

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Odontologia
Programa de Pós-Graduação em Odontologia



Tese

**Fotopolimerização em odontologia: desempenho de unidades de
fotoativação e fotoiniciadores contemporâneos**

Peterson Oliveira Boeira

Pelotas, 2022

Peterson Oliveira Boeira

Fotopolimerização em odontologia: desempenho de unidades de fotoativação e fotoiniciadores contemporâneos

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Odontologia – área de concentração Biomateriais e Biologia Oral - ênfase em Materiais Odontológicos.

Orientador: Prof.^a Dra. Giana da Silveira Lima

Pelotas, 2022

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

B671f Boeira, Peterson Oliveira

Fotopolimerização em odontologia : desempenho de unidades de fotoativação e fotoiniciadores contemporâneos / Peterson Oliveira Boeira ; Giana da Silveira Lima, orientadora. — Pelotas, 2022.

94 f. : il.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Biomateriais e Biologia Oral - ênfase em materiais odontológicos, Odontologia, Universidade Federal de Pelotas, 2022.

1. Fotopolimerização. 2. Adesivos odontológicos. 3. Unidades de fotopolimerização. 4. Fotoiniciadores. I. Lima, Giana da Silveira, orient. II. Título.

Black : D151

Peterson Oliveira Boeira

Fotopolimerização em odontologia: desempenho de unidades de fotoativação e fotoiniciadores contemporâneos

Tese apresentada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Doutor em Odontologia, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 30/03/2022

Banca examinadora:

Prof.^a Dra. Giana da Silveira Lima (Orientadora)

Doutora em Odontologia - área de concentração em Dentística pela Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Mateus Bertolini Fernandes dos Santos (Titular interno)

Doutor em Clínica Odontológica pela Universidade Estadual de Campinas

Dr. Luis Felipe Jochims Schneider (Titular externo)

Doutor em Materiais Dentários pela Universidade Estadual de Campinas

Dra. Carine Welter Meereis (Titular externo)

Doutora em Odontologia/Dentística Restauradora pela Universidade Federal de Pelotas

Prof.^a. Dr.^a. Fernanda Barbosa Leal Elias (Suplente externo)

Doutora em Odontologia com área de concentração em Dentística pela Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Cesar Dalmolin Bergoli (Suplente interno)

Doutor em Odontologia (Odontologia Restauradora) pela Universidade Estadual Paulista
Júlio de Mesquita Filho

**Dedico este trabalho à minha família e a todas as pessoas que de alguma
forma estão presentes na minha vida.**

Agradecimentos

À Universidade Federal de Pelotas, em nome da Magnífica Prof^ª. Dra. Isabela Fernandes Andrade.

À Faculdade de Odontologia, em nome da direção e de seus funcionários, instituição que me acolheu por cerca de 10 anos e possibilitou minha formação integral.

Ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, aos coordenadores Prof^ª. Dr. Rafael Ratto de Moraes, Prof^ª. Dra. Tatiana Pereira Cenci e Prof^ª. Dra. Giana Silveira Lima.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) por proporcionar recurso financeiro garantindo a minha permanência como pesquisador.

A minha orientadora, Dra. Giana da Silveira Lima, que me acolhe desde 2014, sou muito grato por todos os ensinamentos e confiança depositada.

Aos colegas do grupo de materiais dentários e o laboratório CDC-Bio, os quais compartilhamos momentos juntos e possibilitaram trocas enriquecedoras.

Aos meus pais, Erotilde e Odacira pelos ensinamentos de valores, princípios e educação, imprescindíveis nesta caminhada. Agradeço-lhes por demonstrar que é sempre possível e, que por mais difícil que seja a jornada, sempre valerá a pena seguir adiante. Aos meus pais de coração e também avós, Marciano e Florentina, por toda sabedoria da vida, paciência, companheirismo e cuidado que tiveram comigo para que me tornasse a pessoa que sou. Ao meu irmão, Eduam, por sempre acreditar que eu conseguiria mais, afinal foi a primeira pessoa que acreditou e me disse no dia da colação de grau na minha primeira graduação – agora o próximo “canudo” que quero te ver é o do doutorado.

À minha companheira de vida, Julia, não há palavras que possam descrever completamente o quanto sou grato a você por todo seu companheirismo, lealdade, cumplicidade, amor, cuidado que tens comigo. Tenho muito orgulho de ti e da nossa caminhada que estamos construindo dia a dia, muito obrigado por acreditar em mim.

À minha filha Erika, ou como ela gosta de dizer “meu xerox”, gostaria de agradecer por toda compreensão dos momentos que estive distante fisicamente, quero te agradecer muito por acreditar em mim e se orgulhar pelas nossas conquistas, quero que saibas que és um

pedacinho da minha vida e que faz parte das minhas conquistas e sou muito orgulhoso da pessoa que estás se tornando.

Por fim, agradecer a todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para que esse sonho de ser Doutor (o primeiro da família e da minha cidade) se torne realidade.

“Ninguém ignora tudo. Ninguém sabe tudo. Todos nós sabemos alguma coisa. Todos nós ignoramos alguma coisa. Por isso aprendemos sempre.”

Paulo Freire

Notas Preliminares

A presente dissertação foi redigida segundo o Manual de Normas para Dissertações, Teses e Trabalhos Científicos da Universidade Federal de Pelotas de 2019, adotando o Nível de Descrição – estrutura em Artigos, descrita no Apêndice D do referido manual. <<https://wp.ufpel.edu.br/sisbi/files/2019/06/Manual.pdf>> Acesso em: 11/01/22.

Resumo

BOEIRA, Peterson Oliveira. **Fotopolimerização em odontologia: desempenho de unidades de fotoativação e fotoiniciadores contemporâneos** 2022. 93f. Tese (Doutorado em Odontologia). Programa de Pós-graduação em Odontologia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2022.

Objetivo: avaliar propriedades físico-químicas de fotoiniciadores e materiais experimentais com aparelhos fotopolimerizadores odontológicos através de estudos “in vitro” e “in situ”. Metodologia: foram conduzidos estudos avaliando as propriedades físico-químicas de materiais experimentais utilizando fotoiniciadores em diferentes formulações, foram avaliados os fotoiniciadores com fotopolimerizadores de segunda e terceira geração, além disso foi avaliada a influência de barreiras de proteção no desempenho de luz emitida por aparelhos fotopolimerizadores de segunda e terceira geração. Resultados: Fotoiniciadores alternativos em um sistema adesivo autocondicionante de passo único que contém cloreto de difeniliodônio (DPI) em um sistema terciário demonstraram melhor desempenho em relação às propriedades mecânicas em adesivos experimentais em condições de presença de água. Fotopolimerizadores de terceira geração apresentam melhor desempenho no espectro de absorção dos fotoiniciadores, além disso, os fotoiniciadores não influenciaram no amarelamento de um adesivo experimental, por fim, barreiras de proteção podem influenciar no desempenho da emissão de luz de fotopolimerizadores odontológicos, entretanto a potência dos fotopolimerizadores é mais influenciada em relação a distância entre material e a fonte de luz. Conclusão: dependendo da formulação fotoiniciadores podem influenciar nas propriedades físico-químicas dos materiais odontológicos. A eficiência de polimerização é influenciada pela distância e tipo do aparelho.

Palavras-chave: Fotopolimerização; adesivos Odontológicos; unidades de fotopolimerização; fotoiniciadores.

Abstract

BOEIRA, Peterson Oliveira. Light curing in dentistry: performance of contemporary photoactivation units and photoinitiators. 2022. 93p. Ph.D. thesis (Ph.D. in Dentistry). Graduate Program in Dentistry. Federal University of Pelotas, Pelotas, 2022.

Objective: to evaluate physicochemical properties of photoinitiators and experimental materials with dental light-curing devices through in vitro and in situ studies. **Methodology:** studies were carried out evaluating the physicochemical properties of experimental materials using photoinitiators in different formulations, photoinitiators were evaluated with second and third-generation light-curing units, in addition, the influence of protective barriers on the performance of light emitted by light-curing devices was evaluated. second and third generation. **Results:** Alternative photoinitiators in a one-step self-etching adhesive system containing diphenyl iodonium chloride (DPI) in a tertiary system showed better performance in terms of mechanical properties in experimental adhesives under wet conditions. Third-generation light-curing units present a better performance in the absorption spectrum of the photoinitiators, in addition, the photoinitiators did not influence the yellowing effect of an experimental adhesive, finally, protection barriers can influence the light emission performance of dental light-curing units, however, the potency of the curing light is more influenced by the distance between the material and the light source. **Conclusion:** depending on the formulation, photoinitiators can influence the physicochemical properties of dental materials. The polymerization efficiency is influenced by the distance and type of device.

Key-words: Light-curing of dental adhesives; Photoinitiators dental; Curing lights dental.

Sumário

INTRODUÇÃO	12
ARTIGO 1	16
ARTIGO 2	36
ARTIGO 3	52
CONSIDERAÇÕES FINAIS	79
REFERÊNCIAS	80

INTRODUÇÃO

A atuação clínica em Odontologia por muitos anos foi restrita aos procedimentos limitados a diminuir os danos causados pela cárie e doença periodontal, usando uma abordagem restauradora, recentemente vem sofrendo grandes transformações, principalmente nas últimas 3 décadas. Certamente um dos grandes precursores para tal foi a introdução de materiais adesivos que proporcionaram procedimentos menos invasivos e mais estéticos. Desde então, por volta de 1960 começaram a surgir materiais poliméricos como, por exemplo, as resinas compostas que utilizam na sua composição um agente químico capaz de proporcionar uma polimerização, ou seja, transformando um aglomerado de monômeros em uma cadeia de polímeros (BOWEN, 1962). Essa transformação é possível porque os fotoiniciadores se tornam sensíveis à uma luz capaz de sensibilizá-los tornando-os em um estado reativo para promover a reação de polimerização. Atualmente esses componentes vêm sendo estudados a fim de desenvolver novas tecnologias e melhorar o desempenho dos materiais odontológicos e um dos desafios na adesão para adesivos odontológicos é fornecer uma adesão eficaz à substratos dentários em diferentes condições (VAN MEERBEEK *et al.*, 2011; NAGARKAR, THEIS-MAHON e PERDIGÃO, 2019)

Outro fator importante na evolução desse processo foi a adesão ao substrato dental através dos sistemas adesivos odontológicos (BUONOCORE, 1955). Com o avanço nas pesquisas e técnicas foram surgindo novas tecnologias, dentre elas as estratégias de adesão, que foram divididas em duas abordagens diferentes, *etch-and-rinse* (técnica convencional) ou *self-etch* (técnica autocondicionante) (VAN MEERBEEK *et al.*, 2011; GIANNINI *et al.*, 2015; PASHLEY *et al.*, 2011). A abordagem convencional envolve várias etapas, como a aplicação ácido fosfórico para remover a smear layer, enxaguar o ácido, secar o dente preparado e depois aplicação de primer e adesivo, etapas que na técnica autocondicionante são dispensadas ou realizadas de forma seletiva apenas no esmalte. Os adesivos odontológicos autocondicionantes que tem na formulação um monômero ácido agressivos e promovem a adesão na camada híbrida do dentina sem que haja uma exposição prévia das fibras colágenas, entretanto, podem ser prejudiciais devido à um aumento do fluxo de fluido na

superfície exposta da dentina e possivelmente processos de degradação enzimática resultando em diminuição da resistência de união à dentina a curto e longo prazo, principalmente em superfícies de dentina com lesões cariosas (BEDRAN-RUSSO *et al.*, 2017)

Recentemente, vêm sendo amplamente estudadas maneiras de reduzir a sensibilidade técnica dependente do operador, para isso, uma maneira é simplificar as etapas do procedimento clínico. Para tal, pesquisas apontam que novos fotoiniciadores e formulações podem contribuir para reduzir etapas e melhorar o desempenho desses materiais (SANTINI, GALLEGOS e FELIX, 2013). Além disso, alinhado aos materiais novas tecnologias em equipamentos, como por exemplo, fontes de luz estão sendo desenvolvidos para oferecer formas de otimizar o procedimento clínico (CADENARO *et al.*, 2019; PRINCE, FERRACANE e SHORTALL, 2015). As unidades de luz para polimerização de materiais odontológicos surgiram na década de 80 e se tornaram essenciais no processo de fotopolimerização. Desde então, foram desenvolvidas diversas tecnologias para esse aparelho, tais como luz halógena de quartzo-tungstênio (QTH), luz de arco de plasma (PAC), lasers de íons de argônio, mas os diodos emissores de luz (LED) foram os que mais evoluíram suas tecnologias de primeira, segunda e terceira geração. O comprimento de onda emitido por essas fontes de luz está entre 400-500 nm, compreende um espectro de luz capaz de sensibilizar os fotoiniciadores utilizados em materiais odontológicos. A tecnologia mais atual nessas fontes de luz são os fotopolimerizadores de LED de terceira geração que produzem um amplo espectro de luz combinado com alta potência na emissão (PRICE *et al.*, 2020; RUEGGERBERG *et al.*, 2017)

As características da luz emitida são avaliadas pela irradiância de luz emitida. Uma maneira mensurá-las é através de um radiômetro, porém recentemente estão surgindo novos equipamentos com novas tecnologias capazes de avaliar de uma forma mais calibrada e sofisticado os parâmetros de emissão de luz dos fotopolimerizadores permitindo até mesmos estabelecer um perfil de emissão de luz e capaz de avaliar a energia total emitida. Como por exemplo MARC simulator e MARC resin calibrator (BEOLCHI *et al.*, 2015; ALTAIE *et al.*, 2021; KOJIC *et al.*, 2021)

Alguns efeitos indesejados são descritos na literatura e que podem ser resultado da baixa polimerização da resina como, uma estética inadequada e a redução das propriedades mecânicas do material, bem como possíveis efeitos tóxicos

dos monômeros residuais (RUEGGERBERG, 2011; STANSBURY, 2000; PRICE, FERRACANE e SHORTALL, 2015)

Outro fator importante de destacar em relação a polimerização em Odontologia é a biossegurança envolvida no processo. Apesar de ser um processo técnico simples, envolve vários fatores que podem ser prejudiciais à saúde do profissional e do paciente, como por exemplo: fator biológico que pode ser um dispositivo passível de contaminação e promover infecção cruzada; fator biofísico, caso não seja feito o uso de óculos de proteção, pode promover uma acumulação à exposições de luz azul de alta intensidade e pode causar danos oculares imediatos e irreversíveis, como a queima da retina, este perigo está mais suscetível a luz azul no espectro de 440 nm de comprimento de onda, este que é próximo ao da emissão máxima fotopolimerizadores odontológicos (McANDREW *et al.*, 2011; PRICE, SHORTALL e PALIN, 2014)

Entretanto, atualmente o maior risco ainda é a exposição à infecção cruzada nesses equipamentos, na tentativa de resolver esse problema várias alternativas são descritas na literatura mas que até o momento encontram algumas limitações (CAUGHMAN *et al.*, 1989; KOHN *et al.*, 2004; VERBEEK *et al.*, 2020; SABINO-SILVA, JARDIM e SIQUEIRA, 2020). Uma delas é a esterilização da ponteira óptica, porém isso pode promover o envelhecimento precoce nessas ponteiros. Soluções de desinfecção também foram testadas mas deixam opacas e reduzem a passagem de luz em pontas de fibra óptica, outra alternativa é o uso de barreiras de plástico, porém não é estabelecida a quantidade e nem o tipo de material mais adequado nem se pode resultar em algum prejuízo a irradiância do equipamento (CHONG *et al.*, 1998; KHODE *et al.*, 2017; SCOTT, FELIX e PRICE, 2004; ALSHAAFI, 2013; DUGAN e HARTLEB, 1989; McANDREW *et al.*, 2011)

Sabe-se que diversos estudos vêm sendo desenvolvidos com novos fotoiniciadores e fotopolimerizadores, porém ainda existe uma brecha na literatura em relação à eficiência na polimerização desses componentes contemporâneos. Apesar de ser um tema de extrema importância nos dias atuais, a literatura sobre biossegurança e eficiência de polimerização ainda é insuficiente.

Sendo assim, o objetivo desse estudo foi avaliar propriedades físico-químicas de sistemas alternativos de fotoiniciação em materiais experimentais através de

estudos *“in vitro”* e *“in situ”* e mensurar a eficiência na emissão de luz de aparelhos fotopolimerizadores odontológicos contemporâneos.

ARTIGO 1

Formatado segundo norma da Revista Dental Materials

EFFECT OF DIFFERENT INITIATION SYSTEMS ON SELECTED PROPERTIES OF EXPERIMENTAL RESIN-BASED RESTORATIVE MATERIALS

BOEIRA, P.O; CUEVAS-SUAREZ, C.H.; CHAVES, E.T.; FEITOSA, V.P.; MEEREIS, C.T.W.; C MORAES, R.R.; LIMA, G.L.S

Peterson Oliveira Boeira, Biomaterials Development and Control Center, School of Dentistry, Pelotas, Brazil. E-mail: peter.oli@hotmail.com

Carlos Enrique Cuevas Suárez, Dental Materials Laboratory, Academic Area of Dentistry, Autonomous University of the State of Hidalgo, Hidalgo, Mexico. E-mail: carlosecsuarez@gmail.com

Eduardo Trota Chaves, Biomaterials Development and Control Center, School of Dentistry, Federal University of Pelotas, Pelotas, Brazil. E-mail: eduardo.trota@yahoo.com

Victor Pinheiro Feitosa, Paulo Picanço School of Dentistry, Fortaleza, Brazil. E-mail: victorpfaitosa@hotmail.com

Carine Tais Welter Meereis, Biomaterials Development and Control Center, School of Dentistry, Federal University of Pelotas, Pelotas, Brazil. E-mail: carinemeereis@gmail.com

Rafael Ratto Moraes, Biomaterials Development and Control Center, School of Dentistry, Federal University of Pelotas, Pelotas, Brazil. E-mail: moraesrr@gmail.com

Giana da Silveira Lima, Biomaterials Development and Control Center, School of Dentistry, Federal University of Pelotas, Gonçalves Chaves 457, 96015-560, Pelotas, Brazil. E-mail: gianalima@gmail.com

Corresponding Author:

Giana da Silveira Lima.
Federal University of Pelotas
School of Dentistry - 504 room
457, Gonçalves Chaves St.
96015560. Pelotas, RS, Brazil.

Abstract:

Objective: To evaluate the influence of different initiation systems on the physicochemical properties of different experimental resin-based restorative materials.

Methods: Four experimental adhesive systems and one resin-based cement were formulated with four different photoinitiators systems. Water sorption and solubility were evaluated according to ISO 4049. Crosslinking density was indirectly evaluated through microhardness. The materials were applied using the adhesive technique to simulate a dental restoration in a bovine tooth and the degree of conversion “in situ” was evaluated by Raman spectroscopy. Statistical tests were analyzed by one-way ANOVA. A significance level of 0.05 was used for all test.

Results: 2-T&E adhesive formulated with the CQ + EDAB and CQ + EDAB + DPI initiation systems showed significantly lower values of water sorption than the other groups. Regarding the solubility, these values were barely affected by the type of photoinitiation system. The 1-SE adhesive showed the highest values of crosslinking density when using the CQ+EDAB+DPI system. The degree of conversion “in situ” showed a high percentage for groups of self-etching adhesives with BAPO (78%) and TPO (74%) photoinitiators.

Conclusions: The initiation system interferes with the physicochemical properties depending on the type of material. Water-soluble solvents like BAPO and TPO improved the degree of in situ conversion in self-etching adhesives.

Significance: Self-etch adhesives could be properties improved through photoinitiators systems with DPI.

Keywords: Photoinitiator, Degree of conversion, Polymerization rate, Kinetics of polymerization, Dental adhesives.

INTRODUCTION

Direct composite resin restorations are dependent on proper bonding procedures. Developing simplified adhesive systems has been one of the main progresses in dental technology over the last years [1]. Researches have been conducted, to reduce clinical steps and technical sensitivity, promoting a simpler and faster restorative procedure [2, 3].

Adhesive systems, either using the total-etch or self-etching techniques, consist of complex formulations of different types of monomers (monofunctional, cross-linkers and acidic functional), solvents and initiation systems. The use of these complex chemical formulations results in several problems, such as inhibition of polymerization [1, 4, 5]. Furthermore, it is observed to the one-step formulations have inferior mechanical performances than conventional systems [6, 7]. Therefore, these systems have been widely studied to improve their adhesive performance [1, 8].

The photoinitiator system of a dental adhesive is responsible for converting monomers by LED light irradiance [1]. Photoinitiator systems composed of camphorquinone (CQ) and tertiary amines are the most popular model. Despite this, the application of these products is commonly related to the yellowing of composites, which is only noticed after activation of the adhesive [9]. Several alternative photoinitiators are studied to improve their properties and reduce vulnerable aspects, increasing the success of the clinical procedures [10, 11].

Hydrolytic degradation is characterized by molecular sensibility in contact with water. Recent studies have shown that most of dental adhesives are susceptible to these events [1, 12, 13]. Consequently, the mechanical properties of restorative sets can be negatively impacted by contact with water, before the conversion of bonding monomers [9]. An inefficient conversion by photoinitiators agents can lead the restoration to mechanical adhesive failure, due to the moist character of the oral environment [9, 12, 14].

To the best of our knowledge, the influence of alternative photoinitiators systems is still a little-explored field, needing further contributions. Therefore, this study aimed to evaluate the influence of different initiation systems on the physicochemical properties of different experimental resin-based restorative materials. The tested

hypothesis was that a photoinitiator system was not able to affect the physicochemical properties according to the resin-based material.

MATERIALS AND METHODS

Study design

Four experimental adhesive systems and one resin-based cement were formulated with four different photoinitiators systems. For each type of resin-based material, a commercial material was added as a reference. Water sorption, solubility and crosslinking percentage were evaluated. The materials were applied according to the adhesive technique to simulate a dental restoration in bovine tooth (n=3) and the “*in situ*” degree of conversion was evaluated.

Reagents and formulations

Bisphenol A glycidyl dimethacrylate (Bis-GMA), triethylene glycol dimethacrylate (TEGDMA), 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) and camphorquinone (CQ) were supplied by (Esstech, Inc., PA, USA), (7-ethoxy-4-methylcoumarin-3-yl) ethyl 4-dimethylaminobenzoate (EDAB), diphenyliodonium chloride (DPI), Phenylbis (2,4,6-trimethylbenzoyl) phosphine oxide (BAPO), Diphenyl (2,4,6-trimethylbenzoyl) phosphine oxide (TPO) were purchased from (Aldrich Chemical, Milwaukee, WI, USA) and absolute ethanol was purchased from Vetec Company (Brazil). The acidic monomer 1,3-glycerol dimethacrylate phosphate (GDMA-P) was synthesized as previously described [15].

Initially, a resin containing the monomers Bis-GMA 50%wt, TEGDMA 25%wt, HEMA 25%wt was formulated. To obtain the mixture of monomers a speed-mixer was used. An ultrasound was used to incorporate the photoinitiators into the mixture according to the type of the experimental group.

Table 1 describes the experimental formulated materials and their composition, the basic composition of each material, the description of the photoinitiation systems formulation, and commercial material for each type of formulated adhesive.

Crosslinking percentage

Crosslinking percentage was indirectly measured through the microhardness determination of the materials before and after softening in ethanol. Vickers microhardness measurements were carried out on cylindrical specimens ($n = 3$; 6×2 mm) with a microdurometer (HMV-2, Shimadzu, Tokyo, Japan) under a load of 200 g load for 30 s. Measurements were performed at three locations near the center of the specimens, and the average value was recorded as the initial Knoop Hardness Number (dry VHN). The same samples were then immersed in pure ethanol for 24 h, and the microhardness was re-measured (wet VHN). The ratio between ethanol VHN and dry VHN (%) was used as an indication of crosslinking percentage [16].

Water sorption and solubility

The materials were placed in metallic molds to form disks 6 mm in diameter and 2 mm thick ($n=6$). The surface was covered with a glass lab to avoid atmospheric oxygen, forming a flat surface, and the materials were light-cured for 20 s. The thickness and diameter were confirmed with measurement after being cured.

Water sorption was following ISO 4049. However, disk diameters were 6mm instead of 15 mm. The specimens were measured separately and were weighed and monitored daily until their mass was constant (± 0.01), this mass was registered as m_1 . After obtaining m_1 , the thickness and diameter of the test pieces were measured to obtain the volume of each of them (V). Subsequently, all the specimens were immersed in distilled water at 37°C for one week. After that, the specimens were removed from the water, weighed and the mass obtained was recorded as m_2 . To finish the process, the specimens were again introduced in a desiccator to achieve the elimination of water and weighed daily until their mass remained constant. This mass was recorded as m_3 . The values (%) for water sorption (WS) and solubility (SL) were

calculated as $WS = \frac{M_2 - M_1}{V}$; $SL = \frac{M_1 - M_3}{V}$ [16]. The M_1 is the initial dry constant mass (mg) before the water immersion; M_2 is the mass (mg) after water immersion; M_3 is the mass (mg) after drying specimens that had reached their maximum water sorption and V is the specimen volume in mm^3 . The hydrophilicity was calculated as the sum of water sorption and solubility.

In situ degree of conversion

Specimen preparation

Seventy-five extracted bovine incisors were cleaned and stored in a 0.5 wt% Chloramine T solution for one week. Afterward, their buccal surfaces were wet-grounded to expose the dentin surface and cylindrical dentin discs were obtained using a drill. To standardize the surfaces, the dentin was wet polished with 600, 800 and 1200-grit SiC papers at 100 rpm for 60 seconds. After rinsing, the teeth were randomly separated ($N=3$) into 25 groups according to the restorative material, as follows:

- **One-step Self-etch (1-SE):** the wet was controlled using cotton, the adhesive was actively applied for 20 seconds according to the experimental group. The solvent was evaporated with air, photoactivated 20 seconds by light-curing unit (LCU) Bluephase N, then was performed restoration with 2 millimeters of thickness using resin-based Z350XT (3M ESPE, St.Paul, USA), photoactivated at 20 seconds. The commercial control used was SINGLE BOND UNIVERSAL (3M ESPE, St.Paul, USA).
- **Two-step self-etch (2-SE):** the wet was controlled using cotton then acid primer adhesive was actively applied for 20 seconds according to the experimental group. The solvent was evaporated. Applied adhesive stored on second bottle, photoactivated 20 seconds by LCU Bluephase N[®] and was performed restoration with 2 millimeters of thickness using resin-based Z350, photoactivated at 20 seconds. The commercial control used was CLEARFIL SE BOND (Kuraray Noritake Dental, Tokyo, Japan).

- **Two-step total-etch (2-T&E):** dentin was etched at 15 seconds with phosphoric acid 37% (Dentsply-Maillefer, Ballaigues, Switzerland); Washed at 15 seconds and wet was controlled using cotton. The solvent was evaporated, applied adhesive, photoactivated 20 seconds by LCU Bluephase N and then was performed restoration with 2 millimeters of thickness using resin-based Z350XT (3M ESPE, St.Paul, USA), photoactivated at 20 seconds. The commercial control used was ADPER SINGLE BOND 2 (3M ESPE, St.Paul, USA).
- **Tree-step total-etch (3-T&E):** dentin was etched at 15 seconds with phosphoric acid 37%; Washed at 15 seconds and wet was controlled using cotton. The primer was actively applied for 20 seconds according to the experimental group. The solvent was evaporated, then applied adhesive stored on another bottle, then photoactivated 20 seconds by LCU Bluephase N[®] and was performed restoration with 2 millimeters of thickness using resin-based Z350XT, photoactivated at 20 seconds. The commercial control used was ADPER SCOTCHBOND MULTIPURPOSE ADHESIVE (3M ESPE, St.Paul, USA).
- **Self-adhesive resin cement (SARC):** the wet was controlled using cotton, the thickness of resin cement 0.5 mm was applied on the surface of the tooth and applied a layer of resin on the material, then was photoactivated at 20 seconds. The commercial control used was Relyx U200 (3M ESPE, St.Paul, USA).

To perform the monomer photoactivation, a Light Emitting Diode *polywave* (Bluephase; Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein) was used and the irradiation value (1000mW/cm²) was confirmed by a digital power meter (Ophir Optronics, Danvers, MA, USA). A layer of restoration was made with composite resin Filtek Z350 XT (3M ESPE, St.Paul, USA).

In situ degree of conversion

Then the teeth were sectioned perpendicular to the bonded interface, into beams with a cross-sectional area of approximately 1.0 mm², by using a cooled low-speed diamond saw (Isomet 1000, Buehler; Lake Bluff, IL, USA). Dentin-resin beams

were randomly selected by another operator and used these samples to evaluate the degree of conversion (DC) immediately after sectioning. The sticks were wet polished using 1500- and 2000-grit SiC paper. The specimens were then ultrasonically cleaned for 10 min and positioned in micro-Raman equipment (Senterra Spectrophotometer Bruker, Ettlingen, Baden-Württemberg, Germany), which was first calibrated for zero and then for coefficient values using a silicon sample. The samples were analyzed using a 20 mW Neon laser with 532 nm wavelength, the spatial resolution of 3 μm , spectral resolution 5 cm^{-1} , accumulation time of 30 s with 5 co-additions, and 100 $\times$ magnification (Olympus microscope, London, UK) with a 1- μm beam diameter. Spectra were obtained at the dentin-adhesive interface, at three random sites (per bonded stick) within intertubular-infiltrated dentin. Spectra of uncured adhesives were taken as references. Post-processing of the spectra was performed using the Opus Spectroscopy Software version 6.5. The ratio of double bond content of monomer to polymer in the adhesive was calculated according to the following formula: $\text{DC (\%)} = (1 - [\text{R cured}/\text{R uncured}] \times 100$, where 'R' is the ratio of aliphatic and aromatic peak intensities at 1636 cm^{-1} and 1608 cm^{-1} in cured and uncured adhesives [9].

Statistical analysis

Data normality was verified using Shapiro–Wilk's test and the homoscedasticity using Levene's test. Separate statistical analyses were carried out according to the different resin-based restorative materials at a significance level of $\alpha = 0.05$. Data concerning water sorption, solubility, crosslinking percentage, and "*in situ*" degree of conversion were analyzed by One-Way ANOVA using the Sigma Plot software (version 14.0).

RESULTS

Water sorption results are presented in Figure 1. For the 1-SE and 2-SE materials, the differences among the different photoinitiation systems were not statistically significant ($p=0.194$; $p = 0.425$). Concerning 2-T&E, the CQ + EDAB and

CQ + EDAB + DPI groups had statistically significant lower values than the other groups. For the 3-T&E group, the material formulated with the CQ+EDAB photoinitiation system achieved the statistically significant lower values. Finally, for the SARC restorative material, there were no statistically significant differences among the experimental materials.

Crosslinking percentage

Figure 2 shown the crosslinking density on percentage of each adhesive system with different photo initiators. The 1-SE adhesive showed the highest values when the CQ-+EDAB+DPI system was used, however, this system had the lowest values when used in SARC.

In situ degree of conversion

The Degree of conversion of monomer in situ represented in figure 3 showed a high percentage of values to adhesive self-etch groups with photoinitiators BAPO and TPO. To statistical analyses in each type of adhesive, only in 1-SE was observed significant statistical difference between each photoinitiator. High values to BAPO and TPO, lower values are in CQ + EDAB and commercial control. Resin cement showed a significant statistical difference to commercial control with a high value than groups with experimental photoinitiators systems.

The main results found were that the DC was not significantly modified by the type of photoinitiator. Only in the CQ + EDAB groups in the 1-SE material and TPO in the SARC material, the DC was significantly smaller.

DISCUSSION

In this study, water sorption, solubility and degree of conversion of four experimental adhesives and a self-adhesive resin-based cement, containing different photoinitiator systems were evaluated. According to the results of the behavior of

chemical-physical properties, the type of initiator and the nature of the adhesive or cement have significant influences, thus rejecting the proposed null hypothesis.

According to the results for sorption and water solubility, adhesive systems that present camphorquinone as one of their photoinitiators show the lowest values with a statistically significant difference for the 2-T&E and 3-T&E groups, for the other groups there was no statistically significant difference in the results. The same results were observed for water solubility. Thus, regardless of the type of material, the photoinitiator system had almost no influence on this property. Photoinitiators solubilize very well in the solvents and monomers tested, in addition, it has been shown that the hygroscopic characteristics of resin materials depend largely on the type of organic matrix used. It is also important to emphasize that for most of the formulated materials, practically the same organic matrix was used [17]. It can be justified by the purpose of total-etch formulations, for specific contact with water presented in dentin tissue. In light of this, and agreement with previous studies, the hydrophobic character of these agents results in low interactions with the water, present in the bovine dentin specimens of this study [18]. Sorption and solubility are important parameters that can be correlated to the performance of the material, since the organic components (water and solvents) must be eliminated during the adhesion technique because, otherwise, these molecules can cause undesirable effects on adhesion, such as, reducing the polymerization efficiency [18, 19].

The cross-linking density is an interesting parameter as it demonstrates that the materials have adequate hardness and good mechanical strength. In polymeric dental materials, these requirements are desired because clinically these materials are constantly challenged due to masticatory forces, a fact that requires the materials to be non-porous and has satisfactory mechanical properties promoted by the cross-links of these polymers. The leaching of monomers is little explored in dental materials, mainly in dental adhesives, through the crosslink density allows us to infer from the difference in the hardness of the material how much the monomers were leached. Physically, this will make the material less resistant and more porous and will cause progressive wear in the restoration. This study demonstrated that the adhesive most affected by crosslink density was 3-T&E. In an isolated analysis of the photoinitiators, it can be observed that each photoinitiator behaved differently in each formulation. The 1-S&E; there is a huge difference between CQ+EDAB and CQ+EDAB+DPI. This

beneficial effect is due to the use of DPI when used in mixtures that contain solvents in their composition, especially with self-etch that has water and is difficult to remove, therefore, what influenced the most was the type of formulation of the experimental adhesives [5]. Among the results found, it is important to highlight the beneficial effect that DPI has when used in mixtures that contain solvents in its composition, especially with self-etching agents that have several components in the same bottle and that have water and are difficult to remove. This result found in this study complements what has already been observed in similar studies with other methodologies concerning DPI [5].

The degree of conversion is a property widely used to evaluate dental materials. In this study, the behavior of the degree of conversion "in situ" was evaluated, giving greater clarity on how the material behaves directly on the dental substrate. Other studies have evaluated the behavior of materials in situ, but to the best of our knowledge this was the first study to evaluate different adhesive techniques with different photoinitiators in relation to the degree of conversion "in situ". It was observed in this study that the addition of alternative photoinitiators BAPO and TPO in tertiary priming systems can improve the degree of conversion. These results are in agreement with the findings in other in vitro studies that observed similar results. Mainly in the results obtained in the 1-S&E material, in the comparison between CQ + EDAB with BAPO, which had statistically significant differences. This is in agreement with other studies that show that the polymerization rate is increased with the addition of BAPO in ternary adhesive systems [9].

The literature [20-24] recommends that a satisfactory degree of conversion is around 65% in the conversion of monomers into polymers, since a low degree of conversion can increase the possibility of cytotoxicity related to the material and consequently reduce the biocompatibility of the material, promoting unwanted effects.

The results of this study show that adding DPI in a ternary system with CQ + EDAB can be an interesting alternative to improve the properties analyzed. This was observed in the 1-SE adhesive group with the ternary system CQ + EDAB +DPI that promoted a high density of crosslinks with low values of sorption and solubility and a satisfactory degree of conversion. The improvement in physicochemical properties of adhesives with ternary photoinitiation systems was found in other studies mainly concerning DPI [25-28].

This study performed a broad evaluation with several photoinitiators and several adhesive techniques evaluating important properties for the performance of dental materials, a limitation of this study was to be able to optimize the results to correlate the evaluated properties to establish isolated responses of the individual behavior of each photoinitiator. In addition, studies related to monomer release and its effects on patients' general health, safety and biocompatibility are still limited.

CONCLUSION

According to the main findings in this study, allow concluding that:

The initiation system showed potential to interfere with the physicochemical properties depending on the type of material.

Total-etch adhesive systems are more susceptible to water sorption and solubility than self-etching systems.

The adhesive systems 1-SE with addition of DPI provide more *Crosslinking* in monomers matrix.

Photoinitiators systems with BAPO and TPO improved DC in self-etch adhesives.

Acknowledgments

This work was supported by Brazilian National Research Council (CNPq) supported the authors (grants #141524/2018-9).

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoas de Nível Superior- Brasil (CAPES)- Finance code 001.

Conflicts of interest

The authors declare that they have no competing interests

REFERÊNCIAS

- [1] Nagarkar S, Theis- Mahon N, Perdigão J. Universal dental adhesives: Current status, laboratory testing, and clinical performance. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. 2019;107:2121-31.
- [2] Bedran-Russo A, Leme-Kraus AA, Vidal CM, Teixeira EC. An overview of dental adhesive systems and the dynamic tooth–adhesive interface. *Dental Clinics*. 2017;61:713-31.
- [3] Yamauchi S, Wang X, Egusa H, Sun J. High-Performance Dental Adhesives Containing an Ether-Based Monomer. *Journal of dental research*. 2020;99:189-95.
- [4] Lima GdS, Ogliari FA, da Silva EO, Ely C, Demarco FF, Carreño NLV, et al. Influence of water concentration in an experimental self-etching primer on the bond strength to dentin. *Journal of Adhesive Dentistry*. 2008;10.
- [5] Ogliari FA, Ely C, Lima GS, Conde MC, Petzhold CL, Demarco FF, et al. Onium salt reduces the inhibitory polymerization effect from an organic solvent in a model dental adhesive resin. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*. 2008;86:113-8.
- [6] Cardoso M, de Almeida Neves A, Mine A, Coutinho E, Van Landuyt K, De Munck J, et al. Current aspects on bonding effectiveness and stability in adhesive dentistry. *Australian dental journal*. 2011;56:31-44.
- [7] Kim Y, Kim S, Jeong T, Son SA, Kim J. Effects of Additional Acid Etching on the Dentin Bond Strengths of One- Step Self- Etch Adhesives Applied to Primary Teeth. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*. 2017;29:110-7.
- [8] Van Meerbeek B, Yoshihara K, Yoshida Y, Mine A, De Munck J, Van Landuyt K. State of the art of self-etch adhesives. *Dental materials*. 2011;27:17-28.

- [9] Almeida SM, Meereis CT, Leal FB, Carvalho RV, Boeira PO, Chisini LA, et al. Evaluation of alternative photoinitiator systems in two-step self-etch adhesive systems. *Dental Materials*. 2020;36:e29-e37.
- [10] dos Reis Lima C, da Silva DB, Vitti RP, Miranda ME, Brandt WC. Mechanical properties of experimental resin cements containing different photoinitiators and co-initiators. *Clinical, cosmetic and investigational dentistry*. 2019;11:285.
- [11] Zhang J, Lalevée J, Hill NS, Peng X, Zhu D, Kiehl J, et al. Photoinitiation mechanism and ability of monoamino- substituted anthraquinone derivatives as cationic photoinitiators of polymerization under LEDs. *Macromolecular rapid communications*. 2019;40:1900234.
- [12] Decha N, Talungchit S, Iawsipo P, Pikulngam A, Saiprasert P, Tansakul C. Synthesis and characterization of new hydrolytic-resistant dental resin adhesive monomer HMTAF. *Designed monomers and polymers*. 2019;22:106-13.
- [13] Scotti N, Cavalli G, Gagliani M, Breschi L. New adhesives and bonding techniques. Why and when? *The international journal of esthetic dentistry*. 2017.
- [14] Howard J, Gardner L, Saifee Z, Geleil A, Nelson I, Colombo JS, et al. Synthesis and characterization of novel calcium phosphate glass-derived cements for vital pulp therapy. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2020;31:1-12.
- [15] Leal FB, Madruga FC, Prochnow EP, Lima GS, Ogliari FA, Piva E, et al. Effect of acidic monomer concentration on the dentin bond stability of self-etch adhesives. *International journal of adhesion and adhesives*. 2011;31:571-4.
- [16] Pérez-Mondragón AA, Cuevas-Suárez CE, González-López JA, Trejo-Carbajal N, Meléndez-Rodríguez M, Herrera-González AM. Preparation and evaluation of a BisGMA-free dental composite resin based on a novel trimethacrylate monomer. *Dental Materials*. 2020;36:542-50.
- [17] Ferracane JL. Hygroscopic and hydrolytic effects in dental polymer networks. *Dental Materials*. 2006;22:211-22.

- [18] Elliott JE, Bowman CN. Effects of solvent quality during polymerization on network structure of cross-linked methacrylate copolymers. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2002;106:2843-7.
- [19] Luque-Martinez IV, Perdigão J, Muñoz MA, Sezinando A, Reis A, Loguercio AD. Effects of solvent evaporation time on immediate adhesive properties of universal adhesives to dentin. *Dental Materials*. 2014;30:1126-35.
- [20] de Souza Costa CA, Hebling J, Hanks CT. Effects of light-curing time on the cytotoxicity of a restorative resin composite applied to an immortalized odontoblast-cell line. *OPERATIVE DENTISTRY-UNIVERSITY OF WASHINGTON*-. 2003;28:365-70.
- [21] dos Santos RL, de Sampaio GA, de Carvalho FG, Pithon MM, Guênes GM, Alves PM. Influence of degree of conversion on the biocompatibility of different composites in vivo. *J Adhes Dent*. 2014;16:15-20.
- [22] Hass V, Dobrovolski M, Zander-Grande C, Martins GC, Gordillo LAA, Accorinte MdLR, et al. Correlation between degree of conversion, resin–dentin bond strength and nanoleakage of simplified etch-and-rinse adhesives. *Dental materials*. 2013;29:921-8.
- [23] Navarra CO, Breschi L, Turco G, Diolosa M, Fontanive L, Manzoli L, et al. Degree of conversion of two-step etch-and-rinse adhesives: in situ micro-Raman analysis. *Journal of dentistry*. 2012;40:711-7.
- [24] Van Landuyt KL, Krifka S, Hiller K-A, Bolay C, Waha C, Van Meerbeek B, et al. Evaluation of cell responses toward adhesives with different photoinitiating systems. *Dental Materials*. 2015;31:916-27.
- [25] Dressano D, Palialol AR, Xavier TA, Braga RR, Oxman JD, Watts DC, et al. Effect of diphenyliodonium hexafluorophosphate on the physical and chemical properties of ethanolic solvated resins containing camphorquinone and 1-phenyl-1, 2-propanedione sensitizers as initiators. *Dental Materials*. 2016;32:756-64.
- [26] Ferrúa CP, Leal FB, de Oliveira Gazal M, Ghisleni GC, de Carvalho RV, Demarco FF, et al. Iodonium salt incorporation in dental adhesives and its relation with degree

of conversion, ultimate tensile strength, cell viability, and oxidative stress. Clinical oral investigations. 2019;23:1143-51.

[27] Leite TV, da Silva DH, Esposito GdMN, Aguiar FHB, Lima AF, Marchi GM. Positive Synergistic Effect of Adhesives and Resin Cements Containing an Iodonium Salt on Bonding of Fiber Posts. The Journal of Adhesive Dentistry. 2021;23:217-22.

[28] Sodré CS, Albuquerque PPA, Isolan CP, Moraes RR, Schneider LF. Relative photon absorption determination and the influence of photoinitiator system and water content on C= C conversion, water sorption/solubility of experimental self-etch adhesives. International Journal of Adhesion and Adhesives. 2015;63:152-7.

Tables

Table 1: Experimental adhesives according with formulation, photoinitiators systems and commercial references.

Group	Formulation (%)	Photoinitiators (%)
1-SE + CQ + EDAB	50% Bis-GMA, 25% TEGDMA and 25% HEMA + acid monomer (GDMA-P) + solvent + water	0.4% CQ; 0.8% EBAB
1-SE + CQ + EDAB + DPI		0.4% CQ; 0.8% EBAB; 0.8% DPI
1-SE + BAPO		1% BAPO
1-SE + TPO		1% TPO
Control 1-SE (Single bond universal)	details not available in manufacturer's package insert	
2-SE + CQ + EDAB	50% Bis-GMA, 25% TEGDMA and 25% HEMA + acid monomer (GDMA-P) + solvent + water	0.4% CQ; 0.8% EBAB
2-SE + CQ + EDAB + DPI		0.4% CQ; 0.8% EBAB; 0.8% DPI
2-SE + BAPO		1% BAPO
2-SE + TPO		1% TPO
Control 2-SE (clearfil se bond)	details not available in manufacturer's package insert	
2-T&E + CQ + EDAB	50% Bis-GMA, 25% TEGDMA and 25% HEMA + solvent + water	0.4% CQ; 0.8% EBAB
2-T&E + CQ + EDAB + DPI		0.4% CQ; 0.8% EBAB; 0.8% DPI
2-T&E + BAPO		1% BAPO
2-T&E + TPO		1% TPO
Control 2-T&E (adper single bond 2)	details not available in manufacturer's package insert	
3-T&E + CQ + EDAB	50% Bis-GMA, 25% TEGDMA and 25% HEMA + solvent + water	0.4% CQ; 0.8% EBAB
3-T&E + CQ + EDAB + DPI		0.4% CQ; 0.8% EBAB; 0.8% DPI
3-T&E + BAPO		1% BAPO
3-T&E + TPO		1% TPO
Control 3-T&E (Adper Scotchbond MultiPurpose)	details not available in manufacturer's package insert	
SARC + CQ + EDAB	50% Bis-GMA, 25% TEGDMA and 25% HEMA + acid monomer (GDMA-P) + solvent + water + inorganic particles of borosilicate	0.4% CQ; 0.8% EBAB
SARC + CQ + EDAB + DPI		0.4% CQ; 0.8% EBAB; 0.8% DPI
SARC + BAPO		1% BAPO
SARC + TPO		1% TPO
Control SARC (Relyx U200)	details not available in manufacturer's package insert	

Legends: 1-SE: One-step Self-etch; 2-SE: Two-step self-etch; 2-T&E: Two-step total-etch; 3-T&E: Three-step total-etch; SARC: Self-adhesive resin cement.

Figure and legends

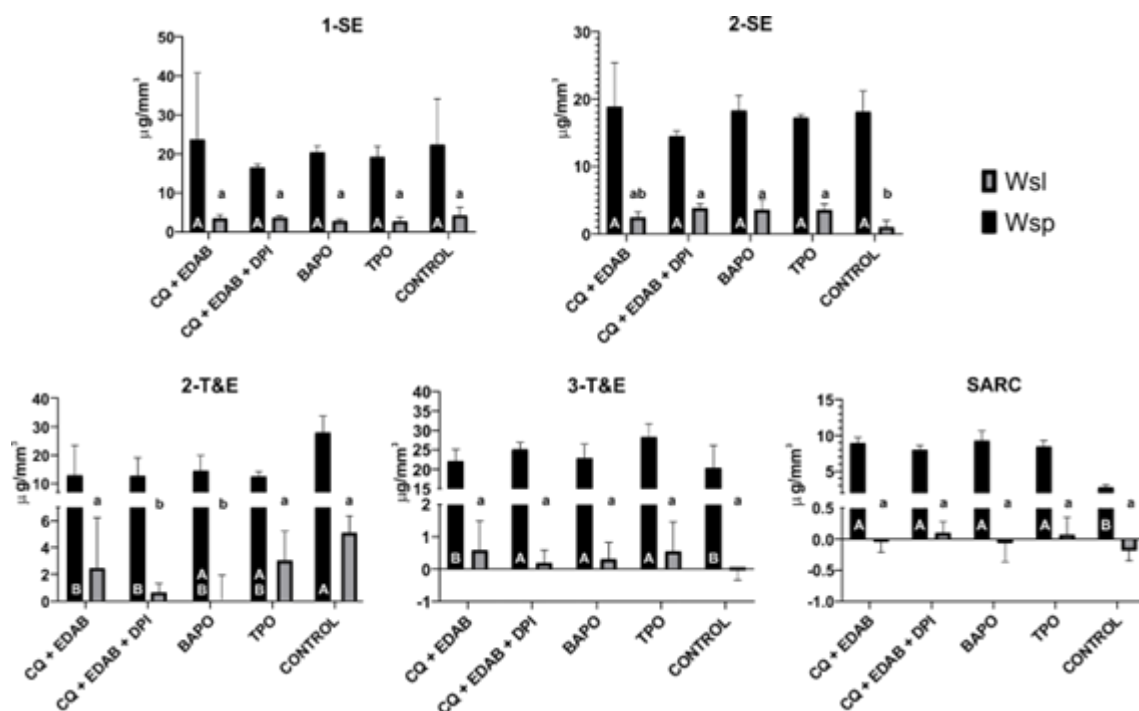


Figure 1: Water sorption and solubility ($\mu\text{g}/\text{mm}^3$) of different dental adhesives with different formulations of photoinitiation systems. Different letters show a statistically significant difference ($p < 0.001$).

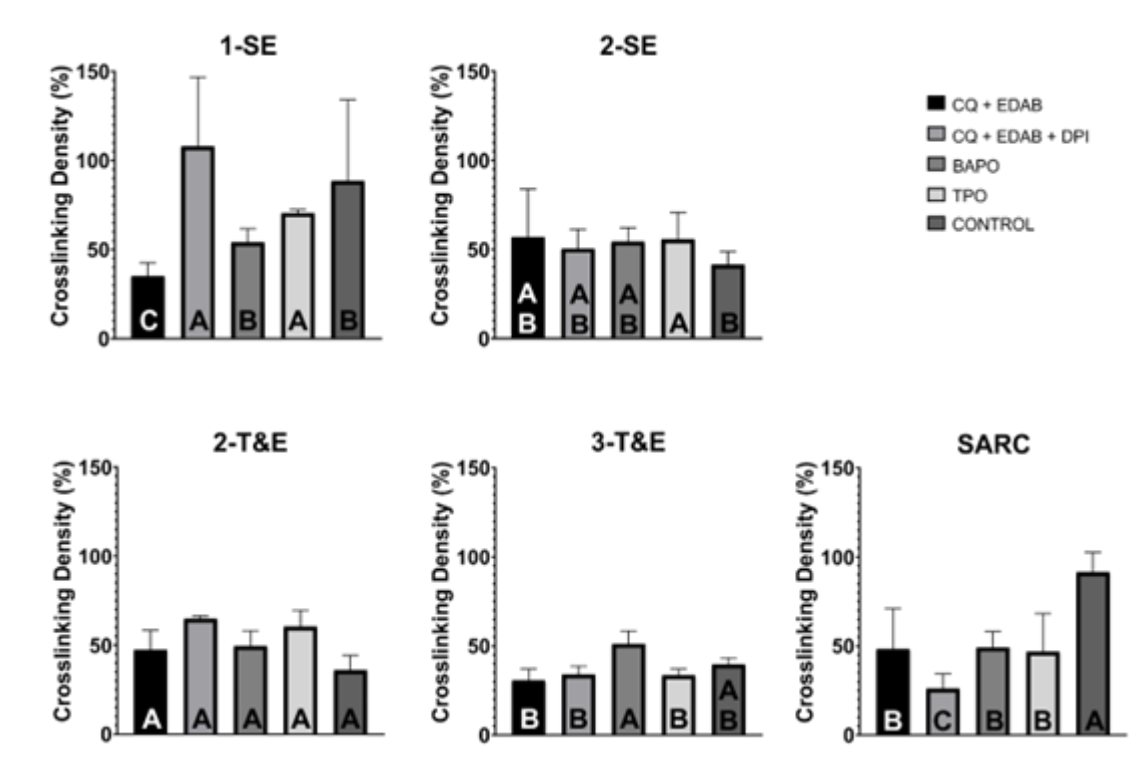


Figure 2: Crosslinking density (%) of different types of dental adhesives with different formulations of photoinitiation systems. Different letters show a statistically significant difference ($p < 0.001$).

