



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

ERNANDA MARIA DE ARAÚJO SALES

**MANEJO CONSERVATIVO E MICROBIOTA ASSOCIADA À CÁRIE
DENTINÁRIA EM DENTES PERMANENTES**

FORTALEZA

2022

ERNANDA MARIA DE ARAÚJO SALES

MANEJO CONSERVATIVO E MICROBIOTA ASSOCIADA À CÁRIE DENTINÁRIA
EM DENTES PERMANENTES

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Odontologia. Área de concentração: Clínica Odontológica.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Lidiany Karla Azevedo Rodrigues Gerage.

FORTALEZA

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S155m Sales, Ernanda Maria de Araújo.
Manejo conservativo e microbiota associada à cárie dentinária em dentes permanentes / Ernanda Maria de Araújo Sales. – 2022.
92 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Fortaleza, 2022.
Orientação: Profa. Dra. Lidiany Karla Azevedo Rodrigues Gerage.

1. restauração dentária permanente. 2. cárie dentária. 3. microbiota. 4. dentina. 5. lactobacillus. I.
Título.

CDD 617.6

ERNANDA MARIA DE ARAÚJO SALES

MANEJO CONSERVATIVO E MICROBIOTA ASSOCIADA À CÁRIE DENTINÁRIA
EM DENTES PERMANENTES

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Odontologia. Área de concentração: Clínica Odontológica.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Lidiany Karla Azevedo Rodrigues Gerage.

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dra. Lidiany Karla Azevedo Rodrigues Gerage (Orientadora)

Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^ª. Dra. Vanara Florêncio Passos

Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^ª. Dra. Ramille Araújo Lima

Centro Universitário Christus (Unichristus)

Prof^ª. Dra. Daniela da Silva Bezerra

Centro Universitário Christus (Unichristus)

Prof. Dr. Francisco Wilker Mustafa Gomes Muniz

Universidade Federal de Pelotas (UFPel)

Dedico esse trabalho, primeiramente a **Deus**, por guiar e abençoar meus passos em todos os momentos, por me permitir sonhar e lutar para realizar.

Aos meus pais, **Francisco Ernando Sales** e **Maria Ferreira de Araújo Sales** por todo amor e dedicação para que eu pudesse conquistar meus sonhos e objetivos.

Ao meu irmão, **Antônio Lucas de Araújo Sales** e minha avó, **Maria Araújo Lima** por todo amor e torcida pela minha felicidade.

Ao meu marido, **Jefferson Wisner Souza de Oliveira** por ser meu grande parceiro e maior incentivador estando ao meu lado em todos os momentos.

Amo vocês imensamente!

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Agradeço, primeiramente à **Deus**, pois tudo só foi possível graças às bênçãos derramadas por ele e toda a força que a fé me possibilitou para não desistir de alcançar esse sonho que muitas vezes parecia tão difícil.

A minha família, meus pais **Francisco Ernando Sales e Maria Ferreira de Araújo Sales**, meu irmão **Antônio Lucas de Araújo Sales**, minha avó **Maria Araújo Lima**, pois o amor de vocês e a torcida pela minha felicidade sempre estiveram presentes, sendo um grande incentivo para que eu possa continuar sempre lutando para a realização dos meus sonhos. Em especial, ressalto **meus pais** que são um grande exemplo de dedicação, simplicidade e luta, vocês são fonte de inspiração para mim e tenho muito orgulho de tê-los como pais. Agradeço também, **Luzia Carvalho da Silva**, que está junto da nossa família desde a minha infância e torce muito pela minha felicidade. Meu amor e gratidão por vocês é imenso.

Ao meu marido, **Jefferson Wisner Souza de Oliveira**, pois é o meu maior incentivador, que acredita em mim mais do que eu mesma, você foi fonte de força para que eu pudesse continuar mesmo nos momentos mais difíceis, sempre estive ao meu lado com muito carinho, amor e cuidado. Você é um ser humano raro e eu sou muito agraciada por Deus por ter você para partilhar a vida comigo. Obrigada por tudo. Te amo!

A minha Orientadora, **Dra. Lidiany Karla Azevedo Rodrigues Gerage**, por toda orientação e ajuda durante esses 7 anos de orientação (mestrado e doutorado). Tenho certeza que Deus providenciou para que eu tivesse a sra. como orientadora, e sou extremamente grata por isso. Pois, muito além de uma professora, encontrei uma amiga que sempre demonstrou muito carinho e torcida pela minha felicidade e por minhas conquistas. Prof^ª. Lidy você é uma inspiração para mim como docente e como pessoa, e possui uma das características mais belas que eu admiro nas pessoas, que é a humildade. Obrigada por tudo!

Aos professores que compõem a banca examinadora, **Dra. Ramille Araújo Lima, Dra. Daniela da Silva Bezerra, Dra. Vanara Florêncio Passos e Dr. Francisco Wilker Mustafa Gomes Muniz**, pela disponibilidade em participar da banca avaliadora desta defesa. Agradeço, antecipadamente, as valiosas contribuições para o trabalho. Além disso, agradeço especialmente, ao Dr. Wilker Mustafa por toda ajuda e disponibilidade durante a realização desse trabalho.

A amiga, **Myrna Maria Arcanjo Frota Barros**, você é um grande presente que o doutorado me proporcionou e sem você nada teria sido possível. Muito obrigada por mesmo em momentos tão difíceis que se apresentaram no decorrer da execução da pesquisa, você estar sempre ao meu lado, encorajando, e enfrentando desafios para que hoje isso fosse possível. Amo você e sua amizade.

Ao amigo, **Pedro Henrique Acioly Guedes Peixoto Vieira**, muito obrigada por toda ajuda na realização da pesquisa e, principalmente, na vida. Você sabe que é muito especial para mim e sou muito grata por estar sempre ao meu lado, por torcer muito pelo meu sucesso e felicidade e por me incentivar tanto. Você tem um lugar muito especial no meu coração e sou muito grata por ter sua amizade. Amo você amigo!

Ao amigo, **Francisco Ruliglésio Rocha**, por toda a ajuda e disponibilidade em ajudar durante a execução da pesquisa. Você foi essencial para que eu conseguisse concluir esse projeto e o admiro muito por ser uma pessoa tão disposta a ajudar e repassar seus conhecimentos de forma tão solícita. Muito Obrigada!

As amigas, **Wanessa Fernandes Matias Régis, Beatriz Gonçalves Neves e Maria Tayara Marques de Freitas**, por toda ajuda e apoio durante a realização dos experimentos. Vocês foram essenciais e sou muito grata por tudo.

Ao amigo, **Mateus Soares de Araújo**, por toda ajuda durante os atendimentos dos pacientes do ensaio clínico e apoio sempre que precisei. E, ao aluno de iniciação científica, **Vitor Bueno**, por toda ajuda nos experimentos laboratoriais.

Aos amigos especiais que a odontologia me proporcionou, **Vilana Maria Adriano Araújo, Mariana Canuto Melo de Sousa Lopes, Larice Kércia Braz Monteiro, Flávia Jucá Alencar e Silva, Mariana Vasconcelos Guimarães Bernardino, Luciana Maria Arcanjo Frota, Talita Arrais Daniel Mendes e Raul Anderson Domingues Alves da Silva** que acompanharam mais de perto as dificuldades para concluir essa fase e sempre estiveram torcendo e me incentivando a continuar.

Agradeço também, **Maria Rosângela de Souza Bezerra, Débora Viana Lourenço, Jean Michel Assis de Oliveira, Lara Gonçalves de Oliveira Pinheiro, Francisco Luciano Vieira Filho e Renata Vieira de Carvalho e Carla Santos Lima** pelo carinho, força e incentivo, vocês são muito especiais.

A todos os meus familiares e amigos, que estiveram ao meu lado torcendo para que eu conseguisse concluir essa etapa e compreendendo minha ausência em muitos momentos. Obrigada pelo carinho e pela força.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Ceará (UFC), na pessoa do seu Magnífico Reitor, **Prof. Dr. José Cândido Lustosa Bittencourt de Albuquerque** e ao vice-reitor, **Prof. Dr. José Glauco Lobo Filho**.

À Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará, na pessoa da sua diretora, **Profª. Dra. Lidiany Karla Azevedo Rodrigues Gerage**, e sua vice-diretora, **Profª. Dra. Ana Karina Bezerra Pinheiro**.

Ao Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará, **Prof. Dr. Vicente de Paulo Aragão Saboia**, e seu vice-coordenador, **Fábio Wildson Gurgel Costa**.

À Coordenadora do Curso de Odontologia da Universidade Federal do Ceará, **Profª. Dra. Thyciana Rodrigues Ribeiro**, e seu vice-coordenador, **Prof. Dr. Rômulo Rocha Régis**.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)**, pelo apoio financeiro com a manutenção da bolsa de auxílio, número do processo: 88882.454904/2019-01.

A todos os docentes do **Programa de Pós-Graduação em Odontologia**, por toda dedicação e por todo conhecimento compartilhado.

A todos os servidores técnico-administrativos e funcionários que fazem parte do curso de Odontologia da Universidade Federal do Ceará, bem como aos secretários do Programa de Pós Graduação, **Rafael Maia Reis** e **Joana Karla de Assis Pinheiro**, por toda dedicação e disponibilidade para ajudar.

À ex-funcionária da Clínica de Dentística da UFC, **Marta Ferreira da Silva** e à atual **Cirlene Bessa**, por toda ajuda e suporte durante a realização dos atendimentos clínicos.

Aos técnicos do laboratório de Pesquisa e de Microbiologia do PPGO-UFC, **Manuel Florindo Júnior** e, em especial, **Antônia Karine Barros Nojosa**, por toda ajuda durante a realização dos experimentos.

A todos que compõem essa instituição e contribuíram direta ou indiretamente para a conclusão deste trabalho, os meus sinceros agradecimentos.

“É justo que muito custe o que muito vale”

Santa Tereza D'Ávila

RESUMO

A progressão de lesões cariosas acarreta a colonização do tecido dentinário por microrganismos envolvidos com a doença cárie. Embora alguns microrganismos como *S. mutans* e lactobacilos tenham sido consistentemente encontrados em tais lesões, a presença de outros microrganismos, bem como suas interações ainda não foram completamente elucidadas. A erradicação completa de microrganismos do tecido dentinário durante o preparo cavitário não é necessária para a paralisação da lesão, haja vista que a força motriz da progressão da lesão é decorrente de processos metabólicos do biofilme na presença de carboidratos fermentáveis. A presente tese, é composta por dois capítulos e teve como objetivos: apresentar os achados de um ensaio clínico randomizado e controlado que avaliou a eficácia clínica da remoção seletiva do tecido cariado (RSTC) em dentes permanentes em relação à manutenção da sensibilidade pulpar e qualidade de restaurações (Capítulo 1). Além disso, analisar através de identificação molecular, presença/ausência de microrganismos potencialmente cariogênicos em amostras de dentina cariada de lesões moderadas e profundas (Capítulo 2). No primeiro estudo, foram restaurados 74 dentes com lesões cariosas com envolvimento de no mínimo 2/3 da dentina, dessa forma, incluindo lesões no terço médio (D2) e no terço interno da dentina (D3). Para a realização dos procedimentos restauradores foi utilizada RSTC ou remoção não seletiva (RNSTC). A perda de sensibilidade pulpar ocorreu em apenas três dentes, um submetido à RSTC e dois à RNSTC, sendo nos seis meses iniciais. Ainda, aos 12 e 18 meses nenhuma falha adicional associada à perda da sensibilidade pulpar foi observada. Não houve diferenças significativas entre os grupos experimentais quanto à ocorrência do desfecho. A análise da qualidade das restaurações utilizando os critérios de Propriedade Funcional da *World Dental Federation* demonstrou sucesso, haja vista que nenhuma restauração analisada apresentou falha até os 18 meses. Dessa forma, a RSTC demonstrou ser um tratamento menos invasivo, seguro e igualmente eficaz quando comparada à RNSTC. Na identificação molecular de microrganismos presentes em 47 amostras de lesões dentinárias moderadas (D2) e profundas (D3), foi observada a presença dos gêneros *Streptococcus spp.*, *Lactobacillus spp.* e *Bifidobacterium spp.* em 95,7%, 93,6% e 93,6% das amostras avaliadas, respectivamente. Além disso, altas taxas de ocorrência para *L. casei* grupo (85,1%), *L. rhamnosus* (80,9%) e *L. acidophilus* (68,1%) foram observadas. Ainda, *L. paracasei* esteve presente em 59,6% das amostras. Em contrapartida, *S. mutans* estava ausente na maioria das lesões (66%). Para a profundidade das cavidades, somente houve diferença para a espécie *L. rhamnosus* ($p=0,010$) que apresentou mais chance de estar presente em lesões profundas do que em lesões de

profundidade moderada. Dessa forma, sugere-se que os microrganismos analisados podem estar fortemente associados às lesões dentinárias ativas, sejam elas de profundidade moderada ou profundas. No entanto, *S. mutans* pode estar menos presente em lesões cariosas ativas em dentina.

Palavras-chave: restauração dentária permanente; cárie dentária; microbiota; dentina; lactobacillus.

ABSTRACT

The progression of carious lesions leads to the colonization of dentinal tissue by microorganisms involved in caries disease. Although some microorganisms with *S. mutans* and *lactobacilli* have been consistently found in such lesions, the presence of other microorganisms, as well as their interactions, have not yet been fully elucidated. The complete eradication of microorganisms from the dentinal tissue during cavity preparation is not necessary to stop the lesion, given that the driving force for the progression of the lesion is due to the metabolic processes of the biofilm in the presence of fermentable carbohydrates. The present thesis is composed of two chapters and aimed to: present the findings found in a randomized and controlled clinical trial that evaluated the clinical efficacy of selective removal of carious tissue (SRCT) in permanent teeth in relation to the maintenance of pulp sensitivity and quality of restorations (Chapter 1). In addition, to analyze through molecular identification, presence/absence of potentially cariogenic microorganisms in samples of carious dentin from moderate and deep lesions (Chapter 2). In the first study, 74 teeth with carious lesions involving at least 2/3 of the dentin were restored using SRCT or non-selective removal of carious tissue (NSRCT). The loss of pulp sensitivity occurred in only three teeth (1 submitted to SRCT and 2 to NSRCT), in the initial six months. Furthermore, at 12 and 18 months no additional failure associated with loss of pulp sensitivity was observed. There were no significant differences between the experimental groups regarding the occurrence of the outcome. The analysis of the quality of the restorations using the Functional Property criteria of the World Dental Federation was successful, given that no restoration analyzed failed up to 18 months. Thus, SRCT proved to be a less invasive, safe and equally effective treatment when compared to NSRCT. In the molecular identification of microorganisms present in 47 samples of moderate and deep dentin lesions, the presence of the *Streptococcus spp.*, *Lactobacillus spp.* and *Bifidobacterium spp.* in 95.7%, 93.6% and 93.6% of the samples evaluated, respectively. Furthermore, high occurrence rates for *L. casei group* (85.1%), *L. rhamnosus* (80.9%) and *L. acidophilus* (68.1%) were observed. Still, *L. paracasei* was present in 59.6% of the samples. In contrast, *S. mutans* was absent in most lesions (66%). For the depth of the cavities, there was only difference for the species *L. rhamnosus* ($p=0.010$), which was more likely to be present in deep injuries than in moderate depth injuries. Thus, it is suggested that the microorganisms analyzed may be strongly associated with active dentinal lesions, whether of moderate or deep depth. However, *S. mutans* may be less present in active carious lesions in dentin.

Keywords: dental restoration, permanent; dental caries; microbiota; dentin; lactobacillus.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	14
2 PROPOSIÇÃO	19
3 CAPÍTULOS	20
3.1 CAPÍTULO 1.....	21
Remoção seletiva de tecido cariado em dentes permanentes: um ensaio clínico randomizado controlado com 18 meses de acompanhamento.	
3.2 CAPÍTULO 2.....	50
Identificação molecular de microrganismos potencialmente cariogênicos em amostras de dentina cariada de dentes permanentes.	
4 CONCLUSÕES GERAIS	70
REFERÊNCIAS GERAIS	71
APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	75
ANEXO A – SEGUIMENTO DO REGIMENTO INTERNO	78
ANEXO B – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ARTIGO 1	79
ANEXO C – REGISTRO BRASILEIRO DE ENSAIOS CLÍNICOS	82
ANEXO D – LISTA DE INFORMAÇÕES CONSORT	86
ANEXO E – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ARTIGO 2	89
ANEXO F – CADASTRO SISGEN	93

1 INTRODUÇÃO GERAL

A cárie dentária é uma doença crônica ainda muito prevalente em indivíduos de todo o mundo, sendo esses suscetíveis a essa doença durante todas as épocas da vida (KALE; KAKODKAR; SHETIYA; ABDULKADER, 2020; KAZEMINIA et al., 2020; SAMPAIO et al., 2021; SIDDIQUI et al., 2021). É uma doença dinâmica, multifatorial, mediada por biofilme, modulada pela dieta e não transmissível (PITTS et al., 2017).

O biofilme dentário é formado por um grande número de espécies de microrganismos (OBATA et al., 2014), sendo a cárie uma doença polimicrobiana (FUNAHASHI et al., 2019), cuja microbiota associada é altamente complexa e ainda não claramente definida (CONRADS; ABOUT, 2018). Os conceitos que definem a relação do biofilme no desenvolvimento da doença passaram por diversas mudanças no decorrer do avanço do conhecimento científico. Inicialmente, a causa da doença cárie era atribuída apenas a microrganismos específicos, caracterizando a hipótese da placa específica (AAS et al., 2008; KIANOUSH et al., 2014). No entanto, foi observado que esses microrganismos não estavam presentes em todos os indivíduos com a doença e, posteriormente, foi atribuído que a causa poderia estar associada à microbiota total que constituía a placa, sendo essa a hipótese da placa não específica (KLEINBERG, 2002; AAS et al., 2008). Atualmente, é aceita a hipótese da placa ecológica, na qual a doença é resultado de uma mudança no equilíbrio da microbiota residente (KIANOUSH et al., 2014), ou seja, ocorre uma interrupção na homeostase entre o microbioma oral e o hospedeiro, gerando uma disbiose (MARSH et al., 2018). Essa condição é decorrente de perturbações no microambiente, resultantes do consumo frequente de carboidratos fermentáveis e/ou redução do fluxo salivar. Quando a sacarose está presente, há um desequilíbrio ainda mais significativo (DU et al., 2020). Essas alterações geram um aumento desproporcional de microrganismos acidogênicos (produtores de ácidos) e acidúricos (toleram bem ambientes de baixo pH) que irão prevalecer e metabolizar açúcares (WEN et al., 2022). A interação biofilme-açúcar desencadeia um desequilíbrio, resultante da redução do pH, que irá culminar com a perda líquida de minerais do tecido duro dental e como consequência ocorre o surgimento das lesões cariosas (PITTS et al., 2017; MACHIULSKIENE et al., 2020).

Tradicionalmente, os microrganismos *Streptococcus mutans* foram associados como responsáveis pela doença cárie. Contudo, outras espécies microbianas também foram isoladas de lesões cariosas e tem sido relacionadas com o processo de doença, como

lactobacilos e bifidobactérias (CONRADS; ABOUT, 2018; SIMÓN-SORO; MIRA, 2015). Ainda, descobertas recentes sobre a microbiota associada à cárie utilizando estratégias moleculares sugerem uma natureza altamente polimicrobiana e variável da etiologia da cárie dentária (MIRA, 2018; LIU et al., 2020). Esforços tem sido realizados para compreensão e conhecimento da microbiota associada à doença, haja vista que é necessário para fornecer base para elaboração de estratégias preventivas, diagnósticas e de tratamento (MIRA, 2018).

Inicialmente, a dissolução de minerais nas lesões cariosas inicia na superfície dentária, no entanto, com a permanência dessa condição de alteração de pH, ocorre a dissolução de minerais da região do esmalte mais profundo, bem como da dentina (WEBER et al., 2018). Em lesões dentinárias, associada à perda mineral, ocorre também a degradação de sua matriz orgânica (TAKAHASHI; NYVAD, 2016), composta principalmente por fibras colágenas tipo I (SLIMANI et al., 2018). Essa degradação decorre da presença de microrganismos que possuem capacidade proteolítica (SIMÓN-SORO et al., 2013), bem como pela ativação de enzimas como metaloproteinases de matriz e cisteínas/catepsinas (TAKAHASHI; NYVAD, 2016). Essas enzimas preexistentes no tecido dentinário permanecem de forma latente, porém no ambiente ácido são ativadas e apresentam capacidade de degradação do colágeno (MAZZONI et al., 2015).

A progressão da doença cárie leva ao aparecimento de lesões mais severas dentinárias, sendo as lesões que comprometem o terço médio (D2) ou terço interno (D3) da dentina, geralmente cavitadas (SCHWENDICKE et al., 2019). As características clínicas das lesões dentinárias podem ser analisadas diante dos critérios quanto à dureza do tecido; quanto à umidade podendo ser úmida ou seca; quanto à cor, pálida/amarela ou marrom escuro/preta sendo critérios importantes na análise de atividade de cárie (SCHWENDICKE; FRENCKEN; INNES et al., 2018). Além disso, embora seja passível de paralisação em todos os estágios, muitas vezes, a cárie não é autolimitada e pode acarretar destruição e perda do elemento dental (SELWITZ; ISMAIL; PITTS, 2007).

A evolução no conhecimento sobre o processo responsável pelo surgimento da doença cárie possibilitou uma mudança de paradigmas sobre como deve ser realizado o manejo das lesões cariosas, haja vista que o risco/susceptibilidade do paciente à doença pode ser controlado através de medidas de controle comportamentais e não apenas intervindo operativamente nas lesões (SCHWENDICKE et al., 2019). Dessa forma, a odontologia atualmente preconiza uma estratégia de mínima intervenção ou odontologia minimamente invasiva, objetivando uma maior preservação da estrutura dentária, manutenção da

sensibilidade pulpar e dos dentes funcionais e saudáveis por toda a vida (DALLI et al., 2012; SCHWENDICKE et al., 2016). Ainda, as abordagens devem ser baseadas na natureza da doença e no seu processo (BARNEJEE; DOMEJEAN, 2013). Para tanto, deverá ser realizado um adequado diagnóstico, avaliação de risco, atividades de prevenção (ERICSON et al., 2007; FRENCKEN et al., 2012; BARNEJEE; DOMEJEAN, 2013) e, quando necessária a abordagem restauradora, a remoção de tecido dentário deverá ser a mínima possível, bem como priorizar-se a realização apenas de reparos, evitando sempre que possível, as substituições de restaurações defeituosas (BARNEJEE; DOMEJEAN, 2013; GREEN; MACKENZIE; BARNEJEE et al., 2015; ASKAR et al., 2020). A entrada no ciclo restaurador deve ser evitada tanto quanto possível (SCHWENDICKE et al., 2016).

Para adequado diagnóstico e classificação de lesões cariosas alguns índices podem ser utilizados, sendo o ICDAS (Sistema Internacional de Detecção e Avaliação de Cárie) bastante utilizado na prática clínica e em pesquisas científicas (PITTS et al., 2021). Esse sistema de detecção de lesões é baseado na inspeção visual de lesões cavitadas e não-cavitadas e utiliza 7 códigos para definição das lesões, sendo o código ICDAS 0 referente a ausência de alterações ou evidências de cárie (esmalte hígido); os códigos 1, 2 e 3 relacionados às lesões em esmalte e 4, 5 e 6 relacionados às lesões em dentina (ISMAIL et al., 2007). No código, 4 são incluídas lesões que apresentam um sombreamento no esmalte causado pela dentina subjacente ; já no 5, são compreendidas lesões com cavitação no esmalte opaco ou pigmentado com visualização de cavidade evidente com dentina subjacente visível, envolvendo menos da metade da superfície do dente; enquanto no 6, são abrangidas lesões com cavidade extensa com dentina visível, envolvendo a metade da superfície do dente ou mais (ISMAIL et al., 2007; DIKMEN, 2015).

