

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
Faculdade de Ciências de Saúde
Programa de Pós-Graduação em Odontologia



Dissertação de Mestrado

**Comparação entre a clorexidina e o diamino fluoreto de prata para
limpeza cavitária**

Érica Torres de Almeida Piovesan

Brasília, 05 de junho de 2019.

Érica Torres de Almeida Piovesan

**Comparação entre a clorexidina e o diamino fluoreto de prata para
limpeza cavitária**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Orientadora: Prof. Dra. Ana Cristina Barreto Bezerra

Coorientador: Prof. Dr. Vicente de Paulo Martins

Brasília, 2019

Érica Torres de Almeida Piovesan

**Comparação entre a clorexidina e o diamino fluoreto de prata para
limpeza cavitária**

Dissertação aprovada, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Odontologia, Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.

Data da defesa: 05 de junho de 2019

Banca examinadora:

Prof. Dra. Ana Cristina Barreto Bezerra (Orientadora)

Prof. Dra. Erica Negrini Lia

Prof. Dra. Maria do Carmo Machado Guimarães

Prof. Dr. Orlando Ayrton de Toledo (suplente)

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me ouvir pacientemente, por cuidar de todos os detalhes da minha vida, por honrar os meus sonhos, por guiar os meus passos, por estar fielmente ao meu lado, pelas grandes e pequenas coisas que já fez em minha vida.

À minha família que de perto ou de longe sempre esteve ao meu lado, apoiando e torcendo, vocês sabem como foi chegar até aqui. Agradeço, em especial, ao meu marido Alexandre por todo o apoio e incentivo durante esta etapa da minha vida e aos meus filhos Caio e Guilherme, ainda muito pequenos para entender, mas aceitaram a minha ausência. Muito obrigada!

Aos meus queridos professores, sem os quais este trabalho não seria possível, Prof^a Dr^a Ana Cristina Barreto Bezerra e Prof. Dr. Vicente de Paulo Martins. Com vocês aprendi muito. Obrigada pela ajuda, paciência, carinho e dedicação. Obrigada por olhar além das minhas limitações e enxergar o que eu poderia ser. Hoje eu sou o resultado da confiança de vocês.

À minha amiga Marly que sempre esteve ao meu lado ajudando, ouvindo e apoiando. Obrigada por todas as idas ao Paranoá e ao laboratório.

Aos colegas do Laboratório de Análises Moleculares de Patógenos (LAMP) do Instituto de Ciências Biológicas (IB), Anderson e Luís por terem me recebido e me auxiliado em todas as etapas laboratoriais.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização desse sonho...

... MUITO OBRIGADA!

RESUMO

Título: Comparação entre a clorexidina e o diamino fluoreto de prata para limpeza cavitária

Introdução: O diamino fluoreto de prata (SDF) ganhou muita atenção nos últimos anos. Considerando o crescente interesse no seu uso e o aparecimento de novas técnicas utilizando esse material resolveu-se avaliar o comportamento e efeitos do SDF após a remoção seletiva de dentina cariada quando comparado à clorexidina. Este estudo teve como objetivo comparar diferentes agentes de limpeza cavitária. **Materiais e métodos:** trata-se de um ensaio clínico randomizado. Duas soluções de SDF com concentrações de 38%, 30% e Clorexidina a 2% foram estudadas. Foram selecionadas 40 crianças entre 7 e 10 anos apresentando lesão cariada CI I em molares decíduos. A amostra foi dividida aleatoriamente em quatro grupos: (G1) SDF a 38%; (G2) SDF a 30%; (G3) Clorexidina 2% e (G4) grupo controle. Durante o exame clínico, as lesões foram identificadas e classificadas e em sessão subsequente foram tratadas conforme a divisão dos grupos. Amostras de dentina foram coletadas antes e após a aplicação do agente de limpeza e levadas para análise laboratorial. No laboratório após a diluição apropriada as amostras foram plaqueadas em duplicata em meio de cultura BHI, MS e MSB e após a incubação, o número de UFC (unidades formadoras de colônias) foi determinado. As amostras sem diluição foram plaqueadas por esgotamento em meio de cultura seletivo Mitis Salivarius. As placas foram incubadas anaerobicamente a 37 °C durante 72 horas. Os micro-organismos totais foram contados e as espécies do gênero *Streptococcus* foram analisadas para posterior comparação entre os grupos. O comportamento clínico das restaurações foi avaliado 3 meses depois. **Resultados:** O grupo 2 apresentou menor número de microrganismos totais após a aplicação do SDF a 30%, seguido do grupo 1 (SDF a 38%) e do grupo 3 (Clorexidina 2%). Ficando em último lugar o grupo controle (G4). Em relação aos *S. mutans*, o grupo 2 também mostrou superioridade nos resultados, no qual a capacidade de inibir o crescimento em ágar MS foi de 99,97% dos participantes após tratamento e em ágar MSB foi completamente inibido em 100% dos participantes. No grupo 1 (SDF 38%), observou-se reduzido o crescimento bacteriano em 99,81% e 99,59% das placas em ágar MS e MSB respectivamente. No grupo 3 (clorexidina) houve redução do crescimento bacteriano de 86,22% em ágar MS e 90,3% em ágar MSB. No grupo 4 (controle) a redução em ágar MS foi de 18% e em ágar MSB não houve inibição do crescimento de *S. mutans*. **Conclusão:** O diamino fluoreto de prata se mostrou mais eficaz quanto a redução de micro-organismos e de *S. mutans* quando comparado à clorexidina. Da mesma forma em relação a susceptibilidade de *Streptococcus* à clorexidina foi menor do que a observada para SDF. As duas formulações de SDF têm ação semelhantes, embora o SDF a 30% tenha sido superior quanto à redução microbiana. Não houve diferença intergrupos no comportamento clínico das restaurações 3 meses depois do procedimento restaurador.

Palavras Chaves: Agente Antibacteriano; Clorexidina; *Streptococcus mutans*; Cárie Dentária.

ABSTRACT

Title: Comparison between chlorhexidine and silver diamine fluoride for cavity cleaning

Introduction: Silver diamine fluoride (SDF) has gained much attention in recent years. Considering the growing interest in the use of SDF and taking into account the emergence of new techniques using this material it was decided to conduct a randomized controlled clinical trial to evaluate the behavior and effects after the selective removal of carious dentin when compared to chlorhexidine. This randomized clinical trial study aims to compare different cavity cleaning agents.

Materials and methods: Two SDF solutions at concentrations of 38%, 30% and a 2% chlorhexidine solution were studied. Forty children, between 7 and 10 years of age, were selected. They had caries lesions in the occlusal surface (Black/class I) of primary molars. Subjects were randomly divided into four groups: (G1) 38% SDF; (G2) 30% SDF; (G3) 2% chlorhexidine solution and (G4) control group. During the clinical examination, the carious lesions were identified, classified and x-rayed. The teeth were treated in the subsequent session according to the division of the groups. The dentin samples were collected before and after application of each cleaning agent in the same session, following the manufacturer's instructions and taken for laboratory analysis, where they were divided in two groups: diluted and undiluted. The diluted group was cultured, in brain heart infusion (BHI) and Mitis Salivarius media that was used to grow and count the total microorganisms and *Streptococcus mutans* after being incubated anaerobically at 37 °C for 72 hours. The undiluted samples were cultured in Mitis Salivarius medium, which allows selective growth of *S. mutans*. These samples were incubated under microaerophilic conditions at 37° C for 72 hours. **Results:** The results suggest that the G2 presented a lower number of total microorganisms after the treatment with 30% SDF, followed by G1 and G3. Considering the G4, control group, there was no comparable reduction observed in the test groups. About the *S. mutans*, G2 also showed superior results, being observed growth inhibition in MS agar in 99.97% of the subjects after treatment, while in MSB agar the growth was completely inhibited in 100% of the participants. Group 1 (SDF 38%) reduced bacterial growth in 99.81% and 99.59% of the plates on MS and MSB agar, respectively. In group 3 (chlorhexidine) there was reduction of bacterial growth of 86.22% in MS agar and 90.3% in MSB agar. In group 4 (control) the reduction in MS agar was 18% and in MSB agar there was no inhibition of *S. mutans* growth. **Conclusions:** Silver diamine fluoride was more effective than chlorhexidine when used to reduce total microorganisms and *S. mutans*. Regarding the susceptibility of *Streptococcus* to chlorhexidine was lower than that observed for SDF. Both SDF formulations have similar action, although the 30% SDF shows superior antimicrobial activity.

Key words: Anti-Bacterial Agents; chlorhexidine; *S. mutans*; dental caries.

ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA – Analysis of variance

BHI - Brain-Heart Infusion

CHX - Digluconato de Clorexidina 2%

CONSORT – Consolidated Standards of Reporting Trials

FDA - Food and Drug Administration

L. acidophilus - *Lactobacillus acidophilus*

MS - Ágar Mitis Salivarius

MSB - Ágar Mitis Salivarius com Bacitracina

RTF - Fluido de Transporte Reduzido

SDF - Diamino Fluoreto de Prata

S. mitis – *Streptococcus mitis*

S. mutans – *Streptococcus mutans*

S. oralis - *Streptococcus oralis*

S. sobrinus – *Streptococcus sobrinus*

T0 – Primeira coleta

T1 – Segunda coleta

TALE - Termo de Assentimento Livre e Esclarecido

TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

UFC/mL – Unidade Formadora de Colônia por mililitro

SUMÁRIO

1. Introdução	10
1.1. Agentes de limpeza cavitária	12
1.2. Estudos pré-clínicos e clínicos com clorexidina	12
1.3. Estudos pré-clínicos e clínicos com diamino fluoreto de prata	14
1.4. Contagem de <i>Streptococcus mutans</i>	19
1.5. Justificativa	20
1.6. Hipótese	20
1.7. Objetivos	21
1.7.1. Geral	21
1.7.2. Específicos	21
2. Metodologia	22
2.1. Desenho Experimental	22
2.2. Treinamento e calibração	22
2.3. População estudada e Cálculo do tamanho amostral	22
2.4. Seleção da amostra e local de realização da pesquisa	24
2.5. Critérios de inclusão	24
2.6. Critérios de Exclusão	24
2.7. Alocação aleatória dos participantes	24
2.8. Tratamentos	24
2.9. Orientações, exames clínicos e radiográficos e tratamentos	25
2.9.1. Exame clínico, classificação das lesões, avaliação radiográfica e orientações	26
2.9.1.1. Exame clínico	26
2.9.1.2. Classificação das lesões	26
2.9.1.3. Avaliação radiográfica	26
2.9.1.4. Orientações	26
2.9.2. Tratamento restaurador com coletas prévias de dentina cariada	26
2.9.3. Fase laboratorial de análise microbiológica	27
2.9.4. Avaliação clínica das restaurações	32

2.9.5. Mensuração da eficácia dos tratamentos	32
2.10. Cegamento	32
2.11. Taxa de adesão	32
2.12. Análise estatística	33
3. Resultados	34
3.1. Características dos grupos	34
3.2. Análise microbiológica	34
3.3. Susceptibilidade diferencial do grupo <i>Streptococcus</i> spp. aos compostos em teste	38
3.4. Eficácia clínica	43
4. Discussão	45
5. Conclusões	50
Referências	51
Anexos	61
Anexo I	61
Anexo II	73
Anexo III	77
Anexo IV	79
Press Release	81

1 INTRODUÇÃO

A cárie dentária é um processo patológico dinâmico, biofilme dependente e altamente prevalente na infância em todo o mundo [1]. Tem sido considerada, recentemente, como uma disbiose resultante de complexas reações químicas entre os carboidratos da dieta e os micro-organismos componentes do biofilme, ocasionando processos de desmineralização dos tecidos dentários (esmalte, dentina e cemento). Sua etiologia, na perspectiva microbiológica, não é totalmente compreendida [2].

As bactérias no biofilme oral desempenham um papel essencial na iniciação e progressão da doença cárie. O *Streptococcus mutans* é considerado o mais cariogênico de todos os *Streptococcus* presentes na cavidade bucal [2]. Investigações laboratoriais demonstraram a capacidade das cepas dessa espécie de produzir o ácido láctico promovendo a perda de íons importantes da hidroxiapatita do esmalte dentário, processo conhecido como desmineralização. Outra espécie produtora de lactato, *S. sobrinus*, também tem sido relacionada à doença cárie, embora a prevalência seja nitidamente inferior, esta espécie raramente é encontrada sem o *S. mutans* [3].

Lesões de cárie em estágios irreversíveis, que não permitem como tratamento a realização de procedimentos não invasivos de remineralização, necessitam da intervenção invasiva para controle da doença. Essa intervenção preconiza, em lesões com risco de exposição pulpar, a remoção seletiva do tecido cariado, previamente à reconstrução das estruturas perdidas, protegendo os tecidos remanescentes de novas agressões [4].

Em técnicas minimamente invasivas, os materiais adesivos usados para restauração ajudam a prevenir a microinfiltração, eliminando assim o risco de nova desmineralização e cavitação. No entanto, ainda há preocupação entre alguns profissionais quanto às possíveis consequências de deixar dentina infectada após o preparo da cavidade. Assim, recomenda-se que os agentes antimicrobianos sejam aplicados antes da colocação de uma restauração [5].

Recentemente, foram desenvolvidas nanoestruturas poliméricas funcionais (PNs). Essas nanopartículas funcionais podem ser concebidas para transportar e liberar seletivamente ou ativar agentes antimicrobianos nas

superfícies ou dentro de biofilmes da cavidade bucal (figura 1). Este mecanismo inclui “liberação ou ativação inteligente” de agentes ativados por microambientes patogênicos (por exemplo, pH ácido) que poderiam simultaneamente matar as bactérias e desorganizar a matriz do biofilme [6].

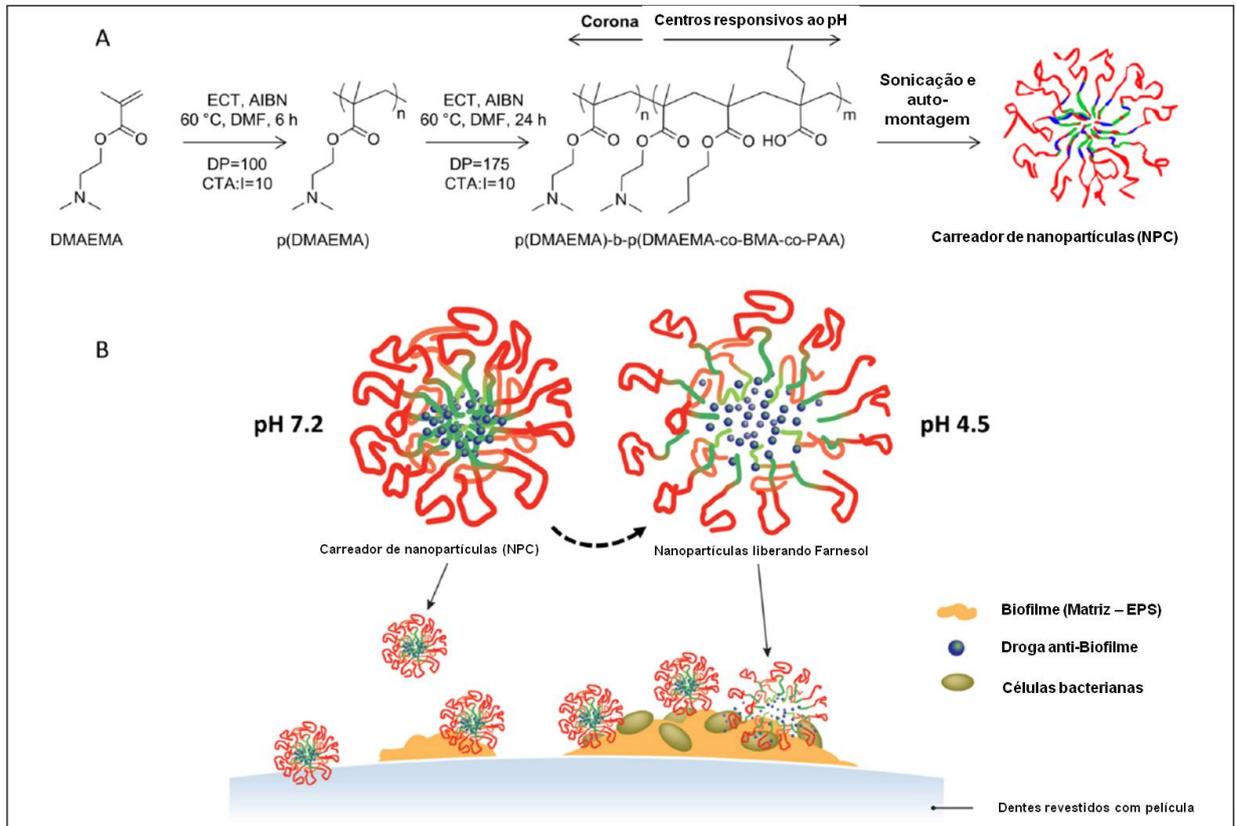


Figura 1 - Estrutura e função do nanocarreador ativado por pH para liberação de fármaco antibiofilme. Fonte: LIU, 2018 (imagem modificada em 05/05/2019 pela autora do presente trabalho).

O comportamento dos agentes de limpeza cavitária no interior da camada híbrida ainda não está bem estabelecido na literatura. Avaliar a possibilidade do uso de meios alternativos de preservação e proteção da dentina de forma imediata e ao longo do tempo torna-se um tema relevante. Ao mesmo tempo, a análise qualitativa de micro-organismos patogênicos é importante na identificação de espécies e cepas associadas com a doença cárie para um melhor entendimento sobre a sua etiologia.

1.1 AGENTES DE LIMPEZA CAVITÁRIA

O uso de agentes antimicrobianos tem sido sugerido como um método eficaz para a redução, controle e prevenção do acúmulo de micro-organismos cariogênicos [7].

Agentes antibacterianos podem ser benéficos como desinfetantes, aplicados na superfície dentinária previamente aos procedimentos restauradores [8], ou como agente antimicrobiano incorporados aos sistemas adesivos [9]. Em ambas as situações, o uso de tais agentes tem como objetivo eliminar ou diminuir o depósito remanescente de bactérias aderidas às paredes dentinárias após o preparo e limpeza da cavidade.

A incorporação de agentes antibacterianos e de agentes bioativos pode proteger fibrilas colágenas expostas contra a contaminação bacteriana residual, possuindo o potencial de remineralizar a dentina afetada por cárie, ou dentina parcialmente desmineralizada pelo condicionamento ácido, após aplicação do sistema adesivo de condicionamento total. Estes agentes parecem ser capazes de inibir a ativação de endoenzimas como as metaloproteinases (MMPs), as cisteínas proteinases e as catepsinas [9]. Recentemente, um estudo demonstrou haver expressão gênica de colagenases de *S. mutans* em dentina radicular [10].

Os agentes antimicrobianos podem ser flúor e/ou clorexidina (CHX) [11] pois sabe-se que os *S. mutans* são particularmente sensíveis a esses dois agentes [12].

Vários produtos disponíveis no mercado podem ser utilizados como agentes de limpeza cavitária. Dentre eles, pode-se citar: digluconato de clorexidina a 2% (CHX), peróxido de hidrogênio a 3% ou 10 volumes, solução de hidróxido de cálcio (água de cal), detergentes, soluções fluoretadas e mais recentemente o glutaraldeído (GA) e o diamino fluoreto de prata (SDF).

1.2 ESTUDOS PRÉ-CLÍNICOS E CLÍNICOS COM CLOREXIDINA

O Digluconato de Clorexidina (CHX) é considerado o antimicrobiano padrão-ouro na Odontologia e exibe um amplo espectro de ação em bactérias Gram-positivas e Gram-negativas [13].

A CHX é estudada há mais de 40 anos, é um agente catiônico da classe da bisbiguanida e é considerado o tratamento padrão devido aos seus efeitos antimicrobianos, bactericidas e bacteriostáticos (dependentes da dose e da espécie); alta substantividade; sem toxicidade sistêmica; e resistência bacteriana [14].

Uma revisão de literatura abordou o uso da clorexidina como agente desinfetante de cavidades e sua influência na união resina/dentina [4]. A análise de alguns trabalhos concluiu que é importante realizar a limpeza cavitária com CHX, pois sua ação desinfetante protege a estrutura dentária de sensibilidade pós-operatória e de lesões cárie recorrente. Além disso, observou-se que os agentes de limpeza em geral não prejudicam o processo de adesão [4].

O digluconato de clorexidina 2% representa um agente de limpeza promissor, por sua eficácia na redução da microbiota cultivável em dentina contaminada [15]. O uso de CHX, além de não apresentar efeito prejudicial imediato, apresentou um efeito benéfico na adesão dentina/resina, desacelerando a taxa de degradação especialmente nos primeiros meses de função [16].

A clorexidina também desempenha um papel importante na inibição de metaloproteinases (MMPs) presentes na matriz dentinária. Essas enzimas são capazes de degradar componentes da matriz extracelular, incluindo colágeno tipo I e sua ação sobre as fibrilas de colágeno expostas na união resina-dentina é atualmente reconhecida como um importante mecanismo de degradação dessas interfaces [17].

A inibição de enzimas colagenolíticas com digluconato de clorexidina (CHX) foi observada em vários estudos que relatam atividade reduzida das metaloproteinases MMP-2, MMP-9, MMP-8, cisteína proteinases e catepsinas [18].

Entretanto, outros estudos demonstraram que o pré-tratamento da cavidade com CHX *in vivo* para inibição da degradação da camada híbrida, não adiciona qualquer efeito benéfico ao desempenho clínico das restaurações [19].

O efeito antimicrobiano do digluconato de clorexidina a 2% não foi avaliado em curto prazo. Isso ocorre porque, em estudos *in vivo* anteriores, os

agentes à base de clorexidina foram analisados após semanas ou meses e em combinação com restaurações subsequentes [15].