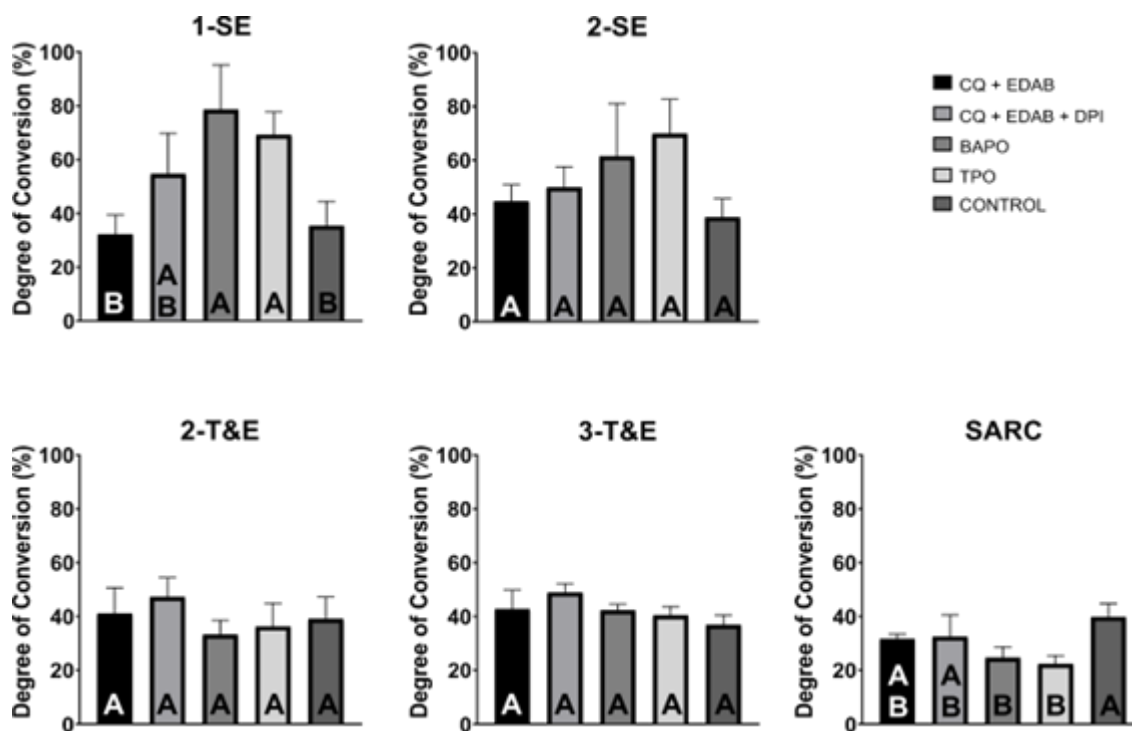


Figure 3: Mean (SD) of degree of conversion (%) of different types of dental adhesives with different formulations of photoinitiation systems. Different letters show a statistically significant difference ($p < 0.001$).

ARTIGO 2

Segundo a norma da Revista Brazilian Dental Science

Publicado em: 01 de outubro de 2021

Disponível no link: <https://ojs.ict.unesp.br/index.php/cob/article/view/2661>

Research field: Dental Materials

Title:

Polywave versus monowave light-curing units and their effects on polymerization efficiency of different photoinitiators

Name:

^(a) Peterson Oliveira Boeira (peter.oli@hotmail.com) (53) 99991-8797

^(a) Mateus De Azevedo Kinalski (mateus_kinalsk@hotmail.com) (53) 99990-4838

^(a) Mateus Bertolini Fernandes dos Santos (mateusbertolini@yahoo.com.br) (53) 99934-9134

^(a) Rafael Ratto de Moraes (moraesrr@gmail.com) (53) 98117-9242

^(a) Giana da Silveira Lima (gianalima@gmail.com) (53) 99952-2626

Department and institutions

^(a) Graduate Program in Dentistry, Federal University of Pelotas, Pelotas, RS, Brazil

Corresponding Author:

Giana da Silveira Lima

Federal University of Pelotas

School of Dentistry - Room 504

Rua Gonçalves Chaves, 457

(ZIP) 96015560. Pelotas, RS, Brazil

Polywave and monowave light-curing units effects on polymerization efficiency of different photoinitiators

ABSTRACT

The objective of this study was to characterize and correlate the absorption spectra of three photoinitiators, using a second- or third-generation light-curing unit. Materials and methods: the second-generation light-curing units were Radium-cal® and Emitter D®. The third-generation units were Valo® Cordless and Bluephase N®, and were assessed for spectrum and irradiance rate of emitted light. The photoinitiators were characterized by a light absorption spectrum assessed by UV-Vis spectroscopy, degree of conversion and yellowing effect. Results: BAPO presented higher reactivity than TPO. The Bluephase N® and Valo® Cordless showed two different peaks that reacted to the absorption spectra of all the photoinitiators. With respect to the degree of conversion of the photoinitiators activated by different light-curing units, the Emitter D® device promoted a high degree of conversion. BAPO presented the highest yellowing effect values. Conclusions: The emission and absorption characteristics of the photoinitiators were different. The polymerization reaction activated by the second-generation light-curing unit was reduced when using an experimental resin with photoinitiator TPO, and the third-generation light-curing unit showed a higher polymerization potential regardless of the photoinitiator.

Keywords: Light-Curing of Dental Adhesives, Photoinitiators Dental, Curing Lights Dental.

INTRODUCTION

The evolution of conservative restorative dentistry has progressed significantly since the introduction of resin-based composites (RBC) and dental adhesives. Restorative procedures using these approaches have been widely used (1), offering tooth restoration that minimizes the wear of tooth structures (2). In this respect, the adhesive systems used in these procedures are generally light-cured. For this reason, the photoinitiators contained in these systems must be present in adequate quantity to react properly with their respective light wavelength (3).

The most important characteristic of a dental adhesive is its bonding with the dental surface (enamel and/or dentin) (4). The chemical composition of adhesive systems includes methacrylate monomers, solvents, and a system of photoinitiators (5). One of the most common photoinitiators used in dental adhesives is camphorquinone (6), although several other photoinitiators have been developed to reduce the impact of color instability, such as monoacylphosphine oxide (TPO) (7), and phenylbis (2,4,6-trimethylbenzoyl)-phosphine oxide (BAPO) (8). These substances have been shown to have an adequate degree of C=C conversion (9) of RBCs. In addition, it is uncertain what mechanical properties of these photoinitiators (10, 11) are satisfactory in relation to different light sources. To the best of our knowledge, these properties have not been evaluated in previously published studies. The greater results of dental adhesives must consider the light-curing process as critical toward achieving a satisfactory degree of conversion, to the extent that it will be able to improve the properties of these adhesive materials.

The light-curing process should be regarded as a critical step in the restorative procedure (12), and must involve an adequate light-curing unit (LCU). The first

generation of LCUs was introduced in the late 90's. These LCUs produced a relatively low capacity of polymerization, mainly guaranteed by higher exposure time (13). The second generation of LCUs saw some improvements, such as increased irradiance values and lower exposure time; however, these LCUs presented a reduced spectral emission wavelength, compared with that of the first generation (430-500nm to 420-470nm) (14). More recently, the third generation of LCUs was manufactured with a simultaneous combination of violet and blue wavelengths, which can provide a large spectrum of wavelengths, compared with the earlier models.

Recent studies have demonstrated that some LCUs do not have a broad wavelength spectrum, needed to activate photoinitiators with different absorption peaks (15). Since activation represents a critical step of the restorative procedure, it is important to understand the effects of these factors on this procedure.

Thus, this paper aimed to characterize and correlate the absorption spectra of three photoinitiators (camphorquinone, TPO and BAPO), using a second or third generation LCU, and to evaluate the degree of conversion and the physicochemical properties of an experimental resin-based composite (eRBC). The hypothesis was that the polymerization effect of these two LCUs is similar.

MATERIALS AND METHODS

Reagents

The following reagents were purchased to perform the research: bisphenol-A glycidyl dimethacrylate (Bis-GMA), triethylene glycol dimethacrylate (TEGDMA), 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA), and camphorquinone (CQ) (all directly from their

manufacturer, Esstech, Essington, USA), TPO, BAPO, diphenyliodonium hexafluorophosphate (DPIHFP), ethyl 4-(dimethylamino)benzoate (EDAB) (all from Sigma-Aldrich Chemical, Milwaukee, USA), and toluene (Vetec, Rio de Janeiro, BRA).

Study design

Two 2nd generation and two 3rd generation LCUs were assessed for spectra and irradiance rate of emitted light. The photoinitiators were characterized by a light absorption spectrum. An experimental adhesive was prepared by mixing 50% Bis-GMA, 25% TEGDMA and 25% HEMA. Additionally, three different initiator systems were included in the experimental adhesive, and evaluated in the following groups:

- 1) CQ (0.4% molar) + EDAB (0.8% mol) + DPIHFP (1% mol)
- 2) BAPO (1% mol) + DPIHFP (1% mol)
- 3) TPO (1% mol) + DPIHFP (1% mol)

Physical-chemical properties, such as degree of conversion and yellowing effect, were tested using the different groups. This design enabled knowing the main outcomes of the response variables of each photoinitiator in relation to the LCUs.

LED LCUs

The LED LCUs were chosen according to their generation, and to the difference in their light emission spectra. The second generation LCUs were Radium-cal[®] (SDI, Bayswater, AUS) and Emitter D[®] (Schuster, Santa Maria, BRA). The third generation LCUs were Valo[®] Cordless (Ultradent, South Jordan, USA) and Bluephase N[®] (Ivoclar Vivadent, Schaan, LI). The irradiance emitted was measured with the MARC[®]-Resin Calibrator (Bluelight Analytics, Halifax, Canada). Each LCU was tested in a standard

position, 0 mm from the sensor, with 20-second light activation. The mean irradiance (mW/cm^2), total energy density (J/cm^2), energy distribution per spectrum (J/cm^2), and spectral irradiance ($\text{mW}/\text{cm}^2/\text{nm}$) of each LED light were considered.

UV-VIS Spectroscopy

The UV-VIS was recorded using a UV/VIS Hitachi UV-2450 spectrometer (Shimadzu, Columbia, USA). The spectrophotometric analysis was performed to evaluate the photoinitiator light absorption in the spectral range of 200-600 nm. All photoinitiators were diluted in a 1.0×10^{-3} toluene solution. These specters were collected using a 1-cm-long quartz cell.

Degree of conversion

The degree of C=C conversion of the eRBC was evaluated by Fourier transformed infrared spectroscopy using a Prestige 21 spectrometer (Shimadzu, Tokyo, JAP), equipped with an attenuated reflectance device composed of a horizontal ZnSe crystal with a 45° mirror angle (PIKE Technologies, Madison, USA). The IRSolution software package (Shimadzu, Columbia, USA) was used in the monitoring scan mode using Happ-Genzel apodization in the $1500\text{--}1800\text{cm}^{-1}$ range, with 4 cm^{-1} resolution and 2.8 mm/s mirror speed. The analysis was performed at a controlled temperature of 23° Celsius ($\pm 2^\circ\text{ C}$) and relative humidity of 60% ($\pm 5\%$). The sample (3 μL) was distributed directly in the crystal diamond, and light activated for 20 seconds. The degree of conversion was calculated based on the intensity of the carbon-carbon double bond stretching vibrations (peak height) at 1635 cm^{-1} , using a

symmetric ring stretching at 1610 m^{-1} from the polymerized and non-polymerized samples as an internal standard. The analyses were performed in triplicate ($n = 3$).

Yellowing effect

Cylindrical samples ($n = 6$) were obtained by inserting eRBC into silicon models (6 mm diameter x 1 mm thick). The top and bottom surfaces of the specimens were light-activated using the LCU Valo® Cordless. Analysis of the yellowing effect was performed with a portable spectrophotometer (X-Rite SP60, Grand Rapids, USA) to measure the b^* axis of the CIELAB system. This parameter measures the yellow color of a material, where higher values of the b^* axis represent a higher yellowing effect (16).

Statistical analysis

Statistical analyzes were performed using the SigmaStat software package. The results of the degree of conversion were submitted to statistical two-way ANOVA. The results of the yellowing effect were evaluated statistically by one-way ANOVA and the Tukey test.

RESULTS

Figure 1 shows the results of the absorption spectra of different photoinitiators. BAPO (A) presented higher reactivity, compared with TPO (B). Note that both photoinitiators were limited to a proximal wavelength (440nm and 420nm respectively). However, CQ+EDAB (C) showed lower reactivity with the same 1.0×10^{-3} toluene concentration, but a broader absorption spectra (400nm-500nm, with maximum

absorption length of 468nm) than groups A and B. Figure 2 compares the light emission spectra between 2nd generation and 3rd generation LCUs. The 3rd generation LCU presented a broad light spectrum, but LCU Bluephase N[®] (A) (peak at 410-458nm), Valo[®] Cordless (B) (peak at 400-468nm), LCU Radii-cal[®] (D) (peak at 420-500nm) and Emitter D[®] (peak at 420-500nm) (C) showed higher intensity than the 3rd generation.

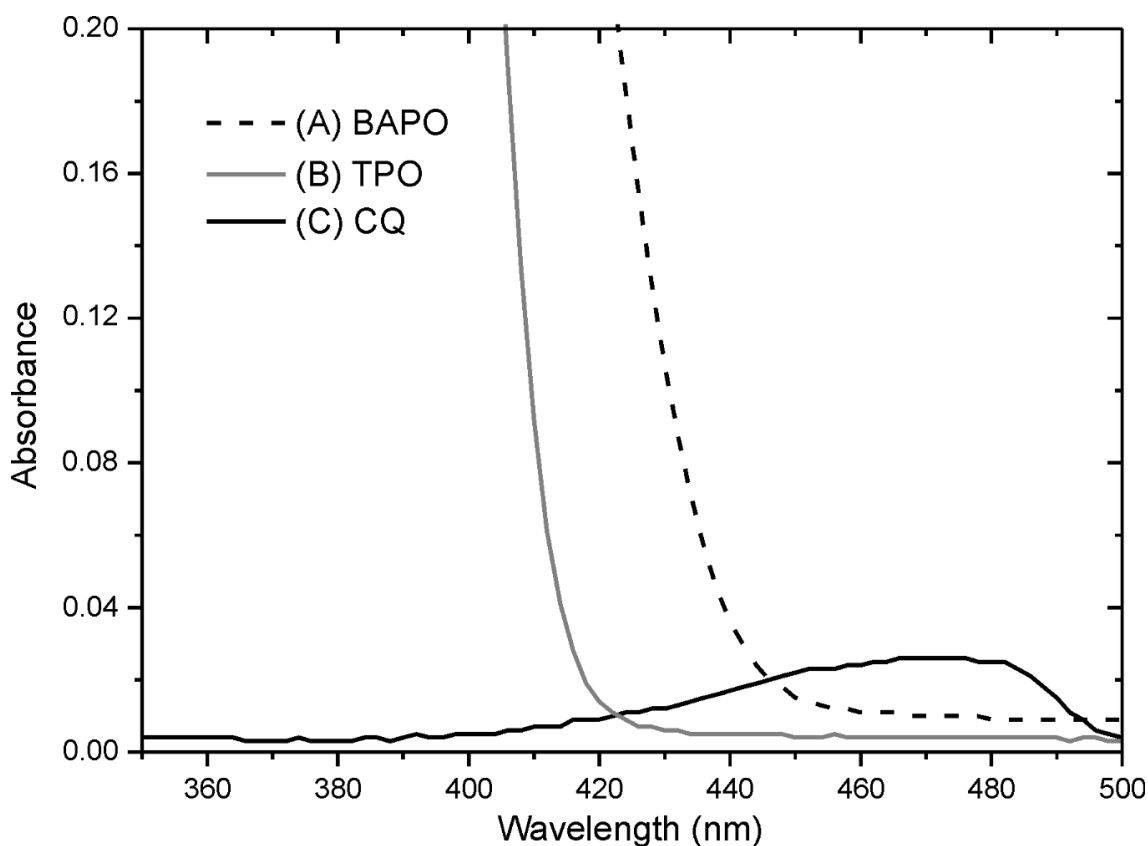


Figure 1: Absorption spectrum (nm) by UV-VIS of different photoinitiators: BAPO (A), TPO (B) and camphorquinone (C), all diluted in a toluene solution of 1.0×10^{-3} .

Figure 2 presents the correlation between the absorption spectra of the photoinitiators and the absolute irradiance spectra for the different LCUs. The Bluephase N[®] (A) and Valo[®] Cordless (B) showed two different peaks that reacted to the absorption spectra of all the photoinitiators. The Radii-cal[®] (D) and Emitter D[®] (C) LCUs showed a light emission peak associated only with the CQ photoinitiator.

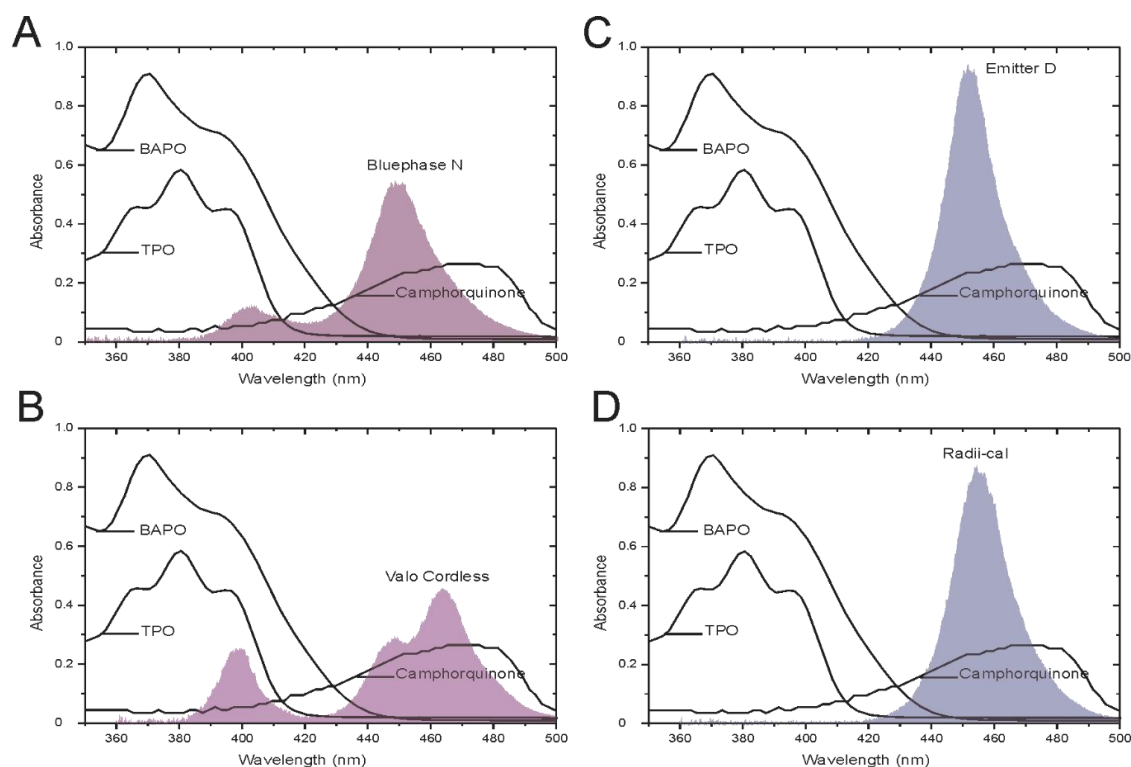


Figure 2: Light emission spectrum from 2nd generation or 3rd generation LCUs manufactured by Bluephase N® (A), Valo® Cordless (B), Emitter D® (C) and Radii-cal® (D), with correlation between absorption spectrum of photoinitiators and absolute irradiance of different LCUs.

Table 1 shows the degree of conversion of photoinitiators activated by different LCUs. Emitter D® presented a statistically significant difference ($p < 0.05$) in degree of conversion than an eRBC containing CQ.

Table 1. Mean and standard deviation of degree of conversion (%) of an experimental adhesive containing different photoinitiators using different light curing units

Light Curing Units	Photoinitiators		
	Camphoroquinone	BAPO	TPO
** Valo® Cordless	67.0 (0.5) ^{Bb}	74.2 (3.6) ^{Aa}	77.8 (3.0) ^{Aa}
** Bluephase N®	72.1 (3.8) ^{Ba}	74.8 (3.8) ^{Aa}	76.3 (3.8) ^{Aa}
* Radii-cal®	74.0 (0.7) ^{Ba}	72.4 (7.9) ^{Aa}	0.2 (0.1) ^{Cb}
* Emitter D®	77.8 (2.3) ^{Aa}	77.0 (5.2) ^{Aa}	41.0 (3.2) ^{Bb}

Uppercase letters indicate a statistically significant difference among groups in the columns, and lowercase letters indicate a statistically significant difference among rows ($p < 0.05$). The symbol shows characteristics of *monowave LCUs and **Polywave LCUs.

Figure 3 shows the yellowing effect of different photoinitiators. A statistically significant difference was found among the groups: BAPO presented the highest yellowing effect values (11.25 ± 0.56), followed by CQ (9.00 ± 0.38), and TPO (4.46 ± 0.34) had the lowest values ($p < 0.05$).

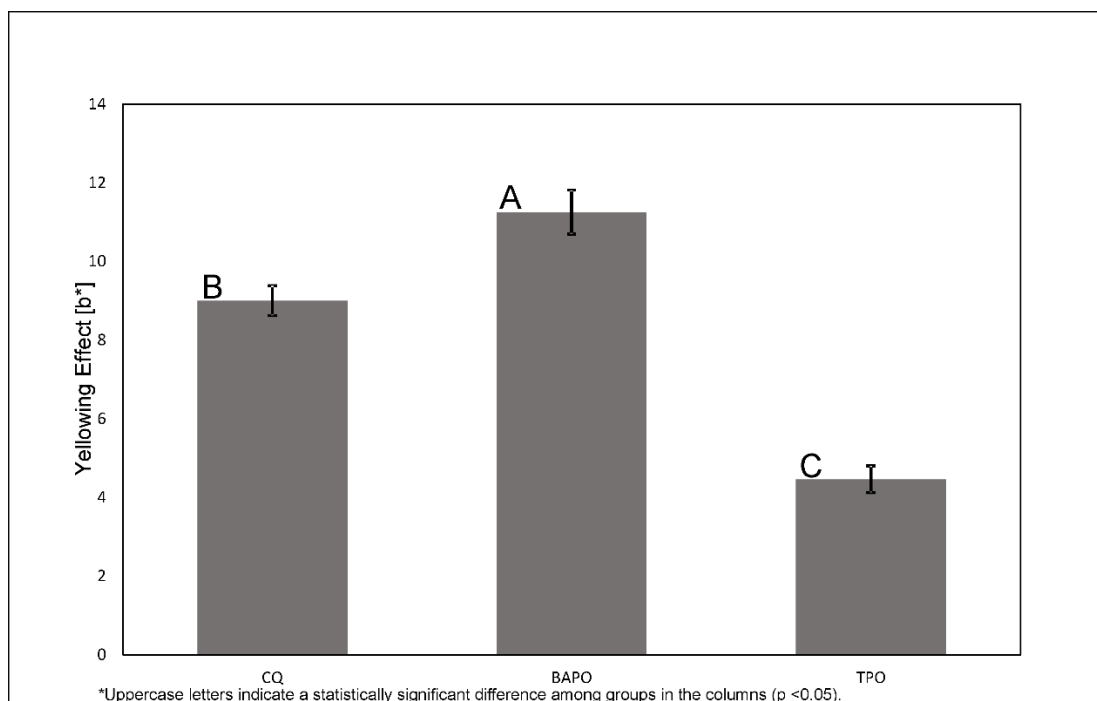


Figure 3: Mean and standard deviation from yellowing-effect [b*] of an experimental adhesive containing different photoinitiators.

DISCUSSION

To the best of our knowledge, this is the first study to evaluate the effects of four different LCUs (two 2nd and two 3rd generation units), and the degree of conversion of three photoinitiators. The hypothesis was rejected, because the polymerization effect was not similar among the LCUs, which used different photoinitiators. Notwithstanding, the present study results showed that 2nd generation LCU Raddi-cal[®] did not present an adequate degree of conversion with TPO photoinitiator, whereas Emitter D[®] presented a regular degree of conversion with the same photoinitiator. In comparison, the 3rd generation Valo[®] Cordless and Bluephase N[®] LCUs presented a higher degree of conversion, regardless of the photoinitiator used.

Considering the characteristics of light emission, 3rd generation LCUs are capable of emitting a broad wavelength spectrum. In a recent study comparing 2nd and 3rd generation LCUs, the more recently launched Bluephase G2 and Valo® Cordless LCUs presented emission peaks of 410-460 nm and 410-455 nm, respectively, whereas the 2nd generation Bluephase G1 had a peak of about 460 nm (17). In this respect, RBCs that present a photoinitiator with an absorption spectrum between 460 nm and 420 nm, like TPO, cannot properly initiate a degree of conversion, corroborating the results of the present study, in which TPO did not convert properly when a 2nd generation LCU was used.

The absorption peak values of specific photoinitiators are important to report, in order to demonstrate the ability of each LCU, since this characteristic is important for achieving a better degree of conversion. In addition, BAPO and TPO photoinitiators demonstrated a narrow wavelength absorption spectrum, with peaks at 440 nm and 420 nm respectively, whereas CQ demonstrated a broader spectrum of absorption, reaching the maximum peak at 468 nm. It is noteworthy to mention that this procedure is bilateral, given that the LCU must be chosen in agreement with an RBC having a photoinitiator that can be activated by this light emission spectrum. However, some studies have reported the incompatibility of some photoinitiators in the absorption spectrum range (17). Bear in mind that the absorption spectrum of the TPO was in the range of 360 nm to 425 nm, whereas that of the CQ lay in a broader spectrum of absorption, from 400 nm to 500 nm. These results suggest that there was a probable reduction in the polymerization-related properties, owing to the difference between the emission spectra of 3rd generation LCUs and the absorption spectra of these photoinitiators.

As seen in the present study, the relationship between the LCU and the light emission spectrum may impact the result of the dental restoration, since there are different RBCs that use different photoinitiators in manufacturing LCUs. In clinical practice, if the dentist is not aware of the specific wavelength required by an RBC composition, the final dental restoration may not reproduce the most adequate characteristics in the oral environment. It is important to bear in mind that specific photoinitiators require an adequate LCU to achieve an optimal conversion degree. In the present study, considering composites using TPO, the 2nd generation LCU did not present good conversion, whereas the 3rd generation LCU presented good results for the same aspects. Therefore, it should be emphasized that the most suitable LCU for the specific type of material should be used, and especially that the best photoinitiator to achieve the optimal degree of conversion should be identified.

As expected, the yellowing effect of BAPO and CQ was higher than that of TPO. It is widely recognized that the greater the CQ concentration, the greater the yellowing effect, since the chemical structure of CQ has some substances that will be responsible for a shift in the color stability according to the light absorption (18). However, some studies have compared the color stability of these photoinitiators when used together, and the combination of these photoinitiation systems resulted in higher color stability with a lower degree of yellowing (19). In addition, some RBCs manufactured with TPO have presented greater staining stability and less yellowing effect, compared with composites containing BAPO and CQ (20).

CONCLUSION

The main outcomes found in this study were:

- The emission and absorption characteristics were different depending on the LCUs and the photoinitiators.
- The polymerization reaction activated by the 2nd generation LCU was reduced when using an experimental resin with photoinitiator TPO.
- The third-generation photopolymerizers showed higher polymerization potential regardless of the photoinitiator.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was funded in part by the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES), Funding Code 001. The Brazilian National Research Council (CNPq) and the National Council for Scientific and Technological Development (CAPES) supported the authors (grants #141524/2018-9 – POB, and #8882.346916/2019-01 – MAK). The authors declare no conflict of interest.

REFERENCES

1. Ferracane JL. Resin composite--state of the art. Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials. 2011;27(1):29-38.
2. Mackenzie L, Banerjee A. Minimally invasive direct restorations: a practical guide. British dental journal. 2017;223(3):163-71.
3. Ferracane JL, Hilton TJ, Stansbury JW, Watts DC, Silikas N, Ilie N, et al. Academy of Dental Materials guidance—Resin composites: Part II—Technique sensitivity (handling, polymerization, dimensional changes). Dental Materials. 2017;33(11):1171-91.
4. Van Meerbeek B, Yoshihara K, Yoshida Y, Mine A, De Munck J, Van Landuyt KL. State of the art of self-etch adhesives. Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials. 2011;27(1):17-28.
5. Rosa WLdOd, Piva E, Silva AFd. Bond strength of universal adhesives: A systematic review and meta-analysis. Journal of Dentistry. 2015;43(7):765-76.
6. Santini A, Gallegos IT, Felix CM. Photoinitiators in dentistry: a review. Primary dental journal. 2013;2(4):30-3.
7. Albuquerque PPA, Moreira AD, Moraes RR, Cavalcante LM, Schneider LFJ. Color stability, conversion, water sorption and solubility of dental composites formulated with different photoinitiator systems. Journal of dentistry. 2013;41:e67-e72.
8. Salgado VE, Borba MM, Cavalcante LM, De Moraes RR, Schneider LF. Effect of photoinitiator combinations on hardness, depth of cure, and color of model resin composites. Journal of Esthetic and Restorative Dentistry. 2015;27:S41-S8.
9. Meereis CTW, Leal FB, Lima GS, de Carvalho RV, Piva E, Ogliari FA. BAPO as an alternative photoinitiator for the radical polymerization of dental resins. Dental Materials. 2014;30(9):945-53.
10. Besse V, Derbanne MA, Pham T-N, Cook WD, Le Pluart L. Photopolymerization study and adhesive properties of self-etch adhesives containing bis(acyl)phosphine oxide initiator. Dental Materials. 2016;32(4):561-9.
11. Borges BCD, Sousa-Lima RXd, Moreno GBP, Moreira DGL, Oliveira DCRS, Souza-Junior EJC, et al. Polymerization and adhesion behavior of experimental dental bonding materials with different initiator systems. Journal of Adhesion Science and Technology. 2018;32(3):239-46.
12. Munchow EA, Meereis CTW, de Oliveira da Rosa WL, da Silva AF, Piva E. Polymerization shrinkage stress of resin-based dental materials: A systematic review and meta-analyses of technique protocol and photo-activation strategies. J Mech Behav Biomed Mater. 2018;82:77-86.
13. Price RBT. Light Curing in Dentistry. Dental clinics of North America. 2017;61(4):751-78.
14. Rueggeberg FA, Giannini M, Arrais CAG, Price RBT. Light curing in dentistry and clinical implications: a literature review. Braz Oral Res. 2017;31(suppl 1):e61.
15. Porto IC, Soares LE, Martin AA, Cavalli V, Liporoni PC. Influence of the photoinitiator system and light photoactivation units on the degree of conversion of dental composites. Braz Oral Res. 2010;24(4):475-81.
16. Schneider LF, Pfeifer CS, Consani S, Pahl SA, Ferracane JL. Influence of photoinitiator type on the rate of polymerization, degree of conversion, hardness and yellowing of dental resin composites. Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials. 2008;24(9):1169-77.

17. Santini A, Miletic V, Swift MD, Bradley M. Degree of conversion and microhardness of TPO-containing resin-based composites cured by polywave and monowave LED units. *J Dent.* 2012;40(7):577-84.
18. Maciel D, Caires-Filho AB, Fernandez-Garcia M, Anauate-Netto C, Alonso RCB. Effect of Camphorquinone Concentration in Physical-Mechanical Properties of Experimental Flowable Resin Composites. *Biomed Res Int.* 2018;2018:7921247.
19. Salgado VE, Borba MM, Cavalcante LM, Moraes RR, Schneider LF. Effect of photoinitiator combinations on hardness, depth of cure, and color of model resin composites. *Journal of esthetic and restorative dentistry : official publication of the American Academy of Esthetic Dentistry [et al].* 2015;27 Suppl 1:S41-8.
20. Sampaio CS, Atria PJ, Rueggeberg FA, Yamaguchi S, Giannini M, Coelho PG, et al. Effect of blue and violet light on polymerization shrinkage vectors of a CQ/TPO-containing composite. *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials.* 2017;33(7):796-804.

ARTIGO 3

Segundo norma da Revista Operative Dentistry

Aceito para publicação em: 15 de janeiro de 2022

Research field: Infection Control

Title:

DOES THE PROTECTIVE BARRIERS AFFECT THE RADIANT EXPOSURE
DELIVERED FROM THE LIGHT CURING UNITS?

Name:

(a) Peterson Oliveira Boeira (peter.oli@hotmail.com) (53) 99991-8797; ORCID ID:
0000-0002-4392-7039

(b) Júlia Guedes Alves (juliaguedesa@hotmail.com) (53) 98114-7306; ORCID ID:
0000-0002-2116-9978

(c) Carine Tais Welter Meereis (carinemeereis@gmail.com) (48) 99696-6788; ORCID
ID: 0000-0001-5524-1379

(b) Douver Michelin (douvermichelon@gmail.com) (53) 99930-5695; ORCID ID:
0000-0001-7673-528X

(d) Carlos Enrique Cuevas-Suárez (cecuevas@uaeh.edu.mx) (+521)7751587840;
ORCID ID: 0000-0002-2759-8984

(a) Evandro Piva (evpiva@gmail.com) (53) 99995-1788; ORCID ID: 0000-0002-5970-
5158

(a) Giana da Silveira Lima (gianalima@gmail.com) (53) 99952-2626; ORCID ID:
0000-0001-8451-9552

Department and institutions

(a) Graduate Program in Dentistry, Federal University of Pelotas, Pelotas, RS, Brazil.

(b) School of Dentistry, Federal University of Pelotas, Pelotas, RS, Brazil.

(c) Graduate Program in Dentistry, Federal University of Jequitinhonha and Mucuri
Valley, Diamantina, MG, Brazil.

(c) Academic Area of Dentistry, Autonomous University of Hidalgo State. San Agustín Tlaxiaca, HGO, Mexico.

Corresponding Author:

Giana da Silveira Lima.

Federal University of Pelotas

School of Dentistry - 504 room

457, Gonçalves Chaves St.

96015560. Pelotas, RS, Brazil.

Does the protective barriers affect the radiant exposure delivered from the light curing units?

Abstract:

Objective: To evaluate the influence of different protective barriers as a function of the photoactivation distances on the radiant exposure of several light curing units (LCU). The influence of the protective barriers on the degree of conversion of an adhesive resin was also evaluated.

Methods: Five LCUs were evaluated: Valo® Cordless -used in standard mode- (Ultradent, South Jordan, USA), Radium-cal® -used in continuous mode- (SDI, Bayswater, AU), Emitter D® -used in continuous mode- (Schuster, Santa Maria, BR), Bluephase® N -used in high intensity mode- (Ivoclar Vivadent, Schaan, LI) and Rainbow Curing Light -used in continuous mode- (Axdent, Guangdong, CN). For each LCU, radiant exposure was measured with a spectrometer (MARC® Resin Calibrator) using three different protective barriers (low density polyethylene, polyvinyl chloride or Radium-cal® *barrier sleeves*) and five photoactivation distances (0, 2, 5, 10, and 20 mm). The degree of conversion of an adhesive resin (Adper™ Scotchbond™ Multi-Purpose, 3M ESPE, St. Paul, USA) was measured through FTIR spectroscopy. Translucency parameter of protective barriers was measured with a spectrophotometer. To all statistical tests, a significance level of $\alpha < 0.05$ was set.

Results: For all LCU tested, radiant exposure was found to be significantly influenced by both protective barriers and curing distance ($p < 0.001$). In general terms, all the protective barriers significantly decreased the radiant exposure. Radium-cal® *barrier sleeves* was the protective barrier that most decreased the radiant exposure. Irrespective of the protective barrier used, none of the LCU equipment reached the required minimum radiant exposure of 16 J/cm^2 after 10 mm of curing distance. Degree of conversion was not affected by both LCU or protective barrier ($p \geq 0.211$).

Conclusions: Protective barriers and photoactivation distance reduced the radiant exposure emitted by different light curing-units.

Keywords: Light-curing of dental resins; Dentistry; Dental Equipments; Contamination Equipment.

Clinical relevance: Placement of protective barriers over the light guide did not affect the degree of conversion of the material, therefore, it can be recommended for use in dental clinical practice.

Introduction

The use of light-curing units (LCU) became essential as a part of the routine in dental practice.(1-3) They are used to initiate the polymerization reaction of materials such as composite resin, adhesive systems, and resin cements, transforming a monomeric blend into polymers.(1-6) The physicochemical, mechanical and biological properties of dental materials are directly related to the polymerization efficiency.(7-9)

An effective polymerization is achieved with an adequate radiant exposure emitted and low light dissipation between the LCU tip and dental material in the mouth.(10) Besides, there are many factors that could affect the polymerization efficiency of a LCU, including the wavelength emission spectra, the beam distribution, and the total amount of energy delivered, expressed as radiant exposure (J/cm^2).(11) In a clinical scenario, factors such as the distance between the light source and the material, duration of light exposure, and obstruction of the tip with resin or other materials are additional factors that could interfere with the resin polymerization.(12, 13)

Another factor that could affect polymerization efficiency is the protective barriers used to maintain the sterility of the light guide.(14-16) However, the use of protecting barriers is strongly recommended because the LCU tip may be a cross-infection agent, due to the possibility of contact with contaminating oral fluids, saliva and blood. For this reason, the main centers for the control and prevention of infectious diseases around the world establish biosafety protocols with strict determinations regarding the use of instruments or dental equipment's.(17, 18)

A protocol defining which method is more efficient to avoid contaminations and if this can influence the polymerization efficiency is not well established. Some studies showed that the use of chemical methods through glutaraldehyde (19) or physical methods like autoclaving,(17, 20) damages the optical fibers tips of the light curing units and impairs the light irradiance and polymerization efficiency.(20) Thus, the use of a protective barrier for biosafety may be seen as a viable alternative in clinical

practice.(17)

This study aimed to evaluate the influence of protective barriers and the photoactivation distances on the radiant exposure of several light curing units (LCU). The influence of the protective barriers on the degree of conversion of an adhesive resin was also evaluated. The null hypotheses to be tested were: (1) the use of protective barriers do not influence the radiant exposure emitted by different LCU; (2) the different photoactivation distances do not influence the radiant exposure; and (3) the degree of conversion of and adhesive resin is not dependent of the LCU or protective barriers.

Methodology

Experimental design.

This research followed the CRIS Guidelines for in-vitro studies.(21) Five light-emitting diodes (LED) LCU were evaluated: Valo® Cordless (Ultradent, South Jordan, USA), Radium-cal® (SDI, Bayswater, AU), Emitter D® (Schuster, Santa Maria, BR), Bluephase N® (Ivoclar Vivadent, Schaan, LI), Rainbow Curing Light (Axdent, Guangdong, CN).

The radiant exposure of the five different light curing units was measured according to the following factors: (1) use of different protective barriers at four levels: no barrier, low density polyethylene, polyvinyl chloride, and Radium-cal® barrier sleeves; and (2) the distance between the light-curing unit tip and the sensor of a spectrometer (MARC® Resin Calibrator) at five levels: 0, 2, 5, 10, and 20 mm. Additionally, the degree of conversion of an adhesive resin (Adper™ Scotchbond™ Multi-Purpose, 3M ESPE, St. Paul, USA) was determined using FTIR spectroscopy according to the LCU unit and the protective barrier used. Translucency parameter of the different protective barriers used was measured with a spectrophotometer (SP62-162, X-Rite, Grand Rapids, USA).

A lab assistant did the randomization and allocation of the samples and groups. A trained operator who evaluated the devices at random, and used the barriers in a random sequence conducted all experiments in the laboratory. The analysis and interpretation of the data were carried out by other two blinded researchers who had no contact with the experimental analyses.

Determination of irradiance and radiant exposure.

For the evaluation of the radiant exposure emitted by each LCU, a spectrometer (MARC[®] Resin Calibrator, Bluelight Analytics Inc., Halifax, CA) was used. The light curing tip of each LCU was covered by one of the different protective barriers (no barrier, low density polyethylene, polyvinyl chloride, or Radian-cal[®] barrier sleeves) and positioned at a distance of 0, 2, 5, 10, or 20 mm from the sensor. The LCUs were activated for 20 s using a standard configuration. To calculate the radiant exposure (J/cm^2), the following formula was used: Irradiance (mW/cm^2) x exposure time.⁽⁵⁾ For each LCU, all measures were performed in triplicate.

Degree of conversion

The degree of conversion of an adhesive resin (Adper[™] Scotchbond[™] Multi-Purpose, 3M ESPE, St. Paul, USA) was evaluated by infrared spectroscopy (Prestige-21; Shimadzu, Tokyo, Japan) using the attenuated total reflectance method. Absorbance spectra involved 16 scans at a resolution of 4 cm^{-1} and a mirror speed of 2.8 mm/s in the range of $1500\text{--}1800\text{ cm}^{-1}$. For all measurements, the light curing tip of each LCU was covered by one of the different protective barriers (no barrier, low density polyethylene, polyvinyl chloride, or Radian-cal[®] barrier sleeves), and the distance between the light curing unit tip and diamond cell window of the ATR unit was standardized at 2 mm using a universal support. For the determination of the degree of conversion, a small sample ($\sim 100\text{ mg}$) of the adhesive resin was placed on the ATR unit diamond cell window. A spectrum was captured before and after the photopolymerization for 20 s. Within this configuration, the samples received a radiant exposure of $26.6\text{ J}/\text{cm}^2$ for Valo[®] Cordless, $24.2\text{ J}/\text{cm}^2$ for Bluephase N[®], $23.4\text{ J}/\text{cm}^2$ for Radian-cal[®], $27.2\text{ J}/\text{cm}^2$ Emitter D[®], and $21.6\text{ J}/\text{cm}^2$ for Rainbow Curing Light. The degree of conversion was calculated considering the vibration intensity of the stretching of the aliphatic $\text{C}=\text{C}$ bond in the 1635 cm^{-1} frequency and symmetrical stretching of the aromatic ring at 1608 cm^{-1} as an internal standard (22). For each LCU, the degree of conversion was determined in triplicate for each of the protective barriers tested.

Translucency parameter

To evaluate the translucency parameter of the protective barriers, a spectrophotometer with the lighting/measurement geometry d/8° (SP62-162, X-Rite, Grand Rapids, USA) was used. The translucency parameter (TP) was calculated using the formula: $TP = [(L^*_w - L^*_b)^2 + (a^*_w - a^*_b)^2 + (b^*_w - b^*_b)^2]^{1/2}$. Subscript "w" refers to the values of the CIELAB obtained on a white background and the subscript "b" refers to the values obtained on a black background.(23) An average of three measurements of each protective barrier was calculated (n=3).

Statistical analysis.

The statistical tests were performed using SigmaPlot 14.0 software package. The data were analyzed to verify the normal distribution and variance homogeneity. For each LCU, a two-way ANOVA test was performed to analyze the effect of protective barrier and photoactivation distances on the radiant exposure. The effect of type of LCU and protective barrier on the degree of conversion values was verified through a two-way ANOVA test. For the translucency parameter, a one-way ANOVA test was used to compare the mean values from the different protective barriers. Multiple comparison procedures were performed using the Tukey test. For all tests, the level of significance was set to $\alpha < 0.05$.

Results

The radiant exposure in J/cm² emitted by the different LCU's tested, according to the protective barrier and photoactivation distance are shown in Tables 1 – 5. Table 1 shows the radiant exposure values emitted by the Valo® Cordless light curing-unit. According to the statistical analysis, radiant exposure was significantly influenced by the protective barrier ($p < 0.001$), the photoactivation distance ($p < 0.001$), and the interaction between these factors ($p < 0.001$). Irrespectively of the photoactivation distance, all the protective barriers significantly reduced the radiant exposure. Among the protective barriers, the Radium-cal® barrier sleeves were the material that most reduced radiant exposure. After the 2 mm distance, the radiant exposure of the LCU was reduced about 50% when compared to the 0 mm distance.

Table 2 shows the radiant exposure values delivered by the Bluephase N®

photoactivation device. For this LCU, radiant exposure was significantly influenced by the protective barrier ($p < 0.001$), and the photoactivation distance ($p < 0.001$). The interaction between these factors was also significant ($p < 0.001$). The use of protective barriers significantly reduced the radiant exposure in all distances evaluated, and the greatest reduction was observed for the Radii-cal® barrier sleeves ($p < 0.001$). With regards to the photoactivation distance, a significant reduction was observed only at 10 and 20 mm.

Table 3 shows the radiant exposure values from the Radii-cal® photopolymerization unit. This device showed the highest values of radiant exposure (30.9 J/cm^2) compared with the other devices. Significant differences for the protective barrier, photoactivation distance, and the interaction of these two factors were observed ($p < 0.001$). These results show that the highest radiant exposure was achieved when the LCU was used without a protective barrier. After 2 mm of photoactivation distance, a significant reduction of the radiant exposure values delivered for the photoactivation device is observed.

The radiant exposure values delivered by the Emitter D® LCU was showed in Table 4. The statistical analysis revealed that radiant exposure was significantly influenced by both protective barrier and photoactivation distance ($p < 0.001$). The highest radiant exposure was achieved when a protection barrier was not used at a photoactivation distance of 0 mm, reaching 30.3 J/cm^2 . Considerable reduction of radiant exposure values was observed at 10 and 20 mm of photoactivation distance.

Table 5 shows the radiant exposure of the Rainbow Curing Light device. For this LCU, the decrease in radiant exposure values by protective barrier was not significant ($p = 0.631$), while the photoactivation distance and the interaction between these factors significantly influenced the radiant exposure values ($p \leq 0.006$). The highest values were observed for the Radii-cal® barrier sleeves group. A considerable reduction in radiant exposure was observed at 5, 10, and 20 mm of photoactivation distance.

The degree of conversion (%) of the adhesive resin light cured by different LCU's with and without protective barriers is shown in Table 6. According to the statistical analysis, the degree of conversion was not influenced by any of the factors studied ($p \leq 0.999$). The average values of degree of conversion for each LCU and protective barrier were between 62% and 67%. The analysis of the pooled average showed that the Emitter D® group had statistically significant lower values ($p < 0.001$). The pooled

average among the protective barriers showed a similar degree of conversion in all groups ($p < 0.324$).

The result of the translucency parameter of the three materials used as protective barriers is shown in Figure 1. The differences in the translucency parameter for polyvinyl polychloride (60.1 ± 0.05), polyethylene (60.1 ± 0.10), and barrier sleeves SDI® (59 ± 0.14) were statistically significant ($p < 0.001$).

Figures 2-6 show the effect of the protective barrier and photoactivation distance on the maximum irradiance achieved throughout the time (Supplementary material).

Discussion

In this study, we evaluated the effect of different protective barriers and photoactivation distances on the radiant exposure delivered by several light-curing units. The effect that different protective barriers have on the degree of conversion of an adhesive resin was also evaluated. According to the findings, both protective barriers and photoactivation distances significantly influenced the radiant exposure delivered by the different light-curing units evaluated, thus the null hypothesis related to the effect of these factors on the radiant exposure was rejected. On the other hand, as the degree of conversion of an adhesive resin was not significantly influenced by the different protective barriers or light-curing units, the third null hypothesis tested in this study was accepted.

Some studies conducted observed that distance has an important influence on the light emission efficiency of a light-curing unit. (24, 25) On the other hand, radiant light exposure does not seem to have a direct relationship with the degree of conversion to dental resins.(26) Distance seems to be a more sensitive factor to achieve an adequate polymerization, the results found in other studies are in agreement with those found in this study. In addition, the investigation of these parameters must be intermittent, as technological advances in materials and equipment are constant to seek better performance.

In this study, the primary-response variable was radiant exposure. The sample size ($n=3$ per group) was estimated based on the data of a study that evaluated the effect of different barriers on the radiant exposure emitted by several different light-curing units (27) considering a comparative study design three independent groups

(light protective barrier), a minimum detectable difference in radiant exposure of 1.0, a standard deviation of 0.3, a power of 0.8, and $\alpha = 0.05$. Secondary-response variables were degree of C=C conversion ($n=3$) (27) and translucency parameter ($n=3$). (28)

The LCUs are extremely important in dental practice. The use of mechanical barriers is an efficient alternative for cross-infection control and should be used as often as possible. (29) Professionals must follow the manufacturer's recommendations and observe the time of photoactivation according to the indications. However, there is no consensus about the effect that different protective barriers and the distance between the LCU tip and the surface have on the final properties of the material. (30, 31)

This investigation demonstrated that the radiant exposure delivered by the different LCU tested reduced significantly. Only the values at the Rainbow Curing Light were not affected. Despite this, as long as the photoactivation distance between the light curing unit tip and the surface of the material does not exceed the distance of 2 mm, it seems that this reduction would not affect significantly the properties of the material, since all the LCU's were able to deliver the minimum of 16 J/cm² necessary for the material to achieve adequate mechanical properties. (8, 9, 32) The distances were chosen considering that it was the maximum distance in which the LCU reached the minimum 16 J/cm² necessary to adequately polymerize a material. (32)

The reduction in the radiant exposure observed for the LCU's could be due to the translucency of the protective barriers used. As confirmed by the parameter translucency values in figure 1 protective barriers are not fully transparent, therefore, a reduction in light transmission was expected. (33) The light transmission in any material that is not fully transparent results in phenomena like reflection or absorption of the light, which ends up by reducing its intensity. (34) Although the reduction in the radiant exposure produced by the protective barriers may not be clinically relevant, clinicians should be aware about the correct use of this type of material. A previous study (35) reported that barriers that contained folds or wrinkles can potentialize the reduction effect, reinforcing the need of professionals to constantly observe the correct application of these barriers in the equipment that it's going to be used.

