadas pode promover melhorias nas propriedades mecânicas de tecidos como esmalte e dentina[28]. Desta forma, é interessante e indicado a utilização de materiais que promovam liberação de minerais no meio[29].

O cimento de ionômero de vidro modificado por resina tem se mostrado uma viável opção na prevenção da evolução da doença cárie[30]. Devido sua boa adesão ao dente, além da capacidade de liberação de flúor, o uso destes materiais pode explicar a menor progressão das lesões cariosas[10]. E esta prevenção pode também ser observada na superfície proximal dos dentes adjacentes aqueles restaurados com materiais que liberam flúor[29]. Além disso tem se mostrado como um material restaurador efetivo para dentes decíduos, apresentando uma taxa de retenção satisfatória[31] e sucesso de 84% depois de 2 anos de acompanhamento[32]. Pacientes com alto risco de cárie não apresentaram maior ocorrência da perda de retenção do CIV-MR, quando este material foi utilizado na prevenção da cárie oclusal em escolares de 6 a 8 anos[33].

Ainda há poucas evidências clínicas reportadas quanto à indicação de tratamentos conservadores em lesões cariosas ICDAS-3 e 4[34]. MUÑOZ-SANDOVAL et al., 2019 compararam por meio de ensaio clínico randomizado tratamentos conservadores não invasivos em lesões ICDAS 3. Após 24 meses de acompanhamento, verificaram baixos índices de progressão das lesões cariosas nos dentes selados.

A utilização do vidro 45S5 parece ser capaz de contribuir para o tratamento de lesões iniciais de cárie, devido a capacidade de liberação de íons cálcio, flúor e fósforo na superfície do dente tratado, além de auxiliar na alcalinização do meio[17]. Em casos de erosão de esmalte, o biovidro 45S5 formou uma camada de cristais de fosfato de cálcio na superfície que apresentava perda de cristais de hidroxiapatita[19].

No presente estudo o desempenho clínico deste material será avaliado por meio do método United States Public Health Service (USPHS), descrito por Cvar & Ryge, 1971[33] e adaptado por Wilson et al., 2002[34]. A descoloração marginal, adaptação marginal, textura superficial e forma anatômica serão os critérios a serem analisados. O acompanhamento dos dentes selados com os materiais bioativo e convencional será realizado por meio de tomadas radiográficas do tipo bite-wing, além do exame clínico.

Este parece ser um dos estudos clínicos preliminares que avaliam a utilização de um material bioativo à base de 45S5 em lesões ICDAS 3 e 4. A observação do desempenho clínico da associação do 45S5 ao CIV-MR é de grande importância, pois poderá ser uma viável opção de material para lesões de cárie com microcavidades em esmalte. Com isto, contribuirá para a

realização de uma Odontologia minimamente invasiva, conservando estruturas dentais, além de possivelmente vir a tornar esta estrutura dental mais mineralizada.

5. CONCLUSÃO

O uso de materiais bioativos tem mostrado resultados satisfatórios em estudos *in vitro* quanto a capacidade de remineralizar a estrutura dental e promover a alcalinização do meio. Desta forma, o uso destes materiais parece ser uma interessante estratégia capaz de promover a prevenção da progressão da doença cárie.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

REFERÊNCIAS

1. Barbosa, T. & Gavião, M. Oral health-related quality of life in children: Part II. Effects of clinical oral health status. A systematic review. *Int. J. Dent. Hyg.* **6**, 100–107 (2008).
2. Barbosa, T., Tureli, M., Nobre-dos-Santos, M., Puppim-Rontani, R. & Gavião, M. The relationship between oral conditions , masticatory performance and oral health-related quality of life in children. *Arch. Oral Biol.* **58**, 1070–1077 (2013).
3. Peres, M., Antunes, J. & Peres, K. Is water fluoridation effective in reducing inequalities in dental caries distribution in developing countries ? Recent findings from Brazil. *Soz Präventiv Med* **51**, 302–310 (2006).
4. Lima, S., Santana, C., Paschoal, M., Paiva, S. & Ferreira, M. Impact of untreated dental caries on the quality of life of Brazilian children : population-based study. *Int. J. Paediatr. Dent.* 1–10 (2018). doi:10.1111/ipd.12365
5. Innes, N. *et al.* A Century of Change towards Prevention and Minimal Intervention in Cariology. *J. Dent. Res.* **98**, 611–617 (2019).

6. Fontana, M. *et al.* Monitoring of Sound and Carious Surfaces under Sealants over 44 Months. *J. Dent. Res.* **93**, 1070–1075 (2014).
7. Frencken, J. Atraumatic restorative treatment and minimal intervention dentistry. *Br. Dent. J.* **223**, 183–189 (2017).
8. Pitts, N. ‘ICDAS’--an international system for caries detection and assessment being developed to facilitate caries epidemiology, research and appropriate clinical management. *Community Dent Heal.* **21**, 193–198 (2004).
9. Griffin, S. *et al.* The effectiveness of sealants in managing caries lesions. *J. Dent. Res.* **87**, 169–174 (2008).
10. Muñoz-Sandoval, C., Gambetta-Tessini, K. & Giacaman, R. Microcavitated (ICDAS 3) carious lesion arrest with resin or glass ionomer sealants in first permanent molars : A randomized controlled trial. *J. Dent.* **88**, (2019).
11. Di Nicolo, R., Shintome, L., Myaki, S. & Nagayassu, M. Bond strength of resin modified glass ionomer cement to primary dentin after cutting with different bur types and dentin conditioning. *J. Appl. Oral Sci.* **15**, 459–464 (2007).
12. Pereira, A., Pardi, V., Mialhe, F., Meneghim, M. & Ambrosano, G. A 3-year clinical evaluation of glass-ionomer cements used as fissure sealants. *Am. J. Dent.* **16**, 23–26 (2003).
13. Kucukyilmaz, E., Savas, S., Kavrik, F., Yasa, B. & Botsali, M. Fluoride release/recharging ability and bond strength of glass ionomer cements to sound and caries-affected dentin. *Niger. J. Clin. Pract.* **20**, 226–234 (2017).
14. Martins, C. *et al.* Assessment of antimicrobial effect of Biosilicate ® against anaerobic, microaerophilic and facultative anaerobic microorganisms. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **22**, 1439–1446 (2011).
15. Waltimo, T., Brunner, T., Vollenweider, M., Stark, W. & Zehnder, M. Antimicrobial

- effect of nanometric bioactive glass 45S5. *J. Dent. Res.* **86**, 754–757 (2007).
16. Yli-Urpo, H., Närhi, M. & Närhi, T. Compound changes and tooth mineralization effects of glass ionomer cements containing bioactive glass (S53P4), an in vivo study. *Biomaterials* **26**, 5934–5941 (2005).
 17. Bauer, J. *et al.* Dentin pretreatment with 45S5 and niobophosphate bioactive glass: Effects on pH, antibacterial, mechanical properties of the interface and microtensile bond strength. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* **90**, 374–380 (2019).
 18. Hench, L. The story of Bioglass®. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **17**, 967–978 (2006).
 19. Bakry, A., Takahashi, H., Otsuki, M. & Tagami, J. Evaluation of new treatment for incipient enamel demineralization using 45S5 bioglass. *Dent. Mater.* **30**, 314–320 (2014).
 20. Wright, J. *et al.* Sealants for preventing and arresting pit-and-fissure occlusal caries in primary and permanent molars: A systematic review of randomized controlled trials - a report of the American Dental Association and the American Academy of Pediatric Dentistry. *JADA* **147**, 631–645 (2016).
 21. Perdigão, J. *et al.* Randomized clinical trial of four adhesion strategies: 18-month results. *Oper. Dent.* **37**, 3–11 (2012).
 22. Simonsen, R. Retention and effectiveness of dental sealant after 15 years. *J. Am. Dent. Assoc.* **122**, 34–42 (1991).
 23. Schulz, K., Altman, D. & Moher, D. CONSORT 2010 Statement: Updated guidelines for reporting parallel group randomized trials. *Int. J. Surg.* **9**, 672–677 (2011).
 24. Giacaman, R. Preserving healthy teeth throughout the life cycle, the biological asset. *J. Oral Res.* **6**, 80–81 (2017).
 25. Ekstrand, K., Gimenez, T., Ferreira, F., Mendes, F. & Braga, M. The International Caries Detection and Assessment System – ICDAS : A Systematic Review. *Caries Res.*

- 52, 406–419 (2018).
26. Ismail, A. *et al.* The International Caries Detection and Assessment System (ICDAS): an integrated system for measuring dental caries. *Community Dent. Oral Epidemiol.* 170–178 (2007). doi:10.1111/j.1600-0528.2007.00347x
 27. Pitts, N. & Stamm, J. International Consensus Workshop on Caries Clinical Trials (ICW-CCT) - Final consensus statements: Agreeing where the evidence leads. *J. Dent. Res.* **83**, C125-128 (2004).
 28. Yengopal, V. & Mickenautsch, S. Caries-preventive effect of resin-modified glass-ionomer cement (RM-GIC) versus composite resin: a quantitative systematic review. *Eur. Arch. Paediatr. Dent.* **12**, 5–14 (2011).
 29. Jassal, M., Mittal, S. & Tewari, S. Clinical effectiveness of a resin-modified glass ionomer cement and a mild one-step self-etch adhesive applied actively and passively in noncarious cervical lesions: An 18-month clinical trial. *Oper. Dent.* **43**, 581–592 (2018).
 30. Dermata, A., Papageorgiou, S., Fragkou, S. & Kotsanos, N. Comparison of resin modified glass ionomer cement and composite resin in class II primary molar restorations: a 2-year parallel randomised clinical trial. *Eur. Arch. Paediatr. Dent.* **19**, 393–401 (2018).
 31. Tagliaferro, E. *et al.* Influence of caries risk on the retention of a resin-modified glass ionomer used as occlusal sealant: a clinical trial. *Rev Odontol UNESP* **46**, 208–213 (2017).
 32. Pitts, N. & Ekstrand, K. International Caries Detection and Assessment System (ICDAS) and its International Caries Classification and Management System (ICCMS) – methods for staging of the caries process and enabling dentists to manage caries. *Community Dent. Oral Epidemiol.* **41**, 41–52 (2013).

33. Cvar, J. & Ryge, G. Criteria for the clinical evaluation of dental restorative materials, US Public Health Service Publication. *No 790-244 San Fr. Gov. Print. Off.* (1971).
34. Wilson, M., Cowan, A., Randall, R., Crisp, R. & Wilson, N. A practice-based, randomized, controlled clinical trial of a new resin composite restorative: One-year results. *Oper. Dent.* **27**, 423–429 (2002).