Um estudo *in vitro* recente comparou a ação antimicrobiana da associação do diamino fluoreto de prata e iodeto de potássio (SDF-KI) com o digluconato de clorexidina a 2% (CHX). A ação antimicrobiana foi avaliada medindo a zona de inibição dos materiais em placas de ágar BHI (Brain-Heart Infusion) com um inóculo de *Streptococcus mutans*. O SDF-KI mostrou maior atividade antimicrobiana seguida da CHX. [20]

1.3 ESTUDOS PRÉ-CLÍNICOS E CLÍNICOS COM DIAMINO FLUORETO DE PRATA

O nitrato de prata foi usado pela primeira vez para deter a cárie no século XIX. Um rápido desenvolvimento para criar formulações mais eficazes ocorreu durante o século 20, começando com o nitrato de prata amoniacal de Howe, seguido pelo fluoreto de prata e mais tarde pelo diamino fluoreto de prata (SDF). Desde 1970, uma solução a 38% de SDF tem sido amplamente utilizada fora dos Estados Unidos, principalmente para prevenção e paralisação de lesões de cárie em crianças [21].

Na década de 1970, o SDF foi aceito como agente terapêutico pelo Conselho Central Farmacêutico do Ministério da Saúde e Bem-estar no Japão. O SDF também foi recomendado por um programa brasileiro de assistência para crianças de até 3 anos de idade com moderada ou alta atividade de cárie dentária [22].

A *Food and Drug Administration (FDA)* dos EUA apenas aprovou o uso do SDF como agente dessensibilizante em 2014 e um novo Código de Procedimentos e Nomenclatura Odontológica permitiu o uso como medicamento provisório para estabilização do processo de cárie em janeiro de 2016 [23]. Em 2017, o SDF foi aprovado pela Health Canada como um produto de saúde e agente anticárie para crianças de 3 anos ou mais e adultos [24]. Esses fatos contribuíram para o ressurgimento do interesse pelo SDF nos últimos anos.

O SDF também vem sendo usado como agente de limpeza de cavidades. É eficaz contra *Streptococcus mutans*, reduz o número de bactérias em lesões cariosas profundas, pois é bactericida, tornando possível manter cavidades com

tecido cariado afetado [25]. Vem sendo largamente estudado, principalmente em relação ao seu poder preventivo e cariostático. Porém, outras variáveis também têm sido lembradas, como efeito inibitório de micro-organismos, o seu uso em saúde pública, considerando ainda os efeitos adversos ou colaterais da substância [26].

A fórmula do SDF $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ reúne as propriedades do fluoreto de sódio e as do nitrato de prata, agindo tanto na porção inorgânica quanto na porção orgânica dos dentes (figura 2). Atualmente, não existe um consenso a respeito do mecanismo de ação exato do SDF [27]. Três mecanismos de ação anticariogênicos foram descritos. O primeiro está relacionado à obstrução dos túbulos dentinários, observado por meio de microrradiografias. Alterações morfológicas, com túbulos mais estreitos ou obturados foram encontrados, notando-se também a presença de prata e de seus compostos no interior desses túbulos. Essa obliteração dificulta a difusão de ácidos e a invasão bacteriana. O segundo mecanismo é por meio de sua ação cariostática como produto da reação entre o diamino fluoreto de prata e o componente mineral do dente. Sabe-se que tratamentos com flúor aumentam a resistência da dentina peri e intertubular à desmineralização ácida, retardando a sua penetração nas camadas mais profundas. O íon flúor do diamino fluoreto de prata penetra de 50 a 100 μm em profundidade, tornando a fluorapatita tão estável que resiste à descalcificação por agentes ácidos. O terceiro mecanismo é caracterizado pela ação anti enzimática dos produtos da reação entre o diamino fluoreto de prata e o componente orgânico, que é a proteína dentinária, a qual tem sua resistência aumentada à colagenase e à tripsina. Com relação à ação da prata, vários mecanismos de ação têm sido propostos. Isso pode ser explicado pela variabilidade com que a prata pode atuar. Essa interação pode ser dada com organismos vivos (bactérias, protozoários, fungos e vírus), em alvos subcelulares (paredes e membranas celulares, organelas e núcleo) ou em ações vitais para as células (metabolismo e replicação do DNA) [28].

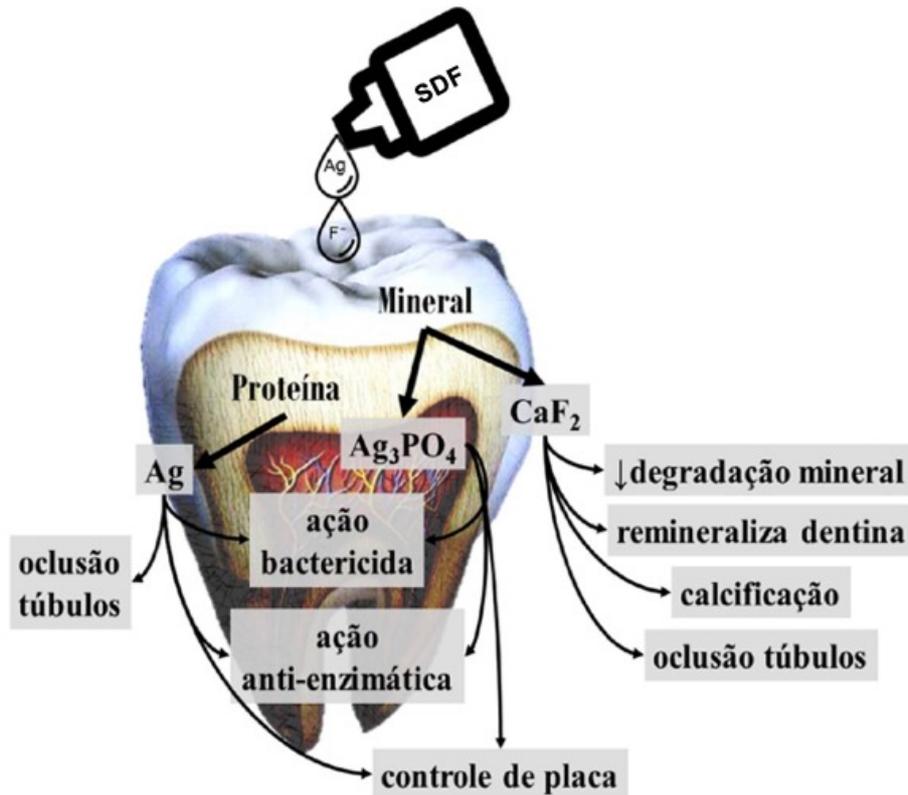


Figura 2 - Desenho esquemático da ação dos componentes do SDF sobre a estrutura dentária. Porção mineral = esmalte dentário, porção proteica = dentina, setas grossas = reação do SDF com as porções mineral e proteica, setas finas = ação dos produtos de reação sobre a dentina e o esmalte. Fonte: PUNHAGUI, 2018.

Enquanto o pH elevado da solução de SDF pode ter um efeito adverso sobre a viabilidade bacteriana, a atividade antibacteriana do SDF é atribuída ao efeito das nanopartículas de prata que apresentam alta reatividade dos íons de prata com componentes da parede celular bacteriana contendo fósforo e enxofre, provocando desintegração do envelope celular bacteriano [29].

Estudos *in vitro* indicaram que o SDF penetra no esmalte até uma profundidade de 25 μm e aproximadamente 2-3 vezes mais fluoreto é retido do que o administrado por NaF-PO₄ (monofluorofosfato de sódio), NaF (fluoreto de sódio) ou SnF₂ (fluoreto de estanho) [30]. Esse fato sugere que o efeito de SDF será maior que o de NaF ou SnF₂.

O SDF está disponível em várias concentrações, 38%, 30% e 12%, sendo a primeira mais utilizada [31]. O SDF é uma solução incolor alcalina (pH 10) contendo prata (Ag), fluoreto (F), amoníaco em solução aquosa e água destilada [32].

Um estudo *in vitro* investigou os efeitos do SDF na lesão cariosa da dentina, utilizando trinta blocos de dentina humana inoculados com *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus acidophilus*. As amostras foram igualmente divididas em grupo teste e grupo controle e receberam aplicação tópica de SDF e água, respectivamente. O resultado mostrou atividade antimicrobiana contra *S. mutans* e *L. acidophilus* do biofilme cariogênico formado em superfícies de dentina e menor grau de desmineralização da dentina no grupo tratado com SDF quando comparado ao grupo controle. O SDF diminuiu a desmineralização da dentina e evitou a destruição do colágeno [33]. Portanto, a utilização sob restaurações poderá melhorar a longevidade clínica.

Um estudo *ex vivo* mostrou uma camada superficial densa e altamente mineralizada (cerca de 150 µm), rica em cálcio e fosfato formada sobre a lesão cavitada em dentina após aplicação bianual de SDF a 38% durante 24 meses. Os cristalitos sobre a lesão dentinária encontravam-se bem alinhados e mais organizados [34]. Além disso, as fibras colágenas foram protegidas e não expostas como resultado do tratamento com SDF.

Uma revisão sistemática de publicações de 1948 a 2014 foi realizada com o objetivo de investigar a eficácia clínica da terapia profissional com fluoreto em remineralizar e paralisar o processo de cárie em crianças. O estudo encontrou como resultado que, aplicações profissionais de verniz de fluoreto de sódio a 5% podem remineralizar lesões iniciais não cavitadas de cárie em esmalte e o diamino fluoreto de prata a 38% é eficaz na paralisação da lesão de cárie em dentina. Entretanto, ressaltam que o número de ensaios clínicos que estudaram o efeito da paralisação da lesão de cárie em dentina é limitado, sugerindo que mais ensaios clínicos devem ser realizados [35].

Um outro estudo concluiu que o SDF reduz o crescimento de bactérias cariogênicas, pois o íon prata tem ação bactericida. O SDF pode paralisar lesões de cárie em esmalte e dentina, inibe a desmineralização, promove a remineralização e protege a matriz de colágeno contra a degradação [36].

O SDF tem mostrado reduzir a incidência de cárie na dentição decídua, entretanto, a aplicação clínica deste material foi limitada pela coloração escura deixada após a aplicação. A adição de iodeto de potássio (KI) após o diamino fluoreto de prata diminui ou ameniza a formação de manchas enegrecidas pela

prata. O tratamento SDF + KI inibiu o desenvolvimento de cárie secundária em restaurações com cimento de ionômero de vidro, mas não foi tão eficaz como o tratamento SDF isoladamente. Além disso, o tratamento causou uma coloração perceptível na margem de restauração, mas a intensidade foi menor do que com o tratamento de SDF puro [37].

O efeito do diamino fluoreto de prata na resistência de microtração entre o cimento de ionômero de vidro e a dentina cariada foi avaliado quanto ao modo de falha na restauração. O estudo concluiu que o diamino fluoreto de prata não afeta adversamente a força de união entre o cimento de ionômero de vidro e a dentina cariada *in vitro* [38]. Da mesma forma, a aplicação de diamino fluoreto de prata+ iodeto de potássio na superfície dentinária não afeta negativamente a resistência da ligação do cimento de ionômero de vidro à dentina [38, 39].

O painel de especialistas reunido pelo *American Dental Association Council of Scientific Affairs* e o Centro de Odontologia Baseada em Evidências conduziram uma revisão sistemática e formularam recomendações clínicas. Para paralisar lesões cáries cavitadas na superfície coronária de dentes decíduos e permanentes, o painel de especialistas recomenda que os profissionais priorizem o uso de solução SDF a 38% semestralmente [40].

Muitos estudos de laboratório foram realizados para investigar o efeito anticárie do SDF em dentina, a maioria com foco no conteúdo mineral, no entanto, a degradação de matriz orgânica também está envolvida na progressão da lesão em dentina. As metaloproteinases da matriz orgânica (MMPs) desempenham um papel importante na degradação enzimática da dentina. Assim, a inibição das atividades de MMP pode contribuir para a paralisação do processo de cárie. O SDF inibe especificamente as proteínas que decompõem a matriz orgânica da dentina exposta: metaloproteinases da matriz, catepsinas e colagenases bacterianas [31]. Foi encontrado um efeito inibitório de soluções SDF em diferentes concentrações nas atividades de MMPs. O efeito inibitório sobre MMP-2 (gelatinase A), MMP-8 (colagenases de neutrófilos) e MMP-9 (gelatinase B) está relacionado à concentração de soluções de SDF, 38% tem significativamente maior inibição em MMPs do que 30% e 12% [41].

Além de reduzir o crescimento de bactérias cariogênicas e promover a remineralização do conteúdo inorgânico do esmalte e da dentina, SDF previne a

degradação do colágeno na dentina por inibir a atividade das collagenases, cisteína proteinases e catepsina [37].

Superfícies de dentes revestidos com fluoreto de sódio ou diamino fluoreto de prata foram estudadas com o objetivo de avaliar reduções de pH induzidas por bactérias. O tratamento das superfícies dos dentes com fluoreto de sódio inibe a produção de ácido bacteriano, porém a dentina radicular revestida com SDF teve efeito inibitório mais forte [42].

Nos Estados Unidos, o diamino fluoreto de prata é um novo método para deter a cárie dentária. Protocolos para o seu uso estão em desenvolvimento à medida que a pesquisa evolui e a experiência é adquirida com diferentes populações e configurações [43].

Um estudo clínico confirmou que a aplicação tópica de SDF a 38%, em uso crescente nos Estados Unidos, é segura e bem tolerada em adultos saudáveis [44].

1.4 CONTAGEM DE *STREPTOCOCCUS MUTANS*

A cavidade bucal possui várias espécies de micro-organismos. Apesar da diversidade microbiana, poucas espécies estão relacionadas à doença cárie, como *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* e *Lactobacillus*, pois possuem as características específicas para participar do processo da doença. As bactérias cariogênicas são capazes de produzir ácidos a partir da fermentação dos carboidratos da dieta (acidogênicas) e de sobreviver em meio ácido (acidúricas). Outra característica seria a capacidade de adesão às estruturas dentárias [45].

Os *Streptococcus* spp. são as bactérias mais comuns no biofilme supragengival e que inicialmente se ligam às superfícies dentárias. Estão presentes em grande número e têm uma ampla gama de propriedades que lhes permitem aderir a componentes da película, bem como a outras espécies bacterianas através de um mecanismo de co-agregação [46].

O nível de *S. mutans* e a subsequente atividade de cárie foram frequentemente correlacionados e, portanto, a contagem de *S. mutans* foi identificada como um teste valioso na previsão da atividade de cárie e na identificação de indivíduos com alto risco de cárie [12].

O controle da concentração e redução de *S. mutans* pode ser benéfico para crianças com alto risco à cárie dentária [47].

Uma avaliação *in vitro* verificou o efeito antimicrobiano do diamino fluoreto de prata associado ao iodeto de potássio na viabilidade de bactérias intratubulares e concluiu que o uso do diamino fluoreto de prata / iodeto de potássio é uma abordagem eficaz na redução da quantidade de *S. mutans* nos túbulos dentinários infectados com este organismo [48].

Outro estudo *in vitro* foi conduzido com o objetivo de investigar os efeitos inibitórios do diamino fluoreto de prata com e sem solução saturada de iodeto de potássio (SSKI) sobre o biofilme de *S. mutans*. O estudo concluiu que o grupo controle teve significativamente mais UFC do que os grupos SDF, SSKI e SDF mais SSKI. SDF isolado, SDF mais SSKI e SSKI interromperam um biofilme de *S. mutans* estabelecido. O SDF isolado teve a maior interrupção geral [49].

Um estudo *in vivo* comparou a eficácia da atividade antimicrobiana de CHX-timol (CHX / T) e vernizes de flúor sobre os níveis de *S. mutans* em saliva de crianças de 6 a 8 anos de idade e concluiu que tanto a aplicação de verniz fluoretado (Fluor Protector) quanto a de verniz CHX / T (Cervitec Plus) nos dentes foram igualmente eficazes na redução significativa da contagem de *S. mutans* na saliva em até 12 semanas [12].

1.5 JUSTIFICATIVA

O diamino fluoreto de prata (SDF) ganhou muita atenção como agente cariostático para prevenir e deter lesões cariosas. Considerando o crescente interesse no uso do SDF nos Estados Unidos e tendo-se em mente o aparecimento de novas técnicas utilizando esse material decidiu-se pela realização de um ensaio clínico randomizado controlado para avaliar o comportamento e efeitos após a remoção seletiva de dentina cariada quando comparado à clorexidina.

1.6 HIPÓTESE NULA

O diamino fluoreto de prata age de maneira similar à clorexidina assim como, as duas formulações de diamino fluoreto de prata têm efeitos semelhantes.

1.7 OBJETIVOS

1.7.1 GERAL

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do tratamento prévio com clorexidina ou diamino fluoreto de prata em duas concentrações diferentes em lesões cavitadas em dentina de molares decíduos.

1.7.2 ESPECÍFICOS

- a. Avaliar a quantidade de bactérias presentes na dentina cariada antes e imediatamente após tratamento com clorexidina e com diamino fluoreto de prata;
- b. Avaliar a diversidade e redução de *Streptococcus* spp. na dentina cariada tratada com clorexidina e com diamino fluoreto de prata;
- c. Avaliar o comportamento clínico das restaurações 3 meses depois do procedimento restaurador.

2 METODOLOGIA

2.1 DESENHO EXPERIMENTAL

Trata-se de um ensaio clínico randomizado controlado duplo cego.

A pesquisa está identificada pela Plataforma Brasil sob o n° 93852718.3.0000.0030, foi iniciada após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília sob o n° 2.908.551 (Anexo I). Posteriormente, o estudo foi cadastrado no ReBEC Registro Brasileiro de Ensaio Clínicos (plataforma virtual de projetos em andamento de estudos com seres humanos realizados no Brasil) TRIAL: RBR-3KJJC4 (Anexo 2).

2.2 TREINAMENTO E CALIBRAÇÃO

Antes da triagem dos pacientes foi realizado o treinamento e calibração da examinadora.

2.3 POPULAÇÃO ESTUDADA E CÁLCULO DO TAMANHO AMOSTRAL

A população estudada é composta por crianças que apresentaram lesões cáries estritamente oclusais em molares decíduos submetidas a tratamento odontológico no Consultório Itinerante de Odontologia no Centro de Atenção Integral à Criança e ao Adolescente Santa Paulina (CAIC) localizado no Paranoá-DF.

Para determinar o tamanho da amostra, o cálculo foi realizado baseando-se em estudos clínicos prévios (média do grupo controle 6,72, média grupo experimental 4,02, diferença= 2,7 e desvio padrão $\pm 1,14$) [32,41].

Com base nos dados acima expostos, 174 crianças foram examinadas, 41 crianças foram incluídas no estudo, sendo 19 meninos e 22 meninas. Dentre estas, 28 apresentaram apenas um molar decíduo cariado, 14 apresentaram dois molares decíduos cariados e 4 apresentaram três molares decíduos cariados.

Durante o estudo 24 dentes foram excluídos por motivos diversos. Entre os motivos, esfoliação precoce do elemento dentário, restauração ou aplicação de selante no dente selecionado para a pesquisa e abandono do tratamento por parte do paciente.

As amostras foram divididas em quatro grupos, (G1) diamino fluoreto de prata a 38%; (G2) diamino fluoreto de prata a 30%; (G3) clorexidina 2% e (G4) grupo controle. O tamanho amostral foi de 10 pacientes por grupo, totalizando um n= 40 (figura 3).

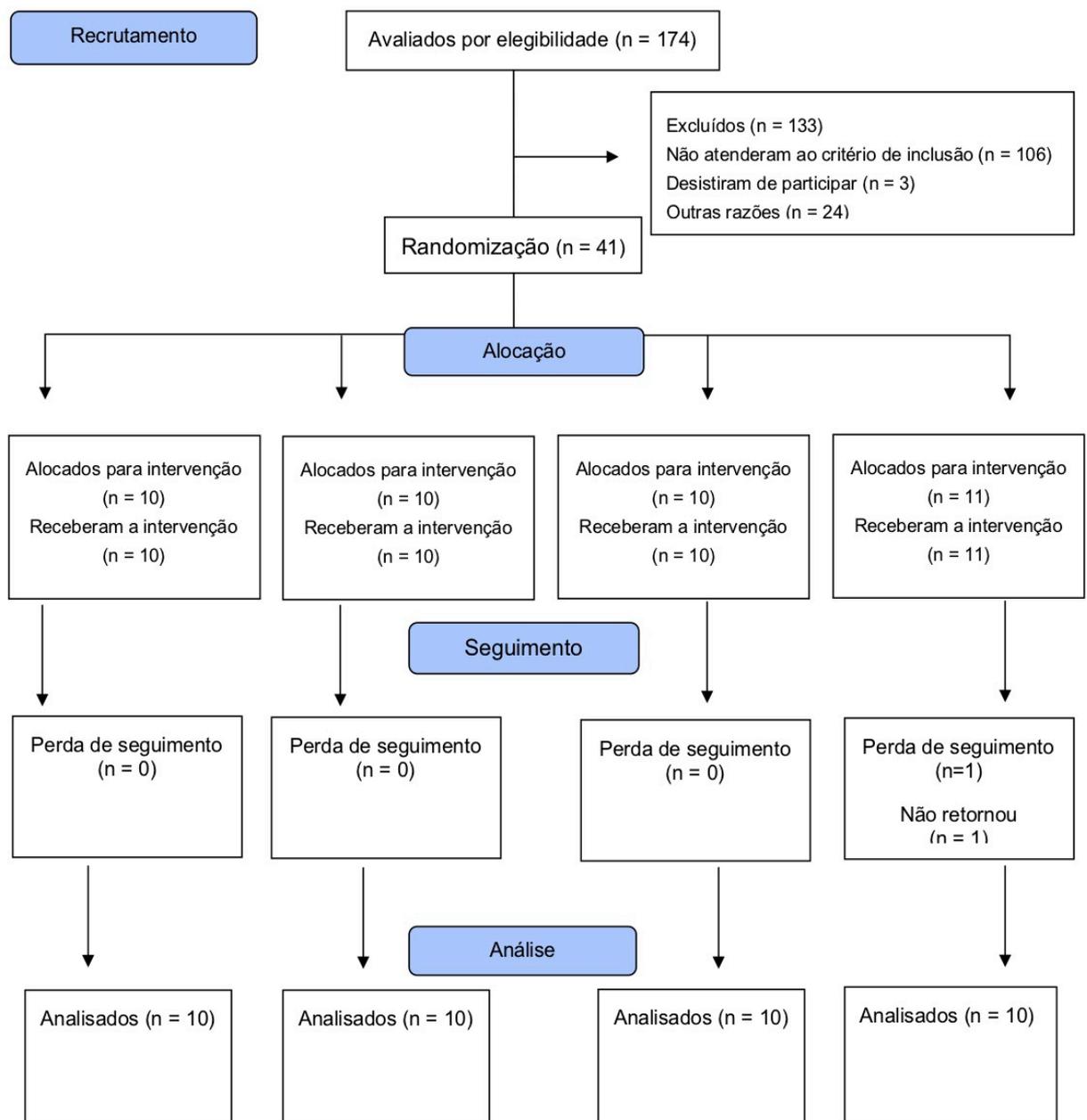


Figura 3 - Fluxograma CONSORT do estudo.