Considering the 'protective barrier' factor, irrespectively of the photoactivation distance, the Radiical® barrier sleeves were the material that reduced the radiant exposure most. Among the protective barriers, Radii-cal® barrier sleeves achieved the significantly lowest translucency parameter, and consequently, represented the

material with the highest ability to absorb light.(34)

On the other hand, according to our results, the photoactivation distance has much greater effect on radiant exposure than protective disposable barriers. According to our findings, the relation between photoactivation distance and radiant exposure is inverse: the higher the photoactivation distance, the lower the radiant exposure. This result is explained by the light dispersion from the light curing unit, as the light moves away from the source from which it is produced, its irradiance is reduced due to its reflection or absorption.(36) The reduction in the irradiance is translated into a reduction of the radiant exposure delivered to the material, which could interfere in the quality of the polymerization process.(30, 37-40)

In this study, except for Radium-Cal[®], the safe distance to achieve an adequate radiant exposure for all LCU's is up to 5 mm, where a minimal radiant exposure of 16 J/cm² recommended by ISO 10650 was delivered.(32) The inability of Radium-Cal[®] to deliver minimal radiant exposure after 2 mm of photoactivation distance could be due to its optical design that could cause more beam dispersion.(41) During the restoration of deep cavities, the use of LCUs with greater tip diameter and irradiances is recommended to obtain better physical properties.(42) Deep restorations may not be adequately cured if the duration of light exposure is based on data obtained with the tip in close proximity to the resin composite.(5, 24, 31) Also, at the proximal box, the use of LCU's without enough depth of penetration may lead to an inadequate polymerization, increasing the premature failure possibility of Class II resin composite at the gingival margin.(43)

Finally, the degree of conversion of an adhesive resin was evaluated as a function of the LCU and the protective barrier. For this test, the photoactivation distance was fixed at 5 mm, since, according to the results, this distance was the maximum in which the LCU reached the minimum 16 J/cm² necessary to adequately polymerize a material.(32) As confirmed by the results, the degree of conversion was not influenced by the different protective barriers used ($p = 0.211$; Table 6). This result confirms that 16 J/cm² is enough to allow a polymerizable material to achieve its maximum polymerization level since higher values delivered (i.e. Bluephase N[®]) did not increase the degree of conversion of the adhesive resin. The degree of conversion is an important feature of polymerizable materials, which is strongly related to the biological and mechanical performance of polymeric materials.(44) Considering this, the use of protective barriers is not expected to interfere in the performance of the

polymeric materials.

Currently, companies that develop LCUs try to diversify technologies to have a differential in their products.(2, 45) This fact, from the clinical perspective, may hinder standardization in the application protocols.(46-48) In this study, three second-generation LED light curing units (Radii-cal®, Emitter D® and Rainbow Curing Light) and two third-generation LED light curing units (Valo® Cordless and Bluephase N®) were used. Their performance, in terms of radiant exposure as a function of the use of protective barriers and photoactivation distance, was similar.

Conclusions

Protective barriers reduced the radiant exposure emitted by different light curing-units, however, it seems that this reduction it is not enough to affect the degree of conversion of an adhesive resin. On the other hand, distance is a factor that negatively affects the radiant exposure and dentists should consider this information when applying photopolymerization protocol, especially during the restoration of deep cavities.

Acknowledgments

This work was supported by Brazilian National Research Council (CNPq) supported the authors (grants #141524/2018-9).

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoas de Nível Superior- Brasil (CAPES)- Finance code 001.

References

1. Jandt KD, Mills RW. A brief history of LED photopolymerization. *Dental Materials*. 2013;29(6):605-17.
2. Rueggeberg FA. State-of-the-art: dental photocuring—a review. *Dental Materials*. 2011;27(1):39-52.
3. Stansbury JW. Curing dental resins and composites by photopolymerization. *Journal of esthetic and restorative dentistry*. 2000;12(6):300-8.
4. Ferracane JL. Resin composite—state of the art. *Dental materials*. 2011;27(1):29-38.
5. Price R, Ferracane J, Shortall A. Light-curing units a review of what we need to know. *Journal of dental research*. 2015;94(9):1179-86.
6. Van Meerbeek B, Yoshihara K, Yoshida Y, Mine A, De Munck J, Van Landuyt K. State of the art of self-etch adhesives. *Dental materials*. 2011;27(1):17-28.
7. AlShaafi MM. Factors affecting polymerization of resin-based composites: A literature review. *The Saudi dental journal*. 2017.
8. Beolchi RS, Moura-Netto C, Palo RM, Torres CRG, Pelissier B. Changes in irradiance and energy density in relation to different curing distances. *Brazilian oral research*. 2015;29(1):1-7.
9. Gritsch K, Souvannasot S, Schembri C, Farge P, Grosogoeat B. Influence of light energy and power density on the microhardness of two nanohybrid composites. *European journal of oral sciences*. 2008;116(1):77-82.
10. Palin WM, Leprince JG, Hadis MA. Shining a light on high volume photocurable materials. *Dental Materials*. 2018;34(5):695-710.
11. Leprince JG, Palin WM, Hadis MA, Devaux J, Leloup G. Progress in dimethacrylate-based dental composite technology and curing efficiency. *Dental Materials*. 2013;29(2):139-56.
12. Price R, Shortall A, Palin W. Contemporary issues in light curing. *Operative dentistry*. 2014;39(1):4-14.
13. Coutinho M, Trevizam NC, Takayassu RN, Leme AA, Soares GP. Distance and protective barrier effects on the composite resin degree of conversion. *Contemporary Clinical Dentistry*. 2013;4(2):152.
14. Chong S, Lam Y, Lee F, Ramalingam L, Yeo A, Lim C. Effect of various infection-control methods for light-cure units on the cure of composite resins. *Operative dentistry*. 1998;23(3):150-4.
15. Khode RT, Shenoi PR, Kubde RR, Makade CS, Wadekar KD, Khode PT. Evaluation of effect of different disposable infection control barriers on light intensity of light-curing unit and microhardness of composite-An in vitro study. *Journal of conservative dentistry: JCD*. 2017;20(3):180.
16. Scott BA, Felix CA, Price RB. Effect of disposable infection control barriers on light output from dental curing lights. *Journal-Canadian Dental Association*. 2004;70(2):105-10.
17. AlShaafi MM. Effects of different infection control methods on the intensity output of LED Light-Curing Units. *King Saud University Journal of Dental Sciences*. 2013;4(1):27-31.
18. Júnior AG, Gonini CdAJ, Inada DY, Almeida LG. Nível de aplicação de normas básicas para esterilização, desinfecção e paramentação odontológica. *Journal of Health Sciences*. 2015;3(1).

19. Dugan W, Hartleb J. Influence of a glutaraldehyde disinfecting solution on curing light effectiveness. *General dentistry*. 1989;37(1):40.
20. McAndrew R, Lynch C, Pavli M, Bannon A, Milward P. The effect of disposable infection control barriers and physical damage on the power output of light curing units and light curing tips. *British dental journal*. 2011;210(8):E12-E.
21. Krithikadatta J, Gopikrishna V, Datta M. CRIS Guidelines (Checklist for Reporting In-vitro Studies): A concept note on the need for standardized guidelines for improving quality and transparency in reporting in-vitro studies in experimental dental research. *Journal of conservative dentistry: JCD*. 2014;17(4):301.
22. Herrera-González AM, Caldera-Villalobos M, Pérez-Mondragón AA, Cuevas-Suárez CE, González-López JA. Analysis of Double Bond Conversion of Photopolymerizable Monomers by FTIR-ATR Spectroscopy. *Journal of Chemical Education*. 2019;96(8):1786-9.
23. Lago M, Mozzaquatro LR, Rodrigues C, Kaizer MR, Mallmann A, Jacques LB. Influence of bleaching agents on color and translucency of aged resin composites. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*. 2017;29(5):368-77.
24. Felix CA, Price R. The effect of distance from light source on light intensity from curing lights. *The journal of adhesive dentistry*. 2003.
25. Diab RA, Yap AU, Gonzalez MAG, Yahya NA. Impact of light-curing distance on the effectiveness of cure of bulk-fill resin-based composites. *The Saudi Dental Journal*. 2021.
26. Al-Zain A, Eckert G, Platt J. The influence of distance on radiant exposure and degree of conversion using different light-emitting-diode curing units. 2019.
27. Sword RJ, Do UN, Chang JH, Rueggeberg FA. Effect of curing light barriers and light types on radiant exposure and composite conversion. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*. 2016;28(1):29-42.
28. Hyun HK, Christoferson CK, Pfeifer CS, Felix C, Ferracane JL. Effect of shade, opacity and layer thickness on light transmission through a nano-hybrid dental composite during curing. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*. 2017;29(5):362-7.
29. Kohn WG, Collins AS, Cleveland JL, Harte JA, Eklund KJ, Malvitz DM. Guidelines for infection control in dental health-care settings-2003. 2003.
30. Federlin M, Price R. Improving light-curing instruction in dental school. *Journal of dental education*. 2013;77(6):764-72.
31. Price RB. Light curing guidelines for practitioners: a consensus statement from the 2014 symposium on light curing in dentistry, Dalhousie University, Halifax, Canada. *J Can Dent Assoc*. 2014;80:e61.
32. International Organization of S. ISO 10650:2018. Dentistry — Powered polymerization activators 2018.
33. Soares CJ, Braga SSL, Ribeiro MTH, Price RB. Effect of infection control barriers on the light output from a multi-peak light curing unit. *Journal of Dentistry*. 2020;103:103503.
34. Sikri VK. Color: Implications in dentistry. *Journal of conservative dentistry: JCD*. 2010;13(4):249.
35. de Moraes Porto ICC, de Brito ACR, Parolia A. Effect of cross infection control barriers used on the light-curing device tips on the cure depth of a resin composite. *Journal of conservative dentistry: JCD*. 2013;16(3):224.

36. Price RB, Labrie D, Whalen JM, Felix CM. Effect of distance on irradiance and beam homogeneity from 4 light-emitting diode curing units. *Journal (Canadian Dental Association)*. 2011;77:b9-b.
37. Rueggeberg F, Caughman WF, Curtis J. Effect of light intensity and exposure duration on cure of resin composite. *Operative dentistry*. 1994;19:26-.
38. Flury S, Lussi A, Hickel R, Ilie N. Light curing through glass ceramics: effect of curing mode on micromechanical properties of dual-curing resin cements. *Clinical oral investigations*. 2014;18(3):809-18.
39. Price RB, Strassler HE, Price HL, Seth S, Lee CJ. The effectiveness of using a patient simulator to teach light-curing skills. *The Journal of the American Dental Association*. 2014;145(1):32-43.
40. Borges A, Pitta-Lopes J, Portugal J. Influência do tempo de exposição e distância à luz na capacidade de fotopolimerização de compósitos. *Revista Portuguesa de Estomatologia, Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacial*. 2015;56(3):166-72.
41. André C, Nima G, Sebold M, Giannini M, Price R. Stability of the light output, oral cavity tip accessibility in posterior region and emission spectrum of light-curing units. *Operative Dentistry*. 2018;43(4):398-407.
42. da Silveira BCM, de Araújo LSN, Ambrosano GMB, Marchi GM, Aguiar FHB, Catelan A. Influência da distância de fotoativação na microdureza de um compósito de baixa contração de polimerização. *ARCHIVES OF HEALTH INVESTIGATION*. 2014;3(2).
43. Ferracane J, Mitchem J, Condon J, Todd R. Wear and marginal breakdown of composites with various degrees of cure. *Journal of dental research*. 1997;76(8):1508-16.
44. Ferracane J, Greener E. The effect of resin formulation on the degree of conversion and mechanical properties of dental restorative resins. *Journal of biomedical materials research*. 1986;20(1):121-31.
45. Price RB, Labrie D, Rueggeberg FA, Sullivan B, Kostylev I, Fahey J. Correlation between the beam profile from a curing light and the microhardness of four resins. *Dental Materials*. 2014;30(12):1345-57.
46. Nomoto R, Asada M, McCabe JF, Hirano S. Light exposure required for optimum conversion of light activated resin systems. *dental materials*. 2006;22(12):1135-42.
47. Nomoto R, McCabe J, Hirano S. Comparison of halogen, plasma and LED curing units. *Operative dentistry*. 2004;29(3):287-94.
48. Shortall A. How light source and product shade influence cure depth for a contemporary composite. *Journal of oral rehabilitation*. 2005;32(12):906-11.

Tables

Table 1. Radiant exposure (J/cm²) emitted by Valo® LCU according to the different distances between LCU tips and sensor with and without protective barriers.

Distance (mm)	Mean of radiant exposure in J/cm ²			
	NB	PVC	P	BS
0	26.09 (0.04) ^{Ab}	24.55 (0.01) ^{Ba}	23.89 (0.13) ^{Ca}	23.29 (0.08) ^{Da}
2	26.62 (0.09) ^{Aa}	24.2 (0.07) ^{Bb}	22.23 (0.08) ^{Cb}	21.94 (0.06) ^{Db}
5	15.66 (0.04) ^{Ac}	14.61 (0.03) ^{Bc}	14.12 (0.04) ^{Cc}	13.81 (0.03) ^{Dc}
10	8.23 (0.05) ^{Ad}	8.37 (0.01) ^{Bd}	7.96 (0.03) ^{Cd}	7.79 (0.02) ^{Dd}
20	3.76 (0.04) ^{Ae}	3.52 (0.02) ^{Be}	3.3 (0.03) ^{Ce}	3.41 (0.02) ^{Ce}

Different capital letters show statistical difference in the lines and lower case letters indicate statistical differences in the column (p <0.05).

Table 2. Radiant exposure (J/cm²) emitted by Bluephase N[®] LCU according to the different distances between LCU tips and sensor with and without protective barriers.

Distance (mm)	Mean of radiant exposure in J/cm ²			
	NB	PVC	P	BS
0	23.52 (0.09) ^{Aa}	22.47 (0.06) ^{Ba}	22.48 (0.07) ^{Ba}	22.22 (0.16) ^{Ca}
2	24.23 (0.1) ^{Ab}	22.48 (0.07) ^{Ba}	22.37 (0.02) ^{Ba}	22.51 (0.04) ^{Bb}
5	26.23 (0.1) ^{Ac}	23.27 (0.03) ^{Bb}	22.37 (0.02) ^{Ca}	21.87 (0.04) ^{Dc}
10	17.57 (0.01) ^{Ad}	15.2 (0.02) ^{Bc}	14.48 (0.07) ^{Cb}	13.33 (0.01) ^{Dd}
20	4.98 (0.03) ^{Ae}	4.45 (0.02) ^{Bd}	4.5 (0.05) ^{Bc}	3.87 (0.04) ^{Ce}

Different capital letters show statistical difference in the lines and lower case letters indicate statistical differences in the column (p <0.05).

Table 3. Radiant exposure emitted by Ralii-cal® LCU (J/cm²) according to the different distances between LCU tips and sensor with and without protective barriers.

Distance (mm)	Mean of radiant exposure in J/cm ²			
	NB	PVC	P	BS
0	30.97 (0.25) ^{Aa}	29.33 (0.08) ^{Ba}	27.81 (0.35) ^{Ca}	24.57 (0.71) ^{Da}
2	23.44 (0.34) ^{Ab}	20.69 (0.73) ^{Bb}	19.94 (0.09) ^{Cb}	15.97 (0.07) ^{Db}
5	11.83 (0.07) ^{Ac}	10.9 (0.05) ^{Bc}	10.41 (0.02) ^{Bc}	8.45 (0.30) ^{Cc}
10	4.37 (0.03) ^{Ad}	4.19 (0.04) ^{ABd}	3.74 (0.13) ^{Bd}	3.27 (0.12) ^{BCd}
20	1.21 (0.03) ^{Ae}	1.13 (0.01) ^{Ae}	1.11 (0.04) ^{Ae}	0.99 (0.03) ^{Ae}

Different capital letters show statistical difference in the lines and lower case letters indicate statistical differences in the column (p <0.05)

Table 4. Radiant exposure emitted by Emitter D® LCU (J/cm²) according to the different distances between LCU tips and sensor with and without protective barriers.

Distance (mm)	Mean of radiant exposure in J/cm ²			
	NB	PVC	P	BS
0	30.37 (0.25) ^{Aa}	28.27 (0.03) ^{Ba}	28.42 (0.06) ^{Ba}	28.03 (0.06) ^{Ca}
2	27.21 (0.09) ^{Ab}	24.01 (0.03) ^{Bb}	23.52 (0.02) ^{Cb}	23.43 (0.02) ^{Cb}
5	18.18 (0.03) ^{Ac}	16.14 (0.02) ^{Bc}	15.77 (0.09) ^{Cc}	15.59 (0.08) ^{Cc}
10	7.39 (0.24) ^{Ad}	6.23 (0.01) ^{Bd}	6.28 (0.06) ^{Bd}	6.42 (0.03) ^{Bd}
20	1.93 (0.02) ^{Ae}	1.73 (0.02) ^{Be}	1.71 (0.01) ^{Be}	1.74 (0.04) ^{Be}

Different capital letters show statistical difference in the lines and lower case letters indicate statistical differences in the column (p <0.05).

Table 5. Radiant exposure emitted by Rainbow Curing Light LCU (J/cm²) according to the different distances between LCU tips and sensor with and without protective barriers.

Distance (mm)	Mean of radiant exposure in J/cm ²			
	NB	PVC	P	BS
0	25.2 (0.29) ^{Ba}	25.17 (0.26) ^{Ba}	26.71 (1.94) ^{Aba}	27.95 (0.96) ^{Aa}
2	21.67 (1.64) ^{Ab}	21.83 (0.80) ^{Ab}	22.67 (1.82) ^{Ab}	22.42 (0.56) ^{Ab}
5	16.13 (0.27) ^{Ac}	16.02 (0.59) ^{Ac}	14.95 (0.31) ^{Ac}	15.06 (0.21) ^{Ac}
10	6.27 (0.06) ^{Ad}	6.35 (0.09) ^{Ad}	5.93 (0.14) ^{Ad}	5.71 (0.11) ^{Ad}
20	1.81 (0.04) ^{Ae}	1.76 (0.07) ^{Ae}	1.61 (0.16) ^{Ae}	1.6 (0.02) ^{Ae}

Different capital letters show statistical difference in the lines and lower case letters indicate statistical differences in the column (p <0.05).

Table 6. Mean (SD) of degree of conversion (%) of adhesive resin light cured by different LCU with and without protective barriers.

Protective Barriers	Mean of total light energy in J/cm ² (±SD)					Pooled average
	Valo [®]	Blue phase N [®]	Radii [®]	Emitter D [®]	Rainbow Curing Light	
NB	66.2 (0.7)	66.0 (0.8)	66.2 (0.9)	64.4 (0.7)	65.9 (0.6)	65.8
PVC	65.9 (1.0)	66.2 (1.3)	65.9 (1.2)	64.4 (1.4)	66.4 (0.3)	65.8
P	67.0 (1.6)	66.7 (0.8)	66.7 (1.1)	65.0 (1.0)	66.3 (0.4)	66.3
BS	66.9 (0.8)	66.6 (0.2)	66.8 (0.6)	64.7 (0.1)	66.4 (1.0)	66.3
Pooled average	66.5 ^A	66.4 ^A	66.4 ^A	64.6 ^B	66.2 ^A	

Different capital letters show statistical difference in the line of pooled average ($p < 0.05$). In columns, there is not a statistically significant interaction between barrier and equipment. Abbreviations: NB: No barrier; PVC: Polyvinyl chloride; P: Polyethylene; BS: Barrier sleeves SDI; SD: Standard Deviation.

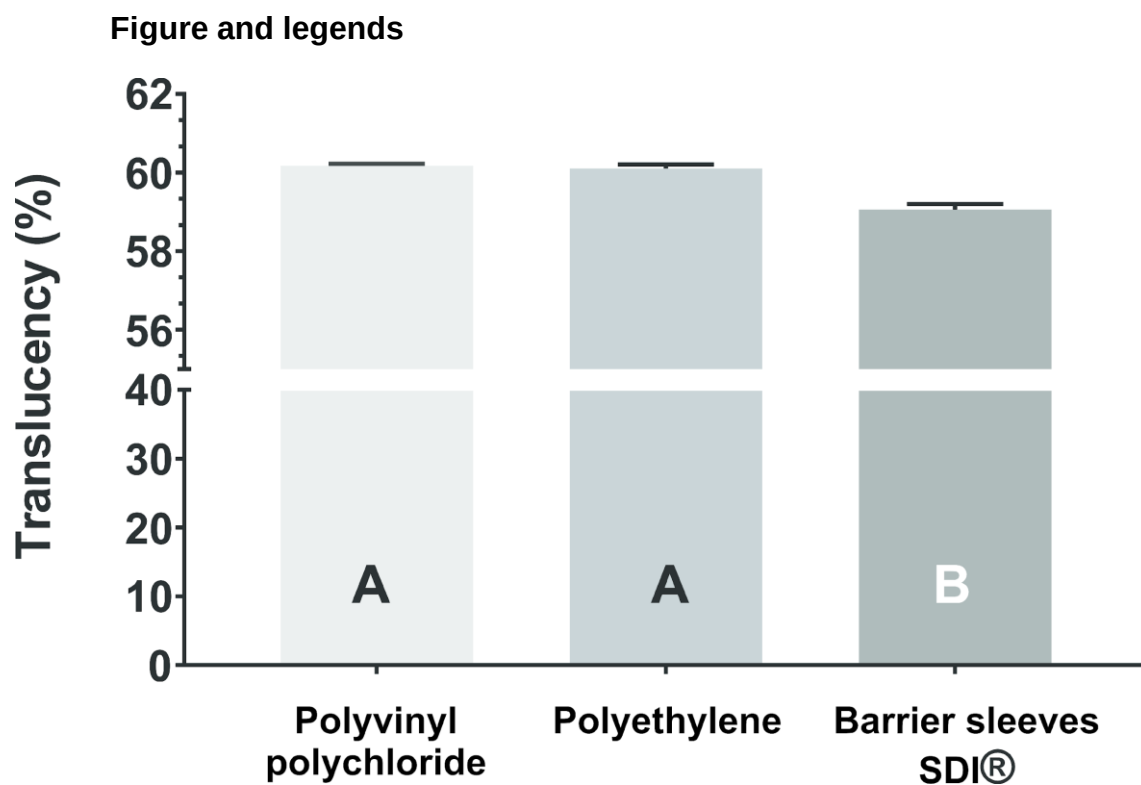


Figure 1: Mean (%) and standard deviation of translucency parameter for each barrier protection. Different letters show statistically significant difference ($p < 0.001$).

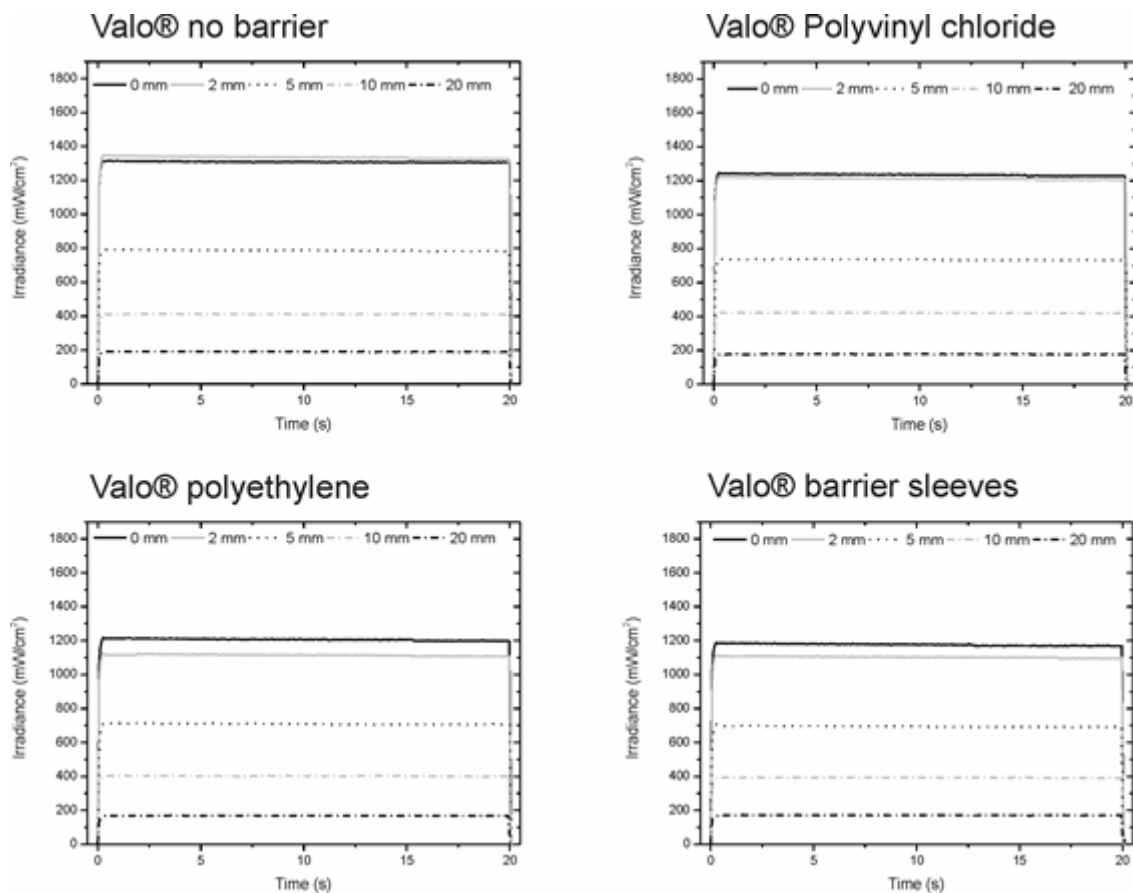


Figure 2: Irradiance emitted by light curing unit Valo® Cordless, exposure time 20 seconds, at distances of 0, 2, 5, 10 and 20 millimeters with different barriers: no barrier (NB), Polyvinyl chloride (PVC); polyethylene (P); barrier sleeves SDI® (BS).

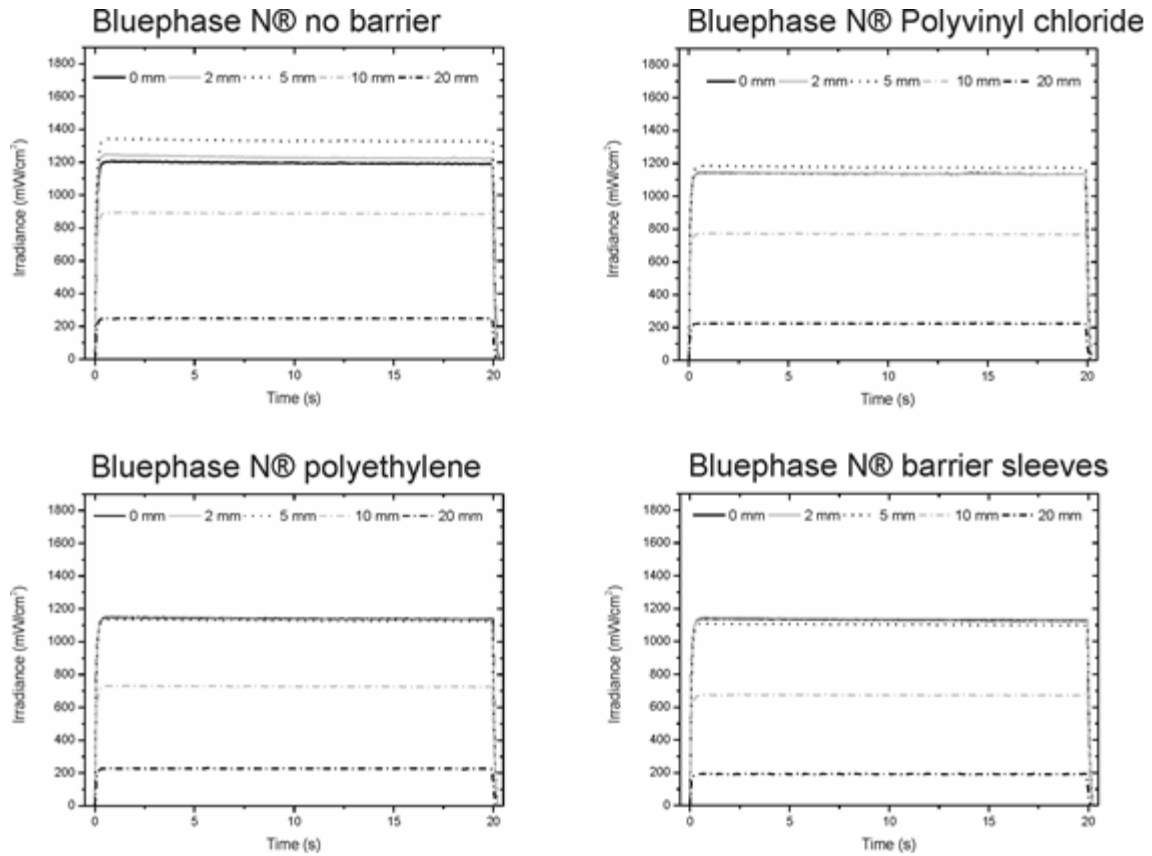


Figure 3: Irradiance emitted by light curing unit Bluephase N®, exposure time 20 seconds, at distances of 0, 2, 5, 10 and 20 millimeters with different barriers: no barrier (NB), Polyvinyl chloride (PVC); polyethylene (P); barrier sleeves SDI® (BS).

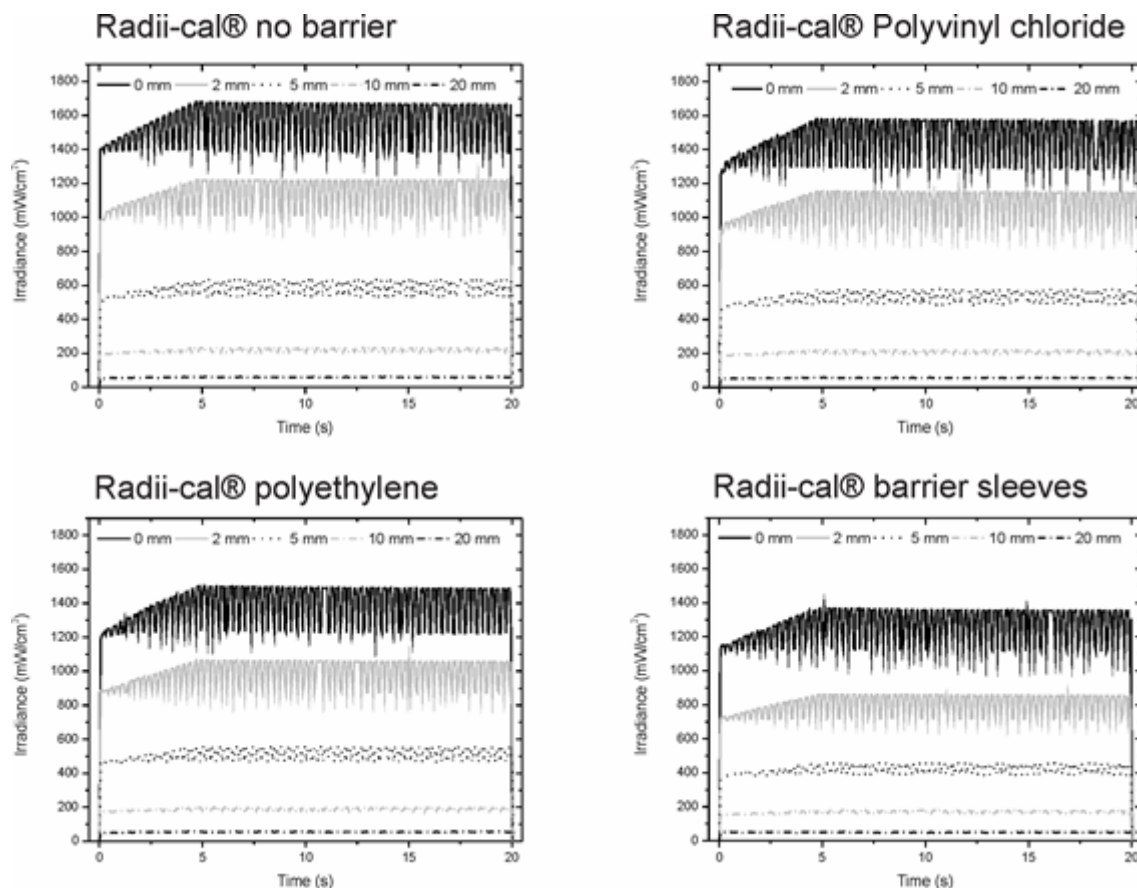


Figure 4: Irradiance emitted by light curing unit Radii-cal®, exposure time 20 seconds, at distances of 0, 2, 5, 10 and 20 millimeters with different barriers: no barrier (NB), Polyvinyl chloride (PVC); polyethylene (P); barrier sleeves SDI® (BS).

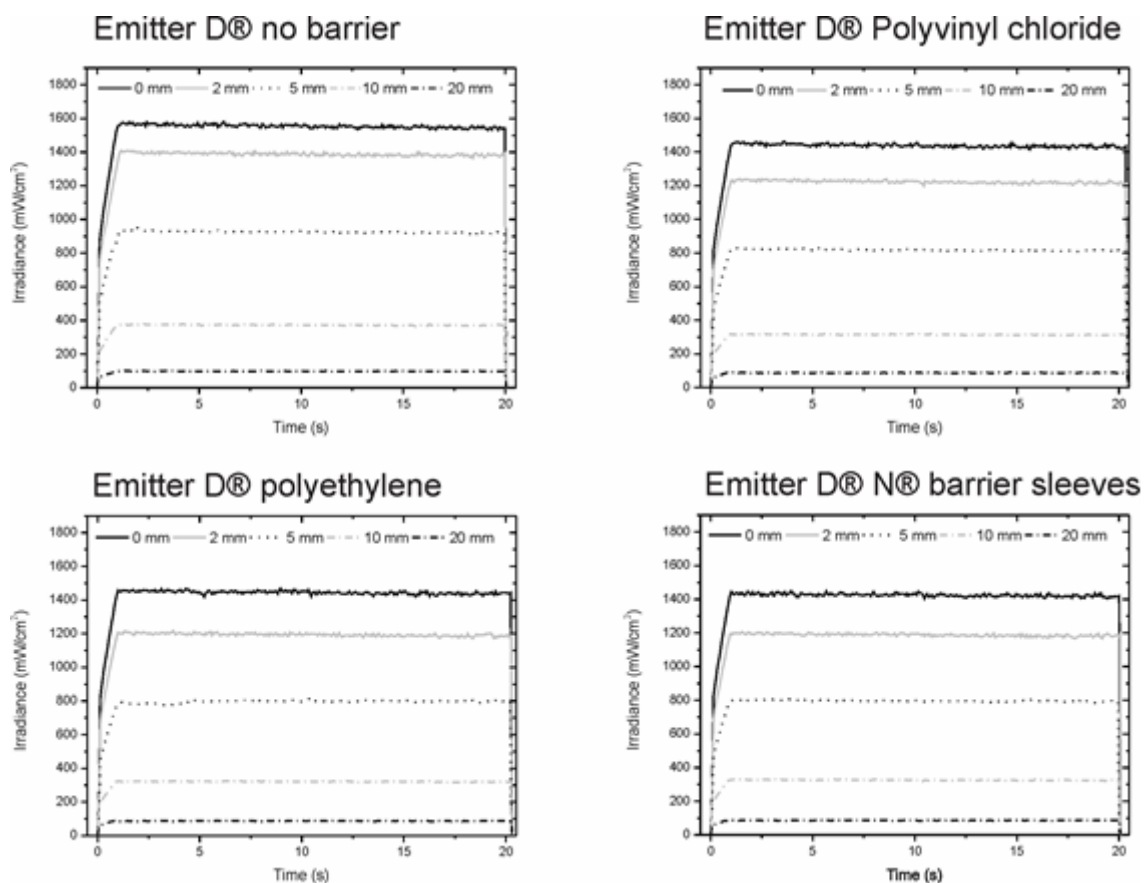


Figure 5: Irradiance emitted by light curing unit Emitter D®, exposure time 20 seconds, at distances of 0, 2, 5, 10 and 20 millimeters with different barriers: no barrier (NB), Polyvinyl chloride (PVC); polyethylene (P); barrier sleeves SDI® (BS).

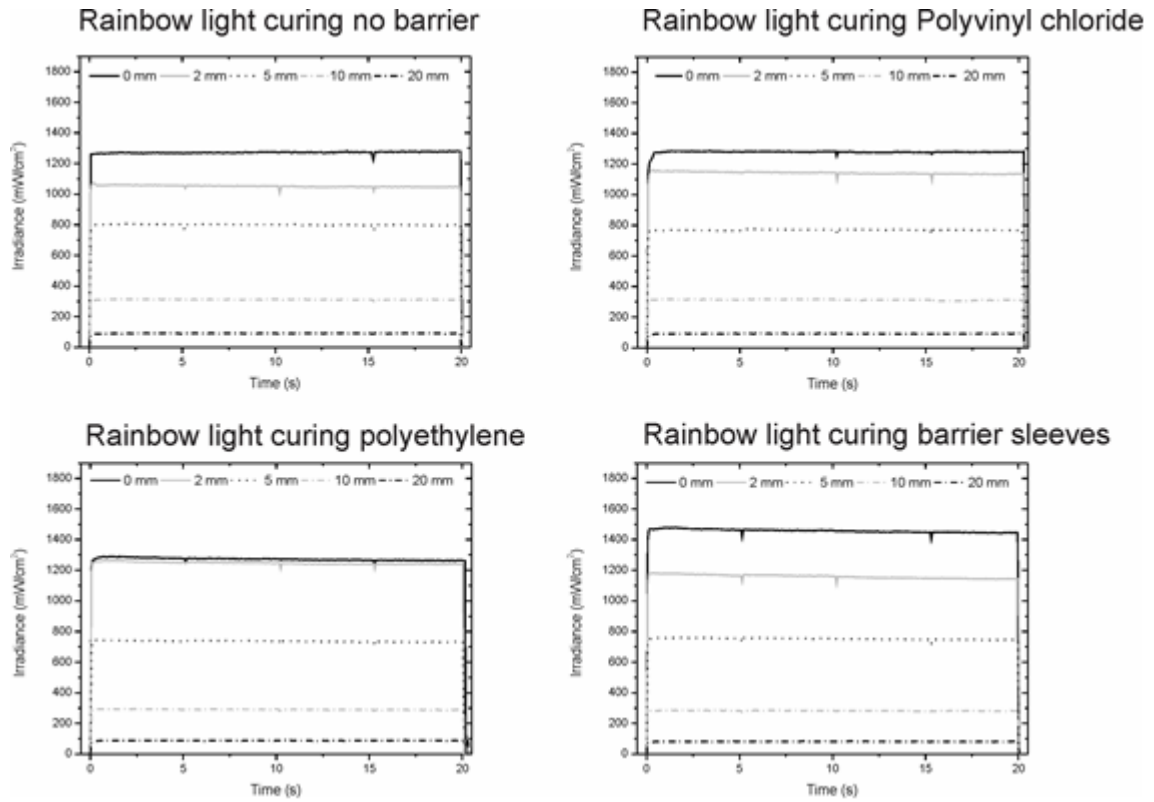


Figure 6: Irradiance emitted by Rainbow light curing, exposure time 20 seconds, at distances of 0, 2, 5, 10 and 20 millimeters with different barriers: no barrier (NB), Polyvinyl chloride (PVC); polyethylene (P); barrier sleeves SDI® (BS).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os principais resultados encontrados neste estudo permitem inferir que:

O sistema de iniciação mostrou potencial de interferir nas propriedades físico-químicas dependendo do tipo de material. Os sistemas adesivos de condicionamento total são mais suscetíveis à lixiviação de monômeros do que os sistemas autocondicionantes. Os sistemas fotoiniciadores com BAPO e TPO melhoraram a DC em adesivos autocondicionantes.

As características de emissão/absorção foram diferentes conforme os aparelhos e fotoiniciadores. A reação de polimerização ativada por fotopolimerizadores *monowave* foi reduzida em uma resina experimental com o fotoiniciador TPO. Fotopolimerizadores *polywave* mostram maior potencial de polimerização independente do fotoiniciador.

As barreiras de proteção reduziram a exposição radiante emitida por diferentes fotopolimerizadores, porém, parece que essa redução não é suficiente para afetar o grau de conversão de uma resina adesiva. Por outro lado, a distância é um fator que afeta negativamente a exposição radiante e os dentistas devem considerar essa informação ao aplicar o protocolo de fotopolimerização, principalmente durante a restauração de cavidades profundas.

REFERÊNCIAS

AL-ZAIN, A. O.; ECKERT, G. J.; PLATT, J. A. The influence of distance on radiant exposure and degree of conversion using different light-emitting-diode curing units. **Operative Dentistry**, v. 44, n. 3, p. E133-E144, 2019.

ALBUQUERQUE, Pedro Paulo AC *et al.* Color stability, conversion, water sorption and solubility of dental composites formulated with different photoinitiator systems. **Journal of dentistry**, v. 41, p. e67-e72, 2013.

ALMEIDA, Suzanne M. *et al.* Evaluation of alternative photoinitiator systems in two-step self-etch adhesive systems. **Dental Materials**, v. 36, n. 2, p. e29-e37, 2020.

ALSHAAFI, Maan M. Effects of different infection control methods on the intensity output of LED Light-Curing Units. **King Saud University Journal of Dental Sciences**, v. 4, n. 1, p. 27-31, 2013.

ALSHAAFI, Maan M. Factors affecting polymerization of resin-based composites: A literature review. **The Saudi dental journal**, v. 29, n. 2, p. 48-58, 2017.

ALTAIE, Asmaa *et al.* An Evaluation of the Efficacy of LED Light Curing Units in Primary and Secondary Dental Settings in the United Kingdom. **Operative Dentistry**, v. 46, n. 3, p. 271-282, 2021.

ANDRÉ, C. B. *et al.* Stability of the light output, oral cavity tip accessibility in posterior region and emission spectrum of light-curing units. **Operative Dentistry**, v. 43, n. 4, p. 398-407, 2018.

BEDRAN-RUSSO, Ana *et al.* An overview of dental adhesive systems and the dynamic tooth–adhesive interface. **Dental Clinics**, v. 61, n. 4, p. 713-731, 2017.

BEOLCHI, Rafael Silva *et al.* Changes in irradiance and energy density in relation to different curing distances. **Brazilian Oral Research**, v. 29, p. 1-7, 2015.

BESSE, Vincent *et al.* Photopolymerization study and adhesive properties of self-etch adhesives containing bis (acyl) phosphine oxide initiator. **Dental Materials**, v. 32, n. 4, p. 561-569, 2016.

BORGES, Ana; PITTA- LOPES, João; PORTUGAL, Jaime. Influência do tempo de exposição e distância à luz na capacidade de fotopolimerização de compósitos. **Revista Portuguesa de Estomatologia, Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacial**, v. 56, n. 3, p. 166-172, 2015.

BORGES, Boniek Castillo Dutra *et al.* Polymerization and adhesion behavior of experimental dental bonding materials with different initiator systems. **Journal of adhesion science and Technology**, v. 32, n. 3, p. 239-246, 2018.

BOWEN, R.L. **Dental filling material comprising vinyl silane treated fused silica and a binder consisting of the reaction product of Bis phenol and glycidyl acrylate.** Número da patente: 3.066.112. Data da concessão: 27 Nov. 1962.

BUONOCORE, Michael G. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. **Journal of dental research**, v. 34, n. 6, p. 849-853, 1955.

CADENARO, Milena *et al.* The role of polymerization in adhesive dentistry. **Dental Materials**, v. 35, n. 1, p. e1-e22, 2019.

CAUGHMAN, Gretchen B. *et al.* Disinfection of visible-light-curing devices. **Operative dentistry**, v. 14, n. 1, p. 2-7, 1989.

CARDOSO, M. V. *et al.* Current aspects on bonding effectiveness and stability in adhesive dentistry. **Australian dental journal**, v. 56, p. 31-44, 2011.

CHONG, S. L. *et al.* Effect of various infection-control methods for light-cure units on the cure of composite resins. **Operative Dentistry**, v. 23, p. 150-154, 1998.

COUTINHO, Margareth *et al.* Distance and protective barrier effects on the composite resin degree of conversion. **Contemporary Clinical Dentistry**, v. 4, n. 2, p. 152, 2013.

DA SILVEIRA, Bruna Cilene Martins *et al.* Influência da distância de fotoativação na microdureza de um compósito de baixa contração de polimerização. **ARCHIVES OF HEALTH INVESTIGATION**, v. 3, n. 2, 2014.

DE MORAES PORTO, Isabel Cristina Celerino; DE BRITO, Andréia Cristina Ramos; PAROLIA, Abhishek. Effect of cross infection control barriers used on the light-curing device tips on the cure depth of a resin composite. **Journal of Conservative Dentistry: JCD**, v. 16, n. 3, p. 224, 2013.

DE SOUZA COSTA, Carlos Alberto; HEBLING, Josimeri; HANKS, Carl Thomas. Effects of light-curing time on the cytotoxicity of a restorative resin composite applied to an immortalized odontoblast-cell line. **OPERATIVE DENTISTRY-UNIVERSITY OF WASHINGTON**, v. 28, n. 4, p. 365-370, 2003.

DECHA, Nattawut *et al.* Synthesis and characterization of new hydrolytic-resistant dental resin adhesive monomer HMTAF. **Designed monomers and polymers**, v. 22, n. 1, p. 106-113, 2019.

DIAB, Rana Abdelbaset *et al.* Impact of light-curing distance on the effectiveness of cure of bulk-fill resin-based composites. **The Saudi dental journal**, v. 33, n. 8, p. 1184-1189, 2021.

DOS REIS LIMA, Carla *et al.* Mechanical properties of experimental resin cements containing different photoinitiators and co-initiators. **Clinical, Cosmetic and Investigational Dentistry**, v. 11, p. 285, 2019.

DOS SANTOS, Rogerio Lacerda *et al.* Influence of degree of conversion on the biocompatibility of different composites in vivo. **J Adhes Dent**, v. 16, n. 01, p. 15-20, 2014.

DRESSANO, Diogo *et al.* Effect of diphenyliodonium hexafluorophosphate on the physical and chemical properties of ethanolic solvated resins containing camphorquinone and 1-phenyl-1, 2-propanedione sensitizers as initiators. **Dental Materials**, v. 32, n. 6, p. 756-764, 2016.

DUGAN, W. T.; HARTLEB, J. H. Influence of a glutaraldehyde disinfecting solution on curing light effectiveness. **General Dentistry**, v. 37, n. 1, p. 40-43, 1989.

ELLIOTT, Jeannine E.; BOWMAN, Christopher N. Effects of solvent quality during polymerization on network structure of cross-linked methacrylate copolymers. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 106, n. 11, p. 2843-2847, 2002.

FEDERLIN, Marianne; PRICE, Richard. Improving light- curing instruction in dental school. **Journal of Dental Education**, v. 77, n. 6, p. 764-772, 2013.

FELIX, Corey A.; PRICE, R. B. The effect of distance from light source on light intensity from curing lights. **The journal of adhesive dentistry**, 2003.

FERRACANE, J. L.; GREENER, E. H. The effect of resin formulation on the degree of conversion and mechanical properties of dental restorative resins. **Journal of biomedical materials research**, v. 20, n. 1, p. 121-131, 1986.

FERRACANE, J. L. *et al.* Wear and marginal breakdown of composites with various degrees of cure. **Journal of Dental Research**, v. 76, n. 8, p. 1508-1516, 1997.

FERRACANE, J. L. *et al.* Academy of Dental Materials guidance—Resin composites: Part II—Technique sensitivity (handling, polymerization, dimensional changes). **Dental materials**, v. 33, n. 11, p. 1171-1191, 2017.

FERRACANE, Jack L. Hygroscopic and hydrolytic effects in dental polymer networks. **Dental Materials**, v. 22, n. 3, p. 211-222, 2006.

FERRACANE, Jack L. Resin composite—state of the art. **Dental materials**, v. 27, n. 1, p. 29-38, 2011.

FERRÚA, Camila Perelló *et al.* Iodonium salt incorporation in dental adhesives and its relation with degree of conversion, ultimate tensile strength, cell viability, and oxidative stress. **Clinical Oral Investigations**, v. 23, n. 3, p. 1143-1151, 2019.

FLURY, Simon *et al.* Light curing through glass ceramics: effect of curing mode on micromechanical properties of dual-curing resin cements. **Clinical oral investigations**, v. 18, n. 3, p. 809-818, 2014.

GIANNINI, Marcelo *et al.* Self-etch adhesive systems: a literature review. **Brazilian dental journal**, v. 26, p. 3-10, 2015.

GRITSCH, Kerstin *et al.* Influence of light energy and power density on the microhardness of two nanohybrid composites. **European Journal of Oral Sciences**, v. 116, n. 1, p. 77-82, 2008.

HASS, Viviane *et al.* Correlation between degree of conversion, resin–dentin bond strength and nanoleakage of simplified etch-and-rinse adhesives. **Dental materials**, v. 29, n. 9, p. 921-928, 2013.

HERRERA-GONZÁLEZ, Ana M. *et al.* Analysis of double bond conversion of photopolymerizable monomers by FTIR-ATR spectroscopy. **Journal of Chemical Education**, v. 96, n. 8, p. 1786-1789, 2019.

HOWARD, Jerry *et al.* Synthesis and characterization of novel calcium phosphate glass-derived cements for vital pulp therapy. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 31, n. 1, p. 1-12, 2020.

HYUN, Hong- Keun *et al.* Effect of shade, opacity and layer thickness on light transmission through a nano- hybrid dental composite during curing. **Journal of Esthetic and Restorative Dentistry**, v. 29, n. 5, p. 362-367, 2017.

INTERNATIONAL ORGANIZATION OF STANDARDIZATION. **ISO 10650**. Dentistry — Powered polymerization activators. Geneva: ISO, 2018

JANDT, Klaus D.; MILLS, Robin W. A brief history of LED photopolymerization. **Dental Materials**, v. 29, n. 6, p. 605-617, 2013.

JÚNIOR, Alcides Gonini *et al.* Nível de aplicação de normas básicas para esterilização, desinfecção e paramentação odontológica. **Journal of Health Sciences**, v. 3, n. 1, 2001.

KHODE, Rajiv Tarachand *et al.* Evaluation of effect of different disposable infection control barriers on light intensity of light-curing unit and microhardness of composite- An in vitro study. **Journal of Conservative Dentistry: JCD**, v. 20, n. 3, p. 180, 2017.

KIM, Yuhyun *et al.* Effects of Additional Acid Etching on the Dentin Bond Strengths of One- Step Self- Etch Adhesives Applied to Primary Teeth. **Journal of Esthetic and Restorative Dentistry**, v. 29, n. 2, p. 110-117, 2017.

KOHN, William G. *et al.* Guidelines for infection control in dental health-care settings- 2003. 2003.

KOJIC, D. D. *et al.* The Ability of Dental Practitioners to Light-Cure Simulated Restorations. **Operative Dentistry**, v. 46, n. 2, p. 160-172, 2021.

KRITHIKADATTA, Jogikalmat; GOPIKRISHNA, Velayutham; DATTA, Manjula. CRIS Guidelines (Checklist for Reporting In-vitro Studies): A concept note on the need for standardized guidelines for improving quality and transparency in reporting in-vitro studies in experimental dental research. **Journal of conservative dentistry: JCD**, v. 17, n. 4, p. 301, 2014.

LAGO, Maristela *et al.* Influence of bleaching agents on color and translucency of aged resin composites. **Journal of Esthetic and Restorative Dentistry**, v. 29, n. 5, p. 368-377, 2017.

LEAL, Fernanda B. *et al.* Effect of acidic monomer concentration on the dentin bond stability of self-etch adhesives. **International journal of adhesion and adhesives**, v. 31, n. 6, p. 571-574, 2011.

LEITE, Thatiana V. *et al.* Positive Synergistic Effect of Adhesives and Resin Cements Containing an Iodonium Salt on Bonding of Fiber Posts. **The Journal of Adhesive Dentistry**, v. 23, n. 3, p. 217-222, 2021.

LEPRINCE, Julian G. *et al.* Progress in dimethacrylate-based dental composite technology and curing efficiency. **Dental Materials**, v. 29, n. 2, p. 139-156, 2013.