Para tratamento de lesões cariosas podem ser utilizadas abordagens não invasivas como: orientação de higiene oral, controle de dieta, uso de fluoretos e outros agentes remineralizantes; abordagens microinvasivas como: selantes e infiltrantes; ou abordagens invasivas, ou seja, restauradoras (SCHWENDICKE et al., 2019). Para lesões dentinárias ICDAS 4/5/6 (SIMANI et al., 2018) que se estendem profundamente para o terço médio ou interno da dentina (D2/D3), comumente são necessárias abordagens restauradoras (SCHWENDICKE et al., 2019). Essas são utilizadas atualmente, objetivando propiciar melhores condições para que haja controle do biofilme, bem como para devolver forma, função e estética satisfatória, além de proteção do complexo dentinopulpar (BARNEJEE; FRENCKEN; SCHWENDICKE; INNES et al., 2017).

Para a realização de procedimentos restauradores, a etapa de remoção de tecido cariado visa criar condições para a realização de uma restauração longa, que permita um adequado selamento da cavidade. No entanto, essa abordagem deve preservar o máximo de estrutura dentária possível, preservando tecido saudável e remineralizável, bem como manter a saúde pulpar (SCHWENDICKE et al., 2016). Ainda, durante essa etapa, considerando lesões profundas o critério de remoção deverá priorizar preservação da saúde pulpar, enquanto em lesões rasas (D1) e moderadas (D2), a longevidade da restauração pode ser preponderante ao considerar a quantidade de tecido que deverá ser removida (SCHWENDICKE et al., 2016; BARNEJEE; FRENCKEN; SCHWENDICKE; INNES et al., 2017).

A etapa de remoção de tecido cariado, tradicionalmente, era caracterizada pela remoção completa de tecido cariado, atualmente, chamada de remoção não seletiva de tecido cariado, independente da profundidade da lesão, visando uma área para retenção do material restaurador e a remoção completa de bactérias. No entanto, essa abordagem não se baseia em evidências, haja vista que mesmo após a escavação considerada total de tecido cariado, ainda permanecem bactérias no tecido dentinário (BITELLO-FIRMINO et al., 2018; DAMÉ-TEIXEIRA et al., 2021). Atualmente, o *International Caries Consensus Collaboration (ICCC)*, com base na evidência científica disponível considera a RNSTC para lesões dentinárias profundas um tratamento excessivo e contraindicado diante dos riscos aumentados de exposição pulpar (INNES et al., 2016; SCHWENDICKE et al., 2016; BITELLO-FIRMINO et al., 2018). Dessa forma, preconizam a RSTC como melhor abordagem de remoção de tecido cariado. Ainda, também foram sugeridas novas nomenclaturas para caracterizar as camadas de dentina cariada que compõem as lesões cariosas, objetivando auxiliar o clínico na tomada de decisão de qual tecido deve ser removido. A classificação anterior apresentada como dentina infectada (que deveria ser removida) e dentina afetada (que deveria ser preservada) não deixava claras as características clínicas desse tecido. Atualmente, os descritores classificam esse substrato como dentina mole, coriácea, firme ou dura (INNES et al., 2016), utilizando critérios de aspectos visuais e táteis, o que facilita a compreensão por parte dos profissionais sobre qual tecido deve ser removido durante a etapa de escavação. A consistência/dureza do tecido cariado deve ser o critério clínico primário utilizado para avaliar a remoção durante o manejo cirúrgico minimamente invasivo das lesões cariosas (BARNEJEE; FRENCKEN; SCHWENDICKE; INNES et al., 2017).

A dentina mole é caracterizada por um tecido que se deforma quando um instrumento rígido é pressionado sobre ela e é facilmente removida; a dentina coriácea

(referente a couro) não se deforma quando um instrumento é pressionado, ela ainda pode ser facilmente removida sem necessidade de muita pressão e se desprende em lascas; a dentina firme é fisicamente resistente à escavação manual e em alguns casos, é necessário exercer pressão através de um instrumento afiado para removê-la; a dentina dura dificilmente é removida com instrumentos manuais, apenas com uma força de impulsão maior ou utilização de instrumentos rotatórios, tem aspecto de dentina sadia (INNES et al., 2016; BARNEJEE; FRENCKEN; SCHWENDICKE; INNES et al., 2017).

Para as abordagens de RSTC, nas paredes circundantes, a escavação é efetuada até a dentina dura como ocorre na RNSTC; no entanto, nas paredes de fundo, a remoção pode ser até a dentina mole ou até a dentina firme dependendo da profundidade da lesão (SCHWENDICKE et al., 2016). Para todas as estratégias de remoção de tecido cariado deve ser realizada remoção não seletiva até a dentina dura nas paredes que circundam a cavidade para propiciar o perfeito selamento adesivo da cavidade (INNES et al., 2016), pois, dessa forma, impede o acesso dos microrganismos remanescentes aos nutrientes e conseqüentemente inviabilizam a progressão da cárie (DAMÉ-TEIXEIRA et al., 2021).

Embora a evidência atual sugira que a estratégia de remoção de tecido cariado deve ser realizada de forma seletiva por demonstrar menor risco de exposição pulpar, maior preservação de tecido dentário e por ser realizada em sessão única, a maioria dos profissionais ainda opta por abordagens mais invasivas (SCHWENDICKE; GÖSTEMEYER, 2016; KAKUDATE et al., 2019; BARROS et al., 2020). Dessa forma, demonstrando que a mudança da conduta dos clínicos é um desafio. Para tanto, é essencial a realização de mais estudos, divulgação por parte das instituições de formação odontológica e o estímulo para mudanças baseadas em evidências para oferecer os melhores cuidados de saúde bucal aos pacientes (BARNEJEE et al., 2017). Diante desse contexto, destaca-se a importância de mais estudos sobre RSTC, haja vista que ainda estão disponíveis na literatura poucos ensaios clínicos. A maioria dos estudos avaliou essa estratégia de remoção apenas em lesões bastante profundas, bem como o principal desfecho considerado foi a sensibilidade pulpar, sendo escassos estudos que analisem a qualidade e eficácia clínica das restaurações (BARROS et al., 2020). Ainda, a maioria dos estudos disponíveis foi realizada em dentes decíduos (AÏEM et al., 2020; PEREIRA et al., 2021; BANI HANI et al., 2021, ELHENNAWY et al., 2021). Além disso, destaca-se a importância do conhecimento da microbiota envolvida na patogênese da doença cárie e dos microrganismos que estão associados ao surgimento e progressão da doença em dentina para propiciar conhecimento sobre o adequado manejo das lesões cariosas.

2 PROPOSIÇÃO

- Avaliar a eficácia clínica de restaurações em resina composta utilizando remoção seletiva de tecido cariado em dentes permanentes com lesões de cárie com comprometimento de no mínimo 2/3 do tecido dentinário, considerando os parâmetros manutenção da sensibilidade pulpar e a qualidade das restaurações, sendo analisadas em acompanhamentos de 12 e 18 meses após a confecção das restaurações.
- Identificar presença/ausência de microrganismos potencialmente cariogênicos que compõem a microbiota de amostras de dentina cariada de lesões ativas em dentes permanentes com diferentes profundidades.

3 CAPÍTULOS

REGIMENTO INTERNO

Esta tese está baseada no Artigo 46 do Regimento Interno do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará (ANEXO A), que regulamenta o formato alternativo para dissertações de Mestrado e teses de Doutorado e permite a inserção de artigos científicos de autoria ou coautoria do candidato. Por se tratar de pesquisa envolvendo seres humanos, o presente estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) via Plataforma Brasil, tendo sido aprovado sob Certificado de Apresentação de Apreciação Ética (CAAE) 54451316.7.0000.5054 e Número de Protocolo 1.610.785 (ANEXO B). Além disso, a pesquisa foi submetida ao Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (ReBEC), tendo como número de identificação U1111-1221-4083 (ANEXO C). Sendo esses associados ao artigo que compõe o capítulo 1. Além disso, para a utilização das amostras de dentina cariada para análises de biologia molecular, o presente estudo foi submetido à apreciação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará, sendo aprovado sob o parecer nº 4.853.444 (ANEXO D). Ainda, a pesquisa foi registrada no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen), sob o número de cadastro A4716A6 (ANEXO E). Dessa forma, esta tese de doutorado é composta por dois capítulos contendo artigos conforme descritos abaixo:

Capítulo 1: Remoção seletiva de tecido cariado em dentes permanentes: um ensaio clínico randomizado controlado com 18 meses de acompanhamento.

Este artigo será submetido à publicação no periódico *Clinical Oral Investigations*.

Capítulo 2: Identificação molecular de microrganismos potencialmente cariogênicos em amostras de dentina cariada de dentes permanentes.

Este artigo será submetido à publicação no periódico *Archives of Oral Biology*.

1. Os artigos que compõem essa tese serão submetidos para publicação em revistas internacionais. Dessa forma, após correções e sugestões da banca, os artigos serão traduzidos para a língua inglesa previamente à submissão.

3.1 CAPÍTULO 1

Título do artigo: Remoção seletiva de tecido cariado em dentes permanentes: um ensaio clínico randomizado controlado com 18 meses de acompanhamento.

Autores:

Ernanda Maria de Araújo SALES

(Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Universidade Federal do Ceará, Rua Alexandre Baraúna, 949, Rodolfo Teófilo, Fortaleza, Ceará, Brasil; ernandasales@yahoo.com.br)

Myrna Maria Arcanjo Frota BARROS

(Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Ceará, Rua Conselheiro José Júlio, Sobral, Ceará, Brasil; myrnaarcanjo@ufc.br)

Pedro Henrique Acioly Guedes Peixoto VIEIRA

(Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Universidade Federal do Ceará, Rua Alexandre Baraúna, 949, Rodolfo Teófilo, Fortaleza, Ceará, Brasil; pedrohenriqueacioly@gmail.com)

Mateus Soares de ARAÚJO

(Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Universidade Federal do Ceará, Rua Alexandre Baraúna, 949, Rodolfo Teófilo, Fortaleza, Ceará, Brasil; mateus.s.araujo5@gmail.com)

Francisco Wilker Mustafa Gomes MUNIZ

(Departamento de Periodontia, Universidade Federal de Pelotas, Rua São Gonçalves Chaves, 457, Centro, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil, wilkermustafa@gmail.com)

Lidiany Karla Azevedo RODRIGUES

(Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Universidade Federal do Ceará, Rua Alexandre Baraúna, 949, Rodolfo Teófilo, Fortaleza, Ceará, Brasil; lidianykarla@ufc.br)

AUTOR PARA CORRESPONDÊNCIA

Lidiany Karla Azevedo Rodrigues, Departamento de Odontologia Restauradora, Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem – Universidade Federal do Ceará, Rua Monsenhor Furtado, S/N, Rodolfo Teófilo, 60430-355, Fortaleza – CE, Brasil. Telefone: (85)33668029; E-mail: lidianykarla@ufc.br.

RESUMO

Objetivo Avaliar a eficácia clínica de restaurações após remoção seletiva de tecido cariado (RSTC) em dentes permanentes. *Materiais e métodos* Foi realizado um estudo clínico randomizado, controlado e cego em 74 dentes, sendo grupo teste e controle respectivamente RSTC e remoção não seletiva de tecido cariado (RNSTC), para lesões com 2/3 da dentina comprometida (D2). Para lesões no 1/3 interno (D3) remoção gradual de tecido cariado (RGTC) foi o grupo controle. Foram analisados os desfechos sensibilidade pulpar e qualidade das restaurações. Análises ajustadas foram realizadas, através de regressão de Poisson com variância robusta, para avaliar o risco relativo (RR) e seu respectivo intervalo de confiança de 95%. Foram acompanhados 62, 50 e 39 dentes em 6, 12 e 18 meses, respectivamente. *Resultados* Para o desfecho da sensibilidade pulpar, foram observadas três falhas em 6 meses de acompanhamento, aos 12 e 18 meses nenhuma falha adicional foi observada, sem diferenças significativas entre os grupos quanto à ocorrência do desfecho. Não foi observada diferença significativa entre os grupos até o período de 18 meses na qualidade das restaurações. Nenhuma restauração apresentou falha pelos critérios avaliados. *Conclusões* RSTC pode ser mais indicada para lesões D3, por minimizar riscos de exposição pulpar e, em lesões D2, devido à preservação dentária sem impacto no desempenho das restaurações.

Relevância clínica: A RSTC é uma estratégia menos invasiva, preserva mais tecido dentário e apresenta resultado satisfatório em relação à preservação de sensibilidade pulpar e qualidade das restaurações.

Palavras-chaves: cárie dentária; dentina; restauração dentária permanente.

INTRODUÇÃO

Tradicionalmente, o manejo das lesões de cárie foi pautado na remoção não seletiva de tecido cariado (RNSTC), anteriormente chamada de remoção completa de tecido cariado [1-3]. Essa técnica consiste na excisão cirúrgica de toda a dentina visivelmente cariada, visando atingir a dentina dura em todas as paredes que compõem a cavidade [4,5]. Além disso, o diagnóstico e tratamento da doença cárie estavam voltados para a presença de lesões, ou seja, baseados apenas nas sequelas da doença. Dessa forma, a conservação de estrutura dentária, sensibilidade pulpar, bem como atenção aos fatores causais da doença não eram uma prioridade [6].

Em lesões de cárie profunda, a técnica de RNSTC apresenta grande risco de exposições pulpares, muitas vezes evoluindo para a necessidade de tratamentos mais invasivos, como o tratamento endodôntico. Além disso, pode fragilizar a estrutura dentária [7], sendo sua utilização considerada um sobretratamento [4]. Diante desse contexto, estratégias mais conservativas de remoção de tecido cariado foram desenvolvidas no decorrer do tempo [1]. Portanto, para esse tipo de lesão, visando a evitar complicações pulpares e propiciando maior preservação de tecido dentário deverá ser preconizada a utilização de procedimentos norteados por conceitos de odontologia de mínima intervenção, como a remoção gradual de tecido cariado (RGTC) em duas etapas ou a remoção seletiva de tecido cariado (RSTC) [8]. Também é importante destacar que esses tratamentos estão indicados em situações em que não haja sinais e sintomas clínicos, bem como radiográficos de comprometimento irreversível da polpa [9].

Na técnica de RGTC em duas etapas, são utilizadas duas visitas para o procedimento de remoção de tecido cariado [10]. Na primeira sessão é deixada dentina cariada sobre as paredes de fundo, seguido de um selamento temporário da cavidade por um período de 1 a 6 meses, com o objetivo de estimular a deposição mineral de dentina antes da escavação final [4, 11]. Em seguida, é realizada uma sessão de reabertura para remover o tecido cariado que havia sido deixado [12]. Como essa abordagem acarreta a necessidade de uma consulta adicional, pode significar em aumento no custo do tratamento [8, 10]. Ainda podem ocorrer falhas durante o período de restauração provisória, bem como exposições pulpares adicionais na segunda fase do tratamento advindas de uma nova escavação [10].

Nas técnicas de RSTC, a periferia das cavidades deve ser circundada por esmalte sadio e as paredes circundantes devem apresentar dentina dura, ou seja, com consistência de

dentina sadia para propiciar um adequado vedamento da cavidade. Contudo, na parede pulpar/axial (assoalho da cavidade), a dentina cariada é escavada até atingir a dentina mole ou coriácea [4], diminuindo a possibilidade de exposição pulpar. Em seguida, a restauração definitiva é realizada na mesma sessão clínica [1].

Embora evidências científicas indiquem a utilização de RSTC como uma estratégia mais conservativa e capaz de apresentar eficácia clínica [5], a literatura tem demonstrado que grande parte dos clínicos optam por abordagens mais invasivas, como a RNSTC, mesmo diante de mais riscos inerentes à técnica [13, 14]. É importante ressaltar que apesar de ser sugerida que a utilização de RSTC pode impactar na qualidade das restaurações [15], ainda não está claro na literatura que sua utilização possa estar associada ao aumento de falhas restauradoras [16], haja vista que poucos estudos analisaram esse aspecto [5]. Ademais, a maioria dos estudos clínicos com foco na RSTC foram realizados em dentes decíduos [8, 17-19].

Diante desse contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia clínica de restaurações utilizando remoção seletiva de tecido cariado em dentes permanentes com lesões de cárie com comprometimento de no mínimo 2/3 do tecido dentinário, considerando a manutenção da sensibilidade pulpar e a qualidade das restaurações. A hipótese deste estudo é que a RSTC possui prognóstico superior à RNSTC e RGTC em dentes permanentes, com a manutenção da sensibilidade pulpar e maior preservação de tecido dentário. Além disso, possibilitando procedimentos restauradores que apresentem longevidade clínica.

METODOLOGIA

Tipo de estudo

Trata-se de um ensaio clínico randomizado, controlado e cego quanto ao avaliador. O presente artigo seguiu as recomendações do guia *CONSORT* (Anexo D). Os atendimentos clínicos foram realizados na clínica de Dentística do curso de Odontologia da Universidade Federal do Ceará, os procedimentos clínicos foram realizados no período entre fevereiro de 2017 até dezembro de 2018, e as avaliações foram realizadas no período de 6, 12 e 18 meses de acompanhamento.

Aspectos Éticos

O estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará, aprovado sob o número do parecer nº 1.610.785 e foi registrado no Registro Brasileiro de Ensaio Clínicos sob o número U1111-1221-4083. Todos os participantes do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice A).

Seleção de pacientes

Os pacientes foram selecionados por uma única examinadora MMAFB previamente treinada e calibrada para a realização do exame dentário e triagem de pacientes ($\kappa=0,83$). A calibração foi realizada na Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), através da análise de dentes extraídos, bem como exame em alunos de escolas próximas ou pacientes que buscavam atendimento na UFRGS. A amostra que foi utilizada no processo de calibração não foi incluída no presente estudo.

Os pacientes incluídos no estudo foram advindos de busca ativa em escolas públicas próximas à universidade, ou que buscaram atendimento na clínica de dentística do curso de odontologia da Universidade Federal do Ceará, local onde foi conduzida a execução dos atendimentos clínicos.

Para análise dos pacientes foi realizado exame clínico, radiografias periapicais para análise dos tecidos perirradiculares e interproximais para identificar profundidade da lesão de cárie e verificar relação com a polpa. Além disso, foi realizado teste de sensibilidade pulpar à frio (Endo-ice®, Maquira, Brasil), sensibilidade à palpação e percussão vertical.

Os critérios de inclusão utilizados foram:

- Normossistêmicos
- Presença de lesão cáriosa primária ativa em dentes permanentes pré-molares ou molares que radiograficamente demonstrasse comprometimento mínimo de 2/3 da dentina.

- Ausência de sinais e sintomas de comprometimento irreversível da polpa, como: dor espontânea, lesão periapical ou espessamento do ligamento periodontal. Ainda, deveriam apresentar resposta positiva ao teste de sensibilidade ao frio, sensibilidade negativa ao teste de percussão vertical e à palpação.
- Presença de dente antagonista.

Os critérios de exclusão utilizados foram:

- Utilização de aparelho ortodôntico fixo.
- Gestantes
- Residentes em cidades diferentes da cidade do estudo ou com plano de mudança.

Cálculo amostral

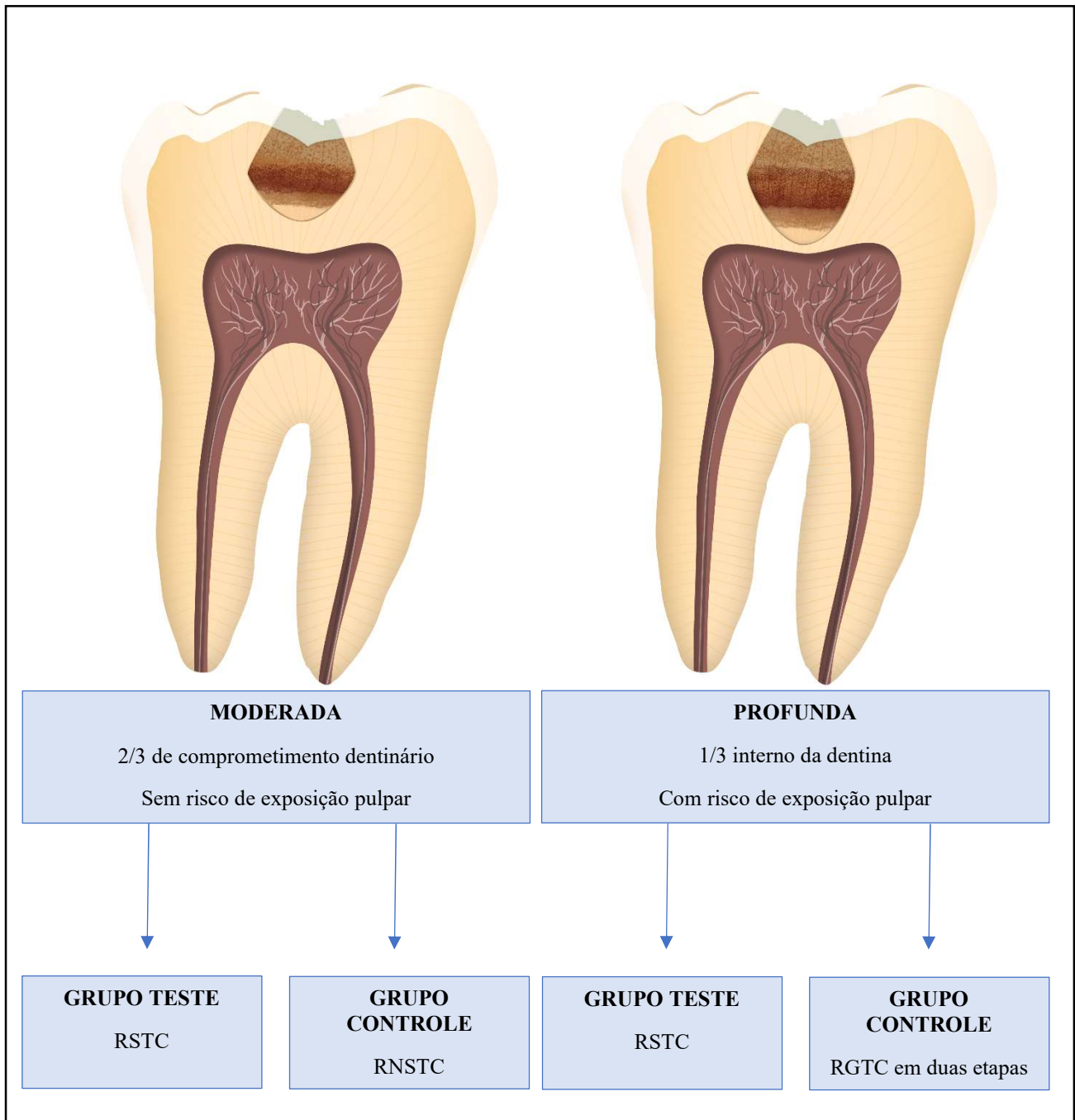
Foi realizado cálculo baseado no estudo de Jardim et al. (2020) [20] que observou taxa de sucesso de 60% da RSTC versus 32% da RGTC, dessa forma, foi estimada a necessidade de avaliação de 48 dentes para obtenção de uma amostra que represente com 80% de poder e 95% de confiança uma diferença entre os tratamentos de RSTC e RNSTC.