CAPÍTULO III

DESEMPENHO CLÍNICO DE IONÔMERO DE VIDRO RESINOSO BIOATIVO EM LESÕES MODERADAS DE CÁRIE: ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO

(A ser submetido à revista Journal of Dentistry)

Ana Carolina Soares Diniz; Leily Macedo Firoozmand

Departamento de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Maranhão
(UFMA)

Autor correspondente: Leily Macedo Firoozmand, Departamento do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal do Maranhão (UFMA), Av. dos Portugueses, 1966, CEP: 65085680, São Luís, Maranhão, Brasil, Tel:+55(98)3272-8503. E-mail: leilyfiroozmand@hotmail.com

RESUMO

O uso de materiais bioativos pode ser uma alternativa promissora em lesões com microcavidades em esmalte. **Objetivo:** Avaliar por meio de ensaio clínico randomizado a retenção e qualidade do cimento de ionômero de vidro modificado por resina (CIV-MR) associado ao biovidro 45S5 (CIV-MR+45S5) aplicado em molares permanentes com lesões moderadas de cárie e sua influência na prevenção da progressão da cárie. **Metodologia:** Sessenta e seis molares permanentes homólogos com lesões moderadas de cárie (ICDAS 3 e 4) foram randomicamente tratados com CIV-MR ou CIV-MR+45S5, perfazendo o ensaio de boca-dividida. Avaliações do índice de sangramento gengival (ISG), índice de placa visível (IPV), análise clínica e radiográfica dos dentes, e avaliação dos materiais (retenção e qualidade) foram realizadas após 1 mês e 3-6 meses do tratamento. Após os tratamentos foram realizadas moldagens para análises microscópicas das superfícies tratadas. Os dados foram analisados pelo teste Qui-quadrado de independência ($\chi^2=0,05$). **Resultados:** Após um mês, o CIV-MR apresentou maior retenção total ($p=0,046$), bem como melhor desempenho clínico ($p<0,05$). Porém houve predomínio de dentes completamente selados e com ICDAS ≤ 3 ($p>0,05$), nos dois grupos. Microscopicamente não houve diferença na retenção dos materiais ($p=0,347$). Após período de 3-6 meses não houve diferença na retenção nem no desempenho clínico dos materiais ($p>0,05$). Houve redução no ISG e IPV, e radiograficamente nenhum dos grupos apresentou progressão de cárie. **Conclusão:** O uso de CIV-MR+45S5, em lesões moderadas de cárie, parece ser uma alternativa promissora na prevenção da evolução da doença cárie apresentando desempenho clínico e microscópico equivalente ao CIV-MR.

Relevância clínica: O uso de materiais bioativos tem sido muito difundido na Odontologia. Utilizar materiais bioativos em tratamentos minimamente invasivos em lesões cariosas sem envolvimento de dentina é uma alternativa que preserva a estrutura dentária. Além disso esses materiais podem ser promissores no auxílio da remineralização dental.

Palavras-chaves: Ensaio clínico randomizado, Materiais bioativos, Bioatividade, Selantes ionoméricos

ABSTRACT

The use of bioactive materials can be a promising alternative in lesions with enamel microcavities. Objective: To evaluate, through a randomized clinical trial, the retention and quality of resin-modified glass ionomer cement (CIV-MR) associated with 45S5 bioglass (CIV-MR + 45S5) applied to permanent molars with moderate caries lesions and their influence in preventing caries progression. Materials and Methods: Sixty-six permanent homologous molars with moderate caries lesions (ICDAS 3 or 4) were randomly treated with CIV-MR or CIV-MR + 45S5, in a split-mouth trial. Evaluations of the bleeding on probing (BOP), visible plaque index (VPI), clinical and radiographic analysis of the teeth, and evaluation of the materials (retention and quality) were performed after 1 month and 3-6 months of treatment. After the treatments, moldings were made for microscopic analysis of the treated surfaces. The data were analyzed using the Chi-square test of independence ($\chi^2 = 0.05$). Results: After one month, the CIV-MR showed greater total retention ($p = 0.046$), as well as better clinical performance ($p < 0.05$). However, there was a predominance of completely sealed teeth with ICDAS ≤ 3 ($p > 0.05$), in both groups. Microscopically, there was no difference in material retention ($p = 0.347$). After 3-6 months there was no difference in retention or clinical performance of the materials ($p > 0.05$). There was a reduction in BOP and VPI, and radiographically none of the groups showed caries progression. Conclusion: The use of CIV-MR + 45S5, in moderate caries lesions, seems to be a promising alternative in preventing the evolution of caries disease, presenting itself clinically and microscopically similar to the CIV-MR.

Clinical significance: The use of bioactive materials has been very widespread in dentistry. Using bioactive materials in minimally invasive treatments on carious lesions without dentin involvement is an alternative that preserves the tooth structure. In addition, these materials can be promising in the aid of dental remineralization.

Keywords: Randomized clinical trial, Bioactive materials, Bioactivity, Ionomeric sealants

1. INTRODUÇÃO

A Odontologia com mínima intervenção é baseada na conservação dos tecidos dentais saudáveis e funcionais[1]. Assim, são enfatizados procedimentos preventivos como forma de controle da doença cárie[2]. Os tratamentos preventivos estão principalmente indicados em lesões cariosas com microcavidades em esmalte, porém, de acordo com o estágio e nível de atividade da lesão cariosa diferentes tratamentos podem ser indicados [3].

A detecção de lesões de cárie precoce pode beneficiar pacientes jovens. A fim de facilitar o diagnóstico e estabelecimento do tratamento adequado índices tais como ICDAS (International Caries Detection and Assessment System), auxiliam na notificação precoce da ocorrência da doença e consequente prevenção e diminuição da evolução das lesões de cárie [4]. O sistema ICDAS consiste em escores permitindo uma ampla avaliação da gravidade da cárie.

O uso de materiais que isolem o meio oral externo e o biofilme dental, em lesões cavidades iniciais, pode ser uma alternativa conservadora ao tratamento restaurador invasivo, garantindo maior preservação das estruturas dentais[5]. Nesta perspectiva, em lesões iniciais de cárie em esmalte e dentina, tratamentos que atuem como uma barreira de proteção, na superfície oclusal dos dentes, podem influenciar no percurso da cárie clínica[6] auxiliando na sua prevenção[7]. Assim, o estabelecimento de manobras preventivas pode impedir ou atrasar a entrada no ciclo restaurador destes dentes[3].

O cimento de ionômero de vidro modificado por resina (CIV-MR), tem sido indicado para a restauração de lesões cariosas com micro-cavitações em esmalte, devido sua satisfatória resistência mecânica e ao desgaste[8][9]. Entretanto a capacidade do CIV-MR em liberar íons fluoreto pode ser, em alguns casos, inferior aos CIV convencionais[10]. Clinicamente, a retenção e efetividade na prevenção da doença cárie de um CIV-MR parece ser maior do que o uso de um selante convencional, apesar de ambos terem apresentado efetividade no controle da cárie após 36 meses de acompanhamento[11].

A fim de melhorar as propriedades bioquímicas do CIV-MR tem sido sugerido a incorporação de partículas bioativas neste material[12]. O vidro 45S5 (45% SiO₂, 24.5% Na₂O, CaO, 6%P₂O₅) é um material bioativo difundido e que apresenta a capacidade de aumentar o pH do meio, liberar íons cálcio e fósforo[13] e, além disso, este material em solução remineralizante[14] é capaz de gerar uma camada, formada por cristais de hidroxiapatita e/ou apatita hidroxicarbonatada e fosfato, resistente a abrasão[14]. Em acréscimo, já foi verificado que o tratamento com vidro bioativo leva ao aumento da formação de apatita na dentina [15].

Já foi observado *in vitro* que a união entre o CIV-MR com vidros bioativos além de induzir à liberação de flúor pode induzir o crescimento mineral, apresentando-se como uma alternativa restauradora[16]. Vidros bioativos também foram capazes de remineralizar lesões de mancha branca em esmalte[17]. Entretanto ainda existe uma lacuna na literatura de estudos clínicos que avaliem o comportamento de CIV-MR associado ao 45S5 no controle de lesões cáries, com microcavidades em esmalte. Logo, o objetivo deste ensaio clínico randomizado é o de avaliar o comportamento do CIV-MR+45S5, em lesões moderadas de cárie. As hipóteses nulas testadas são as de que não haverá diferença na; (1) retenção dos diferentes materiais avaliados; (2) qualidade do material remanescente de cada grupo, e (3) alteração do ICDAS dos dentes tratados.

2. METODOLOGIA

Desenho do estudo e considerações éticas

Este estudo clínico de boca dividida foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Maranhão, sob o número de parecer n.2.284.768, e inscrito na base de dados primária para estudos clínicos: Registro Brasileiro para Estudos Clínicos (ReBEC) com registro RBR-389y6y. Foram seguidas as recomendações do Consolidated Standards of Reporting Trials Statement (CONSORT)[18].

O estudo foi realizado na cidade de São Luís, no estado do Maranhão, Brasil. O consentimento dos adolescentes foi obtido por meio do termo de assentimento livre e esclarecido (TALE) e o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) assinado pelos pais/responsáveis.

Critérios de inclusão e exclusão

Dos 1163 voluntários analisados foram incluídos 33 pacientes com idade entre 8 a 14 anos, com boa saúde bucal em geral, que tivessem pelo menos dois molares com lesão cáries ICDAS entre os escores de 3 (microcavidade em esmalte sem dentina visível) e 4 (sombra de dentina escura vista através do esmalte úmido com ou sem microcavidade)[18]. Estes dentes apresentavam vitalidade pulpar; ausência de lesões com cavidade expondo dentina e de restaurações em qualquer uma das faces do dente tratado. Todos os dados foram registrados em fichas clínicas de anamnese.

Foram excluídos pacientes que apresentaram doença periodontal, alterações sistêmicas, ou relatos de alergias prévias ao material, além de pacientes que usassem aparelho ortodôntico.

Desenho do estudo e cálculo amostral

O desfecho primário do estudo foi a redução no risco de desenvolver nova lesão de cárie. O cálculo do tamanho da amostra, realizado pelo sistema www.sealedenvelope.com, foi baseado na taxa referente a redução no risco de desenvolver cárie com o uso de ionômero de vidro modificado por resina, relatado na literatura como sendo de aproximadamente 56%. [19] Assim, 64 pacientes tinham que ter uma possibilidade de 80% de detectar uma redução significativa na medida do resultado primário, a partir de 56% no grupo controle para 86% no grupo experimental, no nível de 5%. Uma vez que a pesquisa é do tipo boca-dividida o número de participantes necessários era de 32, sendo 64 dentes envolvidos na pesquisa.

O estudo foi do tipo clínico boca-dividida duplo-cego randomizado, no qual os pacientes e operador não sabiam qual tratamento foi aplicado em cada um dos molares permanentes selecionados.

Sequência de Randomização e Alocação dos Grupos

A randomização foi realizada com a inclusão dos dados no site www.sealedenvelope.com. Os detalhes da alocação foram registrados em cartões armazenados em envelopes opacos, numerados sequencialmente e selados por uma pessoa cega às condições e que não participou de outras etapas do trabalho.

Uma vez que o voluntário era elegível para o procedimento, a atribuição de alocação era revelada por este envelope, aberto no momento da aplicação dos tratamentos pelo auxiliar, que disponibilizava o material, que foi sorteado, ao operador. O tratamento revelado sempre era direcionado para o lado direito, e o outro tratamento em questão era aplicado do lado esquerdo.