2.4 SELEÇÃO DA AMOSTRA E LOCAL DE REALIZAÇÃO DA PESQUISA

Os participantes da pesquisa foram convidados a fazer parte do estudo após triagem feita no Consultório Itinerante de Odontologia do CAIC - Centro de Atenção Integral à Criança e ao Adolescente Santa Paulina localizado no Paranoá-DF.

2.5 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

- Pacientes que apresentaram pelo menos uma lesão cáriosa em molar decíduo classe I (oclusal) com lesões cárias ativas localizadas no terço externo da dentina, sem doença pulpar e periodontal;
- Ambos os sexos;
- Faixa etária: de 7 a 10 anos;

2.6 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

- Crianças cujos pais não consentiram em participar do estudo (ausência de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE);
- Crianças que não assentiram em participar do estudo (ausência de Termo de Assentimento Livre e Esclarecido - TALE);
- Crianças que apresentaram algum tipo de comprometimento sistêmico e/ou necessidades especiais ao longo do tratamento;

2.7 ALOCAÇÃO ALEATÓRIA DOS PARTICIPANTES

Após o processo de triagem, pelos critérios de inclusão e exclusão, os pacientes selecionados foram distribuídos aleatoriamente através de tabela de números randômicos em quatro grupos: (G1) diamino fluoreto de prata a 38%; (G2) diamino fluoreto de prata a 30%; (G3) clorexidina 2% e (G4) grupo controle.

O prontuário de cada participante foi lacrado em envelope, sendo aberto apenas no momento do atendimento clínico garantindo o cegamento quanto ao grupo ao qual pertenciam.

2.8 TRATAMENTOS

- Diamino Fluoreto de Prata a 38%:

Riva Star SDI®, SDI Limited Bystwater, Austrália.

- Diamino Fluoreto de Prata a 30%:

Cariestop® da Biodinâmica, Ibiporã, Brasil.

- Clorexidina a 2%:

Clorhexidina®, FGM, Joinville, Brasil.



Figura 4 - Produtos utilizados para os tratamentos. **A**, Diamino Fluoreto de Prata a 38% (Riva Star SDI®, SDI Limited Bystwater, Austrália); **B**, Diamino Fluoreto de Prata a 30% (Cariestop® da Biodinâmica, Ibiporã, Brasil); **C**, Clorexidina a 2% (Clorhexidina®, FGM, Joinville, Brasil).
Fonte: Site dos fabricantes.

Estes produtos são registrados na Anvisa: Riva Star SDI® Registro N° 10282490035, Cariestop® Registro N° 10298550048, Clorhexidina® Registro N° 80322400102 e estão presentes em diversas pesquisas sobre prevenção e tratamento da doença cárie.

2.9. ORIENTAÇÕES, EXAMES CLÍNICOS E RADIOGRÁFICOS, TRATAMENTOS

Dentre as etapas da pesquisa:

- Etapa 1: Exame clínico, classificação das lesões, avaliação radiográfica e orientações.
- Etapa 2: Tratamento restaurador com coletas prévias de dentina cariada.
- Etapa 3: Fase laboratorial de análise microbiológica.
- Etapa 4: Avaliação clínica das restaurações.
- Etapa 5: Mensuração da eficácia dos tratamentos.

2.9.1 Etapa 1 – Exame clínico, classificação das lesões, avaliação radiográfica e orientações

2.9.1.1 Exame clínico

Foram coletadas informações clínicas com o objetivo de identificar as lesões cáries que puderam ser incluídas na pesquisa e identificar hábitos de higiene do paciente. Para o exame clínico utilizou-se luz artificial, espelho e sonda exploradora. O objetivo foi identificar as lesões cáries e classificá-las segundo a classificação de Black.

2.9.1.2 Classificação das lesões

A classificação foi registrada no prontuário e apenas as cavidades classe I entraram na pesquisa.

2.9.1.3 Avaliação radiográfica

Os dentes foram radiografados usando o Díox, um aparelho de raio-x portátil de alta frequência (Micro Imagem, Indaiatuba/SP, Brasil) com o objetivo de avaliar a profundidade da lesão de cárie. Ao exame radiográfico interproximal padronizado, a lesão cáries não ultrapassou 1/3 da espessura da dentina.

2.9.1.4 Orientações

Os pacientes receberam orientações verbais e escritas sobre dieta, escovação e hábitos parafuncionais.

Todos os voluntários foram devidamente esclarecidos sobre os objetivos do estudo. Foi obtida a assinatura do termo de assentimento (Anexo 3) e, por se tratar de menores, foi obtida a assinatura do termo de consentimento (Anexo 4) por seus responsáveis.

2.9.2 Etapa 2 – Tratamento restaurador com coletas prévias de dentina cariada

O procedimento clínico de tratamento restaurador e as avaliações clínicas e radiográficas foram realizadas exclusivamente pela pesquisadora responsável.

O dente foi isolado e o tecido cariado removido. As amostras de dentina foram coletadas com colheres de dentina estéreis, durante o preparo cavitário (T0).

Para G1: No primeiro grupo experimental foi aplicado SDF a 38% para limpeza cavitária,

Para G2: No segundo grupo experimental foi aplicado SDF a 30% para limpeza cavitária,

Para G3: No terceiro grupo experimental foi aplicada CHX a 2%,

Para G4: O quarto grupo (G4) foi o controle e não foi usado nenhum agente de limpeza de cavidade.

Antes do selamento, novas amostras de dentina foram coletadas com colheres de dentina (T1).

O material restaurador empregado neste estudo foi o cimento de ionômero de vidro GC Fuji II®, Tóquio, Japão. Os grupos foram restaurados e manipulados conforme as instruções do fabricante.

Todo procedimento de coleta foi realizado pelo mesmo pesquisador, a autora do trabalho.

2.9.3 Etapa 3 – Fase laboratorial de análise microbiológica

O meio de transporte utilizado foi o fluido de transporte reduzido (RTF) [50]. Este meio foi preparado de acordo com a descrição apresentada na tabela 1, esterilizado usando um filtro de membrana 0,22 µm e transferido para tubos tipo eppendorf estéreis. O mesmo meio foi utilizado como diluente.

Tabela 1 - Composição do Fluido de Transporte Reduzido (RTF)^a

Componentes	Quantidade (mL)
1. Solução 1 ^b	75
2. Solução 2 ^c	75
3. 0.1 M EDTA	10
4. 8% Na ₂ CO ₃	5
5. 1% dithiothreitol	20
6. Água destilada	814

a Volumes por litro de RTF.

b Contém 0,6% de K₂HPO₄.

c Contém 1,2% NaCl, 1,2% (NH₄)₂SO₄, 0,6% KH₂PO₄ e 0,25% MgSO₄.

Após a coleta, a amostra de dentina foi imediatamente transferida para um tubo eppendorf estéril com 0.5 mL de RTF e mantida em gelo até chegar ao laboratório. As amostras foram dispersadas duas vezes por ultrassom durante

10 segundos, com intervalo de 30 segundos, em um processador ultrassônico de alta densidade para dispersar agregados bacterianos. Depois disso, elas foram agitadas em vortex por 30 segundos e diluídas 10 vezes em série com RTF.

Posteriormente, alíquotas de 10 μ L de cada diluição foram semeadas nas placas de cultura em duplicatas nos seguintes meios: ágar (BHI) Brain-Heart Infusion (HiMedia, Mumbai, Índia) suplementado com 5% de sangue para contagem de micro-organismos viáveis totais e ágar Mitis Salivarius (Synth, Diadema, SP, Brasil) suplementado com 0,2 unidades/mL de bacitracina e 1% de telurito de potássio (MSB) para contagem de *S. mutans* (figuras 5 e 6 respectivamente).

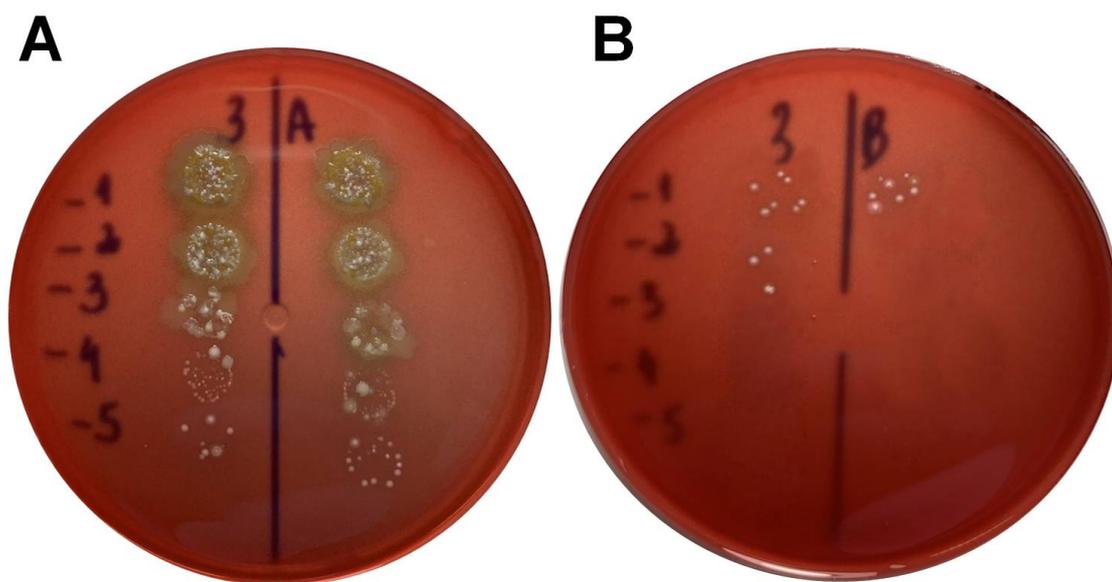


Figura 5 – Imagem ilustrativa do procedimento utilizado para contagem de micro-organismos viáveis totais. Placas de petri com meio de cultura ágar Brain-Heart Infusion (BHI) suplementado com 5% de sangue. As amostras foram diluídas em série, as diluições 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} e 10^{-5} foram aplicadas em duplicata. A) Antes do tratamento; B) Após tratamento com SDF.

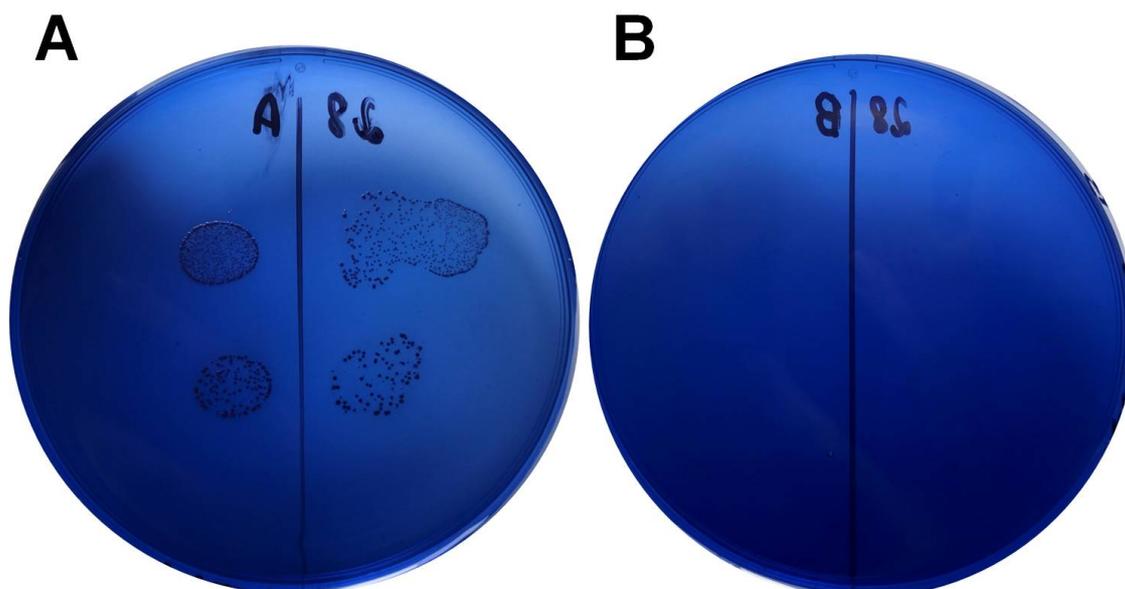


Figura 6 - Imagem ilustrativa do procedimento utilizado para contagem de *S. mutans*. Placas de petri com meio de cultura ágar Mitis Salivarius (MSB) suplementado com bacitracina e telurito. As amostras foram diluídas em série e as diluições 10^{-1} e 10^{-2} foram aplicadas em duplicata. A) Antes do tratamento; B) Após tratamento com SDF.

As placas de BHI e MSB foram incubadas à temperatura de 37°C sob condições microaerófilas utilizando jarras de anaerobiose (Permutation, Curitiba, PR, Brasil) durante 72 horas. Após a incubação, o número de UFC (unidades formadoras de colônias) foi determinado em uma placa com 10-50 colônias.

As amostras originais sem diluição foram cultivadas em ágar Mitis Salivarius (Synth, Diadema, SP, Brasil) suplementado com 1% de telurito de potássio, a semeadura foi realizada utilizando-se a técnica de esgotamento com o intuito de isolar as diferentes colônias de bactérias e avaliar a diversidade de espécies de *Streptococcus* spp. e *Enterococcus* sp. antes e após o tratamento (figura 7).

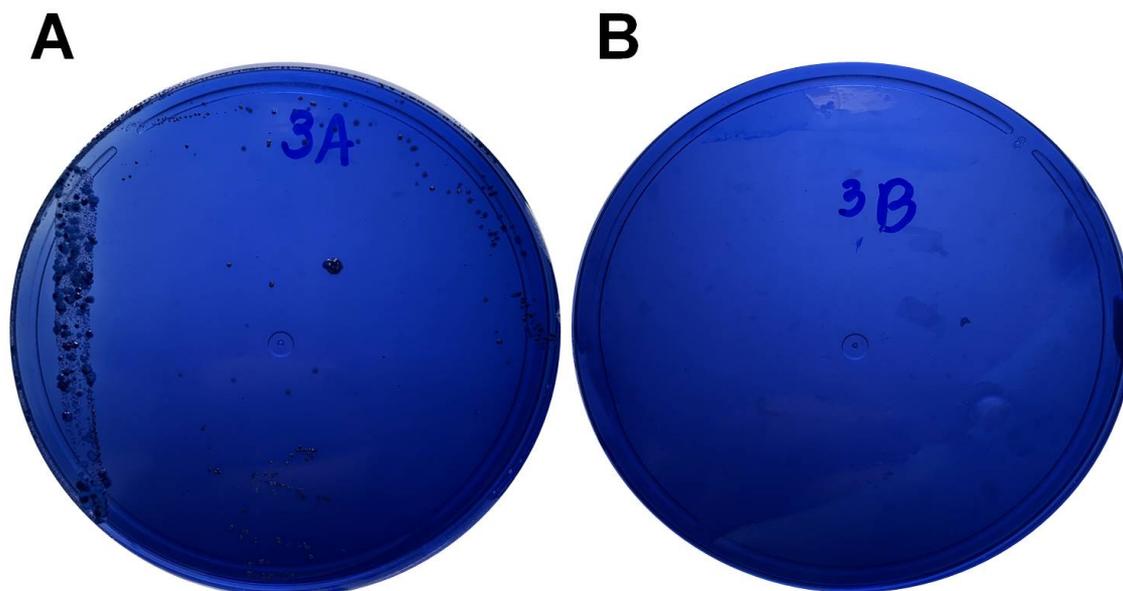


Figura 7 - Imagem ilustrativa do procedimento utilizado para contagem de *Streptococcus* spp. e *Enterococcus* sp. Placas de petri com meio de cultura ágar Mitis Salivarius (MS) suplementado com telurito. As amostras foram aplicadas por esgotamento com alças estéreis e sem diluições prévias. A) Antes do tratamento; B) Após tratamento com SDF.

A identificação e contagem em meios seletivos foram realizadas tendo como base micro-organismos que possuem morfologias características em suas colônias ou em suas células, quando analisados respectivamente, com estereoscópio e microscópio (figura 8), seguindo classificações descritas previamente [51, 52, 53, 54]. A contagem foi realizada por um examinador treinado e desconhecedor da origem amostral.

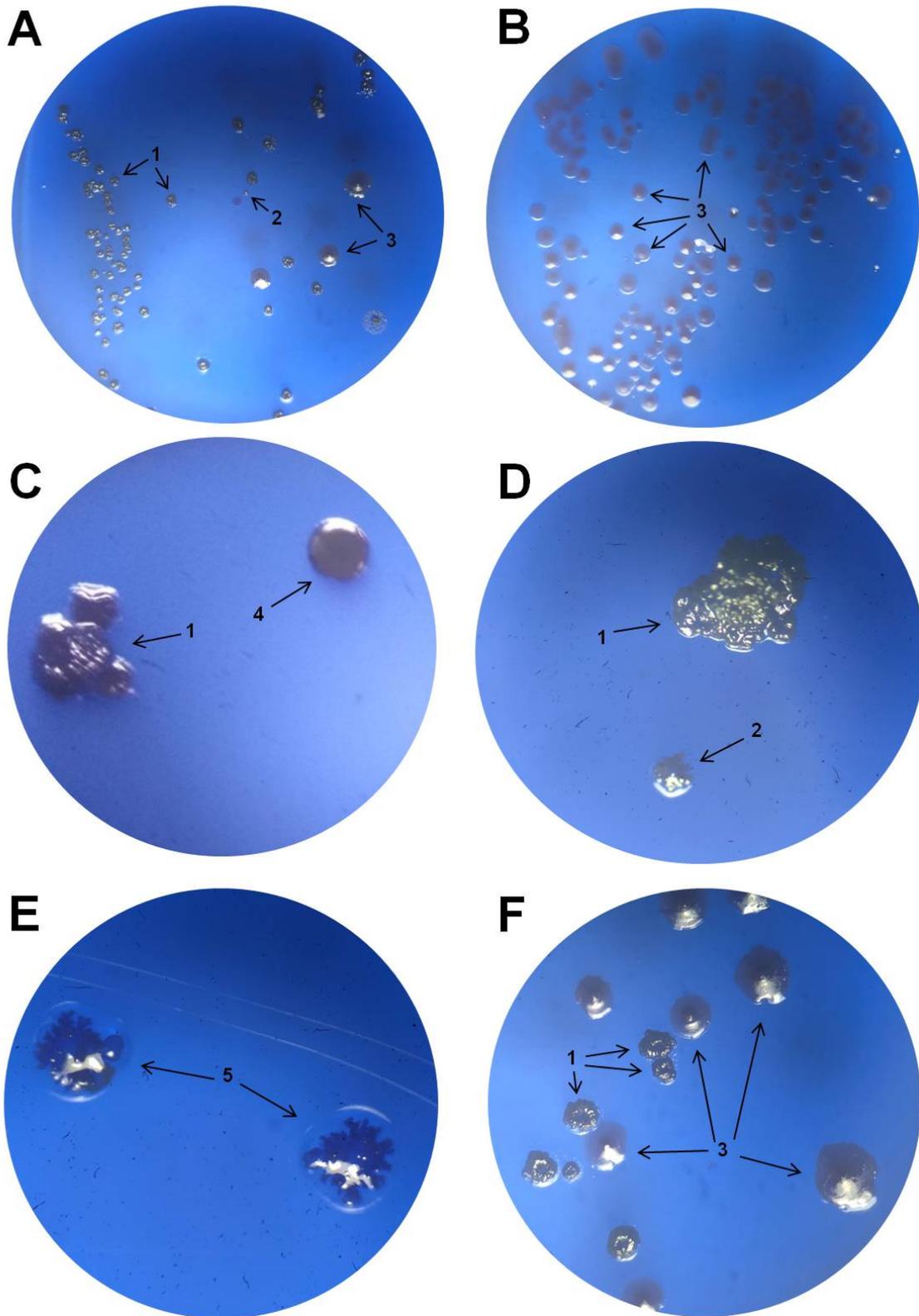


Figura 8 – Imagem ilustrativa da classificação de colônias em Placas de petri com meio de cultura ágar Mitis Salivarius (MS) suplementado com telurito. 1, *S. mutans*; 2, *S. mitis*; 3, *S. salivarius*; 4, *Enterococcus* spp.; 5, *S. sobrinus*.

Todas as técnicas de semeadura, cultura e isolamento seguiram as normas e padronizações do Laboratório de Microbiologia do Departamento de Biologia Celular (CEL) da Universidade de Brasília - UnB e dos fabricantes dos meios de cultura. Todo o processo microbiológico foi realizado pelo mesmo pesquisador, a autora do trabalho.

2.9.4 Etapa 4 – Avaliação clínica das restaurações

Os participantes da pesquisa foram reavaliados no intervalo de 3 meses com a finalidade de analisar o comportamento clínico das restaurações realizadas.

As restaurações foram avaliadas quanto a sua presença ou ausência, e se presentes, se estavam satisfatórias. Os parâmetros clínicos analisados foram adaptação marginal, forma anatômica, rugosidade de superfície, descoloração marginal, sensibilidade pós-operatória e cárie secundária, sendo as restaurações classificadas em Alfa, Bravo ou Charlie seguindo os critérios clínicos USPHS modificados - *Criteria for the clinical evaluation of dental restorative materials* que por terem sido usados no Serviço de Saúde Pública dos Estados Unidos (United States Public Health Service), ficaram conhecidos como critérios USPHS ou USPHS modificados [55].