LIMA, Giana da Silveira *et al.* Influence of water concentration in an experimental self-etching primer on the bond strength to dentin. **Journal of Adhesive Dentistry**, v. 10, n. 3, 2008.

LUQUE-MARTINEZ, Issis V. *et al.* Effects of solvent evaporation time on immediate adhesive properties of universal adhesives to dentin. **Dental Materials**, v. 30, n. 10, p. 1126-1135, 2014.

MACIEL, Dayany da Silva Alves *et al.* Effect of camphorquinone concentration in physical-mechanical properties of experimental flowable resin composites. **BioMed Research International**, v. 2018, 2018.

MACKENZIE, L.; BANERJEE, Avijit. Minimally invasive direct restorations: a practical guide. **British dental journal**, v. 223, n. 3, p. 163-171, 2017.

MCANDREW, Robert *et al.* The effect of disposable infection control barriers and physical damage on the power output of light curing units and light curing tips. **British Dental Journal**, v. 210, n. 8, p. E12-E12, 2011.

MEEREIS, Carine TW *et al.* BAPO as an alternative photoinitiator for the radical polymerization of dental resins. **Dental materials**, v. 30, n. 9, p. 945-953, 2014.

MÜNCHOW, Eliseu Aldrighi *et al.* Polymerization shrinkage stress of resin-based dental materials: A systematic review and meta-analyses of technique protocol and photo-activation strategies. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 82, p. 77-86, 2018.

NAGARKAR, Sanket; THEIS- MAHON, Nicole; PERDIGÃO, Jorge. Universal dental adhesives: Current status, laboratory testing, and clinical performance. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 107, n. 6, p. 2121-2131, 2019.

NAVARRA, Chiara Ottavia *et al.* Degree of conversion of two-step etch-and-rinse adhesives: in situ micro-Raman analysis. **Journal of dentistry**, v. 40, n. 9, p. 711-717, 2012.

NOMOTO, Rie *et al.* Light exposure required for optimum conversion of light activated resin systems. **Dental Materials**, v. 22, n. 12, p. 1135-1142, 2006.

NOMOTO, Rie; MCCABE, John F.; HIRANO, Susumu. Comparison of halogen, plasma and LED curing units. **Operative dentistry**, v. 29, n. 3, p. 287-294, 2004.

OGLIARI, Fabrício A. *et al.* Onium salt reduces the inhibitory polymerization effect from an organic solvent in a model dental adhesive resin. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials**, v. 86, n. 1, p. 113-118, 2008.

PALIN, William M.; LEPRINCE, Julian G.; HADIS, Mohammed A. Shining a light on high volume photocurable materials. **Dental Materials**, v. 34, n. 5, p. 695-710, 2018.

PASHLEY, David H. *et al.* State of the art etch-and-rinse adhesives. **Dental materials**, v. 27, n. 1, p. 1-16, 2011.

PÉREZ-MONDRAGÓN, Alma Antonia *et al.* Preparation and evaluation of a BisGMA-free dental composite resin based on a novel trimethacrylate monomer. **Dental Materials**, v. 36, n. 4, p. 542-550, 2020.

PORTO, Isabel Cristina Celerino de Moraes *et al.* Influence of the photoinitiator system and light photoactivation units on the degree of conversion of dental composites. **Brazilian Oral Research**, v. 24, n. 4, p. 475-481, 2010.

PRICE, R. B.; FERRACANE, J. L.; SHORTALL, A. C. Light-curing units: a review of what we need to know. **Journal of dental research**, v. 94, n. 9, p. 1179-1186, 2015.

PRICE, Richard B.; SHORTALL, Adrian C.; PALIN, William M. Contemporary issues in light curing. **Operative dentistry**, v. 39, n. 1, p. 4-14, 2014.

PRICE, Richard BT *et al.* Correlation between the beam profile from a curing light and the microhardness of four resins. **Dental Materials**, v. 30, n. 12, p. 1345-1357, 2014.

PRICE, Richard B. *et al.* Effect of distance on irradiance and beam homogeneity from 4 light-emitting diode curing units. **Journal Canadian Dental Association**, v. 77, p. b9-b9, 2011.

PRICE, Richard B. *et al.* The effectiveness of using a patient simulator to teach light-curing skills. **The Journal of the American Dental Association**, v. 145, n. 1, p. 32-43, 2014.

PRICE, Richard B. Light curing guidelines for practitioners: a consensus statement from the 2014 symposium on light curing in dentistry, Dalhousie University, Halifax, Canada. **J Can Dent Assoc**, v. 80, p. e61, 2014.

PRICE, Richard BT. Light curing in dentistry. **Dental Clinics**, v. 61, n. 4, p. 751-778, 2017.

PRICE, Richard B. *et al.* The light-curing unit: an essential piece of dental equipment. **International dental journal**, v. 70, n. 6, p. 407-417, 2020.

DA ROSA, Wellington Luiz De Oliveira; PIVA, Evandro; DA SILVA, Adriana Fernandes. Bond strength of universal adhesives: A systematic review and meta-analysis. **Journal of dentistry**, v. 43, n. 7, p. 765-776, 2015.

RUEGGEBERG, F. A.; CAUGHMAN, Wyatt Franklin; CURTIS, J. W. Effect of light intensity and exposure duration on cure of resin composite. **Operative dentistry**, v. 19, p. 26-26, 1994.

RUEGGEBERG, Frederick Allen *et al.* Light curing in dentistry and clinical implications: a literature review. **Brazilian oral research**, v. 31, 2017.

RUEGGEBERG, Frederick A. State-of-the-art: dental photocuring—a review. **Dental materials**, v. 27, n. 1, p. 39-52, 2011.

SABINO-SILVA, Robinson; JARDIM, Ana Carolina Gomes; SIQUEIRA, Walter L. Coronavirus COVID-19 impacts to dentistry and potential salivary diagnosis. **Clinical oral investigations**, v. 24, n. 4, p. 1619-1621, 2020.

SALGADO, Vinícius Esteves *et al.* Effect of photoinitiator combinations on hardness, depth of cure, and color of model resin composites. **Journal of Esthetic and Restorative Dentistry**, v. 27, p. S41-S48, 2015.

SAMPAIO, Camila S. *et al.* Effect of blue and violet light on polymerization shrinkage vectors of a CQ/TPO-containing composite. **Dental Materials**, v. 33, n. 7, p. 796-804, 2017.

SANTINI, Ario; GALLEGOS, Iranzihuatl Torres; FELIX, Christopher M. Photoinitiators in dentistry: a review. **Primary dental journal**, v. 2, n. 4, p. 30-33, 2013.

SANTINI, Ario *et al.* Degree of conversion and microhardness of TPO-containing resin-based composites cured by polywave and monowave LED units. **Journal of dentistry**, v. 40, n. 7, p. 577-584, 2012.

SCHNEIDER, Luis Felipe J. *et al.* Influence of photoinitiator type on the rate of polymerization, degree of conversion, hardness and yellowing of dental resin composites. **Dental materials**, v. 24, n. 9, p. 1169-1177, 2008.

SCOTT, Barbara A.; FELIX, Corey A.; PRICE, Richard BT. Effect of disposable infection control barriers on light output from dental curing lights. **Journal-Canadian Dental Association**, v. 70, n. 2, p. 105-110, 2004.

SCOTTI, Nicola *et al.* New adhesives and bonding techniques. Why and when?. **The international journal of esthetic dentistry**, 2017.

SHORTALL, A. C. How light source and product shade influence cure depth for a contemporary composite. **Journal of oral rehabilitation**, v. 32, n. 12, p. 906-911, 2005.

SIKRI, Vimal K. Color: Implications in dentistry. **Journal of conservative dentistry: JCD**, v. 13, n. 4, p. 249, 2010.

SOARES, Carlos José *et al.* Effect of infection control barriers on the light output from a multi-peak light curing unit. **Journal of dentistry**, v. 103, p. 103503, 2020.

SODRÉ, Camila Stofella *et al.* Relative photon absorption determination and the influence of photoinitiator system and water content on C= C conversion, water sorption/solubility of experimental self-etch adhesives. **International Journal of Adhesion and Adhesives**, v. 63, p. 152-157, 2015.

STANSBURY, Jeffrey W. Curing dental resins and composites by photopolymerization. **Journal of esthetic and restorative dentistry**, v. 12, n. 6, p. 300-308, 2000.

SWORD, Rhoda Joyner *et al.* Effect of curing light barriers and light types on radiant exposure and composite conversion. **Journal of Esthetic and Restorative Dentistry**, v. 28, n. 1, p. 29-42, 2016.

VAN LANDUYT, Kirsten L. *et al.* Evaluation of cell responses toward adhesives with different photoinitiating systems. **Dental Materials**, v. 31, n. 8, p. 916-927, 2015.

VAN MEERBEEK, Bart *et al.* State of the art of self-etch adhesives. **Dental materials**, v. 27, n. 1, p. 17-28, 2011.

VERBEEK, Jos H. *et al.* Personal protective equipment for preventing highly infectious diseases due to exposure to contaminated body fluids in healthcare staff. **Cochrane database of systematic reviews**, n. 4, 2020.

YAMAUCHI, S. *et al.* High-performance dental adhesives containing an ether-based monomer. **Journal of dental research**, v. 99, n. 2, p. 189-195, 2020.

ZHANG, Jing *et al.* Photoinitiation mechanism and ability of monoamino- substituted anthraquinone derivatives as cationic photoinitiators of polymerization under LEDs. **Macromolecular Rapid Communications**, v. 40, n. 16, p. 1900234, 2019.

APÊNDICE

Apêndice A- Súmula do currículo do candidato

Peterson Oliveira Boeira, nasceu em 02 de novembro de 1986, no município de Vacaria, Rio Grande do Sul (RS). Completou o ensino médio no Colégio Mutirão Nossa Senhora de Lourdes na cidade de Farroupilha (RS). É Cirurgião-Dentista formado pela Universidade Federal de Pelotas (2018). Especialista em Saúde Coletiva (2020). Especialização em andamento em Implantodontia (2022). Possui graduação em Fisioterapia pela Universidade Feevale (2012). É membro integrante do Centro de Desenvolvimento e Controle de Biomateriais (CDC-Bio, UFPel). Pesquisador na área de desenvolvimento, caracterização e controle de biomateriais, com foco em materiais bioativos, fotoiniciadores, sistemas adesivos e resinas odontológicas. Atua clinicamente em projetos de extensão na área de implantodontia e prótese dentária. Foi aluno bolsista de doutorado do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Durante a permanência como pós-graduando candidato a doutor, teve a oportunidade de participar de estudos voltados para pesquisas clínicas e laboratoriais, desenvolveu habilidades voltadas para a docência, bem como participou de extensão acadêmica voltadas para atividades clínicas.

Artigos completos publicados em periódicos:

BOEIRA, PETERSON OLIVEIRA; KINALSKI, M. A.; SANTOS, M. B. F.; MORAES, R. R.; LIMA, G.S. Polywave And Monowave Light-Curing Units Effects On Polymerization Efficiency Of Different Photoinitiators. BRAZILIAN DENTAL SCIENCE, v. 24, p. 1-9, 2021.

BOEIRA, PETERSON OLIVEIRA; STUDZINSKIDOS SANTOS, CINTHIA ; KINALSKI, MATEUS DE AZEVEDO ; BRONDANI, LUCAS PRADEBON ; PEREIRA-CENCI, TATIANA ; LIMA, GIANA DA SILVEIRA . Glycine air-polishing versus curette debridement for the treatment of peri-implant mucositis: A systematic review and meta-analysis. Dentistry Review, v. -, p. 100003, 2021.

LIMA, GIANADA SILVEIRA; BOEIRA, PETERSON OLIVEIRA; DE ROSSI, ALEXANDRE; CAPOROSSI, LEONARDO STEPHAN. Periodontal esthetic surgery to improve a natural smile: Report case with 2-year follow-up. JOURNAL OF INDIAN SOCIETY OF PERIODONTOLOGY, v. 24, p. 87, 2020.

ALMEIDA, SUZANNE M. ; MEEREIS, CARINE T.W. ; LEAL, FERNANDA B. ; CARVALHO, RODRIGO V. ; BOEIRA, PETERSON O. ; CHISINI, LUIZ A. ; CUEVAS-SUÁREZ, CARLOS E. ; LIMA, GIANA S. ; PIVA, EVANDRO . Evaluation of alternative

photoinitiator systems in two-step self-etch adhesive systems. DENTAL MATERIALS, v. 36, p. e29-e37, 2020.

BOEIRA, P. O.; ALBINO, L. G. B. ; SOUZA, G. F. B. ; ALVES, J. G. ; MEEREIS, CARINE TAIS WELTER ; LIMA, G.S. . Restaurações em dentes posteriores com Resina Bulk Fill:relato de caso de 2 anos de acompanhamento. clinica - international journal of brazilian dentistry, v. 13, p. 336-344, 2018.

ALVES, JÚLIA GUEDES ; DIGMAYER ROMERO, VITOR HENRIQUE ; BOEIRA, PETERSON OLIVEIRA ; BIGHETTI, TANIA IZABEL ; CASTILHOS, EDUARDO DICKIE DE . A satisfação profissional de cirurgiões-dentistas da atenção básica em um município no sul do Brasil com diretrizes municipais de saúde bucal. Revista da Faculdade de Odontologia. Universidade de Passo Fundo, v. 23, p. 139-142, 2018.

BOEIRA, P. O.; KINALSKI, M. A.; CENCI, T. P. ; LIMA, G.S. Fisioterapia versus laserterapia na redução de dor em pacientes com DTM: um ensaio clínico randomizado piloto. Revista da APCD, v. 72, p. 496-502, 2018.

BOEIRA, PETERSON OLIVEIRA; MEEREIS, CARINE TAIS WELTER ; SUÁREZ, CARLOS ENRIQUE CUEVAS ; DE ALMEIDA, SUZANNE MENDES ; PIVA, EVANDRO ; DA SILVEIRA LIMA, GIANA . Coumarin-based iodonium hexafluoroantimonate as an alternative photoinitiator for experimental dental adhesives resin. APPLIED ADHESION SCIENCE, v. 5, p. 1-11, 2017.

ANEXOS



ORIGINAL ARTICLE

doi: 10.14295/bds.2021.v24i4.2661

Polywave And Monowave Light-Curing Units Effects On Polymerization Efficiency Of Different Photoinitiators

Efeito Da Unidade De Cura Por Luz Polywave E Monowave Na Eficiência De Polimerização De Diferentes Fotoiniciadores

Peterson Oliveira BOEIRA¹, Mateus de Azevedo KINALSKI¹, Mateus Bertolini Fernandes dos SANTOS¹, Rafael Ratto de MORAES¹, Giana da Silveira LIMA¹

1 - Graduate Program in Dentistry, Federal University of Pelotas, Pelotas, Brazil.

ABSTRACT

Objective: The objective of this study was to characterize and correlate the absorption spectra of three photoinitiators [camphorquinone (CQ), diphenyl(2,4,6-trimethylbenzoyl) phosphine oxide (TPO) and phenylbis (2,4,6-trimethylbenzoyl)-phosphine oxide (BAPO)], using second or third-generation light curing units (LCU), and to evaluate the degree of conversion and the physical properties of an experimental resin adhesive. **Material and methods:** Second-generation (Radii-cal[®] and Emitter D[®]) and third-generation (Valo[®] Cordless and Bluephase N[®]) LCU were assessed regarding spectrum and irradiance rate of emitted light. Also, the photoinitiators (CQ, TPO and BAPO) were characterized by a light absorption spectrum assessed by UV-Vis spectroscopy, degree of conversion and yellowing effect. Statistical analyzes considered two-way ANOVA and post-hoc Tukey test. **Results:** BAPO presented higher reactivity compared to TPO. Regarding degree of conversion of the photoinitiators activated by different light-curing units, the Emitter D[®] device promoted a high degree of conversion. BAPO presented the highest yellowing effect values. **Conclusions:** The emission and absorption characteristics of the photoinitiators were different. The polymerization reaction activated by the second-generation light-curing unit was reduced when using an experimental resin with photoinitiator TPO, and the third-generation light-curing unit showed a higher polymerization potential regardless of the photoinitiator.

KEYWORDS

Light-curing of dental adhesives; Photoinitiators dental; Curing lights dental.

RESUMO

Objetivo: Caracterizar e correlacionar os espectros de absorção de três fotoiniciadores [canforquinona (CQ), difenil 2,4,6-trimetilbenzil óxido de fosfina (TPO) e óxido de di (2,4,6-trimetilbenzil) difenil fosfina (BAPO)], com unidades de fotoativação (LCU) de segunda ou terceira geração, e avaliar o grau de conversão e as propriedades físicas de um adesivo experimental. **Material e métodos:** LCU de segunda geração (Radii-cal[®] e Emitter D[®]) e terceira geração (Valo[®] Cordless e Bluephase N[®]) foram avaliadas quanto ao espectro e taxa de irradiância da luz emitida. Além disso, os fotoiniciadores (CQ, TPO e BAPO) foram caracterizados por um espectro de absorção de luz avaliado por espectroscopia UV-Vis, avaliado o grau de conversão dos adesivos e efeito de amarelamento. A análise estatística empregada foi ANOVA duas vias e teste post-hoc de Tukey. **Resultados:** BAPO apresentou maior reatividade comparado ao TPO. Em relação ao grau de conversão dos fotoiniciadores ativados por diferentes aparelhos fotopolimerizadores, o dispositivo Emitter D[®] promoveu um alto grau de conversão. BAPO apresentou os maiores valores de efeito de amarelamento. **Conclusões:** As características de emissão e absorção dos fotoiniciadores foram diferentes. A reação de polimerização ativada pelas unidades de fotopolimerização de segunda geração foi reduzida com o uso de uma resina experimental com fotoiniciador TPO. As unidades de fotopolimerização de terceira geração apresentaram maior potencial de polimerização independentemente do fotoiniciador.

PALAVRAS-CHAVE

Cura luminosa de adesivos dentários; Fotoiniciadores dentários; Luzes de cura dentária.

Anexo B - Artigo 3 aceito para publicação na Revista Operative Dentistry

Artigo aceito para publicação no dia 15 de janeiro de 2022

ENC: Your Submission 21-061R2

From: Operative Dentistry <em@editorialmanager.com>
Date: January 15, 2022 at 10:27:22 GMT-3
To: Giana Silveira Lima <gianalima@gmail.com>
Subject: Your Submission 21-061R2
Reply-To: Operative Dentistry <editor@jopdent.com>

Ref.: Ms. No. 21-061R2

Does the protective barriers affect the radiant exposure delivered from the light curing units?
Operative Dentistry

Dear Lima,

I am pleased to tell you that your work has now been accepted for publication in Operative Dentistry.

It was accepted on Jan 15, 2022

Comments from the Editor and Reviewers can be found below.

Thank you for submitting your work to this journal.

With kind regards,

Jeffrey Platt, DDS, MS
Editor-in-Chief
Operative Dentistry

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Odontologia
Programa de Pós-Graduação em Odontologia



Tese

**Ensaio clínico randomizado para avaliação do risco de cárie individual em
escolares: protocolo do estudo e o impacto do exame radiográfico**

Aryane Marques Menegaz

Pelotas, 2022

Aryane Marques Menegaz

Ensaio clínico randomizado para avaliação do risco de cárie individual em escolares: protocolo do estudo e o impacto do exame radiográfico

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Clínica Odontológica com ênfase Odontopediatria.

Orientador: Profa. Dra. Marina Sousa Azevedo

Coorientadores: Prof. Dr. Maximiliano Sergio Cenci

Prof. Dr. Fausto Medeiros Mendes

Pelotas, 2022

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

M541e Menegaz, Aryane Marques

Ensaio clínico randomizado para avaliação do risco de cárie individual em escolares : protocolo do estudo e o impacto do exame radiográfico / Aryane Marques Menegaz ; Marina Sousa Azevedo, orientadora ; Maximiliano Sergio Cenci, Fausto Medeiros Mendes, coorientadores. — Pelotas, 2022.

123 f. : il.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Clínica Odontológica - ênfase em Odontopediatria, Odontologia, Universidade Federal de Pelotas, 2022.

1. Cárie dentária. 2. Crianças. 3. Avaliação de risco. 4. Radiografia. I. Azevedo, Marina Sousa, orient. II. Cenci, Maximiliano Sergio, coorient. III. Mendes, Fausto Medeiros, coorient. IV. Título.

Black : D602

Aryane Marques Menegaz

Ensaio clínico randomizado para avaliação do risco de cárie individual em escolares: protocolo do estudo e o impacto do exame radiográfico

Tese aprovada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Clínica Odontológica com ênfase em Odontopediatria, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas.

.

Data da defesa: 14 de fevereiro de 2022.

Banca examinadora:

Profa. Dra. Marina Sousa Azevedo (Presidente)
Doutora em Odontologia pela Universidade Federal de Pelotas.

Profa. Dra. Ana Regina Romano (Titular)
Doutora em Ciências Odontológicas pela Universidade de São Paulo.

Profa. Dra. Françoise Hélène van de Sande Leite (Titular)
Doutora em Odontologia pela Universidade Federal de Pelotas.

Profa. Dra. Francine dos Santos Costa (Titular)
Doutora em Epidemiologia e Odontologia pela Universidade Federal de Pelotas.

Profa. Dra. Marília Leão Goettems (Suplente)
Doutora em Odontologia pela Universidade Federal de Pelotas.

Prof. Dra. Anelise Montagner (Suplente)
Doutora em Odontologia pela Universidade Federal de Pelotas.

Dedico este trabalho à minha família - pai, mãe e irmã – por me encorajarem e apoiarem toda minha caminhada de estudos.

Agradecimentos

À **Universidade Federal de Pelotas** por ter me proporcionado onze anos de ensino público.

À **Faculdade de Odontologia** por ter me acolhido e disponibilizado os meios para a minha formação acadêmica.

Ao **Programa de Pós-Graduação em Odontologia** pela oportunidade de aprendizado em excelência.

À minha Orientadora, **Marina**, que esteve presente em mais de um momento da minha vida acadêmica, na orientação do TCC, na banca de defesa da Dissertação do Mestrado e em toda minha formação em odontopediatria. Em especial, nesse momento, pela dedicação como conduziu minha orientação, de forma respeitosa e paciente. Embarcamos juntas em um grande projeto, estávamos otimistas e trabalhando bastante para colhermos bons resultados, mas, precisou ser interrompido, e, Marina me conduziu da melhor forma para que pudéssemos fazer dessa interrupção um novo caminho. Obrigada por todos os ensinamentos e oportunidades, minha admiração pela dentista, professora e pesquisadora que és.

À minha amiga, **Thays**, que foi minha grande parceira na idealização e execução desse projeto. Obrigada por estar comigo nessa caminhada. Nossa amizade foi construída e hoje és uma amiga especial com quem não mais divido uma pesquisa e sim compartilho minha vida.

Aos professores do grupo **CARDEC**, pela oportunidade de desenvolvermos juntos esse estudo e todo auxílio prestado.

As professoras de Odontopediatria da FO-UFPel, por todos ensinamentos e aprendizados, pela forma como conduzem com grande diferencial a nossa disciplina. Sinto muito orgulho da minha formação e será sempre minha “casa”. Um agradecimento especial, para a professora **Ana**, que muitas vezes pegou na minha mão para me ensinar odontopediatria, e teve uma participação muito importante na minha trajetória profissional.

À professora, **Melissa**, pelo auxílio prestado na pesquisa e por estar sempre disposta a nos ajudar.

Aos meus colegas da turma de Odontopediatria do mestrado, **Isadora, Ivam e Tamara**, nossa turma era especial e estará sempre no meu coração, cada um seguiu seu caminho, mas mantemos os vínculos e sou muito grata por ter vocês

juntos também nessa etapa, compartilhando da amizade, na troca de conhecimentos, dividindo angústias e vibrando com as vitórias.

As minhas queridas amigas, **Andressa Spohr e Morgana**, amigas de muitos momentos, da faculdade para a vida, que fizeram da minha morada em Pelotas, anos inesquecíveis. Obrigada pelo companheirismo, lealdade e torcida. Sonhos sonhados juntos, tornam-se realidade. Saudades!

Por último, um agradecimento muito especial à minha família, **Pai, Mãe e Irmã**, obrigada por me ensinarem o verdadeiro valor do estudo desde muito cedo, pelo incentivo e carinho, por me oferecerem todo suporte necessário para a conclusão dessa grande etapa da minha vida. Eles são minha base, acreditam em mim até quando eu mesma não acredito, e me encorajam a seguir e ir sempre além.

Me permitam finalizar esses agradecimentos com um parágrafo sobre a minha trajetória de estudos, a qual eu me orgulho muito, sou filha de professores e estudei sempre em escola pública, se alguém me contasse, naquela época, que hoje eu estaria defendendo o doutorado eu não acreditaria. Estava tão longe de mim esse ideal, por vários motivos, mas nesse momento olhando para trás eu vejo que, na verdade, essa semente foi plantada dentro da minha casa, o estudo sempre foi prioridade para os meus pais que se esforçaram para nos ensinar além do básico. Mas, eu sei que fui muito privilegiada dentro das minhas condições, e, gostaria que outros tantos estudantes tivessem a mesma oportunidade que eu tive. É trabalho de cada um de nós dismantelar e mudar os sistemas de injustiça no nosso país, meu desejo sincero é que todos possam ter iguais oportunidades de estudo!

Resumo

MENEGAZ, Aryane Marques. **Ensaio clínico randomizado para avaliação do risco de cárie individual em escolares: protocolo do estudo e o impacto do exame radiográfico.** Orientadora: Marina Sousa Azevedo. 2022. 123f. Tese (Doutorado em Clínica Odontológica com ênfase em Odontopediatria) – Programa de Pós-graduação em Odontologia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2021

A cárie dentária é uma doença de alta prevalência e gravidade em crianças brasileiras. A avaliação do risco de cárie é essencial para o correto manejo e prevenção da doença, bem como para estabelecer o tempo adequado para as consultas de retorno. A avaliação de risco deve ser prática, rápida, eficiente, fácil, de baixo custo e bem aceita. Existem basicamente duas formas de avaliar risco de cárie por meio da avaliação de fatores isolados ou por métodos multivariados, que combinam uma série de variáveis por meio de uma análise. As ferramentas existentes geralmente usam um grande número de variáveis. Em contrapartida, a experiência anterior de cárie (uma única variável) é o fator com maior força de associação com um risco aumentado de cárie dentária. No entanto, as evidências encontradas são fracas, e não há estudos que comparem a superioridade de um método sobre o outro. Isso seria idealmente respondido através de um estudo clínico randomizado comparando as duas estratégias. Sendo assim, foi desenvolvido o Artigo 1 dessa tese, um protocolo de ensaio clínico randomizado, duplo-cego, controlado e de tratamento paralelo. Dois grupos testados para duas formas de avaliação do risco de cárie: um método multivariado e detalhado baseado nas diretrizes do *Caries Care International 4D* e outro processo simplificado, baseado apenas na experiência de cárie na dentição decídua ou permanente, considerando a presença de dentes cariados, perdidos e obturados usando o índice CPOD/ceod. Crianças de 8 a 11 anos foram acompanhadas durante 2 anos. O desfecho primário será um desfecho composto que representa o número de superfícies dentárias necessitando intervenção operatória. Além disso, objetivou-se avaliar, através de um estudo transversal, o impacto do exame radiográfico na classificação do risco de cárie dentária infantil em baixo e alto risco, comparando entre os dois métodos de avaliação de risco (Artigo 2). Um total de 107 crianças foram selecionadas e examinadas por avaliadores treinados e calibrados por meio de exame clínico e radiográfico. Inicialmente, as crianças foram classificadas em baixo e alto risco sem considerar a avaliação radiográfica, depois com a associação da avaliação radiográfica das superfícies proximais dos dentes posteriores. Foi realizada análise estatística descritiva e ambos os métodos, simplificado e multivariado, apresentaram resultados semelhantes. Observou-se baixa frequência de alteração para alto risco, inferior a 5%, quando se incluiu a análise radiográfica das superfícies proximais dos dentes posteriores. O impacto do exame radiográfico na classificação de risco para cárie dentária é baixo para essa população para ambos os métodos de avaliação de risco utilizados. Existe a necessidade da realização de estudos clínicos randomizados para avaliar o benefício do tratamento direcionado pela avaliação do risco de cárie, bem como a relação da indicação do método radiográfico como rotina na melhora e manutenção da saúde bucal das crianças. Este estudo contribui para a literatura visto que idealiza um estudo clínico randomizado para avaliar qual o melhor método para se realizar avaliação de risco de cárie.

Palavras-chave: cárie dentária, crianças, avaliação de risco, radiografia.

Abstract

MENEGAZ, Aryane Marques. **Randomized clinical trial to assess individual caries risk in schoolchildren: study protocol and the impact of radiographic examination.** 2022. 123f. Advisor: Marina Sousa Azevedo. Thesis (PhD Degree in Clinical Dentistry with emphasis in Pediatric Dentistry) – Postgraduate Program in Dentistry, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2022.

Dental caries is a disease of high prevalence and severity in Brazilian children. Caries risk assessment is essential for the correct management and prevention of disease, and to set an adequate time for recall visits. Risk assessment should be practical, fast, efficient, easy, low cost and well accepted. There are basically two ways to assess caries risk through the assessment of isolated factors or through multivariate methods, which combine a series of variables through an analysis. Existing tools often use a large number of variables. In contrast, previous caries experience (a single variable) is the factor with the strongest association with an increased risk of dental caries. However, the evidence found is weak, and there are no studies comparing the superiority of one method over another. This would ideally be answered through a randomized clinical trial comparing the two strategies. Therefore, Article 1 of this thesis, a randomized, double-blind, controlled, parallel-treatment clinical trial protocol was developed. Two groups tested for two forms of caries risk assessment: an individualized and detailed multivariate method based on Caries Care International 4D guidelines and another simplified process, based only on caries experience in or permanent dentition, considering the presence of decayed teeth, lost and obturated using the DMFT/dmft index. Children from 8 to 11 years old will be following for 2 years. The primary outcome will be a composite outcome representing the number of tooth surfaces requiring operative intervention. In addition, the objective was to evaluate, through a cross-sectional study, the impact of radiographic examination in classifying the risk of childhood dental caries into low and high risk, comparing the two risk assessment methods (Article 2). A total of 107 children were selected and examined by trained and calibrated evaluators through clinical and radiographic examination. Initially, children were classified into low and high risk without considering the radiographic evaluation, later with the association of radiographic evaluation of the proximal surfaces of the posterior teeth. Descriptive statistical analysis was performed and both simplified and multivariate methods showed similar results. A low frequency of change to high risk was observed, less than 5%, when the radiographic analysis of the proximal surfaces of the posterior teeth was included. The impact of radiographic examination on risk classification for dental caries is low for this population for both risk assessment methods used. There is a need to carry out randomized clinical studies to evaluate the benefit of treatment directed by the assessment of caries risk, as well as in relation to the indication of the radiographic method as a routine in the improvement and maintenance of children's oral health. This study contributes to the literature as it idealizes a randomized clinical trial to assess the best method to carry out caries risk assessment.

Keywords: dental caries; children; risk assessment, radiograph

Sumário

1 Introdução	10
2 Projeto de pesquisa	14
3 Relatório do trabalho de campo	37
4 Artigo 1	41
5 Artigo 2	71
6 Considerações finais.....	92
Referências	93
Apêndices	101
Anexos	107

1 Introdução

Nas últimas décadas, com o declínio da prevalência e diminuição da velocidade de progressão da cárie dentária na maioria das populações, novos desafios para o diagnóstico da cárie dentária vêm sendo estabelecidos. Dessa forma, muitos autores destacam a importância da avaliação do risco de cárie no correto manejo da doença (MEJÀRE et al., 2014; PITTS; EKSTRAND, 2013; TWETMAN, 2016).

A cárie dentária é considerada uma doença dinâmica multifatorial, determinada pela interação de fatores biológicos, comportamentais e psicossociais relacionados ao meio do indivíduo (PITTS; BAEZ; DIAZ-GUALLORY, 2019). Por possuir um caráter dinâmico, alguns autores afirmam que a avaliação do risco poderia fazer com que se evitasse, ou pelo menos diminuísse, a chance da doença se instalar e evoluir nessas pessoas (TWETMAN; FONTANA; FEATHERSTONE, 2013). Em nível individual, avaliação de risco é um elemento essencial para guiar a prevenção e tratamento. Em nível coletivo, a avaliação do risco de cárie pode guiar intervenções públicas e alocar tempo e recursos para aqueles com maior necessidade (TWETMAN, FONTANA, 2009).

O objetivo da determinação do risco de cárie envolve a avaliação da probabilidade do aparecimento de novas lesões em um determinado período, e o risco de progressão das lesões de cárie já existentes para estágios mais severos (TWETMAN; FONTANA; FEATHERSTONE, 2013). Há duas formas de se avaliar o risco de cárie: a primeira é a simples avaliação de fatores associados ao aumento do risco de cárie, a partir da presença ou ausência desses fatores. A segunda, é através de modelos multivariados, que são modelos que levam em conta diversos fatores de risco em conjunto.

Vários estudos sobre o tema com crianças e adolescentes foram realizados e estão sumarizados em revisões sistemáticas (MEJÀRE et al., 2014; LEONG et al., 2013; SENNEBY et al., 2015; TELLEZ et al., 2014) a maioria são do tipo coorte e foram conduzidos para determinar variáveis isoladas que apresentariam um poder preditivo aceitável para o desenvolvimento de novas lesões cariosas, unânimes em

afirmar que a experiência passada de cárie é o fator com maior força de associação com um risco aumentado de cárie dentária. No estudo de coorte de Hall-Sculin, et al., mostram que as crianças que apresentavam lesões de cárie na dentição decídua e as que eram livres de cárie nessa fase apresentaram trajetórias diferentes no desenvolvimento de novas lesões de cárie na dentição permanente, assim sugerem estratégias de prevenção diferentes para esses dois grupos de crianças (HALL-SCULLIN et al., 2017).

Twetman e Fontana (2009), ao analisarem os resultados de revisões com estudos longitudinais sobre acurácia na avaliação do risco de cárie, constataram que, em crianças pequenas, parece haver maior precisão em modelos que incluem uma maior variedade de fatores, enquanto que para crianças mais velhas, em idade escolar, adicionar mais fatores de risco para fins de previsão é questionável. Outros autores afirmam que a experiência passada de cárie não seria o método ideal de predição, especialmente na nova era em que a odontologia se encontra, da mínima intervenção e condutas não operatórias, em relação ao manejo de cárie dentária (TWETMAN; FONTANA; FEATHERSTONE, 2013).

Com o intuito de melhorar esse poder de predição, métodos multivariados têm sido propostos (MEJÀRE et al., 2015; TELLEZ et al., 2013; TWETMAN, 2016; TWETMAN; FONTANA; FEATHERSTONE, 2013; FONTANA, 2006). Alguns estudos afirmam que os modelos multivariados possuem um poder de predição superior aos indicadores clínicos individuais, principalmente em crianças pré-escolares (TWETMAN, 2016; KUHNISCH; EKSTRAND; PRETTY, 2016). No entanto, até o presente momento não há evidência científica que suporte um fator ou método em relação ao outro, nenhum é muito acurado para predizer o desenvolvimento de novas lesões, no máximo, podem ser considerados com evidência moderada (SENNEBY et al., 2015; DIVARIS, 2016). Isso seria idealmente respondido através de um estudo clínico randomizado comparando as duas estratégias.

O exame radiográfico associado ao exame clínico é uma prática comum dos dentistas, e encorajada pelas diretrizes clínicas, para diagnóstico de cárie em crianças (AAPD, 2021b, 2021a; ISMAIL; PITTS; TELLEZ, 2015; KUHNISCH, EKSTRAND, PRETTY, 2016; MARTIGNON et al., 2019). O rastreamento de lesões de cárie é realizado com o objetivo de identificar lesões de cárie precoces para a decisão do tratamento operatório ou não operatório, e para evitar tratamentos mais invasivos (SCHWENDICKE; TZSCHOPPE; PARIS, 2015).

As justificativas para a recomendação do uso de radiografias, principalmente do tipo interproximais, associado ao exame clínico para detecção de cárie e manejo da doença são que: algumas lesões de cárie podem não ser visíveis durante a inspeção visual (AAPD, 2021b; KUHNISCH, EKSTRAND, PRETTY, 2016; SCHWENDICKE; TZSCHOPPE; PARIS, 2015), e o exame radiográfico poderia detectar precocemente lesões de cárie em estágio inicial (EVANS; DENNISON, 2009; KUHNISCH, EKSTRAND, PRETTY, 2016; MARTIGNON et al., 2019; SCHWENDICKE; TZSCHOPPE; PARIS, 2015).

No entanto, o uso de radiografias como prática de rotina odontológica em crianças é controverso, os últimos estudos mostram que a estratégia de diagnóstico deve ser avaliada com base nos resultados na saúde do paciente e que o uso simultâneo dos métodos radiográfico e visual não trazem benefícios adicionais (PONTES *et al.*, 2019, 2020, 2021). O sobrediagnóstico, além de causar um alto impacto econômico, pode trazer efeitos adversos para a saúde das crianças (PONTES *et al.*, 2019, 2020, 2021).

A avaliação de risco de cárie deve ter uma boa relação custo-benefício, ser barata, aceitável pelo paciente e pelo dentista e rápida (TELLEZ et al., 2013). Portanto, avaliações com menos variáveis proporcionam ganhos em tempo clínico e em termos econômicos (TELLEZ et al., 2013). Os métodos existentes até o momento geralmente envolvem uma quantidade considerável de variáveis a serem analisadas e métodos adicionais, como o exame radiográfico, que podem ser bastante complexos levando-se em consideração os diferentes locais/cenários em que podem ser aplicados. Fato esse que nos encorajou a realizar o segundo estudo presente nesse trabalho, com o objetivo de avaliar se a inclusão do exame radiográfico causaria impacto na classificação de risco para cárie dentária em crianças.

SENNEBY et al. (2015), mencionam em seu estudo que coletar informações com um grande número de fatores não é mais preciso do que coletar apenas alguns fatores, método que apresenta acurácia, eficácia e eficiência maiores ou iguais aos métodos existentes. No entanto, com um processo de coleta fácil, barato, rápido e aceitável para os aplicadores, representaria um ganho considerável em tempo clínico que pode ser utilizado no manejo do paciente ou em outras etapas do tratamento e economia de recursos, em além de facilitar sua aplicabilidade e reprodutibilidade.

Desse modo, foram desenvolvidos dois artigos: o primeiro, um protocolo de ensaio clínico randomizado para avaliar dois métodos de avaliação de risco de cárie

em crianças, com o objetivo comparar o tratamento relacionado à cárie dentária e acompanhamento baseado numa avaliação elaborada, multivariada e individualizada do risco de cárie de crianças a uma estratégia mais simples de avaliação de risco baseada na experiência de cárie. E, um segundo artigo, do tipo transversal, que avaliará o impacto do exame radiográfico na classificação de risco de cárie baseado na amostra parcial selecionada para o estudo descrito no protocolo e que não pode ser acompanhada devido à pandemia de COVID-19.

2 Projeto de pesquisa

1 Introdução

Nas últimas décadas, a cárie dentária vem apresentando um declínio na sua prevalência e diminuição na velocidade de progressão (GIMENEZ et al., 2016). Diante desse atual cenário, bem como o avanço do conhecimento sobre a doença (PITTS et al., 2017), autores têm afirmado que a avaliação do risco de cárie é fundamental para um correto manejo e prevenção da cárie dentária em pacientes de todas as faixas etárias, bem como para estabelecer um tempo adequado para as consultas de retorno (KUHNISCH et al., 2016; TWETMAN, FONTANA, 2009; TWETMAN et al., 2013).

A avaliação do risco de cárie apresenta duas funções principais: (1) a determinação da probabilidade de o paciente desenvolver novas lesões de cárie num determinado período de tempo, e (2) o risco de as lesões já presentes progredirem para estágios mais severos (TWETMAN, FONTANA, 2009; TWETMAN et al., 2013).

Inicialmente, vários estudos de coorte foram conduzidos para determinar fatores (variáveis) isoladas que apresentariam um poder preditivo aceitável para o desenvolvimento de novas lesões cariosas. Esses estudos, sumarizados em diversas revisões sistemáticas (LEON et al., 2013; MEJARE et al., 2014; SENNEB et al., 2015; TELLEZ et al., 2013) têm sido unânimes em afirmar que a experiência passada de cárie é o fator com maior força de associação com um risco aumentado de cárie dentária. Recentemente, um estudo de coorte mostra claramente que as crianças que apresentavam lesões de cárie na dentição decídua e as que eram livres de cárie nessa fase apresentaram trajetórias bastante distintas no desenvolvimento de novas lesões de cárie na dentição permanente, e os autores sugerem estratégias de prevenção diferentes para esses dois grupos de crianças (HALL – SCULLIN et al., 2017). No entanto, outros autores afirmam que a experiência passada de cárie apresenta valores preditivos muito longe do ideal (TWETMAN et al., 2013).

Com o intuito de melhorar esse poder de predição, métodos multivariados, que combinam uma série de fatores na avaliação do risco de cárie, têm sido propostos (TWETMAN, FONTANA, 2009; TWETMAN et al., 2013; MEJARE et al., 2014; TELLEZ et al., 2013; TWETMAN, 2016). Esses modelos combinam uma série de variáveis através de uma análise usando fichas em papel ou até mesmo realizam uma avaliação computadorizada para classificar o risco de cárie do paciente. Alguns autores afirmam que esses modelos possuem um poder de predição superior aos indicadores clínicos individuais, principalmente em crianças pré-escolares (KUHNISCH et al., 2016; TWETMAN, 2016).

Embora os autores e alguns guias de protocolo clínico tenham enfatizado sobre a importância da avaliação individualizada do risco de cárie para o correto manejo e tratamento não-operatório dos pacientes (KUHNISCH et al., 2016; TWETMAN, FONTANA, 2009; TWETMAN et al., 2013; TELLEZ et al., 2013; TWETMAN, 2016; AAPD, 2016; ISMAIL et al., 2015; PITTS et al., 2013), essa opinião é baseada em uma evidência muito fraca, baseado principalmente na opinião de especialistas. Os estudos são de baixa qualidade metodológica (DIVARIS, 2016), e se preocupam apenas em identificar os fatores ou modelos que predizem novas lesões. Nenhum estudo foi realizado para avaliar se a avaliação mais elaborada e individualizada do risco de cárie, considerando vários fatores, proporciona prevenção e tratamento relacionados à cárie dentária mais efetivos, e se isso traz algum benefício ao paciente, comparado com estratégias mais simples, considerando por exemplo, a experiência de cárie na dentição decídua e/ou permanente. Isso seria idealmente respondido através de um estudo clínico randomizado comparando as duas estratégias, o que motiva a realização do presente estudo.

O presente projeto de tese de doutorado é parte de um estudo que avalia cárie em crianças, *The CARies DETection in Children trial*, que está sendo conduzido e em andamento na Universidade de São Paulo (USP), especificamente em Pelotas será o de número 4 (CARDEC-Pel 04).

2 Proposição

2.1 Objetivo Geral

Comparar o tratamento relacionado à cárie dentária e acompanhamento baseado numa avaliação elaborada, multivariada e individualizada do risco de cárie de crianças que foram em busca de tratamento odontológico a uma estratégia mais simples de avaliação de risco baseada na experiência de cárie, utilizando para isso, um estudo clínico randomizado com dois anos de acompanhamento.

2.2 Objetivo Primário

Avaliar o número de superfícies dentárias necessitando de intervenção operatória, especificamente a soma de superfícies com novas lesões de cárie envolvendo dentina, superfícies restauradas que tiveram necessidade de troca de restauração, dentes que necessitaram tratamento endodôntico ou exodontia.

2.3 Objetivos Secundários

- I. Avaliar os componentes do desfecho primário considerados separadamente: superfícies com novas lesões envolvendo dentina, superfícies restauradas com necessidade de troca de restauração e reparos, dentes com episódios de dor, com necessidade de tratamento endodôntico e exodontia;
- II. Estimar custo do tratamento aproximado;
- III. Avaliar a qualidade de vida e a qualidade de vida relacionada à saúde bucal das crianças, antes do tratamento odontológico (*baseline*) e após o tratamento concluído;
- IV. Avaliar a concordância entre os relatos de pais e filhos em relação à qualidade de vida relacionada a saúde bucal da criança.

3 Materiais e Métodos

3.1 Aspectos éticos

O projeto será submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas (UFPeI) e protocolado na base de dados para registro de ensaios clínicos ClinicalTrials.gov. Os pais ou responsáveis legais serão informados sobre os objetivos da pesquisa, tratamentos realizados e acompanhamentos, podendo ou não consentir com a pesquisa. A criança será incluída no estudo somente após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice A) por parte dos pais ou responsáveis legais pelas crianças, e após o assentimento da criança (Apêndice B). O protocolo de estudo foi redigido seguindo as orientações do guia para redação “Standard Protocol Items: Recommendations for Interventional Trials” (SPIRIT).

3.2 Pergunta clínica estruturada e desenho do estudo

A pergunta clínica estruturada do estudo é: Crianças de 7 a 11 anos de idade em busca de atendimento odontológico (Participantes) submetidas a tratamento e manutenção relacionada à cárie dentária direcionada por uma avaliação de risco individualizada e multivariada (Grupo ICCMS Multivariado) comparada a um grupo de crianças tratadas baseando-se apenas na experiência de cárie na dentição decídua e/ou permanente (Grupo Simplificado) apresentarão menor necessidade de intervenções operatórias futuras (Desfecho) num período de dois anos de acompanhamento?

Para responder essa pergunta, um estudo clínico randomizado de teste-tratamento duplo-cego com dois braços paralelos e dois anos de acompanhamento será conduzido.

3.3 Elegibilidade, critérios de inclusão e exclusão

Crianças de 7 a 11 anos, que passarem pela triagem da Clínica Infantil da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas (FO-UFPeI), serão consideradas elegíveis para o presente estudo. Portanto, o contexto do estudo será o de consultório odontológico, que é o local em que a avaliação individualizada de risco é indicada.

Os critérios de inclusão considerados serão crianças:

- De 7 a 11 anos de idade;
- Que foram em busca de tratamento odontológico na faculdade e passaram pela triagem da Clínica Infantil.

Crianças com aparelhos fixos, com problemas sistêmicos ou com alguma deficiência que levem a dificuldade de compreensão das orientações, ou que apresentem problemas de comportamento já nas consultas iniciais, especificamente, que apresentem a classificação “definitivamente negativo” de acordo com a Escala de Frankl (FRANKL, 1962) (Anexo A), serão excluídas e encaminhadas para adaptação do comportamento nas Unidades de Clínica Infantil.

3.4 Intervenções

O presente estudo clínico randomizado de teste-tratamento testará duas formas de avaliação do risco de cárie, sendo um método individualizado e detalhado, considerando diversos fatores preditores de risco, e o outro método mais simplificado. O diagnóstico do risco de cárie será realizado dessas formas, levando a tratamentos não operatórios e consultas de retorno baseados nessa avaliação.

A avaliação de risco pelo método individualizado e multivariado será baseado nas diretrizes do International Caries Classification and Management System (ICCMStm) (ISMAIL et al., 2015; PITTS et al., 2013). O ICCMS é uma série de protocolos clínicos relacionados ao diagnóstico e decisões de tratamento relacionadas a condutas não operatórias e operatórias que visam à manutenção da saúde e preservação da estrutura dentária que não necessita de intervenção.

Um dos elementos chave do ICCMS é a avaliação individual do risco de cárie dos pacientes, o que leva a um tratamento baseado na prevenção, controle e tratamento operatório minimamente invasivo personalizado, bem como um acompanhamento com intervalos baseados no risco inicial (ISMAIL et al., 2015; PITTS et al., 2013). A avaliação individual de risco de acordo com o ICCMS se baseia em diversos fatores, e propõe a classificação do paciente em baixo, moderado e alto risco (PITTS, 2014).

Por outro lado, o outro grupo terá uma avaliação de risco baseada apenas na experiência de cárie na dentição decídua e/ou permanente, considerando lesões cavitadas. Assim, as crianças serão classificadas em baixo (sem experiência passada

ou atual de cárie), moderado (1 a 3 superfícies ou dentes cariados na dentição decídua e/ou permanente) e alto risco (mais de 3 superfícies ou dentes cariados na dentição decídua e/ou permanente) e receberão condutas de tratamento e acompanhamento baseados nessa divisão.

Dessa forma, os grupos de intervenção do presente estudo serão:

- Grupo ICCMS Multivariado: Crianças classificadas e tratadas seguindo as diretrizes do manual do ICCMS (PITTS, N.B et al., 2013).
- Grupo Simplificado: Crianças classificadas e tratadas baseando-se apenas na experiência passada e atual de cárie na dentição decídua e/ou permanente (HALL-SCULLIN, E et al., 2017).

3.5 Procedimentos de exame e tratamentos dos participantes

A criança que chegará à Faculdade de Odontologia da UFPel, será avaliada inicialmente quanto aos critérios de elegibilidade. Caso ela seja elegível, a pesquisa será apresentada aos responsáveis, e os pais receberão o termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndice A) para assinar. A criança também será questionada sobre seu assentimento em participar da pesquisa (Apêndice B). Caso os responsáveis ou a criança não aceitem participar da pesquisa ou ela não preencha os critérios de inclusão, esta receberá tratamento da mesma forma na clínica de graduação.

Após o preenchimento dos critérios de inclusão, os pais responderão a um questionário (Apêndice C), e a criança será examinada com relação a todos os problemas de saúde bucal. Nessa entrevista, além das questões padrões que visam o atendimento integral da criança, anamnese, o responsável será questionado sobre o tipo de dentifrício que essa criança utiliza, e será realizado uma avaliação de dieta pelo método recordatório de 24 horas (Anexo B) e Questionário de Frequência Alimentar (Anexo C) para fins de comparação entre os métodos e para auxiliar na abordagem de engajamento motivacional.

Um questionário para avaliar o impacto da saúde bucal na qualidade de vida da criança será aplicado aos responsáveis e crianças nesse momento. O instrumento usado será a versão em português do *Child Perception Questionnaire* 8- 10 (CPQ8-10) e 11-14 (CPQ11-14) (JOKOVIC et al., 2002; GOURSAND et al., 2008) descrito no

Anexo D. Para avaliar a qualidade de vida relacionada à saúde será utilizado o instrumento *KIDSCREEN-52* versão em português (GUEDES, GUEDES, 2011) descrito no Anexo E.

Após, será realizado um exame clínico. Nesse exame, inicialmente será avaliada a presença de placa visível nos incisivos centrais superiores. O exame integral da criança será realizado, e os dentes serão limpos com escova dental ou profilaxia, de acordo com a quantidade de placa presente. Com relação à cárie dentária, o avaliador realizará o *International Caries Detection and Assessment System* (ICDAS) na sua forma simplificada (PITTS, RICHARD, 2009) e avaliação da atividade de cárie.

Após exame clínico, o pesquisador realizará a avaliação de risco de cárie utilizando os critérios propostos pelo ICCMS (PITTS, 2014).

Os critérios, bem como as condutas clínicas subsequentes estão apresentadas nas figuras 1 a 3.