Grupos experimentais

Foram selecionados pacientes que apresentassem no mínimo uma lesão cariada em dentes permanentes posteriores, sendo incluídos no estudo dentes com lesões de cárie dentinária classificadas como código ICDAS 4, 5 ou 6. Além disso, o nível de avanço em dentina da lesão deveria ser de no mínimo 2/3, sendo, portanto, incluídas lesões com característica de maior ou menor relação de proximidade com a polpa dentária. Ainda, foram incluídos no estudo lesões envolvendo apenas a superfície oclusal ou oclusal e proximal. Diante desse contexto, o grupo experimental teste era composto por dentes que seriam submetidos a Remoção Seletiva de Tecido Cariado (RSTC), no entanto, em relação ao grupo controle duas situações clínicas foram conduzidas diante da avaliação do risco de exposição pulpar. Dessa forma, em lesões com apenas 2/3 de comprometimento dentinário, ou seja, que não atingiram o terço interno, o grupo controle utilizado foi Remoção Não Seletiva de Tecido Cariado (RNSTC) até atingir a dentina

dura; em lesões localizadas no terço ou quarto interno da dentina, com risco elevado de exposição, foi utilizado como grupo controle a Remoção Gradual de Tecido Cariado (RGTC) em duas etapas, como demonstrado na figura 1.

Figura 1 – Divisão dos grupos experimentais quanto a estratégia de remoção de tecido cariado



Legenda: Grupos experimentais do estudo - grupo teste: RSTC para lesões moderadas e profundas; grupos controles: RNSTC para lesões moderadas e RGTC para lesões profundas.

Fonte: próprio autor

Randomização

Uma tabela de aleatorização foi gerada utilizando o programa Excel/Windows por outro pesquisador que não os operadores e avaliador. E os tratamentos correspondentes a cada grupo foram dispostos em envelopes sequenciais e lacrados, os operadores apenas abriam o envelope e observavam o tratamento imediatamente após o início do atendimento. Os pacientes eram cegos quanto aos grupos experimentais aos quais pertenciam.

Para composição dos envelopes com o plano de tratamento foram realizadas duas randomizações sucessivas para as duas profundidades de lesão: estratégia de remoção de tecido cariado (teste ou controle) e procedimentos restauradores. Os envelopes nos quais foram armazenados os planos de tratamento para as lesões com 2/3 de envolvimento de dentina possuíam cor vermelha e os envelopes que armazenavam os tratamentos para os dentes com lesões próximas a polpa eram na cor azul.

Procedimentos clínicos

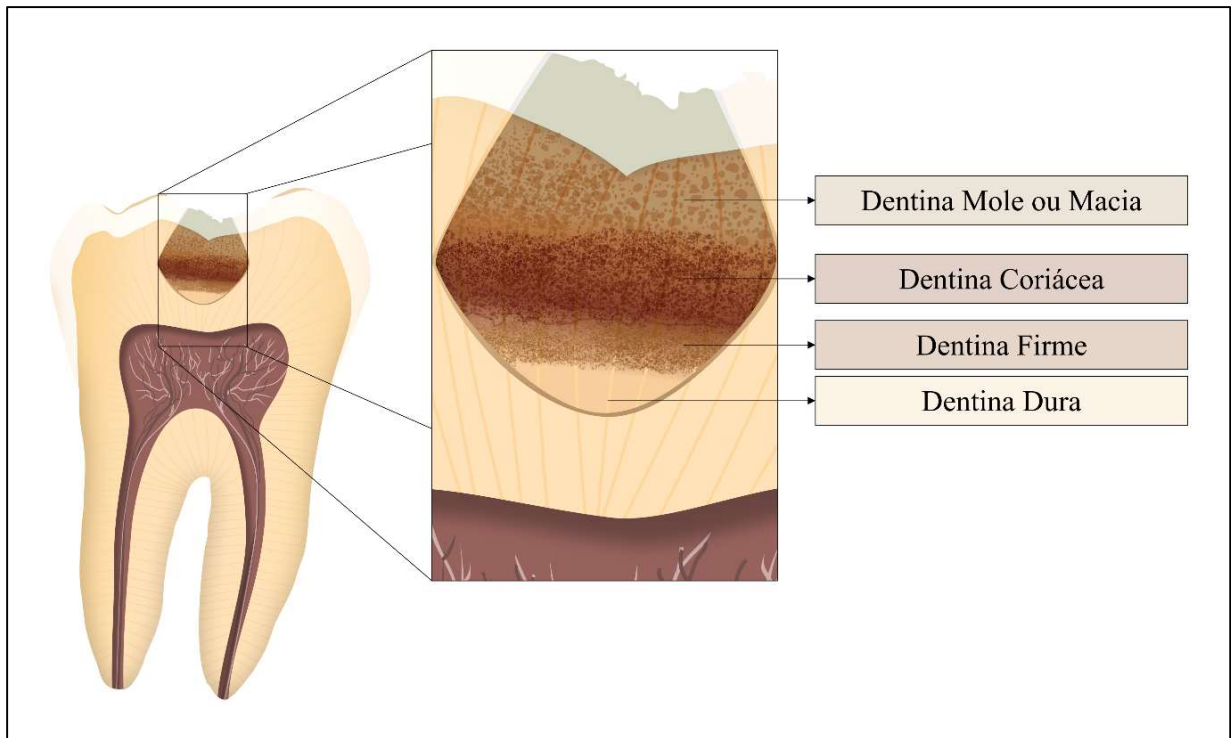
Os procedimentos foram executados por dois operadores treinados (EMAS e PHAGPV). A sequência clínica era iniciada através da realização de radiografias iniciais (periapical e interproximal); profilaxia; anestesia e isolamento absoluto do campo operatório. Ainda, caso houvesse necessidade de acesso à cavidade, este era realizado com pontas diamantadas esféricas em alta rotação sob irrigação constante, previamente ao início da remoção do tecido cariado.

Estratégia de remoção de tecido cariado

A remoção de tecido cariado foi realizada utilizando colheres de dentina nº 17, 18 ou 19 (Golgran, São Paulo, Brasil) e/ou brocas carbide nº CA2, CA4, CA6 ou CA8 (KG Sorensen, São Paulo, Brasil), seguindo critério clínico de dureza. A figura 2 demonstra esquematicamente as camadas de dentina cariada que compõem a lesão dentinária, segundo

Schwendicke et al. (2016) [4]. Independente do grupo experimental, a remoção inicialmente era realizada nas paredes circundantes da cavidade, sendo realizada até que fosse atingida a dentina dura. Para as paredes do assoalho da cavidade, a estratégia de remoção era realizada de acordo com o grupo experimental ao qual o dente estivesse alocado.

Figura 2 – Representação esquemática das camadas de dentina cariada que compõem a lesão dentinária.



Fonte: próprio autor

Remoção Seletiva de Tecido Cariado (RSTC) – GRUPO TESTE

Nas paredes cavitárias de fundo dos dentes que foram alocados no grupo teste, foi realizada a remoção com colheres de dentina apenas da dentina mole, sendo exclusivamente a camada mais externa do tecido cariado removida. Portanto, ao atingir a dentina com aspecto de couro (coriácea) a escavação era interrompida e esse tecido cariado mantido sobre a parede pulpar.

Remoção Não Seletiva de Tecido Cariado (RNSTC) – GRUPO CONTROLE 1

Nesse grupo controle foram incluídos apenas dentes em que não houvesse risco de exposição pulpar, ou seja, que radiograficamente estivessem demonstrando comprometimento de 2/3 da dentina, sem relação de proximidade com a cavidade pulpar. Pois, em lesões onde haja risco de exposição essa abordagem de remoção (RNSTC) é considerada sobretratamento e está contraindicada [4].

Para realização da RNSTC foram utilizadas colheres e/ou brocas carbide para remover todo o tecido cariado também das paredes de fundo até que fosse atingida uma dentina dura com aspecto semelhante à dentina sadia.

Remoção Gradual de Tecido Cariado (RGTC)/ STEPWISE – GRUPO CONTROLE 2

Em dentes em que havia risco de exposição pulpar devido ao comprometimento dentinário estar localizado no terço interno ou quarto pulpar da dentina, observado na radiografia inicial, a abordagem clínica para grupo controle foi a RGTC em duas etapas. Na primeira sessão, após finalizar a remoção de tecido nas paredes circundantes era iniciada a escavação da parede de fundo apenas até finalizar a remoção da dentina mole, permanecendo sobre a parede pulpar a dentina coriácea. Em seguida, finalizando a primeira abordagem, era realizada a aplicação de pasta de hidróxido de cálcio (Biodinâmica, Paraná, Brasil) na parede de fundo e restauração provisória com cimento de ionômero de vidro (Maxxion R, FGM, Santa Catarina, Brasil). Ademais, a finalização da remoção de tecido cariado era realizada. Posteriormente, após um período de 6 meses, a cavidade era submetida a uma sessão de reabertura e o tecido cariado remanescente era removido até atingir a dentina firme.

Procedimentos restauradores

Após a finalização da remoção de tecido cariado, em seguida, era iniciada a sequência clínica do procedimento restaurador. Para dentes que apresentassem a extensão da lesão restrita aos 2/3 da dentina (D2) poderiam ser utilizados dois sistemas adesivos distintos no momento da restauração. Para restaurações localizadas no terço ou quarto interno da dentina,

apenas 1 sistema adesivo foi utilizado, no entanto, foi utilizado ou não o agente forrador cimento de hidróxido de cálcio (Hydro C, Dentsply, São Paulo, Brasil). Os procedimentos restauradores, bem como a estratégia de remoção de tecido cariado à qual a amostra seria submetida foram alocados aleatoriamente por prévia randomização.

Após a remoção de tecido cariado nos dentes aos quais foram caracterizados com comprometimento de 2/3 da dentina, foi realizada a limpeza da cavidade, através de profilaxia com pedra-pomes (Biodinâmica, Paraná, Brasil) e água; condicionamento com ácido fosfórico 37% (Condac, FGM, Santa Catarina, Brasil) durante 30 segundos em esmalte e 15 segundos em dentina, quando o sistema adesivo utilizado foi o convencional de 2 passos (Adper Single Bond 2, 3M ESPE, Minnessota, EUA) ou apenas condicionamento seletivo do esmalte durante 30 segundos quando o sistema adesivo utilizado foi o autocondicionante de 2 passos (Clearfill SE Bond, Kuraray, Hattersheim, Alemanha). Ainda foi realizada aplicação do sistema adesivo, seguindo orientações do fabricante, fotopolimerização por 20 segundos e procedimento restaurador de forma incremental com resina composta (Filtek Z350, 3M ESPE, Minnessota, EUA) em camadas de até 2 mm, e fotopolimerização por 20 segundos em cada incremento com uma lâmpada LED (Elipar™ FreeLight 2 LED Curing Light, 3 M ESPE, Minnesota, EUA).

Para lesões localizadas no terço interno da dentina (D3), a depender do grupo experimental foi utilizada ou não a aplicação de cimento de hidróxido de cálcio (Hydro C, Dentsply, São Paulo, Brasil) na parede de fundo durante o procedimento restaurador definitivo. Além disso, foi realizado o condicionamento com ácido fosfórico 37% (30 s em esmalte e 15 s em dentina) e aplicação de sistema adesivo convencional de 2 passos (Adper Single Bond 2, 3M ESPE, Minnessota, EUA). O procedimento restaurador definitivo foi realizado utilizando resina composta (Filtek Z350, 3M ESPE, Minnesota, EUA) em camadas de até 2 mm, e fotopolimerização por 20 segundos em cada incremento com uma lâmpada LED (Elipar™ FreeLight 2 LED Curing Light, 3 M ESPE, Minnesota, EUA). Para o grupo controle RGTC, previamente à realização da restauração definitiva, o dente era submetido a uma nova escavação de tecido cariado para remoção do que havia sido deixado sobre a parede pulpar na primeira abordagem. Após essa etapa, o procedimento restaurador seguia semelhante ao descrito para o grupo teste.

Após finalização das restaurações, foi realizado ajuste oclusal, acabamento com pontas diamantadas de granulação fina e extra-fina (KG Sorensen, São Paulo, Brasil) e polimento inicial com pontas de borracha (American Burrs, Santa Catarina, Brasil).

Avaliações

As avaliações foram realizadas por um único avaliador (MMAFB), sendo este independente dos operadores e cego para a alocação do grupo. O desfecho primário considerado foi a manutenção da sensibilidade pulpar. A análise foi realizada através de avaliação clínica e radiográfica (interproximal e periapical), e correspondia à ausência de sinais e sintomas de comprometimento pulpar, como: ausência de dor espontânea e de lesão periapical, resposta positiva ao teste de sensibilidade ao frio (Endo-ice®, Maquira, Paraná, Brasil) e resposta negativa à percussão e à palpação. Os períodos de avaliação consistiram em 6, 12 e 18 meses. Ainda foi realizada a análise das restaurações, através do critério de Propriedade Funcional da *World Dental Federation* (FDI) que analisa fratura e retenção, adaptação marginal, contorno e desgaste oclusal, forma anatômica proximal, exame radiográfico e visão do paciente. Nas consultas de retorno os pacientes eram submetidos a instrução de higiene oral, profilaxia e aplicação tópica de flúor.

Análise estatística

O desfecho primário foi a ausência de sensibilidade, sendo o dente considerado a unidade de análise do presente estudo. Para as análises foram consideradas duas estratégias de remoção de tecido cariado, sendo a remoção seletiva e remoção não seletiva de tecido cariado, ou seja, o grupo RGTC foi considerado uma abordagem de remoção não seletiva em duas etapas. As comparações entre os grupos RSTC e RNSTC no início e após 6, 12 e 18 meses de acompanhamento foram comparadas por qui-quadrado, testes de Fisher ou testes de Mann-Whitney. Foi utilizado um teste não paramétrico, visto que foi observada uma distribuição não simétrica pelo teste de Shapiro-Wilk. Além disso, a qualidade das restaurações foi comparada pelos testes de qui-quadrado ou Fisher após 12 e 18 meses de acompanhamento.

O desfecho primário foi identificado clinicamente somente nos 6 meses de acompanhamento. Portanto, em todos os acompanhamentos, foram realizadas análises independentes usando análises por protocolo e por intenção de tratar. Na análise por protocolo foram considerados os indivíduos que compareceram aos acompanhamentos, enquanto na análise por intenção de tratar, os pacientes com perda de seguimento foram considerados como apresentando o desfecho principal.

O risco relativo (RR) bruto e ajustado e seu intervalo de confiança de 95% (IC95%) para a ocorrência do desfecho principal foram calculados por regressão de Poisson com variância robusta. O nível de significância estabelecido foi $<5\%$ pelos testes de Wald. O teste de adequação do qui-quadrado de Pearson foi usado para os pressupostos dos modelos de Poisson.

O modelo inicial ajustado foi composto por aquelas variáveis independentes que apresentaram valor de $p < 0,2$ na análise bruta. No entanto, como o tratamento para remoção de cárie foi considerada a exposição primária do presente estudo, essa variável independente foi incluída no modelo multivariado final independentemente de seu valor de p .

Para ambos os modelos multivariados, uma técnica backward foi usada para determinar o modelo multivariado final. Além disso, a combinação de significância estatística e análise de mudanças de efeito foram utilizadas para estabelecer os modelos finais. Nenhuma indicação de sobredispersão, excesso de zeros e colinearidade entre as exposições foi observada em ambos os modelos. Todas as análises foram realizadas no software SPSS, versão 12.0 (SPSS, versão 21.0, IBM Corp., Armonk, NY, EUA).

RESULTADOS

Na linha de base, 74 dentes com lesões de cárie com pelo menos 2/3 de envolvimento dentinário foram alocados aleatoriamente quanto à estratégia de remoção de tecido cariado, sendo realizada como grupo teste RSTC e como controle RNSTC ou RGTC. Embora o procedimento restaurador tenha sido variável dependendo da profundidade da lesão, a análise estatística considera apenas o relacionamento entre a estratégia de remoção do tecido cariado aos desfechos sensibilidade pulpar e qualidade da restauração. Ademais, quando houve danos provenientes da ocorrência dos desfechos, ou seja, perda da sensibilidade pulpar ou falha restauradora, os pacientes foram encaminhados para realização dos procedimentos endodônticos ou restauradores. A Tabela 1 mostra as características de ambos os grupos na linha de base. Não foram detectadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos para as variáveis basais, como: idade, sexo, dente, posição no arco, profundidade das lesões, atividade de cárie e classificação das cavidades.

Tabela 1 - Caracterização da amostra quanto ao tipo de remoção de tecido cariado.

		Remoção seletiva de cárie (n = 37)	Remoção não-seletiva de cárie (n = 37)	Valor de p
Idade	Média ± DP (mediana)	17,57±4,36 (16,0)	18,49±4,23 (17,0)	0,273 α
Sexo	Feminino – n (%)	19 (51,4)	26 (70,3)	0,096*
	Masculino – n (%)	18 (48,6)	11 (29,7)	
Dente	Pre-molar – n (%)	4 (10,8)	8 (21,6)	0,207*
	Molar – n (%)	33 (89,2)	29 (78,4)	
Posição na arcada	Maxila – n (%)	20 (54,1)	15 (40,5)	0,244*
	Mandíbula – n (%)	17 (45,9)	22 (59,5)	
Profundidade da lesão cariosa	Moderada – n (%)	21 (56,8)	24 (64,9)	0,475*
	Profunda – n (%)	16 (43,2)	13 (35,1)	
Atividade de cárie	Ativa – n (%)	37 (100,0)	37 (100,0)	-
Classe	Classe I – n (%)	29 (78,4)	31 (83,8)	0,553*
	Classe II – n (%)	8 (21,6)	6 (16,2)	
ICDAS	5 – n (%)	23 (62,2)	26 (72,2)	0,360*
	6 – n (%)	14 (37,8)	10 (27,8)	
Use de hidróxido de cálcio	Sim – n (%)	5 (13,5)	7 (18,9)	0,528*
	Não – n (%)	32 (86,5)	30 (81,1)	
Adesivo	Single Bond – n (%)	26 (70,3)	25 (67,6)	0,802*
	Clearfil – n (%)	11 (29,7)	12 (32,4)	

Legenda: *Teste Qui-quadrado; #Teste exato de Fischer; α Teste Mann-Whitney.

Fonte: Dados da Pesquisa

Após 6 meses, dez dentes foram perdidos para acompanhamento, três (8,1%) de remoção não seletiva e sete (18,9%) de remoção seletiva. Dois dentes adicionais foram perdidos, ambos no grupo de RSTC. Um deles foi exposto a uma nova abordagem realizada por outro profissional e outro foi extraído por motivos ortodônticos. Ambos os dentes foram tratados por cirurgiões-dentistas não envolvidos no presente estudo. Nesse sentido, não foi possível determinar se este dente falhou devido aos procedimentos experimentais presentes. Além disso, três dentes apresentaram falha, evoluindo para a necessidade de tratamento endodôntico, sendo dois deles pertencentes ao grupo de RNSTC e um ao grupo de RSTC.

Considerando o desfecho sensibilidade pulpar, em 6 meses de acompanhamento, utilizando uma análise por protocolo, a sobrevida de ambos os grupos foi de 94,1% e 96,4% para RNSTC e RSTC, respectivamente. Aos 12 meses de acompanhamento, para essa mesma análise e grupos experimentais, os valores foram 92,6% e 95,7%, enquanto aos 18 meses de acompanhamento foram 90,9% e 94,1%. Para a realização da análise de protocolo, foram considerados os dentes que seguiram o acompanhamento de cada período, sendo vinte e oito dentes no grupo de RSTC e trinta e quatro dentes no grupo de RNSTC aos 6 meses; vinte e três dentes no grupo RSTC e vinte e sete dentes no grupo RNSTC, aos 12 meses; e dezessete dentes

no grupo de RSTC e vinte e dois dentes no grupo RNSTC, aos 18 meses. Além disso, ao utilizar uma análise de intenção de tratar, ou seja, considerando todos os dentes inicialmente incluídos e que todos os dentes perdidos (por qualquer motivo) contabilizam para ocorrência do desfecho, a taxa de sobrevivência para ambos os grupos foi de 86,5% e 73,0%, respectivamente para os grupos RNSTC e RSTC em 6 meses de acompanhamento; 67,6% para o grupo RNSTC e 59,5% para o grupo RSTC, aos 12 meses de acompanhamento; e 54,1% para RNSTC e 43,2% para RSTC, aos 18 meses de acompanhamento. Para ambas as análises, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos em nenhum dos períodos de acompanhamento (Tabela 2).

Tabela 2 - Avaliação da sensibilidade pulpar aos 6, 12 e 18 meses de acompanhamento.

		Remoção seletiva de cárie	Remoção não seletiva de cárie	Valor de p
Sensibilidade pulpar aos 6 meses (análise por protocolo)	Sim – n (%)	27 (96,4)	32 (94,1)	1,000#
	Não – n (%)	1 (3,6)	2 (8,8)	
Sensibilidade pulpar aos 6 meses (intenção de tratar)	Sim – n (%)	27 (73,0)	32 (86,5)	0,148*
	Não – n (%)	10 (27,0)	5 (13,5)	
Sensibilidade pulpar aos 12 meses (análise por protocolo)	Sim – n (%)	22 (95,7)	25 (92,6)	1,000#
	Não – n (%)	1 (1,3)	2 (7,4)	
Sensibilidade pulpar aos 12 meses (intenção de tratar)	Sim – n (%)	22 (59,5)	25 (67,6)	0,469*
	Não – n (%)	15 (40,5)	12 (32,4)	
Sensibilidade pulpar aos 18 meses (análise por protocolo)	Sim – n (%)	16 (94,1)	20 (90,9)	0,709*
	Não – n (%)	1 (5,9)	2 (9,1)	
Sensibilidade pulpar aos 18 meses (intenção de tratar)	Sim – n (%)	16 (43,2)	20 (54,1)	0,352*
	Não – n (%)	21 (56,8)	17 (45,9)	

Legenda: *Teste Qui-quadrado; #Teste exato de Fischer.

Fonte: Dados da Pesquisa

A Tabela 3 demonstra o risco relativo bruto para perda de sensibilidade da polpa em 6 meses de seguimento e foram consideradas análises tanto por protocolo quanto por intenção de tratar. Não foi observado risco aumentado para o desfecho em relação às estratégias de remoção de tecido cariado utilizadas, bem como nenhuma das variáveis avaliadas na análise crua por protocolo ou por intenção de tratar. Na análise por protocolo ajustada, foi observado

um risco aumentado para o desfecho de 10,09 vezes maior para dentes com ICDAS 6 em relação aos dentes classificados com ICDAS 5. Enquanto na análise por intenção de tratar ajustada, os dentes com ICDAS 6 apresentaram 3,86 vezes mais risco de desenvolver o desfecho do que as que tiveram o ICDAS 5.

Tabela 3 - Avaliação do risco relativo para perda de sensibilidade pulpar em 6 meses de acompanhamento.