2.9.5 Etapa 5 – Mensuração da eficácia dos tratamentos

Os resultados microbiológicos e clínicos obtidos em todos os grupos foram analisados e comparados.

2.10 CEGAMENTO

O paciente não foi informado sobre qual grupo foi alocado. A aplicação de todos os passos, por meio da simulação de algumas etapas para determinados grupos, foi a forma selecionada para cegar adequadamente o participante da pesquisa.

A examinadora abriu o envelope que constava o tratamento a ser realizado apenas no momento do procedimento restaurador garantindo o cegamento quanto ao grupo ao qual pertenciam.

As amostras coletadas foram numeradas antes de serem levadas ao laboratório garantindo o cegamento da examinadora.

Na etapa de avaliação clínica após 3 meses, as restaurações foram avaliadas antes de conhecer o grupo ao qual pertenciam.

2.11 TAXA DE ADESÃO DOS PARTICIPANTES

Esforços foram empreendidos para aumentar a taxa de adesão, como disponibilizar informação detalhada acerca do estudo a todos os participantes, encaminhá-los para atendimento, caso algum problema que requeresse imediato tratamento fosse encontrado, as atividades foram agendadas de forma a adaptar-se às necessidades de cada caso.

2.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As reduções de UFC/ mL dos micro-organismos totais provenientes dos tratamentos foram tabulados em planilha eletrônica (Excel, Microsoft) e as análises estatísticas foram realizadas no software SPSS para Mac versão 25.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA) e GraphPad Prism versão 5 (GraphPad Software, San Diego, California, EUA). As contagens bacterianas foram transformadas em valores \log_{10} depois de adicionar 1 a todos os dados para lidar com contagens zero. Os dados microbiológicos coletados foram submetidos à análise de normalidade utilizando o teste de Shapiro-Wilk e homogeneidade utilizando o teste de Levene. Como a dispersão se mostrou normal, as médias das reduções das UFC/mL de cada tratamento foram comparadas por teste T de Student, as diferenças entre os grupos tratados foram analisadas por ANOVA de duas vias e em seguida aplicado o pós teste de Bonferroni para comparações múltiplas. O valor de $p < 0,05$ foi utilizado como critério para significância estatística.

3 RESULTADOS

3.1 CARACTERÍSTICAS DOS GRUPOS

Quarenta (40) participantes completaram o protocolo do estudo e as características demonstrando as semelhanças e homogeneidade intergrupos estão apresentadas na tabela 2. Houve predomínio do sexo feminino e 90% dos participantes relataram a ingestão de alimentos cariogênicos na dieta.

Tabela 2 - Distribuição das características dos grupos de estudo

<i>Variável</i>	<i>Diamino 38% (n=10)</i>	<i>Diamino 30% (n=10)</i>	<i>Clorexidina (n=10)</i>	<i>Controle (n=10)</i>	<i>Valor P</i>
Gênero (F%)	50	40	90	40	0,0762
Nº médio de dentes cariados	1 (1-2)	1,5 (1-2)	2 (1-2)	2 (1-4)	0,186
Idade (anos)	9 (8-9)	9 (9-10)	8 (\pm 0,26)	9 (8-9)	0,0994
Freq. diária de higiene	2 (1-3)	2	2 (1-3)	2 (1-3)	0,9303
Dieta cariogênica (Sim%)	90	100	80	90	0,13

3.2 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

Grandes variações na redução da contagem de micro-organismos totais foram evidentes após a aplicação dos agentes de teste em lesões de dentina cariada dos participantes da pesquisa. Na figura 9 estão apresentados os resultados, nos quais pode-se observar que o grupo 2 apresentou menor número de micro-organismos totais após a aplicação do diamino fluoreto de prata a 30%, seguido do grupo 1 (diamino fluoreto de prata a 38%) e do grupo 3 (clorexidina 2%). No grupo 4 (controle) não houve redução significativa do ponto de vista estatístico entre a coleta da amostra pré e pós intervenção restauradora. O tratamento da dentina cariada com SDF 30% e 38% resultaram em 99,91% e 84,08% respectivamente de redução da contagem de micro-organismos totais.

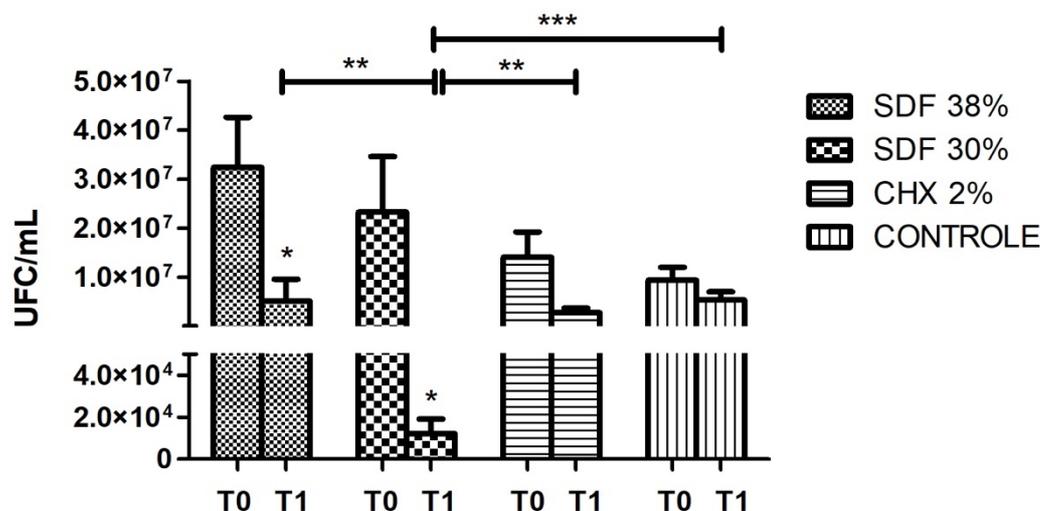


Figura 9 – Redução da contagem de micro-organismos totais em UFC/mL. (* p<0,05; ** p<0,005; *** p<0,001).

A contagem de micro-organismos totais dos participantes da pesquisa antes e após o tratamento com os agentes de teste está apresentada na tabela 3. Após o tratamento com SDF 30%, a média de contagem de UFC/mL foi reduzida de $2,3 \times 10^7$ para 1×10^4 , que foi estatisticamente significativa ($P < 0,05$). No caso do SDF 38%, a contagem média de UFC/mL diminuiu de $3,2 \times 10^7$ para 5×10^6 ($P < 0,05$). O tratamento com CHX reduziu a contagem média de UFC/mL de $1,4 \times 10^7$ para $2,7 \times 10^6$ ($P < 0,05$). O tratamento de controle reduziu a contagem de $9,4 \times 10^6$ para $5,3 \times 10^6$ ($P < 0,05$).

Tabela 3: Comparação dos valores médios de UFC/mL de micro-organismos antes e após tratamento nos grupos de estudo e controle usando o Teste “T” pareado.

Grupos	Média de UFC/mL micro-organismos antes (T0)	Média de UFC/mL micro-organismos depois (T1)	Desvio padrão médio	Valor P
1 (SDF 38%)	$3,2 \times 10^7$	5×10^6	0,45	0,005
2 (SDF 30%)	$2,3 \times 10^7$	1×10^4	0,39	0,000
3 (CHX 2%)	$1,4 \times 10^7$	$2,7 \times 10^6$	0,61	0,015
4 (Controle)	$9,4 \times 10^6$	$5,3 \times 10^6$	0,12	0,067

Uma comparação intergrupos entre a diferença média de contagem de micro-organismos antes e depois de cada tratamento nos grupos de estudo e grupo controle está apresentada nas tabelas 4 (T0) e 5 (T1).

Tabela 4: Comparação intergrupos entre a diferença Média de contagem de micro-organismos antes do tratamento nos grupos de estudo e controle.

<i>Grupos</i>	<i>Grupos</i>	<i>Diferença média</i>	<i>Valor P</i>
Grupo 1 (SDF 38%)	SDF 30%	0,54	0,78
	CHX 2%	0,34	1,00
	Controle	0,50	0,98
Grupo 2 (SDF 30%)	SDF 38%	- 0,54	0,78
	CHX 2%	- 0,20	1,00
	Controle	- 0,04	1,00
Grupo 3 (CHX 2%)	SDF 38%	- 0,34	1,00
	SDF 30%	0,20	1,00
	Controle	0,16	1,00
Grupo 4 (Controle)	SDF 38%	- 0,50	0,98
	SDF 30%	0,04	1,00
	CHX 2%	- 0,16	1,00

Como observado na tabela 4 não houve diferença entre os valores de micro-organismos totais obtidos nos 4 grupos antes da intervenção em estudo e aplicação dos compostos em teste.

Tabela 5: Comparação intergrupos entre a diferença Média de contagem de micro-organismos depois do tratamento nos grupos de estudo e controle.

<i>Grupos</i>	<i>Grupos</i>	<i>Diferença média</i>	<i>Valor P</i>
Grupo 1 (SDF 38%)	SDF 30%	2,11*	0,07
	CHX 2%	- 0,06	1,00
	Controle	- 0,80	1,00
Grupo 2 (SDF 30%)	SDF 38%	- 2,11*	0,07
	CHX 2%	- 2,17*	0,05
	Controle	- 2,91*	0,00
Grupo 3 (CHX 2%)	SDF 38%	0,06	1,00
	SDF 30%	2,17*	0,05
	Controle	- 0,73	1,00
Grupo 4 (Controle)	SDF 38%	0,80	1,00
	SDF 30%	2,91*	0,05
	CHX 2%	0,73	1,00

* A diferença média é significativa no nível 0,05.

Na tabela 5 estão destacadas por asteriscos as comparações intergrupos que apresentaram diferenças significativas em relação aos valores de redução da carga microbiana pós intervenções restauradoras e aplicações de compostos testes. O grupo 2 (SDF a 30%) apresentou diferenças em relação aos outros 3 grupos em estudo.

Após análise dos efeitos das intervenções e compostos testes na contagem de micro-organismos totais procedeu-se a análise microbiológica para determinação da influência dos protocolos em estudo sobre a redução da microbiota cariogênica. Estes experimentos utilizaram o meio de cultivo Ágar Mitis Salivarius suplementado com telurito (MS). A contagem da específica de *S. mutans* foi realizada em meio de cultivo Ágar Mitis Salivarius suplementado com telurito e bacitracina (MSB).

Em relação aos micro-organismos do grupo *Streptococcus* spp. (*S. mutans*, *S. mitis*, *S. salivarius* e *S. sobrinus*) e *Enterococcus* sp., o grupo 2 (SDF 30%) mostrou superioridade em relação aos efeitos antibacterianos, visto que o crescimento bacteriano em ágar MS foi inibido em 99,97% dos participantes após tratamento e em ágar MSB foi completamente inibido em 100% dos participantes. No grupo 1 (SDF 38%) observou-se a redução do crescimento bacteriano em 99,81% e 99,59% das placas em ágar MS e MSB respectivamente. No grupo 3 (clorexidina) houve redução do crescimento bacteriano de 86,22% em ágar MS e 90,3% em ágar MSB. No grupo 4 (controle) a redução em ágar MS foi de 18% e em ágar MSB não houve inibição do crescimento de *S. mutans*, havendo pequeno aumento na contagem bacteriana, como mostrado nas figuras 10 e 11.

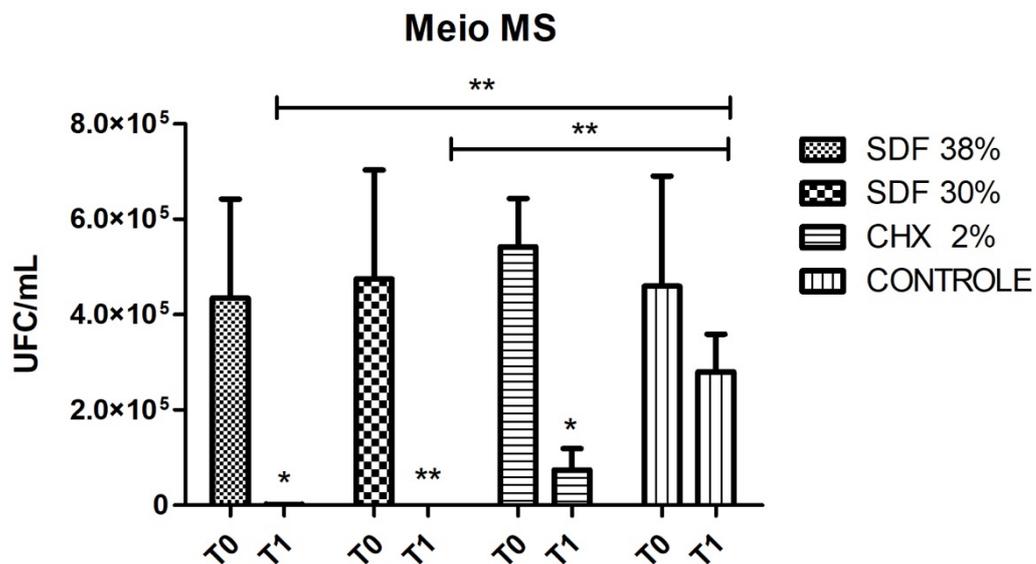


Figura 10 - Redução da contagem de UFC/mL do grupo *Streptococcus* spp. (*S. mutans*, *S. mitis*, *S. salivarius* e *S. sobrinus*) e *Enterococcus* sp. em ágar Mitis Salivarius (MS).

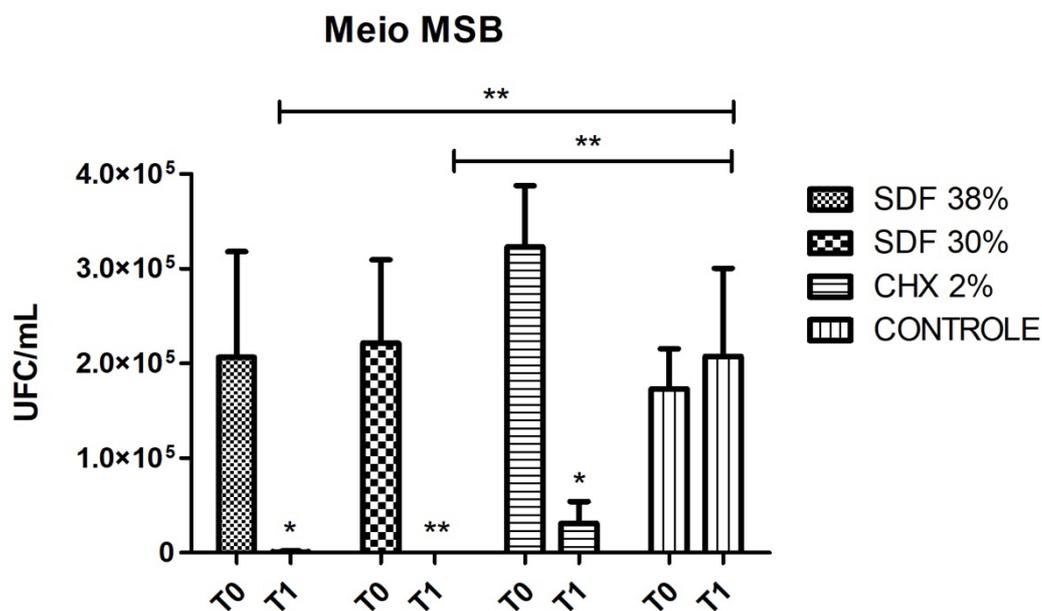


Figura 11 - Redução da contagem de *S. mutans* em UFC/mL em ágar Mitis Salivarius com bacitracina (MSB).

3.3 SUSCEPTIBILIDADE DIFERENCIAL DO GRUPO *STREPTOCOCCUS* SPP. AOS COMPOSTOS EM TESTE

As espécies bacterianas foram identificadas por aspectos morfológicos das colônias (estereoscopia) e características celulares (microscopia). Foram identificadas nas amostras de dentina espécies do gênero *Streptococcus* como

S. mutans, *S. sobrinus*, *S. salivarius* e *S. mitis*, assim como colônias do gênero *Enterococcus* (*Enterococcus sp.*).

Foram feitas comparações entre as espécies bacterianas encontradas nas amostras antes do tratamento e as espécies bacterianas encontradas nas amostras após o tratamento. No grupo SDF a 38% a espécie *S. mutans* apresentou 40% de susceptibilidade ao tratamento, enquanto a susceptibilidade da espécie *S. sobrinus* foi de 83,3%, *S. salivarius* 60%, *S. mitis* 87,5% e *Enterococcus* 50% (figura 12).

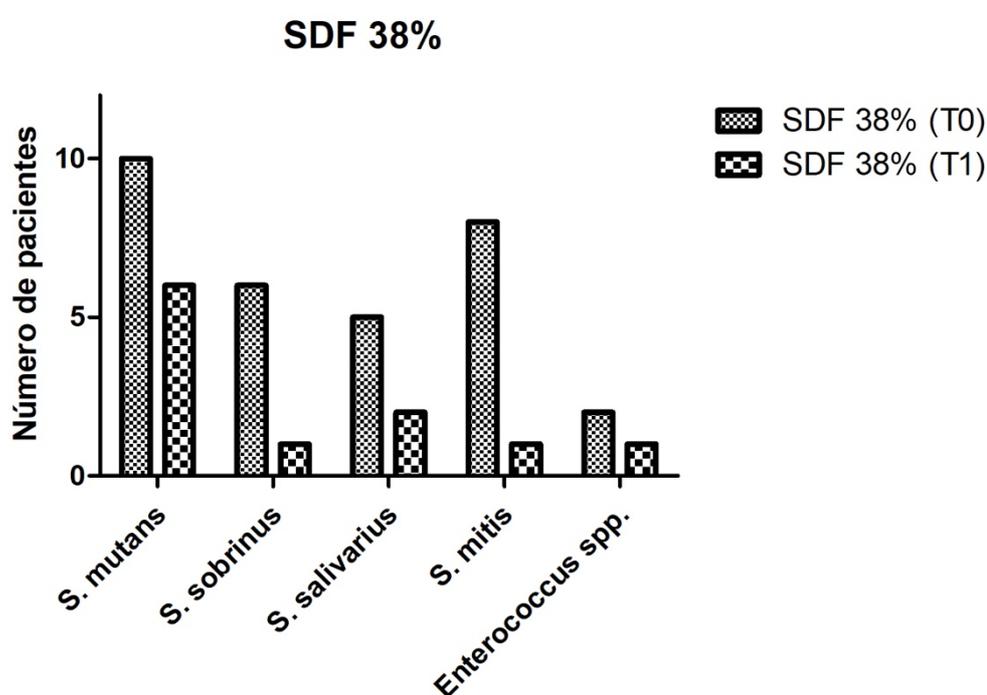


Figura 12 – Susceptibilidade diferencial de bactérias do grupo *Streptococcus* spp. (*S. mutans*, *S. mitis*, *S. salivarius* e *S. sobrinus*) e *Enterococcus sp.* Frente ao tratamento com SDF a 38%.

No grupo SDF a 30% a espécie *S. mutans* apresentou 80% de susceptibilidade ao tratamento, enquanto a susceptibilidade da espécie *S. sobrinus* foi de 75%, *S. salivarius* 87,5%, *S. mitis* 88,8% e *Enterococcus* 100% (figura 13).

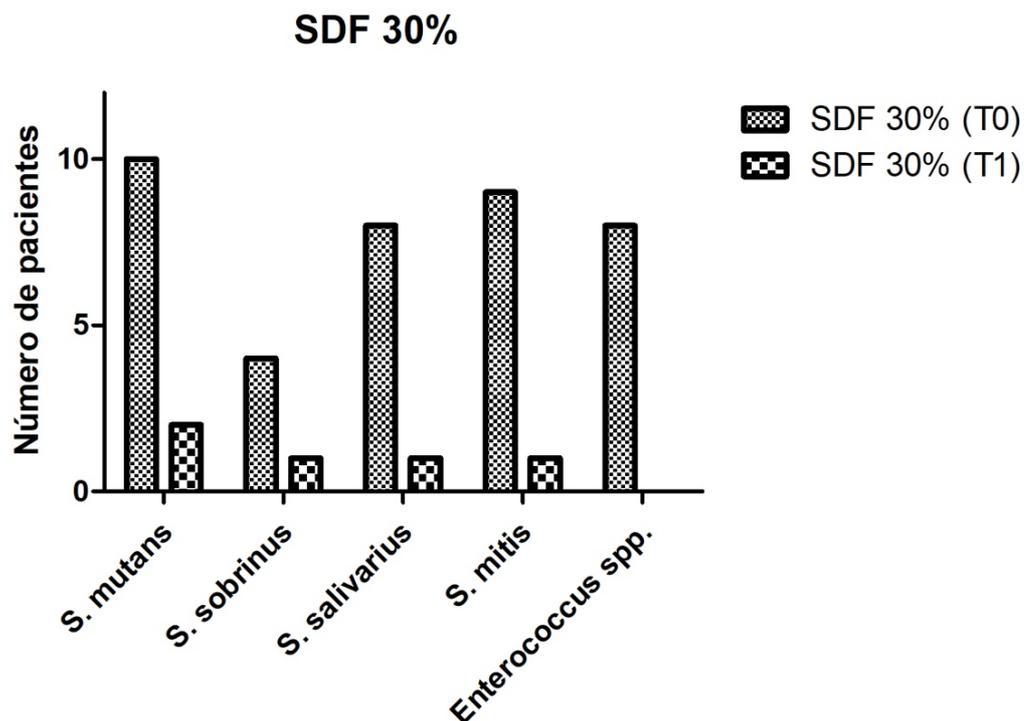


Figura 13 – Susceptibilidade diferencial de bactérias do grupo *Streptococcus* spp. (*S. mutans*, *S. mitis*, *S. salivarius* e *S. sobrinus*) e *Enterococcus* sp. Frente ao tratamento com SDF a 30%.