Os frascos dos materiais utilizados para os tratamentos foram identificados com as letras A e B, de modo que nem o operador nem os pacientes tinham conhecimento sobre qual tratamento foi aplicado em cada dente. Os tratamentos realizados em cada paciente consistiram na aplicação do CIV-MR, e o cimento de ionômero de vidro associado ao biovidro CIV-

MR+45S5. A composição, modo de aplicação, fabricante, lote e marca dos produtos estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1 – Materiais utilizados e Modo de Aplicação

GRUPOS EXPERIMENTAIS	PRODUTOS Lote/validade	COMPOSIÇÃO*	MODO DE APLICAÇÃO*
CIV-MR		Vitro Fil LC pó: silicato de flúor estrôncio-alumínio, carga, ativadores e óxido de ferro	1. Realizar o isolamento absoluto. 2. Condicionar o esmalte dental por 30 segundos com ácido poliacrílico lavar e secar bem por 30segundos. 3. Manipular o material na proporção de 1 colher medidora de pó para 2 gotas de líquido. 4. Dividir o pó ao meio, incorporar a primeira parte de pó ao líquido e misturar por 10segundos, em seguida misturar a porção remanescente de pó por um período de 10-15 segundos. 5. Aplicar o material sobre a área de cicatrículas e fissuras com auxílio de um explorador. 6. Fotoativar o material por 20segundos. 7. Checar a oclusão e realizar o polimento. 8. Aplicar o Natural Glaze e fotoativar por 20segundos para selar a superfície.
	Vitro Fil LC (Nova DFL, Rio de Janeiro, RJ, Brasil)	Vitro Fil LC líquido: 2-hidroxietil metacrilato, solução aquosa de ácidos poliacrílico e tartárico, peróxido de benzoíla e canforoquinona.	
	Lote: 18070450 Val: 04/2020	Vitro Fil Primer: poliácidos metacrilados modificados, estabilizante, catalisador e álcool etílico.	
CIV-MR+45S5		Natural Glaze: bisfenol glicidil metacrilato trietilenoglicol dimetacrilato, 2,6-terc-butilfenol, etil uretano, B200P, benzil dimetil ketal, canforoquinona e Quantacure EHA.	1. O material do grupo experimental (CIV-MR+45S5) foi obtido por meio da incorporação de 0,5g do material bioativo (45S5) ao cimento de ionômero de vidro modificado por resina Vitro Fil LC (Nova DFL, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), após 0,5g do CIV-MR ter sido removida. Desta forma, obteve-se então 10% da concentração do material bioativo no CIV-MR. Após essa incorporação, todo o conjunto (CIV-MR+45S5) foi agitado em um mixer por um período de 5 minutos. 2. A aplicação do tratamento seguiu as etapas do grupo controle.
	Vitro Fil LC (Nova DFL, Rio de Janeiro, RJ, Brasil)	Composição do Vitro Fil LC	
	Lote: 18070450 Val: 04/2020		
	10% de Bioactive glass SYLC/ Osspray Ltd, London, UK	45% SiO ₂ ; 24.5% Na ₂ O; 24.5% CaO; 6% P ₂ O ₅	

Preparo do vidro bioativo

O vidro 45S5 (Sylc, Osspray Ltd, London, UK) foi adquirido comercialmente. Os vidros bioativos foram um moinho do tipo planetário (Pulveriette 5, Fritsch GmbH, Idar-Oberstein, Alemanha) por 30 minutos e realizado o processo (10).

Uma análise do tamanho das partículas (Mastersizer 2000, Malvern Instruments, Malvern, UK) foi realizada para determinar a granulometria do material. Em seguida, imagens representativas do vidro bioativo foram realizadas por meio de Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) (TM3030, Hitachi, Tóquio, Japão).

Para incorporação do 45S5 ao CIV-MR, com auxílio de uma balança de precisão, foram removidos do frasco 10% em peso do pó de CIV-MR e adicionado a mesma proporção do material bioativo obtendo-se o material experimental. Em seguida, para uniformização do material, os frascos contendo as misturas foram agitados por meio de um Vortex durante 5 minutos, obtendo-se o CIV-MR+45S5

Calibração do operador e avaliador

O operador e avaliador foram calibrados com a finalidade de promover diminuição de possíveis falhas no estudo. A calibração para a utilização do índice ICDAS e os critérios de qualidade da United States Public Health Service (USPHS), aplicação técnica do material e avaliação dos tratamentos foram realizadas por meio de aulas expositivas ministradas por um professor especialista. Foi realizado também um treinamento em dentes de manequins odontológicos, padronizando a forma de aplicação dos selantes ionoméricos. O avaliador da análise microscópica participou de quatro aulas, seguidas por quatro testes de calibração. A concordância para os desfechos foram de: kappa 0,9938 para retenção, kappa 0,9976 para forma anatômica, kappa 0,9968 para adaptação marginal e kappa 0,8211 para comprometimento marginal.

Intervenção do Estudo

Inicialmente, os voluntários, passaram por uma pré-seleção realizada sob luz ambiente com auxílio de uma espátula de madeira nas próprias escolas de São Luís, Maranhão, Brasil. Neste momento era realizada a orientação de higiene bucal, aplicação tópica de flúor e fornecida

uma escova de dentes de cerdas macias. Os voluntários selecionados foram encaminhados para uma avaliação clínica.

No exame clínico inicialmente foi realizada uma profilaxia, seguida de exame clínico com o auxílio de espelho bucal e sonda exploradora de ponta romba e radiografias bite-wing. Após esta avaliação aqueles que se enquadraram nos critérios de inclusão, foram incluídos na pesquisa.

No dia da intervenção um protocolo clínico era seguido que constava na verificação do índice de placa visível (IPV), índice de sangramento gengival (ISG), índice de dentes cariados, perdidos e obturados (CPO-D). Realizado esse protocolo era iniciada a intervenção. A aplicação dos materiais nos dentes com ICDAS 3 e 4 foram realizados pelo mesmo operador (A.C.D.).

Foi realizada a profilaxia dos dentes com pasta de pedra pomes e água, e posteriormente realizado o isolamento absoluto do dente a ser tratado. Após o isolamento, o envelope contendo o tratamento randomizado para cada paciente foi aberto, sendo revelado o material que seria aplicado no dente do lado direito.

A aplicação do CIV-MR experimental (Tabela 1) foi realizada de acordo com as recomendações do fabricante para o uso do cimento de ionômero de vidro modificado por resina (Vitro Fil LC) (Tabela 1), o material era aplicado com auxílio de uma sonda exploradora de ponta romba, sendo acomodado na região oclusal dos dentes recobrimo as lesões. Após a aplicação dos materiais a oclusão do paciente foi checada e os excessos dos materiais foram removidos. Por fim uma camada de glaze foi aplicada e fotopolimerizada por 20s (Tabela 1).

Após a realização do tratamento nos dentes homólogos, foram realizadas moldagens com silicona de adição Futura AD (Nova DFL, Rio de Janeiro – RJ) dos dentes tratados, para posterior análise em microscopia.

Orientações aos pacientes

Os voluntários foram orientados a escovarem seus dentes regularmente usando creme dental fluoretado e a realizarem uso de fio dental. Foram fornecidos folhetos com instruções de higiene bucal para os participantes e pais/responsáveis.

A necessidade dos retornos, para as consultas de avaliação, foi reforçada aos voluntários; as mesmas foram realizadas por um único avaliador calibrado (A.C.D.).

Avaliações periódicas

Foram realizadas avaliações diretas e indiretas para a análise dos aspectos relacionados com propriedades funcionais e biológicas dos materiais. Os avaliadores foram mascarados quanto ao tipo de tratamento avaliado, conforme descrito previamente.

Avaliação direta das propriedades funcionais e biológicas do material

Quanto às propriedades funcionais foram avaliados grau de retenção do material e fratura, classificados em; 1- retenção total do selante, 2- perda parcial (qualquer perda de material) e 3- perda total[20]. No caso de perda parcial/total do selante os dentes foram acompanhados para a verificação da manutenção ou evolução da cárie.

Quanto a qualidade do material remanescente foi utilizado o critério USPHS descrito por Cvar & Ryge, 1971[21] e adaptado por Wilson et al., 2002[22]. Os critérios utilizados para esta avaliação foram: descoloração marginal, adaptação marginal, textura superficial e forma anatômica (Quadro 1).

Quadro 1 – Aspectos avaliados pelo critério USPHS modificado e seus escores

Critério USPHS modificado	
DESCOLORAÇÃO MARGINAL	Alpha: Nenhuma descoloração Bravo: Sem descoloração Charlie: Descoloração com penetração em direção pulpar
ADAPTAÇÃO MARGINAL	Alpha: Completamente adaptado, sem fraturas visíveis Bravo: Fratura visível, com penetração do explorador Charlie: Fratura em que a dentina está exposta
TEXTURA SUPERFICIAL	Alpha: Textura da superfície semelhante ao esmalte Bravo: Superfície mais rugosa que o esmalte, sendo clinicamente aceitável Charlie: Alta rugosidade superficial, inaceitável
FORMA ANATÔMICA	Alpha: Contínua Bravo: Leve descontinuidade, clinicamente aceitável Charlie: Descontinuidade, apresentando falhas

Quanto aos aspectos biológicos, foi avaliada a evolução ou estagnação da cárie. Este controle foi realizado por acompanhamento radiográfico, pela técnica bite-wing e avaliação clínica.

A avaliação radiográfica foi conduzida por um único avaliador que estava mascarado quanto aos tratamentos. Quando uma área de radiolucidez foi maior do que a registrada no baseline, a lesão foi categorizada como “progressão radiográfica”, enquanto quando não houve mudança ou a área radiolúcida havia regredido, a lesão era classificada como “sem progressão radiográfica”[5].

Para a avaliação clínica, nos casos de perda do material, foi verificado visualmente o grau de opacidade e alteração de cor (branca/escurecida) do esmalte, empregado o método ICDAS para diagnóstico de cárie. Pelo método tátil foi verificada a rugosidade da superfície do esmalte com auxílio de um explorador. No caso de progressão de cárie os pacientes foram encaminhados para a realização do tratamento restaurador.

Avaliação indireta das propriedades funcionais do material

A fim de avaliar microscopicamente o grau de retenção e a qualidade dos materiais, foram realizadas moldagens com silicona de adição no baseline e diferentes tempos de avaliação. As moldagens foram vazadas em resina epóxi e os modelos foram avaliados em estereomicroscópio (Kozo Optical and Eletronical Instrumental, Nanjing, Jiangsu, China), verificando a adaptação marginal, presença de trincas, fissuras e fraturas do material, que não são visíveis na avaliação clínica.

Os modelos foram avaliados em estereomicroscópio e, classificados de acordo com a retenção, aplicados clinicamente; 1- retenção total do selante, 2- perda parcial (qualquer perda de material) e 3- perda total[20]. Para a avaliação indireta da adaptação marginal e forma anatômica utilizou-se o critério USPHS[23] que foi também aplicado clinicamente. A fim de se obter uma avaliação mais minuciosa da adaptação marginal dos materiais, os modelos foram também analisados de acordo com os escores microscópicos (Quadro 2) preconizados por Andersson-Wenckert et al., 1998 [24] e 2002[25] .

As imagens foram obtidas utilizando o programa uEye Cockpit (IDS-Imaging Development Systems, Obersulm-Alemanha) utilizando diferentes aumentos, para as avaliações microscópicas.

Quadro 2 – Escores de comprometimento marginal modificado

Escore	Descrição
Escore 0	Perda total
Escore 1	Boa adaptação, sem fenda marginal, sem deficiências
Escore 2	Pequenas irregularidades marginais, sem fendas visíveis
Escore 3	Severas irregularidades marginais, sem fendas visíveis
Escore 4	Fenda (pequena trinca)
Escore 5	Fenda severa com esmalte visível

Análise Estatística

Os dados foram analisados pelo teste Qui-quadrado de independência (χ^2) ($p < 0,05$). Foi realizado o teste Kappa para avaliar o grau de concordância para os desfechos analisados pelo avaliador.

O programa utilizado para realizar os testes foi IBM SPSS Statistics versão 21. Para todos os testes aplicados foi considerado o valor de alfa em 5%, com intervalo de confiança em 95%.

3. RESULTADOS

Perfil dos pacientes avaliados

Após 1 mês, um total de sessenta e seis dentes foram avaliados. Esta amostra foi proveniente de um total de 33 participantes (51,7% gênero masculino, 48,3% gênero feminino) com idade média de 11,6 anos foram incluídas no estudo (Figura 1).

A condição da saúde gengival dos pacientes ao longo do tempo, foi observada por meio da avaliação do índice de sangramento gengival. Foi verificado que 53,3% dos participantes apresentaram menos de 10% dos sítios sangrantes após 1 mês de realização do tratamento, enquanto após 3-6 a porcentagem de pacientes com menos de 10% dos sítios sangrantes foi de 67,85%, demonstrando uma redução dos sítios sangrantes. Quanto ao índice de placa visível, não foi verificado aumento após os tempos avaliados.