		Análise por protocolo RR Bruto (95%IC)	Análise por protocolo RR Ajustado (95%IC)	Análise por intenção de tratar RR Bruto (95%IC)	Análise por Intenção de tratar RR Ajustado (95%IC)
Tratamento	Remoção seletiva de cárie	1	1	1	1
	Remoção não seletiva de cárie	2,40 (0,26 – 21,83) P=0,437	3,74 (0,56 – 25,12) P=0,175	0,50 (0,19 – 1,32) P=0,162	0,60 (0,24 – 1,51) P=0,275
Idade		0,94 (0,78 – 1,13) P=0,495	-	0,93 (0,81 – 1,07) P=0,323	-
Sexo	Feminino	-	-	1	-
	Masculino			0,56 (0,20 – 1,60) P=0,283	
Dente	Pré-molar	1	-	1	-
	Molar	0,57 (0,07 – 4,91) P=0,606		0,77 (0,26 – 2,34) P=0,650	
Posição da arcada	Maxila	1	-	1	-
	Mandíbula	2,91 (0,32 – 26,47) P=0,344		1,80 (0,68 – 4,74) P=0,238	
Profundidade da lesão cariosa	Moderada	-	-	1	-
	Profunda			3,10 (1,18 – 8,16) P=0,022	
Atividade de Cárie	Ativa	-	-	-	-
Classe	Classe I	1	1	1	-
	Classe II	4,25 (0,66 – 27,20) P=0,127	5,31 (0,83 – 34,21) P=0,079	1,56 (0,58 – 4,18) P=0,378	
ICDAS	5	1	1	1	1
	6	7,94 (0,89 – 71,19) P=0,064	10,09 (1,27 – 80,41) P=0,029	4,08 (1,57 – 10,62) P=0,004	3,86 (1,45 – 10,29) P=0,007
Uso de hidróxido de cálcio	Sim	1	-	1	-
	Não	0,17 (0,03 – 1,04) P=0,055		0,39 (0,16 – 0,93) P=0,034	
Adesivo	Single Bond	-	-	1	-
	Clearfil			0,34 (0,08 – 1,39) P=0,134	

Fonte: Dados da Pesquisa

A Tabela 4 demonstra o risco relativo bruto para perda de sensibilidade da polpa com 12 meses de seguimento e foram consideradas análises tanto por protocolo quanto por intenção de tratar. Não foi observado risco aumentado para o desfecho em relação às estratégias de remoção de tecido cariado utilizadas em nenhuma das análises. No entanto, considerando a

análise por intenção de tratar ajustada, foi observado um risco aumentado para o desfecho de 1,90 vezes maior para dentes com ICDAS 6 em relação aos dentes classificados com ICDAS 5.

Tabela 4 - Risco relativo bruto de perda de sensibilidade pulpar aos 12 meses de acompanhamento, considerando análise por protocolo e análise por intenção de tratar.

		Análise por protocolo RR Bruto (95%IC)	Análise por protocolo RR Ajustado (95%IC)	Análise por intenção de tratar RR Bruto (95%IC)	Análise por Intenção de tratar RR Ajustado (95%IC)
Tratamento	Remoção seletiva de cárie	1	1	1	1
	Remoção não seletiva de cárie	1,704 (0,165 – 17,601) P=0,655	1,782 (0,169 – 18,839) P=0,631	0,800 (0,436 – 1,468) P=0,471	0,722 (0,402 – 1,297) P=0,276
Idade		0,989 (0,832 – 1,175) P=0,900	-	1,014 (0,950 – 1,082) P=0,672	-
Sexo	Feminino	-	-	1	1
	Masculino	-	-	0,543 (0,264 – 1,119) P=0,098	0,493 (0,256 – 0,948) P=0,034
Dente	Pré-molar	-	-	1	-
	Molar	-	-	0,852 (0,403 – 1,801) P=0,674	-
Posição da arcada	Maxila	1	-	1	-
	Mandíbula	2,348 (0,227 – 24,255) P=0,474	-	1,795 (0,930 – 3,463) P=0,081	-
Profundidade da lesão cariada	Moderada	-	-	-	-
	Profunda	-	-	-	-
Atividade de Cárie	Ativa	-	-	-	-
Classe	Classe I	1	-	1	-
	Classe II	2,278 (0,231 – 22,481) P=0,497	-	1,224 (0,610 – 2,457) P=0,569	-
ICDAS	5	-	-	1	1
	6	-	-	2,552 (1,427 – 4,563) P=0,002	1,904 (1,021 – 3,552) P=0,043
Uso de hidróxido de cálcio	Sim	1	1	1	1
	Não	0,174 (0,020 – 1,526) P=0,114	0,170 (0,021 – 1,391) P=0,098	0,387 (0,233 – 0,643) P<0,001	0,496 (0,257 – 0,956) P=0,036
Adesivo	Single Bond	-	-	1	-
	Clearfil	-	-	0,634 (0,296 – 1,358) P=0,240	-

Fonte: dados da pesquisa

A Tabela 5 demonstra o risco relativo bruto para perda de sensibilidade da polpa com 18 meses de seguimento, através de análises por protocolo e por intenção de tratar. Assim

como nos acompanhamentos anteriores, não foi observado risco aumentado para o desfecho em relação às estratégias de remoção de tecido cariado utilizadas em nenhuma das análises. No entanto, considerando a análise por intenção de tratar, foi observado um risco relativo aumentado para o desfecho de 1,78 vezes maior para dentes com ICDAS 6 em relação aos dentes classificados com ICDAS 5. Além disso, houve risco 1,74 vezes maior para o desfecho em cavidades Classe II quando comparadas com Classe I.

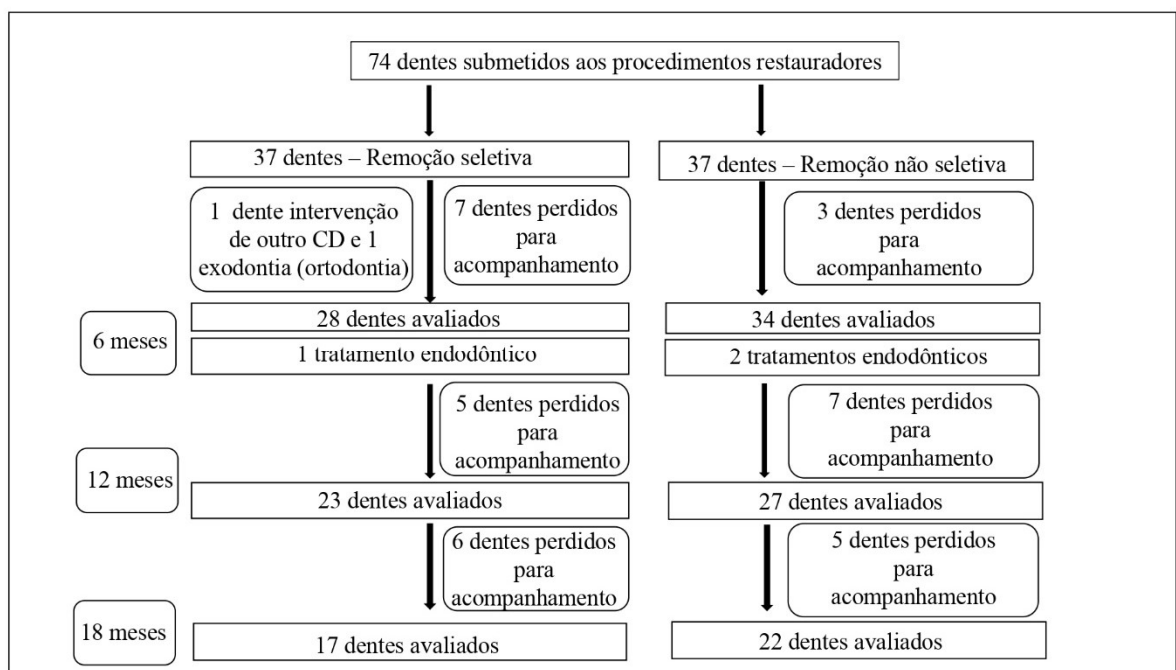
Tabela 5- Risco relativo bruto de perda de sensibilidade pulpar aos 18 meses de acompanhamento, considerando análise por protocolo e análise por intenção de tratar

		Análise por protocolo RR Bruto (95%IC)	Análise por protocolo RR Ajustado (95%IC)	Análise por intenção de tratar RR Bruto (95%IC)	Análise por Intenção de tratar RR Ajustado (95%IC)
Tratamento		1	1	1	1
	Remoção seletiva de cárie				
	Remoção não seletiva de cárie	1,545 (0,153 – 15,656) P=0,713	2,197 (0,356 – 13,556) P=0,396	0,810 (0,517 – 1,268) P=0,356	1,377 (0,924 – 2,052) P=0,116
Idade		0,972 (0,800 – 1,182) P=0,776	-	0,993 (0,940 – 1,048) P=0,786	-
Sexo	Feminino	-	-	1	-
	Masculino			1,012 (0,643 – 1,592) P=0,959	
Dente	Pré-molar	-	-	1	1
	Molar			0,726 (0,451 – 1,168) P=0,187	0,469 (0,288 – 0,764) P=0,002
Posição da arcada	Maxila	1	-	1	1
	Mandíbula	0,348 (0,034 – 3,519) P=0,371		1,726 (1,056 – 2,819) P=0,029	1,835 (1,137 – 2,961) P=0,013
Profundidade da lesão cariada	Moderada	-	-	-	-
	Profunda				
Atividade de Cárie	Ativa	-	-	-	-
Classe	Classe I	1	1	1	-
	Classe II	4,375 (0,501 – 38,169) P=0,182	10,534 (0,989 – 112,166) P=0,051	1,746 (1,181 – 2,582) P=0,005	
ICDAS	5	-	-	1	1
	6			1,837 (1,221 – 2,765) P=0,004	1,786 (1,152 – 2,769) P=0,009
Uso de hidróxido de cálcio	Sim	1	1	1	-
	Não	0,167 (0,021 – 1,350) P=0,093	0,099 (0,009 – 1,119) P=0,062	0,542 (0,373 – 0,787) P=0,001	
Adesivo	Single Bond	-	-	1	-
	Clearfil			0,903 (0,548 – 1,488) P=0,690	

Fonte: dados da pesquisa

É importante ressaltar que em relação aos dentes acompanhados em 12 e 18 meses de seguimento, nenhuma outra falha (tratamento endodôntico ou extração de dentes) foi detectada. No entanto, outros dentes foram perdidos no seguimento, e nas análises de intenção de tratar, esses dentes não acompanhados foram contabilizados como ocorrência do desfecho. As perdas de seguimento podem ser observadas na Figura 3.

Figura 3 – Fluxograma de acompanhamento dos dentes tratados



Fonte: próprio autor

Na análise da qualidade das restaurações, não foi observada diferença significativa entre os grupos até o período de 18 meses. Nenhuma das restaurações falhou diante dos critérios avaliados: fratura e retenção, adaptação marginal, contorno e desgaste oclusal, forma anatômica proximal, exame radiográfico e visão do paciente. A falha seria caracterizada por escores 4 (cl clinicamente insatisfatório, mas passível de reparo) ou 5 (cl clinicamente ruim necessitando de substituição). Além disso, o critério de forma anatômica proximal foi analisado apenas em 4

dententes, pois apenas estes apresentavam cavidades Classe II. A Tabela 6 demonstra os resultados das análises das restaurações realizadas em todos os seguimentos (6 meses, 12 meses e 18 meses) de acordo com o tratamento utilizado para a remoção da cárie.

Tabela 6 - Avaliação clínica de restaurações de acordo com os critérios de propriedade funcional da FDI.

Propriedade funcional	Remoção seletiva de cárie					Remoção não seletiva de cárie					Valor de p
	Pontuação em 6 meses de acompanhamento					Pontuação em 6 meses de acompanhamento					
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	
Fratura	26	1	0	0	0	30	2	0	0	0	1,000#
Adaptação Marginal	16	11	0	0	0	19	13	0	0	0	0,993*
Contorno e desgaste oclusal	27	0	0	0	0	28	4	0	0	0	0,118#
Anatomia proximal	4	0	0	0	0	4	0	0	0	0	-
Exame radiográfico	24	2	0	0	0	28	4	0	0	0	0,681#
Satisfação do paciente	22	4	1	0	0	28	3	1	0	0	0,802*
	Pontuação em 12 meses de acompanhamento					Pontuação em 12 meses de acompanhamento					
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	
Fratura	22	0	0	0	0	22	2	1	0	0	0,244*
Adaptação Marginal	8	14	0	0	0	10	15	0	0	0	0,798*
Contorno e desgaste oclusal	22	0	0	0	0	21	4	0	0	0	0,112#
Anatomia proximal	4	0	0	0	0	4	0	0	0	0	-
Exame radiográfico	20	1	0	0	0	21	4	0	0	0	0,357#
Satisfação do paciente	15	4	3	0	0	20	3	2	0	0	0,648*
	Pontuação em 18 meses de acompanhamento					Pontuação em 18 meses de acompanhamento					
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	
Fratura	14	2	0	0	0	20	0	0	0	0	0,190#
Adaptação Marginal	7	9	0	0	0	4	16	0	0	0	0,159#
Contorno e desgaste oclusal	16	0	0	0	0	18	2	0	0	0	0,492#
Anatomia proximal	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
Exame radiográfico	15	0	0	0	0	13	1	0	0	0	0,483#
Satisfação do paciente	14	2	0	0	0	19	1	0	0	0	0,574#

Legenda: *Qui-quadrado; #Teste exato de Fischer

Fonte: Dados da pesquisa

DISCUSSÃO

O presente estudo analisou a utilização de técnica de RSTC em dentes permanentes que apresentavam lesões cáries com envolvimento mínimo de dois terços do tecido dentinário. A hipótese do estudo foi rejeitada, pois considerava resultado de superioridade da técnica de RSTC em comparação com a RNSTC considerando maior manutenção de sensibilidade pulpar para o grupo RSTC. No entanto, não houve diferença significativa entre os grupos. A ocorrência do desfecho ausência de sensibilidade pulpar ocorreu apenas nos

primeiros 6 meses de acompanhamento, sendo que apenas três dentes acompanhados evoluíram para necessidade de tratamento endodôntico, dois pertencentes ao grupo de RNSTC e um ao grupo RSTC. Nos acompanhamentos de 12 e 18 meses não foi observado entre os dentes acompanhados nenhuma ocorrência do desfecho. Ainda, em relação à qualidade das restaurações não foi observada diferença entre os grupos de acordo com a estratégia de remoção de tecido cariado e não houve nenhuma falha das restaurações diante dos critérios avaliados, nos dentes acompanhados até 18 meses. Corroborando o estudo Labib et al. (2019) [21] que não apresentou diferenças no sucesso da manutenção da sensibilidade pulpar entre os grupos RSTC e RGTC no período de seguimento de 12 meses. Ainda, Singh; Mitta; Tewari (2019) [22] também, em doze meses de acompanhamento, demonstraram que a RSTC em lesões profundas apresentou altas taxas de sucesso não interferindo na sensibilidade pulpar ou na sobrevivência da restauração no período avaliado. Ainda, o estudo analisou a utilização de hidróxido de cálcio, cimento de ionômero de vidro ou nenhum material sobre a dentina cariada deixada na cavidade após a escavação, previamente a restauração de resina e não demonstrou diferença entre os grupos experimentais [22].

A maioria dos estudos publicados com foco em remoção seletiva foram realizados em dentes decíduos [8, 18]. No entanto, destaca-se que os resultados obtidos não deveriam ser extrapolados para a dentição permanente [5]. Em contrapartida, no presente estudo, os dentes incluídos foram dentes permanentes posteriores. Ademais, observou-se uma distribuição homogênea entre os grupos experimentais diante das variáveis de linha de base, como: idade, sexo, posição dos dentes na arcada, profundidade das lesões e número de faces envolvidas.

Na análise do desfecho sensibilidade pulpar, foram observadas três falhas que culminaram com a necessidade de tratamento endodôntico, nos primeiros seis meses de acompanhamento. Contudo, não houve diferenças significativas entre os grupos quanto à ocorrência do desfecho. Nos acompanhamentos realizados aos doze e dezoito meses, nenhuma falha adicional associada à perda da vitalidade pulpar foi observada. Maltz et al. (2013) [12], em estudo que comparava a RSTC com a RGTC em duas etapas, demonstraram superioridade da remoção seletiva aos 18 meses de acompanhamento, considerando o desfecho da sensibilidade pulpar, sendo a taxa de sucesso encontrada 99% para RSTC e 86% para RGTC; foram acompanhados 73% da amostra do grupo RSTC e 69% do grupo RGTC. No presente estudo, com o mesmo período de acompanhamento, a taxa de sucesso considerando a análise de protocolo foi 94,1% para o grupo RSTC e 90,9% para o grupo RNSTC sendo acompanhados 45,94% da amostra do grupo RSTC e 56,75% do grupo RNSTC. No entanto, considerando uma

análise por intenção de tratar, a taxa de sucesso foi de 43,2% para o grupo RSTC e 54,1% para o grupo RNSTC. Além disso, no referido estudo, os autores relataram que ocorreram 4 exposições pulpares durante os procedimentos de remoção de dentina cariada, sendo todos no grupo RGTC. Em contrapartida, no presente estudo, não foram observadas exposições pulpares em nenhum dos grupos experimentais.

Estudos considerando a mesma amostra em maior período de acompanhamento 3 anos e 5 anos [1, 23], demonstraram superioridade da técnica de remoção seletiva, com taxas de sucesso superiores à técnica de remoção gradual. No entanto, a superioridade foi evidenciada principalmente associada ao não comparecimento para a segunda sessão do protocolo da escavação em duas etapas e quando a comparação foi realizada apenas entre os pacientes que realizaram o protocolo completo, foram observados resultados semelhantes entre os grupos, como ocorreu no presente estudo. Ademais, esses estudos sugerem que não há necessidade de reabertura de uma cavidade para realização de uma segunda escavação para que a sensibilidade pulpar seja preservada [1, 23].

No presente estudo, foi observado um risco relativo aumentado para o desfecho em relação as estratégias de remoção quando as lesões iniciais apresentavam ICDAS 6 em comparação com ICDAS 5, sendo o risco observado através da análise de intenção de tratar de 3,86, 1,90 e 1,78 vezes maior, respectivamente em 6, 12 e 18 meses de acompanhamento. Ainda, nos estudos anteriores, essa variável não foi analisada [1, 12, 21-24], Além disso, foi observado na análise de intenção de tratar do acompanhamento de 18 meses, um risco relativo aumentado de 1,74 vezes maior para o desfecho em cavidades Classe II quando comparadas com cavidades Classe I. Em contrapartida, nos estudos de Maltz et al., (2013) [12] e Maltz et al. (2012) [23] nos quais foram analisados os mesmos pacientes, no período de 18 meses e 3 anos, respectivamente, somente demonstraram risco aumentado para o desfecho quando as lesões apresentavam mais superfícies restauradas envolvidas, no período de acompanhamento de 3 anos [23]. Porém, na análise dos mesmos pacientes com acompanhamento de 5 anos, Maltz et al. (2018) [1] não observaram diferença entre os grupos de acordo com as superfícies restauradas.

Embora diversos estudos apoiem a superioridade da estratégia de RSTC em relação à prevenção de exposição pulpar e manutenção da sensibilidade pulpar em comparação com estratégias mais invasivas [5, 25], a eficácia clínica em termos de longevidade das restaurações de dentes permanentes ainda necessita de mais evidências [20].

Hevinga et al. (2010) [15] em um estudo *in vitro* sugerem que a dentina amolecida e desmineralizada deixada na cavidade poderia impactar na redução da resistência de união entre a restauração adesiva e o dente. Schwendicke et al. (2014) [16] em um estudo *in vitro* observaram que não houve redução significativa na resistência a fratura de dentes incompletamente escavados, porém demonstrou um aumento na deflexão de cúspides desses dentes. Em contrapartida, Silva et al., (2018) [26] concluíram em seu estudo *in vitro* que a manutenção de tecido cariado não influenciou na deflexão de cúspides e resistência à fratura de restaurações em resina composta de cavidades classe II, utilizando resina bulk-fill. Weinmann et al. (2021) [27] em estudo *in silico* avaliaram se a permanência de tecido cariado sobre o assoalho da cavidade poderia influenciar na tensão e deformação geradas na interface dente/restauração; concluíram que essa influência existe e que o local e a extensão da lesão influenciam os parâmetros que afetam as interações preenchimento-lesão e, portanto, o comportamento biomecânico do dente após a RSTC.

Estudos em dentes decíduos também demonstraram risco aumentado para falha de restauração quando foi utilizada a estratégia de RSTC [28, 29]. Ainda, Massa et al. (2022) [30] observaram eficácia semelhante entre restaurações de cimento de ionômero de vidro modificado por resina e resina composta bulk fill, após RSTC molares decíduos, em 18 meses de acompanhamento. No entanto, devido às diferenças entre dentes decíduos e permanentes, esses achados não devem ser extrapolados para a dentição permanente [5]. Diante desse contexto, considerando a pequena quantidade de estudos que avaliaram qualidade e longevidade de restaurações em dentes permanentes submetidos a RSTC, além do desfecho sensibilidade pulpar, o presente estudo buscou avaliar também a qualidade das restaurações.

Durante o período de dezoito meses de acompanhamento do presente estudo, nenhuma restauração falhou diante dos critérios clínicos analisados ou apresentou necessidade de substituição em ambos os grupos experimentais. Todas as restaurações analisadas apresentaram-se clinicamente como excelentes, boas ou satisfatórias. Portanto, não houve diferenças significativas na sobrevida das restaurações realizadas com a estratégia de RSTC em comparação com a RNSTC e com RGTC em duas etapas. Esses achados corroboram os de Casagrande et al. (2017) [31], que através de um estudo retrospectivo analisou restaurações com período de acompanhamento que variou de 6 até 36 meses de realização e concluíram não haver diferenças significativas na longevidade das restaurações relacionadas à estratégia de remoção de tecido cariado não seletiva ou seletiva. Jardim et al. (2020) [20] em estudo clínico

com análise de sobrevivência de 5 anos de restaurações, em relação à técnica de remoção, demonstrou taxas de sucesso semelhantes para os grupos RSTC e RGTC em duas etapas.

As evidências dispostas na literatura que demonstram superioridade da técnica de RSTC sobre a técnica tradicional [1, 12, 23], ou a ausência de diferença entre os tratamentos [21, 22, 24] como demonstrado no presente estudo, ressaltam um resultado satisfatório para estratégias restauradoras que visam à mínima intervenção. Embora a literatura tenha demonstrado evidências que apontam para a eficácia da técnica de RSTC, uma alta proporção dos profissionais ainda optam por técnicas de RNSTC, abordagens mais invasivas mesmo diante do risco aumentado de um maior número de exposições pulpares [13, 31-33].

É importante destacar que o presente estudo, apesar das limitações, demonstra pontos fortes, como: o desenho randomizado; o cegamento dos pacientes e do analisador quanto ao tratamento; a realização de todos os procedimentos por apenas dois operadores previamente treinados; a realização de todas as análises pelo mesmo analisador previamente calibrado. Além disso, o presente estudo incluiu dentes com comprometimento dentinário a partir de 2/3 de profundidade, não somente lesões a partir do terço mais interno da dentina. Como limitações deste estudo, houve a dificuldade de recrutamento de pacientes que atendessem aos critérios de inclusão, além da necessidade de colaboração dos pacientes para os retornos, gerando perdas de seguimento, dificuldades inerentes aos ensaios clínicos com essas características [34]. Dessa forma, decorrente das perdas para acompanhamento, aos 18 meses, não foram analisados a quantidade necessária de dentes estabelecida no cálculo amostral. No entanto, para minimizar essa limitação foi utilizada uma análise estatística de intenção de tratar.

A RSTC deve ser indicada em lesões profundas, haja vista que se trata de uma abordagem menos invasiva, capaz de maior preservação de estrutura dentária e que minimiza os riscos de exposição pulpar. Ainda, por ser realizada em sessão única, essa técnica também pode ser considerada mais custo efetiva [21, 35]. Para lesões de cáries com comprometimento de 2/3 do tecido dentinário, mesmo não existindo o risco de exposição pulpar, a preservação de tecido biológico associada a ausência de impacto sobre a longevidade das restaurações, poderiam indicar essa estratégia também para esse tipo de lesão, haja vista que atualmente em lesões moderadamente profundas ainda é recomendada a RNSTC, pois prioriza a longevidade da restauração [4]. No entanto, estudos são necessários com tempos de acompanhamento mais longos, além da necessidade de educação permanente dos cirurgiões-dentistas para aceitação da técnica.