No grupo clorexidina a espécie *S. mutans* apresentou 33,3% de susceptibilidade ao tratamento, enquanto a susceptibilidade da espécie *S. salivarius* foi de 12,5% e *S. mitis* 20%. *S. sobrinus* e *Enterococcus* não foram suscetíveis ao tratamento (figura 14).

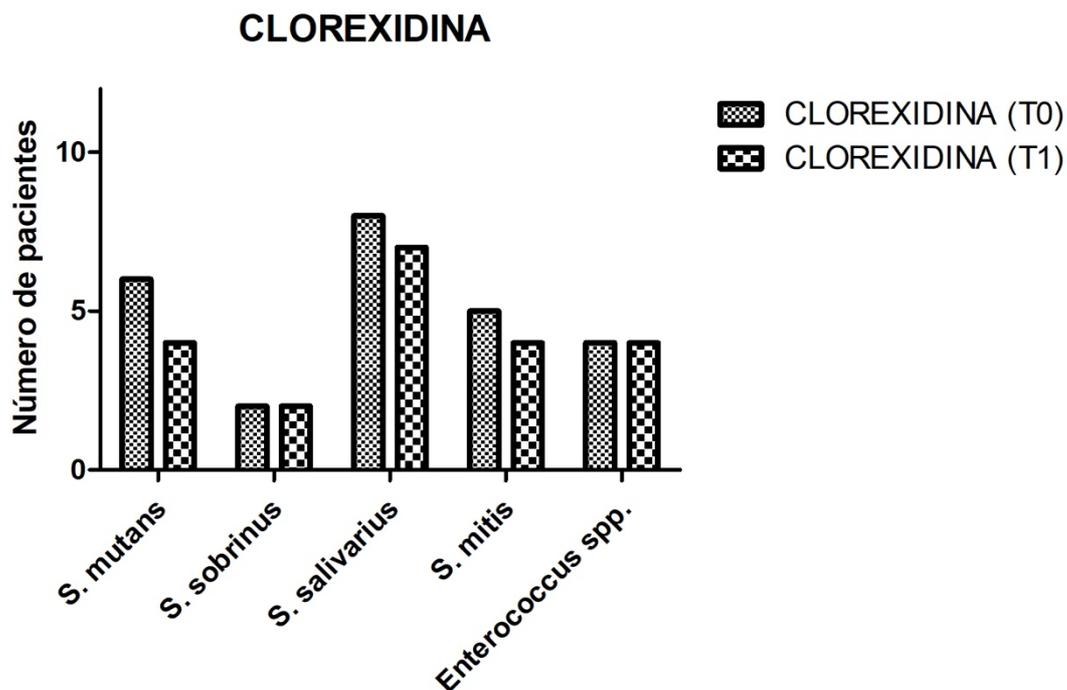


Figura 14 – Susceptibilidade diferencial de bactérias do grupo *Streptococcus* spp. (*S. mutans*, *S. mitis*, *S. salivarius* e *S. sobrinus*) e *Enterococcus* sp. Frente ao tratamento com CHX a 2%.

No grupo controle houve redução de 20% das espécies *S. mutans* e *S. salivarius*. Enquanto nas demais espécies bacterianas identificadas não houve redução entre a primeira e segunda coleta (figura 15).

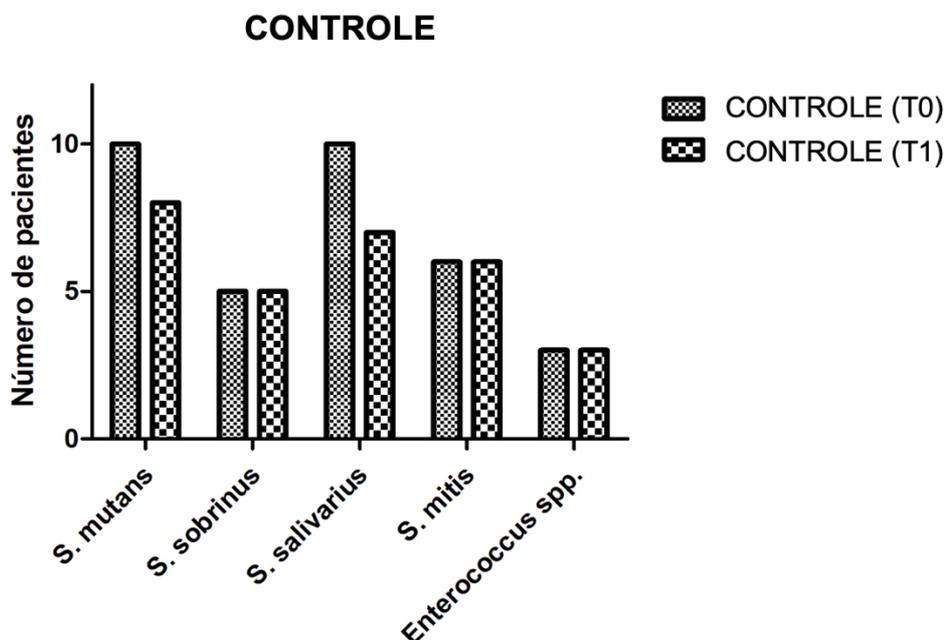


Figura 15 – Susceptibilidade diferencial de bactérias do grupo *Streptococcus* spp. (*S. mutans*, *S. mitis*, *S. salivarius* e *S. sobrinus*) e *Enterococcus* sp. Frente a intervenção no grupo controle.

A figura 16 mostra uma comparação intergrupos da redução de espécies do gênero *Streptococcus* como *S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. salivarius* e *S. mitis*, assim como colônias do gênero *Enterococcus* (*Enterococcus sp.*) antes e depois do tratamento nos grupos de estudo e controle.

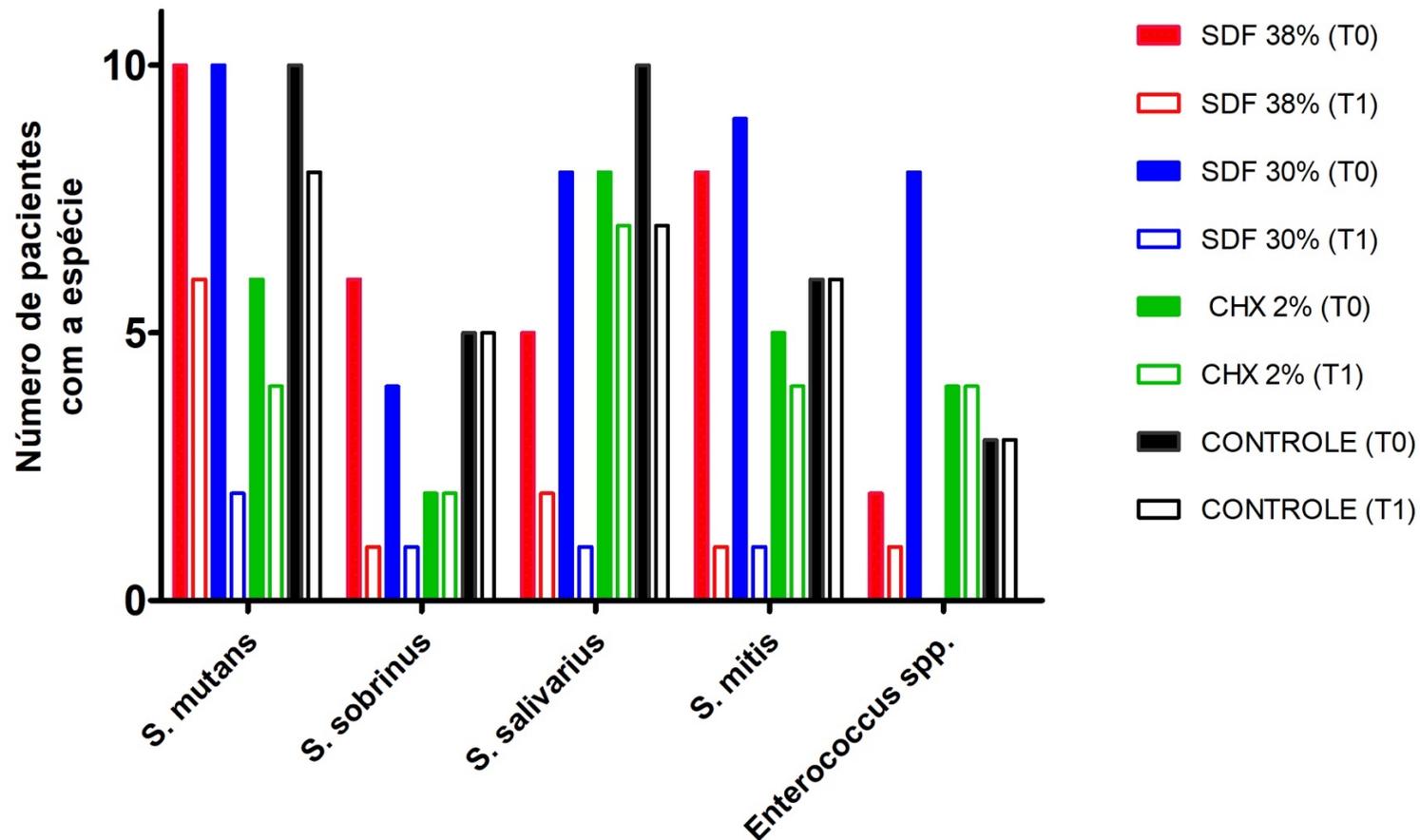


Figura 16 – Comparação intergrupos da susceptibilidade diferencial de bactérias do grupo *Streptococcus* spp. (*S. mutans*, *S. mitis*, *S. salivarius* e *S. sobrinus*) e *Enterococcus sp.* nos diferentes grupos de estudo e grupo controle.

3.4 EFICÁCIA CLÍNICA

As restaurações com cimento de ionômero de vidro foram avaliadas e classificadas da seguinte maneira:

- Dente esfoliado;
- Dente com restauração satisfatória;
- Dente com restauração insatisfatória (desadaptação marginal, rugosidade de superfície, descoloração marginal, sensibilidade pós-operatória e cárie secundária);
- Dente com restauração ausente.

Não foi observada diferença no comportamento clínico das restaurações nos diferentes grupos de estudo após 3 meses do tratamento restaurador, tabela 6 e figuras 17, 18, 19 e 20.

Tabela 6 - Avaliação clínica das restaurações

Grupos	n	Dentes esfoliados	Dentes com restauração satisfatória	Dentes com restauração insatisfatória	Dentes com restauração ausente
SDF 38%	10	1	8	-	1
SDF 30%	10	3	7	-	-
CHX 2%	10	1	7	-	2
CONTROLE	10	1	7	1	1
Total	40	6	29	1	4

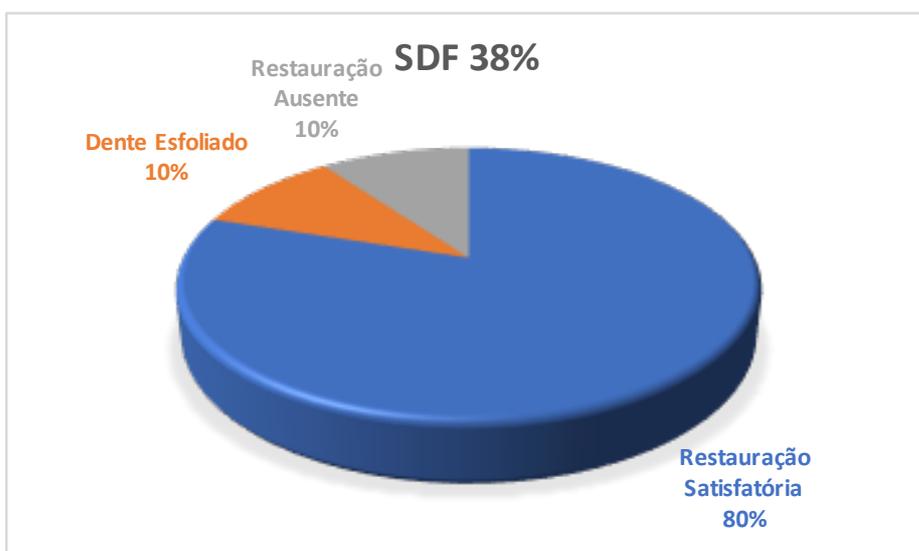


Figura 17 – Distribuição percentual dos resultados da avaliação clínica das restaurações no grupo SDF 38%.

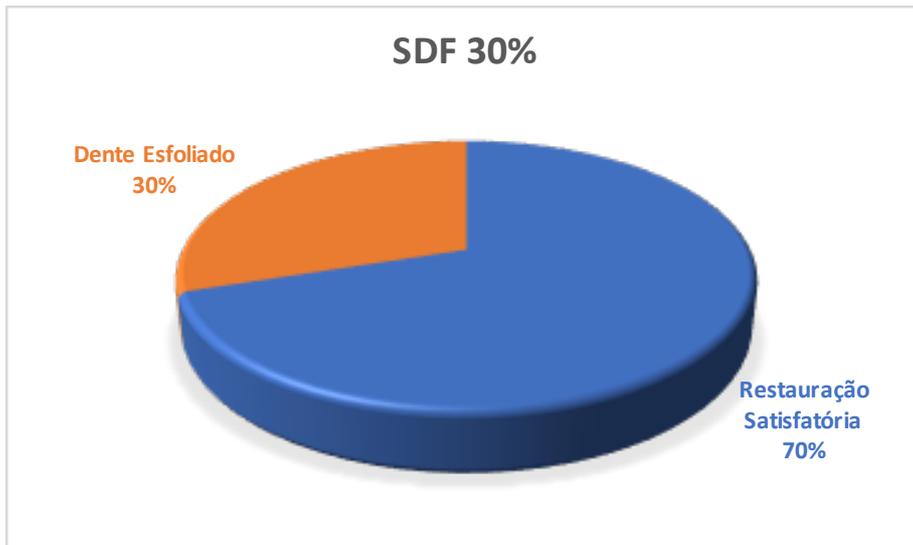


Figura 18 – Distribuição percentual dos resultados da avaliação clínica das restaurações no grupo SDF 30%.



Figura 19 – Distribuição percentual dos resultados da avaliação clínica das restaurações no grupo CHX 2%.



Figura 20 – Distribuição percentual dos resultados da avaliação clínica das restaurações no grupo controle.

4 DISCUSSÃO

Este estudo é um ensaio clínico randomizado controlado duplo cego por este ser o melhor delineamento experimental para determinação da eficácia de terapias [56]. O objetivo foi avaliar o efeito do tratamento prévio com clorexidina ou diamino fluoreto de prata em duas concentrações diferentes em lesões cavitadas em dentina de molares decíduos. A eficácia microbiológica foi mensurada por meio da redução da contagem de unidades formadoras de colônia (UFC) e a eficácia clínica foi avaliada quanto à situação das restaurações 3 meses após o tratamento restaurador.

Em relação aos protocolos de aplicação, é recomendada a concentração de 38%, por ser a única com eficácia clínica e laboratorial comprovadas [57]. A concentração de 38% foi a única concentração aprovada pela *Food and Drug Administration (FDA)* e pela Health Canada para utilização nos EUA e Canadá, respectivamente. No Brasil, o diamino fluoreto de prata é comercializado nas concentrações de 12% e 30%. Considerando que a prática clínica deve acompanhar o desenvolvimento científico, não existe evidência suficiente para propor a aplicação de produtos brasileiros. Um estudo sugere investigação mais aprofundada sobre concentrações mais baixas desses agentes ou seu uso em combinação com outros agentes antibacterianos para produzir resultados semelhantes, mas com maior segurança [5]. Frente a essa realidade, são necessários estudos clínicos bem conduzidos para investigar os efeitos de diferentes concentrações do diamino fluoreto de prata. Este estudo avaliou o diamino fluoreto de prata a 30% e 38%.

Na 1ª fase laboratorial deste estudo, dados de quantificação microbiana de cada lesão cáriosa foram comparados antes e após o tratamento para avaliar o efeito dos materiais em cada indivíduo. Contagens de micro-organismos totais e de *Streptococcus* do grupo *mutans* foram realizadas. O tratamento da dentina cariada com SDF 30% reduziu as contagens de micro-organismos anaeróbios totais em 99,91% (figura 9 e tabela 3), enquanto o crescimento de *Streptococcus* do grupo *mutans* foi completamente inibido (figuras 10 e 11). O SDF 38% reduziu o crescimento de micro-organismos totais em 84,08% (figura 9 e tabela 3) e de *S. mutans* em 99,59% (figuras 10 e 11). SDF a 30% e o SDF a 38% mostraram maior atividade antibacteriana que a CHX e a diferença apresentou significância

estatística, valor de $P < 0,05$ (tabelas 3, 4 e 5). Resultados semelhantes foram relatados em estudos anteriores, nos quais o SDF foi mais eficaz como agente antibacteriano do que a CHX [51, 48, 5].

Testes de susceptibilidade *in vitro* também mostraram que a inibição do crescimento de *S. mutans* foi maior com o SDF isolado do que com o SDF associado ao KI. Estudos anteriores *in vitro* investigaram a eficácia de SDF + KI em *S. mutans*, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus sobrinus*, *Actinomyces naesundus* e outras bactérias cultivando-as como biofilmes mono e multi-espécies em blocos de dentina [33]. Estes estudos revelaram que o SDF inibiu significativamente biofilme mono e multi-espécies [5].

A 2ª fase laboratorial avaliou a susceptibilidade diferencial do grupo *Streptococcus spp.* aos compostos em teste. No grupo SDF a 30% a espécie *S. mutans* apresentou 80% de susceptibilidade ao tratamento, enquanto a susceptibilidade da espécie *S. sobrinus* foi de 75%, *S. salivarius* 87,5%, *S. mitis* 88,8% e *Enterococcus* 100% (figura 13). No grupo SDF a 38% a espécie *S. mutans* apresentou 40% de susceptibilidade ao tratamento, enquanto a susceptibilidade da espécie *S. sobrinus* foi de 83,3%, *S. salivarius* 60%, *S. mitis* 87,5% e *Enterococcus* 50% (figura 12). Resultado semelhante foi relatado em estudo *in vitro* conduzido com o objetivo de investigar os efeitos inibitórios do diamino fluoreto de prata com e sem solução saturada de iodeto de potássio (KI) sobre o biofilme de *Streptococcus mutans*, no qual concluiu-se que o grupo controle teve significativamente mais UFC do que os grupos SDF e SSKI. O SDF isolado foi mais eficaz em interromper um biofilme de *S. mutans* estabelecido [49].

Apenas um estudo [5] avaliou a eficácia antibacteriana *in vivo* desses agentes em seres humanos. O estudo demonstrou a potente atividade antibacteriana *in vivo* do SDF e SDF + KI. O crescimento dos *Streptococcus* do grupo *mutans* foi completamente inibido na maioria das amostras de dentina, porém apenas no ágar MSB. As contagens bacterianas anaeróbias no ágar de Brucella foram significativamente reduzidas, mas não eliminadas. SDF e SDF + KI mostraram maior atividade antibacteriana que a CHX, embora a diferença não tenha alcançado significância estatística. A contagem de micro-organismos totais antes do tratamento também variou entre os indivíduos, sugerindo

diferenças individuais na magnitude da infecção do túbulo dentinário. Outra limitação é o pequeno tamanho da amostra, apenas 5 participantes. Foi sugerido um estudo que inclua um número maior de participantes para esclarecer a eficácia *in vivo* do SDF [5].

As análises para quantificação do efeito antibacteriano sobre a espécie *S. mutans* foram conduzidas com o cultivo das amostras diluídas em meio de cultura MSB, seletivo e específico para *S. mutans*. Para avaliar a susceptibilidade de diferentes espécies cariogênicas presentes nas lesões utilizou-se uma abordagem qualitativa com meio de cultura MS que permite o crescimento de diferentes espécies do grupo *Streptococcus* spp. e *Enterococcus* sp. além do inóculo ter sido realizado diretamente a partir da amostra original não diluída. A diferença observada, em que a redução de *S. mutans* foi de 100% no grupo SDF 30% e de 99,59% no grupo SDF 38% (figuras 10 e 11) na análise quantitativa em meio MSB e a susceptibilidade de *S. mutans* avaliada em meio MS de 80% e 40%, respectivamente, nos grupos SDF 30% (figura 13) e SDF 38% (figura 12) deve-se principalmente aos diferentes meios de cultura utilizados nas análises quantitativas de *S. mutans* (meio MSB) e nas análises qualitativas de *Streptococcus* spp. e *Enterococcus* sp. (meio MS). Outro fator responsável pela diferença obtida nos resultados mencionados acima foi a quantidade de micro-organismos inoculados nos diferentes meios de cultivo, sendo que para a análise qualitativa foram utilizados 30 uL de amostra original não diluída, enquanto que nas análises quantitativas foram utilizados 10 uL de inóculo a partir de amostras diluídas. Dessa forma, os resultados de quantificação em meio MSB não podem ser relacionados de forma absoluta com os dados de análise qualitativa com meio MS. Não obstante, esta diferença não houve prejuízo para a análise dos dados e conclusão. Dessa forma manteve-se evidências claras do melhor efeito antibacteriano, tanto nos ensaios quantitativos, quanto qualitativos, do SDF 30%, seguido pelo SDF 38%, em relação ao produto controle CHX 2%.

O SDF a 38% utilizado neste estudo foi o Riva Star SDI®, SDI Limited Bystwater, Austrália. Este produto é uma associação do diamino com fluoreto de prata com o iodeto de potássio e esta pode ser a possível causa da menor redução na contagem bacteriana quando comparado ao SDF a 30% Cariestop® da Biodinâmica, Ibiporã, Brasil.

Apesar de vários dados epidemiológicos e resultados experimentais em ensaios laboratoriais indicarem a espécie *S. mutans* como o principal fator microbiano responsável pela doença cárie, outras espécies têm sido também evidenciadas desde a década de 1990 como co-responsáveis pelas lesões cariosas como *S. sobrinus*, espécies de *Lactobacillus* spp. e também *Actinomyces* spp. [54]. No entanto, essas espécies não foram objeto deste estudo.