Após 1 mês de avaliação não houve registro de nenhuma nova lesão cariiosa, entretanto após o período de 3 a 6 meses foi verificado que 10,3% dos participantes retornaram com novos casos de lesões cariosas, em dentes que não haviam recebido tratamento. Enquanto que os dentes que receberam os tratamentos não apresentaram progressão das lesões de cárie.

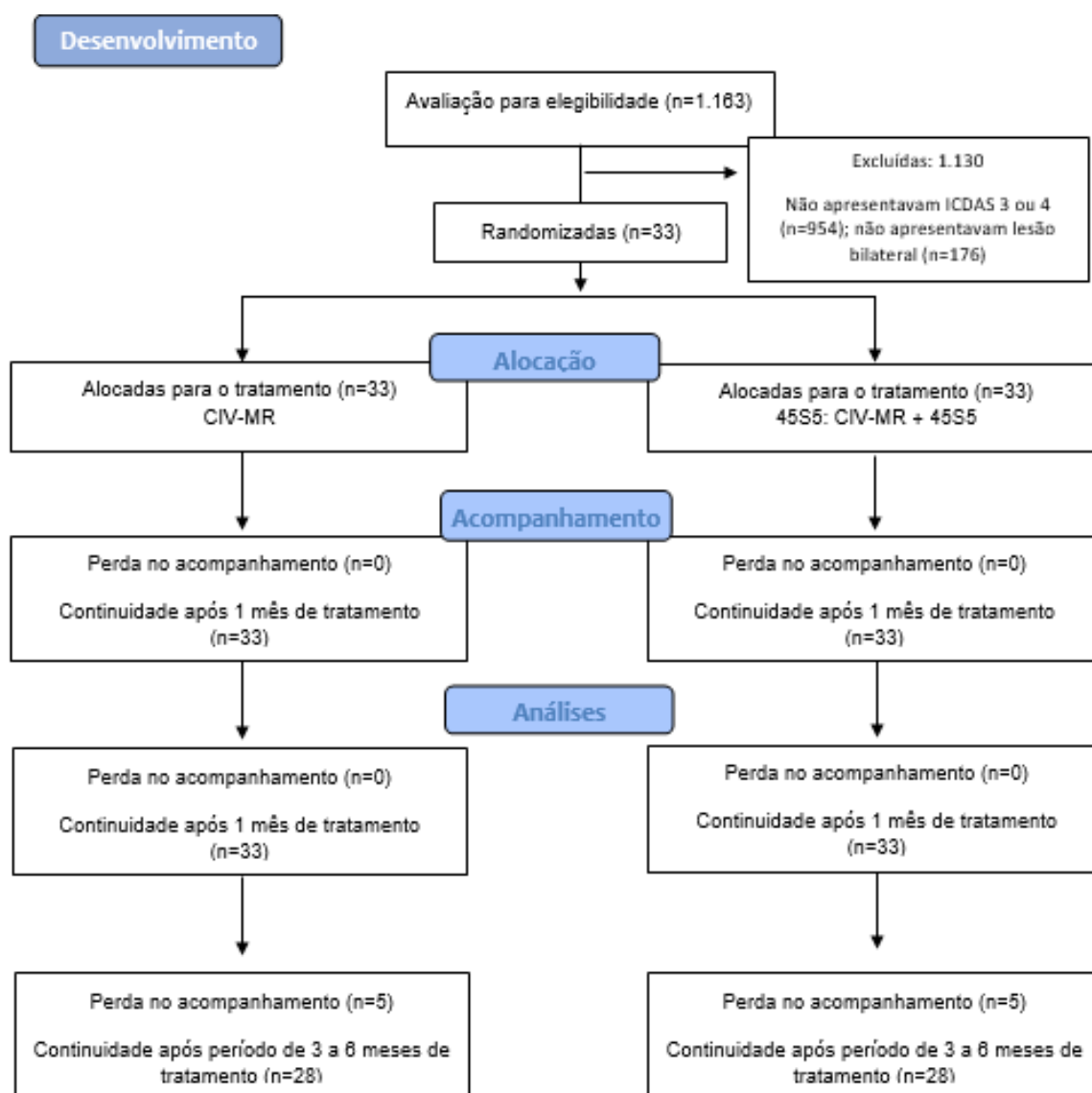


Figura 1- Diagrama de fluxo do ensaio clínico, incluindo informações detalhadas dos participantes incluídos e excluídos.

Os pacientes foram recrutados por meio de ações sociais realizadas em ONG's, escolas públicas e privadas da cidade de São Luís - MA e em cursos de especialização em odontopediatria. O período de recrutamento foi entre dezembro de 2018 até dezembro de 2020.

Análise clínica direta: Retenção do material

Por meio da análise das distribuições de frequência de retenção total, parcial e totalmente perdidos, foi verificada diferença estatística no grau de retenção dos materiais após 1 mês ($p=0,046$), com maior prevalência de retenção total para CIV-MR (Tabela 2).

Após 1 mês de avaliação a retenção total foi significativamente maior para o grupo CIV-MR sendo de 69,7% ($p = 0,046$), enquanto para o período de 3-6 meses não foi observada diferença estatística significativa entre os tratamentos ($p > 0,05$) (Tabela 2).

Tabela 2. Escore de retenção (retenção total, parcial e perda total).

	Retenção	MATERIAL		p
		CIV_MR	CIV_MR+45S5	
1 mês	Retenção total	23 (69,7%)	13 (39,4%)	0,046*
	Retenção parcial	5 (15,2%)	9 (27,3%)	
	Perda total	5 (15,2%)	11 (33,3%)	
3-6 meses	Retenção total	12 (42,9%)	6 (21,4%)	0,202
	Retenção parcial	4 (14,3%)	4 (14,3%)	
	Perda total	12 (42,9%)	18 (64,3%)	

*diferença estatística significativa ($p<0,05$)

Análise clínica direta: Qualidade do material

Segundo os critérios do USPHS verificou-se que o CIV-MR apresentou melhor desempenho clínico (forma anatômica, adaptação marginal, textura superficial e descoloração marginal) quando comparado ao CIV-MR+45S5, após 1 mês de tratamento ($p < 0,05$). Entretanto após o período de 3 a 6 meses não houve diferença entre os materiais ($p > 0,05$) (Tabela 3).

Tabela 3. Frequência dos escores para forma anatômica, adaptação marginal, textura superficial e descoloração marginal de acordo com o tipo de material aplicado, nos períodos de 1 mês e 3 a 6 meses.

		MATERIAL		p
		CIV-MR	CIV-MR+45S5	
1 mês	FORMA ANATÔMICA	Alpha	21 (63,6%)	0,009*
		Beta	8 (24,2%)	
		Charlie	4 (12,1%)	
	ADAPTAÇÃO MARGINAL	Alpha	21 (63,6%)	0,007*
		Beta	7 (21,2%)	
		Charlie	5 (15,2%)	
	TEXTURA SUPERFICIAL	Alpha	23 (69,7%)	0,002*
		Beta	6 (18,2%)	
		Charlie	4 (12,1%)	
	DESCOLORAÇÃO MARGINAL	Alpha	24 (72,7%)	0,015*
		Beta	5 (15,2%)	
		Charlie	4 (12,1%)	
3- 6 meses	FORMA ANATÔMICA	Alpha	7 (25,0%)	0,268
		Beta	8 (28,6%)	
		Charlie	13 (46,4%)	
	ADAPTAÇÃO MARGINAL	Alpha	7 (25,0%)	0,224
		Beta	7 (25,0%)	
		Charlie	14 (50,0%)	
	TEXTURA SUPERFICIAL	Alpha	13 (46,4%)	0,223
		Beta	3 (10,7%)	
		Charlie	12 (42,9%)	
	DESCOLORAÇÃO MARGINAL	Alpha	11 (39,3%)	0,169
		Beta	5 (17,9%)	
		Charlie	12 (42,9%)	

Análise clínica direta: Acompanhamento da doença cárie

Após 1 mês de avaliação, foi observado predomínio de dentes completamente selados e com ICDAS ≤ 3 ($p > 0,05$), sem diferença estatística significativa entre os grupos estudados ($p = 0,205$) (Tabela 4). Entretanto, após o período de 3 a 6 meses de acompanhamento, foi observada uma diferença estatística entre os grupos (Tabela 4). Foram considerados, neste estudo, como completamente selados, aqueles dentes que após a realização do tratamento,

apresentaram as superfícies vedadas com o material com ausência na progressão da doença cárie, verificado também por meio do exame radiográfico.

Das 66 lesões tratadas no estudo todas foram avaliadas radiograficamente nos diferentes períodos de acompanhamento. Nenhuma lesão em ambos os grupos mostrou sinais de progressão radiográfica.

Tabela 4. Frequência do escore de ICDAS de acordo com o tipo de material e o tempo de avaliação.

	ICDAS	Material		p
		CIV-MR	CIV-MR+45S5	
1 mês	**	23 (69,7%)	18 (45,5%)	0,205
	3	10 (30,3%)	15 (45,5%)	
3-6 meses	**	12 (42,9%)	4 (14,3%)	0,044*
	3	16 (57,1%)	23 (82,1%)	
	4	0 (0,0%)	1 (3,6%)	

(*) $p < 0,05$

(**) dente completamente selado

Avaliação Indireta

Quando avaliado microscopicamente não foi observada diferença entre os materiais após 1 mês de acompanhamento para o comprometimento marginal ($p=0,075$) (Tabela 5), nem para a retenção (Tabela 6). Porém houve diferença para os desfechos adaptação marginal ($p=0,016$) e forma anatômica ($p=0,024$).

Após o período de 3 a 6 meses as avaliações microscópicas também não foi observada diferença estatística entre os grupos para os desfechos forma anatômica ($p=0,577$), adaptação marginal (0,506), retenção ($p=0,337$) e comprometimento marginal ($p=0,319$).

Tabela 5. Avaliação microscópica do comprometimento marginal dos diferentes materiais

Material						
Escore	1 mês			3-6 meses		
	CIV-MR	CIV-MR+45S5	p	CIV-MR	CIV-MR+45S5	p
0	8 (24,2%)	14 (42,4%)	0,075	11 (39,3%)	15 (53,6%)	0,319
1	4 (12,1%)	6 (18,2%)		1 (3,6%)	0 (0,0%)	
2	7 (21,2%)	2 (6,1%)		3 (10,7%)	3 (10,7%)	
3	6 (18,2%)	1 (3,0%)		3 (10,7%)	0 (0,0%)	
4	1 (3,0%)	5 (15,2%)		1 (3,6%)	2 (7,1%)	
5	1 (3,0%)	1 (3,0%)		2 (7,1%)	0 (0,0%)	
#	6 (18,2%)	4 (12,1%)		7 (25,0%)	8 (28,6%)	

Impossibilidade de leitura

Tabela 6. Avaliação microscópica da retenção para os diferentes materiais

MATERIAL				
	Retenção Microscópica	CIV_MR	CIV_MR+45S5	p
1 mês	Retenção total	6 (18,2%)	5 (15,2%)	0,662
	Retenção parcial	12 (36,4%)	10 (30,3%)	
	Perda total	9 (27,3%)	14 (42,4%)	
	#	6 (18,2%)	4 (12,1%)	
3-6 meses	Retenção total	2 (7,1%)	0 (0,0%)	0,337
	Retenção parcial	8 (28,6%)	5 (17,9%)	
	Perda total	11 (39,3%)	15 (53,6%)	
	#	7 (25,0%)	8 (28,6%)	

Impossibilidade de leitura

4. DISCUSSÃO

O selamento de dentes com micro cavidades em esmalte tem se mostrado como uma alternativa de tratamento conservadora, evitando que o dente tratado inicie no ciclo restaurador de maneira precoce[3]. Desta maneira a inserção de materiais bioativos neste tipo de lesões pode ser uma alternativa favorável no auxílio do processo remineralizante, pela adição de minerais tais como cálcio e fósforo[13]. Maior retenção e melhor qualidade do remanescente dos dentes tratados com CIV-MR foi observada após 1 mês de acompanhamento, entretanto após o período de 3 a 6 meses não houve diferença entre os grupos, não rejeitando a primeira e segunda hipótese nula apresentada. Foi observada uma significativa redução dos ICDAS 3 e 4

para dentes completamente selados em ambos os grupos ($p=0,205$) sem progressão de cárie para ambos os grupos após 1 mês e sem progressão de cárie após 3 - 6 meses, não rejeitando a hipótese nula.