O Manual do ICCMS propõem seguir quatro elementos necessários para o correto diagnóstico, avaliação, tratamento e acompanhamento da cárie:

1. História: Avaliação do risco de cárie em nível de paciente

- *Fatores de risco*: Práticas de higiene bucal inadequadas, uso de dentífrico não fluoretado ou de baixa concentração, consumo de alimentos ou bebidas açucaradas entre as refeições (3 ou mais episódios), ingestão de líquidos açucarados durante a noite, situação socioeconômica (barreira de acesso à saúde), alta experiência de cárie de mães ou cuidadoras, amamentação prolongada ou uso de mamadeira e erupção dos dentes permanentes em crianças.

2. Classificação: Avaliação da lesão e atividade de cárie e avaliação de risco de cárie intraoral:

- *Avaliação de risco de cárie intraoral*: sinais de hipossalivação, dentes com exposição pulpar, fístula ou abscesso (PUFA), experiência de cárie e lesões ativas, placa espessa visível em incisivos superiores.

- *Avaliação da gravidade da lesão*: inicial, moderada e extensa. Essa avaliação é feita por meio da combinação entre a avaliação clínica, radiográfica e da atividade da lesão (ativa ou inativa).
3. **Tomada de decisão**: Esse processo envolve a somatória e análise das informações dos dois primeiros elementos, tanto a nível do paciente quanto a lesão de cárie. O resultado será a síntese e o diagnóstico da probabilidade de progressão ou desenvolvimento de novas lesões de cárie.
 4. **Manejo**: A equipe odontológica, em conjunto com o paciente, planeja um plano de tratamento personalizado para estabelecer o risco, bem como o tratamento para cada lesão existente.
 - O risco é baseado tanto no aconselhamento domiciliar quanto nas atividades clínicas; aqueles com baixo risco irão obter informações gerais sobre como manter os dentes saudáveis, aqueles com risco moderado e alto, terão foco crescente em mudanças de comportamento e períodos curtos de retorno para consultas odontológicas.
 - O manejo das lesões está relacionado ao diagnóstico das lesões individuais: as lesões ativas ‘iniciais’ em geral não se realizam tratamento operatório, enquanto as lesões moderadas/extensas necessitam de tratamento operatório.

ICCMS

Fatores de risco

- Sinais de hipossalivação
- Dentes com exposição pulpar, fístula ou abscesso (PUFA)
- Experiência de cárie (lesões cavitadas, restaurações ou dentes perdidos)
- Amamentação prolongada e uso de mamadeira
- Erupção de dentes permanentes (infra oclusão)
- Placa visível em incisivos centrais superiores
- Consumo de alimentos ou bebidas com açúcar entre as refeições (3 ou mais episódios)
- Ingestão de líquidos açucarados durante a noite
- Uso de dentifrício não fluoretado ou de baixa concentração
- Situação socioeconômica
- Experiência de cárie da mãe ou cuidador

ICCMS

Classificação

- Risco alto → Qualquer um dos fatores em vermelho
→ Mais de 2 dos outros fatores escritos em preto**
- Risco moderado → 1 ou 2 dos fatores em preto**
- Risco baixo → Ausência dos fatores descritos acima**

Figura 1. Fatores de risco e classificação de acordo com ICCMS

ICCMS

Classificação combinada de risco e atividade de lesões

		Atividade das lesões de cárie		
		Sem lesões cariosas ativas	Lesões ativas iniciais	Lesões moderadas ou extensas ativas
Classificação de risco	Risco baixo	Baixa probabilidade	Probabilidade moderada	Probabilidade moderada
	Risco Moderado	Baixa probabilidade	Probabilidade moderada	Probabilidade alta
	Risco alto	Probabilidade moderada	Probabilidade alta	Probabilidade alta

ICCMS

Tempo de rechamada

Risco alto → Retorno após 3 meses

Risco moderado → Retorno após 6 meses

Risco baixo → Retorno após 12 meses

Figura 2. Classificação combinada de risco e atividade de lesões de acordo com ICCMS e tempo de rechamada

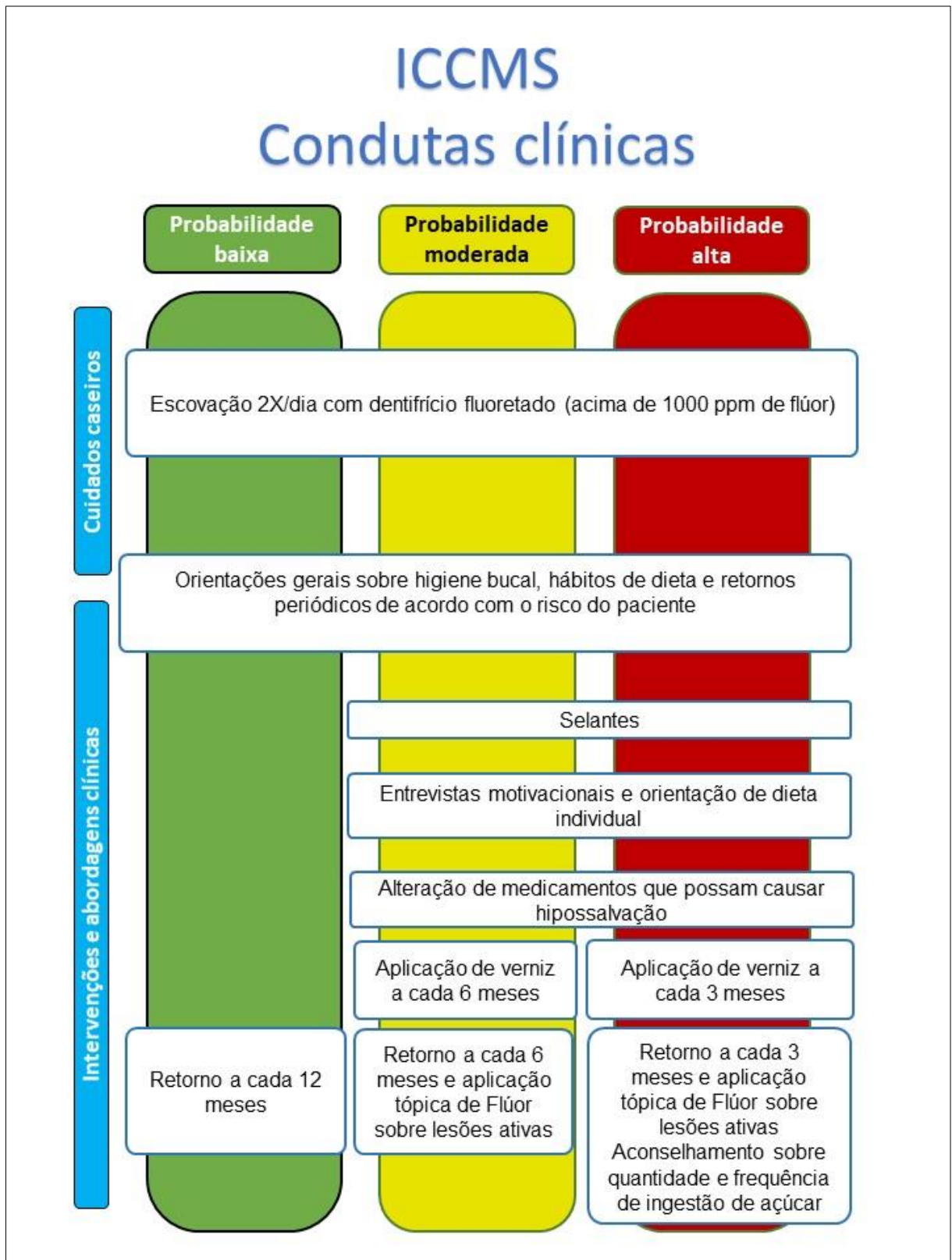


Figura 3. Condutas clínicas de acordo com ICCMS.

Após essa avaliação, um plano de tratamento detalhado, incluindo tratamento não operatório, tratamento operatório e consultas de orientação será realizado. Após a realização desse plano de tratamento, a criança será classificada em alto, moderado ou baixo risco de acordo com a sua experiência de cárie. Um novo plano de tratamento será feito, agora baseado nessa nova classificação e nas condutas apresentadas nas figuras 4 e 5.

Os planos de tratamento serão codificados, e só após a inclusão e realização dos dois planos de tratamento, o participante será randomizado em um dos grupos. Os alunos responsáveis pelo tratamento não saberão de qual grupo que a criança pertence.

O tratamento operatório será realizado seguindo as melhores evidências disponíveis, e não haverá diferenciação de acordo com o grupo dos participantes. Os tratamentos operatórios serão realizados por alunos de graduação sob supervisão dos professores. Após o fim do tratamento, o pesquisador responsável pela avaliação inicial que agendará o retorno do paciente, para que não haja quebra de cegamento do operador.

As entrevistas para o Grupo ICCMS Multivariado seguiram os princípios da Entrevista Motivacional (EM): colaborativo, evocativo e com respeito a autonomia do sujeito (ROLLNICK et al., 2009). Será realizado por alunos que receberam treinamento prévio por profissionais capacitados, a entrevista será conduzida por meio de apresentação audiovisual com orientações para prevenção de cárie e fotos de casos clínicos, ao término da entrevista será entregue um folheto educativo e ilustrativo desenvolvido para o estudo contendo informações relevantes e baseadas em evidência na prevenção da cárie.

Avaliação de risco baseado na experiência passada de cárie na dentição decídua e/ou permanente

Risco alto → Experiência de cárie (ceo-d > 3 na dentição decídua e/ou permanente, incluindo lesões cavitadas, restaurações ou dentes perdidos por cárie)

Risco moderado → Experiência de cárie (ceo-d ≤ 3 na dentição decídua e/ou permanente, incluindo lesões cavitadas, restaurações ou dentes perdidos por cárie)

Risco baixo → Ausência de experiência de cárie na dentição decídua (ceo-d = 0)

Tempo de rechamada

Risco alto → Retorno após 3 meses

Risco Moderado → Retorno após 6 meses

Risco baixo → Retorno após 12 meses

Figura 4. Avaliação de risco baseado na experiência de cárie passada e rechamadas

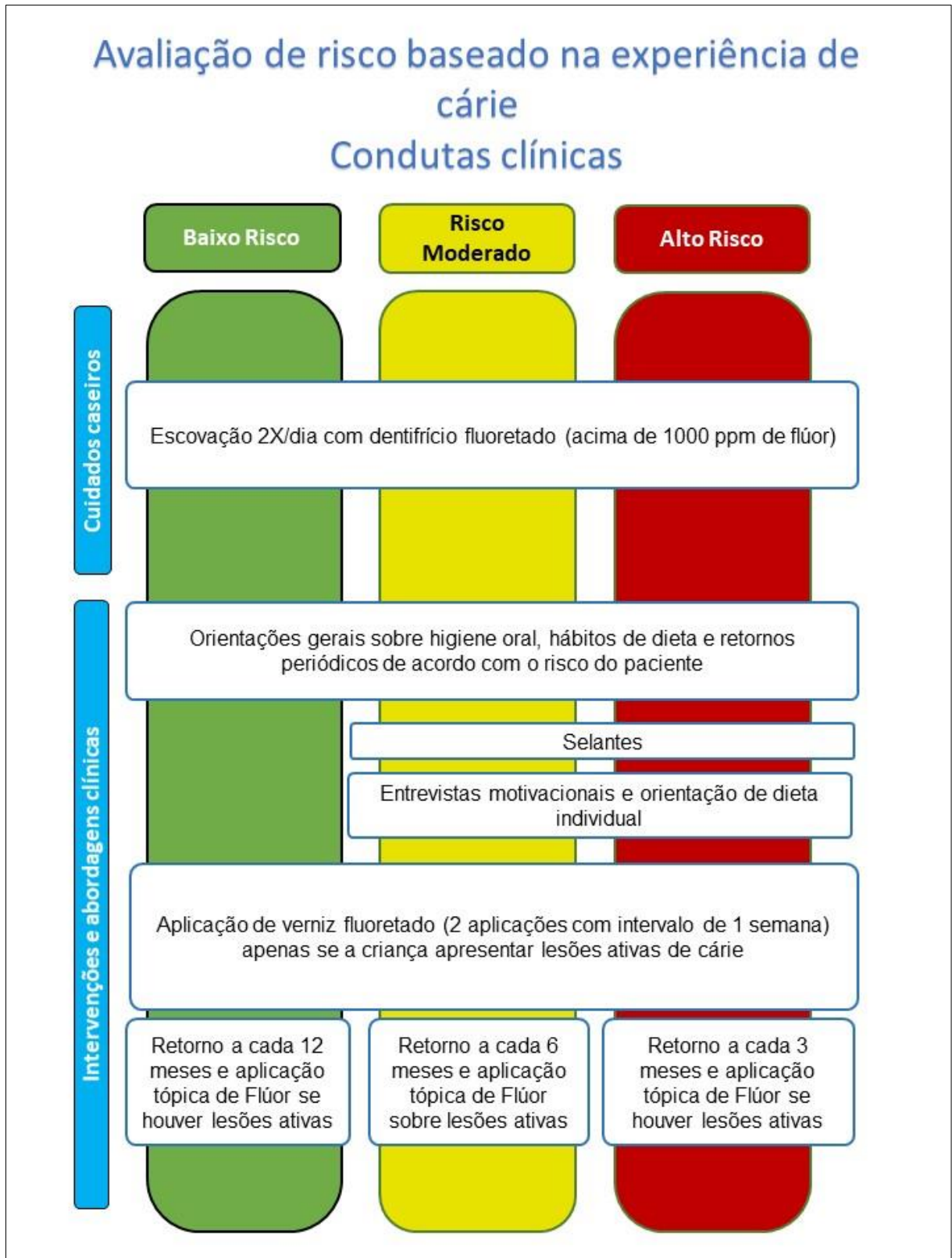


Figura 5. Condutas clínicas de acordo com experiência de cárie passada

3.6 Visitas de acompanhamento

Após o término dos tratamentos dentários necessários detectados nessa abordagem inicial os instrumentos de qualidade de vida serão reaplicados à criança e qualidade de vida relacionada à saúde bucal serão reaplicados aos pais e à criança após um período mínimo de 30 dias e máximo de 6 meses. Além disso, os participantes retornarão em intervalos determinados pelo risco individual do paciente. Nessas consultas de retorno, uma nova avaliação de risco será realizada, seguindo o protocolo ao qual a criança foi inicialmente alocada, bem como um novo exame clínico. O pesquisador responsável pela inclusão que realizará essa reavaliação, e caso haja necessidade, um novo plano de tratamento será confeccionado.

No entanto, após 12 e 24 meses do término do tratamento, os participantes retornarão também para a coleta dos desfechos. Para isso, dois examinadores treinados e calibrados, cegos em relação aos grupos que os pacientes foram alocados, e sem participação nos tratamentos dentários dos pacientes, irão reexaminar as crianças. Após o reexame, a criança seguirá o procedimento de reavaliação padrão descrito no parágrafo anterior, e será encaminhado para tratamento, caso haja necessidade.

Com relação à coleta dos desfechos, os examinadores avaliarão as crianças quanto:

- Número de superfícies dentárias com cárie necessitando de tratamento operatório, com envolvimento dentinário, cavitada ou não;
- Número de superfícies restauradas que necessitam de substituição (falhas extensas, lesões de cárie ao redor das restaurações ou perda completa do material restaurador);
- Restaurações necessitando de reparos;
- Dentes com episódios de dor, necessidade de tratamento endodôntico ou exodontia.

Aos 24 meses, também será aplicado um novo questionário de qualidade de vida relacionada à saúde bucal e geral, de preferência, respondido pelo mesmo responsável que respondeu o instrumento na linha de base.

3.7 Desfechos

O desfecho primário será um desfecho composto que representa o número de superfícies dentárias necessitando intervenção operatória nesses dois anos de acompanhamento. Dessa forma, o desfecho primário será a soma de superfícies com novas lesões de cárie envolvendo dentina, superfícies restauradas que tiveram necessidade de troca de restauração, dentes que necessitaram tratamento endodôntico ou exodontia (contabilizando 4 ou 5 superfícies por dente, para dentes anteriores ou posteriores, respectivamente). Caso a superfície dentária necessite de dois tipos de tratamento em diferentes ocasiões, o tratamento será computado duas vezes.

Os desfechos secundários serão os componentes do desfecho primário considerados separadamente: superfícies com novas lesões envolvendo dentina, superfícies restauradas com necessidade de troca de restauração, dentes com episódios de dor, com necessidade de tratamento endodôntico e de exodontia.

Também serão considerados desfechos secundários o número de restaurações necessitando de reparos, de um modo geral, o custo do tratamento e o impacto na qualidade de vida e na qualidade de vida relacionada à saúde bucal.

3.8 Linha do tempo

O recrutamento se iniciará no início de 2019. Os participantes serão arrolados no estudo aproximadamente por 25 meses, considerando o tempo do tratamento inicial e os 24 meses de acompanhamento. Esse tempo sofrerá variações de acordo com a necessidade de tratamento de cada participante. A linha do tempo está apresentada na figura 6.

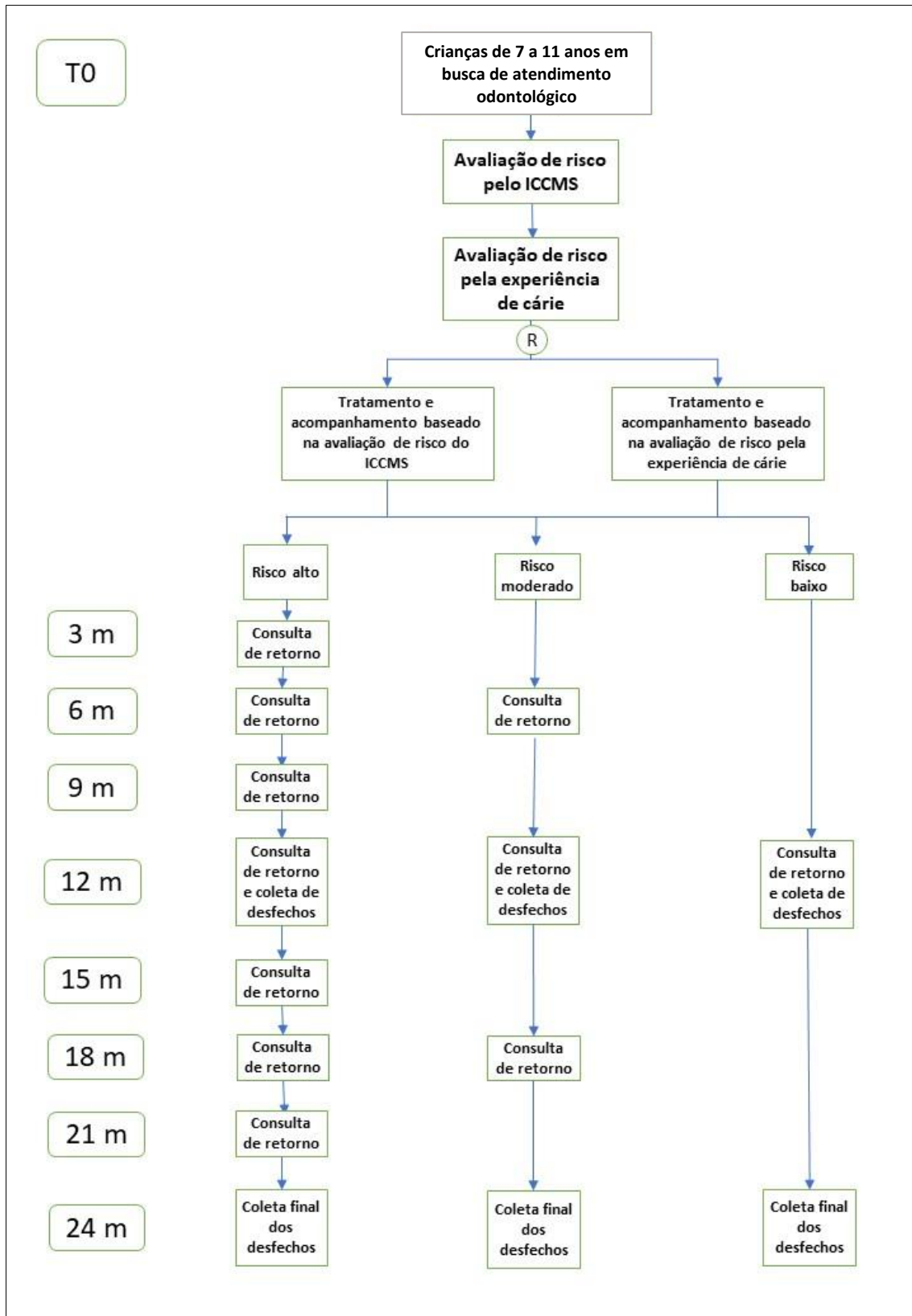


Figura 6. Linha do tempo do estudo

3.9 Cálculo amostral

O cálculo de amostra se baseou na ocorrência do desfecho primário que será avaliado nessa parte do estudo, que é o número de superfícies dos dentes com necessidade operatória durante o seguimento. Foram consideradas para compor esse desfecho as seguintes possibilidades:

- Novas lesões de cárie;
- Restaurações necessitando substituição;
- Extrações dentárias (5 superfícies por dente);
- Resolução de episódios de dor e/ou necessidade de tratamento endodôntico (5 superfícies por dente).

Para realização do cálculo da amostra dados de incidência foram coletados para todas as possibilidades na literatura, chegando-se a uma média de ocorrência de 17,6 novas superfícies cariadas em dois anos (WEINSTEN et al., 2009), 10% de falha de restaurações ocluso-proximais e resina composta e de oclusais de ionômero de vidro, o que dá uma média de 0,1 superfície com necessidade de troca para restaurações oclusais e 0,2 superfícies em dois anos (QVIST et al., 2010), 0,08 extrações dentárias por cárie em dois anos, totalizando 0,2 superfícies (TICKLE et al., 2008) e 0,2 episódios de dor em dois anos em média, levando a média de 1 superfície tratada em 2 anos (TICKLE et al., 2008). Com isso, a estimativa de superfícies com necessidade de tratamento operatório em 2 anos é em média de 19. Considerou-se que a redução de 5 superfícies com necessidade de tratamento seria um número significativo. Assim, a média esperada para o grupo teste seria de 14. Os valores de desvio padrão esperado para os grupos controle e teste é de 15 e 10, respectivamente (WEINSTEN et al., 2009; QVIST et al., 2010; TICKLE et al., 2008). Com isso, considerando um nível de significância de 0,05 e um poder de 0,80, utilizando um teste bicaudal, o número mínimo de crianças por grupo calculado foi de 103. Levando em conta uma perda amostral de 20%, chegou-se no número final arredondado necessário de 250 crianças.

3.10 Recrutamento

Os participantes serão recrutados da Clínica Infantil da FO-UFPel, entre os pacientes que passaram pela triagem, no início do ano de 2019.

3.11 Alocação das intervenções

Geração da sequência de alocação

Os participantes serão selecionados entre aqueles que vieram em busca de tratamento, e serão checados quanto aos critérios de inclusão e exclusão em ordem consecutiva. Uma sequência de números aleatórios será gerada no website www.sealedenvelope.com. A estratégia de randomização utilizada será em blocos permutados com tamanhos de 2, 4 e 8 números, e estratificada pela idade (7 a 9 anos; 10 a 11 anos de idade) e experiência de cárie da criança ($\text{ceo-s} \leq 4$; $\text{ceo-s} > 4$).

Mecanismos de sigilo de alocação

A sequência de alocação dos grupos por estratos será colocada em envelopes opacos e lacrados sequencialmente numerados em cada estrato. Todos os participantes serão avaliados com relação ao risco de cárie pelas duas estratégias, e um plano de tratamento será realizado para cada estratégia. Só depois dos dois planos de tratamento elaborados, será realizada a randomização do participante.

Implementação

A sequência de alocação e envelopamento dos grupos será realizada por um pesquisador sem nenhum contato com os procedimentos práticos da pesquisa. Outro pesquisador será responsável por realizar a inclusão dos participantes. Esse pesquisador realizará os exames iniciais, as avaliações de risco e os planos de tratamento, e será responsável por randomizar e distribuir os planos de tratamento aos operadores (alunos que realizarão os tratamentos).

Cegamento

Os grupos aos quais as crianças serão alocadas não será revelado às crianças, seus pais e alunos que realizarão os tratamentos. No entanto, devido às diferenças nos tratamentos e principalmente aos diferentes intervalos para as consultas de retorno nos dois grupos, fica difícil manter esse cegamento durante todo o estudo para todos os participantes.

Já as pessoas responsáveis por avaliar os desfechos aos 12 e 24 meses serão completamente cegas em relação aos grupos de alocação dos participantes. Os grupos serão codificados nas planilhas de análise de dados para quem for realizar a análise estatística dos dados.

A quebra de cegamento não será permitida em nenhuma hipótese para os avaliadores dos desfechos.

3.12 Coleta, gestão e análise dos dados

Coleta dos dados

Os exames iniciais serão realizados por dois examinadores diferentes, que foram treinados e calibrados previamente ao estudo, até atingirem valor de Kappa ponderado maior do que 0,80. Checagens periódicas (a cada 50 pacientes incluídos no estudo) da calibração serão feitas durante o estudo em 10% da amostra.

Outros dois avaliadores, que não tenham participação em nenhuma fase prévia do estudo, realizarão a reavaliação dos participantes para a coleta dos desfechos após 12 e 24 meses. Esses examinadores também serão treinados e calibrados antes do início dos acompanhamentos e de forma periódica a cada 10 participantes avaliados. Um coeficiente de correlação intraclasse maior que 0,80 deverá ser obtido antes do início das avaliações.

Gestão dos dados

Os dados serão transferidos para planilhas após as diferentes fases do estudo (início, 12 meses e 24 meses), e os dados serão checados por um pesquisador externo com relação a dados faltantes, valores fora do esperado e respostas ilógicas ou inválidas.

Análise dos dados

Para comparação entre o desfecho principal entre os dois grupos, teste t de Student será realizado. Com relação aos desfechos secundários, esses também serão analisados pelo teste t de Student. Com relação à qualidade de vida, diferenças dos escores obtidos com o questionário sobre qualidade de vida e qualidade de vida relacionada à saúde bucal no início do estudo, após finalização do tratamento e no final do estudo serão comparadas entre os grupos.

Análises de subgrupo serão realizadas considerando diferentes grupos de risco de cárie, para avaliar se os tratamentos são mais efetivos nos diferentes grupos de risco. Para todas as análises, serão utilizados testes bicaudais e o nível de significância será fixado em 5%.

3.13 Cronograma

Atividades	Ano e semestre do projeto de início e término da atividade											
	2019				2020				2021			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Revisão bibliográfica												
Treinamentos												
<i>Baseline</i>												
Avaliação 1												
Avaliação 2												
Processamento dos dados												
Análise de dados												
Relatório parcial												
Relatório final e divulgação dos resultados												

Quadro 1. Cronograma e plano de atividade da pesquisa.

3.14 Orçamento[£]

Descrição	Quantidade	Valor unitário (R\$)	Valor total (R\$)
Folha A4 para impressão de questionários e relatórios (pacote com 100)	2	15,00	30,00
Cartucho de tinta para impressora	2	30,00	60,00
Fotocópias de questionários	250	0,90	225,00
Canetas	20	1,00	20,00
Lápis	20	0,70	14,00
Pranchetas	10	5,00	50,00
Envelope	10	2,00	20,00
Saco plástico transparente	100	0,20	20,00
Pacote de gaze	10	18,00	180,00
Luva de procedimento	50	19,00	950,00
Pacote de gorro	10	6,00	60,00
Caixa de máscara	30	8,50	255,00
Pacote de algodão rolete	50	1,80	90,00
Kit Resina Filtek Z250	5	380,00	1.900,00
Selante Resinoso Fluoroshield	4	38,00	152,00
Adesivo Single Bond	2	100,00	200,00
Pacote de Condicionador ácido	2	15,00	30,00
Ionômero de Vidro Riva Ligth Cure	5	150,00	750,00
Flúor care	4	40,00	160,00
Pasta Profilática	4	12,00	48,00
Verniz Fluoretado	2	30,00	60,00
Espelho bucal e cabo	20	10,00	200,00
Sonda exploradora	20	9,00	180,00
Pinça	20	5,00	100,00
Espátula de resina	20	15,00	300,00
TOTAL			6.054,00

Quadro 2. Orçamento previsto para a condução da pesquisa.

£Os recursos serão dos próprios pesquisadores do projeto

3 Relatório do trabalho de campo

Neste capítulo estão relatadas as complementações e mudanças na metodologia, planejamento e execução desta pesquisa, bem como alguns aspectos importantes ocorridos no decorrer do trabalho. Os demais aspectos metodológicos podem ser consultados no projeto original (capítulo anterior) e/ou nos capítulos subsequentes.

O presente estudo necessitou ser interrompido prematuramente por causa da pandemia do novo coronavírus (COVID-19) em março de 2020. No momento da interrupção, o estudo estava na etapa de inscrição dos pacientes e tratamentos, não podendo ser realizado nenhum acompanhamento e nem finalizado a inscrição completa da amostra prevista. Por isso, a realização da ideia inicial que seria comparar o tratamento relacionado à cárie dentária e o acompanhamento baseado numa avaliação multivariada do risco de cárie de crianças a uma estratégia mais simples de avaliação de risco baseada na experiência de cárie, no período de dois anos de acompanhamento, não foi possível de ser finalizado.

Contudo, durante a elaboração e planejamento do estudo verificou-se a amplitude de possíveis interpretações do guia *CariesCare Internacional 4D* (MARTIGON et al., 2019) e a evidente falta de clareza de alguns critérios fornecidos pelo guia para conclusão do risco de cárie dentária, para isso buscou-se estudá-lo minuciosamente e contextualizá-lo na realidade clínica. Assim, constatou-se a necessidade e importância da realização detalhada e clara do protocolo do estudo do ensaio clínico randomizado, e obviamente para a padronização do estudo no meio acadêmico, contribuindo para melhora da qualidade dos estudos publicados.

A necessidade de um estudo transversal, para avaliar o impacto do exame radiográfico na avaliação de risco para cárie dentária em escolares, surgiu durante a condução da pesquisa quando a equipe de pesquisadores verificou que o uso da radiografia, principalmente do tipo interproximal, é uma prática comum entre os dentistas e encorajada pelas diretrizes para o diagnóstico de cárie dentária em crianças, porém seu uso como um protocolo de rotina é controverso na literatura.

Assim, a condução do estudo se fez importante para responder à pergunta: a inclusão do exame radiográfico modificaria a classificação de risco de cárie dentária em escolares?

Após estes estudos essenciais para a literatura terem sido conduzidos, a execução do ensaio clínico randomizado projetado na qualificação será potencialmente retomado, assim que, as práticas odontológicas na clínica infantil da FO-UFPel sejam regularizadas, esperamos otimistas, o transcorrer do fim da pandemia.

A participação da doutoranda se deu em todo o processo de planejamento, elaboração, implementação do protocolo do estudo, bem como inclusão dos participantes no *baseline*, e posterior avaliação da parte radiográfica. Inicialmente, participou dos treinamentos e calibração para ser a examinadora do estudo, para as condições clínicas e radiológicas. Os treinamentos envolveram uma apresentação de slides, análises e discussões sobre os índices, códigos e critérios que foram utilizados, com exemplos de imagens de todos os critérios avaliados clinicamente e radiograficamente e a elaboração de um manual para orientações. O treinamento foi conduzido por professoras pesquisadoras da área de odontopediatria e radiologia odontológica.

Uma equipe de alunos de graduação e pós-graduação, receberam um treinamento para aplicação do questionário, desenvolvido para a pesquisa, que era aplicado aos responsáveis por meio de entrevista para se obter dados necessários dos critérios da avaliação de risco. Os alunos também receberam um treinamento para a condução das orientações de acordo com os princípios da técnica da Entrevista Motivacional, como orientava o guia *Caries Care Internacional 4D* (MARTIGON et al., 2019), para esse treinamento foi utilizado recursos pedagógicos, apresentação em slides e material de apoio, o qual foi realizado pela pesquisadora com experiência na técnica. Um manual de instrução com o conteúdo de todos os treinamentos foi disponibilizado a todos.

Os pacientes que procurassem a clínica infantil da FO-UFPel, preenchessem os critérios de inclusão e concordassem em participar do estudo por meio do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e o Termo de Assentimento para a criança, foram selecionados e agendados para consulta odontológica. O protocolo de atendimento do estudo seguia as etapas descritas abaixo:

- 1) Aplicação do questionário semiestruturado aos responsáveis e crianças;
- 2) Avaliação da dieta pelo recordatório 24 horas e QFA;
- 3) Aplicação dos instrumentos de qualidade de vida à criança e qualidade de vida relacionada a saúde bucal à criança e aos pais;
- 4) Exame clínico: seguia uma sequência, inicialmente avaliava a ausência ou presença de placa espessa, áreas de estagnação de placa (alta retenção de biofilme) e molares em erupção. Após, o avaliador treinado e calibrado avaliava a condição para cárie dentária de acordo com os critérios da OMS através do índice CPOD/ceo-d (OMS, 1997). Em seguida, era realizada uma profilaxia dentária profissional, com escova de dente e dentifrício fluoretado, e avaliava a condição para cárie dentária através do índice ICDAS na sua forma simplificada, a atividade de cárie por meio dos critérios visuais propostos pelo Sistema NYVAD e por último coletado o índice complementar PUFA (PITTS, EKSTRAND, 2013);
- 5) Exame radiográfico: duas tomadas radiográficas do tipo interproximal de molares direito e esquerdo;
- 6) Avaliação de risco de cárie: foi realizada utilizando os critérios propostos pelo *Caries Care International 4D* (MARTIGON et al., 2019), e a experiência de cárie na dentição decídua e/ou permanente. A experiência de cárie da mãe só foi avaliada, através do índice CPOD, quando a pontuação referente ao exame da mãe poderia modificar a classificação. O participante foi classificado em ambos os métodos: simplificado e multivariado. A classificação de cárie pelo método multivariado foi desenvolvida por um esquema de somatória entre fatores determinantes, condicionantes e protetores de cárie dentária.
- 7) Randomização: somente após a classificação completa o paciente foi randomizado em um dos grupos;
- 8) Tratamentos e acompanhamento: após a randomização o paciente seguia com as condutas de intervenção e clínicas subsequentes referentes ao seu grupo e sua necessidade de tratamento, seguindo os protocolos designados nas clínicas de odontopediatria da FO-UFPEL. Os intervalos de retornos eram programados de acordo com o seu grupo, e as rechamadas eram organizadas pela equipe de pesquisadores.

Em relação a avaliação de risco de cárie, uma mudança importante ocorreu em relação ao projeto originalmente apresentado. A classificação de risco para cárie dentária modificou de alto, médio e baixo para a classificação dicotômica: baixo e alto risco, de acordo com uma nova atualização do manual *Caries Care Internacional 4D* divulgado posterior a qualificação do projeto (MARTIGON et al., 2019). Os intervalos de retornos programados também sofreram modificação: para o grupo multivariado os pacientes classificados em baixo risco, retorno programado de seis a oito meses, e pacientes alto risco, de três a quatro meses. Para o grupo simplificado, os pacientes classificados como baixo risco, retorno programado de nove a doze meses, e pacientes alto risco, de cinco a seis meses.

Um total de 122 pacientes foram elegíveis para o estudo, dois foram excluídos da amostra: um por faltas às consultas e um por possível mudança de cidade. Houve uma recusa. Portanto, 120 pacientes foram incluídos no *baseline* do presente estudo e avaliados quanto aos critérios de risco para cárie dentária. Destes, 107 pacientes realizaram o exame radiográfico.

Nos próximos dois capítulos estão apresentados os artigos referenciados neste relatório.

4 Artigo 1*

Randomized clinical trial to evaluate two methods of caries risk assessment in schoolchildren: The CARDEC-PEL 04 study protocol

Aryane Marques Menegaz¹, Thays Torres do Vale Oliveira¹, Mariana Minatel Braga²,
Daniela Prócida Raggio², Maximiliano Sergio Cenci¹, Fausto Medeiros Mendes²,
Marina Sousa Azevedo¹

¹ *Graduate Program in Dentistry, Federal University of Pelotas*

² *Department of Orthodontics and Pediatric Dentistry, School of Dentistry, University of São Paulo*

Correspondence:

Marina Sousa Azevedo, School of Dentistry, Federal University of Pelotas, Pelotas/RS, Brazil.

Email: marinasavedo@gmail.com

*Artigo aceito e publicado no periódico BMC Oral Health. Disponível em:

<https://doi.org/10.1186/s12903-021-02010-3>

Randomized clinical trial to evaluate two methods of caries risk assessment in schoolchildren: The CARDEC-PEL 04 study protocol

Abstract

Background: Caries risk assessment is an essential element for managing and preventing dental caries in children. Individual caries risk assessment can be conducted to evaluate the presence or absence of single factors, or using multivariate models, a combination of factors. The subject has been extensively studied, but no previous research has compared whether a more elaborate and individualized method of caries risk benefits the patient than more straightforward strategies. Thus, this protocol evaluates the efficacy of two risk assessment methods for caries control in children, a simplified method based on caries experience evaluation and a multivariate method described in the literature.

Methods: This is a randomized, double-blind, controlled, parallel-treatment trial protocol. Two groups will be tested for two forms of caries risk assessment: an individualized and detailed multivariate method based on the guidelines of the Caries Care International 4D and another simplified process, based only on caries experience in primary and/or permanent dentition, considering the presence of decayed, missing and filled teeth using the DMFT/dmft index. Participants will be children aged 8 to 11 years, followed up at 12 and 24 months. The primary outcome will be a composite outcome representing the number of tooth surfaces requiring operative intervention (account variable). In addition, the Shapiro-Wilk normality test and Student's t-test will be performed. A multivariate analysis using negative binomial regression will compare groups in the intention-to-treat population, considering a two-tailed significance level of 5%.

Discussion: This is the first randomized clinical trial aiming to compare dental caries-related treatment and follow-up based on a detailed, multivariate and individualized assessment of caries risk in school-age children to a simpler risk assessment strategy based on caries experience. This study will define whether there are essential benefits

to the patient that justify the choice of one method over the other. Trial registration Clinicaltrials.gov registration: NCT03969628. Registered on May 31th, 2019

Keywords: Dental caries; Randomized clinical trial; Children; Risk Assessment

Introduction

Dental caries is considered a multifactorial dynamic disease, determined by the interaction of biological, behavioral, and psychosocial factors related to the individual's environment (1). There has been a continuous decline in the caries prevalence and lesions progression in the last decades [2]. However, unequal distribution of the disease burden in the population is still observed, and poorer children with low access to dental services are more affected (3).

Authors have stated that caries risk assessment can prevent the onset of the disease or its evolution and, thus, could contribute to guide public interventions and allocate time and resources to those most needed (4). In addition to being considered an essential element for management and prevention of dental caries, caries risk assessment, could establish the appropriate follow-up appointments (5–7).

The main goals of caries risk assessment are determining the patient's probability of developing new caries lesions in a given period and the risk of present lesions progressing to more severe stages (5,6). There are mainly two ways to assess individual caries risk: (a) simple assessment based on factor's presence or absence, and (b) assessment by multivariate models, a combination of more than one variable, classifying the patient's caries risk (6,8).

Several studies about caries risk assessment with children and adolescents were carried out and are summarized in systematic reviews (8–11). Most primary studies have cohort design and were conducted to determine isolated variables that would have adequate predictive power for developing new carious lesions (12). Those were unanimous in stating that the past caries experience is the factor with the strongest association with an increased risk of dental caries. In the cohort study by Hall-Scullin, et al., they show that children who had caries lesions in the primary dentition and those who were caries-free at this stage had very different trajectories in the development of new caries lesions in the permanent dentition; hence the authors suggest different prevention strategies for these two groups of children (12).

However, other authors claim that past caries experience would not be the ideal prediction method, especially in the new era in which dentistry is of minimal intervention

and non-operative approaches concerning the management of dental caries (5). Multivariate methods have been proposed to improve this prediction power (5,6,8,11,13). Some authors claim that multivariate models have better predictive power than individual clinical indicators, especially preschool children (6,7). However, to date, there is no scientific evidence that supports choosing one factor or method over another, and none are very accurate in predicting the development of new lesions. At most, they can be considered having moderate evidence level (10,14).

Although authors and clinical protocol guides have emphasized the importance of individualized caries risk assessment for the correct management and non-operative treatment of patients (4,7,13,15), this assumption is mainly based on expert's opinion. Furthermore, the studies on which the guides are based are of low methodological quality (14), and are focused on identifying the factors or models that predict new injuries.

No study has been carried out to assess whether a more elaborate and individualized method of caries risk assessment, considering a combination of several factors, provides more effective prevention and treatment related to dental caries. Moreover, there is no information regarding potential benefit to the patient, compared to more straightforward strategies, as caries experience in primary and/or permanent dentition. This would ideally be answered through a randomized clinical trial comparing the two strategies.

Thus, a randomized clinical trial will be conducted to evaluate two methods of assessing children's caries risk. This protocol will compare dental caries-related treatment and follow-up based on a detailed, multivariate and individualized assessment of caries risk in children to a more uncomplicated risk assessment strategy based on caries experience.

Methods

Trial design

This is a randomized, double-blind, controlled, parallel trial-treatment trial. Two groups will be tested regarding caries risk assessment: individualized and detailed method, considering several risk predictors, based on the guidelines of the Caries Care International 4D (4,5,16), and another simplified method, based only on the caries

experience in deciduous and/or permanent dentition, considering the index of decayed, missing and filled teeth (DMFT/dmft) (12). The groups will receive treatment and follow-up procedures based on their form of caries risk assessment.

The study was registered in the ClinicalTrials.gov clinical database (Identifier: NCT03969628), approved by the Research Ethics Committee from the School of Dentistry, Federal University of Pelotas (UFPeI) (#3.282.962) and reported following the guidelines of the “Standard Protocol Items: Recommendations for Interventional Trials” (SPIRIT), detailed in the additional file (Appendix 1).

Participants, intervention, and outcomes

Setting

The study will be conducted at the Pediatric Dentistry Clinical of Dental School, Federal University of Pelotas (UFPeI). Children from 8 to 11 years old who seek assistance at the location will be eligible, after duly authorized by the guardians, through free informed consent and the child's consent.

Eligibility: inclusion and exclusion criteria

The study will include children who meet the following criteria: i) 8 to 11 years old, ii) who were referred or seeking dental treatment at the college and have been screened by the Pediatric Dentistry Clinical, iii) residents in the city from Pelotas/RS or nearby region (not exceeding 50km of distance). In addition, children will be excluded: i) wearing fixed appliances, ii) with systemic problems or with any disability that lead to difficulty in understanding the guidelines and the questionnaire, iii) with a history of absences (up to 2 attempts to schedule an interview and exam), iv) with an expected change of city and region (cities 50km far from Pelotas), v) manifesting behavioral problems already in the screening clinical appointment, specifically, that present the classification “generalized protest” or “more intense protest” according to the Brazilian Version of the VENHAM Scale (BvVBRS). They will be referred to behavior management consultation (17).

Intervention

Two ways of assessing the risk of dental caries will be tested so that this study will have two intervention arms:

- Multivariate Group: Children classified as low and high risk for caries and treated based on the Caries Care International 4D manual (15,16), in which different caries risk profiles are directed to different strategies for caries management.

- Simplified Group: Children classified as low and high risk for caries based only on past and current caries experience in primary and/or permanent dentition and treated according to that (12).

The Caries Care International 4D are a series of clinical protocols for diagnosis and treatment decisions related to non-operative and operative procedures aimed to maintaining health and preserving tooth structure (16). One of the key elements is the individual assessment of the patients' caries risk, which leads to a treatment based on prevention, control, and minimally invasive surgical treatment personalized according to the needs of each patient, as well as a follow-up with intervals based on the initial risk (4,15). The individualized and detailed method is based on several risk predictors, and its latest update proposes the classification of the patient as low and high risk (16) (Figure 1).

The risk assessment based only on caries experience in primary and/or permanent dentition, considering decayed, missing, or filled teeth by caries, according to the criteria of the World Health Organization (WHO)(16), will be the criterion choice of the simplified group. Thus, children will be classified as low, with no past or current caries experience ($DMFT/dmft = 0$) and high risk, with history or current caries experience in primary and/or permanent dentition ($DMFT/dmft > 0$) and will be treated and followed-up based on clinical caries exam (12) (Figure 1).

The risk assessment criteria are shown in Figure 2. For the Multivariate group, a practical method of association of caries risk factors and protective factors will be used, represented by colors: red and black for risk factors, green for the protective factors. The patient will be evaluated according to their presence or absence, resulting in a final sum that will classify the child as high or low risk. For example, a patient with any risk factor (red color) is considered high risk. Those with risk factors (black color) receive 1 positive point for each factor present. Those with caries protective factors

receive 1 negative point. If the patient does not have risk factors in red, which already puts him at high risk regardless of the score, the risk of final caries will be given through a combination based on a summation of risk factors (+) (black color) and protective (-) (green color). Having a combination of factors with a final sum ≥ 3 classifies the patient as high risk. Patients classified as low risk are those with a final sum ≤ 2 (16).

	MULTIVARIATE	SIMPLIFIED
HIGH RISK	Any 1 of the factors in red Sum ≥ 3	DMFT ou dmft >0 (presence of decayed, only cavitated, missing and filled teeth)
LOW RISK	Absence of red factors Sum ≤ 2	DMFT ou dmft $=0$

Fig. 1 Classification of caries risk according to the criteria

RISK ASSESSMENT CRITERIA		PRESENT
1	Signs of hyposalivation/low salivary flow	HIGH
2	Teeth with pulp involvement, ulceration due to root fragments, fistula and abscess (PUFA)	HIGH
3	Recent caries experience (at least one surface with ICDAS code 3, 4, 5 or 6, missing, and filled teeth)	HIGH
4	Presence of active caries lesions (ICDAS 1+ or 2+)	HIGH
5	Poor oral hygiene with thick plaque accumulation	+1
6	Plaque stagnation areas (high biofilm retention)	+1
7	Permanent molars erupting	+1
8	Low socioeconomic status ($\leq \frac{1}{2}$ basic salary per person (R\$660.00) and low maternal education (<8 years of education/incomplete elementary school), barrier to accessing health and low health knowledge	+1
9	High consumption of free sugar in meals, snacks or beverages: Frequency/Quantity ≥ 3	+1
10	Baby bottles, cups that do not spill, pacifiers containing natural or added sugar used frequently or at night (including milk, fruit juices)	+1
11	Dental care guided by symptomatology	+1
12	Regular preventive dental care, including e.g. topical application of fluoride	-1
13	Brushing twice a day with fluoride toothpaste (at least 1000ppm)	-1
14	Access to fluoridated water (e.g. SANEP, CORSAN, treated water)	-1
15	No daily use of fluoride toothpaste with at least 1000 ppm/F	+1
16	Inability to adhere, commit and low motivation: inattentive responsible person, looks away when receiving guidance. Do you think that the responsibility for caring is for the child or for another person and does not respond to the suggestions for adjustments	+1
17	Caregiver/mother with caries activity	+1
SOMA		

Fig. 2 Simplified and multivariate caries risk assessment criteria

Interview, examination procedures, and treatment of participants

The child legal guardian will answer a semi-structured questionnaire regarding data needed for the risk assessment criteria listed in Figure 2. Demographic and socioeconomic data will be collected, such as: sex, age, income, parents' education, and skin color. In addition to the standard questions aimed at providing comprehensive care to the child, the caregiver will be asked about the diet to identify sugar consumption and oral hygiene (regularity and use of fluoride toothpaste). This interview will address specific questions included in the risk assessment (criteria 10-16) (Figure 2).

The clinical examination will follow a sequence, initially the absence or presence of: thick dental plaque, areas of plaque stagnation (high biofilm retention), and erupting

molars will be evaluated. Afterward, a trained and calibrated evaluator will assess the condition for dental caries according to the WHO criteria through the DMFT/dmft index (decayed, missing, and filled teeth) (16). Then, a professional toothbrushing will be carried out with fluoride toothpaste, and the same trained and calibrated evaluator will assess caries using the International Caries Detection and Assessment System (ICDAS) index in its simplified form (16). Caries activity will be analyzed using the visual criteria proposed by the NYVAD System and finally the complementary PUFA/pufa index (pulp involvement, ulceration due to root fragments, fistula and abscess for permanent and primary teeth) (16).

After the interview and clinical examination, the researcher will conduct the caries risk assessment expressed in Figure 1, using the criteria proposed by Caries Care International 4D (15,16), together with caries experience in primary and/or permanent dentition. The mother's caries experience will be evaluated using the DMFT index only if the score referring to the mother's exam can change the classification; this will be the last item to be listed (16). The participant will be classified using both methods: simplified and multivariate, by the same researcher. Only after complete classification they will be randomized into one of the groups and follow the intervention and subsequent clinical procedures according to their group, shown in Figure 3.

The multivariate group follows the protocols proposed by the Caries Care International 4D that guide prevention strategies and early management of dental caries. General advice on diet and oral hygiene are common for high and low-risk patients (brushing twice a day with fluoride toothpaste above 1000ppm of fluoride). Patients classified at high risk are recommended to be approached with motivational interview techniques for behavior modification, prescription of mouthwash as one of the home care and clinical approaches including: fluoride applications (varnish or gel) after dental prophylaxis if the child has active carious lesions (two to four applications weekly) and sealant on all permanent molars. The scheduled return intervals for low-risk patients are six to eight months and high-risk patients three to four months. In these high-risk patients, the application of fluor gel or varnish is recommended at each visit.