A diversidade da microbiota bucal em humanos, passível de ser isolada por cultivo em meios de cultura, é aproximadamente de 260 espécies diferentes, mas acreditava-se que a diversidade total fosse em torno de 500 espécies [58, 59]. Em trabalhos recentes foram demonstradas diferentes variedades na microbiota bucal dependendo do nicho analisado. Na saliva por exemplo estimou-se entre 1.000 e 2.000 espécies de micro-organismos [60], na placa supragengival foram encontradas entre 500 e 700 espécies microbianas [61, 62, 63]. No entanto, em lesões cariosas esta diversidade microbiana diminui bastante para 100 a 200 espécies em diferentes fases da doença, desde lesões em esmalte, até cavidades profundas na dentina [64, 65, 66, 67].

O advento das tecnologias moleculares de amplificação e sequenciamento de ácidos nucleicos tem contribuído há mais de duas décadas para a elucidação do fator microbiano envolvido no processo cariogênico. Estas metodologias moleculares independentes do cultivo e isolamento de espécies microbianas permitem a identificação e quantificação de micro-organismos não cultiváveis em meio de cultura, ou não diferenciáveis por características morfológicas ou fenotípicas [68, 69, 70, 3, 71]. Talvez por esta razão existam espécies bacterianas responsáveis pela doença cárie ainda não identificadas.

Assumiu-se por muitos anos que os micro-organismos responsáveis pela doença cárie deveriam estar também presentes na saliva, sendo esta amostra a mais utilizada em estudos etiológicos e epidemiológicos relacionados à cárie dentária. A facilidade de obtenção de amostras de saliva e o fato de não ser um processo invasivo também contribuiu pela escolha deste tipo de amostra na maioria dos estudos [69, 70].

Neste estudo foram utilizadas amostras obtidas diretamente das lesões cariosas, material apontado por trabalhos recentes como a mais apropriada na

avaliação da microbiota associada ao processo cariogênico [71, 74, 75]. Os resultados aqui obtidos evidenciam, portanto, o efeito de diferentes agentes antimicrobianos sobre micro-organismos viáveis e intrinsecamente associados as lesões cariosas, avaliam o efeito *in vivo* e em diferentes pacientes (figura 9 e tabela 3), diferentemente de outros estudos que utilizaram produtos e composições semelhantes, mas utilizaram análises *in vitro*, ou diferentes dentes em um único paciente [5,33].

A última análise deste estudo foi em relação a eficácia clínica das restaurações realizadas após os tratamentos com os compostos em teste e não foi observada diferença no comportamento clínico das restaurações nos diferentes grupos de estudo após 3 meses do tratamento restaurador (tabela 6 e figuras 17, 18, 19 e 20), sugerindo que novas avaliações sejam realizadas em intervalos de tempo maiores.

Por fim, há de se destacar a contribuição do presente trabalho por ser um dos primeiros a avaliar o efeito antimicrobiano do SDF KI *in vivo* e com amostragem suficiente a possibilitar análises estatísticas e correlações relevantes entre os compostos em teste e o produto de referência (CHX). A partir deste estudo também poderão ser avaliados outros micro-organismos presentes nas amostras, uma vez que todo material obtido está armazenado e preservado sob congelamento em ultra-freezers. Estas análises baseadas em identificação molecular e métodos independentes de cultivo contribuiria ainda mais para a elucidação das espécies microbianas envolvidas no processo de cárie, assim como da susceptibilidade microbiana ao SDF e à CHX. A aplicação de métodos moleculares possibilitaria a identificação de micro-organismos, não cultiváveis tanto aeróbios, quanto anaeróbios, bactérias, fungos, arqueias e protozoários.

5 CONCLUSÕES

O diamino fluoreto de prata se mostrou mais eficaz quanto a redução de micro-organismos totais e *S. mutans* quando comparado à clorexidina. Da mesma forma em relação a susceptibilidade de *Streptococcus* à clorexidina foi menor do que a observada para diamino fluoreto de prata.

As duas formulações de diamino fluoreto de prata têm efeitos semelhantes, embora o diamino fluoreto de prata a 30% tenha sido superior quanto à redução microbiana.

Não houve diferença intergrupos no comportamento clínico das restaurações 3 meses depois do procedimento restaurador.

Novos estudos com tecnologias moleculares são sugeridos para uma melhor identificação das espécies bacterianas responsáveis pela doença cárie.

REFERÊNCIAS

- [1] World-Health-Organization. Oral health surveys: basic methods. World Health Organization. Geneva: Monograph Series World Health Organization; 2013.
- [2] Jiang, W., et al. Pyrosequencing analysis of oral microbiota shifting in various caries states in childhood. *Microbial ecology* 67.4 (2014): 962-969.
- [3] Becker, M.R., et al. Molecular analysis of bacterial species associated with childhood caries. *Journal of clinical microbiology* 40.3 (2002): 1001-1009.
- [4] Franco, A.P.G.O.; Santos, F.A.; Martins, G.C.; Pilatti, G.; Gomes, O.M.M.; Gomes, J.C. Desinfecção de cavidades com clorexidina. *UEPG. Ci. Biol. Saúde, Ponta Grossa*, (2007): 53-58.
- [5] Karched, M., Dena A., Hien N. In vivo antimicrobial activity of silver diammine fluoride on carious lesions in dentin. *Journal of oral science* (2019): 17-0366.
- [6] Liu, Y., Ren, Z., Hwang, G., & Koo, H. Therapeutic strategies targeting cariogenic biofilm microenvironment. *Advances in dental research*, 29(1), (2018): 86-92.
- [7] Attin, R., et al. Efficacy of differently concentrated chlorhexidine varnishes in decreasing mutans streptococci and lactobacilli counts. *Archives of Oral Biology* 48.7 (2003): 503-509.
- [8] Nawareg, M.A., et al. Is chlorhexidine-methacrylate as effective as chlorhexidine digluconate in preserving resin dentin interfaces? *Journal of dentistry* 45 (2016): 7-13.

- [9] Tekçe, N. et al. Do matrix metalloproteinase inhibitors improve the bond durability of universal dental adhesives? *Scanning* 38.6 (2016): 535-544.
- [10] Damé-Teixeira, N. et al. Gene expression of bacterial collagenolytic proteases in root caries. *Journal of Oral Microbiology* 10.1 (2018): 1424475.
- [11] Takeuchi, Y. et al. Effect of chlorhexidine/thymol and fluoride varnishes on dental biofilm formation in vitro. *European journal of oral sciences* 115.6 (2007): 468-472.
- [12] Khadra, G.M.B., et al. The effect of chlorhexidine-thymol and fluoride varnishes on the levels of *Streptococcus mutans* in saliva in children aged 6–8 years. *Indian Journal of Dental Research* 30.1 (2019): 67.
- [13] Hennessey, T. D. Some antibacterial properties of chlorhexidine. *Journal of periodontal Research* 8 (1973): 61-67.
- [14] da Costa, L.F.N.P., et al. Chlorhexidine mouthwash as an adjunct to mechanical therapy in chronic periodontitis: A meta-analysis. *The Journal of the American Dental Association* 148.5 (2017): 308-318.
- [15] Borges, F.M.C., de Melo, M.A.S., Lima, J.P.M., Zanin, I.C.J., & Rodrigues, L.K.A. Antimicrobial effect of chlorhexidine digluconate in dentin: in vitro and in situ study. *Journal of conservative dentistry: JCD*, 15(1), (2012): 22.
- [16] Ricci, H. A., Sanabe, M. E., de Souza Costa, C. A., Pashley, D. H., & Hebling, J. Chlorhexidine increases the longevity of in vivo resin–dentin bonds. *European Journal of Oral Sciences*, 118(4), (2010): 411-416.
- [17] Ricci, H. A., Scheffel, D. L. S., Baldan, L. G., dos Santos, F. J., Jafelicci Jr, M., & Hebling, J. Influência da clorexidina na capacidade de umectabilidade da

dentina hígida e afetada por cárie por um sistema adesivo. Revista Odontológica do Brasil Central, (2011): 20(53).

[18] Porto, Isabel CCM, et al. Use of polyphenols as a strategy to prevent bond degradation in the dentin–resin interface. European journal of oral sciences 126.2 (2018): 146-158.

[19] Favetti, M., et al. Effectiveness of pre-treatment with chlorhexidine in restoration retention: A 36-month follow-up randomized clinical trial. Journal of dentistry 60 (2017): 44-49.

[20] Gupta, J., Thomas, M. S., Radhakrishna, M., Srikant, N., & Ginjupalli, K. (2019). Effect of silver diamine fluoride-potassium iodide and 2% chlorhexidine gluconate cavity cleansers on the bond strength and microleakage of resin-modified glass ionomer cement. *Journal of conservative dentistry: JCD*, 22(2), 201.

[21] Hendre, A. D., Taylor, G. W., Chávez, E. M., & Hyde, S. A systematic review of silver diamine fluoride: Effectiveness and application in older adults. *Gerodontology*, 34(4), (2017): 411-419.

[22] Peng, J.Y., Botelho, M.G., & Matinlinna, J. P. Silver compounds used in dentistry for caries management: a review. *Journal of dentistry*, 40(7), (2012): 531-541.

[23] FDA. FDA product classification. U.S. Department of Health & Human Services. <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfpdc/classification.cfm?id=1379>. Acessado em 06 de abril de 2019.

[24] Farmer, J.W., Singhal, S., Dempster, L., & Quiñonez, C. Effectiveness, safety, and acceptance of silver diamine fluoride therapy and its implications for

dental hygiene practice: Position paper and statement from the Canadian Dental Hygienists Association. *Canadian Journal of Dental Hygiene*, (2018): 52(3).

[25] Koizumi, H., Hamama, H. H., & Burrow, M. F. Effect of a silver diamine fluoride and potassium iodide-based desensitizing and cavity cleaning agent on bond strength to dentine. *International Journal of Adhesion and Adhesives*, 68, (2016): 54-61.

[26] Santos Junior, V. E. D., Souza, P. R. D., & Rosenblatt, A. Um recurso para paralisar e prevenir cárie em crianças: diamino fluoreto de prata. *RFO UPF*, 17(2), (2012): 228-233.

[27] Punhagui, M. F., Favaro, J. C., Sacarpelli, B. B., Guiraldo, R. D., Lopes, M. B., & Berger, S. B. Treatment of Dental Caries with Diamine Silver Fluoride: Literature Review. *Journal of Health Sciences*, 20(3), (2018): 152-157.

[28] Oppermann, R. V., & Johansen, J. R. Effect of fluoride and non-fluoride salts of copper, silver and tin on the acidogenicity of dental plaque in vivo. *European Journal of Oral Sciences*, 88(6), (1980): 476-480.

[29] Morones JR, Elechiguerra JL, Camacho A, Holt K, Kouri JB, Ramirez JT et al. The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology* 16, (2005): 2346-2353.

[30] Rosenblatt, A., Stamford, T.C.M., Niederman, R. Silver diamine fluoride: a caries “silver-fluoride bullet”. *Journal of dental research*, 88(2), (2009): 116-125.

[31] Mei, May L., et al. The inhibitory effects of silver diamine fluoride at different concentrations on matrix metalloproteinases. *Dental Materials* 28.8 (2012): 903-908.

- [32] Mei, May L., E. C. Lo, and C. H. Chu. Clinical use of silver diamine fluoride in dental treatment. *Compend Contin Educ Dent* 37.2 (2016): 93-8.
- [33] Mei, M.L., et al. Caries arresting effect of silver diamine fluoride on dentine carious lesion with *S. mutans* and *L. acidophilus* dual-species cariogenic biofilm. *Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal* 18.6 (2013): e824.
- [34] Mei, May L., et al. An ex vivo study of arrested primary teeth caries with silver diamine fluoride therapy. *Journal of dentistry* 42.4 (2014): 395-402.
- [35] Gao, S.S., et al. Caries remineralisation and arresting effect in children by professionally applied fluoride treatment—a systematic review. *BMC Oral Health* 16.1 (2016): 12.
- [36] Zhao, I., Mei, M., Burrow, M., Lo, E., & Chu, C. H. Effect of Silver Diamine Fluoride and Potassium Iodide Treatment on Secondary Caries Prevention and Tooth Discolouration in Cervical Glass Ionomer Cement Restoration. *International journal of molecular sciences*, 18(2), (2017): 340.
- [37] Zhao, I. S., Gao, S. S., Hiraishi, N., Burrow, M. F., Duangthip, D., Mei, M. L., Chu, C. H. Mechanisms of silver diamine fluoride on arresting caries: a literature review. *International dental journal*, 68(2), (2018): 67-76.
- [38] Puwanawiroj, A., Trairatvorakul, C., Dasanayake, A. P., & Auychai, P. Microtensile bond strength between glass ionomer cement and silver diamine fluoride-treated carious primary dentin. *Pediatric dentistry*, 40(4), (2018): 291-295.
- [39] Zhao, I. S., Chu, S., Yu, O. Y., Mei, M. L., Chu, C. H., & Lo, E. C. M. (2019). Effect of silver diamine fluoride and potassium iodide on shear bond

strength of glass ionomer cements to caries-affected dentine. International dental journal.

[40] Slayton, R.L., Urquhart, O., Araujo, M.W., Fontana, M., Guzmán-Armstrong, S., Nascimento, M.M., Young, D.A. Evidence-based clinical practice guideline on nonrestorative treatments for carious lesions: a report from the American Dental Association. *The Journal of the American Dental Association*, 149(10), (2018): 837-849.

[41] Mei, May Lei, et al. Antibacterial effects of silver diamine fluoride on multi-species cariogenic biofilm on caries. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials* 12.1 (2013): 4.

[42] Ishiguro, T., Mayanagi, G., Azumi, M., Otani, H., Fukushima, A., Sasaki, K., & Takahashi, N. (2019). Sodium fluoride and silver diamine fluoride-coated tooth surfaces inhibit bacterial acid production at the bacteria/tooth interface. *Journal of dentistry*.

[43] Burgette, J. M., Weintraub, J. A., Birken, S. A., Lewis, T. A., & White, B. A. Development of a Silver Diamine Fluoride Protocol in Safety Net Dental Settings. *Journal of Dentistry for Children*, 86(1), (2019): 32-39.

[44] Lin, Y.S., Rothen, M.L., & Milgrom, P. Pharmacokinetics of 38% topical silver diamine fluoride in healthy adult volunteers. *The Journal of the American Dental Association*, 150(3), (2019): 186-192.

[45] Cerqueira, D. Etiologia e epidemiologia da cárie dentária. Caso complexo Amélia. *Especialização em Saúde da Família*. UNASUS, UNIFESP.

- [46] Yeon, L.S., & Young, L.S. Susceptibility of Oral Streptococci to Chlorhexidine and Cetylpyridinium Chloride. *Biocontrol science*, 24(1), 1(2019): 3-21.
- [47] VV, K., & SG, D. (2003). Comparative evaluation of efficacy of sodium fluoride, chlorhexidine and triclosan mouth rinses in reducing the mutans streptococci count in sa-liva: An in vivo study. *J Indian Soc Pedo Prev Dent*, 21(3), 98-104.
- [48] Hamama, H. H., Yiu, C. K., & Burrow, M. F. Effect of silver diamine fluoride and potassium iodide on residual bacteria in dentinal tubules. *Australian dental journal*, 60(1), (2015): 80-87.
- [49] Vinson, L.A., Gilbert, P.R., Sanders, B.J., Moser, E., Gregory, R.L. Silver Diamine Fluoride and Potassium Iodide Disruption of *In Vitro Streptococcus mutans* Biofilm. *Journal of Dentistry for Children*, 85(3), (2018): 120-124.
- [50] Syed, S.A., and Walter J.L. Survival of human dental plaque flora in various transport media. *Appl. Environ. Microbiol.* 24.4 (1972): 638-644.
- [51] Van H., Johannes. Role of micro-organisms in caries etiology. *Journal of dental research* 73.3 (1994): 672-681.
- [52] Momeni, S.S., et al. Mutans streptococci enumeration and genotype selection using different bacitracin-containing media. *Journal of microbiological methods* 103 (2014): 53-57.
- [53] Saravia, M. E., Nelson-Filho, P., Silva, R. A. B., De Rossi, A., Faria, G., Silva, L. A. B., & Emilson, C. G. (2013). Recovery of mutans streptococci on MSB, SB-20 and SB-20M agar media. *Archives of oral biology*, 58(3), 311-316.

- [54] Saravia, M. E., Nelson-Filho, P., Ito, I. Y., da Silva, L. A. B., da Silva, R. A. B., & Emilson, C. G. (2011). Morphological differentiation between *S. mutans* and *S. sobrinus* on modified SB-20 culture medium. *Microbiological research*, 166(1), 63-67.
- [55] Ribeiro, M. D. F., & Pazinato, F. B. (2016). Critérios clínicos para decisão entre substituição ou reparo de restaurações em resina composta-revisão de literatura. *Revista Brasileira de Odontologia*, 73(3), 223-230.
- [56] Ferreira Pinto, V. (2010). Estudos clínicos de não-inferioridade: fundamentos e controvérsias. *Jornal Vascular Brasileiro*, 2010: 145–51.
- [57] Horst JA, Ellenikiotis H, Milgrom PL. UCSF Protocol for Caries Arrest Using Silver Diamine Fluoride: Rationale, Indications and Consent. *J Calif Dent Assoc*. 2016;44(1):16-28.
- [58] Moore, W. E. C., and L.V.H. Moore. "The bacteria of periodontal diseases." *Periodontology 2000* 5.1 (1994): 66-77. [73]
- [59] Socransky, S. S., & Haffajee, A. D. (1994). Evidence of bacterial etiology: a historical perspective. *Periodontology 2000*, 5(1), 7-25.
- [60] Simon-Soro, A., et al. Microbial geography of the oral cavity. *Journal of dental research* 92.7 (2013): 616-621.
- [61] Aas, J.A. et al. (2008) Bacteria of dental caries in primary and permanent teeth in children and young adults. *J. Clin. Microbiol.* 46, 1407–1417
- [62] Bik, E.M. et al. (2010) Bacterial diversity in the oral cavity of ten healthy individuals. *ISME J.* 4, 962–974

- [63] Belda-Ferre, P. et al. (2012) The oral metagenome in health and disease. *ISME J.* 6, 46–56
- [64] Fejerskov, O. (2004) Changing paradigms in concepts on dental caries: consequences for oral health care. *Caries Res.* 38, 182–191
- [65] Gross, E.L. et al. (2012) Beyond *Streptococcus mutans*: dental caries onset linked to multiple species by 16S rRNA community analysis. *PLoS ONE* 7, e47722
- [66] Simón-Soro, A. et al. (2013) A tissue-dependent hypothesis of dental caries. *Caries Res.* 47, 591–600
- [67] Kianoush, N. et al. (2014) Bacterial profile of dentine caries and the impact of pH on bacterial population diversity. *PLoS ONE* 9, e92940
- [68] Hugenholtz, P., Norman R. P. Identifying microbial diversity in the natural environment: a molecular phylogenetic approach. *Trends in biotechnology* 14.6 (1996): 190-197.
- [69] Bradshaw, D. J., P. D. Marsh. Analysis of pH-driven disruption of oral microbial communities in vitro. *Caries research* 32.6 (1998): 456-462.
- [70] Zambon, J. J., and S. A. Kasprzak. The microbiology and histopathology of human root caries. *American journal of dentistry* 8.6 (1995): 323-328.
- [71] Simón-Soro, A., Mira A. Solving the etiology of dental caries. *Trends in microbiology* 23.2 (2015): 76-82.
- [72] Nasidze, I. et al. (2009) Global diversity in the human salivary microbiome. *Genome Res.* 19, 636–643

[73] Rudney, J.D. et al. (2009) Potential biomarkers of human salivary function: a modified proteomic approach. *Arch. Oral Biol.* 54, 91–100

[74] Ling, Z. et al. (2010) Analysis of oral microbiota in children with dental caries by PCR-DGGE and barcoded pyrosequencing. *Microb. Ecol.* 60, 677–690

[75] Simon-Soro, A., et al. Microbial geography of the oral cavity. *Journal of dental research* 92.7 (2013): 616-621.

ANEXOS

ANEXO I – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisas



UNB - FACULDADE DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE DA
UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: COMPARAÇÃO ENTRE A CLOREXIDINA E O DIAMINO FLUORETO DE PRATA PARA LIMPEZA CAVITÁRIA

Pesquisador: ERICA TORRES DE ALMEIDA PIOVESAN

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 93852718.3.0000.0030

Instituição Proponente: Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília **Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.908.551

Apresentação do Projeto:

Resumo: "Objetivo: Este estudo tem como objetivo comparar diferentes agentes de limpeza cavitária. Materiais e métodos: trata-se de um ensaio clínico randomizado. Duas soluções de Diamino Fluoreto de Prata com concentrações de 38%, 30% e clorexidina a 2% serão estudadas. Pacientes apresentando lesão cariada CI I em molares decíduos serão selecionados. A amostra será dividida aleatoriamente em quatro grupos: (G1) diamino fluoreto de prata a 30%; (G2) diamino fluoreto de prata a 38%; (G3) Clorexidina 2% e (G4) grupo controle. Dez amostras de cada solução experimental serão usadas para estudar seu efeito. Durante o exame clínico, as lesões serão identificadas e classificadas. Na sessão seguinte serão tratadas conforme divisão dos grupos, amostras de dentina serão coletadas para posterior análise laboratorial e comparação. Após a esfoliação os dentes serão doados à pesquisa e nova análise laboratorial e comparação serão realizadas. Hipótese nula: O diamino fluoreto de prata age de maneira similar à clorexidina assim como, as duas formulações de diamino fluoreto de prata têm mecanismos de ação semelhantes."