A desmineralização das estruturas dentais ocorre por dissolução química de Ca^{+2} e PO_4 quando o pH permanece abaixo de 6,5 para dentina e 5,5 para esmalte [26]. Assim materiais bioativos tais como o 45S5, tem se mostrado *in vitro*, como alternativas promissoras[13,14], pois proporcionam um significativo aumento do pH do meio, liberação de íons cálcio e fósforo, além de poderem apresentar potencial antibacteriano[13]. Estas propriedades são importantes para o estacionamento da evolução da cárie, pois o 45S5 acaba agindo como uma barreira protetora contra a desmineralização e fonte de íons que colaboram com a remineralização dental.

A American Dental Association e a American Academy of Pediatric Dentistry indica o uso de selantes sobre lesões não cavitadas[27], porém são poucas as evidências disponíveis quanto ao procedimento no esmalte com trincas, sem visível exposição da dentina (ICDAS 3)[5]. Estudos como o de Muñoz-Sandoval et al., 2019 evidenciam baixos índices de evolução da lesão cariosa, ICDAS 3, em dentes tratados com selante, independente do tipo de material utilizado. Desta forma parece ser interessante avaliar o uso de materiais bioativos em lesões de cárie ICDAS 3 e 4, verificando desfechos como progressão da doença cárie no dente e retenção/adaptação marginal material.

Um dos motivos mais comuns de falha das restaurações é a perda de retenção[28]. No presente estudo, após 1 mês de acompanhamento, o grupo 45S5 apresentou uma taxa de 39,4% de retenção total do material, o que após o período de 3 a 6 meses reduziu para 21,4%. Entretanto, mesmo com a perda do material (CIV-MR+45S5), não foi observada evolução da doença cárie nos dentes tratados. O CIV-MR e o CIV-MR associado ao vidro bioativo (45S5), podem ter auxiliado na prevenção da progressão da lesão de cárie. Os efeitos benéficos do 45S5 descritos na literatura, tais como, capacidade de diminuir a taxa de desmineralização do esmalte (aumento do pH local)[29], diminuição da formação de biofilme dental[13], são essenciais para uma remineralização efetiva de lesões cariosas iniciais. Além disso, selar lesões de ICDAS-3, é uma alternativa eficaz no controle da evolução da lesão cariosa[5].

Por outro lado, foi verificado que 10,3% dos pacientes, após o período de 3 a 6 meses de acompanhamento, desenvolveram novas lesões de cárie em molares hígidos adjacentes aos dentes tratados neste estudo. Isto reforça o fato de que em pacientes que apresentam um alto risco de cárie a falta de um selamento ou proteção da superfície pode acarretar no

desenvolvimento de novas lesões cariosas[30]. Logo, os materiais aplicados neste estudo, foram capazes de prevenir ou retardar o desenvolvimento de lesões de cárie.

O comportamento do material deve ser avaliado, uma vez que diferentes fatores podem influenciar no sucesso do tratamento. Dentre estes fatores, a integridade do material é muito importante de ser avaliada, pois a presença de descontinuidades pode levar à falhas no selamento da superfície sendo necessária a intervenção restauradora[3]. Desta forma a avaliação do desempenho dos materiais foi realizada por meio dos critérios USPHS, sendo verificado que após 1 mês que o grupo CIV-MR mostrou desempenho melhor que o material bioativo CIV-MR+45S5 ($p<0,05$), porém após 3 a 6 meses não foi verificada diferença entre os materiais ($p>0,05$). Clinicamente o CIV-MR tem apresentado resultados satisfatórios ao longo de 12 meses, demonstrando excelente adaptação marginal e descoloração marginal quando comparado com outros materiais resinosos [31].

Diante do acompanhamento das lesões cariosas tratadas, verificou-se diferença estatística no ICDAS após o período de 3 a 6 meses entre os materiais CIV-MR e CIV-MR+45S5 ($p=0,044$). Entretanto não foi observado progressão das lesões cariosas em nenhum dos dentes tratados. O CIV-MR tem mostrado ser um material efetivo na prevenção da doença cárie[32]. A avaliação radiográfica foi realizada neste estudo uma vez que é um método efetivo de diagnosticar e controlar lesões de cárie oclusal[33].

Avaliação microscópica promove ampliação e maior definição do material remanescente que clinicamente são considerados como totalmente perdidos[34]. A avaliação microscópica demonstrou que os tratamentos não diferiram entre si. A perda ou queda dos materiais odontológicos visualizada clinicamente, não representa a perda total de material que pode estar impregnado na região de fóssulas e fissuras[35]. Neste estudo, foi verificada diferença entre os materiais quando avaliado clinicamente o comprometimento e adaptação marginal, forma anatômica e retenção, porém a avaliação microscópica não apresentou diferença entre os grupos estudados. A presença microscópica de resquícios de materiais pode explicar a não evolução da doença cárie nos dentes tratados. Em estudo avaliando por meio de tomografias os selantes de cicatrículas e fissuras, foi constatado que o método de avaliação por imagens apresenta uma grande vantagem sobre os métodos tradicionais e boa precisão de imagens, além de ser conservador[2].

Desta forma, neste estudo, foi possível prevenir a entrada precoce dos dentes tratados no ciclo restaurador, visto que após o período de 3 a 6 meses os dentes que não foram tratados desenvolveram lesões moderadas de cárie. O material bioativo experimental CIV-MR+45S5 apresentou resultados equivalentes ao CIV-MR, que aliados aos conhecimentos já obtidos em

estudos laboratoriais, pode ser uma boa opção de material coadjuvante na prevenção do desenvolvimento da doença cárie. Mais estudos clínicos são necessários a fim de verificar a influência da aplicação destes materiais sobre a evolução e desenvolvimento de lesões de cárie.

CONCLUSÃO

O uso de CIV-MR+45S5, em lesões moderadas de cárie, parece ser uma alternativa promissora na prevenção da evolução da doença cárie ao longo de 6 meses, apresentando-se clínica e microscopicamente semelhante ao CIV-MR.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

REFERÊNCIAS

- [1] Frencken J, Peters M, Manton D, Leal S, Gordan V, Eden E. Minimal intervention dentistry for managing dental caries - A review: Report of a FDI task group. *Int Dent J* 62 (2012) 223–43. doi:10.1111/idj.12007.
- [2] Braz AKS, Aguiar CM, Gomes ASL. Evaluation of the integrity of dental sealants by optical coherence tomography. *Dent Mater* 27 (2011) e60–4. doi:10.1016/j.dental.2010.11.010.
- [3] Schwendicke F, Frencken J, Bjørndal L, Maltz M, Manton D, Ricketts D, et al. Managing carious lesions: consensus recommendations on carious tissue removal. *Adv Dent Res* 28 (2016) 58–67. doi:10.1177/0022034516639271.
- [4] Ekstrand K, Gimenez T, Ferreira F, Mendes F, Braga M. The International Caries Detection and Assessment System – ICDAS : A Systematic Review. *Caries Res* 52 (2018) 406–19. doi:10.1159/000486429.
- [5] Muñoz-Sandoval C, Gambetta-Tessini K, Giacaman R. Microcavitated (ICDAS 3) carious lesion arrest with resin or glass ionomer sealants in first permanent molars : A randomized controlled trial. *J Dent* 88 (2019). doi:10.1016/j.jdent.2019.07.001.
- [6] da Silveira A, Borges B, Varela H, de Lima K, Pinheiro I. Progression of non-

- cavitated lesions in dentin through a nonsurgical approach: A preliminary 12-month clinical observation. *Eur J Dent* 6 (2012) 34–42. doi:10.1055/s-0039-1698928.
- [7] Gawali P, Chaugule V, Panse A. Comparison of microleakage and penetration depth between hydrophilic and hydrophobic sealants in primary second molar. *Int J Clin Pediatr Dent* 9 (2016) 291–5. doi:10.5005/jp-journals-10005-1380.
 - [8] Di Nicolo R, Shintome L, Myaki S, Nagayassu M. Bond strength of resin modified glass ionomer cement to primary dentin after cutting with different bur types and dentin conditioning. *J Appl Oral Sci* 15 (2007) 459–64. doi:10.1590/S1678-77572007000500016.
 - [9] Ahovuo-Saloranta A, Forss H, Walsh T, Hiiri A, Nordblad A, Mäkelä M, et al. Sealants for preventing dental decay in the permanent teeth. *Cochrane Database Syst Rev* (2013). doi:10.1002/14651858.CD001830.pub4.
 - [10] Kucukyilmaz E, Savas S, Kavrik F, Yasa B, Botsali M. Fluoride release/recharging ability and bond strength of glass ionomer cements to sound and caries-affected dentin. *Niger J Clin Pract* 20 (2017) 226–34. doi:10.4103/1119-3077.178917.
 - [11] Pereira A, Pardi V, Mialhe F, Meneghim M, Ambrosano G. A 3-year clinical evaluation of glass-ionomer cements used as fissure sealants. *Am J Dent* 16 (2003) 23–6.
 - [12] Yli-Urpo H, Närhi M, Närhi T. Compound changes and tooth mineralization effects of glass ionomer cements containing bioactive glass (S53P4), an in vivo study. *Biomaterials* 26 (2005) 5934–41. doi:10.1016/j.biomaterials.2005.03.008.
 - [13] Bauer J, Silva e Silva A, Carvalho EM, Ferreira PVC, Carvalho CN, Manso AP, et al. Dentin pretreatment with 45S5 and niobophosphate bioactive glass: Effects on pH, antibacterial, mechanical properties of the interface and microtensile bond strength. *J Mech Behav Biomed Mater* 90 (2019) 374–80. doi:10.1016/j.jmbbm.2018.10.029.
 - [14] Bakry A, Takahashi H, Otsuki M, Tagami J. Evaluation of new treatment for incipient enamel demineralization using 45S5 bioglass. *Dent Mater* 30 (2014) 314–20. doi:10.1016/j.dental.2013.12.002.
 - [15] Fernando D, Attik N, Pradelle-Plasse N, Jackson P, Grosogeat B, Colon P. Bioactive glass for dentin remineralization: A systematic review. *Mater Sci Eng C* 76 (2017) 1369–77. doi:10.1016/j.msec.2017.03.083.