CONCLUSÃO

Dentro dos limites desse estudo, pode-se concluir que a utilização da RSTC para a realização de restaurações de dentes permanentes com lesões cariosas envolvendo no mínimo 2/3 de tecido dentinário demonstrou ser efetiva quando comparada a RNSTC ou RGTC em duas etapas. Portanto, a RSTC pode ser indicada por ser uma abordagem que proporciona maior preservação de tecido dentário e minimiza os riscos de exposição pulpar. Ainda no presente estudo, a estratégia de remoção do tecido cariado não impactou na qualidade da restauração.

REFERÊNCIAS

1. Maltz M et al. (2018) Partial caries removal in deep caries lesions: a 5-year multicenter randomized controlled trial. *Clin Oral Invest*, 22(3):1337-1343. doi: 10.1007/s00784-017-2221-0.
2. Bjørndal L, Simon S, Tomson PL, Duncan HF (2019). Management of deep caries and the exposed pulp. *Int Endod J*, 52(7):949-973. doi: 10.1111/iej.13128.
3. Zandona AGF (2019). Surgical Management of Caries Lesions: Selective Removal of Carious Tissues. *Dent Clin North Am*, 63(4):705-713; doi: 10.1016/j.cden.2019.07.001.
4. Schwendicke F et al. (2016). Managing Carious Lesions: Consensus Recommendations on Carious Tissue Removal. *Adv Dent Res*, 28(2):58-67. doi: 10.1177/0022034516639271.
5. Barros MMAF et al. (2020). Selective, stepwise, or nonselective removal of carious tissue: which technique offers lower risk for the treatment of dental caries in permanent teeth? A systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Investig*, 24(2):521-532. doi: 10.1007/s00784-019-03114-5.
6. Schwendicke F, Frencken J, Innes N (eds) (2018): Caries Excavation: Evolution of Treating Cavitated Carious Lesions. *Monogr Oral Sci*. Basel, Karger, 27:32-41.; doi: 10.1159/000487829.
7. Conrads G, About I (2018). Pathophysiology of Dental Caries. *Monogr Oral Sci*, 27:1-10. doi: 10.1159/000487826.
8. Elhennawy K et al. (2021). Selective vs stepwise removal of deep carious lesions in primary molars: 24 months follow-up from a randomized controlled trial. *Clin Oral Investig*, 25(2):645-652. doi: 10.1007/s00784-020-03536-6. Epub 2020 Aug 28.
9. Innes et al. (2016). Managing Carious Lesions: Consensus Recommendations on Terminology. *Adv Dent Res*, 28(2): 49-57; doi: 10.1177/0022034516639276.
10. Bjørndal L (2018). Stepwise Excavation. *Monogr Oral Sci*, 27:68-81. doi: 10.1159/000487834.
11. Machiulskiene et al. (2020). Terminology of Dental Caries and Dental Caries Management: Consensus Report of a Workshop Organized by ORCA and Cariology Research Group of IADR. *Caries Res* 54(1):7-14; doi: 10.1159/000503309.
12. Maltz M et al. (2013) Partial Removal of Carious Dentine: A Multicenter Randomized Controlled Trial and 18-Month Follow-Up Results. *Caries Res*, 47:103–109 doi: 10.1159/000344013.
13. Schwendicke F, Göstemeyer G (2016) Understanding dentists' management of deep carious lesions in permanent teeth: a systematic review and meta-analysis *Implement Sci*, 19;11(1):142 doi: 10.1186/s13012-016-0505-4.

14. Kakudate N et al. (2019). Dentists' practice patterns of treatment for deep occlusal caries: findings from a dental practice-based research network. *J Dent* 84:76–80 doi: 10.1186/s13012-016-0505-4.
15. Hevinga MA et al. (2010). Does incomplete caries removal reduce strength of restored teeth? *J Dent Res*, 89(11):1270-5. doi: 10.1177/0022034510377790.
16. Schwendicke et al. (2014). Fracture resistance and cuspal deflection of incompletely excavated teeth. *J Dent.*,42(2):107-13. doi: 10.1016/j.jdent.2013.12.003.
17. Aïem E et al. (2020). Caries removal strategies for deep carious lesions in primary teeth: Systematic review. *Int J Paediatr Dent.*, 30(4):392-404 doi: 10.1111/ipd.12616.
18. Pereira JT et al. (2021). Pulp Vitality and Longevity of Adhesive Restorations Are Not Affected by Selective Carious Removal: A Multicenter Clinical Trial. *Caries Res.* 2021;55(1):55-62 doi: 10.1159/000510698.
19. Bani Hani A et al. (2021). Minimal intervention dentistry for managing carious lesions into dentine in primary teeth: an umbrella review. *Eur Arch Paediatr Dent.* doi: 10.1007/s40368-021-00675-6.
20. Jardim JJ et al. (2020). Restorations after selective caries removal: 5-Year randomized trial. *J Dent.*, 99:103416. doi: 10.1016/j.jdent.2020.103416.
21. Labib M et al. (2019). Selective versus stepwise removal of deep carious lesions in permanent teeth: a randomised controlled trial from Egypt-an interim analysis. *BMJ Open*, 9(9): e030957. doi: 10.1136/bmjopen-2019-030957.
22. Singh S, Mittal S, Tewari S (2019). Effect of Different Liners on Pulpal Outcome after Partial Caries Removal: A Preliminary 12 Months Randomised Controlled Trial. *Caries Res*, 53(5):547-554. doi: 10.1159/000499131.
23. Maltz M et al. (2012). Randomized trial of partial vs. stepwise caries removal: 3-year follow-up. *Caries Res*, 53(5):547-554. doi: 10.1159/000499131.
24. Rando-Meirelles MPM, Tôrres LHN, Sousa M (2013) Twenty-four months of follow-up after partial removal of carious dentin: a preliminary study. *Dentistry.* 3:21611122.1000162. doi.org/10.4172/2161-1122.1000162.
25. Li T; Zhai X; Song F, Zhu H (2018). Selective versus non-selective removal for dental caries: a systematic review and meta-analysis. *Acta Odontol Scand*, 76(2):135-140. doi: 10.1080/00016357.2017.1392602.
26. Silva PFD et al. (2018). Effect of selective carious tissue removal on biomechanical behavior of class II bulk-fill dental composite restorations. *Dent Mater*, 34(9):1289-1298. doi: 10.1016/j.dental.2018.05.014.
27. Weimman D (2021). Substantial regional differences in the biomechanical behavior of molar treated with selective caries tissue removal technique: a finite element study. *Dent Mater.*, 37(3): e162-e175. doi: 10.1016/j.dental.2020.11.008.

28. Pedrotti D (2019). Does selective carious tissue removal of soft dentin increase the restorative failure risk in primary teeth?: Systematic review and meta-analysis. *J Am Dent Assoc*, 150(7):582-590.e1. doi: 10.1016/j.adaj.2019.02.018.
29. Liberman et al. (2020). Survival of composite restorations after selective or total caries removal in primary teeth and predictors of failures: A 36-months randomized controlled trial. *J Dent.*, 93:103268. doi: 10.1016/j.jdent.2019.103268.
30. Massa MG et al. (2022). Use of bulk fill resin composite and universal adhesive for restoring primary teeth after selective carious tissue removal to soft dentin: A randomized clinical trial. *Am J Dent.*, 35(2):97-102.
31. Casagrande L et al. (2017). Longevity and associated risk factors in adhesive restorations of young permanent teeth after complete and selective caries removal: a retrospective study. *Clin Oral Investig.*, 21(3):847-855. doi: 10.1007/s00784-016-1832-1.
32. Oen KT et al. (2007). Atitudes e expectativas de tratamento de cárie profunda: uma pesquisa da Rede PEARL. *Gen Dent* 55:197-203.
33. Weber CM, Alves LS, Maltz M (2011). Decisões de tratamento para cárie profunda lesões no Serviço de Saúde Pública do Sul do Brasil. *J Saúde Pública Dent.*, 71:265-270.
34. Walsh M, Devereaux PJ, Sackett DL (2015). Clinician trialist rounds: 28. When RCT participants are lost to follow-up. Part 1: Why even a few can matter. *Clin Trials Lond Engl.*, 12(5):537–9.
35. Schwendicke F et al. (2013). Cost-effectiveness of one- and two-step incomplete and complete excavations. *J Dent Res.*, 92(10):880-7. doi: 10.1177/0022034513500792.

3.2 CAPÍTULO 2

Título do artigo: Identificação molecular de microrganismos potencialmente cariogênicos em amostras de dentina cariada de dentes permanentes.

Autores:

Ernanda Maria de Araújo SALES

(Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Universidade Federal do Ceará. Rua Alexandre Baraúna, 949, Rodolfo Teófilo, Fortaleza, Ceará, Brasil; ernandasalles@yahoo.com.br)

Myrna Maria Arcanjo Frota BARROS

(Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Ceará. Rua Conselheiro José Júlio, Sobral, Ceará, Brasil; myrnaarcanjo@ufc.br)

Pedro Henrique Acioly Guedes Peixoto VIEIRA

(Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Universidade Federal do Ceará. Rua Alexandre Baraúna, 949, Rodolfo Teófilo, Fortaleza, Ceará, Brasil; pedrohenriqueacioly@gmail.com)

Francisco Ruliglésio ROCHA

(Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Universidade Federal do Ceará. Rua Alexandre Baraúna, 949, Rodolfo Teófilo, Fortaleza, Ceará, Brasil; ruliorocha@hotmail.com)

Wanessa Fernandes Matias RÉGIS

(Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Universidade Federal do Ceará. Rua Alexandre Baraúna, 949, Rodolfo Teófilo, Fortaleza, Ceará, Brasil; wanessaregis1@gmail.com)

Francisco Wilker Mustafa Gomes MUNIZ

Departamento de Periodontia, Universidade Federal de Pelotas, Rua Gonçalves Chaves, 457, Centro, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil; wilkermustafa@gmail.com)

Lidiany Karla Azevedo RODRIGUES

(Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Universidade Federal do Ceará. Rua Alexandre Baraúna, 949, Rodolfo Teófilo, Fortaleza, Ceará, Brasil; lidianykarla@ufc.br)

AUTOR PARA CORRESPONDÊNCIA

Lidiany Karla Azevedo Rodrigues, Departamento de Odontologia Restauradora, Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem – Universidade Federal do Ceará, Rua Monsenhor Furtado, S/N, Rodolfo Teófilo, 60430-355, Fortaleza – Ce, Brazil. Telefone: (85)33668029; E-mail: lidianykarla@ufc.br.

RESUMO

Objetivo Identificar presença de diferentes microrganismos potencialmente cariogênicos (*Streptococcus spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus casei* grupo, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium spp.*) em amostras de DNA extraídas a partir lesões cáries dentinárias ativas moderadas e profundas em dentes permanentes. *Materiais e Métodos* Foram analisadas 47 amostras e utilizada através de reação em cadeia da polimerase (PCR) e os produtos amplificados na PCR foram analisados por eletroforese em gel de agarose. *Resultados* *Streptococcus spp.*, *Lactobacillus spp.* e *Bifidobacterium spp.* estavam presentes na maioria das amostras avaliadas, com porcentagens positivas de 95,7%, 93,6% e 93,6%, respectivamente. *S. mutans* estavam presentes em apenas 34% das lesões, enquanto *L. casei* grupo apresentou alta ocorrência (85,1%), assim como a espécie *L. rhamnosus* (80,9%). Ainda, foi observada a presença de *L. paracasei* e *L. acidophilus* em 59,6% e 68,1% das amostras analisadas, respectivamente. Para a profundidade das cavidades, nenhuma diferença significativa foi observada em relação a presença/ausência dos microrganismos, exceto para *L. rhamnosus* para os quais lesões profundas apresentaram uma chance 12,27 vezes maior de apresentar esse microrganismo quando comparadas a lesões de profundidade moderada. *Conclusões* Os achados do presente estudo sugerem que *Streptococcus spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *L. casei* grupo e *L. rhamnosus*, *L. paracasei* e *L. acidophilus* estão associados a lesões de cárie dentinária ativa em dentes permanentes, sendo demonstrada uma alta ocorrência desses microrganismos na composição da microbiota dessas lesões. No entanto, *S. mutans* apresentou baixa ocorrência em lesões dentinárias.

Palavras-chave: cárie dentária; dentina; reação em cadeia da polimerase; microbiota; lactobacillus.

INTRODUÇÃO

A definição da etiologia da doença cárie passou por diversas mudanças de paradigma no decorrer dos anos (Conrads; About, 2018). Inicialmente, era considerada uma doença causada por microrganismos inespecíficos, posteriormente, passou a ser considerada uma doença infecciosa causada por um microrganismo específico, e atualmente, uma abordagem ecológica-bacteriana mista é considerada responsável pelo início e patogênese da lesão (Philip; Suneja; Walsh, 2018).

Os biofilmes são comunidades tridimensionais de microrganismos que se localizam sobre uma superfície dura, como a superfície dental, sendo estes envoltos por uma matriz composta por exo-polissacarídeos (Zijngel et al., 2010). A produção de ácidos por microrganismos cariogênicos presentes no biofilme dental resulta em um desequilíbrio nos mecanismos fisiológicos de desmineralização e remineralização que ocorrem entre os dentes e o fluido do biofilme. Ainda, quando há uma superioridade na frequência de episódios de desmineralização, ocorre o surgimento das lesões cariosas (Karched et al., 2019; Balhaddad et al., 2019). Ademais, além da desmineralização do tecido duro através da acidificação prolongada, durante a progressão das lesões também ocorre a degradação da matriz orgânica do tecido dentinário (Takahashi; Nyvad, 2016).

Diante desse contexto, a cárie dentária pode ser definida como uma doença mediada por biofilme e modulada pela dieta (Takahashi; Nyvad, 2016; Machiulskiene et al., 2020). O consumo de carboidratos fermentáveis é essencial, pois além de ser substrato para a produção de ácidos, uma dieta cariogênica promove uma disbiose no biofilme (Marsh, 2018; Wen et al., 2022) ou seja, ocorre uma mudança de uma população equilibrada de microrganismos de baixa cariogenicidade, que eram compatíveis com saúde, selecionando microrganismos de alto potencial cariogênico (Zandona, 2019).

Durante muitas décadas, os microrganismos acidogênicos e acidúricos *Streptococcus mutans* foram considerados os responsáveis pela doença cárie. No entanto, outras espécies microbianas tem sido associadas às lesões de cárie e demonstrado participação no processo da doença, como lactobacilos e bifidobactérias (Conrads; About, 2018, Simón-Soro; Mira, 2015). Além disso, pesquisas envolvendo identificação molecular demonstram que o microbioma da cavidade oral é complexo, sendo composto por diversas comunidades microbianas que podem estar associadas e exercer algum papel na progressão da doença (Liu;

Wu; Abrams; Li, 2020). A introdução de estratégias de abordagens moleculares pode ser de extrema importância para estudar o microbioma oral, haja vista que o conhecimento atual dos microrganismos envolvidos no início e na progressão da cárie ainda não está bem estabelecido (Conrads; About, 2018). Dessa forma, destaca-se a importância da realização de estudos que visem avaliar os microrganismos envolvidos na patogênese da doença cárie. Ainda, é importante observar se são detectadas diferenças em relação a prevalência de diferentes microrganismos em diferentes profundidades de lesões de cárie dentinária, que poderiam impactar no gerenciamento dessas lesões.

O objetivo deste estudo foi detectar, através de identificação molecular, a presença de diferentes microrganismos em amostras de DNA extraídas a partir de lesões cariosas dentinárias ativas de dentes permanentes e analisar comparativamente a prevalência desses microrganismos de acordo com a profundidade da lesão.

A hipótese do estudo foi que seria observada a presença de diferentes microrganismos associados a lesões de cárie dentinária, que podem estar relacionados ao desenvolvimento da doença. Ainda, seriam demonstradas diferenças na ocorrência de alguns microrganismos relacionadas à profundidade das lesões cariosas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Delineamento do estudo

A presença dos diferentes microrganismos foi determinada mediante extração de DNA e análise através de PCR (reação em cadeia da polimerase). As amostras foram obtidas a partir de coleta durante a etapa de remoção de tecido cariado em procedimentos restauradores (CEP/UFC 1.610.785.).

Aspectos éticos

As amostras de dentina cariada que foram utilizadas no presente estudo foram coletadas e armazenadas anteriormente durante a execução do Projeto de Pesquisa: ENSAIO CLÍNICO CONTROLADO DA REMOÇÃO PARCIAL DE DENTINA CARIADA EM DENTES PERMANENTES COM LESÕES DE CÁRIE RASAS, MÉDIAS E PROFUNDAS.

Esse projeto foi realizado no Curso de Odontologia da Universidade Federal do Ceará, sendo aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa sob o parecer nº 1.610.785. Todos os participantes consentiram sua participação por meio da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e o estudo foi registrado no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos sob o número U1111-1221-4083.

Para uso dessas amostras para análises de biologia molecular, o presente estudo foi submetido à apreciação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará, sendo aprovado sob o parecer nº 4.853.444. Ainda, a pesquisa foi registrada no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen), sob o número de cadastro A4716A6.

Tipo de estudo

Trata-se de um estudo do tipo transversal e observacional. Os procedimentos experimentais de análise das amostras foram realizados no Laboratório de Pesquisa em Microbiologia Oral e no Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas (LACT) da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem (FFOE) da Universidade Federal do Ceará (UFC).

Coleta das amostras

As quarenta e sete amostras utilizadas no presente estudo foram coletadas durante a etapa de remoção de tecido cariado de um estudo prévio, sendo realizadas as coletas no período de fevereiro de 2017 a dezembro de 2018. As amostras eram provenientes de lesões cariosas dentinárias ativas em dentes permanentes com nível de avanço em dentina de no mínimo 2/3, sendo, portanto, incluídas lesões com característica de maior ou menor relação de proximidade com a polpa dentária. No presente estudo as lesões que apresentavam envolvimento de 2/3 da dentina (D2) foram consideradas moderadamente profundas e as lesões que estavam no terço interno da dentina (D3) foram denominadas profundas.

As amostras foram coletadas por dois operadores previamente treinados (EMAS e PHAGPV). Os procedimentos clínicos iniciavam com a anestesia, profilaxia e isolamento

absoluto do campo operatório. Em seguida, quando necessário foi realizado um acesso à cavidade com pontas diamantadas esféricas em alta rotação sob irrigação constante, previamente ao início da remoção do tecido cariado. A etapa de coleta foi realizada com a utilização de colheres de dentina nº 17, 18 ou 19 (Golgran, São Paulo, Brasil) e/ou brocas carbide nº CA2, CA4, CA6 ou CA8 (KG Sorensen, São Paulo, Brasil) e armazenadas em tubos para microcentrífuga (Eppendorf, Hamburgo, Alemanha) com 1 mL de solução estabilizadora de RNA (RNAprotect Bacteria Reagent®, Qiagen, Valencia, CA). Os tubos para microcentrífuga contendo as amostras foram armazenados em freezer -80° C, até o momento do processamento.

Extração de DNA das amostras de dentina cariada

As amostras de dentina cariada, previamente coletadas e armazenadas em RNA protect (RNAprotect Bacteria Reagent®, Qiagen, Valencia, CA) a -80°C, foram descongeladas, vortexadas por 60 seg e submetidas ao protocolo de extração de DNA. Para essa etapa, foi utilizado o InstaGene Matrix (Bio-Rad, Cat. 732-6030; Hercules, CA, E.U.A.) que consiste em uma solução com esferas microscópicas com carga superficial negativa que absorvem os produtos da lise celular (proteínas e debris celulares) que interferem no processo de amplificação pela PCR. Para extração do DNA das amostras de dentina foi utilizado o protocolo de preparação de DNA a partir de bactérias que é disponibilizado nas instruções do fabricante.

Inicialmente, foram acrescentados em tubos para microcentrífuga estéreis (Eppendorf, Hamburgo, Alemanha) 1 mL de água livre de nucleases (Invitrogen™ Life Technologies, Carlsbad, CA, E.U.A) e 250 µL da amostra, sendo submetidos a agitação em vortex por 10 segundos. Em seguida, os tubos foram colocados em centrífuga (Eppendorf microcentrifuge, Model 5415R, Hamburg, Alemanha) a 12.000 rpm durante 2 min, o sobrenadante foi removido e, 200 µL da matriz InstaGene (Bio-Rad 732-6030; Hercules, CA, E.U.A.) foi adicionado ao *pellet*. Após essa etapa, foram incubados em banho seco 56° C por 25 min (Loccus Biotecnologia, São Paulo, SP, Brasil), seguida de agitação em vórtex e incubação a 100 °C por 8 min. Posteriormente, foram vortexados em alta velocidade por 10 s e novamente submetidos a centrífuga (Eppendorf microcentrifuge, Model 5415R, Hamburgo, Alemanha) a 12.000 rpm por 3 min. Ainda, após a última centrifugação, o sobrenadante foi

transferido para outro tubo para microcentrífuga (Eppendorf, Hamburgo, Alemanha) (1,5 mL) estéril (2 coletas de 80 µL), e o DNA armazenado a -20 °C.

A concentração de DNA foi determinada por espectrofotometria em 260 nm utilizando um espectrofotômetro microvolume UV – vis (NanoDrop 1000, Thermo Scientific, Waltham MA, E.U.A). O DNA foi então novamente armazenado em -20° C para análises de PCR.

As reações em cadeia da polimerase (PCR)

As amostras de DNA obtidas a partir das amostras de tecido dentinário cariado, foram obtidas através do protocolo de extração detalhado acima. Ainda, foram analisadas para identificação de *Streptococcus spp.*, *S. mutans*, *Lactobacillus spp.*, *L. casei grupo*, *L. paracasei*, *L. rhamnosus*, *L. acidophilus* e *Bifidobacterium spp.*, sendo selecionados esses microrganismos, pois além de *S. mutans* que tradicionalmente foi considerado o principal causador da doença cárie, lactobacilos e bifidobactérias também foram isolados em lesões cariosas e relacionadas ao processo de doença (Conrads; About, 2018, Simón-Soro; Mira, 2015). Para as análises foi utilizada a técnica da PCR convencional e as reações foram preparadas em duplicata utilizando 22,5 µL do Platinum® PCR SuperMix (Invitrogen™ Life Technologies, Carlsbad, CA, E.U.A), 0,75 µL de cada primer e 2 µL de DNA das amostras. A tabela 1 apresenta a lista dos primers forward e reverse específicos que foram utilizados no estudo. DNA extraído, a partir das cepas *Streptococcus mutans* (UA 159), *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei* (ATCC 335), *L. rhamnosus* (ATCC53103), *L. acidophilus* (ATCC 4356) e *Bifidobacterium animalis subsp. lactisBB-12®* (Chr. Hansen) foi utilizado como controle positivo para testar a especificidade dos primers incluídos e água livre de nucleases foi utilizada em substituição ao DNA como controle negativo de contaminação.

Tabela 1. Primers utilizados na reação em cadeia da polimerase no presente estudo.

Finalidade	Sequência (5'-3')	Referência
<i>Streptococcus spp.</i>	F: GGATTTCCATTTCAACCAATTCAAGCAA R: ACATCCTTCTTTCACGTCAGGTTG	(Manmontri 2012)
<i>S. mutans</i>	F: ACTACACTTTCGGGTGGCTTGG R: CAGTATAAGCGCCAGTTTCATC	(Oho <i>et al.</i> 2000)
<i>Lactobacillus spp.</i>	F: AGCAGTAGGGAATCTTCCA R: CACCGCTACACATGGAG	(Rintilla <i>et al.</i> 2004)
<i>L. casei</i> grupo.	F: GCGGACGGGTGAGTAACACG R: GCTTACGCCATCTTTCAGCCAA	(Furet, Quéneé, & Tailliez, 2004)
<i>L. paracasei</i>	F: GTGCTTGCACCGAGATTCAACATG R: TGCGGTTCTTGGATCTATGCG	(Furet, Quéneé, & Tailliez, 2004)
<i>L. rhamnosus</i>	F: GTGCTTGCATCTTGATTTAATTTT R: TGCGGTTCTTGGATCTATGCG	(Furet, Quéneé, & Tailliez, 2004)
<i>L. acidophilus</i>	F: GATCGCATGATCAGCTTATA R: AGTCTCTCAACTCGGCTATG	(Furet, Quéneé, & Tailliez, 2004)
<i>Bifidobacterium spp.</i>	F: CGGGTGAGTAATGCGTGACC R: TGATAGGACGCGACCCCA	(Rintilla <i>et al.</i> 2004)

As reações de PCR foram realizadas no termociclador CFX96™ Real Time PCR Detection Systems (Bio-Rad 184-5096; sistema CFX96™ Touch, Hercules, CA, USA) de acordo com as condições especificadas pelos autores anteriormente identificados na Tabela 1.