For the simplified group, care protocols that are a consensus in clinical practice were used, following the current routine in the unit (Dental School - UFPel). Both patients classified as high and low risk received general advice on diet and oral hygiene (brushing twice a day with fluoride toothpaste above 1000ppm fluoride). Among the

interventions and clinical approaches unique to high-risk patients in the simplified group are: sealing permanent molars on surfaces classified as at risk after evaluation, for example, molars with deep grooves and retention factors. And the fluoride applications (varnish or gel) after dental prophylaxis if the child has active caries lesions (two to four applications with a weekly interval). The maintenance of the return visits has the interval: patients classified as low risk nine to twelve months, high-risk patients five to six months the returns

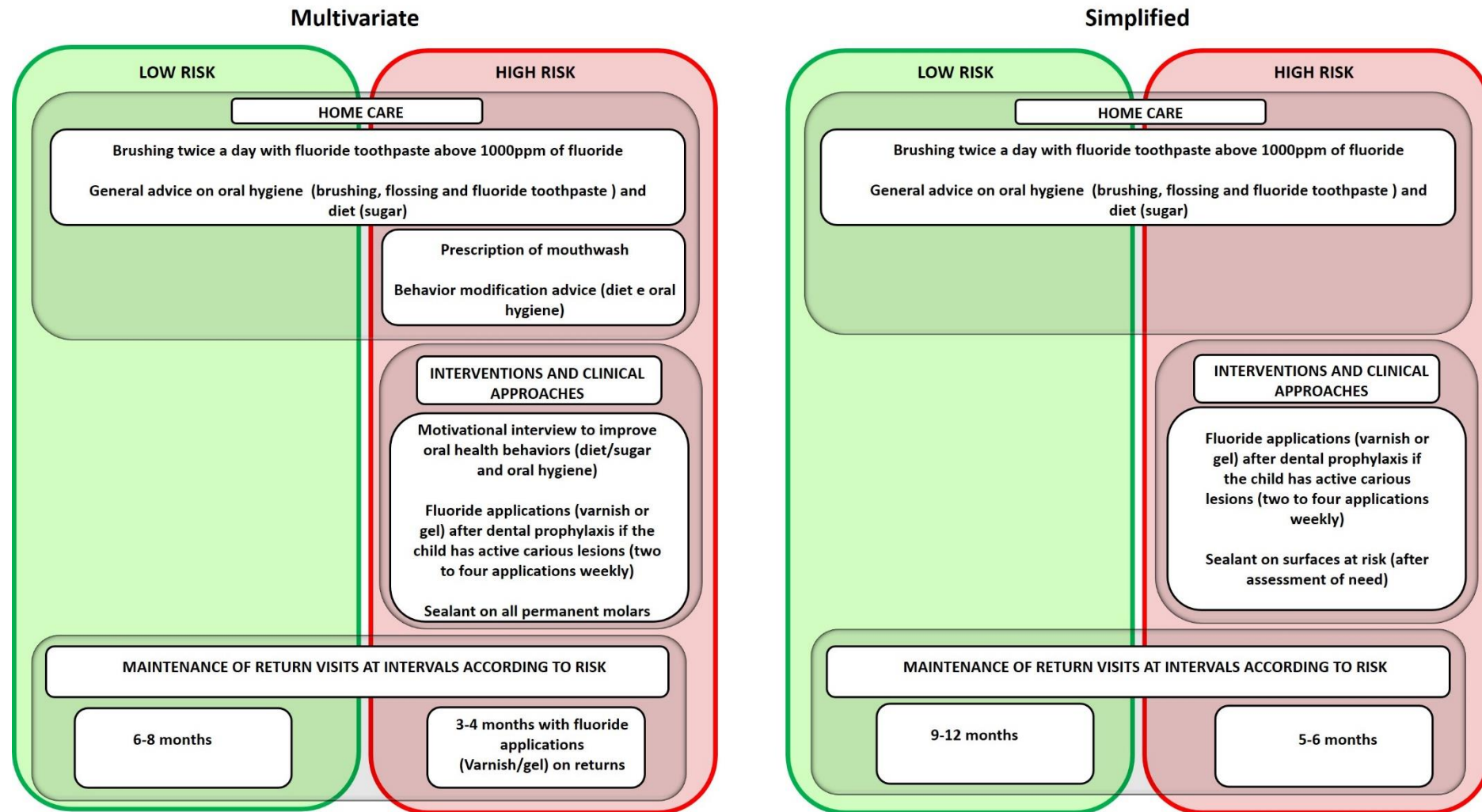


Fig. 3 Caries risk guide and clinical management

Randomization, implementation, and blinding

The randomization strategy used will be in permuted blocks with sizes of 4, 6 and 8 and stratified by age (8 to 9 years; 10 to 11 years) and the child's caries experience (DMFS/dmfs $\leq$ 4; DMFS/dmfs $>$ 4). First, all participants will be evaluated for caries risk by the two strategies, and then participant randomization will be performed in the same session. The allocation sequence used will be obtained from the website www.sealedenvelope.com, and sealed in sequentially numbered opaque envelopes by a researcher without any contact with the practical research procedures.

Another researcher will be responsible for including the participants. Although the groups to which children will be allocated will not be revealed to children and their parents, due to differences in treatments and mainly different intervals for return visits in the two groups, it is difficult to maintain blinding throughout the study for all participants. Therefore, the outcome assessors at 12 and 24 months will be blinded to groups. The groups will be coded in the data analysis worksheets for blinding those who will carry out the statistical analysis. Breaking blinding will not be allowed under any circumstances for outcome evaluators.

Follow-up visits

Participants will return at intervals determined by the patient's individual risk, according to groups. These appointments were considered as part of the allocated intervention and will follow clinical management protocols according to your group. After 12 and 24 months they will also return to collect the outcomes. A new risk assessment will be performed, following the protocol to which the child was initially allocated, as well as a further clinical examination that will reassess: plaque dental caries, condition, and activity through the DMFT/dmft, ICDAS, NYVAD, and PUFA complementary index (18,19). The researcher responsible for the inclusion will carry out this reassessment, and if necessary, a new treatment plan will be developed. Two trained and calibrated examiners, blind in relation to the groups to which the participants were allocated and without participation in the dental treatments, will re-examine the children. After the re-examination, the child will follow the standard re-evaluation procedure described above and will be referred for treatment, if necessary.

Outcomes

The primary outcome will be a composite outcome representing the number of tooth surfaces requiring operative intervention in two years of follow-up. Thus, the primary outcome will be the sum of surfaces with new carious lesions involving dentin, restored surfaces that needed replacement, and those teeth needing endodontic treatment or extraction (accounting for 4 or 5 surfaces per tooth, for anterior or posterior teeth, respectively). If the tooth surface requires two types of treatment at different times, the treatment will be computed twice.

Secondary outcomes will be the components of the primary outcome considered separately: surfaces with new lesions involving dentin, restored surfaces in need of restoration replacement, teeth with episodes of pain, need of endodontic treatment and extraction. Besides that, costs accumulated for 24 months, health-related quality of life (HRQOL), and oral health-related quality of life (OHRQOL) will also be collected as secondary outcomes.

In order to assess the cost of going to the appointments during the 2 years of follow-up questions about travel will be collected: “What transport do you normally use to come to the appointments?”; “How many buses do you take to come? – If the person uses a bus.”; and “How long does it take, approximately, from leaving home until arriving at the dental school?”.

The HRQOL will be collected using the Brazilian version of the KIDSCREEN-52 (20) and for OHRQOL the Brazilian version of the Child Perceptions Questionnaire (CPQ) (21) will be used. The questionnaires will be applied by trained interviewers before the clinical examination.

For the economic evaluation, a specific analysis plan of economic evaluation will be prepared. The main economic hypothesis will be if using the multivariate (more complex) assessment may be an efficient manner of allocating resources. A societal perspective and a 24-month time horizon were adopted. Resources spent during the trial follow-up will be registered and then, appropriately valued as costs. The effects to be tested will be derived from the assessed outcomes: number of new operative interventions alongside 24 months, changes in DMFT after 24 months and Quality of life. Then, cost-effectiveness analyses will be performed.

Timeline

The participant will be followed for 24 months, at 12 and 24 months, return consultations will be held for risk assessment and outcome collection. The other appointments will be according to caries risk assessment. The study phases are described in figure 4.

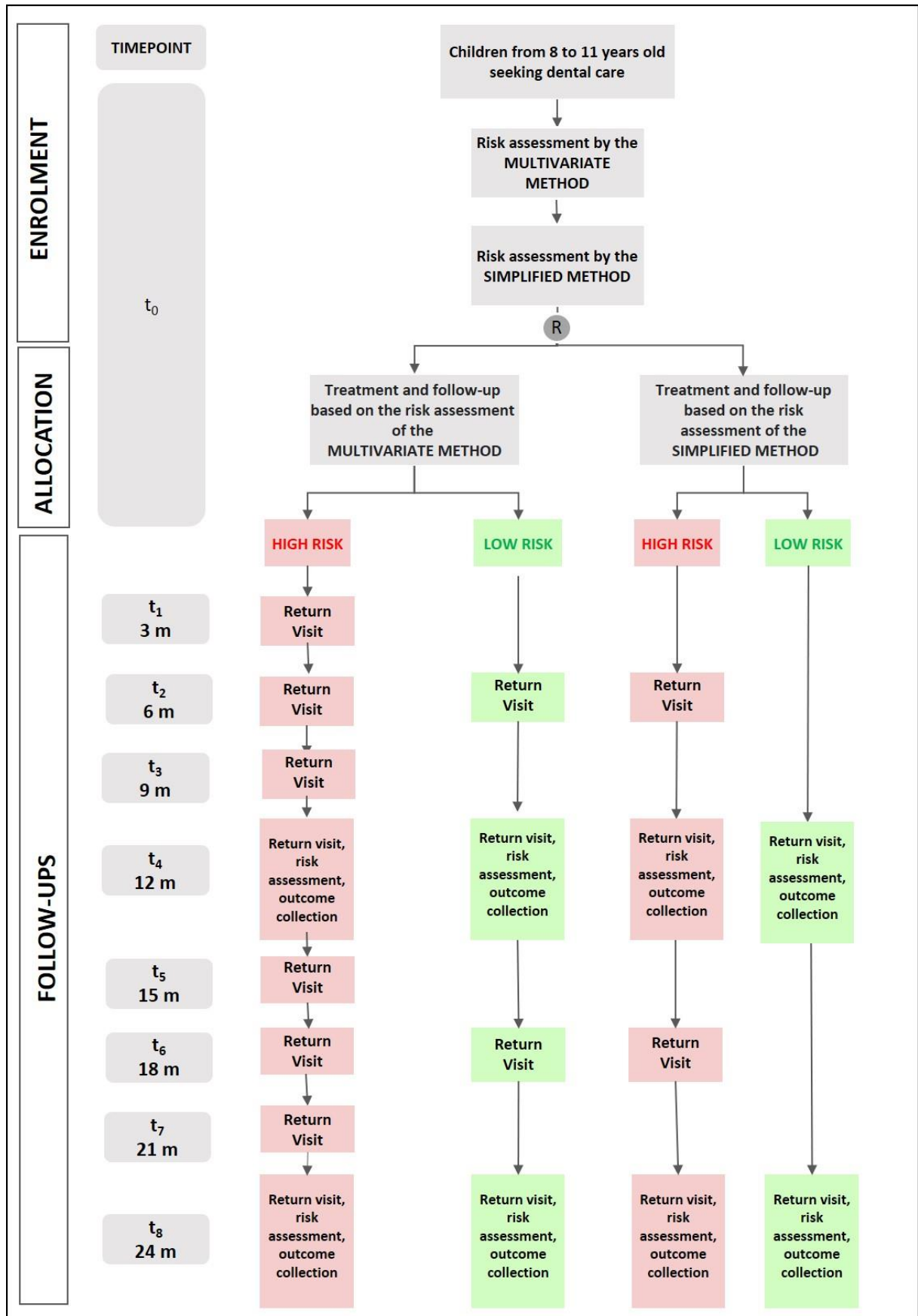


Fig. 4 Standard protocol items timeline, enrolment, registration, feedback, and evaluations

Sample size

The sample estimation was based on the primary outcome, which is the number of tooth surfaces in need of surgery during follow-up. Therefore, the following possibilities were considered to compose this outcome:

- a) New caries lesions;
- b) Restorations in need of replacement;
- c) Dental extractions (5 surfaces per tooth);
- d) Resolution of pain episodes and/or need for endodontic treatment (5 surfaces per tooth).

To perform the sample calculation, incidence data were collected for all possibilities in the literature, reaching an average occurrence of 17.6 new decayed surfaces in two years (22), 10% failure of occlusal-proximal and composite resin and glass ionomer occlusal restorations, which gives an average of 0.1 surface with the need to change for occlusal restorations and 0.2 surfaces in two years (23), 0.08 tooth extractions for caries in two years, totaling 0.2 surfaces (24) and 0.2 pain episodes in two years on average, leading to an average of 1 surface treated in 2 years. Thus, the estimate of surfaces in need of surgical treatment in 2 years is an average of 19. It was considered that the reduction of 5 surfaces in need of treatment would be a significant number. The expected mean for the test group would be 14. The expected standard deviation values for the control and test groups are 15 and 10, respectively (22–24). Considering a significance level of 0.05 and a power of 0.80, using a two-tailed test, the minimum number of children per group calculated was 103. Considering a sample loss of 20%, the final rounded number required of 250 children was reached.

Recruitment

Recruitment will occur at the Dental School, a reference place for dental treatment in children, and receives many patients who seek care or are referred from other units. Approximately 600 patients receive treatment per year. Participants will be randomly selected from this broad sample.

Data collection, management and analysis

Collection

A trained and calibrated (weighted Kappa value greater than 0.80) examiner will perform the initial exams. Periodic checks (every 50 patients included in the study) of the calibration will be made in 10% of the sample.

Another evaluator, who has not participated in any previous phase of the study, will reassess the participants for the collection of outcomes after 12 and 24 months. This examiner will also be trained and calibrated before the start of follow-ups and periodically for every 50 evaluated participants. An intraclass correlation coefficient greater than 0.80 must be obtained before starting the assessments.

Regarding the collection of outcomes, the examiners will evaluate the children regarding: i) the number of dental surfaces with decay in need of operative treatment, with dentinal involvement, cavitated or not; ii) the number of restored surfaces that need replacement (extensive failures, carious lesions around the restorations or complete loss of restorative material); iii) restorations in need of repair; iv) teeth with episodes of pain, need for endodontic treatment or extraction.

Data management

The groups will be coded in the analysis and data will be transferred to spreadsheets after the different phases of the study (baseline, 12 months, and 24 months). An external researcher will check the data for missing data, out-of-range values, and illogical or invalid responses weekly. In case of detection of protocol deviations, immediate solution may be established for guarantee the trial quality. In case of missed (or incorrect) data, data imputations may be indicated. After the publication of the main results, anonymous data will be shared in a public repository.

Data analysis

Outcomes will be analyzed as count variables. Shapiro-Wilk normality test will be performed. If it presents normal distribution, to compare the primary outcome between the two groups, Student's t-test will be performed. Regarding secondary outcomes, these will also be analyzed by Student's t-test if they have a normal distribution.

A multivariate analysis using negative binomial regression will also be used to compare groups, adjusting for socioeconomic and demographic variables (gender, age, number of children, family structure, and income). Two-tailed tests will be used for all analyses, and the significance level will be set at 5%.

Monitoring

Data monitoring

Data collection, management, control and analysis will be undertaken independently by MSA.

Harms

Possible adverse effects are inherent to dental treatments in general and are already managed by the care unit as a clinical routine. Therefore, the study does not pose a risk to the oral health of participants. If any harm related to the proposed intervention in one of the groups is clearly detected, the study may be suspended and participants will receive the best option of intervention available.

Auditing

The data entered will be managed by the study authors. Data will be reviewed periodically. Inconsistencies will be checked, corrected, and recorded.

Ethics and Dissemination

Research ethics approval

This study was submitted and approved by the Research Ethics Committee of the Dental School, Federal University of Pelotas (UFPel) (#3.282.962)

Consent and Assent

Patients will be duly authorized by the guardians, through informed consent and the consent of the child.

Confidentiality

Identification numbers will be used to guarantee the participant's confidentiality during data analysis. In addition, participant files will be stored in a secure location.

Availability of data

The study data used will be available from the corresponding author (MSA) upon reasonable request.

Ancillary care and post-research

Participants will receive dental treatment during and after the end of the study.

Dissemination policy

The results will be reported in full through national and international journals, websites, and patient newsletters. As well as disseminating the results to public bodies, to eventually guide public policies and/or inclusion in guidelines.

Discussion

The risk assessment for dental caries is still a challenge for Dentistry. It becomes even more complex in Pediatric Dentistry, as the child is in constant growth and development. The lack of well-designed studies leads to a series of caries risk proposals, based on one or several criteria, with different assessment systems. This heterogeneity of methods confuses dental professionals and makes the decision-making process difficult.

It is known that the dynamic and multifactorial process of caries disease has led researchers to consider important the risk assessment by multivariate methods, whether in the paper form model or computerized assessment. Standard tools are Cariogram, ADA, CAMBRA, and ICCMS™; many uses three or more caries risk categories. The Cariogram, an open-access software that refers to the probability of developing new caries lesions was used in the majority of well-designed studies. Still, the program's accuracy for children is limited, and its applicability becomes dependent on the use of computers, which is not a reality in different populations, making its generalization restricted (8).

The *Caries Care International* was developed to promote a patient-centered risk-based approach to dental caries management designed for the clinical dental practice, shares the same goals as the ICCMS™ system intended to help patients and dentists control the caries process and maintain health (15). The four interlinked steps in the cycle all start with a 'D': 1st D: Determine the risk of caries; 2nd D: Detect injuries, scale their severity and assess their activity status; 3rd D: Decide on the most appropriate care plan for the patient at that time; 4th D: Do – implementation of the treatment plan always seeking to preserve the dental structure and control of the patient. Therefore, they are referred to in Caries Care International as the four Ds.

Caries risk assessment is the essential first step in the 4D cycle, personalized method that features two risk categories, low risk and high risk (16).

There is a consensus that caries experience is the most obvious factor in predicting new caries lesions. Therefore, its application in older children would be indicated. Although it is considered an easy-to-apply and straightforward method, the accuracy of this indicator is still moderate. Thus, age is an essential factor to be considered. In younger children and preschoolers, the presence or absence of caries is not effective, as there was no time for the disease to manifest. In these cases, the multivariate models may have a more suitable predictive value (9). As it is a very comprehensive guide, the applicability of Caries Care International in clinical practice is very time-consuming and challenging for the clinician to understand. Developing a practical guide considering the relevant risk factors for the specific group of children would be an important contribution.

The motivation for this study is that it would be essential to establish safer and more effective parameters for this theme and test different methods (simplified and multivariate) to understand whether there is a difference between these two approaches. In addition, developing a well-designed randomized clinical trial, considered solid scientific evidence, is necessary to answer this research question relevant to clinical practice, but it still has several gaps.

The new calls of scheduled returns for each group were organized with a flexibility interval of around two months; for the multivariate group, the returns for low-risk patients are six to eight months and high-risk patients three to four months, and for the simplified group patients classified as low risk, returns are from nine to twelve months and high-risk patients from five to six months. It is considered an important alternative that enables the protocol's applicability in various scenarios with different logistics of appointments.

Among the limitations of this study, we highlight the sample, a restricted population with specific characteristics, high present or past experience of caries, who seek care or are referred to the service that is a reference in clinical pediatric care in the locality. Although the treatments will be carried out in the same place, a clinical unit, the contamination of information and experiences can be a reality among the patients' families. Nevertheless, it is believed that these possible limitations do not directly interfere with the course of the study, being moderated by the coordinating team of the study.

The hypothesis is that both methods present very similar and coincident results. Thus, parameters such as the patient's and dentist's vision, workplace setting can be decisive in the choice, the clinician could choose the one that best suits their practice and is readily applicable to their reality and that of his patient.

Study Status

Suspended: Study halted prematurely because of 2019 Novel Coronavirus (COVID-19) pandemic but potentially will resume.

Supplemental information

Abbreviations

CARDEC: Caries Detection in Children. DMFT/dmft: Decayed, Missing, Filled, Permanent or Deciduous Teeth. SPIRIT: Standard Protocol Items for Clinical Trials; UFPEL: Federal University of Pelotas. WHO: World Health Organization. FDI: World Dental Federation; ICCMS: International Caries Classification and Management System. ICDAS: Caries Detection and Assessment System. PUFA: Pulp involvement, ulceration due to root fragments, fistula and abscess for permanent and primary teeth. CPQ: Child Perceptions Questionnaire.

Financing

This study was supported by the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel – Brazil (CAPES) – Finance Code 001 and supported the Research Support Foundation of the State of Rio Grande do Sul (FAPERGS), Brazil, under PqG 05 /2019.

Author contributions

AMM, TTVO, MMB, FMM, DPR, MSC, MSA contributed to the conception, elaboration and writing of the study. MSA is the clinical trial coordinator. AMM, TTVO and MSA implemented the clinical trial and are responsible for conducting and organizing the work. AMM is the responsible examiner.

Acknowledgements

The authors would like to thank the CARDEC collaborative group that collaborate with the planning and development of studies. Information about CARDEC group participants and studies can be accessed on the website: <https://sites.usp.br/cardec/>

Conflict of Interest Statement

The authors declares that there is no conflict of interest.

References

1. Pitts N; Baez R; Diaz-Guallory C, et al. Early Childhood Caries. IAPD Bangkok Declaration. *Int J Paediatr Dent*. 2019;29(3):384–6.
2. Gimenez T, Bispo BA, Souza DP, Viganó ME, Wanderley MT, Mendes FM, et al. Does the decline in caries prevalence of Latin American and Caribbean children continue in the new century? Evidence from systematic review with meta-analysis. *PLoS One*. 2016;11(10):1–14; doi: 10.1371/journal.pone.0164903.
3. Petersen PE. The World Oral Health Report 2003: Continuous improvement of oral health in the 21st century - The approach of the WHO Global Oral Health Programme. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2003;31 Suppl. 1:3–24.
4. Ismail AI, Pitts NB, Tellez M, Banerjee A, Deery C, Douglas G, et al. The International Caries Classification and Management System (ICCMS™) An Example of a Caries Management Pathway. *BMC Oral Health*. 2015;15(1):S9; doi: 10.1186/1472-6831-15-S1-S9.
5. Twetman S, Fontana M, Featherstone JDB. Risk assessment - Can we achieve consensus? *Community Dent Oral Epidemiol*. 2013;41(1):64–70; doi: 10.1111/cdoe.12026.
6. Twetman S. Caries risk assessment in children: how accurate are we? *Eur Arch Paediatr Dent*. 2016;17(1):27–32; doi: 10.1007/s40368-015-0195-7
7. Kühnisch J, Ekstrand KR, Pretty I, Twetman S, van Loveren C, Gizani S, et al. Best clinical practice guidance for management of early caries lesions in children and young adults: an EAPD policy document. *Eur Arch Paediatr Dent*. 2016;17(1):3–12; doi: 10.1007/s40368-015-0218-4.
8. Mejåre I, Axelsson S, Dahlén G, Espelid I, Norlund A, Tranæus S, et al. Caries risk assessment. A systematic review. *Acta Odontol Scand*. 2014;72(2):81–91; doi: 10.3109/00016357.2013.822548.
9. Leong PM, Gussy MG, Barrow SYL, De Silva-Sanigorski A, Waters E. A systematic review of risk factors during first year of life for early childhood caries.

- Int J Paediatr Dent. 2013;23(4):235–50; doi: 10.1111/j.1365-263X.2012.01260.x.
10. Senneby A, Mejàre I, Sahlin NE, Svensäter G, Rohlin M. Diagnostic accuracy of different caries risk assessment methods. A systematic review. J Dent [Internet]. 2015;43(12):1385–93; doi: 10.1016/j.jdent.2015.10.011.
 11. Tellez M, Gomez J, Pretty I, Ellwood R, Ismail A. Evidence on existing caries risk assessment systems: Are they predictive of future caries? Community Dent Oral Epidemiol. 2013;41(1):67–78; doi: 10.1111/cdoe.12003.
 12. Hall-Scullin E, Whitehead H, Milsom K, Tickle M, Su TL, Walsh T. Longitudinal Study of Caries Development from Childhood to Adolescence. J Dent Res. 2017;96(7):762–7; doi: 10.1177/0022034517696457.
 13. Fontana M, Zero DT. Assessing patients' caries risk. J Am Dent Assoc [Internet]. 2006;137(9):1231–9; doi:10.14219/jada.archive.2006.0380.
 14. Divaris K. Predicting Dental Caries Outcomes in Children. J Dent Res. 2016;95(3):248–54; doi: 10.1177/0022034515620779.
 15. Pitts NB, Ismail AI, Martignon S, Ekstrand K, Douglas GV V., Longbottom C. ICCMS™ Guide for Practitioners and Educators. ICCMS™ Resour. 2014;1–84.
 16. Martignon S, Pitts NB, Goffiin G, Mazevet M, Douglas GVA, Newton JT. CariesCare practice guide: consensus on evidence into practice. Br Dent J. 227 (5): 353-362; doi: 10.1038/s41415-019-0678-8.
 17. Cademartori MG, Da Rosa DP, Oliveira LJC, Corrêa MB, Goettems ML. Validity of the Brazilian version of the Venham's behavior rating scale. Int J Paediatr Dent. 2017;27(2):120–7; doi: 10.1111/ipd.12231.
 18. World Health Organization. Basic Epidemiological Survey of Oral Health. 4^a. Geneva: World Health Organization; 1997. 70 p.
 19. Pitts NB, Ekstrand K. International caries detection and assessment system (ICDAS) and its international caries classification and management system (ICCMS) - Methods for staging of the caries process and enabling dentists to manage caries. Community Dent Oral Epidemiol. 2013;41(1):41–52; doi: 10.1111/cdoe.12025.
 20. Guedes DP, Guedes JERP. Translation, cross-cultural adaptation and psychometric properties of the KIDSCREEN-52 for the Brazilian population. Rev Paul Pediatr. 2011;29(3):364–71.

21. Martins MT, Ferreira FM, Oliveira AC, Paiva SM, Vale MP, Allison PJ, et al. Preliminary validation of the Brazilian version of the Child Perceptions Questionnaire 8-10. *Eur J Paediatr Dent*. 2009;10(3):135–40.
22. Weinstein P, Spiekerman C, Milgrom P. Randomized equivalence trial of intensive and semiannual applications of fluoride varnish in the primary dentition. *Caries Res*. 2009;43(6):484–90.
23. Qvist V, Poulsen A, Teglers PT, Mjör IA. The longevity of different restorations in primary teeth. *Int J Paediatr Dent*. 2010;20(1):1–7.
24. Tickle M, Blinkhorn AS, Milsom KM. The occurrence of dental pain and extractions over a 3-year period in a cohort of children aged 3-6 years. *J Public Health Dent*. 2008;68(2):63–9.



STANDARD PROTOCOL ITEMS: RECOMMENDATIONS FOR INTERVENTIONAL TRIALS

SPIRIT Checklist: Recommended items to address in a clinical trial protocol and related documents*

Section/item	Item No	Description	Addressed on page number
Administrative information			
Title	1	Descriptive title identifying the study design, population, interventions, and, if applicable, trial acronym	1
Trial registration	2a	Trial identifier and registry name. If not yet registered, name of intended registry	4
	2b	All items from the World Health Organization Trial Registration Data Set	_____
Protocol version	3	Date and version identifier	4
Funding	4	Sources and types of financial, material, and other support	20
Roles and responsibilities	5a	Names, affiliations, and roles of protocol contributors	1, 20
	5b	Name and contact information for the trial sponsor	20
	5c	Role of study sponsor and funders, if any, in study design; collection, management, analysis, and interpretation of data; writing of the report; and the decision to submit the report for publication, including whether they will have ultimate authority over any of these activities	20

- 5d Composition, roles, and responsibilities of the coordinating centre, steering committee, endpoint adjudication committee, data management team, and other individuals or groups overseeing the trial, if applicable (see Item 21a for data monitoring committee) _____

Introduction

Background and rationale	6a	Description of research question and justification for undertaking the trial, including summary of relevant studies (published and unpublished) examining benefits and harms for each intervention	2, 3
	6b	Explanation for choice of comparators	2, 3, 4
Objectives	7	Specific objectives or hypotheses	2, 3, 4
Trial design	8	Description of trial design including type of trial (eg, parallel group, crossover, factorial, single group), allocation ratio, and framework (eg, superiority, equivalence, noninferiority, exploratory)	4

Methods: Participants, interventions, and outcomes

Study setting	9	Description of study settings (eg, community clinic, academic hospital) and list of countries where data will be collected. Reference to where list of study sites can be obtained	4, 5
Eligibility criteria	10	Inclusion and exclusion criteria for participants. If applicable, eligibility criteria for study centres and individuals who will perform the interventions (eg, surgeons, psychotherapists)	4, 5, 6

Interventions	11a	Interventions for each group with sufficient detail to allow replication, including how and when they will be administered	6,7,8
	11b	Criteria for discontinuing or modifying allocated interventions for a given trial participant (eg, drug dose change in response to harms, participant request, or improving/worsening disease)	_____
	11c	Strategies to improve adherence to intervention protocols, and any procedures for monitoring adherence (eg, drug tablet return, laboratory tests)	_____
	11d	Relevant concomitant care and interventions that are permitted or prohibited during the trial	_____
Outcomes	12	Primary, secondary, and other outcomes, including the specific measurement variable (eg, systolic blood pressure), analysis metric (eg, change from baseline, final value, time to event), method of aggregation (eg, median, proportion), and time point for each outcome. Explanation of the clinical relevance of chosen efficacy and harm outcomes is strongly recommended	12
Participant timeline	13	Time schedule of enrolment, interventions (including any run-ins and washouts), assessments, and visits for participants. A schematic diagram is highly recommended (see figure)	12, 13
Sample size	14	Estimated number of participants needed to achieve study objectives and how it was determined, including clinical and statistical assumptions supporting any sample size calculations	14
Recruitment	15	Strategies for achieving adequate participant enrolment to reach target sample size	14, 15

Methods: Assignment of interventions (for controlled trials)

Allocation:

Sequence generation	16a	Method of generating the allocation sequence (eg, computer-generated random numbers), and list of any factors for stratification. To reduce predictability of a random sequence, details of any planned restriction (eg, blocking) should be provided in a separate document that is unavailable to those who enrol participants or assign interventions	11
Allocation concealment mechanism	16b	Mechanism of implementing the allocation sequence (eg, central telephone; sequentially numbered, opaque, sealed envelopes), describing any steps to conceal the sequence until interventions are assigned	11
Implementation	16c	Who will generate the allocation sequence, who will enrol participants, and who will assign participants to interventions	11
Blinding (masking)	17a	Who will be blinded after assignment to interventions (eg, trial participants, care providers, outcome assessors, data analysts), and how	11
	17b	If blinded, circumstances under which unblinding is permissible, and procedure for revealing a participant's allocated intervention during the trial	11

Methods: Data collection, management, and analysis

Data collection methods	18a	Plans for assessment and collection of outcome, baseline, and other trial data, including any related processes to promote data quality (eg, duplicate measurements, training of assessors) and a description of study instruments (eg, questionnaires, laboratory tests) along with their reliability and validity, if known. Reference to where data collection forms can be found, if not in the protocol	15

	18b	Plans to promote participant retention and complete follow-up, including list of any outcome data -- to be collected for participants who discontinue or deviate from intervention protocols	
Data management	19	Plans for data entry, coding, security, and storage, including any related processes to promote data quality (eg, double data entry; range checks for data values). Reference to where details of data management procedures can be found, if not in the protocol	15
Statistical methods	20a	Statistical methods for analysing primary and secondary outcomes. Reference to where other details of the statistical analysis plan can be found, if not in the protocol	15
	20b	Methods for any additional analyses (eg, subgroup and adjusted analyses)	15
	20c	Definition of analysis population relating to protocol non-adherence (eg, as randomised analysis), and any statistical methods to handle missing data (eg, multiple imputation)	15

Methods: Monitoring

Data monitoring	21a	Composition of data monitoring committee (DMC); summary of its role and reporting structure; statement of whether it is independent from the sponsor and competing interests; and reference to where further details about its charter can be found, if not in the protocol. Alternatively, an explanation of why a DMC is not needed	16
	21b	Description of any interim analyses and stopping guidelines, including who will have access to these interim results and make the final decision to terminate the trial	16
Harms	22	Plans for collecting, assessing, reporting, and managing solicited and spontaneously reported adverse events and other unintended effects of trial interventions or trial conduct	16

Auditing	23	Frequency and procedures for auditing trial conduct, if any, and whether the process will be independent from investigators and the sponsor	16

Ethics and dissemination

Research ethics approval	24	Plans for seeking research ethics committee/institutional review board (REC/IRB) approval	16
Protocol amendments	25	Plans for communicating important protocol modifications (eg, changes to eligibility criteria, outcomes, analyses) to relevant parties (eg, investigators, REC/IRBs, trial participants, trial registries, journals, regulators)	_____
Consent or assent	26a	Who will obtain informed consent or assent from potential trial participants or authorised surrogates, and how (see Item 32)	16
	26b	Additional consent provisions for collection and use of participant data and biological specimens in ancillary studies, if applicable	_____
Confidentiality	27	How personal information about potential and enrolled participants will be collected, shared, and maintained in order to protect confidentiality before, during, and after the trial	16
Declaration of interests	28	Financial and other competing interests for principal investigators for the overall trial and each study site	16
Access to data	29	Statement of who will have access to the final trial dataset, and disclosure of contractual agreements that limit such access for investigators	16, 17

Ancillary and post-trial care	30	Provisions, if any, for ancillary and post-trial care, and for compensation to those who suffer harm from trial participation	16, 17
Dissemination policy	31a	Plans for investigators and sponsor to communicate trial results to participants, healthcare professionals, the public, and other relevant groups (eg, via publication, reporting in results databases, or other data sharing arrangements), including any publication restrictions	16, 17
	31b	Authorship eligibility guidelines and any intended use of professional writers	_____
	31c	Plans, if any, for granting public access to the full protocol, participant-level dataset, and statistical code	_____

Appendices

Informed consent materials	32	Model consent form and other related documentation given to participants and authorised surrogates	_____
Biological specimens	33	Plans for collection, laboratory evaluation, and storage of biological specimens for genetic or molecular analysis in the current trial and for future use in ancillary studies, if applicable	_____

*It is strongly recommended that this checklist be read in conjunction with the SPIRIT 2013 Explanation & Elaboration for important clarification on the items. Amendments to the protocol should be tracked and dated. The SPIRIT checklist is copyrighted by the SPIRIT Group under the Creative Commons "[Attribution-NonCommercial-NoDerivs 3.0 Unported](#)" license.

5 Artigo 2*

Impact of radiographic examination on risk classification for dental caries in schoolchildren.

Aryane Marques Menegaz¹, Thays Torres do Vale Oliveira¹, Rafaela Zazyki de Almeida¹, Ana Beatriz Lima Queiroz¹, Melissa Feres Damian¹, Mariana Minatel Braga², Daniela Prócida Raggio², Maximiliano Sergio Cenci¹, Fausto Medeiros Mendes², Marina Sousa Azevedo¹

¹Graduate School of Dentistry, Federal University of Pelotas

²Department of Orthodontics and Pediatric Dentistry, School of Dentistry, University of São Paulo

Correspondence:

Marina Sousa Azevedo, School of Dentistry, Federal University of Pelotas, Pelotas/RS, Brazil.

Email: marinasavedo@gmail.com

*Artigo formatado de acordo com o periódico Clinica Oral Investigations.

Impact of radiographic examination on risk classification for dental caries in schoolchildren.

Abstract

Objectives: To assess the impact of radiographic examination on the classification of children dental caries risk in low- and high-risk, comparing the impact between two types of risk assessment.

Materials and methods: This cross-sectional study is part of a randomized, double-blind, controlled, parallel-treatment clinical trial to compare treatment and follow-up of dental caries based on a multivariate, individualized risk assessment based on Caries Care International 4D guidelines and another simplified risk assessment, based only on caries experience in primary or permanent dentition, considering the presence of decayed, missing and filled teeth using the DMFT/dmft index. A total of 107 children aged 8 to 11 years who sought dental care were selected and examined by trained and calibrated evaluators using both clinical and radiographic examination. First, children were classified into low and high risk without considering the radiographic evaluation, then with the association of radiographic evaluation of the proximal surfaces of the posterior teeth. Descriptive statistical analysis was performed with the distribution of absolute and relative frequencies between the two methods, with and without radiographic evaluation.

Results: Both, simplified and multivariate methods, showed similar results. A low frequency of change was observed for high risk, less than 5%, when the radiographic analysis of the proximal surfaces of the posterior teeth was included. **Conclusion:** The impact of radiographic examination on risk classification for dental caries is low for a population of schoolchildren with high rates of dental caries for both the risk assessment methods used in this study.

Keywords: Dental caries. Radiograph. Risk assessment. Children

Introduction

Caries risk assessment is considered an important element for the prevention and management of dental caries, it determines the probability that the patient will develop new caries lesions in a certain period of time, and the risk of present lesions progressing to more severe stages [1–3]. It can basically be performed in two ways, a simple assessment based on the presence or absence of risk factors, and an assessment by multivariate models, a combination of more than one variable through an analysis [1, 2, 4].

The radiographic examination associated with the clinical examination, a simultaneous method, is a common practice of dentists and encouraged by clinical guidelines for caries management in children [1, 5–8]. The use of radiographs is used as an auxiliary method in the diagnosis of dental caries, especially bitewings radiographs [9], and they are often part of a routine protocol of dental practices in children's clinics, even in children who do not show signs or symptoms of caries [1, 5–8].

The rationale for recommending the simultaneous association of clinical and bitewing radiographic examination is that some interproximal caries lesions may not be visible during visual inspection [1, 6, 9], and radiographic examination may represent an additional diagnostic yield [1, 8–10].

The first step in a patient's dental caries evaluation is clinical examination. The risk can be determined, among other factors, after a good caries diagnosis. Clinical examination has high specificity and is essential for the diagnosis of caries lesions, however, according to some studies, it can ignore lesions in posterior teeth, especially in proximal surfaces [11]. To increase this sensitivity, some authors indicate the association of the radiographic examination, simultaneously [9]. However, increasing sensitivity comes at the expense of decreasing specificity [12, 13] and while accuracy is important, other parameters must be evaluated as additional benefits and adverse effects on the patient's health [14–16].

Studies on radiographic examination for caries diagnosis have shown that a small number of patients would benefit from early detection, and many others would suffer adverse effects from unnecessary treatment, resulting in a high economic impact of overdiagnosis [16–19]. However, no previous study on caries risk assessment has

evaluated changes in risk status through comparison of clinical examination alone and with the bitewing radiographic method associated, comparing two caries risk methods.

Currently, the benefits and adverse effects of using radiographs as part of a routine protocol of dental practices in children's clinics are questionable, and authors strongly recommend that clinical guidelines should be re-evaluated concerning dental caries management in children [14–16]. The present study was carried out to answer the following question: Would the inclusion of the radiographic examination change the classification of dental caries risk in schoolchildren using different assessment methods (simple and multivariate)?

This study is nested within a randomized clinical trial that compares dental caries-related treatment and follow-up based on a multivariate, individualized assessment of children's caries risk to a simpler risk assessment strategy based on caries experience. The present study aims to evaluate the impact of radiographic examination in the classification of dental caries risk in children, comparing between two types of risk assessment.

Materials and methods

Study design and ethical aspects

This cross-sectional study is part of a randomized, double-blind, controlled, parallel, trial-treatment clinical trial performed to compare treatment and follow-up for dental caries based on a multivariate, individualized assessment of caries risk in children with simplified strategy in a two-year follow-up. The trial protocol was previously published [20] and is registered at ClinicalTrials.gov (Identifier: NCT03969628).

The main clinical trial, entitled *CARies DEtection in Children – 4* (CARDEC-PEL 04), was approved by the Research Ethics Committee of the School of Dentistry of the Federal University of Pelotas (FO-UFPel) under protocol number: 3.282.962, the legal guardians were informed of the research objectives and the procedures that would be carried out by it, whether or not they agreed with the child's participation.

In summary, the CARDEC-PEL 04 study was carried out to test two forms of caries risk assessment: an individualized and multivariate method, considering several risk predictors, based on the guidelines of Caries Care International 4D [8], and the

simplified method, based only on caries experience in primary and/or permanent dentition, considering the rate of decayed, missing and filled teeth [21]. Children were classified as low and high risk. For the present study, specific analyzes were carried out to assess the impact of including radiographic examination in the assessment of dental caries risk, as suggested by some clinical guidelines, whether the simultaneous use of radiographic and visual methods would change the classification of children's risk compared to a single visual inspection strategy. The trial protocol study provides more details about the methods used [20].

Participants

Children aged 8 to 11 years whose parents sought care at the FO-UFPel children's clinic were eligible to participate. The FO-UFPel children's clinic is a reference center in the region in child dental care, free of charge, serving children with oral diseases, mainly dental caries. Children with fixed appliances, who had systemic problems or who had a disability that made it difficult to understand the guidelines and questions of the questionnaire, with a history of absences (up to 2 attempts to schedule an interview and exam), with a forecast of moving for another city and region (cities with a distance greater than 50 km from the Pelotas) and who showed behavioral problems already in the initial consultation were not included.

For the entire clinical trial, the sample size was calculated, reaching a value of 250 children. Sample calculation details are published in a previous study [20]. The study was stopped prematurely due to the coronavirus disease (COVID-19) pandemic with a total sample of 120 participants, but will potentially resume. For this specific study, approximately 107 children were eligible and included.

Data collection

Initial risk assessment and rating

Dental caries risk assessment was tested in two ways for all children: (a) Multivariate: classification into low and high caries risk based on guidelines in the Caries Care International 4D manual [8, 22] and (b) Simplified: classification into low and high caries risk based only on past and current caries experience in primary and/or permanent dentition [21].

The Caries Care International 4D manual was developed to assist dentists in managing dental caries, and it is the most up-to-date guideline in the literature on the subject. The structure of the guide is composed of four steps that lead to specific and individualized interventions according to the risk and needs of each patient. The four-step system is known as 4D and they are: 1st D: Determining caries risk; 2nd D: Detect caries injuries, measure the severity and assess the state of caries activity; 3rd D: Decide on the most appropriate care plan for the patient at that moment; 4th D: Do – implementation of the treatment plan, always seeking to preserve tooth structure and patient control. Caries risk assessment is the essential first step in the 4D cycle [8, 22].

The caries risk assessment criteria proposed by the Caries Care International 4D manual [8, 22] were collected through a questionnaire directed to the main caregiver and the child and through the clinical examination. For the assessment of caries risk in the first phase of the 4D system, protective factors and risk factors are used, taking into account dental caries severity and active lesions, social, medical, behavioral factors, and dental history [8]. After evaluation, the patient is classified into low risk or high risk. More methodological details are available in the study protocol article [20].

The factors were evaluated and classified into determinant, conditional and protective factors. The determinant factors, considered enough for the patient that presented one of them to classify as high risk, were signs of hyposalivation/low salivary flow, teeth with pulp involvement, ulceration due to root fragment, fistula, and abscess. For the factors called conditional factors (for example: plaque stagnation area, permanent molars erupting, high consumption of free sugars...), the patient received a positive point for each factor present. The protective factors were access to fluoride water, toothbrushing twice a day with fluoridated toothpaste, and regular preventive dental care and their presence canceled out a conditioning factor, that is, the patient received a negative score when he presented one of these factors.

Participants who presented any of the determining factors or whose sum of the other factors was three or more were considered high risk. Participants who did not show any determining factor and whose sum of factors was less than three were considered low risk. The International Caries Detection and Assessment System (ICDAS) index was used to determine the factors related to dental caries examination in this risk classification [23].

Risk assessment based only on caries experience in primary and/or permanent dentition, considering decayed, missing and filled teeth, according to the World Health Organization (WHO) criteria [24], was the criterion of choice for the simplified group. Children were classified as low risk, with no previous or current experience of caries (DMFT/dmft=0) and high risk, with previous or current experience of caries in the primary and/or permanent dentition (DMFT/dmft>0) [21].

Radiographic examination combined with visual inspection is recommended wherever possible in the Caries Care International 4D guide and at each return interval determined by caries risk [8]. All patients underwent a bilateral bitewing radiographic examination after visual inspection to assess interproximal caries lesions.

Clinical examination

A single examiner was trained and calibrated for dental caries. The training involved a lecture on the dental caries criteria and photos of clinical cases. For the DMFT/dmft index [24] evaluating eight children of the same age group as the children of the randomized clinical trial and the weighted Kappa obtained was 0.95 and for the ICDAS index [23], four children of similar ages to the research children were evaluated, obtaining a weighted Kappa of 0.87.

The clinical examination followed a sequence of assessments of the absence or presence of thick plaque, areas of plaque stagnation (high biofilm retention), and erupting molars. The same trained and calibrated evaluator assessed the condition for dental caries according to WHO criteria using the DMFT/dmft index [24]. After performing professional dental prophylaxis with a toothbrush and fluoride toothpaste, the same trained and calibrated evaluator evaluated the condition for dental caries through the ICDAS index [23], the caries activity was analyzed using the visual criteria proposed by the NYVAD System, and finally the complementary PUFA index (pulp involvement, ulceration due to root fragments, fistula, and abscess) [23, 24].

The ICDAS criteria used were: (0) healthy tooth, no change in enamel translucency after 5 seconds drying, (1) initial carious lesion, visible opacity after 5 seconds drying, (2) initial carious lesion, visible opacity in the presence of moisture, (3) moderate lesion, enamel cavity, (4) moderate lesion, shadowing of underlying dentin, (5) extensive lesion, enamel cavity with exposed dentin, (6) extensive lesion, cavitation with exposed dentin more than half the surface [8, 23].

Radiographic examination

Each child underwent two bitewings' radiographs performed with a conventional X-ray machine with a 2.5cm diaphragm, operating at 60kV and 7 to 10mA (according to the electrical current), and exposure time ranging between 0.3 and 0.5 seconds, according to the physical structure of the child. All radioprotection precautions were followed, including the use of a lead apron and thyroid protector by the patient.

To perform the radiographs, standard periapical films (size 3 x 4 cm) of sensitivity E from Eastman Kodak (Rochester, New York, USA) and autoclavable han-shin radiographic positioners (Indusbello Company, Londrina, Paraná, Brazil) were used to standardize the images. When it was not possible to use the positioners, such as because of the child's refusal, the examination was performed by adapting a bitewing to the periapical film, made with adhesive tape. During the examinations, biosafety rules were followed. Film processing was performed manually, standardized by the temperature/time method, in a darkroom, present in the FO-UFPEl children's clinic. After drying, the exams were stored in the patient's chart.

Evaluation of the radiographic examination

The radiographs were analyzed by two evaluators, which underwent training that consisted of a 4-hour slide presentation, analysis and discussion of the indexes, codes and criteria used, with examples of images of all criteria evaluated clinically and radiographically and received a guideline manual. The training was conducted by research professors in the field of dental radiology and pediatric dentistry.

For the radiographic calibration, the two trained examiners evaluated 18 dental surfaces on each side of the patient out of a total of 24 patients. After 1 month they re-evaluated 10 radiographic to obtain the intra-examiner calibration. Examiners showed inter and intra-examiner Kappa values greater than 0.67.

The analysis of the radiographs was performed using a negatoscope with a dark barrier so that the light, in addition to that which passes through the radiograph, would not interfere with the evaluation. The examiners were separated and without communication. The evaluation was performed using a magnifying glass with four times magnification and in a darkened environment, with only the light of the

negatoscope. The radiographs were analyzed every five images, with an interval of 10 minutes between the evaluations, so as not to overload the evaluator's vision.

For radiographic analysis, the proximal surfaces of primary molars and first permanent molars were evaluated, the classification of carious lesions was according to Caries Care International 4D guidelines, with the following codes: (0) no visible radiolucent area, (1) Radiolucent area in the outer half of the enamel, (2) Radiolucent area in the inner half of enamel (enamel-dentin junction), (3) Radiolucent area limited to the outer third of dentin, (4) Radiolucent area reaching the middle third of dentin, (5) Radiolucent area reaching the inner third of dentin, clinically cavitated, (6) Radiolucent area in the pulp, clinically cavitated [8, 23].

In the radiographic evaluations patients who were identified with any carious lesions in enamel or dentin (codes 1 to 6) for the multivariate method were considered with dental caries, so, modified the caries risk if they had been classified as low risk. For the simplified method, patients who were identified caries lesions in dentin (codes 3 to 6) were considered with dental caries and could modify their caries risk classification.

Data analysis

Caries risk assessment used both multivariate and simplified methods for each child. For each of them, firstly, children were classified into low and high risk without considering the radiographic evaluation, then with the association of radiographic evaluation of the proximal surfaces of the posterior teeth.

Data were tabulated and analyzed using the STATA 14.0 statistical program. Descriptive statistical analysis was performed with the distribution of absolute and relative frequencies between the two methods, with and without radiographic evaluation.

Results

A total of 107 children were included in this study. Table 1 shows the sociodemographic characteristics of the participants. Of these 107 children, 57 (53.3%) were female; 51 (47.7%) were aged between 8-9 years and 56 (53.3%) were aged between 10-11 years; 48 (45.3%) belonged to families with more than one sibling; 43 (40.6%) of the mothers and/or primary caregiver had 8 years of formal education or

less, and 27 (25.7%) of the families lived on less than the Brazilian current minimum wage.

The prevalence of each protective factor and caries risk assessed in the multivariate method is shown in Table 2. Most children had recent experience of dental caries (ICDAS $\geq$ 3, tooth loss or filling due to caries) (73.8%). Active and initial caries lesion (ICDAS 1+ or 2+) was presented in 58.9% of the participants. Poor oral hygiene with thick plaque buildup, areas of plaque stagnation, and erupting molar teeth were present in 42 (39.3%), 13 (12.1%), and 24 (22.4%), respectively. Regarding protective factors, regular preventive dental care, twice-daily brushing with fluoride toothpaste (at least 1000 ppmF), and access to fluoridated drinking water or other fluoride vehicles in the community were present in 13 (12.1%), 88 (83.0%), and 99 (92.5%) children, respectively.

Table 3 shows the results of the impact of the use of the radiographic examination in the classification of dental caries risk, a comparison between the classification without the radiographic examination and with the associated use of the radiographic examination for interproximal lesions in the posterior teeth. In the simplified method, five patients changed their caries risk classification from low to high risk with the radiographic evaluation, which represents 4.67% of the total number of children analyzed. In the multivariate method, four patients had their risk classification changed with the radiographic exam, from low to high risk, which represents 3.74% of the study population.

Table 1. Socioeconomic and demographic characteristics of participants. Pelotas, Brazil (n = 107 children)

Variable	Number	Relative frequency (%)
Sex		
Female	57	53.3%
Male	50	46.7%
Age, and		
8-9	51	47.7%
10-11	56	53.3%
Number of Siblings*		
≤1 sibling	58	54.7%
>1 sibling	48	45.3%
Caregiver education*		
≤ 8 years of study	43	40.6%
> 8 years of study	63	59.4%
Family income* £		
≤1 minimum wage	27	25.7%
>1 minimum wage	78	74.3%

*missing data; £1 minimum wage was calculated equivalent to BRL 1,045.00 - U\$1.00 = BRL 5.72

Table 2. Caries protective and risk factor in the sample of children included in the study. Pelotas, Brazil (n = 107 children)

	Present n (%)	Absentee n (%)
Caries protective and risk factors		
Hyposalivation-Low salivary flow rate [£]	1 (0.9)	106 (99.0)
Pulpal involvement, ulceration, fistula, and abscess (PUFA) index [£]	17 (15.9)	90 (84.1)
Recent dental caries experience (ICDAS≥3, tooth loss or filled due to caries) [£]	79 (73.8)	28 (26.2)
Active and initial caries lesion (ICDAS 1+ or 2+) [£]	63 (58.9)	44 (41.1)
Poor oral hygiene with thick plate accumulation	42 (39.3)	65 (60.7)
Plaque stagnation areas (higher biofilm retention)	13 (12.1)	94 (87.9)
Erupting molar teeth	24 (22.4)	83 (77.6)
Low socioeconomic level, low educational level ^{**}	41 (39.1)	64 (60.9)
Special health care needs, physical disabilities	6 (6.6)	101 (94.4)
High intake of free sugars between meals	35 (32.7)	72 (67.3)
Bottle/non-spill cup/pacifier containing natural or added sugar used frequently or at night (this includes milk and fruit juices)	4 (3.8)	103 (96.2)
Symptomatic-driven dental attendance	1 (0.9)	106 (99.1)
Regular preventive-oriented dental care, including for example application of topical fluoride [#]	13 (12.1)	94 (87.9)
Twice daily brushing with fluoridated toothpaste (at least 1000 ppmF) ^{** #}	88 (83.0)	18 (17.0)
Access to fluoridated drinking water or other community fluoride vehicles (where available) [#]	99 (92.5)	8 (7.5)

Non-daily use of at least 1000 ppm fluoride toothpaste**	1 (0.9)	105 (99.1)
Inability to comply, low motivation and engagement**	1 (0.9)	99 (99.0)
Examination mother/caregiver with active caries lesions*	4 (4.0)	86 (86.0)

*Mothers did not need to be clinically examined, as this factor would not change the child's risk classification; **Missed data; £ Determinant factors for high caries risk; # Protective factors used for classification

Table 3. Caries risk assessment comparing clinical examination without radiographic examination (Without RAD) and with radiographic examination (With RAD). Pelotas, Brazil (n = 107 children)

	Simplified Method		Multivariate Method	
	Without RAD*	With RAD*	Without RAD*	With RAD*
Caries risk	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Low	31 (29.0)	26 (24.3)	21 (19.6)	17 (15.9)
High	76 (71.0)	81 (75.7)	86 (80.4)	90 (84.1)

*Two bitewing radiographic examination for each child

Discussion

The findings of this study showed that both caries risk assessment methods used, simplified and multivariate, presented similar results when comparing the caries risk classification with and without the use of the bitewings radiographic exam. For both risk classification methods, a low-frequency change was observed for high risk, less

than 5%, when the radiographic analysis of the proximal surfaces of posterior teeth was included for this population.