- [16] Sauro S, Watson T, Moscardó A, Luzi A, Feitosa V, Banerjee A. The effect of dentine pre-treatment using bioglass and/or polyacrylic acid on the interfacial characteristics of resin-modified glass ionomer cements. *J Dent* 73 (2018) 32–9. doi:10.1016/j.jdent.2018.03.014.
- [17] Milly H, Festy F, Watson T, Thompson I, Banerjee A. Enamel white spot lesions can remineralise using bio-active glass and polyacrylic acid-modified bio-active glass powders. *J Dent* 42 (2014) 158–66. doi:10.1016/j.jdent.2013.11.012.
- [18] Schulz K, Altman D, Moher D. CONSORT 2010 Statement: Updated guidelines for reporting parallel group randomized trials. *Int J Surg* 9 (2011) 672–7. doi:10.1136/bmj.c332.
- [19] Wright J, Tampi M, Estrich C, Crall J, Fontana M, Gillette E, et al. Sealants for preventing and arresting pit-and-fissure occlusal caries in primary and permanent molars: A systematic review of randomized controlled trials - a report of the American Dental Association and the American Academy of Pediatric Dentistry. *JADA* 147 (2016) 631–45. doi:10.1016/j.adaj.2016.06.003.
- [20] Simonsen R. Retention and effectiveness of dental sealant after 15 years. *J Am Dent Assoc* 122 (1991) 34–42. doi:10.14219/jada.archive.1991.0289.
- [21] Cvar J, Ryge G. Reprint of criteria for the clinical evaluation of dental restorative materials. *Clin Oral Investig* 4 (2005) 7-24 doi: 10.1007/s00784-005-0018-z
- [22] Wilson M, Cowan A, Randall R, Crisp R, Wilson N. A practice-based, randomized, controlled clinical trial of a new resin composite restorative: One-year results. *Oper Dent* 27 (2002) 423–9.
- [23] Unverdi G, Atac S, Cehreli Z. Effectiveness of pit and fissure sealants bonded with different adhesive systems: a prospective randomized controlled trial. *Clin Oral Investig* 21 (2017) 2235–43. doi:10.1007/s00784-016-2016-8.
- [24] Andersson-Wenckert I, van Dijken J, Horstedt P. Interfacial adaptation of in vivo aged polyacid-modified resin composite (compomer) restorations in primary molars. A SEM evaluation. *Clin Oral Investig* 2 (1998) 184–90.
- [25] Andersson-Wenckert I, Van Dijken J, Horstedt P. Modified Class II open sandwich restorations: evaluation of interfacial adaptation and influence of different restorative techniques. *Eur J Oral Sci* 110 (2002) 270–5.
- [26] Balhaddad A, Kansara A, Hidan D, Weir M, Xu H, Melo M. Toward dental caries: Exploring nanoparticle-based platforms and calcium phosphate compounds for dental restorative materials. *Bioact Mater* 4 (2019) 43–55.

- doi:10.1016/j.bioactmat.2018.12.002.
- [27] Wright J, Crall J, Fontana M, Gillette E, Nový B, Dhar V, et al. Evidence-based clinical practice guideline for the use of pit-and-fissure sealants: A report of the American Dental Association and the American Academy of Pediatric Dentistry. *J Am Dent Assoc* 147 (2016) 672-682.e12. doi:10.1016/j.adaj.2016.06.001.
 - [28] Andersson-Wenckert I, Folkesson U, Van Dijken J. Durability of a polyacid-modified composite resin (compomer) in primary molars - A multicenter study. *Acta Odontol Scand* 55 (1997) 255–60. doi:10.3109/00016359709115424.
 - [29] Brown M, Davis H, Tufekci E, Crowe J, Covell D, Mitchell J. Ion release from a novel orthodontic resin bonding agent for the reduction and/or prevention of white spot lesions An in vitro study. *Angle Orthod* 81 (2011) 1014–20. doi:10.2319/120710-708.1.
 - [30] Griffin S, Oong E, Kohn W, Vidakovic B, Gooch B, Bader J, et al. The effectiveness of sealants in managing caries lesions. *J Dent Res* 87 (2008) 169–74. doi:10.1177/154405910808700211.
 - [31] Hussainy SN, Nasim I, Thomas T, Ranjan M. Clinical performance of resin-modified glass ionomer cement, flowable composite, and polyacid-modified resin composite in noncarious cervical lesions: One-year follow-up. *J Conserv Dent* 21 (2018) 510–5. doi:10.4103/JCD.JCD_51_18.
 - [32] Yengopal V, Mickenautsch S. Caries-preventive effect of resin-modified glass-ionomer cement (RM-GIC) versus composite resin: a quantitative systematic review. *Eur Arch Paediatr Dent* 12 (2011) 5–14. doi:10.1007/BF03262772.
 - [33] Schwendicke F, Tzschoppe M, Paris S. Radiographic caries detection: A systematic review and meta-analysis. *J Dent* 43 (2015) 924–33. doi:10.1016/j.jdent.2015.02.009.
 - [34] Sundfeld D, Machado L, Franco L, Salomão F, Pini N, Sundfeld M, et al. Clinical/Photographic/Scanning Electron Microscopy Analysis of Pit and Fissure Sealants After 22 Years: A Case Series. *Oper Dent* 42 (2017) 10–8. doi:10.2341/15-237-C.
 - [35] Mickenautsch S, Yengopal V. Caries-Preventive Effect of High-Viscosity Glass Ionomer and Resin-Based Fissure Sealants on Permanent Teeth : A Systematic Review of Clinical Trials. *PLoS One* 11 (2016) 1–19. doi:10.1371/journal.pone.0146512.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

No capítulo I foi possível verificar que a associação entre o CIV-MR com biovidros (45S4 e NbG) foi satisfatória nos quesitos: alcalinização do meio, liberação de íons flúor e cálcio e até na remineralização da dentina desmineralizada ao longo do tempo. Entretanto quando avaliada a sua capacidade antimicrobiana, não foi observado diferença entre os materiais bioativos e o grupo controle, apesar do grupo CIV-MR+45S5 ter apresentado maior potencial de alcalinização do biofilme.

No capítulo II o estudo pragmático, que visa ajudar no delineamento de ensaios clínicos, foi possível observar com base no levantamento bibliográfico que o uso de materiais bioativos tem mostrado resultados satisfatórios em estudos *in vitro* quanto a capacidade de remineralizar a estrutura dental, e promover a alcalinização do meio. Logo, a realização de ensaios clínicos randomizados que avaliem o uso destes materiais parece ser uma interessante estratégia capaz de promover a prevenção da progressão da doença cárie.

No capítulo III foi verificado que uso o material bioativo CIV-MR+45S5 conseguiu evitar a progressão das lesões cavitadas moderadas de cárie em molares permanentes, bem como apresentou-se semelhante ao CIV-MR para os desfechos anatômica, adaptação marginal, textura superficial e descoloração marginal, avaliados clinicamente. Deste modo, o CIV-MR+45S5 parece ser uma alternativa clínica viável na prevenção da progressão da doença cárie.

REFERÊNCIAS GERAIS

1. Sauro, S. *et al.* The effect of dentine pre-treatment using bioglass and/or polyacrylic acid on the interfacial characteristics of resin-modified glass ionomer cements. *J. Dent.* **73**, 32–39 (2018).
2. Carneiro, K. K. *et al.* Adhesives Doped with Bioactive Niobophosphate Micro-Filler: Degree of Conversion and Microtensile Bond Strength. *Braz. Dent. J.* **27**, 705–711 (2016).
3. Milly, H., Festy, F., Watson, T., Thompson, I. & Banerjee, A. Enamel white spot lesions can remineralise using bio-active glass and polyacrylic acid-modified bio-active glass powders. *J. Dent.* **42**, 158–166 (2014).
4. Bauer, J. *et al.* Dentin pretreatment with 45S5 and niobophosphate bioactive glass: Effects on pH, antibacterial, mechanical properties of the interface and microtensile bond strength. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* **90**, 374–380 (2019).
5. Santos Cardoso, O. *et al.* Effect of root repair materials and bioactive glasses on microhardness of dentin. *Iran. Endod. J.* **13**, 337–341 (2018).
6. Hench, L. L. & Paschall, H. A. Direct chemical bond of bioactive glass-ceramic materials to bone and muscle. *J. Biomed. Mater. Res.* **7**, 25–42 (1973).
7. Zandi Karimi, A., Rezabeigi, E. & Drew, R. A. L. Crystallization behavior of combeite in 45S5 Bioglass® via controlled heat treatment. *J. Non. Cryst. Solids* **502**, 176–183 (2018).
8. Rezabeigi, E., Wood-Adams, P. M. & Drew, R. A. L. Synthesis of 45S5 Bioglass® via a straightforward organic, nitrate-free sol-gel process. *Mater. Sci. Eng. C* **40**, 248–252 (2014).
9. Waltimo, T., Brunner, T., Vollenweider, M., Stark, W. & Zehnder, M. Antimicrobial effect of nanometric bioactive glass 45S5. *J. Dent. Res.* **86**, 754–757 (2007).
10. De Caluwé, T. *et al.* Addition of bioactive glass to glass ionomer cements: Effect on the physico-chemical properties and biocompatibility. *Dent. Mater.* **33**, e186–e203 (2017).
11. Di Nicolo, R., Shintome, L., Myaki, S. & Nagayassu, M. Bond strength of resin modified glass ionomer cement to primary dentin after cutting with different bur types and dentin conditioning. *J. Appl. Oral Sci.* **15**, 459–464 (2007).
12. Kucukyilmaz, E., Savas, S., Kavrik, F., Yasa, B. & Botsali, M. Fluoride release/recharging ability and bond strength of glass ionomer cements to sound and

- caries-affected dentin. *Niger. J. Clin. Pract.* **20**, 226–234 (2017).
13. Vallittu, P. K., Boccaccini, A. R., Hupa, L. & Watts, D. C. Bioactive dental materials—Do they exist and what does bioactivity mean? *Dent. Mater.* **34**, 693–694 (2018).
 14. Zandi Karimi, A., Rezabeigi, E. & Drew, R. A. L. Glass ionomer cements with enhanced mechanical and remineralizing properties containing 45S5 bioglass-ceramic particles. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* **97**, 396–405 (2019).
 15. Frencken, J. *et al.* Minimal intervention dentistry for managing dental caries - A review: Report of a FDI task group. *Int. Dent. J.* **62**, 223–243 (2012).
 16. Tyas, M., Anusavice, K., Frencken, J. & Mount, G. Minimal intervention dentistry - A review: FDI Commission Project 1-97. *Int. Dent. J.* **50**, 1–12 (2000).
 17. Ekstrand, K., Gimenez, T., Ferreira, F., Mendes, F. & Braga, M. The International Caries Detection and Assessment System – ICDAS : A Systematic Review. *Caries Res.* **52**, 406–419 (2018).
 18. Dikmen, B. ICDAS II Criteria (International Caries Detection and Assessment System). *J. Istanbul Univ. Fac. Dent.* **49**, 63–72 (2015).
 19. Muñoz-Sandoval, C., Gambetta-Tessini, K. & Giacaman, R. Microcavitated (ICDAS 3) carious lesion arrest with resin or glass ionomer sealants in first permanent molars : A randomized controlled trial. *J. Dent.* **88**, (2019).
 20. Zhang, W., Mulder, J. & Frencken, J. E. Is preventing micro-cavities in dentine from progressing with a sealant successful? *Br. Dent. J.* **226**, 590–594 (2019).
 21. Lenzi, T. L. *et al.* Does the method of caries induction influence the bond strength to dentin of primary teeth? *J. Adhes. Dent.* (2014). doi:10.3290/j.jad.a31799
 22. Liu, Y. *et al.* Limitations in bonding to dentin and experimental strategies to prevent bond degradation. *J. Dent. Res.* **90**, 953–968 (2011).
 23. Krokhar, M. & Tewari, S. Outcomes of partial and complete caries excavation in permanent teeth: a 18 month clinical study. *Contemp. Clin. Dent.* **9**, 468–73 (2018).
 24. Sakoolnamarka, R., Burrow, M. F., Swain, M. & Tyas, M. J. Microhardness and Ca:P ratio of carious and Carisolv™ treated caries-affected dentine using an ultra-micro-indentation system and energy dispersive analysis of x-rays - A pilot study. *Aust. Dent. J.* **50**, 246–250 (2005).
 25. Garcez, R., Buzalaf, M. & De Araújo, P. Fluoride release of six restorative materials in water and pH-cycling solutions. *J. Appl. Oral Sci.* **15**, 406–411 (2007).
 26. Qvist, V., Poulsen, A., Teglers, P. & Mjor, I. Fluorides leaching from restorative