Análise do DNA (gene amplificado)

Os produtos amplificados na PCR foram analisados por eletroforese em gel de agarose a 1,5% em tampão 1 x Tris-borato-EDTA (TBE) [0,1 M Tris; 0,09 M ácido bórico; 0,001 M EDTA (pH 8,0)]. Um marcador de peso molecular de 100 pb (Invitrogen™ Life Technologies, Carlsbad, CA, E.U.A) foi aplicado ao gel para dimensionar o tamanho dos fragmentos de DNA obtidos. As bandas de DNA foram coradas com SYBR Safe (1:10000 v/v) (Invitrogen™ Life Technologies, Carlsbad, CA, E.U.A), adicionado ao gel na fase de preparação, e visualizadas sob luz ultravioleta (320 nm) no transiluminador modelo L-PIX EX (Loccus Biotecnologia, São Paulo, SP, Brasil).

Análise estatística

Os dados obtidos foram tabulados no Microsoft Excel e exportados para o software SPSS, versão 26.0 (SPSS, versão 21.0, IBM Corp., Armonk, NY, EUA), no qual todas as análises foram realizadas. O desfecho primário do presente estudo foi a presença da espécie ou gênero bacteriano de cada uma das análises propostas, sendo eles *Streptococcus spp.*, *S. mutans*, *Lactobacillus spp.*, *L. casei grupo*, *L. paracasei*, *L. rhamnosus*, *L. acidophilus* e *Bifidobacterium spp.*

Os testes utilizados foram testes de Qui-quadrado ou exato de Fischer. Além disso, foi realizada regressão logística bivariada para análise de razão de chance e o intervalo de confiança de 95% para a associação entre a identificação de cada um dos microrganismos e a profundidade da cavidade (variável independente). Todas as análises foram realizadas considerando um valor de $p < 0,05$ como valor de referência para significância estatística.

RESULTADOS

Foram observadas a presença ou ausência de DNA dos seguintes microrganismos: *Streptococcus spp.*, *S. mutans*, *Lactobacillus spp.*, *L. casei grupo*, *L. paracasei*, *L. rhamnosus*, *L. acidophilus* e *Bifidobacterium spp.*, em 47 amostras de dentina cariada, sendo 23 amostras de lesões que apresentavam comprometimento de dois 2/3 externos da dentina (moderadamente profundas) e 24 amostras de lesões que apresentavam comprometimento do 1/3 ou 1/4 interno da dentina (profundas). A tabela 2 demonstra a identificação dos microrganismos nas amostras de dentina cariada avaliadas. Dentre as amostras analisadas, apenas duas pertencentes ao grupo de profundidade moderada não apresentavam *Streptococcus spp.* Além disso, a maioria das amostras (66%) foi negativa para *Streptococcus mutans*. Para *S. totais* ($p=0,234$) e *S. mutans* ($p=0,917$) não houve diferenças significativas em relação a presença desses microrganismos em relação as profundidades avaliadas. Apenas três amostras pertencentes ao grupo de profundidade moderada não apresentavam *Lactobacillus spp.*, enquanto na totalidade das amostras profundas esses microrganismos estavam presentes, sendo 93,6% das amostras analisadas positivas para o gênero *Lactobacillus*. Ainda, não houve diferença estatística entre os grupos moderadas e profundas ($p=0,109$). Para o grupo *Lactobacillus casei* foi observada diferença significativa ($p=0,048$) entre os grupos analisados. Além disso, na espécie *L. rhamnosus*, pertencente ao grupo *L. casei*, essa diferença também pode ser observada

($p=0,010$). No entanto, não foi observada para a espécie *L. paracasei* ($p=0,676$) que também faz parte desse grupo. Para *L. acidophilus* a diferença de presença/ausência em relação a profundidade das lesões não foi observada ($p=0,299$). A grande maioria das lesões (93,6%) apresentou *Bifidobacterium spp.*, sendo apenas duas amostras de lesões moderadas e uma amostra de lesões profundas negativas para esses microrganismos. Ainda, não foram observadas diferenças entre os grupos para esse microrganismo ($p=0,609$).

Tabela 2 – Identificação de microrganismos em amostras de dentina cariada

	Moderadas N=23; 48,9%	Profundas N=24; 51,1%	Valor de p
<i>Streptococcus totais</i>			
Negativo	2 (8,7%)	0 (0,0)	0,234#
Positivo	21 (91,3)	24 (100,0)	
<i>Streptococcus mutans (gftB)</i>			0,917*
Negativo	15 (65,2)	16 (66,7)	
Positivo	8 (34,8)	8 (33,3)	
<i>Lactobacillus ssp.</i>			0,109#
Negativo	3 (13,0)	0 (0,0)	
Positivo	20 (87,0)	24 (100,0)	
<i>Lactobacillus casei grupo</i>			0,048#
Negativo	6 (26,1)	1 (4,2)	
Positivo	17 (73,9)	23 (95,8)	
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>			0,010#
Negativo	8 (34,8)	1 (4,2)	
Positivo	15 (65,2)	23 (95,8)	
<i>Lactobacillus paracasei</i>			0,676*
Negativo	10 (43,5)	9 (37,5)	
Positivo	13 (56,5)	15 (62,5)	
<i>Lactobacillus acidophilus</i>			0,299*
Negativo	9 (39,1)	6 (25,0)	
Positivo	14 (60,9)	18 (75,0)	
<i>Bifidobacterium spp.</i>			0,609#
Negativo	2 (8,7)	1 (4,2)	
Positivo	21 (91,3)	23 (95,8)	

Legenda: *Qui-quadrado; # Teste exato de Fischer.

A análise de regressão logística bivariada para avaliação de razão de chance para a associação entre a identificação de cada um dos microrganismos e a variável profundidade da cavidade pode ser visualizada na tabela 3. Para essa análise, apenas foi observada razão de chance aumentada para *L. rhamnosus*, haja vista que as cavidades profundas apresentaram uma chance 12,27 vezes maior de abrigar os *L. rhamnosus* quando comparadas com as cavidades moderadas. Para a profundidade das cavidades, nenhuma outra associação significativa foi identificada.

Tabela 3 – Avaliação da razão de chances da presença de microrganismos em amostras de dentina cariada

	POSITIVO	NEGATIVO	Razão de chance (valor de p)
<i>Streptococcus totais</i>	N=45; 95,7% MODERADA - 21(46,7) PROFUNDA - 24 (53,3)	N=2; 4,3% MODERADA - 2 (100,0) PROFUNDA - 0 (0,0)	Não estimado
<i>Streptococcus mutans</i>	N=16; 34,0% MODERADA - 8 (50,0) PROFUNDA - 8 (50,0)	N=31; 66,0% MODERADA - 15 (48,4) PROFUNDA - 16 (51,6)	1 0,94 (0,28 – 3,13) p=0,917
<i>Lactobacillus spp.</i>	N=44; 93,6% MODERADA - 20 (45,5) PROFUNDA - 24 (54,5)	N=3; 6,4% MODERADA - 3 (100,0) PROFUNDA - 0 (0,0)	Não estimado
<i>Lactobacillus casei grupo</i>	N=40; 85,1% MODERADA - 20 (45,5) PROFUNDA - 24 (54,5)	N=7; 14,9% MODERADA - 6 (85,7) PROFUNDA - 1 (14,3)	1 8,12 (0,89 – 73,84) p=0,063
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	N=38; 80,9% MODERADA - 15 (39,5) PROFUNDA - 23 (60,5)	N=9; 19,1% MODERADA - 8 (88,9) PROFUNDA - 1 (11,1)	1 12,27 (1,39 – 108,33) p=0,024
<i>Lactobacillus paracasei</i>	N=28; 59,6% MODERADA - 13 (46,4) PROFUNDA - 15 (53,6)	N=19; 40,4% MODERADA - 10 (52,6) PROFUNDA - 9 (47,4)	1 1,28 (0,40 – 4,12) p=0,677
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	N=32; 68,1% MODERADA - 14 (43,8) PROFUNDA - 18 (56,2)	N=15; 31,9% MODERADA - 9 (60,0) PROFUNDA - 6 (40,0)	1 1,93 (0,55 – 6,71) p=0,302
<i>Bifidobacterium spp.</i>	N=44; 93,6% MODERADA - 21 (47,7) PROFUNDA - 23 (52,3)	N=3; 6,4% MODERADA - 2 (66,7) PROFUNDA - 1 (33,3)	1 2,19 (0,19 – 25,96) p=0,534

DISCUSSÃO

Diante dos resultados analisados, a hipótese do estudo foi aceita, haja vista que foi observada a ocorrência dos microrganismos avaliados nas amostras de dentina cariada. No entanto, a presença desses microrganismos não foi observada em todas as lesões, bem como a quantidade de lesões que apresentou resultado positivo variou nos diferentes microrganismos. Ainda, foi observada diferença em relação à profundidade das lesões, porém apenas para *L. rhamnosus*.

A microbiota da placa cariogênica caracteriza-se pelo aumento de microrganismos acidogênicos e acidúricos, esses microrganismos incluem, dentre outros microrganismos, estreptococos, lactobacilos e bifidobactérias (Wen et al., 2022). Esses três gêneros foram analisados quanto a presença/ausência em amostras de dentina no presente estudo, sendo *Streptococcus spp.*, *Lactobacillus spp.* e *Bifidobacterium spp.* Esses microrganismos demonstraram-se presentes na maioria das amostras avaliadas, com porcentagens positivas de 95,7%, 93,6% e 93,6% para os três gêneros citados, respectivamente.

Kianoush et al. (2014) demonstraram que *Lactobacillus spp.* e *Bifidobacterium spp.* são gêneros abundantes em cáries dentinárias. O que corrobora com o presente estudo, pois esses gêneros estavam presentes em mais de 90% das lesões avaliadas.

Para análise de presença de *S. mutans*, foram observadas apenas 34% de amostras positivas, o que corrobora com estudos de Bjørndal e Larsen (2000), Gross et al. (2010), Belda-Ferre et al. (2012), Simón-Soro et al. (2013) Kianoush et al. (2014) e Obata et al. (2014) que sugerem baixa prevalência de *S. mutans* em lesões de cárie dentinária. No entanto, nos estudo de Neves et al. (2017) e Munson; Barnejee; Watson e Wade (2004) foram encontrados resultados diferentes, nos quais todas as amostras analisadas apresentavam *S. mutans*, sendo amostras provenientes de dentes decíduos (Neves et al., 2017) e permanentes (Munson; Barnejee; Watson; Wade, 2004). Aas et al. (2008) demonstraram que 10% dos indivíduos com cárie rampante em dentes permanentes não apresentaram níveis detectáveis de *S. mutans*, além disso, sugeriram que esse microrganismo pode ter um papel mais dominante em cáries dentinárias de decíduos do que em permanentes. Ainda, destacaram que os perfis bacterianos sofrem alteração com a progressão da doença e diferem da dentição decídua para a permanente (Aas et al., 2008). Durante muito tempo, *S. mutans* tem sido o principal agente associado a cárie dentária. No entanto, estudos recentes baseados em DNA e RNA de lesões de cárie têm demonstrado um ecossistema extremamente diversificado onde *S. mutans* representa apenas uma pequena fração da comunidade bacteriana (Simón-Soro; Mira, 2015).

Simón-Soro et al. (2013) através de análise metagenômica sugeriram que a composição microbiana é tecido dependente, ou seja, a microbiota associada a cárie em esmalte é significativamente diferente daquela presente em estágios subsequentes de comprometimento da dentina. Ademais, essa diferença também foi observada em relação ao perfil funcional das comunidades bacterianas. *Lactobacillus spp.* estão associados ao desenvolvimento de lesões de cárie em adultos e crianças (Wen et al., 2022). No entanto, esses microrganismos não apresentam aderência efetiva a superfície dentária, sendo necessários outros colonizadores

primários, bem como nichos que possibilitem retenção para a colonização sustentada por esses microrganismos. Como pode ser observado no estudo de Dige et al. (2014) no qual *Lactobacillus spp.* não foram observados em biofilme de sítios clinicamente saudáveis ou não cavitados. Dessa forma, não demonstram associação importante ao início da cárie, mas com a progressão da lesão (Gross et al. 2010; Simón-Soro et al., 2013; Takahashi; Nyvad, 2016; Conrads; About, 2018). O que ressalta os achados do presente estudo, haja vista que esses microrganismos estavam presentes na grande maioria das lesões dentinárias analisadas. Ademais, muitas cepas de *Lactobacillus spp.* da cavidade oral podem apresentar genes que codificam proteínas de ligação ao colágeno tipo I, principal componente orgânico da dentina (Caufield et al., 2015). Enquanto, apenas cerca de 10% a 20% dos isolados de *S. mutans* contêm os genes *cnm* e *cbm* que codificam a proteína de ligação ao colágeno. (Nomura et al., 2020; Wen et al., 2022).

O grupo taxonômico *L. casei* é composto por espécies como *L. casei*, *L. paracasei* e *L. rhamnosus* (Hill et al., 2019). *L. casei* grupo demonstrou alta prevalência em cáries dentinárias em dentes decíduos de crianças com cárie precoce na infância (CPI) (Neves et al., 2017; Reis et al., 2021). Ainda, Reis et al. (2021) demonstraram que as espécies *L. paracasei* e *L. rhamnosus* fazem parte da comunidade metabolicamente ativa dessas lesões. Esses resultados, assemelham-se aos achados do presente estudo, haja vista que o grupo *L. casei* estava presente em 85,1% das amostras analisadas. Entre as espécies, houve maior ocorrência de *L. rhamnosus* comparado à *L. paracasei* com porcentagens de 80,9% e 59,6% de amostras positivas, respectivamente. Além da alta porcentagem de amostras positivas para *L. rhamnosus*, foi observada uma razão de chance aumentada de 12,27 vezes maior de presença em lesões profundas quando comparadas as moderadas. Outros estudos também identificaram *L. rhamnosus* como uma espécie muito prevalente em dentes permanentes (Bjørndal; Larsen, 2000; Munson; Barnejee; Watson; Wade, 2004) e decíduos (Kneist et al, 2010). Em contrapartida, Damé-Teixeira et al. (2021) em um estudo no qual analisaram a presença e caracterização de lactobacilos em amostras de dentina cariada antes e após o selamento cavitário de dentes submetidos a remoção seletiva de tecido cariado, observaram que nas amostras iniciais a espécie *L. paracasei* foi a mais prevalente e permaneceu com alta prevalência mesmo após o selamento da cavidade. No entanto, após esse período, houve prevalência semelhante entre *L. rhamnosus* e *L. paracasei*. É importante ressaltar que tem sido observada redução significativa na contagem de microrganismos após o selamento em estudos que comparam microbiota antes e após a restauração das cavidades (Bjørndal; Larsen, 2000;

Bitello-Firmino et al., 2018; Damé-Teixeira et al., 2021). Além disso, algumas cepas permaneceram viáveis mesmo após o período de 3 meses independente da estratégia de remoção de tecido cariado utilizada (Bitello-firmino et al., 2018; Damé-Teixeira et al., 2021). Ainda, Kneist et al. (2010) observaram presença de *L. rhamnosus* em uma avaliação de 11 meses após a escavação de tecido cariado e selamento em dentes decíduos. Os autores sugerem que *L. rhamnosus* poderiam apresentar alguma vantagem seletiva associada a capacidade de produzir uma cápsula de polissacarídeos extracelulares através da qual poderia propiciar alguma proteção diante das mudanças ambientais (Kneist et al., 2010). Ainda, Kianoush et al. (2014) encontraram *L. rhamnosus* como uma espécie que fazia parte de uma microbiota presente e associada a faixas de pH mais ácido.

Além de espécies pertencentes ao grupo *L. casei*, também foi analisada a presença/ausência de *L. acidophilus*, sendo observada presença em 68,1% de amostras positivas, sendo semelhante a porcentagem encontrada para *L. paracasei*. Bjørndal e Larsen (2000) identificaram presença de *L. acidophilus* em amostras de dentina cariada em lesões profundas de dentes permanentes, porém os autores utilizaram cultura para identificação de microrganismos. Ainda, Neves et al. (2017) observaram que embora presentes em pequena quantidade, o mesmo foi relacionado com a atividade da lesão dentinária em decíduos, pois estava ausente em todas as amostras de lesões inativas do referido estudo.

Assim como lactobacilos, microrganismos altamente acidúricos como as bifidobactérias são mais relacionadas a progressão das lesões, haja vista que as mesmas não costumam colonizar superfícies dentárias intactas (Beighton et al., 2010), sendo necessário que previamente a lesão tenha sido iniciada por outras espécies (Conrads; About, 2018). Alguns estudos relataram detectar presença de bifidobactérias em lesões dentinárias (Munson; Barnejee; Watson; Wade, 2004; Chhourk et al. 2005; Aas et al., 2008; Simón-Soro et al. 2013). Beighton et al. (2010) determinaram altos níveis salivares de bifidobactérias relacionados positivamente com quantidade de superfícies cariadas ou restauradas em indivíduos idosos. No entanto, Neves et al. (2017) demonstraram baixa proporção de *Bifidobacterium spp.* em dentina cariada de dentes decíduos, porém proporção significativamente maior foi observada quando consideraram apenas lesões ativas. Esses achados corroboram com o estudo de Dige et al. (2014) que relacionou a presença de bifidobactérias no biofilme apenas de sítios com cárie ativa. Ainda, Neves et al. (2017) observaram uma associação positiva entre presença de *L. casei* e *Bifidobacterium spp.* Esses dados corroboram com o presente estudo, pois foi observada uma

alta ocorrência desses microrganismos (93,6%), no entanto, foram analisadas apenas lesões ativas, bem como foram analisadas amostras provenientes de dentes permanentes.

Foi observado a presença de DNA de todos os microrganismos analisados, com exceção do *S. mutans* em lesões dentinárias ativas em pelo menos 59,6% das amostras avaliadas. Além disso, não houve diferença para a profundidade da lesão, ou seja, a partir de 2/3 de comprometimento dentinário a prevalência para os microrganismos analisados não demonstrou apresentar diferença significativa quando comparadas a lesões no 1/3 interno, com exceção de *L. rhamnosus* que apresentou razão de chance maior de presença em lesões profundas.

Liu et al. (2020) através de análise metagenômica avaliou amostras de dentina cariada de camadas superficiais e profundas coletadas das mesmas lesões, porém o estudo não demonstrou uma diferença significativa nos táxons bacterianos e abundância relativa entre as camadas superficial e profunda de cárie em dentina avançada. Em contrapartida, o presente estudo não buscou comparar as camadas de uma mesma lesão, mas sim analisou comparativamente a microbiota de lesões com profundidades diferentes. Além disso, foi utilizada amostra de tecido dentinário para as análises, que é proposto como mais adequado para analisar microbiota de cárie, haja vista que amostras de biofilme ou saliva podem não demonstrar o verdadeiro perfil microbiano das lesões (Simón-Soro; Mira, 2015).

Estudos utilizando análises moleculares são de extrema importância para caracterizar a composição da microbiota associada a doença cárie em seus diferentes estágios, haja vista que a imagem e a compreensão global dos microrganismos que estão envolvidos na iniciação e progressão dessa doença polimicrobiana ainda é bastante incompleta (Conrads; About, 2018). Ainda, por ser uma doença que demonstra uma microbiota extremamente complexa e diversificada seria importante analisar outros gêneros e espécies de microrganismos que pudessem estar envolvidos na patogênese da doença. Dessa forma, é importante a realização de mais estudos para esclarecer a dinâmica e relação dos microrganismos que compõem essa microbiota e sua relação com a doença cárie.

CONCLUSÃO

Os achados do presente estudo demonstraram que os gêneros *Streptococcus spp.*, *Lactobacillus spp.* e *Bifidobacterium spp.* estão associados a lesões de cárie dentinária ativa em

dentos permanentes, sendo demonstrada uma ocorrência significativa na composição da microbiota dessas lesões. No entanto, os resultados sugerem menor associação de *S. mutans* com lesões de cárie dentinária ativa, pois foi observada baixa ocorrência desses microrganismos comparados aos outros analisados. Além disso, grupo *L. casei* parece ter importante relação com lesões de cárie dentinária ativa, sendo a espécie *L. rhamnosus* a que demonstrou maior ocorrência. Ainda, lesões profundas tiveram mais chance de apresentar *L. rhamnosus* do que lesões de profundidade moderada.

REFERÊNCIAS

1. Conrads G, About I (2018). Pathophysiology of Dental Caries. *Monogr Oral Sci*, 27:1-10.
2. Philip N., Suneja B., Walsh L (2018). Beyond *Streptococcus mutans*: clinical implications of the evolving dental caries aetiological paradigms and its associated microbiome. *British Dental Journal*, v. 224, n. 4, p. 219-22.
3. Zijng V. et al (2010). Oral biofilm architecture on natural teeth. *PLoS One*, v. 5; n.2, e9321. 8–282.
4. Karched M; Ali D; Ngo H (2019). In vivo antimicrobial activity of silver diammine fluoride on carious lesions in dentin. *Journal of Oral Science*, p. 1-6.
5. Balhaddad AA et al (2019). Toward dental caries: Exploring nanoparticle-based platforms and calcium phosphate compounds for dental restorative materials. *Bioactive Materials*, v. 18, n. 4, p. 43-55.
6. Takahashi N., Nyvad B (2016). Ecological Hypothesis of Dentin and Root Caries. *Caries Research*, v. 50, n. 4, p. 422-431.
7. Machiulskiene V et al (2020). Terminology of Dental Caries and Dental Caries Management: Consensus Report of a Workshop Organized by ORCA and Cariology Research Group of IADR. *Caries Res*, v. 54, n. 1, p:7-14.
8. Marsh PD (2018). In Sickness and in Health-What Does the Oral Microbiome Mean to Us? An Ecological Perspective. *Adv Dent Res*, v. 29, n. 1, p:60-65.
9. Wen ZT et al (2022). Lactobacilli and human dental caries: more than mechanical retention. *Microbiology (Reading)*, 168(6).
10. Zandona AGF (2019). Surgical Management of Caries Lesions: Selective Removal of Carious Tissues. *Dent Clin North Am*, 63(4):705-713.
11. Simón-soro A, Mira A (2015). Solving the etiology of dental caries. *Trends in Microbiology*, v. 23, n. 2, p. 76-82.
12. Liu G., Wu C., Abrams W.R., Li Y (2020). Structural and Functional Characteristics of the Microbiome in Deep-Dentin Caries. *Journal of Dental Research*, v. 99, n.6, p. 713-720.
13. Manmontri C et al. (2012). Real-time quantitative PCR for evaluation of mutans streptococci and dental caries [Maters]. ProQuest Dissertations Publishing: Pediatric Dentistry, University of Alabama at Birmingham.
14. Oho T et al. (2000). Simple and rapid detection of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in human saliva by polymerase chain reaction. *Oral Microbiology and Immunology*, v.15, p.258–262.