The evaluation of caries risk for the correct management of caries disease has gained importance, this evaluation must have a good cost-benefit ratio, be cheap, fast, and acceptable by the patient and dentist. Therefore, assessments with fewer variables and less use of complementary diagnostic methods provide gains in clinical time and in economic terms [25]. Existing methods to date generally involve a considerable number of variables to be analyzed and additional methods, such as radiographic examination, which can be quite complex considering the different locations/scenarios in which they can be applied [5, 26, 27]. This fact motivated the authors to carry out the present study to assess whether the inclusion of radiographic examination would impact the risk classification for dental caries in children.

The simplified caries risk method used in the study was determined by the fact that caries experience is the isolated factor with the higher predictive power for caries risk, mainly when considering the presence of cavitated lesions, teeth loss due to caries or filled teeth [2, 4, 21]. The multivariate method was chosen because it was recently produced based on the best available evidence and it was developed through consensus with international experts by the ICDAS Foundation charity [8]. Also, this guide only uses the extremes of the spectrum of risk classifying patients at “high risk” or “low risk”, is quicker and easier to correctly identify patients at these extremes and offers a clear management of patients’ needs [8]. This way, the two extremes of risk were used in both methods.

There was a small change with the inclusion of bitewings radiography in the risk classification. Approximately five children from a population of just over 100 patients changed their classification from low risk to high risk for dental caries after radiographic evaluation in both methods used. However, it is worth remembering that this population is composed only of school-age children, for whom studies evaluating caries risk showed that the greatest predictive factor isolated in this group is the caries experience [28–31]. For preschool-age children, in whom the disease has not yet manifested itself in its more advanced stages, it could be different, mainly due to the simplified evaluation method that is based only on clinical examination with the WHO index of decayed, missed, and filled teeth. It is also worth noting that the population that seeks or is referred for care at the FO-UFPEL children's clinic service is a population with high caries experience, therefore, it must be considered that in different contexts and

with a different child population profile, with low caries rates, the results could be different, with a higher frequency of risk alteration with the association use of the radiographic exam. Further research is needed to understand the impact of radiographic evaluation on caries risk assessment in other contexts and with children of other ages.

The recommendations of current clinical guidelines, the simultaneous association of a clinical examination with radiographic evaluation [1, 5, 6, 8], is based on precision studies in an attempt to minimize the problem of the low sensitivity of the clinical examination, however, most precision studies are conducted in the laboratory and or with high selection bias. Recently, a randomized clinical trial, the most suitable type of study for this analysis, as they randomly allocate participants to two or more diagnostic strategies and, subsequently, treatments are chosen based on the results obtained for each strategy, showed that the indication of radiographs as a caries detection protocol in all patients is not useful, as it does not bring additional benefits to children and may cause adverse effects as more invasive treatments [14]. Particularly concerning the analysis of caries risk, there are no studies evaluating whether the inclusion of radiographic examination would impact the classification.

Studies about caries risk assessment with and without radiographic examination with long-term follow-up are needed to confirm our results. It is important to highlight that more than 65% of lesions only detected by radiographs are initial lesions, most in primary molars (data not shown), which probably will not progress before natural exfoliation in this age group, or that could be considered as overdiagnosis [15, 32]. Thus, it is necessary to reflect on how harmful this diagnosis can be to the patient and the health system. It can lead to overtreatment and the need for shorter returns intervals, which can be a problem for the patients and their families, also for the health system which can overwhelm itself and raise costs unnecessarily. On the other hand, mainly in populations of children different from this study (with less dental caries and lower age), it should be considered that some patients would not be classified as high risk without the radiographic examination and would have longer return intervals, which could lead to failure to identify interproximal lesions at less severe stages and, consequently, increase the cost of future treatment, with greater difficulty in treating the lesion at a more severe stage [33].

The guide Caries Care International 4D [8], recommends that, whenever possible, radiographic examination combined with visual inspection be performed of risk assessment, lesion management, and at each return interval determined by the caries risk, patients with lower caries risk should have longer recall period than patients at higher risk [8]. Although not evaluated in this study, consideration should be given to the additional cost and time required to include the radiographic examination for risk classification and disease management as a protocol. If the radiographic examination did not bring benefits for management after 2 years, as pointed out in the study by Pontes et al. (2020) [14], further studies are needed to analyze whether they have potential long-term benefits, especially in populations of children that differ from this study.

Another limiting factor of radiographic examination in risk assessment is that the objective of risk determination is to analyze the probability of the appearance of new lesions, but also to assess the progression of lesions in a given period. Analyzing the progression of interproximal lesions detected by radiography in a patient apparently without caries on clinical examination, depending on the risk methodology used it is quite determined by the activity of the lesion, as these would have a greater risk of progression, which cannot be determined by radiographic examination. For initial lesions in the multivariate method, there would still be a need for temporary separation of the teeth, for direct visual analysis, one more step, more time spent, in determining the classification of this method.

As far as we know, in the existing literature to date, there are no studies in children that assess the impact of radiographic examination on caries risk classification. The findings showed few differences in caries risk classification with the radiographic examination. Based on minimally invasive dentistry, it can be presumed that this study's data are aligned with the current scenario, valuing the non-performance of overdiagnosis and causing a high economic impact, which can have adverse effects on children.

Conclusion

The use of radiographic examination in the assessment of risk for dental caries in children did not present significant changes in the risk classification. In conclusion,

the impact of radiographic examination on risk classification for dental caries is low for a population of schoolchildren with high caries rates, considering the risk assessment methods used in this study. Further studies on the subject should be carried out so that clinical guidelines reassess their conduct of indication of radiographic examination as a routine in the caries management on children.

References

1. Kuhnisch J, Ekstrand KR, Pretty I et al. (2016) Best clinical practice guidance for management of early caries lesions in children and young adults: an EAPD policy document. *Eur. Arch. Paediatr. Dent.* 17:3–12
2. Twetman S (2016) Caries risk assessment in children: how accurate are we? *Eur Arch Paediatr Dent* 17:27–32. <https://doi.org/10.1007/s40368-015-0195-7>
3. Twetman S, Fontana M, Featherstone JDB (2013) Risk assessment - Can we achieve consensus? *Community Dent Oral Epidemiol.* 41:64–70. <https://doi.org/10.1111/cdoe.12026>
4. Mejàre I, Axelsson S, Dahlén G, et al (2014) Caries risk assessment. A systematic review. *Acta Odontol Scand.* 72:81–91. <https://doi.org/10.3109/00016357.2013.822548>
5. American Academy of Pediatric Dentistry (2021) Caries-risk Assessment and Management for Infants , Children , and Adolescents. *Pediatr Dent.* 252–257
6. American Academy of Pediatric Dentistry (2021) Prescribing Dental Radiographs for Infants , Children , Adolescents , and Individuals with Special Health Care Needs. *Pediatr Dent.* 258–261
7. Ismail AI, Pitts NB, Tellez M (2015) The International Caries Classification and Management System (ICCMS™). *BMC Oral Health.* 15:1–13
8. Martignon S, Pitts NB, Goffin G, et al (2019) Article : Carie Care practice guide: consensus on evidence into practice. *Br Dent J.* 227:353–62. <https://doi.org/10.1038/s41415-019-0678-8>. 10.
9. Schwendicke F, Tzschoppe M, Paris S (2015) ScienceDirect Radiographic caries detection : A systematic review and meta-analysis. *J Dent.* 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2015.02.009>
10. Evans RW, Dennison PJ (2009) The Caries Management System : an evidence-based preventive strategy for dental practitioners . Application for children and adolescents. 381–389. <https://doi.org/10.1111/j.1834-7819.2009.01165.x>
11. Schwendicke F, Elhennawy K, Shahawy O El, et al (2018) Visual and radiographic caries detection : a tailored meta-analysis for two different settings. Egypt and Germany. 1–9
12. Gordis L (2008) Assessing the validity and reliability of diagnostic and screening

tests., 4^a ed. Epidemiolog, Saunders, Philadelphia

13. Mendes, FM, TF Novaes, R Matos, DG Bittar et al (2012) Radiographic and Laser Fluorescence Methods Have No Benefits for Detecting Caries in Primary Teeth. 536–543
14. Pontes LRA, Novaes TF, Lara JS, et al (2020) Impact of visual inspection and radiographs for caries detection in children through a 2-year randomized clinical trial: The Caries Detection in Children–1 study. J Am Dent Assoc 151:407-415.e1. <https://doi.org/10.1016/j.adaj.2020.02.008>
15. Pontes LRA, Novaes TF, Lara JS, et al (2019) Impact of the radiographic method on treatment decisions related to dental caries in primary molars: a before–after study. Clin Oral Investig 23:4075–4081. <https://doi.org/10.1007/s00784-019-02844-w>
16. Pontes LRA, Lara JS, Novaes TF, et al (2021) Negligible therapeutic impact, false-positives, overdiagnosis and lead-time are the reasons why radiographs bring more harm than benefits in the caries diagnosis of preschool children. BMC Oral Health 21:1–17. <https://doi.org/10.1186/s12903-021-01528-w>
17. Coon ER, Quinonez RA, Moyer VA, Schroeder AR (2014) Overdiagnosis : How Our Compulsion for Diagnosis May Be Harming Children. <https://doi.org/10.1542/peds.2014-1778>
18. Hofmann B, Welch HG (2017) New diagnostic tests : more harm than good. 1–7. <https://doi.org/10.1136/bmj.j3314>
19. Moriyama CM, Novaes TF, Ferreira FR, et al (2021) What diagnostic strategy performs better for caries lesion detection on proximal surfaces of adolescents ? 13–15
20. Menegaz AM, Oliveira TT do V, Braga MM, et al (2021) Randomized clinical trial to evaluate two methods of caries risk assessment in schoolchildren: the CARDEC-PEL 04 study protocol. BMC Oral Health 21:1–11. <https://doi.org/10.1186/s12903-021-02010-3>
21. Hall-Scullin E, Whitehead H, Milsom K, et al (2017) Longitudinal Study of Caries Development from Childhood to Adolescence. J Dent Res 96:762–767. <https://doi.org/10.1177/0022034517696457>
22. Ismail AI, Pitts NB, Tellez M et al (2015) The International Caries Classification and Management System (ICCMS™) An Example of a Caries Management Pathway. BMC Oral Health 15:S9

23. Pitts NB, Ekstrand K (2013) International caries detection and assessment system (ICDAS) and its international caries classification and management system (ICCMS) - Methods for staging of the caries process and enabling dentists to manage caries. *Community Dent Oral Epidemiol* 41:41–52. <https://doi.org/10.1111/cdoe.12025>
24. World Health Organization (1997) Basic Epidemiological Survey of Oral Health - Instruction Manual, 4^a. World Health Organization, Geneva
25. Tellez M, Gomez J, Pretty I, et al (2013) Evidence on existing caries risk assessment systems: Are they predictive of future caries? *Community Dent Oral Epidemiol* 41:67–78. <https://doi.org/10.1111/cdoe.12003>
26. American Dental Association (2004) ADA Caries Risk Assessment Form Completion Instructions General Instructions : Additional Information for Specific Risk Factors. **American Dental Association**. 2009. Available in: [Caries Risk Assessment Form \(Age 0-6\)](#). Accessed: December, 2021
27. Bratthall D, Petersson GH, Stjernswärd J (2004) Cariogram manual a new and interactive way of illustrating the interaction of factors contributing to the development of dental caries. Cariogram Internet Version 1–51
28. Baelum V, Heidmann J, Nyvad B (2006) Dental caries paradigms in diagnosis and diagnostic research. *Eur J Oral Sci* 114:263–277. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0722.2006.00383.x>
29. Braga MM, Mendes FM, Ekstrand KR (2010) Detection activity assessment and diagnosis of dental caries lesions. *Dent Clin North Am* 54:479–493. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2010.03.006>
30. Ekstrand KR, Gimenez T, Ferreira FR, et al (2018) The International Caries Detection and Assessment System - ICDAS: A Systematic Review. *Caries Res* 52:406–419. <https://doi.org/10.1159/000486429>
31. Gimenez T, Piovesan C, Braga MM, et al (2015) Visual inspection for caries detection: A systematic review and meta-analysis. *J Dent Res* 94:895–904. <https://doi.org/10.1177/0022034515586763>
32. Baelum V, Hintze H, Wenzel A, et al (2012) Implications of caries diagnostic strategies for clinical management decisions. *Community Dent Oral Epidemiol* 40:257–266. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0528.2011.00655.x>
33. Çolak H, Dülgergil Ç, Dalli M, Hamidi M (2013) Early childhood caries update: A review of causes, diagnoses, and treatments. *J Nat Sci Biol Med* 4:29–38. <https://doi.org/10.4103/0976-9668.107257>

6 Considerações finais

O desenvolvimento de um ensaio clínico randomizado bem delineado, considerado uma evidência científica forte, torna-se necessário para estabelecer parâmetros mais seguros e efetivos na avaliação de risco de cárie dentária, bem como testar diferentes métodos. Nenhum estudo foi realizado para avaliar se a avaliação mais elaborada e individualizada do risco de cárie, considerando vários fatores, proporciona prevenção e tratamento relacionados à cárie dentária mais efetivos, e se isso traz algum benefício ao paciente, comparado com estratégias mais simples, considerando por exemplo, a experiência de cárie na dentição decídua e/ou permanente. Este é o primeiro protocolo de ensaio clínico randomizado com o objetivo de comparar os dois métodos, este estudo definirá se existem benefícios essenciais ao paciente que justifiquem a escolha de um método em detrimento do outro.

O impacto do exame radiográfico na classificação de risco para cárie dentária se mostrou baixo em comparação ao exame clínico isolado para uma população de escolares com altos índices de cárie dentária considerando os métodos de avaliação de risco utilizados neste estudo. Para isso, recomendamos a realização de mais estudos clínicos e de acompanhamento acerca do tema para que as diretrizes clínicas reavaliem suas condutas de indicação de exame radiográfico na avaliação de risco e manejo da cárie dentária como protocolo.

Referências

- ABOPED NACIONAL. Avaliação do risco de cárie. In: Pré-Natal Odontológico. **Diretrizes Para Procedimentos Clínicos em Odontopediatria**. 3ªed. São Paulo: Santos Publicacoes, 2020. p.64-77.
- AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRIC DENTISTRY. Caries-risk Assessment and Management for Infants , Children , and Adolescents. **Pediatric Dentistry**. p. 252–257, 2021.
- AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRIC DENTISTRY. Prescribing Dental Radiographs for Infants , Children , Adolescents , and Individuals with Special Health Care Needs. **Pediatric Dentistry**. p. 258–261, 2021.
- AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRIC DENTISTRY. Guideline on Caries-risk Assessment and Management for Infants, Children, and Adolescents. **Pediatric Dentistry**, v.38, n.6, p.142-9, 2016.
- AMERICAN DENTAL ASSOCIATION. Caries Risk Assessment Form Completion Instructions General Instructions : Additional Information for Specific Risk Factors. **American Dental Association**. 2009. Disponível em: [Caries Risk Assessment Form \(Age 0-6\)](#). Acessado em: dezembro, 2021.
- BAELUM, V; HINTZE, H; WENZEL A, et al. Implications of caries diagnostic strategies for clinical management decisions. **Community Dentistry Oral Epidemiology** 40:257–266. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0528.2011.00655.x>
- BRATTHALL, D; PETERSSON, Gunnel H.; STJERNSWÄRD, J. Cariogram manual a new and interactive way of illustrating the interaction of factors contributing to the development of dental caries. **Cariogram Internet Version**, p. 1–51, 2004.
- BRAGA, M.M; MENDES, F.M; EKSTRAND, K.R. Detection activity assessment and diagnosis of dental caries lesions. **Dental Clinics of North America**. v.54, p.479–493, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cden.2010.03.006>
- CADEMARTORI, M.G *et al.* Validity of the Brazilian version of the Venham's behavior rating scale. **International Journal of Paediatric Dentistry**, v. 27, n. 2, p. 120–127, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/ipd.12231>
- COON, E.R *et al.* Overdiagnosis : How Our Compulsion for Diagnosis May Be Harming Children. **American Academy for Pediatrics**, v.134, p.5, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1542/peds.2014-1778>

DIVARIS, K. Predicting Dental Caries Outcomes in Children: A "Risky" Concept. **Journal of Dentistry Research**, v.95, n.3, p.248-54, 2016.

EVANS, R W; DENNISON, P J. The Caries Management System : an evidence-based preventive strategy for dental practitioners. Application for children and adolescents. **Australian Dental Journal**, v.54, p. 381–389, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1834-7819.2009.01165.x>

EKSTRAND, K.R; GIMENEZ, T; FERREIRA, F.R., et al.The International Caries Detection and Assessment System - ICDAS: A Systematic Review. **Caries Research** v.52, p.406–419, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1159/000486429>

FONTANA, M; ZERO, D.T. Assessing patients' caries risk. **Journal of the American Dental Association**, [s. l.], v. 137, n. 9, p. 1231–1239, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.14219/jada.archive.2006.0380>

FRANKL, S.N.; SHIERE, F.R.; FOGELS, H.R. Should the parent remain with the child in the dental operator? **American Society of Dentistry for Children**, v.29, p.150-163, 1062.

GIMENEZ, T.; BISPO, B.A.; SOUZA, D.P.; VIGANO, M.E.; WANDERLEY, M.T.; MENDES, F.M et al. Does the Decline in Caries Prevalence of Latin American and Caribbean Children Continue in the New Century? Evidence from Systematic Review with Meta-Analysis. **Public Library of Science One**, v. 11, n.10, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0164903>

GIMENEZ, T; PIOVESAN, C; BRAGA, M.M et al., Visual inspection for caries detection: A systematic review and meta-analysis. **Journal Dentistry Research**. v.94, p.895–904, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/0022034515586763>

GOURSAND, D.; PAIVA, S.M.; ZARAR, P.M.; RAMOS-JORGE, M.L.; CORNACCHIA, G.M.; PORDEUS, I.A.; ALLISON, P.J. Cross-cultural adaptation of the Child Perceptions Questionnaire 11-14 (CPQ11-14) for the Brazilian Portuguese language. **Health Qual Life Outcomes**, v.6, n.2, 2008.

GORDIS, L. **Assessing the validity and reliability of diagnostic and screening tests**. 4^a eded. Saunders, Philadelphia: Epidemiolog, 2008.

GOSTIN, L.O; ABUBAKAR, I; GUERRA, R. The Lancet Commission on diagnostics : advancing equitable access to diagnostics. **The Lancet**, v. 393, p. 18–20, 2019. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)31052-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)31052-9)

GUEDES, D.P.; GUEDES, J.E.R.P. Tradução, adaptação transcultural e propriedades psicométricas do KIDSCREEN-52 para a população brasileira. **Revista Paulista de Pediatria**, v.29, n.3, p.364-371, 2011.

HALL-SCULLIN, E.; WHITEHEAD, H.; MILSOM, K.; TICKLE, M.; SU, T.L.; WALSH, T. Longitudinal Study of Caries Development from Childhood to Adolescence. **Journal of Dentistry Research**, v.96, n.7, p.762-7, 2017.

HOFMANN, Bjørn; WELCH, H Gilbert. New diagnostic tests : more harm than good. **British Medical Journal**, v. p. 1–7, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1136/bmj.i3314>

ISMAIL AI, PITTS NB, TELLEZ M, et al. The International Caries Classification and Management System (ICCMS™) An Example of a Caries Management Pathway. **Biomed Central Oral Health**, v.15, suppl, 1:S9, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1472-6831-15-S1-S9>

JOKOVIC, A.; LOCKER, D.; STEPHENS, M.; KENNY, D.; TOMPSON, B.; GUYATT, G. Validity and reliability of a questionnaire for measuring child oral-health-related quality of life. **Journal of Dental Research**, v.81, n.7, p.459-463, 2002.

KUHNISCH, J.; EKSTRAND, KR.; PRETTY, I.; TWETMAN, S.; VAN LOVEREN, C.; GIZANI, S et al. Best clinical practice guidance for management of early caries lesions in children and young adults: an EAPD policy document. **European Archives of Paediatric Dentistry**, v.17, n.1, p. 3-12, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s40368-015-0218-4>

LEONG, P.M.; GUSSY, M.G.; BARROW, S.Y.; DE SILVA-SANIGORSKI, A.; WATERS, E. A systematic review of risk factors during first year of life for early childhood caries. **International Journal of Paediatric Dentistry**, v.4,p.235-50, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-263X.2012.01260.x>

MARTIGNON, S.; PITTS, N.B.; GOFFIIN, G.; MAZEVET, M.; DOUGLAS, G.V.A.; NEWTON, J.T. Caries Care practice guide: consensus on evidence into practice. **British Dental Journal**. v. 227, n. 5, p.353-362; Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41415-019-0678-8>

MENDES, FM, TF NOVAES, R MATOS, DG BITTAR, et al. Radiographic and Laser Fluorescence Methods Have No Benefits for Detecting Caries in Primary Teeth. **Caries Research**. v, 46, p. 536–54, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1159/000341189>

MEJARE, I.; AXELSSON, S.; DAHLEN, G.; ESPELID, I.; NORLUND, A.; TRANAEUS, S., et al. Caries risk assessment. A systematic review. **Acta**

Odontologica Scandinavica, v.72, n.2, p.81-91, 2014. Disponível em:
<https://doi.org/10.3109/00016357.2013.822548>

MENEGAZ, Aryane Marques *et al.* Randomized clinical trial to evaluate two methods of caries risk assessment in schoolchildren: the CARDEC-PEL 04 study protocol. **BMC Oral Health**, v. 21, n. 1, p. 1–11, 2021. Disponível em:
<https://doi.org/10.1186/s12903-021-02010-3>

MORIYAMA, C. M *et al.* What diagnostic strategy performs better for caries lesion detection on proximal surfaces of adolescents? **Clinical Oral Investigations**. V.25, n.6, p. 13–15, 2021.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Levantamento Epidemiológico Básico de Saúde Bucal- Manual de Instruções**. 4ªed. Genebra: World Health Organization, 1997.

PETERSEN, Poul Erik. The World Oral Health Report 2003: Continuous improvement of oral health in the 21st century - The approach of the WHO Global Oral Health Programme. **Community Dentistry and Oral Epidemiology**, [s. l.], v. 31, n. SUPPL. 1, p. 3–24, 2003. Disponível em:
<https://doi.org/10.1046/j..2003.com122.x>

PITTS, N.B.; RICHARDS, D. Personalized treatment planning. **Monographs Oral Science**, v.21, p.128-43, 2009.

PITTS, N.B.; EKSTRAND, K.R.; FOUNDATION, I. International Caries Detection and Assessment System (ICDAS) and its International Caries Classification and Management System (ICCMS) - methods for staging of the caries process and enabling dentists to manage caries. **Community Dentistry Oral Epidemiology**, v.41, n.1, p.41-52, 2013.

PITTS, N.B.; ISMAIL, A.; MARTIGNON, S.; EKSTRAND, K.; DOUGLAS, G.; LONGBOTTOM, C. ICCMS™ Guide for Practitioners and Educators London: **ICCMS Caries management**; 2014. Available from: https://www.icdas.org/uploads/ICCMS-Guide_Full_Guide_With_Appendices_UK.pdf

PITTS, N.B.; ZERO, D.T.; MARSH, P.D.; EKSTRAND, K.; WEINTRAUB, J.A.; RAMOS-GOMEZ, F. **Dental caries. Nature Reviews Disease Primers**, v.3, n.17030, 2017.

PITTS N; BAEZ R; DIAZ-GUALLORY C. Early Childhood Caries. IAPD Bangkok Declaration. **International Journal of Paediatric Dentistry**, v. 29, n. 3, p. 384–386, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/ipd.12490>

PONTES, Laura R.A. *et al.* Impact of the radiographic method on treatment decisions related to dental caries in primary molars: a before–after study. **Clinical Oral Investigations**, v. 23, n. 11, p. 4075–4081, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00784-019-02844-w>

PONTES, Laura R.A. *et al.* Impact of visual inspection and radiographs for caries detection in children through a 2-year randomized clinical trial: The Caries Detection in Children–1 study. **Journal of the American Dental Association**, v. 151, n. 6, p. 407-415.e1, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.adaj.2020.02.008>

PONTES, Laura Regina A. *et al.* Negligible therapeutic impact, false-positives, overdiagnosis and lead-time are the reasons why radiographs bring more harm than benefits in the caries diagnosis of preschool children. **BMC Oral Health**, v. 21, n. 1, p. 1–17, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12903-021-01528-w>

QVIST, V.; POULSEN, A.; TEGLERS, P.T.; MJOR, I.A. The longevity of different restorations in primary teeth. **International Journal of Paediatric Dentistry**, v.20, n.1, p.1-7, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-263X.2009.01017.x>

ROLLNICK, S.; MILLER, W. R.; BUTLER, C. C. Entrevista motivacional no cuidado da saúde. São Paulo: Artmed, 2009.

SENNEBY, A.; MEJARE, I.; SAHLIN, N.E.; SVENSATER, G.; ROHLIN, M. Diagnostic accuracy of different caries risk assessment methods. A systematic review. **Journal of Dentistry**, v.43, n.12, p-1385-93, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2015.10.011>

SCHWENDICKE, F *et al.* Visual and radiographic caries detection : a tailored meta-analysis for two different settings. **Egypt and Germany**. p. 1–9, 2018.

SCHWENDICKE, F; TZSCHOPPE, M; PARIS, S. ScienceDirect Radiographic caries detection : A systematic review and meta-analysis. **Journal of Dentistry**, p. 1–10, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2015.02.009>

TELLEZ, M.; GOMEZ, J.; PRETTY, I.; ELLWOOD, R.; ISMAIL, A.I. Evidence on existing caries risk assessment systems: are they predictive of future caries? **Community Dentistry Oral Epidemiology**, v.41, n.1, p.67-78, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/cdoe.12003>

TICKLE, M.; BLINKHORN, A.S.; MILSOM, K.M. The occurrence of dental pain and extractions over a 3-year period in a cohort of children aged 3-6 years. **Journal of Public Health Dentistry**, v.68, n.2, p.63-9, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1752-7325.2007.00048.x>

TWETMAN, S.; FONTANA M. Patient caries risk assessment. **Monographs in Oral Science**, v.21, p.91-101, 2009.

TWETMAN, S.; FONTANA, M.; FEATHERSTONE, J.D. Risk assessment - can we achieve consensus? **Community Dentistry Oral Epidemiology**, v.41, n.1, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/cdoe.12026>

TWETMAN, S. Caries risk assessment in children: how accurate are we? **European Archives of Paediatric Dentistry**, v.17, n.1, p.27-32, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s40368-015-0195-7>

WEINSTEIN, P.; SPIEKERMAN, C.; MILGROM, P. Randomized equivalence trial of intensive and semiannual applications of fluoride varnish in the primary dentition. **Caries Research**, v.43, n.6, p.484-90, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1159/000264686>

ÇOLAK, H; DÜLGERGİL, Ç; DALLI, M; HAMIDI, M. Early childhood caries update: A review of causes, diagnoses, and treatments. **Journal of Natature Science Biology and Medice** v.4, p.29–38, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.4103/0976-9668.107257>

Apêndices

Apêndice A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Pesquisador responsável: Profa. Dra. Marina Sousa Azevedo

Prezados Pais ou Responsáveis:

Seu (sua) filho (a) está sendo convidado a participar de uma pesquisa, **“Benefícios da avaliação de risco de cárie individual e detalhada em crianças: Estudo Clínico Randomizado”**, na Clínica Infantil da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas.

O aceite para a participação da pesquisa é importante, pois além de trazer BENEFÍCIOS para a saúde bucal do seu filho, como prevenção e tratamento de cárie dentária, essa pesquisa irá ajudar a melhorar os protocolos de atendimentos de manejo e prevenção de cárie dentária em crianças, bem como estabelecer o tempo ideal para as consultas de retorno. A decisão de participar é VOLUNTÁRIA, o (a) Sr.(a) tem o direito de decidir sobre a participação do seu filho, bem como desistir a qualquer momento, e seu filho continuará recebendo tratamento nas clínicas de graduação sem nenhum prejuízo.

Os RISCOS a que seu filho estará sujeito serão os mesmos inerentes a qualquer tratamento dentário para cárie dentária, como algum desconforto pós-operatório.

Participar do estudo significa responder a um questionário e a criança passará por exame clínico e possíveis tratamentos dentários de acordo com suas necessidades, ainda poderá se submeter a exames radiográficos e/ou fotográficos para fins de diagnóstico e tratamento, como também consultas de acompanhamento. Será garantido sigilo absoluto quanto às informações pessoais assegurando a privacidade.

Por este instrumento de autorização assinado, dar-se pleno consentimento à Faculdade de Odontologia da UFPel, Departamento de Odontologia Social e Preventiva, por meio de seus professores e alunos devidamente autorizados, realizarem o acompanhamento e os procedimentos clínicos necessários no seu (sua) filho (a). Serei informado(a) e devidamente esclarecido(a) sobre quaisquer mudanças e/ou finalidades de cada etapa do tratamento proposto.

Em caso de dúvidas, entre em **contato**:

Faculdade de Odontologia, Unidade de clínica Infantil

Profa. Dra. Marina Sousa Azevedo / Telefone: (53) 3260-2825

e-mail: marinasazevedo@hotmail.com



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

Projeto: Benefícios da avaliação de risco de cárie individual e detalhada em crianças: Estudo Clínico Randomizado

Pesquisador responsável: Profa. Dra. Marina Sousa Azevedo

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Esta pesquisa tem como objetivo avaliar as condições de saúde bucal do seu filho (a), estabelecer o risco de cárie, avaliar a qualidade de vida relacionada à saúde bucal e geral, e realizar o tratamento odontológico necessário, que será acompanhado durante dois anos.

Gostaríamos de informar também que todas as informações obtidas são confidenciais, ou seja, o nome do seu (sua) filho (a) não constará em nenhuma análise. Como forma de manifestar seu consentimento à Faculdade de Odontologia da UFPel, Departamento de Odontologia Social e Preventiva, para, por meio de seus professores e alunos devidamente autorizados, realizarem os procedimentos clínicos necessários no seu (sua) filho (a), solicitamos que assine este documento. A outra via deste termo ficará com você.

Antecipadamente agradecemos a sua colaboração.

Contato: Programa de Pós-Graduação em Odontologia

Profa. Dra. Marina Sousa Azevedo

Telefone: (53) 3260-2825

Recebi as explicações sobre o estudo registradas nesse Termo de Consentimento.

Concordo com a participação do meu (minha) filho (a) na pesquisa.

Assinatura do responsável: _____

Documento (C.I ou CPF): _____

Pelotas, ____ de _____ de 201__.

Apêndice B- Termo de Assentimento Livre e Esclarecido

Você está sendo convidado a participar de um trabalho que irá avaliar as suas condições de saúde da boca e realizar tratamentos nos seus dentes quando necessário, com o objetivo de manter a saúde da sua boca.

Os seus responsáveis permitiram que você participasse, mas não obrigatoriamente você precisa participar das atividades se não quiser, é um direito seu e não terá nenhum problema em desistir. Se tiver alguma dúvida, nos pergunte.

Ninguém saberá que você está participando da pesquisa; não falaremos a outras pessoas, nem daremos a estranhos as informações que você nos der.

Você gostaria de participar?

() SIM () NÃO

Apêndice C- Ficha Clínica

FICHA CLÍNICA

Nome do Aluno (a):

BLOCO 1 – IDENTIFICAÇÃO	
1. Número de identificação:	[id]
2. Data: ____/____/____	[data]
3. Cartão SUS:	
3. Nome completo da criança:	[nome_c]
4. Idade da criança:	[idade_c]
5. Marque o sexo da criança: (0) Feminino (1) Masculino	[sexo_c]
6. Qual a cor da pele/raça do(a) seu filho(a)? (1) Branca (2) Parda (3) Preta (4) Indígena (5) Amarela	[cor_c]
7. Qual o seu nome completo? (Responsável pela criança - entrevistado):	[nome_r]
8. Qual o seu grau de parentesco com a CRIANÇA? (1) Mãe (2) Pai (3) Outro. Qual? _____	[parente]
9. Marque o sexo do entrevistado: (0) Feminino (2) Masculino	[sexo_r]
10. Qual a sua idade? _____ anos completos. (Responsável pela criança - entrevistado):	[idade_r]
11. Qual a cor da sua pele/raça? (1) Branca (2) Parda (3) Preta (4) Indígena (5) Amarela	[cor_r]
12. Até que série o Sr. (Sra.) estudou? Série _____ Grau _____	[escola_r]
13. Qual o seu estado civil? (0) Solteiro (1) Casado (2) Separado (3) Mora com companheiro (4) Viúvo	[civil_r]
14. Qual das alternativas melhor descreve a sua ocupação nos últimos seis meses? (0) Dono de casa (1) Empregado doméstico (2) Empregado de empresa (3) Autônomo (trabalho por conta própria) (4) Aposentado (5) Desempregado (6) Outro. Qual? _____	[ocupa_r]
15. Quantas pessoas moram na casa da criança?	[mora_c]
16. No último mês quanto receberam EM REAIS as pessoas que moram na sua casa (incluindo salários, pensões, mesada, aluguéis, salário desemprego, ticket alimentação, bolsa família, etc.)? _____	[renda]

17. Recebem ou já receberam o benefício do Bolsa Família? (0) Não (1) Sim	[bolsa]
18. Endereço 1 (Rua/Avenida, complemento, bairro, cidade, CEP) Ponto de referência próximo da sua casa:	
19. Telefone para contato celular e fixo: <i>Pedir mais de um telefone</i>	
20. Endereço 2 [Parentes ou amigos que possam ajudar a localizar] (Rua/Avenida, complemento, bairro, cidade, CEP) Ponto de referência próximo à casa:	
21. Telefone para contato celular e fixo de algum parente ou amigo: <i>Pedir mais de um telefone</i>	
BLOCO 2 – CUIDADORES Agora vamos fazer umas perguntas relacionadas a sua saúde bucal	
1. Você tem ou já teve algum dente afetado pela cárie dentária, restaurado ou perdido por cárie? (0) Não (1) Sim	[carie_p]
2. Tu tem/teria medo de ir ao dentista? (0) Não (1) Um pouco (2) Sim, teria (3) Sim, muito	[medo_1]
3. Qual dessas frases descreve melhor as suas consultas com o dentista: (0) Eu nunca vou ao dentista (1) Eu vou ao dentista quando tenho dor ou quando tenho um problema nos meus dentes ou na gengiva (2) Eu vou ao dentista às vezes, tendo um problema ou não (3) Eu vou ao dentista de maneira regular	[medo_2]
BLOCO 2 – HISTÓRIA MÉDICA Agora vamos falar um pouco sobre a saúde geral do(a) <CRIANÇA>	
1. A <CRIANÇA> tem algum problema de saúde? (0) Não (1) Sim Qual: _____	[saúde]
2. A <CRIANÇA> está em tratamento médico? (0) Não (1) Sim Qual: _____	[trat_m]
3. A <CRIANÇA> faz uso de medicamento? (0) Não (1) Sim Qual: _____	[med]

4. A <CRIANÇA> passou por intervenções cirúrgicas? (0) Não (1) Sim Qual: _____		[int_c]
5. A <CRIANÇA> possui alergia? (0) Não (1) Sim Qual: _____		[alergia]
BLOCO 3 – HÁBITOS ALIMENTARES		
Agora vamos falar um pouco sobre alguns hábitos alimentares do(a) <CRIANÇA>		
1. <CRIANÇA> mamou ou mama no peito?	(0) Não (1) Sim, mamou até _____ idade (2) Sim, ainda mama (99) Não sei	[mama_p]
2. <CRIANÇA> usou ou usa mamadeira?	(0) Não (1) Sim, até _____ de idade (2) Sim, ainda usa (99) Não sei	[mama_d]
3. Essa mamadeira continha ou contém engrossantes (fórmula, sustage), achocolatados (nescau, toddy)?	(0) Não (1) Sim, sempre (2) Sim, às vezes (99) Não sei (88) NSA	[mamadoce]
4. <CRIANÇA> toma ou tomava mamadeira para dormir?	(0) Não (1) Sim, sempre (2) Sim, às vezes (99) Não sei (88) NSA	[mamanoite]
5. Quantas vezes ao dia <CRIANÇA> consome alimentos e bebidas açucaradas <u>entre as refeições</u> ?	(0) Nunca come (1) Menos de 1 vez ao dia (2) Uma vez ao dia (3) Duas vezes ao dia (4) Três vezes ao dia ou mais (99) Não sei	[doce]
BLOCO 3 – CONSULTA ODONTOLÓGICA		
Vamos falar um pouco sobre as consultas do(a) seu/sua filho(a) com o dentista		
1. <CRIANÇA> já foi no dentista?	(0) Não (1) Sim: Idade da primeira consulta _____	[odonto1]
2. Tu achas que a <CRIANÇA> tem/teria medo de ir ao dentista?	(0) Não (1) Um pouco (2) Sim, teria (3) Sim, muito	[medo_3]
2. Qual foi o principal motivo da primeira consulta com um dentista?	(0) Receber orientações e prevenção (1) Cárie (2) Trauma (3) Outro: Qual _____	[odonto2]
3. <CRIANÇA> já realizou tratamento odontológico?	(0) Não (1) Sim	[odonto3]
4. Como foi o comportamento da <CRIANÇA>?	(0) Definitivamente Negativo, não permitiu (1) Negativo, mas permitiu (2) Definitivamente Positivo, permitiu sem resistência (3) Positivo, com pouca resistência	[odonto4]

5. <CRIANÇA> já realizou anestesia odontológica?	(0) Não (1) Sim (99) Não sei	[odonto5]
BLOCO 3 – HÁBITOS DE SAÚDE BUCAL Agora vamos falar um pouco sobre a saúde bucal do(a) <CRIANÇA>		
2. Que opção melhor descreve como <CRIANÇA> escova seus dentes atualmente? <i>Se não escova pular as perguntas seguintes</i>	(0) Não escova (1) Os pais/responsáveis escovam (2) A criança escova, mas o responsável ajuda (3) A criança escova sozinha (4) Outro _____ (99) Não sei (88) NSA	[escov1]
3. A <CRIANÇA> usa pasta de dente?	(0) Não (1) Sim (99) Não sei	[pasta_1]
4. A pasta de dente tem flúor? <i>(pedir para trazer se não souber marca)</i>	(0) Não (1) Sim. Se sim, qual a marca: _____ (99) Não sei (88) NSA	[flúor]
5. Com que frequência a <CRIANÇA> escova os dentes?	(0) Menos de 1x/dia (1) 1 x/dia (2) 2 x ou mais/dia (99) Não sei (88) NSA	[freq_esc]
6. Qual a quantidade de pasta de dente que coloca na escova <i>(Marcar o desenho mais adequado para você)</i>	 (1) (2) (3)	[pasta_2]
7. Qual o tipo de água que vocês consomem?	(1) Água de poço (2) Galão ou outra (3) Encanada (SANEP)	[agua]

Data: __/__/__

Número de identificação: _____

CÁRIE	17	16	55/15	54/14	53/13	52/12	51/11	61/21	62/22	63/23	64/24	65/25	26	27	Placa visível				
																52/12	51/11	61/21	62/22
D																			
O																			
M																			
V																			
L/P																			
RESTA																			
D																			
O																			
M																			
V																			
L/P																			
PUFA																			

CÁRIE	47	46	85/45	84/44	83/43	82/42	81/41	71/31	72/32	73/33	74/34	75/35	36	37	Placa visível		
																Cód.	Descrição
D																0	Ausente
O																1	Presente
M																9	Impossível avaliar*
V																	
L/P																	
RESTA																	
D																	
O																	
M																	
V																	
L/P																	
PUFA																	

CÁRIE-ICDAS	Cód.	Descrição
	0	Sem alteração na translucidez do esmalte após secagem de 5s
	1	Opacidade visível após secagem de 5s
	2	Opacidade visível na presença de umidade
	3	Cavidade em esmalte
	4	Sombreamento da dentina subjacente
	5	Cavidade em esmalte c/exposição da dentina
6	Cavitação com exposição da dentina > metade da superfície	

RESTAURAÇÃO-ICDAS	Cód.	Descrição
	0	Sadio, sem restauração
	1	Selante parcial
	2	Selante total
	3	Restauração com cor de dente
	4	Restauração de amálgama
	5	Coroa de aço/metálica
6	Coroa de porcelana ou ouro ou RMF ou veneer	
7	Restauração perdida ou deficiente/fraturada	
8	Restauração provisória/temporária	

ATIVIDADE DE CÁRIE:	+	ATIVA
	-	INATIVA

DENTES AUSENTES	Cód.	Descrição
	96	Superfície não pode ser examinada: excluída
	97	Dente ausente devido lesão de cárie
	98	Dente ausente por outras razões
	99	Não erupcionado

Anexos

Anexo A - Escala comportamental de Frankl

I – Definitivamente negativo	A criança recusa-se a ser tratada, choro forçado, expressando de medo ou qualquer outra característica de negativismo. É o pior comportamento possível.
II – Negativo	Relutante em aceitar o tratamento, não coopera. A criança fica emburrada ou retraída. Há evidência de atitude negativa, mas não constante.
III – Positivo	Aceitação do tratamento: às vezes cautelosa, a criança tem boa vontade de cooperar com o dentista, às vezes reclama, mas segue as instruções. Atitude meio reservada.
IV. Definitivamente positivo	É a criança completamente colaboradora. Tem boa comunicação com o dentista. Interessa-se pelos procedimentos odontológicos. Ri e sorri e aprecia a situação.

Anexo B- Recordatório 24 horas

Guia para aplicação do recordatório 24 horas:

1) Administrando a entrevista

- Permanecer neutro. Durante a coleta de dados, o entrevistador não deve transparecer censura, surpresa, reprovação ou aprovação, bem como não são permitidas atitudes de aconselhamento.
- Não encorajar conversas que não tenham relação com a entrevista. Se o indivíduo se distanciar dos propósitos do estudo, responda diretamente (p.ex., dizendo “sim” ou “não”).

2) Conduzindo o recordatório

1º Passo - Listagem dos Alimentos e Bebidas: Anote todos os alimentos e bebidas consumidas bem como quantidades e volume no dia anterior, por exemplo: uma fatia de pão, meia banana, um pacote de biscoito, dois sucos de caixinha, leite com nescau (2 colheres), massa com molho, 2 pedaços de carne de frango.

Exemplo de perguntas:

- “No dia de ontem, quais foram os alimentos e bebidas que o(a) Sr(a) consumiu desde a hora em que levantou até a hora em que foi dormir?”
- “O(A) Sr(a) se recorda de ter consumido algum outro alimento ou bebida?”

2º Passo – Detalhamento dos alimentos: Pergunte como foram os preparos das comidas e anote ao lado do alimento, por exemplo: ovo cozido, carne de frango grelhado ou frito, pão caseiro ou industrializado, suco de fruta ou caixinha.

Exemplo de perguntas:

- Quanto à procedência: perguntar “O(A) _____ (alimento em questão) foi preparado em casa ou foi comprado?”
- “O(A) Sr(a) adicionou algo ao café (ou à outra bebida)?” ou “O(A) Sr(a) acrescentou algum tempero ou molho à salada?”

*Observação: Não se esqueça de perguntar dos alimentos consumidos entre as refeições: balas, pirulitos, sorvetes etc.

RECORDATÓRIO 24 HORAS

Nome: _____ Data: ____ / ____ / ____

CAFÉ DA MANHÃ

LANCHE DA MANHÃ

ALMOÇO

LANCHE DA TARDE

JANTAR

CEIA

Anexo C- Questionário de Frequência Alimentar

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
Questionário de Frequência Alimentar

Nome: _____ Nquest: _____ Idade: _____

Agora vamos falar sobre a sua alimentação. O que nos interessa é saber como tem sido a sua alimentação desde <mês do ano passado>. Vou listar alguns alimentos e peço que você me diga se **comeu esses alimentos, quantas vezes e a quantidade**.

Alimento	Comeu alguma vez?	Quantas vezes?	Com que frequência?	Porção média	Porção		
					Menos	Igual	Mai s
Açúcar de adição	(0) Não	(1) Sim 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	3 c de chá	☐	☐	☐
Água com gás	(0) Não	(1) Sim 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	1 garrafa	☐	☐	☐
Achocolatado (Toddyinho, Nescau)	(0) Não	(1) Sim 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	1 unidade	☐	☐	☐
Bala/ caramelo/ toffee/ pirulito	(0) Não	(1) Sim 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	4 unidades	☐	☐	☐
Barra de cereal	(0) Não	(1) Sim 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	1 unidade	☐	☐	☐
Batata frita/batata palha	(0) Não	(1) Sim 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	1 pires	☐	☐	☐
Bebidas alcoólicas (vinho, cerveja)	(0) Não	(1) Sim 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	2 latas/1 taça	☐	☐	☐
Bebidas esportivas (Gatorade)	(0) Não	(1) Sim 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M A	1 garrafa	☐	☐	☐

Biscoito doce	(0) Não	(1) Sim	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	5 unidades	○	○	○
Bolo/cuca/pão doce	(0) Não	(1) Sim	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 fatia grande	○	○	○
Bolacha recheada	(0) Não	(1) Sim	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	5 unidades	○	○	○
Café/chá	(0) Não	(1) Sim	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 xícara	○	○	○
Cereal matinal	(0) Não	(1) Sim	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 xícara	○	○	○
Chiclete	(0) Não	(1) Sim	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	5 unidades	○	○	○
Chocolate em barra ou bombom	(0) Não	(1) Sim	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 barra pequena ou 1 bombom	○	○	○
Chocolate em pó (Nescau, Toddy)	(0) Não	(1) Sim	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	2 c sopa	○	○	○
Doces assados (cueca virada, croissant, Sonho)	(0) Não	(1) Sim	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 unidade	○	○	○
Doces em geral/negrinho/ Branquinho	(0) Não	(1) Sim	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 unidade	○	○	○
Energético	(0) Não	(1) Sim	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 lata	○	○	○
Enlatados/conserva (Pepino, pimenta)	(0) Não	(1) Sim	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 c sopa	○	○	○

Frutas ácidas/suco (limão, Laranja, maçã, Bergamota, banana, uva)	(0) Não	(1) Sim	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 unidade e/ 1 copo	○	○	○
Frutas secas/cristalizadas	(0) Não	(1) Sim	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 punhado	○	○	○
Geleia/chimia/ Marmelada	(0) Não	(1) Sim	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	3 c sopa	○	○	○
Iogurte/bebida láctea (adoçados)	(0) Não	(1) Sim	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 pote ou 1 copo	○	○	○
Ketchup/mostarda	(0) Não	(1) Sim	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 c sopa	○	○	○
Molho de tomate	(0) Não	(1) Sim	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 c sopa	○	○	○
Mel	(0) Não	(1) Sim	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 c sopa	○	○	○
Pipoca doce/amendoim/ Pipoca com leite condensado	(0) Não	(1) Sim	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 saco/ 1 pacote	○	○	○
Rapadura	(0) Não	(1) Sim	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 unidade	○	○	○
Refrigerante/chá industrializado/ suco de caixa ou pó	(0) Não	(1) Sim	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 copo	○	○	○
Refrigerante/chá industrializado/ suco de caixa ou pó(light/ zero)	(0) Não	(1) Sim	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 copo	○	○	○

Salgadinho (chips)	(0) Não	(1) Sim	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 pacote	○	○	○
Sobremesas doces (pudim/Ambrosia)	(0) Não	(1) Sim	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 fatia pequena/ 2 c sopa	○	○	○
Sorvete/picolé/sacolé	(0) Não	(1) Sim	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	2 bolas/ 1 picolé	○	○	○
Vinagre e molhos para tempero para salada	(0) Não	(1) Sim	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 c sopa	○	○	○

Anexo D- CPQ

Questionário de Saúde Bucal Infantil CPQ- 8-10 anos

Nome: _____

Nº id: _____

Instruções ao entrevistador:

1. Para responder à questão, circule a resposta dada pelo entrevistado.

2. Leia as perguntas para o entrevistado na forma como ela se apresentam no questionário

3. Caso o entrevistado não entenda a pergunta, você pode repeti-la. Se ainda assim ele não entender, você pode explicar o que quer saber com essa pergunta.

AGORA VOU FAZER ALGUMAS PERGUNTAS SOBRE SEUS DENTES, SUA BOCA. Pense em suas experiências no último mês quando você for respondê-las.