- materials and the effect on adjacent teeth. *Int. Dent. J.* **60**, 156–160 (2010).
27. Bakry, A., Takahashi, H., Otsuki, M. & Tagami, J. Evaluation of new treatment for incipient enamel demineralization using 45S5 bioglass. *Dent. Mater.* **30**, 314–320 (2014).
 28. Yang, S. Y. *et al.* Acid neutralizing, mechanical and physical properties of pit and fissure sealants containing melt-derived 45S5 bioactive glass. *Dent. Mater.* **29**, 1228–1235 (2013).
 29. Saito, T., Toyooka, H., Ito, S. & Crenshaw, M. In vitro study of remineralization of dentin: effects of ions on mineral induction by decalcified dentin matrix. *Caries Res.* **37**, 445–449 (2003).
 30. Bakry, A. S. *et al.* Cytotoxicity of 45S5 bioglass paste used for dentine hypersensitivity treatment. *J. Dent.* **39**, 599–603 (2011).
 31. Mohn, D. *et al.* Composites made of flame-sprayed bioactive glass 45S5 and polymers: Bioactivity and immediate sealing properties. *Int. Endod. J.* **43**, 1037–1046 (2010).
 32. Carvalho, C. N. *et al.* Comparative analyses of ion release, pH and multispecies biofilm formation between conventional and bioactive gutta-percha. *Int. Endod. J.* **49**, 1048–1056 (2016).
 33. Bauer, J. *et al.* Development of a simplified etch-and-rinse adhesive containing niobiophosphate bioactive glass. *Int. J. Adhes. Adhes.* **69**, 110–114 (2016).
 34. SILVA, A. P. P. da, GONÇALVES, R. S., BORGES, A. F. S., BEDRAN-RUSSO, A. K. & SHINOHARA, M. S. Effectiveness of plant-derived proanthocyanidins on demineralization on enamel and dentin under artificial cariogenic challenge. *J. Appl. Oral Sci.* **23**, 302–309 (2015).
 35. Queiroz, C. S., Hara, A. T., Paes Leme, A. F. & Cury, J. A. pH-cycling models to evaluate the effect of low fluoride dentifrice on enamel de- and remineralization. *Braz. Dent. J.* **19**, 21–27 (2008).
 36. El-Wassefy, N. A. Remineralizing effect of cold plasma and/or bioglass on demineralized enamel. *Dent. Mater. J.* **36**, 157–167 (2017).
 37. Giacaman, R., Campos, P., Muñoz-Sandoval, C. & Castro, R. Cariogenic potential of commercial sweeteners in an experimental biofilm caries model on enamel. *Arch. Oral Biol.* **58**, 1116–1122 (2013).
 38. Maltz, M. *et al.* Partial removal of carious dentine: A multicenter randomized controlled trial and 18-month follow-up results. *Caries Res.* **47**, 103–109 (2013).
 39. Franzon, R., Guimarães, L., Magalhães, C., Haas, A. & Araujo, F. Outcomes of one-

- step incomplete and complete excavation in primary teeth: a 24-month randomized controlled trial. *Caries Res.* **48**, 376–383 (2014).
40. Alhashimi, R. A., Mannocci, F. & Sauro, S. Bioactivity, cytocompatibility and thermal properties of experimental Bioglass-reinforced composites as potential root-canal filling materials. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* **69**, 355–361 (2017).
 41. Tauböck, T. T. *et al.* Functionalizing a dentin bonding resin to become bioactive. *Dent. Mater.* **30**, 868–875 (2014).
 42. Peric, T. *et al.* Efficacy of pastes containing CPP-ACP and CPP-ACFP in patients with Sjögren's syndrome. *Clin. Oral Investig.* **19**, 2153–2165 (2015).
 43. Vollenweider, M. *et al.* Remineralization of human dentin using ultrafine bioactive glass particles. *Acta Biomater.* **3**, 936–943 (2007).
 44. Prabhakar, A., Manojkumar, A. & Basappa, N. In vitro remineralization of enamel subsurface lesions and assessment of dentine tubule occlusion from NaF dentifrices with and without calcium. *J. Indian Soc. Pedod. Prev. Dent.* **31**, 29–35 (2013).
 45. Abuna, G. *et al.* Bonding performance of experimental bioactive/biomimetic self-etch adhesives doped with calcium-phosphate fillers and biomimetic analogs of phosphoproteins. *J. Dent.* **52**, 79–86 (2016).
 46. Mjör, I., Holst, D. & Eriksen, H. Caries and Restoration Prevention. *J. Am. Dent. Assoc.* **139**, 565–570 (2008).
 47. Carvalho, E. M. *et al.* Effect of airborne-particle abrasion on dentin with experimental niobophosphate bioactive glass on the microtensile bond strength of resin cements. *J. Prosthodont. Res.* **59**, 129–135 (2015).
 48. Huang, M., Hill, R. G. & Rawlinson, S. C. F. Strontium (Sr) elicits odontogenic differentiation of human dental pulp stem cells (hDPSCs): A therapeutic role for Sr in dentine repair? *Acta Biomater.* **38**, 201–211 (2016).
 49. Balhaddad, A. *et al.* Toward dental caries: Exploring nanoparticle-based platforms and calcium phosphate compounds for dental restorative materials. *Bioact. Mater.* **4**, 43–55 (2019).
 50. Carneiro, K. *et al.* Bioactivity and properties of an adhesive system functionalized with an experimental niobium-based glass. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* **78**, 188–195 (2018).
 51. Carvalho, C. N. *et al.* The Influence of Dentine on the pH of Calcium Hydroxide, Chlorhexidine Gel, and Experimental Bioactive Glass-Based Root Canal Medicament. *Sci. World J.* **2015**, 1–5 (2015).

52. Barbosa, T. & Gavião, M. Oral health-related quality of life in children: Part II. Effects of clinical oral health status. A systematic review. *Int. J. Dent. Hyg.* **6**, 100–107 (2008).
53. Barbosa, T., Tureli, M., Nobre-dos-Santos, M., Puppini-Rontani, R. & Gavião, M. The relationship between oral conditions, masticatory performance and oral health-related quality of life in children. *Arch. Oral Biol.* **58**, 1070–1077 (2013).
54. Peres, M., Antunes, J. & Peres, K. Is water fluoridation effective in reducing inequalities in dental caries distribution in developing countries? Recent findings from Brazil. *Soz Präventiv Med* **51**, 302–310 (2006).
55. Lima, S., Santana, C., Paschoal, M., Paiva, S. & Ferreira, M. Impact of untreated dental caries on the quality of life of Brazilian children: population-based study. *Int. J. Paediatr. Dent.* 1–10 (2018). doi:10.1111/ipd.12365
56. Innes, N. *et al.* A Century of Change towards Prevention and Minimal Intervention in Cariology. *J. Dent. Res.* **98**, 611–617 (2019).
57. Fontana, M. *et al.* Monitoring of Sound and Carious Surfaces under Sealants over 44 Months. *J. Dent. Res.* **93**, 1070–1075 (2014).
58. Frencken, J. Atraumatic restorative treatment and minimal intervention dentistry. *Br. Dent. J.* **223**, 183–189 (2017).
59. Pitts, N. ‘ICDAS’--an international system for caries detection and assessment being developed to facilitate caries epidemiology, research and appropriate clinical management. *Community Dent Heal.* **21**, 193–198 (2004).
60. Griffin, S. *et al.* The effectiveness of sealants in managing caries lesions. *J. Dent. Res.* **87**, 169–174 (2008).
61. Pereira, A., Pardi, V., Mialhe, F., Meneghim, M. & Ambrosano, G. A 3-year clinical evaluation of glass-ionomer cements used as fissure sealants. *Am. J. Dent.* **16**, 23–26 (2003).
62. Martins, C. *et al.* Assessment of antimicrobial effect of Biosilicate® against anaerobic, microaerophilic and facultative anaerobic microorganisms. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **22**, 1439–1446 (2011).
63. Yli-Urpo, H., Närhi, M. & Närhi, T. Compound changes and tooth mineralization effects of glass ionomer cements containing bioactive glass (S53P4), an in vivo study. *Biomaterials* **26**, 5934–5941 (2005).
64. Bauer, J. *et al.* Dentin pretreatment with 45S5 and niobophosphate bioactive glass: Effects on pH, antibacterial, mechanical properties of the interface and microtensile bond strength. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* **90**, 374–380 (2019).

65. Hench, L. The story of Bioglass®. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **17**, 967–978 (2006).
66. Wright, J. *et al.* Sealants for preventing and arresting pit-and-fissure occlusal caries in primary and permanent molars: A systematic review of randomized controlled trials - a report of the American Dental Association and the American Academy of Pediatric Dentistry. *JADA* **147**, 631–645 (2016).
67. Perdigão, J. *et al.* Randomized clinical trial of four adhesion strategies: 18-month results. *Oper. Dent.* **37**, 3–11 (2012).
68. Simonsen, R. Retention and effectiveness of dental sealant after 15 years. *J. Am. Dent. Assoc.* **122**, 34–42 (1991).
69. Schulz, K., Altman, D. & Moher, D. CONSORT 2010 Statement: Updated guidelines for reporting parallel group randomized trials. *Int. J. Surg.* **9**, 672–677 (2011).
70. Giacaman, R. Preserving healthy teeth throughout the life cycle, the biological asset. *J. Oral Res.* **6**, 80–81 (2017).
71. Ismail, A. *et al.* The International Caries Detection and Assessment System (ICDAS): an integrated system for measuring dental caries. *Community Dent. Oral Epidemiol.* 170–178 (2007). doi:10.1111/j.1600-0528.2007.00347x
72. Pitts, N. & Stamm, J. International Consensus Workshop on Caries Clinical Trials (ICW-CCT) - Final consensus statements: Agreeing where the evidence leads. *J. Dent. Res.* **83**, C125-128 (2004).
73. Lavigne, O., Vu, A., Richards, L. & Xie, Z. Effect of demineralization time on the mineral composition and mechanical properties of remineralized dentin. *J. Oral Sci.* **60**, 121–128 (2018).
74. Yengopal, V. & Mickenautsch, S. Caries-preventive effect of resin-modified glass-ionomer cement (RM-GIC) versus composite resin: a quantitative systematic review. *Eur. Arch. Paediatr. Dent.* **12**, 5–14 (2011).
75. Jassal, M., Mittal, S. & Tewari, S. Clinical effectiveness of a resin-modified glass ionomer cement and a mild one-step self-etch adhesive applied actively and passively in noncarious cervical lesions: An 18-month clinical trial. *Oper. Dent.* **43**, 581–592 (2018).
76. Dermata, A., Papageorgiou, S., Fragkou, S. & Kotsanos, N. Comparison of resin modified glass ionomer cement and composite resin in class II primary molar restorations: a 2-year parallel randomised clinical trial. *Eur. Arch. Paediatr. Dent.* **19**, 393–401 (2018).
77. Tagliaferro, E. *et al.* Influence of caries risk on the retention of a resin-modified glass