15. Rintilla T et al. (2004). Development of an extensive set of 16S rDNA- targeted primers for quantification of pathogenic and indigenous bacteria in faecal samples by real-time PCR. *Journal of Applied Microbiology*, v. 97, p. 1166-1177.
16. Furet J; Quéneé P; Tailliez P (2004). Molecular quantification of lactic acid bacteria in fermented milk products using real-time quantitative PCR. *International Journal of Food Microbiology*, v. 97, p. 197-207.
17. Kianoush N et al. (2014). Bacterial profile of dentine caries and the impact of pH on bacterial population diversity. *PLoS One*, v. 9, n.3, e92940.
18. Bjørndal L & Larsen T (2000). Changes in the cultivable flora in deep carious lesions following a stepwise excavation procedure. *Caries Res*, v. 34, n. 6, p:502-8.
19. Gross et al. (2010). Bacterial 16S sequence analysis of severe caries in young permanent teeth. *J Clin Microbiol*, v. 48, n. 11, p:4121-8.
20. Belda-Ferre P et al. (2012). The oral metagenome in health and disease. *ISME J*, v. 6, n. 1, p: 46-56.
21. Simón-Soro A et al. (2013). A Tissue-Dependent Hypothesis of Dental Caries. *Caries Res*, v. 47, n. 6, p:591-600.
22. Obata J et al. (2014) Identification of the microbiota in carious dentin lesions using 16S rRNA gene sequencing. *PLoS One*, v. 9, n. 8, e103712, 2014.
23. Neves BG et al. (2017). Molecular detection of bacteria associated to caries activity in dentinal lesions. *Clin Oral Investig*, v. 21, n. 6, p:2053-2061.
24. Munson MA; Barnejee A; Watson TF; Wade WG (2004). Molecular analysis of the microflora associated with dental caries. *J Clin Microbiol*, v. 42, n. 7, p:3023-9.
25. Aas JA et al. (2008). Bacteria of dental caries in primary and permanent teeth in children and young adults. *J Clin Microbiol*, v. 46, n. 4, p: 1407-17.
26. Dige I, Grønkjær L, Nyvad B (2014). Molecular studies of the structural ecology of natural occlusal caries. *Caries Res*, v. 48, n. 5, p: 451-60.
27. Caufield PW et al. (2015). Oral Lactobacilli and Dental Caries: A Model for Niche Adaptation in Humans. *J Dent Res*, v.94, n. (9 Suppl):110S-8S.
28. Nomura R et al. (2020). Potential involvement of *Streptococcus mutans* possessing collagen binding protein Cnm in infective endocarditis. *Sci Rep*, v. 10, n. 1, p:19118.
29. Hill D et al. (2019). The *Lactobacillus casei* Group: History and Health Related Applications. *Front Microbiol*, v. 9:2107.

30. Reis ACM et al. (2021). Quantification and gene expression of *Lactobacillus casei* group species associated with dentinal lesions in early childhood caries. *Saudi Dent J*, v. 33, n. 2, p: 69-77.
31. Kneist S et al. (2010). Diversity of *Lactobacillus* species in deep carious lesions of primary molars. *Eur Arch Paediatr Dent*, v. 11, n. 4, p: 181-6.
32. Damé-Teixeira N et al. (2021). Characterization of *Lactobacilli* isolated from carious dentin after selective caries removal and cavity sealing. *Arch Oral Biol*, v. 121: 104988.
33. Bitello-Firmino L et al. (2018). Microbial Load After Selective and Complete Caries Removal in Permanent Molars: A Randomized Clinical Trial. *Braz Dent J*, v. 29, n. 3, p: 290-295.
34. Beighton D et al. (2010). Oral Bifidobacteria: Caries-associated Bacteria in Older Adults. *J Dent Res*, v. 89, n. 9, p: 970-4.
35. Chhourk KL et al. (2005). Molecular analysis of microbial diversity in advanced caries. *J Clin Microbiol*, v. 43, n. 2, p: 843-9.

4 CONCLUSÕES GERAIS

- O ensaio clínico randomizado utilizando o comparativo entre remoção seletiva de tecido cariado e remoção não seletiva, em um período de acompanhamento de 18 meses, demonstrou que não houve diferença entre os grupos em relação a manutenção de sensibilidade pulpar e qualidade e longevidade das restaurações. Dessa forma, corrobora com a literatura no que concerne a ausência de necessidade de abordagens de remoção de tecido cariado mais invasivas para obtenção de sucesso restaurador. Dessa forma, reforça a indicação da remoção seletiva de tecido cariado para realização de procedimentos restauradores em lesões cariosas com envolvimento de no mínimo 2/3 do tecido dentinário.
- O estudo sobre identificação molecular de microrganismos que compõem a microbiota de lesões dentinárias ativas em dentes permanentes com comprometimento mínimo de 2/3 do tecido dentinário, demonstrou que os gêneros avaliados *Streptococcus spp.*, *Lactobacillus spp.* e *Bifidobacterium spp.* apresentaram alta ocorrência nas lesões analisadas demonstrando associação com a progressão das lesões cariosas. Apesar da alta prevalência de *Streptococcus spp.* nas lesões dentinárias, o mesmo não foi observado para a *S. mutans*, haja vista que os mesmos apresentaram baixa ocorrência sugerindo maior associação desses microrganismos com fases mais iniciais da doença. Ademais, *Lactobacillus casei* grupo também apresentaram alta ocorrência, bem como as espécies *L. paracasei*, *L. rhamnosus*, *L. acidophilus*, sendo *L. rhamnosus* a de maior ocorrência dentre as espécies analisadas. Em relação a profundidade das lesões não foram observadas diferenças na presença/ausência dos microrganismos analisados na composição da microbiota, exceto para *L. rhamnosus* que foi mais prevalente em lesões profundas do que em lesões moderadas.

REFERÊNCIAS GERAIS

1. KALE S; KAKODKAR P; SHETIYA S; ABDULKADER R. Prevalence of dental caries among children aged 5-15 years from 9 countries in the Eastern Mediterranean Region: a meta-analysis. **East Mediterr Health J**, v. 26, n. 6, p. 726-735, 2020.
2. KAZEMINIA M et al. Dental caries in primary and permanent teeth in children's worldwide, 1995 to 2019: a systematic review and meta-analysis. **Head Face Med**, v. 16, n.1, p. 1-22, 2020.
3. SAMPAIO FC et al. Dental caries prevalence, prospects, and challenges for Latin America and Caribbean countries: a summary and final recommendations from a Regional Consensus. **Braz Oral Res**, v. 28, n.35, (suppl 01): e056, 2021.
4. SIDDIQUI AA et al. Prevalence of dental caries in Pakistan: a systematic review and meta-analysis. **BMC Oral Health**, v. 21, n. 1, p.450, 2021.
5. PITTS NB et al. Dental Caries. **Nat Rev Dis Primers**, v.3:17030, 2017.
6. OBATA J et al. Identification of the microbiota in carious dentin lesions using 16S rRNA gene sequencing. **PLoS One**, v. 9, n. 8, e103712, 2014.
7. FUNAHASHI K et al. Functional dysbiosis within dental plaque microbiota in cleft lip and palate patients. **Prog Orthod**, v. 20, n.1:11, 2019.
8. CONRADS G, ABOUT I. Pathophysiology of Dental Caries. **Monogr Oral Sci**, v. 27:1-10, 2018.
9. AAS JA et al. Bacteria of dental caries in primary and permanent teeth in children and young adults. **J Clin Microbiol**, v. 46, n. 4, p: 1407-17, 2008.
10. KIANOUSH N et al. Bacterial profile of dentine caries and the impact of pH on bacterial population diversity. **PLoS One**, v. 9, n.3, e92940, 2014.
11. KLEINBERG I. A mixed-bacteria ecological approach to understanding the role of the oral bacteria in dental caries causation: an alternative to *Streptococcus mutans* and the specific-plaque hypothesis. **Crit Rev Oral Biol Med**, v. 13, n. 2, p:108-25, 2002.
12. MARSH PD. In *Sickness and in Health-What Does the Oral Microbiome Mean to Us? An Ecological Perspective*. **Adv Dent Res**, v. 29, n. 1, p:60-65, 2018.
13. DU Q et al. Sucrose promotes caries progression by disrupting the microecological balance in oral biofilms: an in vitro study. **Sci Rep**, v. 10, n. 1:2961, 2020.
14. WEN ZT et al. Lactobacilli and human dental caries: more than mechanical retention. **Microbiology (Reading)**, 168(6), 2022.

15. MACHIULSKIENE V et al. Terminology of Dental Caries and Dental Caries Management: Consensus Report of a Workshop Organized by ORCA and Cariology Research Group of IADR. **Caries Res**, v. 54, n. 1, p:7-14, 2020.
16. SIMÓN-SORO A; MIRA A. Solving the etiology of dental caries. **Trends in Microbiology**, v. 23, n. 2, p: 76-82, 2015.
17. MIRA A. Oral Microbiome Studies: Potential Diagnostic and Therapeutic Implications. **Adv Dent Res**, v. 29, n. 1, p:71-77, 2018.
18. LIU G; WU C; ABRAMS WR; LI Y. Structural and functional characteristics of the microbiome in deep-dentin caries. **Journal of Dental Research**, v. 99, n.6, p: 713-720, 2020.
19. WEBER M et al. Redefining the Phenotype of Dental Caries. **Caries Res**, v. 52, n. 4, p:263-271, 2018.
20. TAKAHASHI N; NYVAD B. Ecological Hypothesis of Dentin and Root Caries. **Caries Res**, v. 50, n. 4, p:422-31, 2016.
21. SLIMANI A et al. Multiphoton Microscopy for Caries Detection with ICDAS Classification. **Caries Res**, v. 52, n. 5, p:359-366, 2018.
22. SIMÓN-SORO A et al. A Tissue-Dependent Hypothesis of Dental Caries. **Caries Res**, v. 47, n. 6, p:591-600, 2013.
23. MAZZONI A et al. Role of Dentin MMPs in Caries Progression and Bond Stability. **J Dent Res**, v. 94, n. 2, p:241-51, 2015.
24. SCHWENDICKE F et al. When to intervene in the caries process? An expert Delphi consensus statement. **Clin Oral Investig**, v. 23, n. 10, p:3691-3703, 2019.
25. SCHWENDICKE F; FRENCKEN J, INNES N. Clinical Recommendations on Carious Tissue Removal in Cavitated Lesions. **Monogr Oral Sci**, 27:162-166, 2018.
26. SELWITZ RH; ISMAIL AI, PITTS NB. Dental caries. **Lancet**, v. 369, n. 9555, p:51-9, 2007.
27. DALLI M, ÇOLAK H, HAMIDI MM. Minimal intervention concept: a new paradigm for operative dentistry. **J Investig Clin Dent**, v. 3, n. 3:167-75, 2012.
28. SCHWENDICKE F et al. Managing Carious Lesions: Consensus Recommendations on Carious Tissue Removal. **Adv Dent Res**, v. 28, n. 2, p:58-67, 2016.
29. BANERJEE A, DOMÉJEAN S. The contemporary approach to tooth preservation: minimum intervention (MI) caries management in general practice. **Prim Dent J.**, v. 2, n. 3, p:30-37, 2013.
30. ERICSON D. The concept of minimally invasive dentistry. **Dent Update**, v. 34, n. 1, p:9-10, 12-4, 17-8, 2007.

31. FRENCKEN JE et al. Minimal intervention dentistry for managing dental caries - a review: report of a FDI task group. **Int Dent J**, v. 62, n. 5, p:223-43, 2012.
32. GREEN D; MACKENZIE L, BANERJEE A. Minimally Invasive Long-Term Management of Direct Restorations: the '5 Rs'. **Dent Update**, v. 42, n. 5, p:413-6, 419-21, 423-6, 2015.
33. ASKAR H et al. Secondary caries: what is it, and how it can be controlled, detected, and managed? **Clin Oral Investig**, v. 24, n. 5, p:1869-1876.
34. PITTS NB et al. From 'ICDAS' to 'CariesCare International': the 20-year journey building international consensus to take caries evidence into clinical practice. **Br Dent J**, v. 231, n. 12, p:769-774, 2021.
35. ISMAIL AI et al. The International Caries Detection and Assessment System (ICDAS): an integrated system for measuring dental caries. **Community Dent Oral Epidemiol**, v. 35, n. 3, p:170-8, 2007.
36. DIKMEN B. Icdas II criteria (international caries detection and assessment system). **J Istanb Univ Fac Dent**, v. 49, n. 3, p:63-72, 2015.
37. BANERJEE A; FRENCKEN JE; SCHWENDICKE F, INNES NPT. Contemporary operative caries management: consensus recommendations on minimally invasive caries removal. **Br Dent J**, v. 223, n. 3, p:215-222, 2017.
38. BITELLO-FIRMINO et al. Microbial Load After Selective and Complete Caries Removal in Permanent Molars: a Randomized Clinical Trial. **Braz Dent J**, v. 29, n. 3, p:290-295, 2018.
39. DAMÉ-TEIXEIRA N et al. Characterization of Lactobacilli isolated from carious dentin after selective caries removal and cavity sealing. **Arch Oral Biol**, v. 121: 104988, 2021.
40. INNES NPT et al. Managing Carious Lesions: Consensus Recommendations on Terminology. **Adv Dent Res**, v. 28, n. 2, p:49-57, 2016.
41. SCHWENDICKE F, GÖSTEMEYER G. Understanding dentists' management of deep carious lesions in permanent teeth: a systematic review and meta-analysis. **Implement Sci**, v. 11, n. 1:142, 2016.
42. KAKUDATE N et al. Dentists' practice patterns of treatment for deep occlusal caries: findings from a dental practice-based research network. **J Dent**, v. 84, p:76–80, 2019.
43. BARROS MMAF; RODRIGUES MIQ; MUNIZ FWMG; RODRIGUES LKA. Selective, stepwise, or nonselective removal of carious tissue: which technique offers lower risk for the treatment of dental caries in permanent teeth? A systematic review and meta-analysis. **Clin Oral Investig**, v. 24, n. 2, p:521-532.
44. AÏEM E et al. Caries removal strategies for deep carious lesions in primary teeth: Systematic review. **Int J Paediatr Dent**, v. 30, n. 4, p:392-404, 2020.

45. PEREIRA JT et al. Pulp Vitality and Longevity of Adhesive Restorations Are Not Affected by Selective Carious Removal: A Multicenter Clinical Trial. **Caries Res**, v. 55, n. 1, p:55-62, 2021.
46. BANI HANI et al. Minimal intervention dentistry for managing carious lesions into dentine in primary teeth: an umbrella review. **Eur Arch Paediatr Dent**. doi: 10.1007/s40368-021-00675-6, 2021.
47. ELHENNAWY K et al. (2021). Selective vs stepwise removal of deep carious lesions in primary molars: 24 months follow-up from a randomized controlled trial. **Clin Oral Investig**, v. 25, n. 2, p:645-652.

APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Fortaleza, ____ de _____ de 20__.

Estimado(a) Senhor (a) _____

Você está sendo convidado a ser participante de uma pesquisa. Você não deve participar contra a sua vontade. Leia atentamente as informações abaixo e faça qualquer pergunta que desejar, para que todos os procedimentos desta pesquisa sejam esclarecidos.

Estamos realizando uma pesquisa científica intitulada **“ENSAIO CLÍNICO CONTROLADO DA REMOÇÃO PARCIAL DE DENTINA CARIADA EM DENTES PERMANENTES COM LESÕES DE CÁRIE RASAS, MÉDIAS E PROFUNDAS”**, e o senhor (a) foi selecionado para realizar tratamento restaurador, para remoção de cárie, nas dependências do Curso de Odontologia da Universidade Federal do Ceara. O tratamento terá que ser acompanhado por dois anos, portanto, de seis em seis meses, o senhor(a) deverá retornar à clínica para avaliação. O sucesso do tratamento depende dos seus retornos.

Serão realizadas restaurações com resinas em seus dentes que estiverem com a doença cárie. O objetivo da pesquisa é avaliar se existe a necessidade de remover toda a cárie ou não. Como benefícios, garantimos o atendimento odontológico e restauração de todas as cáries, assim como limpeza, aplicação de flúor e educação em higiene oral. Os riscos são de falhas nas restaurações, pois vamos retirar somente parte da cárie, porém, quando isso acontecer, será realizado novo procedimento. Caso haja falha na restauração, o senhor (a) poderá sentir algum desconforto no dente envolvido, como dor, como é previsto para qualquer falha em procedimentos restauradores.

Ressaltamos, ainda, o compromisso do pesquisador de utilizar os dados e/ou material coletado somente para esta pesquisa e que não receberá nenhum pagamento por participar da pesquisa.

Forma de acompanhamento e assistência: haverá aconselhamento quanto à melhoria da higiene bucal durante o período experimental. Os pesquisadores envolvidos na pesquisa estarão à disposição dos voluntários para qualquer esclarecimento.

Esclarecemos que a sua participação é voluntária e decorrente de sua livre decisão após receber todas as informações que julgar necessárias, podendo sair a qualquer momento da pesquisa. Asseguramos que seus dados individuais serão mantidos em sigilo e não serão divulgados em nenhuma hipótese.

Garantia de esclarecimento: o voluntário tem garantia de que receberá resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento de qualquer dúvida quanto aos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados com a pesquisa. Além disso, os pesquisadores proporcionarão informação atualizada sobre a pesquisa. O voluntário terá, também, liberdade para deixar de participar da pesquisa a qualquer momento.

Esclarecemos que a sua participação é voluntária e decorrente de sua livre decisão após receber todas as informações que julgar necessárias, podendo sair a qualquer momento da pesquisa. Asseguramos que seus dados individuais serão mantidos em sigilo e não serão divulgados em nenhuma hipótese.

Pesquisador responsável: Myrna Maria Arcanjo Frota – Aluna de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará. Endereço: Rua General Silva Júnior, 640. Bairro de Fátima

Orientadora: DRA. LIDIANY KARLA AZEVEDO RODRIGUES

ATENÇÃO: Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a sua participação na pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFC/PROPESQ. Rua Coronel Nunes de Melo, 1000 - Rodolfo Teófilo, fone: 3366-8344. (Horário: 8h-12h, de segunda a sexta-feira). O CEP/UFC/PROPESQ é a instância da Universidade Federal do Ceará responsável pela avaliação e acompanhamento dos aspectos éticos de todas as pesquisas envolvendo seres humanos.

Retirada do Consentimento: o voluntário tem a liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo sem prejuízo de ordem pessoal-profissional com os responsáveis pela pesquisa.

Garantia de sigilo: os pesquisadores asseguram a privacidade dos voluntários quanto aos dados confidenciais envolvidos na pesquisa. Garantir que as informações conseguidas através da sua participação não permitirão a identificação da sua pessoa, exceto aos responsáveis pela pesquisa, e que a divulgação das mencionadas informações só será feita entre os profissionais estudiosos do assunto.

Formas de indenização: Não há danos previsíveis decorrentes desta pesquisa.

AUTORIZAÇÃO

O abaixo assinado _____, ____ anos, RG: _____, declara que é de livre e espontânea vontade que está como participante de uma pesquisa. Eu declaro que li cuidadosamente este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e que, após sua leitura, tive a oportunidade de fazer perguntas sobre o seu conteúdo, como também sobre a pesquisa, e recebi explicações que responderam por completo minhas dúvidas. E declaro, ainda, estar recebendo uma via assinada deste termo.

Fortaleza, ____ de ____ de 20 __.

Fortaleza, ____ de ____ de 20 __.

Nome do (a) voluntário (a) por extenso

Nome do (a) pesquisador (a) por extenso

Assinatura do (a) voluntário (a)

Assinatura do (a) pesquisador (a)

Fortaleza, ____ de ____ de 20 __.

Fortaleza, ____ de ____ de 20 __.

Nome da testemunha (se o voluntário
não souber ler)

Nome do profissional que aplicou o
TCLE

Assinatura da testemunha (se o
voluntário não souber ler)

Nome do profissional que aplicou o
TCLE

ANEXO A – SEGUIMENTO DO REGIMENTO INTERNO

Art. 46 – As dissertações e as teses apresentadas ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará poderão ser produzidas em formato alternativo ou tradicional. O formato

9

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM

alternativo estabelece: a critério do orientador e com a aprovação da Coordenação do Programa, que os capítulos poderão conter cópias de artigos e/ou relatórios de patentes de autoria ou coautoria do candidato, publicados ou submetidos para publicação em revistas científicas, escritos no idioma exigido pelo veículo de divulgação.

§1º - O orientador e o candidato deverão verificar junto às editoras a possibilidade de inclusão dos artigos na dissertação ou tese, em atendimento à legislação que rege o direito autoral, obtendo, se necessária, a competente autorização, deverão assinar declaração de que não estão infringindo o direito autoral transferido à editora.

§2º - A dissertação e a tese em formatos tradicionais ou formatos alternativos deverão seguir as normas preconizadas pelo Guia para Normalização de Trabalhos Acadêmicos da Biblioteca Universitária disponível no sítio <http://www.biblioteca.ufc.br>. As partes específicas do formato alternativo deverão ser feitas em concordância com o *Manual de Normalização para Defesa de dissertação de Mestrado e tese de Doutorado no formato Alternativo do PPGO*, disponível no sítio <http://www.pogo.ufc.br>.

§3º - As dissertações defendidas no formato alternativo deverão constar de, no mínimo, 01(um) capítulo, enquanto que as teses no mesmo formato deverão constar de, no mínimo, 02 (dois) capítulos.

§4º - Admite-se que a dissertação ou a tese sejam escritas e/ou defendidas em língua estrangeira seguindo as diretrizes definidas no regimento interno do Programa;

Art. 47 – Para cada aluno deverá ser constituída uma banca examinadora, que será formada por professores ou especialistas, com o título de Doutor, como membros efetivos e suplentes, tendo o orientador como seu presidente.

ANEXO B – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ARTIGO

CAPÍTULO 1

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
CEARÁ/ PROPESQ



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ENSAIO CLÍNICO CONTROLADO DA REMOÇÃO PARCIAL DE DENTINA CARIADA EM DENTES PERMANENTES COM LESÕES DE CÁRIE RASAS, MÉDIAS E

Pesquisador: Myrna Maria Arcanjo Frota

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 54451316.7.0000.5054

Instituição Proponente: Departamento de Clínica Odontológica

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.610.785

Apresentação do Projeto:

Pesquisa da doutoranda Myrna Maria Arcanjo Frota, orientada pela Profa. Lidiany Karla Azevedo, centrada no conceito de odontologia minimamente invasiva e na identificação do perfil bacteriano nas diferentes profundidades de lesão cariada. É objetivo avaliar a eficácia do tratamento conservador com remoção parcial da dentina cariada em dentes permanentes com cáries rasas, médias e profundas, associando com o perfil bacteriano. Serão selecionados 48 pacientes atendidos nas Clínicas do Curso de Odontologia da FFOE (UFC), apresentando lesão ativa de cárie dentinária em molares ou pré-molares permanentes com indicação restauradora. O tratamento para lesões cariosas profundas consistirá da escavação incompleta da dentina cariada, aplicação de uma camada de cimento de hidróxido de cálcio, selamento provisório por um período de 6 meses no grupo controle e restauração definitiva já na primeira sessão no grupo da remoção parcial de dentina cariada, já para os grupos com lesões cariosas rasas e médias o tratamento será a realização da escavação incompleta da dentina cariada seguida de restauração definitiva. Radiografias interproximais e oximetria de pulso serão feitas logo após o selamento temporário ou restauração definitiva em intervalos de 6, 12, 18 e 24 meses. O estudo do perfil bacteriano da dentina será feito através de análise do q-PCR. Os resultados obtidos no estudo serão analisados através do teste ANOVA.