No tópico "Revisão de literatura: A doença cárie é uma disbiose, que ocasiona um processo de desmineralização dos tecidos dentários (esmalte, dentina e cimento). Lesões de cárie que não são passíveis de higienização necessitam da intervenção invasiva para controle de doença. Essa intervenção preconiza, em lesões com risco de exposição pulpar, a remoção seletiva do tecido cariado previamente a reconstrução das estruturas perdidas, protegendo os remanescentes de novas agressões (FRANCO et al, 2007)." E ainda:

"(...)Existem vários estudos mostrando que a longevidade da interface adesiva é aumentada quando são utilizadas estratégias inibitórias de enzimas inespecíficas (TJADERHANE et al. 2013). Diferentes produtos químicos ou agentes de ligação cruzada de colágeno foram empregados com sucesso como iniciadores terapêuticos no procedimento de adesão (MAZZONI, 2015). Agentes antibacterianos podem ser benéficos como agentes desinfetantes, aplicados na superfície dentinária, previamente aos procedimentos restauradores adesivos (ABU NAWAREG et al., 2016) ou como agente antimicrobiano incorporados aos sistemas adesivos (TEKÇE et al., 2016). Em ambas as situações, o uso de tais agentes têm como objetivo eliminar ou diminuir o depósito de bactérias aderidas às paredes dentinárias."

Traz também a informação que "(...) Vários produtos podem ser utilizados como agentes de limpeza cavitária disponíveis no mercado. Dentre eles, pode-se citar: digluconato de clorexidina a 2% (CHX), peróxido de hidrogênio a 3% ou 10 volumes, solução de hidróxido de cálcio (água de cal), detergentes, soluções fluoretadas e mais recentemente o glutaraldeído (GA) e o diamino fluoreto de prata (SDF). Franco et al. (2007) realizaram uma revisão de literatura abordando o uso da clorexidina como agente desinfetante de cavidades e sua influência na união resina/dentina. A análise de alguns trabalhos concluiu que é importante realizar a limpeza cavitária com CHX, pois sua ação desinfetante protege a estrutura dentária de sensibilidade pós-operatória e de cárie recorrente. Além disso, observou-se que os agentes de limpeza em geral não prejudicam o processo de adesão. O Digluconato de Clorexidina 2% (CHX) representa um agente de limpeza promissor, por sua eficácia na redução da microbiota cultivável em dentina contaminada (BORGES et al., 2012). O uso de CHX, além de não ter efeito prejudicial imediato, teve um efeito benéfico na adesão dentina/resina, desacelerando a taxa de degradação especialmente nos primeiros meses de função na cavidade oral (RICCI, 2010). A aplicação de CHX não seguida de lavagem tem o potencial de inibir as MMP's (metaloproteinasas) e, conseqüentemente, inibe a degradação da camada híbrida e das fibrilas de colágeno, melhorando assim, a força de união dentina-resina (CARRILHO, et al., 2007). Entretanto, outros estudos demonstraram que o pré-tratamento da cavidade com CHX in vivo para inibição da degradação da camada híbrida não adiciona qualquer efeito benéfico ao desempenho clínico das restaurações (FAVETTI et al., 2017). (...)"

Ainda: "(...) Em 2012, Rosenblat verificou que o diamino fluoreto de prata foi largamente estudado, principalmente com enfoque em seu poder preventivo e cariostático. Porém, outras também têm sido lembradas, como efeito inibitório de micro-organismos, o seu uso em saúde pública e efeitos adversos. O diamino fluoreto de prata (SDF) também vem sendo usado como agente de limpeza de cavidades. É eficaz contra *Streptococcus mutans* e reduz o número de bactérias em lesões cariosas profundas, pois é bactericida(...)"

Também "(...) Uma revisão sistemática da literatura concluiu que o SDF reduz o crescimento de bactérias cariogênicas, pois o íon prata tem ação bactericida. O SDF pode paralisar cárie de esmalte e de dentina, inibe a desmineralização, promove a remineralização e protege a matriz de colágeno contra a degradação. (ZHAO, 2017)

Muitos estudos de laboratório foram realizados para investigar o efeito anti-cárie do SDF em cárie de dentina, a maioria destes estudos se concentram no conteúdo mineral, no entanto, a degradação de matriz orgânica também está envolvida na progressão da cárie dentinária. As metaloproteinases de matriz (MMPs) desempenham um papel importante na degradação enzimática da dentina. Assim, a inibição das atividades de MMP pode contribuir para a paralisação do processo de cárie. Foi encontrado um efeito inibitório de soluções SDF em diferentes concentrações nas atividades de MMP. O efeito inibitório sobre MMP-2, MMP-8 e MMP-9 está relacionado a concentração de soluções de SDF, 38% tem significativamente maior inibição em MMPs do que 30% e 12%. (MEI et al, 2013)."

Em "Relevância Social: O comportamento desses materiais no interior da camada híbrida ainda não está bem estabelecido na literatura. Avaliar a possibilidade do uso de meios alternativos de preservação e proteção da dentina de forma imediata e ao longo do tempo torna-se um tema relevante. E, ao mesmo tempo, a análise qualitativa de micro-organismos patogênicos é importante na identificação de espécies e cepas associadas com a doença para um melhor entendimento sobre a etiologia dessas doenças. Tendo-se em mente o progresso científico e aparecimento de novas técnicas e materiais resolveu-se realizar um ensaio clínico randomizado controlado para avaliar clínica e histologicamente o comportamento e efeitos de duas diferentes substâncias de limpeza de cavidades após a remoção seletiva de dentina cariada."

"Hipótese Nula: O diamino fluoreto de prata age de maneira similar à clorexidina assim como, as duas formulações de diamino fluoreto de prata têm mecanismos de ação semelhantes.

Hipótese: O diamino fluoreto de prata não age de maneira similar à clorexidina, mostrando desempenho superior assim como, as duas formulações de diamino fluoreto de prata não têm mecanismos de ação semelhantes."

Local: Clínica de odontopediatria do curso de odontologia do Hospital Universitário de Brasília - HUB.

Custo: R\$1.227,76, em Resma de Papel – Folha A4; Cartucho de tinta preta HP 662; Diamino Fluoreto de Prata - nacional e Diamino Fluoreto de Prata - importado Clorexidina 2% (100ml); Micro Brush (100 unidades); Rolete de Algodão (100 unidades); Sugador Odontológico descartável (40 unidades); Ácido fosfórico 37% (3 unidades) e Sistema Adesivo Resina Composta.

Participantes: "A população a ser estudada será composta por crianças submetidas a tratamento odontológico no Curso de Odontologia da Universidade de Brasília atendidas no Hospital Universitário de Brasília - HuB que apresentem lesões cariosas classe I em molar decíduo. Total 40 participantes - divididos em grupos de 10, faixa etária: 7 a 10 anos.

Dada inicio da coleta: Setembro/2018.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo geral:

"O objetivo deste estudo será avaliar o efeito de dois materiais nas estruturas dentárias, previamente tratadas com clorexidina (CHX) e diamino fluoreto de prata (Ag (NH₃) 2F) em duas concentrações diferentes, em segundos molares decíduos."

Objetivos Específicos:

"- Avaliar a viabilidade das bactérias presentes na dentina cariada tratada com clorexidina (CHX) e com diamino fluoreto de prata (Ag (NH₃) 2F) imediatamente após a aplicação e depois da esfoliação do dente decíduo;
- Avaliar a diversidade genotípica dos Streptococcus mutans e de Lactobacilos na dentina cariada tratada com clorexidina (CHX) e com diamino fluoreto de prata (Ag (NH₃) 2F) após a esfoliação do dente decíduo; - Avaliar os fatores de virulência (aciduricidade e acidogenicidade) das bactérias cariogênicas (Lactobacilos e Streptococcus mutans) identificadas na dentina cariada tratada com clorexidina (CHX) e com diamino fluoreto de prata (Ag (NH₃) 2F) após a esfoliação do dente decíduo;
- Investigar o efeito inibitório em MMPs por clorexidina (CHX) e por diamino fluoreto de prata (Ag (NH₃) 2F) após a esfoliação do dente decíduo;
- Observar a camada híbrida, formação de tags resinosos nos túbulos dentinários bem como nanoinfiltração na região desta camada com a microscopia eletrônica de varredura após a esfoliação do dente decíduo."

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: "Riscos e Benefícios envolvidos na execução da Pesquisa: Se o Diamino Fluoreto de Prata (SDF) for aplicado acidentalmente sobre a pele ou a gengiva, pode aparecer uma mancha marrom ou branca que não causará danos, não pode ser lavada e desaparecerá de uma a três semanas. O paciente poderá sentir um gosto metálico na boca, que irá desaparecer rapidamente. A área afetada com a doença cárie poderá ficar pigmentada após a aplicação do SDF, mas a estrutura dentária saudável não irá pigmentar."

Benefícios: "Os benefícios tratam-se da cessação da dor e restabelecimento da saúde bucal do paciente diante do tratamento com evidência de sucesso."

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de projeto de mestrado do Programa de Pós-graduação em Odontologia, vinculado a linha de pesquisa: Métodos e materiais para diagnóstico, prevenção e terapêutica em Odontologia, da Faculdade de Ciências da Saúde, da discente Érica Torres de Almeida Piovesan, orientado pela Profa. Ana Cristina Barreto Bezerra e Coorientador: Prof. Dr. Vicente de Paulo Martins.

Tipo: "Ensaio clínico randomizado"

Critérios de inclusão: "Pacientes que apresentem pelo menos uma lesão cárie em molar decíduo classe I (oclusal) com lesões cáries ativas localizadas no terço externo da dentina, sem doença pulpar ou periodontal; Ambos os sexos; Faixa etária: de 7 a 10 anos."

Critérios de Exclusão: "Pacientes com doenças sistêmicas; Pacientes especiais."

Alocação aleatória dos participantes:" Após o processo de triagem, pelos critérios de inclusão e exclusão, os pacientes selecionados serão distribuídos aleatoriamente em quatro grupos: (G1) diamino fluoreto de prata a 30%; (G2) diamino fluoreto de prata a 38%; (G3) Clorexidina 2% e (G4) grupo controle."

"Tratamentos:

Diamino Fluoreto de prata a 30%: Será utilizado o Cariestop ® da Biodinâmica, Brasil.

Diamino Fluoreto de prata a 38%: Será utilizado o Saforide ®, Toyo Seiyaku Kasei Co. Ltd., Osaka, Japan. Clorexidina a 2%: Será utilizada a Clorhexidina ®, FGM, Brasil.

Estes produtos são registrados e estão presentes em diversas pesquisas sobre prevenção."

"Orientações, exames clínicos e radiográficos: ETAPA 1: Exame clínico, classificação das lesões, avaliação radiográfica e orientações; ETAPA 2: Tratamento restaurador com prévia coleta de dentina cariada; ETAPA 3: Fase laboratorial de análise microbiológica; ETAPA 4: Coleta de dentes decíduos após a esfoliação; ETAPA 5: Fase laboratorial de análise microbiológica; ETAPA 6: Mensuração da eficácia dos tratamentos".

"DETALHAMENTO: Etapa 1 – Exame clínico, classificação das lesões, avaliação radiográfica e orientações. 1.1) Exame clínico: São coletadas informações clínicas com o objetivo de identificar as lesões cariosas que podem ser incluídas na pesquisa. 1.2) Classificação das lesões: O exame clínico utilizará luz artificial, espelho e sonda exploradora. O objetivo será identificar as lesões cariosas e classificá-las segundo a classificação de black. A classificação será registrada no prontuário e apenas as cavidades classe I entrarão na pesquisa. 1.3) Avaliação radiográfica Os dentes serão radiografados com o objetivo de avaliar a profundidade da lesão de cárie. Ao exame radiográfico interproximal padronizado, a lesão cariada não deverá ultrapassar 1/3 da espessura da dentina. 1.4) Orientações: Receberão orientações verbais e escritas sobre dieta, escovação e hábitos parafuncionais. Todos os voluntários serão devidamente esclarecidos sobre os objetivos do estudo e, em se tratando de menores, será obtida a assinatura do termo de consentimento por seus responsáveis. Os responsáveis também serão orientados quanto à doação dos dentes decíduos após a esfoliação natural dos mesmos para darmos continuidade a pesquisa.

Etapa 2 – Tratamento restaurador com prévia coleta de dentina cariada: O procedimento clínico de tratamento restaurador e as avaliações clínicas e radiográficas serão realizadas por apenas um operador devidamente treinado. O dente será isolado, o preparo cavitário será feito usando broca esférica n ° 4 estéril com turbina de baixa rotação.

Para G1: No primeiro grupo experimental Ag (NH3) 2F a 30% para limpeza cavitária sera aplicado, Para G2: no segundo grupo experimental sera aplicado Ag (NH3) 2F a 38% para limpeza cavitária, Para G3: no terceiro grupo

experimental CHX a 2% sera aplicada, Para G4: o quarto grupo (G4) será o controle e não será usado agente de limpeza de cavidade. Antes do selamento, as amostras de dentina serão coletadas por duas brocas estéreis esféricas de baixa rotação n ° 4. Antes da coleta, as brocas serão umedecidas em meio de transporte reduzido (RTF) para facilitar a impregnação da dentina na broca.

Os grupos receberão o sistema adesivo convencional e serão manipulados conforme as instruções do fabricante. O sistema adesivo que será empregado neste estudo será o de tres passos, condicionamento ácido total a 37%, primer e adesivo Scotchbond Multi Purpose 3M/ESPE (Mineápolis, Minesota, USA) e a resina composta nanoparticulada Filtek Z350 XT 3M ESPE cor A2D da mesma procedência. Um fotopolimerizador de luz halógena com 600 mW/cm² de potência será utilizado.

Etapa 3 – Fase laboratorial de análise microbiológica: A amostra de dentina será imediatamente transferida para um recipiente estéril com 1,2 ml de RTF e placas de petri [Syed e Loesche, 1972]. E ainda "(...) As contagens em meios seletivos serão realizadas em microorganismos que possuem morfologia celular característica. Algumas colônias presentes poderão ser submetidas a coloração Gram para confirmação da eficiência da metodologia aplicada. A contagem será realizada por um examinador treinado e cego."

Na Etapa 4 – "Coleta de dentes decíduos após a esfoliação.: Os responsáveis, terão sido orientados quanto à necessidade de doação dos dentes decíduos após a esfoliação natural dos mesmos, retornarão algum tempo depois e será feita a coleta destes elementos dentários para a continuidade da pesquisa."

Etapa 5 – "Fase laboratorial de análise microbiológica: As amostras passarão por um protocolo de procedimentos para prepará- los para a visualização ao microscópio eletrônico de varredura (M.E.V)."

Etapa 6 – Mensuração da eficácia dos tratamentos: Os resultados obtidos em todos os grupos serão analisados e comparados."

Em "6.3 Taxa de Retenção: Esforços serão empreendidos para aumentar a taxa de retenção, como disponibilizar informação detalhada acerca do estudo a todos os participantes, encaminhá-los para atendimento, caso algum problema que requeira imediato tratamento seja encontrado, as atividades serão agendadas de forma a adaptar-se às necessidades de cada caso."

Também: "7.1- Critério de Encerramento ou Suspensão da Pesquisa, quando couber

Caso o pesquisador perceba qualquer possibilidade de dano ao participante, decorrente da participação na pesquisa, será discutido com os participantes as providências cabíveis e a forma de assistência, que podem incluir o encerramento ou suspensão da pesquisa para que as providências cabíveis sejam tomadas. O Comitê de Ética em Pesquisa será comunicado imediatamente se necessário o encerramento da pesquisa. "

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Documentos analisados para emissão do presente parecer:
1) Projeto - em "PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1124591.pdf", postado em 01/09/2018. 2) Carta_resposta.docx", postado em 01/09/2018. 3) Orçamento em "ORÇAMENTO_FINANCEIRO.docx", postado em 01/09/2018. 4) Cronograma em "CRONOGRAMA_DE_ATIVIDADES.docx", postado em 01/09/2018. 5) Modelo de TCLE em "TCLE.docx", postado 01/09/2018. 6) Modelo de TALE em "TALE.docx", postado em 01/09/2018. 7) Projeto detalhado em "Projeto_Erica_Piovesan.docx", postado em 01/09/2018.

Recomendações:

Não se aplicam.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Análise das respostas às pendências apontadas no Parecer Consubstanciado No. 2.826.478: 1) Substituir o termo "sujeito de pesquisa" por "participante de pesquisa" ao longo do texto. (Res. CNS 466/2012, item II.10). RESPOSTA: "1- O termo "sujeito de pesquisa" foi substituído por "participante de pesquisa" ao longo do texto. Projeto: página 15 parágrafos 6 e 8, página 21 parágrafo 5."

ANÁLISE: termo alterado. PENDÊNCIA ATENDIDA

2. No que se refere aos riscos "os riscos envolvidos são relativos a utilização dos equipamentos de proteção individual (EPI) quando o dente estiver sendo restaurado."; conforme a Resolução 466/2012 no item V – DOS RISCOS E BENEFÍCIOS diz "Toda pesquisa com seres humanos envolve risco em tipos e gradações variados. Quanto maiores e mais evidentes os riscos, maiores devem ser os cuidados para minimizá-los e a proteção oferecida pelo Sistema CEP/CONEP aos participantes. Devem ser analisadas possibilidades de danos imediatos ou posteriores, no plano individual ou coletivo. A análise de risco é componente imprescindível à análise ética, dela decorrendo o plano de monitoramento que deve ser oferecido pelo Sistema CEP/CONEP em cada caso específico." Apresentar análise de risco no projeto de pesquisa, no projeto da plataforma e no TCLE para o participante de pesquisa, mesmo que sejam inerentes ao tratamento convencional odontológico.

RESPOSTA: "A análise de risco foi apresentada no projeto de pesquisa na página 20 parágrafo 5 e no TCLE na página 1 parágrafo 4."

ANÁLISE: A avaliação de risco foi realizada conforme ""Riscos e Benefícios envolvidos na execução da Pesquisa: Se o Diamino Fluoreto de Prata (SDF) for aplicado acidentalmente sobre a pele ou a gengiva, pode aparecer uma mancha marrom ou branca que não causará danos, não pode ser lavada e desaparecerá de uma a três semanas. O paciente poderá sentir um gosto metálico na boca, que irá desaparecer rapidamente. A área afetada com a doença cárie poderá ficar pigmentada após a aplicação do SDF, mas a estrutura dentária saudável não irá pigmentar."

PENDÊNCIA ATENDIDA

3. Solicita-se atualizar o cronograma prevendo o início da pesquisa para período posterior à aprovação pelo CEP. Ressalta-se que cabe ao pesquisador responsável aguardar a decisão de aprovação ética, antes de iniciar a pesquisa (Res. CNS 466/2012, item XI.2.a). E também solicita-se discriminar as etapas da pesquisa clínica e a descrição das etapas, sendo as apresentadas insuficientes e incompatível com o projeto de pesquisa.

RESPOSTA: "O cronograma foi atualizado e as etapas da pesquisa discriminadas no novo cronograma."

ANÁLISE: Cronograma foi alterado como solicitado. PENDÊNCIA ATENDIDA

4) O orçamento do projeto de pesquisa apresentado não é compatível com os gastos do estudo. Por exemplo no Projeto Detalhado item 1.3: pg. 17 "Avaliação radiográfica os dentes serão radiografados com o objetivo de avaliar a profundidade da lesão de cárie. Ao exame radiográfico interproximal padronizado, a lesão cariada não deverá ultrapassar 1/3 da espessura da dentina.", não orçado. Conforme, a Norma Operacional CNS N° 001/2013, item 3.3.e, estabelece que todos os protocolos de pesquisa devem "detalhar os recursos, fontes e destinação; forma e valor da remuneração do pesquisador; apresentar em moeda nacional ou, quando em moeda estrangeira, com o valor do câmbio oficial em Real, obtido no período da proposição da pesquisa; apresentar previsão de ressarcimento de despesas do participante e seus acompanhantes, quando necessário, tais como transporte e alimentação e compensação material nos casos ressaltados no item II.10 da Resolução do CNS 466/2012". Solicita-se adequar.

RESPOSTA: "O orçamento foi atualizado e gastos como radiografias, transporte e alimentação para o participante da pesquisa e responsável foram incluídos no orçamento".

ANÁLISE: O orçamento foi alterado com a inclusão dos custos com Transporte participante e responsável no valor de 1.600,00 e Alimentação participante responsável 400,00, sendo total: R\$ 3.490,76. PENDÊNCIA ATENDIDA

5. Solicita-se esclarecer quem na equipe de pesquisa será Operador conforme projeto detalhado item 1.4) Etapa 2 pg. 18 - "Tratamento restaurador com prévia coleta de dentina cariada: O procedimento clínico de tratamento restaurador e as avaliações clínicas e radiográficas serão realizadas por apenas um operador devidamente treinado." Caso este não esteja incluso na equipe - acrescentá-lo e o respectivo Currículo. RESPOSTA: "O operador da pesquisa será a pesquisadora responsável, conforme incluído no projeto na página 17 parágrafo 8."

ANÁLISE: Esclarecimento realizado. PENDÊNCIA ATENDIDA

6. No projeto detalhado pg 18, item 1.4 - apresenta o trecho "Os responsáveis também serão orientados quanto à doação dos dentes decíduos após a esfoliação natural dos mesmos para darmos continuidade a pesquisa." Na pg.

20 do mesmo documento: "Etapa 4 – Coleta de dentes decíduos após a esfoliação: Os responsáveis, terão sido orientados quanto à necessidade de doação dos dentes decíduos após a esfoliação natural dos mesmos, retornarão algum tempo depois e será feita a coleta destes elementos dentários para a continuidade da pesquisa." E ainda no TCLE : "A participação dele (a) nesta pesquisa consistirá em comparecer à clínica de odontopediatria do HUB nos dias marcados para que os dentes cariados sejam restaurados com tempo estimado de 30 minutos e futuramente quando este dente "cair" ele deverá ser voluntariamente doado para continuar a pesquisa."

Com relação a esses trechos, solicita-se adequação:
6.1. Compreende-se pelo trecho que após o processamento e aquisição dos resultados, as pesquisadoras manterão o material biológico almejando realizar análises futuras. O armazenamento de material biológico para o estudo caracteriza formação de biorrepositório. Dessa forma, documentos para adequação à Resolução CNS 441/2011, Portaria MS 2.201/11 e Norma Operacional CNS 001/2013 deverão ser apresentados. Ou, se for o caso, apresentar declaração informando a destruição das amostras ao final do estudo. Tal informação deverá constar também no TCLE.

6.2. Solicita-se esclarecer se irá executar análises distintas daquela do protocolo vigente em um futuro estudo, se sim incluir no texto do projeto a descrição destas para análise - com atenção para – Características dos bancos de material biológico utilizados em pesquisa.