- ionomer used as occlusal sealant: a clinical trial. *Rev Odontol UNESP* **46**, 208–213 (2017).
78. Pitts, N. & Ekstrand, K. International Caries Detection and Assessment System (ICDAS) and its International Caries Classification and Management System (ICCMS) – methods for staging of the caries process and enabling dentists to manage caries. *Community Dent. Oral Epidemiol.* **41**, 41–52 (2013).
 79. Cvar, J. & Ryge, G. Criteria for the clinical evaluation of dental restorative materials, US Public Health Service Publication. No 790-244 San Fr. Gov. Print. Off. (1971).
 80. Wilson, M., Cowan, A., Randall, R., Crisp, R. & Wilson, N. A practice-based, randomized, controlled clinical trial of a new resin composite restorative: One-year results. *Oper. Dent.* **27**, 423–429 (2002).
 81. Schwendicke, F. *et al.* Managing carious lesions: consensus recommendations on carious tissue removal. *Adv. Dent. Res.* **28**, 58–67 (2016).
 82. da Silveira, A., Borges, B., Varela, H., de Lima, K. & Pinheiro, I. Progression of non-cavitated lesions in dentin through a nonsurgical approach: A preliminary 12-month clinical observation. *Eur. J. Dent.* **6**, 34–42 (2012).
 83. Gawali, P., Chaugule, V. & Panse, A. Comparison of microleakage and penetration depth between hydrophilic and hydrophobic sealants in primary second molar. *Int. J. Clin. Pediatr. Dent.* **9**, 291–295 (2016).
 84. Ahovuo-Saloranta, A. *et al.* Sealants for preventing dental decay in the permanent teeth. *Cochrane Database Syst. Rev.* (2013). doi:10.1002/14651858.CD001830.pub4
 85. Fernando, D. *et al.* Bioactive glass for dentin remineralization: A systematic review. *Mater. Sci. Eng. C* **76**, 1369–1377 (2017).
 86. Unverdi, G., Atac, S. & Cehreli, Z. Effectiveness of pit and fissure sealants bonded with different adhesive systems: a prospective randomized controlled trial. *Clin. Oral Investig.* **21**, 2235–2243 (2017).
 87. Andersson-Wenckert, I., van Dijken, J. & Horstedt, P. Interfacial adaptation of in vivo aged polyacid-modified resin composite (compomer) restorations in primary molars. A SEM evaluation. *Clin Oral Investig* **2**, 184–190 (1998).
 88. Andersson-Wenckert, I., Van Dijken, J. & Horstedt, P. Modified Class II open sandwich restorations : evaluation of interfacial adaptation and influence of different restorative techniques. *Eur J Oral Sci* **110**, 270–275 (2002).
 89. Wright, J. *et al.* Evidence-based clinical practice guideline for the use of pit-and-fissure sealants: A report of the American Dental Association and the American Academy of

- Pediatric Dentistry. *J. Am. Dent. Assoc.* **147**, 672-682.e12 (2016).
90. Andersson-Wenckert, I., Folkesson, U. & Van Dijken, J. Durability of a polyacid-modified composite resin (compomer) in primary molars - A multicenter study. *Acta Odontol. Scand.* **55**, 255–260 (1997).
 91. Brown, M. *et al.* Ion release from a novel orthodontic resin bonding agent for the reduction and/or prevention of white spot lesions An in vitro study. *Angle Orthod.* **81**, 1014–1020 (2011).
 92. Yli-Urpo, H., Lassila, L., Närhi, T. & Vallittu, P. Compressive strength and surface characterization of glass ionomer cements modified by particles of bioactive glass. *Dent. Mater.* **21**, 201–209 (2005).
 93. Schwendicke, F., Tzschope, M. & Paris, S. Radiographic caries detection: A systematic review and meta-analysis. *J. Dent.* **43**, 924–933 (2015).
 94. Mickenautsch, S. & Yengopal, V. Caries-Preventive Effect of High-Viscosity Glass Ionomer and Resin-Based Fissure Sealants on Permanent Teeth : A Systematic Review of Clinical Trials. *PLoS One* **11**, 1–19 (2016).
 95. Braz, A. K. S., Aguiar, C. M. & Gomes, A. S. L. Evaluation of the integrity of dental sealants by optical coherence tomography. *Dent. Mater.* **27**, e60–e64 (2011).

ANEXOS

UFMA - UNIVERSIDADE
FEDERAL DO MARANHÃO



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: PREVENÇÃO DE CÁRIE COM O USO DE MATERIAIS RESINOSOS E IONOMÉRICOS: ESTUDO CLÍNICO RANDOMIZADO.

Pesquisador: Lelly Macedo Firoozmand

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 68221317.6.0000.5087

Instituição Proponente: Universidade Federal do Maranhão

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio
FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DO MARANHÃO -
FAPEMA

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.284.768

Apresentação do Projeto:

O objetivo deste ensaio clínico randomizado é avaliar clinicamente o comportamento de selantes resinosos e Ionoméricos associados a vidros bioativos. Serão selecionadas 87 crianças entre 10 e 14 anos, que possuam os segundos molares superiores e inferiores em erupção e infraoclusão, livres de cárie e com vitalidade pulpar, livres de cáries, de restaurações e que procurarem o serviço odontológico da Universidade Federal do

Maranhão – UFMA, estes participantes serão alocados em diferentes grupos de estudo de acordo com os tratamentos que serão realizados de acordo com o desenho split-mouth (boca-dividida) por um único operador devidamente calibrado e treinado. Para cada um dos estudos serão atendidas 29 crianças: 1 (selante resinoso convencional e selante convencional+10% 45S5), 2: (Selante resinoso convencional + selante convencional+10% silicato) e 3: (cimento de ionômero de vidro + cimento de ionômero de vidro + 10% 45S%), em seguida serão realizadas avaliações imediatamente após o procedimento (baseline), após 1 mês, 6 meses e 1 ano por dois avaliadores experientes e calibrados. Os critérios de avaliação dos tratamentos será o do FDI, por meio de avaliações direta e indireta das restaurações quanto aos aspectos relacionados com propriedades funcionais do material e propriedades biológicas e os

Endereço: Avenida dos Portugueses, 1988 CEB Velho

Bairro: Bloco C, Sala 7, Comitê de Ética

CEP: 65.080-040

UF: MA **Município:** SÃO LUÍS

Telefone: (98)3272-8708

Fax: (98)3272-8708

E-mail: cepufma@ufma.br

Continuação do Parecer: 2.204.758

avaliadores serão mascarados quanto aos tipos de tratamentos realizados. Os resultados desta pesquisa serão importantes para que se tenha maiores opções de prevenção de cárie no período inicial da erupção de dentes permanentes.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar clinicamente o comportamento de selantes resinosos e ionoméricos convencionais associados à nanopartículas bioativas.

Objetivo Secundário:

- Avaliar a condição de saúde bucal das crianças, fatores socioeconômicos etc.
- Comparar a eficácia e longevidade dos diferentes selantes de fôssulas e fissuras, associados ou não à partículas bioativas/ agentes remineralizantes.
- Verificar o grau de retenção dos distintos selantes nas diferentes áreas da superfície oclusal dos dentes tratados;
- Avaliar o comportamento clínico dos selantes resinosos e ionoméricos associados ou não à partículas bioativas imediatamente após a aplicação, após 1 mês, 6 meses e 12 meses;
- Grau de alterações da superfície selada, presença de bolhas, fraturas, alteração de cor superficial/marginal, brilho/rugosidade nos diferentes selantes utilizados.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Em relação ao preenchimento dos questionários e à anamnese, qualquer possível constrangimento será atenuado, pois apenas os pesquisadores envolvidos farão a coleta das informações de forma individual e em uma sala reservada. Em nenhum momento haverá a exposição dos participantes do estudo, pois os dados não serão publicados isoladamente. Após a compilação dos dados será realizada a análise estatística e serão obtidos os

resultados e conclusões gerais do estudo. A coleta dos dados auxiliará, também, na realização de uma orientação odontológica mais precisa à cada um dos participantes da pesquisa. Apesar do tratamento ser indolor, as crianças e responsáveis serão informados da possibilidade de desconforto durante o procedimento, tais como: a possibilidade de haver um pequeno incômodo em relação ao exame clínico, o qual será realizado com um espelho clínico e sonda exploradora.

Endereço: Avenida dos Portugueses, 1668 CEB Velho
 Bairro: Bloco C, Sala 7, Comitê de Ética CEP: 65.080-040
 UF: MA Município: SÃO LUIS
 Telefone: (98)3272-8708 Fax: (98)3272-8708 E-mail: cepufma@ufma.br

**UFMA - UNIVERSIDADE
FEDERAL DO MARANHÃO**



Continuação do Parecer: 2.204.760

para verificação da condição bucal, porém para que o Incomodo seja amenizado serão dadas as devidas explicações a respeito do procedimento e a consulta será breve e pontual. Quanto a realização do procedimento pode haver um desconforto devido ao uso do afastador labial, para amenizar estes desconfortos será utilizada uma pasta /hidratante ao redor dos lábios do paciente.

Benefícios:

Com a realização dessa pesquisa, pretende-se primeiramente contribuir com a prevenção do surgimento de lesões de cárie e minimizar a progressão de lesões de cárie não cavitadas em 2o molares recém erupcionados, contribuindo para a manutenção da saúde bucal dos pacientes.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um estudo clínico com grande aplicabilidade, principalmente na área de odontopediatria, sendo de grande importância clínica e científica.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos estão de acordo com as recomendações da Resolução CNS 466/12.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Foram acatadas.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PE INFORMACOES BASICAS_DO_P ROJETO_912136.pdf	07/08/2017 22:19:01		Acelto
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	07/08/2017 22:17:37	Lelly Macedo Firoozmand	Acelto
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMOASSENTIMENTO.docx	07/08/2017 22:17:21	Lelly Macedo Firoozmand	Acelto
Recurso Anexado pelo Pesquisador	RESPOSTAPARECERPENDENTE.doc	10/07/2017 16:45:12	Lelly Macedo Firoozmand	Acelto
Projeto Detalhado / Brochura	ProjetoselantesCEP.docx	10/07/2017 16:38:16	Lelly Macedo Firoozmand	Acelto

Endereço: Avenida dos Portugueses, 1985 CEB Velho

Bairro: Bloco C, Sala 7, Comitê de Ética CEP: 65.080-040

UF: MA Município: SÃO LUIS

Telefone: (98)3272-8708

Fax: (98)3272-8708

E-mail: cepufma@ufma.br

**UFMA - UNIVERSIDADE
FEDERAL DO MARANHÃO**



Continuação do Parecer: 2.354.755

Investigador	ProjetoselantesCEP.docx	10/07/2017 16:38:16	Lelly Macedo Firoozmand	Acelto
Declaração de Instituição e Infraestrutura	INFRAESTRUTURA.pdf	04/05/2017 21:03:59	Lelly Macedo Firoozmand	Acelto
Folha de Rosto	FOLHA_ROSTO.pdf	04/05/2017 21:00:43	Lelly Macedo Firoozmand	Acelto
Declaração de Pesquisadores	DECLARACAODAUTORES.pdf	04/05/2017 20:44:07	Lelly Macedo Firoozmand	Acelto
Cronograma	CronogramaSELANTECLINICO.pdf	04/05/2017 20:42:13	Lelly Macedo Firoozmand	Acelto

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO LUIS, 19 de Setembro de 2017

Assinado por:

Flávia Castello Branco Vidal Cabral
(Coordenador)

Endereço: Avenida dos Portugueses, 1988 CEB Velho

Bairro: Bloco C, Sala 7, Comitê de Ética

CEP: 65.080-040

UF: MA

Município: SAO LUIS

Telefone: (98)3272-8708

Fax: (98)3272-8708

E-mail: cepufma@ufma.br

APÊNDICES