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1000

Bairro: Rodolfo Teófilo

UF: CE

Município: FORTALEZA

CEP: 60.430-275

Telefone: (85)3366-8344

E-mail: comepe@ufc.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
CEARÁ/ PROPEAQ



Continuação do Parecer: 1.610.785

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_670312.pdf	06/06/2016 23:15:20		Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA_DE_EXECUCAO.docx	06/06/2016 23:10:03	Myrna Maria Arcanjo Frota	Aceito
Orçamento	ORCAMENTO_DETALHADO.docx	06/06/2016 23:08:15	Myrna Maria Arcanjo Frota	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Doutorado_Myrna.docx	06/06/2016 23:05:44	Myrna Maria Arcanjo Frota	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	DECLARACAO_DE_MUDANCA_DA_ANALISE_DE_DENTINA.doc	06/06/2016 22:58:00	Myrna Maria Arcanjo Frota	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaracao_laboratorio_de_microbiologia_analise_de_dentina.pdf	06/06/2016 22:39:24	Myrna Maria Arcanjo Frota	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMO_DE_CONSENTIMENTO_LIVRE_ESCLARECIDO.docx	06/06/2016 22:36:19	Myrna Maria Arcanjo Frota	Aceito
Outros	CARTA_DE_ENCAMINHAMENTO_AO_CEP.docx	15/03/2016 11:22:18	Myrna Maria Arcanjo Frota	Aceito
Outros	Curriculos_Lattes_Myrna_Maria_Arcanjo_Frota.pdf	15/03/2016 11:20:34	Myrna Maria Arcanjo Frota	Aceito
Declaração de Pesquisadores	DECLARACAO_CONCORDANCIA_EM_PARTICIPAR_DA_PESQUISA.doc	15/03/2016 11:19:07	Myrna Maria Arcanjo Frota	Aceito
Declaração de Pesquisadores	TERMO_DE_RESPONSABILIDADE_DOS_PESQUISADORES.docx	15/03/2016 11:15:49	Myrna Maria Arcanjo Frota	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_Rosto_Final.pdf	15/03/2016 11:08:54	Myrna Maria Arcanjo Frota	Aceito
Outros	DECLARACAO_DE_AUTORIZACAO_PPGO.pdf	02/03/2016 14:33:33	Myrna Maria Arcanjo Frota	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	CARTA_DE_ESPECIFICACAO_DO_LOCAL_DA_PESQUISA_AO_CEP.docx	02/03/2016 14:21:04	Myrna Maria Arcanjo Frota	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1000

Bairro: Rodolfo Teófilo

CEP: 60.430-275

UF: CE Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3388-8344

E-mail: comepe@ufc.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
CEARÁ/ PROPESQ



Continuação do Parecer: 1.610.785

FORTALEZA, 28 de Junho de 2016

Assinado por:
FERNANDO ANTONIO FROTA BEZERRA
(Coordenador)

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1000

Bairro: Rodolfo Teófilo

UF: CE

Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3366-8344


CEP: 60.430-275

E-mail: comepe@ufc.br

ANEXO C – REGISTO BRASILEIRO DE ENSAIOS CLÍNICOS

18/10/2018

Registro Brasileiro de Ensaio Clínicos



USUÁRIO: SENHA:

[ENTRAR](#) [Esqu. Regis](#)

NOTÍCIAS | SOBRE | AJUDA | CONTATO

[BUSCA](#)

[BUSCA AVANÇADA](#)

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

RBR-89wcdn

Ensaio clínico controlado da Remoção Parcial de Dentina Cariada em dentes permanentes com de Cárie rasas, médias e profundas

Data de registro: 29 de Set. de 2018 às 15:31

Last Update: 18 de Out. de 2018 às 14:59

Tipo do estudo:

Intervenções

Título científico:

<p style="text-align: right; font-weight: bold;">PT-BR</p> <p>Ensaio clínico controlado da Remoção Parcial de Dentina Cariada em dentes permanentes com lesões de Cárie rasas, médias e profundas</p>	<p style="text-align: right; font-weight: bold;">EN</p> <p>Clinical controlled trial of the Partial Removal of Carious Dentin in permanent teeth with shallow, medium and deep Caries lesions</p>
---	---

Identificação do ensaio

Número do UTN: U1111-1221-4083

Título público:

<p style="text-align: right; font-weight: bold;">PT-BR</p> <p>Remoção Parcial da Cárie em dentes permanentes</p>	<p style="text-align: right; font-weight: bold;">EN</p> <p>Partial Removal of Caries in permanent teeth</p>
--	---

Acrônimo científico:

Acrônimo público:

Identificadores secundários:

54451316.7.0000.5054

Órgão emissor: Plataforma Brasil

1.610.785

Órgão emissor: Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará

Patrocinadores

Patrocinador primário: Universidade Federal do Ceará

Patrocinadores secundários:

Instituição: Universidade Federal do Ceará

Fontes de apoio financeiro ou material:

Instituição: Universidade Federal do Ceará

18/10/2018

Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos

Condições de saúde**Condições de saúde ou problemas:**

Cárie dentária	PT-BR	Dental caries	EN
----------------	-------	---------------	----

Descritores gerais para as condições de saúde:

C23: Condições patológicas, sinais e sintomas	PT-BR	C23: Condiciones patológicas, signos y síntomas	ES	C23: Pathological conditions, signs and symptoms
---	-------	---	----	--

Descritores específicos para as condições de saúde:

C07.793.720.210: Cárie Dentária	PT-BR	C07.793.720.210: Caries Dental	ES	C07.793.720.210: Dental Caries
---------------------------------	-------	--------------------------------	----	--------------------------------

IntervençõesCategorias das Intervenções

Procedure/surgery

Intervenções:

<p>Grupo experimental: 24 pessoas com cárie dentária (8 cáries rasas, 8 cáries médias e 8 cáries profundas) receberam o tratamento da lesão de cárie com remoção parcial do tecido cariado e posterior restauração definitiva com resina composta.</p> <p>Grupo controle: 24 pessoas com cárie dentária (8 cáries rasas, 8 cáries médias e 8 cáries profundas) receberam o tratamento da lesão de cárie com remoção de todo o tecido amolecido da cavidade e posterior restauração definitiva com resina composta.</p> <p>Os pacientes dos grupos experimental e controle receberão uma restauração que será acompanhada a cada 6 meses por 2 anos através de avaliação por exame radiográfico, testes pulpares e perirradiculares e da qualidade da restauração.</p>	PT-BR	<p>Experimental group: 24 people with dental caries (8 shallow caries, 8 medium caries and 8 deep caries) received caries lesion treatment with partial removal of carious tissue and subsequent restoration with composite resin.</p> <p>Control group: 24 patients with dental caries (8 shallow caries, 8 medium caries and 8 deep caries) were treated with caries lesion with removal of all soft tissue from the cavity and posterior restoration with composite resin.</p> <p>Patients in the experimental and control groups will receive a restoration that will be monitored every 6 months for 2 years through evaluation by radiographic examination, pulp and periradicular tests and restoration quality.</p>	EN
---	-------	---	----

Descritores para as intervenções:

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

Recrutamento

18/10/2018

Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos

Situação de recrutamento: Not yet recruiting

Pais de recrutamento

Brazil

Data prevista do primeiro recrutamento: 2018-11-01

Data prevista do último recrutamento: 2020-11-01

Tamanho da amostra alvo:	Gênero para inclusão:	Idade mínima para inclusão:	Idade máxima para inclusão:
48	-	6 -	60 -

Crítérios de inclusão:

PT-BR	EN
<p>Serão incluídos indivíduos sem distinção de raça, sexo ou nível socioeconômico. Além disso, os participantes devem apresentar boa saúde geral. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) devidamente assinado. Possuir uma lesão cariada em pré-molares ou molares. Resposta positiva ao teste de frio, com gás refrigerado a -20° C (Aerojet, Rio de Janeiro, RJ, Brasil). Sensibilidade negativa ao teste de percussão. Sem história de espontânea dor. Ausência radiográfica de lesão periapical e/o espessamento do ligamento periodontal.</p>	<p>Individuals without distinction of race, sex or socioeconomic status will be included. In addition, participants should be in good general health. Informed Consent Form (TCLE) duly signed. Possess a carious lesion in premolars or molars. Positive response to the cold test with refrigerated gas at -20 ° C (Aerojet, Rio de Janeiro, RJ, Brazil). Negative sensitivity to percussion test. No history of spontaneous pain. Radiographic absence of periapical lesion and / or thickening of the periodontal ligament.</p>

Crítérios de exclusão:

PT-BR	EN
<p>Indivíduos que fazem uso de aparelho ortodôntico fixo, com bandas ou braquetes que prejudiquem o adequado exame clínico e radiográfico e o isolamento do campo operatório. Lesões cariosas com profundidade inferior a 2 mm. Não residentes na cidade do estudo ou plano de mudança de cidade. Indivíduos com alergia a algum material do estudo. Pacientes gestantes.</p>	<p>Individuals who use fixed orthodontic appliances, with bands or brackets that impair the appropriate clinical and radiographic examination and the isolation of the operative field. Carious lesions with depth less than 2 mm. Non-residents in study city or city change plan. Individuals with allergy to some study material. Pregnant patients.</p>

Tipo do estudo**Desenho do estudo:**

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

Programa de acesso expandido	Enfoque do estudo	Desenho da intervenção	Número de braços	Tipo de mascaramento	Tipo de alocação	Fase estu
False	Treatment	Parallel	2	Triple-blind	Randomized-controlled	N/A

Desfechos

18/10/2018

Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos

Desfechos primários:

PT-BR
 Vitalidade pulpar positiva avaliada através de parâmetros clínicos (dor, testes de sensibilidade ao frio, teste de percussão) e radiografias (periapical e interproximal).

EN
 Positive pulp vitality assessed through clinical parameters (pain, cold sensitivity tests, percussion test) and radiographs (periapical and interproximal).

Desfechos secundários:

PT-BR
 Não são esperados desfechos secundários.

EN
 Secondary outcomes are not expected.

ContatosContatos para questões públicas

Nome completo: Myrna Maria Arcanjo Frota
 Endereço: R. Alexandre Baraúna. 949 - Rodolfo Teófilo
 Cidade: Fortaleza / Brazil
 CEP: 60430-160
 Fone: +55-85-999159124
 E-mail: myrnarcanjo@hotmail.com
 Filiação: Universidade Federal do Ceará

Contatos para questões científicas

Nome completo: Myrna Maria Arcanjo Frota
 Endereço: R. Alexandre Baraúna. 949 - Rodolfo Teófilo
 Cidade: Fortaleza / Brazil
 CEP: 60430-160
 Fone: +55-85-999159124
 E-mail: myrnarcanjo@hotmail.com
 Filiação: Universidade Federal do Ceará

Contatos para informação sobre os centros de pesquisa

Nome completo: Myrna Maria Arcanjo Frota
 Endereço: R. Alexandre Baraúna. 949 - Rodolfo Teófilo
 Cidade: Fortaleza / Brazil
 CEP: 60430-160
 Fone: +55-85-999159124
 E-mail: myrnarcanjo@hotmail.com
 Filiação: Universidade Federal do Ceará

ANEXO D – LISTA DE INFORMAÇÕES CONSORT



Lista de informações CONSORT 2010 para incluir no relatório de um estudo randomizado

Seção/Tópico	Item No	Itens da Lista	Relatado na pg No
Título e Resumo	1a	Identificar no título como um estudo clínico randomizado	20
	1b	Resumo estruturado de um desenho de estudo, métodos, resultados e conclusões para orientação específica, consulte CONSORT para resumos	22
Introdução Fundamentação e objetivos	2a	Fundamentação científica e explicação do raciocínio	23-24
	2b	Objetivos específicos ou hipóteses	24
Métodos Desenho do estudo	3a	Descrição do estudo clínico (como paralelo, factorial) incluindo a taxa de alocação	24
	3b	Alterações importantes nos métodos após ter iniciado o estudo clínico (como critérios de elegibilidade), com as razões	Não houve alteração
Participantes	4a	Crítérios de elegibilidade para participantes	25-26
	4b	Informações e locais de onde foram coletados os dados	25-26
Intervenções	5	As intervenções de cada grupo com detalhes suficientes que permitam a replicação, incluindo como e quando eles foram realmente administrados	28-31
Desfechos	6a	Medidas completamente pré-especificadas definidas de desfechos primários e secundários, incluindo como e quando elas foram avaliadas	32
	6b	Quaisquer alterações nos desfechos após o estudo clínico ter sido iniciado, com as razões	Sem alterações
Tamanho da amostra	7a	Como foi determinado o tamanho da amostra	26
	7b	Quando aplicável, deve haver uma explicação de qualquer análise de interim e diretrizes de encerramento	Não se aplica
Randomização: Seqüência geração	8a	Método utilizado para geração de seqüência randomizada de alocação	28
	8b	Tipos de randomização, detalhes de qualquer restrição (tais como randomização por blocos e tamanho do bloco)	28
Alocação mecanismo de ocultação	9	Mecanismo utilizado para implementar a seqüência de alocação randomizada (como recipients numerados seqüencialmente), descrevendo os passos seguidos para a ocultação da seqüência até as intervenções serem atribuídas	28

			28
Implementação	10	Quem gerou a seqüência de alocação randomizada, quem inscreveu os participantes e quem atribuiu as intervenções aos participantes	28 e 32
Cegamento	11a	Se realizado, quem foi cegado após as intervenções serem atribuídas (ex. Participantes, cuidadores, assessores de resultado) e como	28 - 31
	11b	Se relevante, descrever a semelhança das intervenções	32 - 33
Métodos estatísticos	12a	Métodos estatísticos utilizados para comparar os grupos para desfechos primários e secundários	34
	12b	Métodos para análises adicionais, como análises de subgrupo e análises ajustadas	39
Resultados	13a	Para cada grupo, o número de participantes que foram randomicamente atribuídos, que receberam o tratamento pretendido e que foram analisados para o desfecho primário	34
Fluxo de participantes (é fortemente recomendado a utilização de um diagrama)	13b	Para cada grupo, perdas e exclusões após a randomização, junto com as razões	39
Recrutamento	14a	Definição das datas de recrutamento e períodos de acompanhamento	24
	14b	Dizer os motivos de o estudo ter sido finalizado ou interrompido	Não se aplica
Dados de Base	15	Tabela apresentando os dados de base demográficos e características clínicas de cada grupo	34
Números analisados	16	Para cada grupo, número de participantes (denominador) incluídos em cada análise e se a análise foi realizada pela atribuição original dos grupos	34
Desfechos e estimativa	17a	Para cada desfecho primário e secundário, resultados de cada grupo e o tamanho efetivo estimado e sua precisão (como intervalo de confiança de 95%)	33 - 40
	17b	Para desfechos binários, é recomendada a apresentação de ambos os tamanhos de efeito, absolutos e relativos	33 - 40
Análises auxiliares	18	Resultados de quaisquer análises realizadas, incluindo análises de subgrupos e análises ajustadas, distinguindo-se as pré-especificadas das exploratórias	33
Danos	19	Todos os importantes danos ou efeitos indesejados em cada grupo (observar a orientação específica CONSORT para danos)	44
Discussão	20	Limitações do estudo clínico, abordando as fontes dos potenciais vieses, imprecisão, e, se relevante, relevância das análises	44
Generalização	21	Generalização (validade externa, aplicabilidade) dos achados do estudo clínico	44
Interpretação	22	Interpretação consistente dos resultados, balanço dos benefícios e danos, considerando outras evidências relevantes	40 - 44

Outras informações			40 - 44
Registro	23	Número de inscrição e nome do estudo clínico registrado	25
Protocolo	24	Onde o protocolo completo do estudo clínico pode ser acessado, se disponível	Não se aplica
Fomento	25	Fontes de financiamento e outros apoios (como abastecimento de drogas), papel dos financiadores	

* Recomendamos fortemente a leitura desta norma em conjunto com o CONSORT 2010. Explicação e Elaboração de esclarecimentos importantes de todos os itens. Se relevante, também recomendamos a leitura das extensões do CONSORT para estudos cluster randomizados, estudos de não-inferioridade e de equivalência, tratamentos não-farmacológicos, intervenções de ervas e estudos pragmáticos. Extensões adicionais estão por vir: para aquelas e até dados de referências relevantes a esta lista de informações, ver www.consort-statement.org.

ANEXO E – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ARTIGO

CAPÍTULO 2

UFC - UNIVERSIDADE
FEDERAL DO CEARÁ /



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DE MICRORGANISMOS POTENCIALMENTE CARIOGÊNICOS EM AMOSTRAS DE DENTINA CARIADA DE DENTES PERMANENTES COM LESÕES MÉDIAS E PROFUNDAS

Pesquisador: ERNANDA MARIA DE ARAÚJO SALES

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 48818621.5.0000.5054

Instituição Proponente: Departamento de Odontologia Restauradora

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.853.444

Apresentação do Projeto:

A definição da etiologia da doença cárie passou por diversas mudanças de paradigma no decorrer dos anos. Atualmente, uma abordagem ecológica -bacteriana mista é considerada responsável pelo início e patogênese da lesão. A cárie dentária pode ser definida como uma doença mediada por biofilme e modulada pela dieta. O consumo de carboidratos fermentáveis é essencial, pois além de ser substrato para a produção de ácidos, uma dieta cariogênica promove uma disbiose no biofilme. Pesquisas envolvendo identificação molecular demonstram que o microbioma da cavidade oral é complexo, sendo composto por diversas comunidades microbianas que podem estar associadas e exercer algum papel na progressão da doença. No entanto, o conhecimento atual dos microrganismos envolvidos no início e na progressão da cárie ainda não está bem estabelecido. Diante desse contexto, o objetivo desse estudo será avaliar a prevalência de diferentes microrganismos em amostras de DNA extraídas a partir de lesões cariosas dentinárias ativas de diferentes profundidades (média e profunda) de dentes permanentes. Serão utilizadas 48 amostras previamente coletadas e armazenadas a -80°C. O DNA das amostras será extraído pelo método de termólise com a matriz

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1000

Bairro: Rodolfo Teófilo

CEP: 60.430-275

UF: CE

Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3366-8344

E-mail: comepe@ufc.br

UFC - UNIVERSIDADE
FEDERAL DO CEARÁ /



Continuação do Parecer: 4.853.444

InstaGene. A reação em cadeia da polimerase (PCR) será utilizada para identificação dos microrganismos. As ampliações por PCR serão realizadas em duplicata utilizando primers e condições previamente publicados. A introdução de estratégias de abordagens moleculares pode ser de extrema importância para analisar os microrganismos envolvidos na patogênese da doença cárie que poderiam impactar no gerenciamento dessas lesões.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Esse estudo terá como objetivo detectar, através de identificação molecular (técnica de reação em cadeia da polimerase), a prevalência de diferentes microrganismos (bactérias totais, Streptococcus spp., S. mutans, S. gordonii, S. sobrinus, Lactobacillus spp., L. casei grupo, L. casei, L. paracasei, L. Rhamnosus, L. acidophilus, A. naeslundii, Bifidobacterium spp. e Candida albicans) em amostras de DNA extraídas a partir de lesões cáries dentinárias ativas de diferentes profundidades (média e profunda) de dentes permanentes.

Objetivo Secundário:

Analisar comparativamente a prevalência dos diferentes microrganismos referidos anteriormente, de acordo com a profundidade da lesão

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Como serão utilizadas amostras que já foram coletadas previamente em outro estudo por motivos alheios a essa pesquisa, e as mesmas encontram-se armazenadas em freezer -80° C, nenhum risco adicional será acrescentado aos pacientes dos quais as amostras foram coletadas.

Benefícios:

Durante algumas décadas, S. mutans tem sido considerado o principal agente causador da doença cárie, e a maioria das estratégias diagnósticas, preventivas e terapêuticas foram direcionadas a este microrganismo (SIMÓN-SORO; MIRA, 2015). No entanto, diversas espécies microbianas foram isoladas de lesões de cárie e foram relacionadas ao processo da doença. A introdução de estratégias de abordagens moleculares pode ser de extrema importância para estudar o microbioma oral, haja vista que o conhecimento atual dos

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1000

Bairro: Rodolfo Teófilo

CEP: 60.430-275

UF: CE

Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3366-8344

E-mail: comepe@ufc.br

UFC - UNIVERSIDADE
FEDERAL DO CEARÁ /



Continuação do Parecer: 4.853.444

microrganismos envolvidos no início e na progressão da cárie ainda não está bem estabelecido (CONRADTS; ABOUT, 2018). Dessa forma, destaca-se a importância da realização de estudos que visem avaliar os microrganismos envolvidos no início e desenvolvimento da doença cárie. Ainda, é importante observar se são detectadas diferenças em relação a prevalência de diferentes microrganismos em diferentes profundidades de lesões de cárie dentinária, que poderiam impactar no gerenciamento dessas lesões.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa importante pois através da análise de DNA das amostras será identificada a prevalência de diferentes microrganismos que podem estar associados a patogênese da doença cárie em lesões médias e profundas

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos foram apresentados, inclusive o termo de fiel depositário e o termo de isenção do TCLE.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Nenhuma pendência

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1765268.pdf	30/06/2021 23:05:27		Aceito
Outros	termo_fiel_depositario.pdf	30/06/2021 23:04:30	ERNANDA MARIA DE ARAÚJO SALES	Aceito
Outros	carta_de_apreciacao.pdf	20/06/2021 23:44:28	ERNANDA MARIA DE ARAÚJO SALES	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	autorizacao_da_instituicao.pdf	20/06/2021 23:41:47	ERNANDA MARIA DE ARAÚJO SALES	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	solicitacao_isencao_tcle.doc	20/06/2021 23:40:07	ERNANDA MARIA DE ARAÚJO SALES	Aceito

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1000

Bairro: Rodolfo Teófilo

CEP: 60.430-275

UF: CE

Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3366-8344

E-mail: comepe@ufc.br

UFC - UNIVERSIDADE
FEDERAL DO CEARÁ /



Continuação do Parecer: 4.853.444

Orçamento	orcamento.docx	20/06/2021 23:39:37	ERNANDA MARIA DE ARAÚJO SALES	Aceito
Declaração de concordância	declaracao_de_concordancia.pdf	20/06/2021 23:39:23	ERNANDA MARIA DE ARAÚJO SALES	Aceito
Cronograma	cronograma.docx	20/06/2021 23:38:44	ERNANDA MARIA DE ARAÚJO SALES	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_biologia_molecular_ernanda.docx	20/06/2021 23:38:31	ERNANDA MARIA DE ARAÚJO SALES	Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto.pdf	20/06/2021 23:37:25	ERNANDA MARIA DE ARAÚJO SALES	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

FORTALEZA, 16 de Julho de 2021

Assinado por:

FERNANDO ANTONIO FROTA BEZERRA
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1000

Bairro: Rodolfo Teófilo

CEP: 60.430-275

UF: CE

Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3366-8344

E-mail: comepe@ufc.br

ANEXO F – CADASTRO SISGEN

ARTIGO CAPÍTULO 2



Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
 SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Comprovante de Cadastro de Acesso

Cadastro nº A4716A6

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro: **A4716A6**
 Usuário: **Universidade Federal do Ceará**
 CPF/CNPJ: **07.272.636/0001-31**
 Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético**
 Finalidade do Acesso: **Pesquisa**

Espécie

Lactobacillus casei
Lactobacillus rhamnosus
Lactobacillus acidophilus
Lactobacillus paracasei
Streptococcus mutans

Título da Atividade: **Manejo conservativo e microbiota associada à cárie dentinária em dentes permanentes**

Equipe

Lidiany Karla Azevedo Rodrigues Gerage	Universidade Federal do Ceará
ERNANDA MARIA DE ARAÚJO SALES	Universidade Federal do Ceará

Data do Cadastro: **20/08/2022 11:17:58**
 Situação do Cadastro: **Concluído**

Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
 Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em 11:18 de 20/08/2022.



SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO
 DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
 E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL
 ASSOCIADO - **SISGEN**