6.3. Os termos "doador", "doar", "doação" devem ser substituídos pelos termos "cessão", "ceder" e "cedente", visto que a propriedade do material biológico é sempre do participante de pesquisa.

6.4. Assegurar acesso ao resultado dessa etapa;

6.5. Detalhar melhor (tempo posterior; coleta e etc).
RESPOSTA: "A etapa de Coleta de dentes decíduos após a esfoliação foi excluída do projeto de pesquisa. Projeto: página 5 parágrafo 2, página 16 parágrafo 10; TCLE: página 1 parágrafo 3;"

ANÁLISE: Foi apresentado "4.6. Alocação aleatória dos participantes Após o processo de triagem, pelos critérios de inclusão e exclusão, os pacientes selecionados serão distribuídos aleatoriamente em quatro grupos: (G1) diamino fluoreto de prata a 30%; (G2) diamino fluoreto de prata a 38%; (G3) Clorexidina 2% e (G4) grupo controle." E ainda: "Etapa 2 – Tratamento restaurador com coletas prévias de dentina cariada O procedimento clínico de tratamento restaurador e as avaliações clínicas e radiográficas serão realizadas exclusivamente pela pesquisadora responsável. O dente será isolado, o preparo cavitário será feito usando broca esférica n ° 4 estéril com turbina de baixa rotação. Amostras de dentina serão coletadas por duas brocas estéreis esféricas de baixa rotação n ° 4, durante o preparo cavitário. Antes da coleta, as brocas serão umedecidas em meio de transporte reduzido (RTF) para facilitar a impregnação da dentina na broca. Para G1: No primeiro grupo experimental Ag (NH3) 2F a 30% para limpeza cavitária sera aplicado, Para G2: no segundo

grupo experimental sera aplicado Ag (NH₃) 2F a 38% para limpeza cavitária, Para G3: no terceiro grupo experimental CHX a 2% sera aplicada, Para G4: o quarto grupo (G4) será o controle e não será usado agente de limpeza de cavidade. Antes do selamento, novas amostras de dentina serão coletadas por duas brocas estéreis esféricas de baixa rotação n ° 4. Os grupos receberão o sistema adesivo convencional e serão manipulados conforme as instruções do fabricante. O sistema adesivo que será empregado neste estudo será o de tres passos, condicionamento ácido total a 37%, primer e adesivo Scotchbond Multi Purpose 3M/ESPE (Mineápolis, Minnesota, USA) e a resina composta nanoparticulada Filtek Z350 XT 3M ESPE cor A2D da mesma procedência. Um fotopolimerizador de luz halógena com 600 mW/cm² de potência será utilizado.".

PENDÊNCIA ATENDIDA

7. No TALE - "Queremos saber a capacidade do cariostático na diminuição de bactérias, quando comparado à clorexidina, em dentes de leite", como se trata de menores de idade deverá ser apresentado o TALE Termo de Assentimento Livre e esclarecido, semelhante ao TCLE com linguagem adequada a idade dos participantes. Apresentar com linguagem acessível e adequada a idade do convidado conforme item II.24 - Termo de Assentimento – documento elaborado em linguagem acessível para os menores ou para os legalmente incapazes, por meio do qual, após os participantes da pesquisa serem devidamente esclarecidos, explicitarão sua anuência em participar da pesquisa, sem prejuízo do consentimento de seus responsáveis legais." da Resolução CNS466/2012. Numerar páginas TALE (ex: Página 1 de 2), para manter integridade do documento. 7.1. Uniformizar a idade das crianças (7 a 11 ou 7 a 10 anos) nos diversos documentos.

RESPOSTA: "O TALE foi alterado e encontra-se com linguagem acessível e adequada a idade do convidado na página 1 parágrafo 2; as páginas foram numeradas no novo TALE; as idades foram uniformizadas no TALE página 1 parágrafo 3 e no projeto na página 15 parágrafo 12."

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA

8. Quanto ao TCLE solicita-se:

8.1. Informar que não há restrição de horário para contato com o pesquisador.
8.2. Na eventualidade do TCLE apresentar mais de uma página, o participante da pesquisa ou responsável e o pesquisador responsável deverão rubricar todas as folhas do TCLE apondo sua assinatura na última página do mesmo. Sugerimos que campos para rubrica sejam criados em cada folha do documento.
RESPOSTA: "Quanto ao TCLE foi acrescentado que não há restrição de horário para contato com o pesquisador na página 2 parágrafo 1; as páginas foram numeradas e espaço para rubricas foram criados no novo TCLE".

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA

9. Rever os critérios de exclusão. Para o participante de pesquisa ser excluído, ele deverá ter sido primeiramente incluído. No seu caso, não seria melhor não incluir?

RESPOSTA: "Os critérios de exclusão foram revistos. Projeto: página 15 parágrafo 13."

ANÁLISE: "Critérios de inclusão: Pacientes que apresentem pelo menos uma lesão cariada em molar decíduo classe I (oclusal) com lesões cariosas ativas localizadas no terço externo da dentina, sem doença pulpar ou periodontal; Ambos os sexos; Faixa etária: de 7 a 11 anos; Critérios de Exclusão: Aquelas crianças cujos pais não consentirem em participar do estudo (ausência de TCLE); Crianças que apresentarem algum tipo de comprometimento sistêmico e/ou necessidades especiais ao longo do tratamento."

PENDÊNCIA ATENDIDA

Todas as pendências foram atendidas.

Não há óbices éticos para a realização do presente projeto.

Considerações Finais a critério do CEP:

Conforme a Resolução CNS 466/2012, itens X.1.- 3.b. e XI.2.d, os pesquisadores responsáveis deverão apresentar relatórios parcial semestral e final do projeto de pesquisa, contados a partir da data de aprovação do protocolo de pesquisa.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_1124591.pdf	01/09/2018 18:30:02		Aceito
Outros	Carta_resposta.docx	01/09/2018 18:29:32	ERICA TORRES DE ALMEIDA	Aceito

Orçamento	ORCAMENTO_FINANCEIRO.docx	01/09/2018 18:14:12	ERICA TORRES DE ALMEIDA	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA_DE_ATIVIDADES.docx	01/09/2018 18:13:58	ERICA TORRES DE ALMEIDA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	01/09/2018 18:13:42	ERICA TORRES DE ALMEIDA PIOVESAN	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TALE.docx	01/09/2018 18:13:27	ERICA TORRES DE ALMEIDA PIOVESAN	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Erica_Piovesan.docx	01/09/2018 18:13:08	ERICA TORRES DE ALMEIDA PIOVESAN	Aceito

Folha de Rosto	Nova_Folha_de_rosto.pdf	16/07/2018 16:09:37	ERICA TORRES DE ALMEIDA	Aceito
Outros	TermoRespCompromPesq.doc	14/07/2018 22:33:06	ERICA TORRES DE ALMEIDA	Aceito
Outros	cartaencaminhprojeto.docx	14/07/2018 22:32:44	ERICA TORRES DE ALMEIDA	Aceito
Outros	Curriculo_Lattes_Erica_Torres_Piovesa n.pdf	14/07/2018 22:26:34	ERICA TORRES DE ALMEIDA	Aceito
Outros	Curriculo_Lattes_Naile_Dame_Teixeira. pdf	14/07/2018 22:26:17	ERICA TORRES DE ALMEIDA	Aceito
Outros	Curriculo_Lattes_Ana_Cristina_Barreto_ Bezerra.pdf	14/07/2018 22:24:29	ERICA TORRES DE ALMEIDA	Aceito
Outros	Termo_de_responsabilidade.pdf	09/07/2018 16:31:31	ERICA TORRES DE ALMEIDA	Aceito
Outros	Carta_de_encaminhamento.pdf	09/07/2018 16:30:33	ERICA TORRES DE ALMEIDA	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	TERMO_INSTITUCIONAL.pdf	20/06/2018 09:03:20	ERICA TORRES DE ALMEIDA PIOVESAN	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BRASILIA, 21 de Setembro de 2018

**Assinado por:
Marie Togashi (Coordenador(a))**

ANEXO II – Cadastro no ReBEC Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos

05/05/2019 Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos



PROFESSOR ASSOCIADO

USUÁRIO: SENHA:

[ENTRAR](#) [Esqueceu a senha?](#) [Registrar-se](#)

[PT](#) | [ES](#) | [EN](#)

[NOTÍCIAS](#) | [SOBRE](#) | [AJUDA](#) | [CONTATO](#) [Buscar ensaios](#)

[BUSCA AVANÇADA](#)

[HOME](#) / [ENSAIOS REGISTRADOS](#) /

RBR-3kjjc4

Comparação entre a Clorexidina e o Diamino Fluoreto de Prata para limpeza cavitária

Data de registro: 23 de Set. de 2018 às 12:10
Last Update: 16 de Out. de 2018 às 13:45

Tipo do estudo:
Intervenções

Titulo científico:

<p style="text-align: right;">PT-BR</p> Comparação entre a Clorexidina e o Diamino Fluoreto de Prata para limpeza cavitária	<p style="text-align: right;">EN</p> Comparison between Chlorhexidine and Silver Diamine Fluoride for cavity cleaning
---	---

Identificação do ensaio
Número do UTN: U1111-1220-9223

Titulo público:

<p style="text-align: right;">PT-BR</p> Comparação entre dois agentes de limpeza cavitária	<p style="text-align: right;">EN</p> Comparison between two cavity cleaning agents
--	--

Acrônimo científico:

Acrônimo público:

Identificadores secundários:
2.908.551
Órgão emissor: Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília

93852718.3.0000.0030
Órgão emissor: Plataforma Brasil

Patrocinadores
Patrocinador primário: Universidade de Brasília

Patrocinadores secundários:
Instituição: Universidade de Brasília

Fontes de apoio financeiro ou material:
Instituição: Universidade de Brasília

Condições de saúde

www.ensaiosclinicos.gov.br/rg/RBR-3kjjc4/1/4

05/05/2019

Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos

Condições de saúde ou problemas:

Cárie Dentária	PT-BR	Dental caries	EN
----------------	-------	---------------	----

Descritores gerais para as condições de saúde:

Z00-Z99: XXI - Fatores que influenciam o estado de saúde e o contato com os serviços de saúde	PT-BR	Z00-Z99: XXI - Factors influencing health status and contact with health services	EN
---	-------	---	----

Descritores específicos para as condições de saúde:

K02: Cárie dentária	PT-BR	K02: Caries dental	ES	K02: Dental caries	EN
---------------------	-------	--------------------	----	--------------------	----

Intervenções

Categorias das intervenções

Drug

Intervenções:

Group 1: 10 Restaurações em resina composta usando a Clorexidina como agente de limpeza cavitária; Group 2: 20 Restaurações em resina composta usando o Diamino Fluoreto de Prata como agente de limpeza cavitária; Group 3: 10 Restaurações em resina composta sem agente de limpeza cavitária.	PT-BR	Group 1: 10 Restorations in resin composite using Chlorhexidine as a cavity cleaning agent; Group 2: 20 Restorations in resin composite using Silver Diamine Fluoride as a cavity cleaning agent; Group 3: 10 Restorations in resin composite without a cavity cleaning agent.	EN
--	-------	--	----

Descritores para as intervenções:

E06.323.428: Restauração Dentária Permanente	PT-BR	E06.323.428: Restauración Dental Permanente	ES
--	-------	---	----

Recrutamento

Situação de recrutamento: Recruitment completed

Pais de recrutamento

Brazil

Data prevista do primeiro recrutamento: 2018-09-21

Data prevista do último recrutamento: 2018-09-28

Tamanho da amostra alvo:	Gênero para inclusão:	Idade mínima para inclusão:	Idade máxima para inclusão:
40	-	7 Y	11 Y

Crítérios de inclusão:

05/05/2019

Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos

<p>PT-BR</p> <p>Pacientes que apresentem pelo menos uma lesão cariosa em molar decídua classe I (occlusal) com lesões cariosas ativas localizadas no terço externo da dentina, sem doença pulpar ou periodontal; Ambos os sexos; Faixa etária: de 7 a 11 anos.</p>	<p>EN</p> <p>Patients who present at least one carious lesion (occlusal) in deciduous molar with active carious lesions located in the external third of the dentin, without pulpal or periodontal disease; Both sexes; Age range: 7 to 11 years.</p>
---	--

Critérios de exclusão:

<p>PT-BR</p> <p>Aquelas crianças cujos pais não consentirem em participar do estudo (ausência de TCLE); Crianças que apresentarem algum tipo de comprometimento sistêmico e/ou necessidades especiais ao longo do tratamento;</p>	<p>EN</p> <p>Those children whose parents did not consent to participate in the study (absence of EDC); Children who present some type of systemic impairment and / or special needs throughout the treatment;</p>
--	---

Tipo do estudo

Desenho do estudo:

<p>PT-BR</p> <p>Ensaio clínico de tratamento, randomizado-controlado, paralelo, duplo-cego, com 3 braços.</p>	<p>EN</p> <p>Clinical trial of treatment, randomized-controlled, parallel, double-blind, 3-arm.</p>
--	--

Programa de acesso expandido	Enfoque do estudo	Desenho da intervenção	Número de braços	Tipo de mascaramento	Tipo de alocação	Fase do estudo
False	Treatment	Parallel	3	Double-blind	Randomized-controlled	N/A

Desfechos

Desfechos primários:

<p>PT-BR</p> <p>Desfecho primário: diminuição da contagem bacteriana (UFC) em dentina cariada após a aplicação dos diferentes agentes de limpeza cavitária.</p>	<p>EN</p> <p>Primary outcome: reduction of bacterial count (CFU) in carious dentin after application of different cavity cleaning agents.</p>
--	--

Desfechos secundários:

<p>PT-BR</p> <p>Não são esperados desfechos secundários.</p>	<p>EN</p> <p>Secondary outcomes are not expected</p>
---	---

Contatos

Contatos para questões públicas

Nome completo: Erica Torres de Almeida Piovesan

Endereço: SQN 204 bl H apt 107

Cidade: ASA NORTE / Brazil
CEP: 70842-080
Fone: +5561991197061
E-mail: ericatorresa@hotmail.com
Filiação: Universidade de Brasília

Contatos para questões científicas

Nome completo: Erica Torres de Almeida Piovesan
Endereço: SQN 204 bl H apt 107
Cidade: ASA NORTE / Brazil
CEP: 70842-080
Fone: +5561991197061
E-mail: ericatorresa@hotmail.com
Filiação: Universidade de Brasília

Contatos para informação sobre os centros de pesquisa

Nome completo: Erica Torres de Almeida Piovesan
Endereço: SQN 204 bl H apt 107
Cidade: ASA NORTE / Brazil
CEP: 70842-080
Fone: +5561991197061
E-mail: ericatorresa@hotmail.com
Filiação: Universidade de Brasília

Links adicionais:

[Download no formato ICTRP](#)

[Download no formato XML OpenTrials](#)



Universidade de Brasília

Faculdade de Ciências da Saúde

TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TALE)

Você está sendo convidado a participar da pesquisa “COMPARAÇÃO ENTRE A CLOREXIDINA E O DIAMINO FLUORETO DE PRATA PARA LIMPEZA CAVITÁRIA”, conduzida por Érica Torres de Almeida Piovesan, telefone: (61) 99119-7061, disponível inclusive para ligação a cobrar. Seus pais permitiram que você participe.

Queremos saber qual o melhor produto para diminuir as bactérias no seu dente que está com cárie.

Você só precisa participar da pesquisa se quiser, é um direito seu e não terá nenhum problema se desistir. As crianças que irão participar desta pesquisa têm de 7 a 10 anos de idade.

Sua participação nesta pesquisa consistirá em comparecer à clínica de odontopediatria do HUB nos dias marcados para que os dentes cariados sejam restaurados e para reavaliação.

Os exames e o tratamento são considerados seguros.

Ninguém saberá que você está participando da pesquisa; não falaremos a outras pessoas, nem daremos a estranhos as informações que você nos der. Os resultados da pesquisa serão divulgados na **Faculdade de Saúde da Universidade de Brasília (UnB)** podendo ser publicados posteriormente. Os dados e materiais serão utilizados somente para esta pesquisa e ficarão sob os cuidados da pesquisadora por um período de cinco anos, após isso serão jogados fora, mas sem identificar as crianças que participaram.

Todas as despesas que você e seus pais tiverem relacionadas diretamente ao projeto de pesquisa (tais como, passagem para o local da pesquisa, alimentação no local da pesquisa ou exames para realização da pesquisa) serão cobertas pelo pesquisador responsável. Caso haja algum dano direto ou indireto decorrente de sua participação na pesquisa, você poderá ser indenizado, obedecendo-se as disposições legais vigentes no Brasil.



Universidade de Brasília

Faculdade de Ciências da Saúde

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências da Saúde (CEP/FS) da Universidade de Brasília. O CEP é composto por profissionais de diferentes áreas cuja função é defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos. As dúvidas com relação à assinatura do TALE ou os seus direitos podem ser esclarecidos pelo telefone (61) 3107-1947 ou pelo e-mail cepfs@unb.br ou cepfsunb@gmail.com, horário de atendimento de 10:00hs às 12:00hs e de 13:30hs às 15:30hs, de segunda a sexta-feira. O CEP/FS se localiza na Faculdade de Ciências da Saúde, Campus Universitário Darcy Ribeiro, Universidade de Brasília, Asa Norte.

Caso concorde em participar, pedimos que assine este documento que foi elaborado em duas vias, uma ficará com a pesquisadora responsável e a outra você.

Nome da criança: _____

Nome / assinatura da criança

Brasília, ____ de _____ de _____.



Convidamos seu filho (a) a participar voluntariamente do projeto de pesquisa: COMPARAÇÃO ENTRE A CLOREXIDINA E O DIAMINO FLUORETO DE PRATA PARA LIMPEZA CAVITÁRIA, conduzida por Érica Torres de Almeida Piovesan. Este estudo tem por objetivo avaliar o efeito de dois materiais nos dentes de leite.

O(a) senhor(a) receberá todos os esclarecimentos necessários antes e no decorrer da pesquisa e lhe asseguramos que o nome do seu filho (a) não aparecerá sendo mantido o mais rigoroso sigilo pela omissão total de quaisquer informações que permitam identificá-lo(a).

A participação dele (a) nesta pesquisa consistirá em comparecer à clínica de odontopediatria do HUB nos dias marcados para que os dentes cariados sejam restaurados com tempo estimado de 30 minutos e retornar para avaliação da restauração.

Os riscos decorrentes da participação na pesquisa são: Se o produto for aplicado acidentalmente sobre a pele ou a gengiva, pode aparecer uma mancha marrom ou branca que não causará danos e desaparecerá de uma a três semanas. Os benefícios tratam-se da cessação da dor e recuperação da forma do dente e saúde da boca do seu filho (a).

O(a) Senhor(a) pode se recusar a responder (ou participar de qualquer procedimento) qualquer questão que lhe traga constrangimento, podendo desistir de participar da pesquisa em qualquer momento sem nenhum prejuízo para o(a) senhor(a). Sua participação é voluntária, isto é, não há pagamento por sua colaboração.

Todas as despesas que o(a) senhor(a) e seu filho (a) tiverem relacionadas diretamente ao projeto de pesquisa (tais como, passagem para o local da pesquisa, alimentação no local da pesquisa ou exames para realização da pesquisa) serão cobertas pelo pesquisador responsável.

Caso haja algum dano direto ou indireto decorrente de sua participação na pesquisa, o(a) senhor(a) deverá buscar ser indenizado, obedecendo-se as disposições legais vigentes no Brasil.

Os resultados da pesquisa serão divulgados na Faculdade de Ciências da Saúde podendo ser publicados posteriormente. Os dados e materiais serão utilizados somente para esta pesquisa e ficarão sob a guarda do pesquisador por um período de cinco anos, após isso serão destruídos.

Se o(a) Senhor(a) tiver qualquer dúvida em relação à pesquisa, por favor telefone para: Érica Torres de Almeida Piovesan, telefone: (61) 99119-7061, em qualquer horário, disponível inclusive para ligação a cobrar. E-mail: ericatorresa@hotmail.com

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências da Saúde (CEP/FS) da Universidade de Brasília. O CEP é composto por profissionais de diferentes áreas cuja função é defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos. As dúvidas com relação à assinatura do TCLE ou os direitos do participante da pesquisa podem ser esclarecidos pelo telefone (61) 3107-1947 ou do e-mail cepfs@unb.br ou cepfsunb@gmail.com, horário de atendimento de 10:00hs às 12:00hs e de 13:30hs às 15:30hs, de segunda a sexta-feira. O CEP/FS se localiza na Faculdade de Ciências da Saúde, Campus Universitário Darcy Ribeiro, Universidade de Brasília, Asa Norte.

Caso concorde que seu filho (a) participe, pedimos que assine este documento que foi elaborado em duas vias, uma ficará com o pesquisador responsável e a outra com o(a) Senhor(a).

Brasília, ____ de _____ de _____.

Nome da criança: _____

Nome / assinatura do responsável legal

Érica Torres de Almeida Piovesan

PRESS RELEASE

O diamino fluoreto de prata (SDF), também conhecido como cariostático, é uma opção atrativa para o controle da cárie em pré-escolares, pois a sua aplicação é simples, rápida e tem baixo custo. Vários estudos clínicos mostram que o SDF promove a paralisação de lesões de cárie. De forma complementar, pesquisas têm sido realizadas com o objetivo de investigar novos protocolos clínicos de aplicação que sejam efetivos do ponto de vista terapêutico e preventivo. Entretanto, as lesões paralisadas após a aplicação do SDF tornam-se enegrecidas, o que poderia diminuir a aceitação desse tratamento por parte dos pais. Alguns estudos descreveram uma estratégia para auxiliar cirurgiões-dentistas a obter, de forma eficiente, a melhor evidência disponível sobre o tema. Uma associação entre o diamino fluoreto de prata e o iodeto de potássio (KI) vem sendo comercializada.

O diamino fluoreto de prata também é essencial para os cirurgiões-dentistas que praticam Odontologia Minimamente Invasiva (MID) por proporcionar melhores condições para a dentina e poder ajudar na preservação do dente.