Experiências no último mês quando você foi respondido (a):						
1.Você acha que os seus dentes e a sua boca são:	[0] Muito bons	[1] Bons	[2] Mais ou menos	[3] Ruins	[qv810_1]	
2.Quanto os seus dentes ou a sua boca te incomodam?	[0] Não incomodam	[1] Quase nada	[2] Um pouco	[3] Muito	[qv810_2]	
NO ULTIMO MÊS, QUANTAS VEZES:						
3.Você sentiu dor de dentes ou na boca?	[0] Nunca	[1] Uma ou duas vezes	[2] Algumas vezes	[3] Frequentemente	[4] Todos os dias/quase todos os dias	[qv810_3]
4.Você teve feridas na sua boca?	[0] Nunca	[1] Uma ou duas vezes	[2] Algumas vezes	[3] Frequentemente	[4] Todos os dias/quase todos os dias	[qv810_4]
5.Você sentiu dor nos seus dentes quando comeu alguma coisa ou bebeu alguma coisa gelada?	[0] Nunca	[1] Uma ou duas vezes	[2] Algumas vezes	[3] Frequentemente	[4] Todos os dias/quase todos os dias	[qv810_5]
6.A comida ficou agarrada em seus dentes?	[0] Nunca	[1] Uma ou duas vezes	[2] Algumas vezes	[3] Frequentemente	[4] Todos os dias/quase todos os dias	[qv810_6]
7.Você ficou com cheiro ruim na sua boca ?	[0] Nunca	[1] Uma ou duas vezes	[2] Algumas vezes	[3] Frequentemente	[4] Todos os dias/quase todos os dias	[qv810_7]
8.Você gastou mais tempo do que os outros para comer sua comida por causa de seus dentes ou de sua boca?	[0] Nunca	[1] Uma ou duas vezes	[2] Algumas vezes	[3] Frequentemente	[4] Todos os dias/quase todos os dias	[qv810_8]
9.Você teve dificuldade para morder ou mastigar comidas mais duras	[0] Nunca	[1] Uma ou	[2] Algumas vezes	[3] Frequentemente	[4] Todos os dias/quase	[qv810_9]

como: maçã, pão, milho ou carne, por causa de seus dentes ou de sua boca?		duas vezes			todos os dias	
10. Foi difícil para você comer o que você queria por causa dos seus dentes ou de sua boca?	[0] Nunca	[1] Uma ou duas vezes	[2] Algumas vezes	[3] Frequentemente	[4] Todos os dias/quase todos os dias	[qv810_10]
11.Você teve problemas para falar por causa dos seus dentes ou de sua boca?	[0] Nunca	[1] Uma ou duas vezes	[2] Algumas vezes	[3] Frequentemente	[4] Todos os dias/quase todos os dias	[qv810_11]
12.Você teve problemas para dormir à noite por causa dos seus dentes ou de sua boca?	[0] Nunca	[1] Uma ou duas vezes	[2] Algumas vezes	[3] Frequentemente	[4] Todos os dias/quase todos os dias	[qv810_12]
13.Você ficou chateado por causa dos seus dentes ou de sua boca?	[0] Nunca	[1] Uma ou duas vezes	[2] Algumas vezes	[3] Frequentemente	[4] Todos os dias/quase todos os dias	[qv810_13]
14.Você ficou com vergonha por causa dos seus dentes ou de sua boca?	[0] Nunca	[1] Uma ou duas vezes	[2] Algumas vezes	[3] Frequentemente	[4] Todos os dias/quase todos os dias	[qv810_14]
15.Você se sentiu triste por causa dos seus dentes ou de sua boca?	[0] Nunca	[1] Uma ou duas vezes	[2] Algumas vezes	[3] Frequentemente	[4] Todos os dias/quase todos os dias	[qv810_15]
16.Você ficou preocupado (a) com o que as outras pessoas pensam sobre seus dentes ou sua boca?	[0] Nunca	[1] Uma ou duas vezes	[2] Algumas vezes	[3] Frequentemente	[4] Todos os dias/quase todos os dias	[qv810_16]
17.Você achou que você não era tão bonito quanto outras pessoas por causa dos seus dentes ou de sua boca?	[0] Nunca	[1] Uma ou duas vezes	[2] Algumas vezes	[3] Frequentemente	[4] Todos os dias/quase todos os dias	[qv810_17]
18.Você faltou à aula por causa dos seus dentes ou de sua boca?	[0] Nunca	[1] Uma ou duas vezes	[2] Algumas vezes	[3] Frequentemente	[4] Todos os dias/quase todos os dias	[qv810_18]
19.Você teve problemas para fazer seu dever de casa por causa dos seus dentes ou de sua boca?	[0] Nunca	[1] Uma ou duas vezes	[2] Algumas vezes	[3] Frequentemente	[4] Todos os dias/quase todos os dias	[qv810_19]
20.Você teve dificuldade para prestar atenção na aula por causa dos seus dentes ou de sua boca?	[0] Nunca	[1] Uma ou duas vezes	[2] Algumas vezes	[3] Frequentemente	[4] Todos os dias/quase todos os dias	[qv810_20]

Questionário de Saúde Bucal Infantil CPQ- 11-14 anos

Nome: _____

N^a id: _____**Instruções ao entrevistador:**

1. Para responder à questão, circule a resposta dada pelo entrevistado.
2. Leia as perguntas para o entrevistado na forma como ela se apresentam no questionário
3. Caso o entrevistado não entenda a pergunta, você pode repeti-la. Se ainda assim ele não entender, você pode explicar o que quer saber com essa pergunta.

AGORA VOU FAZER ALGUMAS PERGUNTAS SOBRE SEUS DENTES, SUA BOCA. Pense em suas experiências nos últimos 3 meses quando você for respondê-las.

1.Você diria que a saúde de seus dentes, lábios, maxilares e boca é:	[0] Excelente	[1] Muito boa	[2] Boa	[3] Regular	[4] Ruim	[qv1114_1]
2.Até que ponto a condição dos seus dentes, lábios, maxilares e boca afetam sua vida em geral?	[0] De jeito nenhum	[1] Um pouco	[2] Moderadamente	[3] Bastante	[4] Muitoíssimo	[qv1114_2]
NOS ÚLTIMOS 3 MESES, COM QUE FREQUÊNCIA VOCÊ TEVE?						
3.Dor nos seus dentes, lábios, maxilares ou boca?	[0] Nunca	[1] Uma ou duas vezes	[2] Algumas vezes	[3] Frequentemente	[4] Todos os dias/quase todos os dias	[qv1114_3]
4.Feridas na boca?	[0] Nunca	[1] Uma ou duas vezes	[2] Algumas vezes	[3] Frequentemente	[4] Todos os dias/quase todos os dias	[qv1114_4]
5.Mau hálito?	[0] Nunca	[1] Uma ou duas vezes	[2] Algumas vezes	[3] Frequentemente	[4] Todos os dias/quase todos os dias	[qv1114_5]
6. Restos de alimentos presos dentro ou entre os seus dentes?	[0] Nunca	[1] Uma ou duas vezes	[2] Algumas vezes	[3] Frequentemente	[4] Todos os dias/quase todos os dias	[qv1114_6]
7.Demorou mais que os outros para terminar sua refeição por causa de seus dentes, lábios ou boca?	[0] Nunca	[1] Uma ou duas vezes	[2] Algumas vezes	[3] Frequentemente	[4] Todos os dias/quase todos os dias	[qv1114_7]
8.Dificuldade para morder	[0] Nunca	[1] Uma	[2] Algumas vezes	[3] Frequentemente	[4]	[qv1114_8]

ou mastigar alimentos como maçãs, espiga de milho ou Carne por causa de seus dentes, lábios ou boca?		ou duas vezes			Todos os dias/quase todos os dias	
9.Dificuldades para dizer algumas palavras por causa de seus dentes, lábios ou boca?	[0] Nunca	[1] Uma ou duas vezes	[2] Algumas vezes	[3] Frequentemente	[4] Todos os dias/quase todos os dias	[qv1114_9]
10.Dificuldades para beber ou comer alimentos quentes ou frios por causa de seus dentes, lábios ou boca?	[0] Nunca	[1] Uma ou duas vezes	[2] Algumas vezes	[3] Frequentemente	[4] Todos os dias/quase todos os dias	[qv1114_10]
11.Ficou irritado (a) ou frustrado (a) por causa de seus dentes, lábios ou boca?	[0] Nunca	[1] Uma ou duas vezes	[2] Algumas vezes	[3] Frequentemente	[4] Todos os dias/quase todos os dias	[qv1114_11]
12.Ficou tímido, constrangido ou com vergonha por causa de seus dentes, lábios ou boca?	[0] Nunca	[1] Uma ou duas vezes	[2] Algumas vezes	[3] Frequentemente	[4] Todos os dias/quase todos os dias	[qv1114_12]
13.Ficou chateado por causa de seus dentes, lábios ou boca?	[0] Nunca	[1] Uma ou duas vezes	[2] Algumas vezes	[3] Frequentemente	[4] Todos os dias/quase todos os dias	[qv1114_13]
14.Ficou preocupado com o que as outras pessoas pensam sobre seus dentes, lábios, boca ou maxilares?	[0] Nunca	[1] Uma ou duas vezes	[2] Algumas vezes	[3] Frequentemente	[4] Todos os dias/quase todos os dias	[qv1114_14]
NOS ÚLTIMOS 3 MESES, COM QUE FREQUÊNCIA VOCÊ:						
15.Evitou sorrir ou dar risadas quando está com outras crianças por	[0] Nunca	[1] Uma ou duas vezes	[2] Algumas vezes	[3] Frequentemente	[4] Todos os dias/quase todos os dias	[qv1114_15]

causa de seus dentes, lábios ou boca?						
16.Discutiu com outras crianças ou pessoas de sua família por causa de seus dentes, lábios ou boca?	[0] Nunca	[1] Uma ou duas vezes	[2] Algumas vezes	[3] Frequentemente	[4] Todos os dias/quase todos os dias	[qv1114_16]
17.Outras crianças lhe aborreceram ou lhe chamaram por apelidos por causa de seus dentes, lábios ou boca ?	[0] Nunca	[1] Uma ou duas vezes	[2] Algumas vezes	[3] Frequentemente	[4] Todos os dias/quase todos os dias	[qv1114_17]
18.Outras crianças lhe fizeram perguntas sobre seus dentes, lábios, maxilares e boca?	[0] Nunca	[1] Uma ou duas vezes	[2] Algumas vezes	[3] Frequentemente	[4] Todos os dias/quase todos os dias	[qv1114_18]

Anexo E - Questionário qualidade de vida relacionada à saúde KIDSCREEN-52

KIDSCREEN-52		
QUALIDADE DE VIDA RELACIONADA À SAÚDE		
Questionário para crianças e jovens (8 a 18 anos)		
Olá! Como está? Como você se sente? Isto é o que queremos saber de você. Por favor, fique atento (a) a cada pergunta enquanto pensa em sua resposta. Procure recordar a última semana, ou seja, os últimos 7 dias. Qual é a resposta que primeiro ocorre a você? Escolha a opção que acredita ser melhor para você e responda para mim. Lembre-se: Isto não é uma prova. Não existem respostas certas ou erradas. Porém, é importante que responda todas as perguntas. Não comente suas respostas com ninguém. Ninguém mais, além de nós, terá acesso as suas respostas.		
Você tem alguma deficiência, doença ou problema médico crônico?	(0) Não (1) Sim: _____ Qual?	[ki_0]
1. Saúde e Atividade Física		
De maneira geral, como descreve a sua saúde?	(1) Excelente (2) Muito boa (3) Boa (4) Regular (5) Mal	[ki_1]
<i>Considerando a última semana...</i>		
Você se sentiu bem e em boa forma?	(0) Nada (1) Um pouco (2) Moderadamente (3) Muito (4) MUITÍSSIMO	[ki_2]
Você foi ativo/a fisicamente? (por exemplo, correu, andou de bicicleta, etc.)?	(0) Nada (1) Um pouco (2) Moderadamente (3) Muito (4) MUITÍSSIMO	[ki_3]
Você foi capaz de correr ("brincadeiras de corrida")?	(0) Nada (1) Um pouco (2) Moderadamente (3) Muito (4) MUITÍSSIMO	[ki_4]
<i>Considerando a última semana...</i>		
Você se sentiu com muita energia/ disposição?	(0) Nunca (1) Quase nunca (2) Algumas vezes (3) Quase sempre (4) Sempre	[ki_5]
2. Sentimentos		
<i>Considerando a última semana...</i>		
Sua vida tem sido agradável?	(0) Nada (1) Um pouco (2) Moderadamente (3) Muito (4) MUITÍSSIMO	[ki_6]
Você se sentiu bem por estar vivo/a?	(0) Nada (1) Um pouco (2) Moderadamente (3) Muito (4) MUITÍSSIMO	[ki_7]
Você se sentiu satisfeito/a com a sua vida?	(0) Nada (1) Um pouco (2) Moderadamente (3) Muito (4) MUITÍSSIMO	[ki_8]
<i>Considerando a última semana...</i>		
Você se sentiu de bom humor?	(0) Nunca (1) Quase nunca (2) Algumas vezes (3) Quase sempre (4) Sempre	[ki_9]
Você se sentiu alegre?	(0) Nunca (1) Quase nunca (2) Algumas vezes (3) Quase sempre (4) Sempre	[ki_10]
Você se divertiu?	(0) Nunca (1) Quase nunca (2) Algumas vezes (3) Quase sempre (4) Sempre	[ki_11]

3. Estado emocional	
<i>Considerando a última semana...</i>	
Você se sentiu como estivesse feito tudo errado? (0) Nunca (1) Quase nunca (2) Algumas vezes (3) Quase sempre (4) Sempre	[ki_12]
Você se sentiu triste? (0) Nunca (1) Quase nunca (2) Algumas vezes (3) Quase sempre (4) Sempre	[ki_13]
Você se sentiu tão mal que não queria fazer nada? (0) Nunca (1) Quase nunca (2) Algumas vezes (3) Quase sempre (4) Sempre	[ki_14]
Você se sentiu como tudo em sua vida estava mal? (0) Nunca (1) Quase nunca (2) Algumas vezes (3) Quase sempre (4) Sempre	[ki_15]
Você se sentiu farto/a (cheio/a)? (0) Nunca (1) Quase nunca (2) Algumas vezes (3) Quase sempre (4) Sempre	[ki_16]
Você se sentiu sozinho? (0) Nunca (1) Quase nunca (2) Algumas vezes (3) Quase sempre (4) Sempre	[ki_17]
Você se sentiu pressionado (“estressado”)? (0) Nunca (1) Quase nunca (2) Algumas vezes (3) Quase sempre (4) Sempre	[ki_18]
4. Auto percepção	
<i>Considerando a última semana...</i>	
Você se sentiu contente com a sua maneira de ser? (0) Nunca (1) Quase nunca (2) Algumas vezes (3) Quase sempre (4) Sempre	[ki_19]
Você se sentiu contente com as suas roupas? (0) Nunca (1) Quase nunca (2) Algumas vezes (3) Quase sempre (4) Sempre	[ki_20]
Você esteve preocupado/a com a sua aparência? (0) Nunca (1) Quase nunca (2) Algumas vezes (3) Quase sempre (4) Sempre	[ki_21]
Você sentiu inveja da aparência de seus colegas? (0) Nunca (1) Quase nunca (2) Algumas vezes (3) Quase sempre (4) Sempre	[ki_22]
Você gostaria de mudar alguma parte do seu corpo? (0) Nunca (1) Quase nunca (2) Algumas vezes (3) Quase sempre (4) Sempre	[ki_23]
5. Autonomia e tempo livre	
<i>Considerando a última semana...</i>	
Você teve tempo suficiente para você mesmo? (0) Nunca (1) Quase nunca (2) Algumas vezes (3) Quase sempre (4) Sempre	[ki_24]
Você fez o que gosta de fazer no seu tempo livre? (0) Nunca (1) Quase nunca (2) Algumas vezes (3) Quase sempre (4) Sempre	[ki_25]
Você teve oportunidade suficiente de estar ao ar livre? (0) Nunca (1) Quase nunca (2) Algumas vezes (3) Quase sempre (4) Sempre	[ki_26]
Você teve tempo suficiente para encontrar os amigos/as? (0) Nunca (1) Quase nunca (2) Algumas vezes (3) Quase sempre (4) Sempre	[ki_27]
Você escolheu o que fazer no seu tempo livre? (0) Nunca (1) Quase nunca (2) Algumas vezes (3) Quase sempre (4) Sempre	[ki_28]
6. Família e ambiente familiar	
<i>Considerando a última semana...</i>	

Seus pais entendem você? (0) Nada (1) Um pouco (2) Moderadamente (3) Muito (4) MUITÍSSIMO	[ki_29]
Você se sentiu amado/a pelos seus pais? (0) Nada (1) Um pouco (2) Moderadamente (3) Muito (4) MUITÍSSIMO	[ki_30]
<i>Considerando a última semana...</i>	
Você se sentiu feliz em sua casa? (0) Nunca (1) Quase nunca (2) Algumas vezes (3) Quase sempre (4) Sempre	[ki_31]
Seus pais tiveram tempo suficiente para você? (0) Nunca (1) Quase nunca (2) Algumas vezes (3) Quase sempre (4) Sempre	[ki_32]
Seus pais trataram você de forma justa? (0) Nunca (1) Quase nunca (2) Algumas vezes (3) Quase sempre (4) Sempre	[ki_33]
Você conversou com seus pais como você queria? (0) Nunca (1) Quase nunca (2) Algumas vezes (3) Quase sempre (4) Sempre	[ki_34]
7. Aspectos financeiros	
<i>Considerando a última semana...</i>	
Você teve dinheiro suficiente para fazer as mesmas coisas que os seus amigos/as fazem? (0) Nunca (1) Quase nunca (2) Algumas vezes (3) Quase sempre (4) Sempre	[ki_35]
Você teve dinheiro suficiente para os seus gastos? (0) Nunca (1) Quase nunca (2) Algumas vezes (3) Quase sempre (4) Sempre	[ki_36]
<i>Considerando a última semana...</i>	
Você teve dinheiro suficiente para fazer o que deseja com seus amigos/as? (0) Nada (1) Um pouco (2) Moderadamente (3) Muito (4) MUITÍSSIMO	[ki_37]
8. Amigos e apoio social	
<i>Considerando a última semana...</i>	
Você teve tempo suficiente para ficar com seus amigos/as? (0) Nunca (1) Quase nunca (2) Algumas vezes (3) Quase sempre (4) Sempre	[ki_38]
Você realizou atividades com outros jovens? (0) Nunca (1) Quase nunca (2) Algumas vezes (3) Quase sempre (4) Sempre	[ki_39]
Você se divertiu com seus amigos/as? (0) Nunca (1) Quase nunca (2) Algumas vezes (3) Quase sempre (4) Sempre	[ki_40]
Você e seus amigos/as se ajudaram uns/umas aos outros/as? (0) Nunca (1) Quase nunca (2) Algumas vezes (3) Quase sempre (4) Sempre	[ki_41]
Você falou o que queria com seus amigos/as? (0) Nunca (1) Quase nunca (2) Algumas vezes (3) Quase sempre (4) Sempre	[ki_42]
Você sentiu que pode confiar em seus amigos/as? (0) Nunca (1) Quase nunca (2) Algumas vezes (3) Quase sempre (4) Sempre	[ki_43]
9. Ambiente escolar	
<i>Considerando a última semana...</i>	
Você se sentiu feliz na escola? (0) Nada (1) Um pouco (2) Moderadamente (3) Muito (4) MUITÍSSIMO	[ki_44]
Você foi bom/boa aluno/a na escola? (0) Nada (1) Um pouco (2) Moderadamente (3) Muito (4) MUITÍSSIMO	[ki_45]
Você se sentiu satisfeito/a com seus professores? (0) Nada (1) Um pouco (2) Moderadamente (3) Muito (4) MUITÍSSIMO	[ki_46]
<i>Considerando a última semana...</i>	

Você foi capaz de prestar atenção nas aulas? (0) Nunca (1) Quase nunca (2) Algumas vezes (3) Quase sempre (4) Sempre	[ki_47]
Você gostou de ir à escola? (0) Nunca (1) Quase nunca (2) Algumas vezes (3) Quase sempre (4) Sempre	[ki_48]
Você teve uma boa relação com seus professores? (0) Nunca (1) Quase nunca (2) Algumas vezes (3) Quase sempre (4) Sempre	[ki_49]
10. Provocação/Bullying	
<i>Considerando a última semana...</i>	
Você sentiu medo de outros jovens? (0) Nunca (1) Quase nunca (2) Algumas vezes (3) Quase sempre (4) Sempre	[ki_50]
Outros jovens zombaram (“gozaram”) você? (0) Nunca (1) Quase nunca (2) Algumas vezes (3) Quase sempre (4) Sempre	[ki_51]
Outros jovens intimidaram ou ameaçaram você? (0) Nunca (1) Quase nunca (2) Algumas vezes (3) Quase sempre (4) Sempre	[ki_52]

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Faculdade de Odontologia

Programa de Pós-Graduação em Odontologia



Tese

Influência da técnica de instrumentação e do grau de curvatura radicular de molares
na frequência de falhas técnicas de tratamentos endodônticos realizados na
graduação - Estudo observacional retrospectivo

Carolina Clasen Vieira

Pelotas, 2022

CAROLINA CLASEN VIEIRA

Influência da técnica de instrumentação e do grau de curvatura radicular de molares na frequência de falhas técnicas de tratamentos endodônticos realizados na graduação - Estudo observacional retrospectivo

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito para obtenção do título de Doutora em Odontologia, Área de concentração Clínica Odontológica, Ênfase em Endodontia.

Orientadora: Prof^a Dr^a Fernanda Geraldo Pappen

Co-orientadora: Prof^a Dr^a Tatiana Pereira Cenci

Pelotas, 2022

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

V658i Vieira, Carolina Clasen

Influência da técnica de instrumentação e do grau de curvatura radicular de molares na frequência de falhas técnicas de tratamentos endodônticos realizados na graduação : estudo observacional retrospectivo / Carolina Clasen Vieira ; Fernanda Geraldo Pappen, orientadora ; Tatiana Pereira Cenci, coorientadora. — Pelotas, 2022.
67 f.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Clínica Odontológica - ênfase em Endodontia, Odontologia, Universidade Federal de Pelotas, 2022.

1. Falhas técnicas. 2. Curvatura radicular. 3. Preparo do canal radicular. 4. Tratamento endodôntico. 5. Qualidade técnica de estudantes de graduação. I. Pappen, Fernanda Geraldo, orient. II. Cenci, Tatiana Pereira, coorient. III. Título.

Black : D24



Banca Examinadora:

Prof^a. Dr^a Fernanda Geraldo Pappen (Presidente)

Doutora em Endodontia pela Universidade Estadual Paulista (UNESP) – Araraquara

Prof^a. Dr^a. Nadia de Souza Ferreira

Doutora em Endodontia pela Universidade Estadual Paulista (UNESP) – São José dos Campos

Prof^a. Dr^a Patrícia Maria Poli Kopper Móra

Doutora em Endodontia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Prof. Dr. Fábio de Almeida Gomes

Doutor em Odontologia (Área de Concentração em Endodontia) pela Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dr^a. Ezilmara Leonor Rolim de Sousa (Suplente)

Doutora em Endodontia pela Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) – Piracicaba

Prof^a. Dr^a. Natália Marcumini Pola (Suplente)

Doutora em Periodontia pela Universidade Estadual Paulista (UNESP) – Araçatuba

Agradecimentos

À **Universidade Federal de Pelotas**, na pessoa da Magnífica Reitora Profa. Dra Isabela Fernandes Andrade.

À **Faculdade de Odontologia**, na pessoa do Excelentíssimo Diretor Prof. Dr. Evandro Piva, por proporcionar a minha formação como Cirurgião Dentista.

Ao **Programa de Pós-Graduação em Odontologia**, na pessoa da Coordenadora do PPGO, Prof^a Dr^a Giana Lima da Silveira, minha gratidão pela formação como Mestre e Doutora em Clínica Odontológica, com ênfase em Endodontia.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES**, pela bolsa de doutorado concedida.

Ao secretário do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, **Celaniro**, por todo o suporte dado à mim e aos alunos do programa.

À professora **Fernanda Geraldo Pappen**, minha orientadora e amiga, que é um exemplo de professora, pesquisadora, endodontista, mãe, filha e amiga. Que é capaz de se desdobrar em mil, e dar conta de tudo com tamanha maestria. Muito obrigada por todo apoio, suporte, orientações e conselhos ao longo desses anos de pós-graduação. Teu amor pela Endodontia e pela docência são uma inspiração para mim desde a graduação. Serei eternamente grata pela tua disposição à minha orientação, mesmo que por um curto período de tempo. Só nós sabemos quanto empenho e dedicação foram envolvidos para que essa tese conseguisse ser concluída, e teu papel foi fundamental nessa jornada. Não há palavras que expressem minha gratidão. Tenho certeza que a parceria, os projetos e a amizade irão além dos anos de doutorado. Muito obrigada Fer!

À professora **Tatiana Pereira Cenci**, que carinhosamente me orientou nos primeiros anos de doutorado. Obrigada pela oportunidade de conviver e partilhar conhecimento contigo. És um exemplo de professora e pesquisadora e me sinto honrada por ter sido tua orientada. Obrigada por tudo!

Às colegas e amigas, **Elisa e Victória**, minhas parceiras de graduação e pós-graduação. Com certeza o caminho até aqui foi mais leve e muito mais feliz por ter sido dividido com vocês. Meu desejo é que Deus seja sempre muito bom com vocês, e que vocês voem alto! Que sejam muito realizadas pessoal e profissionalmente.

Obrigada por toda ajuda, apoio e por sempre estarem na torcida por mim. Sou muito grata e feliz por ter vocês em minha vida.

Aos colegas do Programa de Pós-Graduação **Samantha, Eduarda, Monika, Aline, Lucas Peixoto e Lucas Carpena**, que se tornaram grandes amigos. Obrigada pela parceria e amizade nessa caminhada. Contem sempre comigo para o que precisarem. Desejo todo o sucesso do mundo pra vocês.

Aos **meus pacientes**, por serem os grandes motivos da minha busca por conhecimento. Por me estimularem a estar em constante atualização e evolução. Obrigada por confiarem em mim e no meu trabalho.

Aos meus sogros, **Adriana e Dininho**, pelo carinho e compreensão de entenderem meus momentos de estudo, e por vibrarem sempre pelas minhas conquistas.

Ao meu namorado, **Bernardo**, que é meu parceiro, companheiro de vida e colega de profissão. Que esteve ao meu lado durante os anos de doutorado e durante a escrita dessa tese. Não existem palavras pra te agradecer por toda a disposição, disponibilidade, auxílio e paciência. Obrigada por estar sempre por perto, me apoiando, aconselhando e impulsionando a seguir em frente e nunca desistir. És um exemplo de determinação e profissionalismo pra mim. Obrigada por tudo! Te amo muito.

Aos meus irmãos, **Márcio, Patrícia e Luciana**, meus amigos, companheiros e exemplos desde que me conheço por gente. Os melhores presentes que eu poderia receber na vida. Obrigada por estarem ao meu lado e partilharem de todos os momentos da minha vida. Amo vocês!

Aos meus pais, **Carmen e Dênis**, as grandes razões da minha vida e grandes responsáveis por todas as minhas conquistas até hoje. Obrigada por sempre incentivarem meus estudos, meus sonhos e por estar e se fazerem presentes neles. Obrigada por me impulsionarem a sempre querer ser melhor, por mim e para os outros, e por nunca me deixarem desistir. Minha maior recompensa e desejo é que sintam tanto orgulho da filha que têm, como eu sinto de ser filha de vocês. Obrigada por tudo! Amo vocês.

Resumo

VIEIRA, Carolina Clasen. **Influência da técnica de instrumentação e do grau de curvatura radicular de molares na frequência de falhas técnicas de tratamentos endodônticos realizados na graduação - Estudo observacional retrospectivo.**

Orientadora: Fernanda Geraldo Pappen. 2022. 67 f. Tese (Doutorado em Odontologia) - Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2022.

O objetivo desse estudo foi avaliar a frequência de falhas técnicas no tratamento endodôntico de molares desenvolvidos por alunos de graduação e sua associação com o grau de curvatura radicular e técnica de instrumentação. Esse estudo observacional transversal avaliou falhas técnicas que ocorreram em raízes mesiais de molares. A curvatura radicular foi medida de acordo com o método de Schneider (1971) e classificado segundo as recomendações da Associação Americana de Endodontia (AAE) (2019). A obturação dos canais radiculares foi avaliada levando em consideração sua extensão, densidade e conicidade, bem como a ocorrência de degrau/desvio. Associações bivariadas usando teste Qui-Quadrado e análise de regressão logística foram realizadas para determinar associações entre a formação de degrau/desvio, densidade inadequada, conicidade inadequada, extensão da obturação curta mais de 2mm e obturação além do ápice e variáveis independentes. O nível de significância foi de 5%. Odds ratio (OR) e intervalo de confiança (IC) de 95% foram calculados. Um total de 206 tratamentos endodônticos foram incluídos no estudo. A análise bivariada demonstrou que a técnica de instrumentação foi significativamente associada com todos os critérios utilizados para avaliar o desfecho. A técnica manual em ambas as análises, ajustada e não ajustada, foi associada com alto risco de formação de degrau/desvio, densidade inadequada, conicidade inadequada e extensão da obturação curta. A ocorrência de obturação além do ápice foi mais frequente quando a técnica recíproca foi empregada. Conclui-se que a técnica de instrumentação influenciou fortemente a ocorrência de falhas técnicas no tratamento endodôntico de molares desenvolvidos por alunos de graduação. Contudo, não se encontrou associação do desfecho com o grau de curvatura radicular.

Palavras-chave: Falhas Técnicas; Curvatura Radicular; Preparo do Canal Radicular; Tratamento Endodôntico; Qualidade Técnica de Estudantes de Graduação

Abstract

VIEIRA, Carolina Clasen. **Influence of instrumentation technique and degree of molar root curvature on the frequency of technical failures of undergraduate endodontic treatments - A retrospective observational study.** Advisor: Fernanda Geraldo Pappen. 2022. 67 p. Thesis (PhD in Dentistry) - Graduate Program in Dentistry. Federal University of Pelotas, Pelotas. 2022.

The aim of this study was to evaluate the frequency of technical failures in root canal treatment (RCT) of molars performed by undergraduate students and its association with root curvature and instrumentation technique. This cross-sectional observational study evaluated the technical failures which occurred in RCT of mesial roots of molars. Root curvature was measured according to Schneider (1971) method and classified according to the AAE (2019) recommendations. Root canal filling was scored taking into account the filling extension, density and taper, as well as ledge/zip occurrence. Bivariate associations using the Chi-square test and logistic regression analysis was performed to determine associations between ledge/zip formation, inadequate density, inadequate taper, root canal filling length shorter than 2mm and root canal filling material beyond apex and the independent variables. The level of significance was set at 5%. Odds ratios (OR) and 95% confidence intervals (CI) were calculated. A total of 206 RCTs were included in the study. The bivariate analysis demonstrated that instrumentation technique was significantly associated with all the outcome criteria investigated. The manual technique in both unadjusted and adjusted analysis was associated with higher risk of ledge/zip formation, inadequate density, inadequate taper and short root canal filling length. The occurrence of root filling beyond the apex was more frequent when reciprocating technique was used. In conclusion, the instrumentation technique strongly influenced the frequency of technical failures in molars RCT performed by undergraduate students. However, there was no association between the investigated failures and the root curvature.

Keywords: Technical Failures; Root Curvature; Root Canal Preparation; Root Canal Treatment; Dental Students Technical Quality

Sumário

1 Introdução	08
2 Projeto de pesquisa	12
3 Relatório de trabalho de campo	27
4 Artigo	28
5 Considerações finais	53
REFERÊNCIAS	54
ANEXOS	59

1 Introdução

A Endodontia é a especialidade odontológica responsável pela limpeza, desinfecção, modelagem e obturação dos canais radiculares. No tratamento endodôntico, se trabalha em regiões inacessíveis ao olho humano, o que requer do profissional um nível apurado de sensibilidade, habilidade e experiência. Porém, a alta complexidade anatômica do sistema de canais radiculares, principalmente na região apical, pode favorecer a permanência de microorganismos viáveis em seu interior, sendo esta a causa mais apontada de insucesso do tratamento endodôntico (WADA et al., 1998; NAIR et al., 2005).

Apesar destas dificuldades, os índices de sucesso dos tratamentos e retratamentos endodônticos descritos na literatura podem ser considerados altos, variando entre 69% e 100% sendo os menores índices atribuídos aos casos de retratamentos (SUNDQVIST et al., 1998; PEAK et al., 2001; FRIEDMAN et al., 2003; FARZANEH et al., 2004; GORNI E GAGLIANI, 2004; TOUBOUL et al., 2014). Esta ampla variação nos índices está relacionada a inúmeros fatores, como grupo dentário, técnica obturadora, periodontite apical pré-existente, limite apical da obturação, presença de complicações operatórias, entre outros (PEAK et al., 2001; FARZANEH et al., 2004; IMURA et al., 2007).

Vários estudos têm demonstrado uma alta incidência de lesões periapicais associadas a tratamentos endodônticos de baixa qualidade radiográfica (TAVARES et al., 2009; NG, MANN, GULABILAVA, 2011; NG, MANN, GULABILAVA, 2011(b), sendo o maior número de falhas associado aos tratamentos realizados por cirurgiões-dentistas não especialistas (ALLEY et al., 2004). Apesar desses fatores, efetivamente, não serem capazes de determinar o sucesso do tratamento endodôntico, que por sua vez está relacionado à presença ou não de bactérias, a visualização radiográfica de um tratamento endodôntico de qualidade técnica satisfatória pode impactar no desfecho do tratamento e garantir uma previsibilidade maior do caso (ESE, 2006; NG et al., 2008; HANSRANI, 2015).

Apesar do surgimento da tomografia computadorizada de feixe cônico que permite uma visualização em 3D do elemento dental, as radiografias periapicais continuam sendo a primeira escolha da maioria dos cirurgiões-dentistas para avaliação da qualidade técnica da obturação e acompanhamento do caso (KEREKES, TRONSTAD, 1979; COLOMBO et al., 2017). Segundo a Sociedade Europeia de Endodontia (2006), um tratamento endodôntico considerado satisfatório deve

apresentar alguns aspectos na radiografia final: a) mostrar de 2-3mm da região periapical de forma clara e com contraste adequado; b) o canal deve estar completamente preenchido, sem a presença de espaços entre o material obturador e as paredes do canal; c) a forma do canal preparado deve sempre respeitar sua anatomia original e; d) não deve ser observado canal não preenchido no terço apical. Dessa forma, diferentes autores têm julgado a qualidade radiográfica das obturações através dos seguintes critérios: extensão da obturação, densidade da obturação e regularidade da conicidade dada ao canal (SEGURA-EGEA et al., 2004; BIERENKRANT, PARASHOS, MESSER, 2008; SEIJO, et al., 2013).

Nitidamente, a qualidade técnica do tratamento endodôntico é influenciada ainda pela experiência clínica do profissional. Em 2013, foi publicado um *guideline* pela Sociedade Europeia de Endodontia com orientações para a formação de cirurgiões-dentistas, em nível de graduação, relacionadas ao diagnóstico e tratamento das doenças da polpa e do periápice e aos aspectos que envolvem o acompanhamento das endodontias (ESE, 2013). Segundo a ESE (2013), estudantes de graduação – e futuros cirurgiões-dentistas clínicos gerais – devem ter experiência adequada em tratamentos endodônticos de dentes anteriores, pré-molares e molares em ambiente pré-clínico e clínico, e devem estar aptos a realizar endodontias de molares com baixa complexidade.

Diversos estudos avaliam a qualidade técnica dos tratamentos endodônticos realizados por alunos de graduação, levando em consideração o comprimento apical da obturação, densidade, preenchimento e presença de iatrogenias (degraus, perfurações e/ou fratura de instrumentos). Segundo eles, as obturações consideradas adequadas variam entre 13% e 55% (HAYES et al., 2001; ELEFTHERIADIS & LAMBRIANIDIS, 2005; DADRESANFAR et al., 2008; BALTO et al., 2010; KHABBAZ et al., 2010; KUMAR & DUNCAN, 2012; RIBEIRO et al., 2018), valores estes, muito abaixo daqueles considerados nos índices de sucesso dos tratamentos endodônticos primários.

A anatomia endodôntica parece exercer papel fundamental na obtenção de tratamentos endodônticos de qualidade técnica adequada, uma vez que esta usualmente demonstra-se superior em dentes anteriores do que em multirradiculares (BARRIESHI-NUSAIR; AL-OMARI; AL-HIYASAT, 2004; ELEFTHERIADIS & LAMBRIANIDIS, 2005); e a curvatura radicular apresenta-se como o fator mais significativo na ocorrência de iatrogenias (ELEFTHERIADIS & LAMBRIANIDIS, 2005;

DADRESANFAR et al., 2008). Também Riddel et al. (2006) e Chueh et al. (2003) demonstraram que a incidência de obturações insatisfatórias em molares foi maior em comparação a dentes anteriores e pré-molares. A alta complexidade anatômica e as curvaturas radiculares em múltiplos planos presentes nos molares podem impedir a limpeza e a modelagem adequadas dos canais radiculares (AAE, 2019) tornando-se tratamentos mais difíceis de serem executados por alunos de graduação, mesmo sendo uma competência atribuída à formação do cirurgião-dentista clínico geral (ESE, 2013).

As raízes mesiais de molares são alvo de preocupação principalmente daqueles que ainda realizam uma instrumentação manual dos canais radiculares, pois o risco de acidentes, como desvios, degraus e perfurações, torna-se maior e o grau de dificuldade técnica para realização do preparo também aumenta (DADRESANFAR et al., 2008). Cunningham e Senia (1992) estudaram a curvatura de raízes mesiais de molares e observaram que 100% dos molares investigados apresentavam algum grau de curvatura. Somado a isso, o estudo recente de Souza e Silva et al. (2020) demonstrou que o grau de curvatura radicular interfere significativamente na obtenção de uma obturação de qualidade quando empregada técnica de instrumentação manual por alunos de graduação. Porém, ainda não existe evidência científica que demonstre se esta associação é válida também para casos realizados através de técnicas de instrumentação automatizadas.

A instrumentação realizada pela técnica manual convencional, assim como outras etapas do preparo endodôntico, exige um trabalho extremamente minucioso do ponto de vista técnico, o que torna sua curva de aprendizagem bastante longa. Segundo Souza et al. (2017), existem dois fatores que influenciam diretamente na curva de aprendizado do preparo dos canais radiculares: um relacionado diretamente com as nuances técnicas da atividade, sendo denominado de fatores intrínsecos; e outro ligado ao estudante, à escola ou ao docente, sendo este denominado de fatores extrínsecos. O ensino da técnica de instrumentação manual ainda é realidade da grande maioria das faculdades de Odontologia do Brasil e, em decorrência das dificuldades de desenvolvimento das habilidades inerentes à técnica, uma parcela considerável dos acadêmicos dos cursos de graduação acaba por apresentar diferentes graus de rejeição a essa especialidade (SEIJO et al., 2013). No entanto, em decorrência dos avanços tecnológicos e o surgimento da instrumentação com limas mecanizadas, os fatores intrínsecos que influenciam na curva de aprendizagem

foram reconsiderados e readaptados (SOUZA et al., 2017), o que tornou a especialidade em Endodontia mais atrativa para muitos profissionais.

Com a modernização, introdução e disseminação de técnicas de preparo automatizados através dos sistemas rotatórios, oscilatórios e reciprocantes, a qualidade técnica endodôntica tende a ser mais rápida, mais fácil e segura de ser alcançada. A otimização do preparo ocorre uma vez que este é realizado através da utilização de uma quantidade menor de instrumentos em comparação às técnicas de instrumentação manual. Além disso, os instrumentos apresentam diferentes conicidades, fazendo com que o preparo cônico seja alcançado de forma simplificada, mantendo a anatomia do canal radicular. Adicionalmente, devemos considerar a segurança da técnica, pois a grande maioria dos instrumentos mecanizados atuais são fabricados com ligas metálicas que passam por tratamento térmico, o que confere maior resistência e flexibilidade ao instrumento (VAUDT et al., 2009; DEL FABBRO et al., 2018).

No Brasil, o uso de instrumentos mecanizados está bastante presente no cotidiano do especialista em Endodontia. Nos cursos de Graduação em Odontologia, o ensino das técnicas rotatória e recíproca durante a graduação vem sendo gradualmente introduzido. Tal prática, agrega uma nova perspectiva educacional capaz de atenuar a dura realidade do ensino e da aprendizagem da Endodontia (MAHMOODI et al., 2020). A literatura científica é escassa de evidências a respeito do impacto da instrumentação automatizada na qualidade dos tratamentos endodônticos e no aprendizado de acadêmicos em Odontologia. Contudo, os instrumentos reciprocantes são apontados como possíveis alternativas para o preparo de canais radiculares por alunos de graduação ou com pouca experiência, devido à baixa ocorrência de acidentes e complicações (SILVANI et al., 2013).

Com as inúmeras vantagens atribuídas aos sistemas automatizados na Endodontia, a implantação de novas tecnologias na prática clínica das faculdades de Odontologia parece ter papel fundamental no aperfeiçoamento da qualidade técnica dos tratamentos desenvolvidos por alunos de graduação. Além disso, o controle da qualidade técnica deve ser realizado constantemente nas unidades de ensino, para que seja possível guiar mudanças curriculares e oferecer formação e aprendizado de qualidade aos futuros cirurgiões-dentistas.

2 Projeto de pesquisa

2.1 Introdução

A Endodontia foi beneficiada, especialmente na última década, pelo desenvolvimento e difusão de novas tecnologias para diagnóstico e análise da anatomia dentária, assim como para o preparo químico-mecânico e obturação do sistema de canais radiculares. Contudo, no mesmo período, os estudos envolvendo a análise de índices de sucesso e insucesso de tratamentos e retratamentos endodônticos ao longo do tempo pouco variaram em seus resultados, permanecendo entre 69% (GORNI, GAGLIANI, 2004) e 100% de sucesso (TOUBOUL et al., 2014). Além disso, retratamentos endodônticos apresentam menores índices de sucesso comparados a dentes submetidos ao procedimento pela primeira vez (IMURA et al., 2007). Isso pode ser explicado, por exemplo, pela dificuldade de acesso e falha na remoção do material obturador inicial dos canais radiculares (MOLLO et al., 2012) e, conseqüentemente, pela permanência de microrganismos viáveis no seu interior (SIQUEIRA-JÚNIOR et al., 2008).

A permanência de microrganismos viáveis no interior do canal radicular devido a falhas técnicas durante os procedimentos endodônticos é a causa mais apontada pelo “senso comum” para o insucesso endodôntico. Entretanto, são escassos os estudos que tratam deste tema com exatidão e que, portanto, podem concluir quais falhas técnicas realmente (e o quanto) impactam no desfecho do tratamento endodôntico (FARZANEH et al., 2004; CHEVIGNY et al., 2008).

Talvez a maior revolução da Endodontia contemporânea tenha sido a disseminação de técnicas de preparo automatizados, com uso de sistemas que utilizam limas rotatórias ou reciprocantes. Tais instrumentos ainda passam por constante evolução, mas foram decisivos, comparados à utilização da técnica manual, para a diminuição do tempo de trabalho (VAUDT et al., 2009), para a facilidade e segurança durante a ampliação do canal radicular e para uma correta manutenção da anatomia do canal radicular (DEL FABBRO et al., 2018). No Brasil, o uso de instrumentos automatizados é bastante presente no cotidiano do cirurgião dentista especialista em Endodontia. Porém, apenas recentemente alguns cursos de Odontologia introduziram o ensino das técnicas automatizadas durante a graduação.

A introdução do movimento recíprocante nos cursos de graduação em Odontologia abre uma nova perspectiva educacional capaz de atenuar a dura

realidade do ensino e da aprendizagem da Endodontia (MARTINS et al., 2012). Com a utilização de uma abordagem de ensino menos dependente da experiência e técnica, é possível proporcionar uma maior independência para o aluno (ARBAB--CHIRANI, VULCAIN, 2004), obtendo-se preparos com ótimo padrão de modelação, mesmo em casos complexos (BARTOLS et al., 2018). Além disso, com a diminuição da curva de aprendizado, é possível reduzir o número de estudantes e cirurgiões dentistas que desenvolvem rejeição à endodontia, formando profissionais cada vez mais completos e seguros.

Aos poucos, os estudos vêm mostrando o impacto da instrumentação automatizada no sucesso de procedimentos endodônticos e no aprendizado, relatando a preferência, especialmente de alunos de graduação em Odontologia, pelo preparo automatizado (KWAK et al., 2016). No entanto, a literatura científica permanece escassa de evidências a respeito de fatores técnicos, anatômicos e patológicos locais como preditivos para o risco de insucesso de um tratamento ou retratamento endodôntico, independentemente da técnica empregada e do nível de aprendizado do operador.

A dor pós-operatória decorrente da instrumentação dos canais radiculares utilizando-se técnicas mecanizadas, também é um ponto com frequência abordado na literatura, e que tem influência direta na qualidade de vida dos pacientes (OLIVEIRA et al., 2018). Até o momento, não há evidência científica consistente a respeito da associação entre dor pós-operatória, e as técnicas de instrumentação empregadas, principalmente levando em conta, canais radiculares instrumentados por alunos de graduação, ainda em processo de aprendizagem técnica.

2.2 Objetivo

Esse estudo retrospectivo procura resultados que associem a dor com o diagnóstico inicial e com o tipo de instrumentação utilizada para a realização do tratamento endodôntico, de forma a instruir os futuros profissionais com as técnicas que tragam maior conforto ao paciente.

Tem-se a intenção de acompanhar o sucesso dos tratamentos realizados com a técnica reciprocante em comparação a técnica manual, visando conhecer qual a melhor alternativa para o paciente, considerando tempo de cadeira, saúde, custos e riscos, além de ressaltar a importância de se inserir técnicas de instrumentação automatizadas já na graduação, método já bem aceito e de maior interesse por parte

dos acadêmicos na área, quando o processo se torna mais rápido e com menores chances de iatrogenias.

2.2.1 Objetivo geral

Determinar o índice de sucesso e os fatores preditivos para o sucesso, incluindo os métodos de trabalho de acadêmicos com o mesmo nível de aprendizado, de tratamentos e retratamentos endodônticos realizados de janeiro de 2017 a julho de 2019 por alunos de graduação em Odontologia da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), com período de preservação de até 2 anos.

2.2.2 Objetivos específicos

- Comparar os índices de sucesso obtidos por alunos de graduação em Odontologia da UFPel utilizando diferentes técnicas de instrumentação.
- Avaliar a escala de dor no pré, trans e pós operatório de 24 horas e 48 horas de cada paciente, relacionando com o tipo de instrumentação utilizada e com o diagnóstico inicial.
- Avaliar os fatores preditivos para ocorrência de dor pós-operatória e para os índices de sucesso do tratamento endodôntico.

2.3 Materiais e métodos

Este é um estudo observacional longitudinal retrospectivo, utilizando informações disponíveis em prontuários de pacientes atendidos na Faculdade de Odontologia da UFPel, durante o período de janeiro de 2017 a julho de 2019 por alunos do último ano da graduação em Odontologia da UFPel.

Serão incluídas no estudo informações referentes:

- a) aos tratamentos e retratamentos endodônticos realizados na clínica do Estágio em Clínica Odontológica II e na clínica de extensão do Projeto Pró Sorriso, nível de graduação, da Faculdade de Odontologia da UFPel, no período entre janeiro de 2017 e julho de 2019;
- b) aos controles pós-operatórios desses tratamentos e retratamentos realizados;

Serão excluídos do estudo casos em que for identificada ausência de exames radiográficos disponíveis e/ou falta de dados registrados nos prontuários, e situações

clínicas tais como rizogênese incompleta, cirurgia parendodôntica, e indicação de exodontia por motivos não-endodônticos ou por motivos não identificados.

2.3.1 Tamanho da população do estudo

Este estudo tem como meio de coleta a busca de dados, em prontuários da instituição de ensino UFPel, a respeito de tratamentos e retratamentos endodônticos realizados em períodos específicos e seus controles pós-operatórios. Estima-se que o número de dentes submetidos a tratamentos e retratamentos endodônticos no período entre janeiro de 2017 e julho de 2019, nas clínicas de graduação incluídas neste estudo, seja de aproximadamente 120 casos.

Com base nessas estimativas, a população a ser incluída neste estudo pode ser considerada pequena e finita. Portanto, a coleta de dados dar-se-á na forma de um censo das informações de interesse disponíveis sobre tal população, dispensando a realização de cálculo amostral e minimizando a perda amostral durante o período de acompanhamento. Contudo, é sabido que a taxa de retorno para controle pós-operatório não corresponde à totalidade de tratamentos e retratamentos realizados, apesar do esforço dedicado pelas instituições para a preservação dos procedimentos concluídos. Esse aspecto pode diminuir a quantidade de informações disponíveis a respeito dos procedimentos, gerando viés de seleção e de informação. Porém, esses fatos não deverão afetar o poder de modelagem dos dados devido a utilização de instrumentos de alta qualidade e válidos para a análise dos dados coletados.

2.3.2 Coleta dos dados

Os dados obtidos nos prontuários da instituição relativos ao diagnóstico inicial, aos tratamentos ou retratamentos endodônticos, bem como os dados referentes à preservação, serão armazenados em um sistema de prontuário digital, programado em linguagem PHP e em linguagem *web*, que gera um banco de dados *freeware*, do tipo *postgres*, gerenciado em uma plataforma MySQL, disponível em www.dadosendoufrgs.kinghost.net. Neste banco estarão contidas informações relativas à anamnese, ao exame clínico e radiográfico, ao diagnóstico, ao tratamento indicado e à preservação.

Assim como os dados clínicos disponíveis nos prontuários, também serão armazenadas as radiografias realizadas antes, durante e depois do tratamento ou retratamento endodôntico. Os exames radiográficos realizados por meio de

radiografias digitais (VistaScan Mini Easy®, Durr Dental, Bietigheim-Bissingen, Alemanha) serão obtidos a partir do programa DBSWIN® (Durr Dental) e exportados em modo TIFF. Já os exames radiográficos que não foram realizados por meio de radiografia digital deverão ser digitalizados utilizando um *scanner* fotográfico HP Scanjet G4050 (HP Brasil, Barueri, SP, Brasil). As imagens serão salvas em arquivos TIFF, com resolução de 300 dpi.

Neste banco estarão contidas informações relativas à anamnese, ao exame clínico e radiográfico, ao diagnóstico, ao tratamento indicado e à preservação. Dessa forma, serão consideradas como variáveis (possíveis preditivos, exposições, fatores de confundimento ou com efeito modificador no desfecho de sucesso de tratamentos ou retratamentos endodônticos) os seguintes aspectos da avaliação endodôntica inicial:

- 1) dente;
- 2) sintomas: ausentes, ausentes com antecedentes ou presentes;
- 3) história clínica: cáries primárias, recidiva de cárie, ausência de cárie;
- 4) histórico de traumatismo: não ou sim;
- 5) período do traumatismo;
- 6) tratamentos realizados: sim ou não;
- 7) edema extraoral: ausente, presente/difuso, presente/com ponto de flutuação;
- 8) localização do edema extraoral;
- 9) linfadenopatia: ausente ou presente;
- 10) localização da linfadenopatia;
- 11) dor à palpação extraoral: ausente ou presente;
- 12) região da dor à palpação extraoral;
- 13) fístula: ausente ou presente;
- 14) localização da fístula;
- 15) rastreamento de fístula: sim ou não;
- 16) origem do processo fistuloso: periápice, região de furca ou periodonto lateral;
- 17) coroa dentária: ausente, íntegra, cariada, destruição coronária, fratura coronária, coroa protética, restaurada, fratura corono-radicular, restauração provisória, prognóstico restaurador duvidoso, exposição da cavidade pulpar e/ou alteração cromática;

- 18) exame radiográfico periapical: não realizado ou realizado;
- 19) cárie: não visível ou visível;
- 20) material forrador radiopaco: não visível ou visível;
- 21) material restaurador: resinoso, metálico, provisório ou não visível;
- 22) acesso endodôntico: não visível ou visível;
- 23) colar/pilar protético: não visível ou visível;
- 24) traço de fratura: não visível ou visível;
- 25) erosão: não visível ou visível;
- 26) abrasão: não visível ou visível;
- 27) atrição: não visível ou visível;
- 28) hipoplasia de esmalte: não visível ou visível;
- 29) pérola de esmalte: não visível ou visível;
- 30) cúspide em garra: não visível ou visível;
- 31) nódulos pulpares: não visível ou visível;
- 32) atresia da câmara pulpar: não visível ou visível;
- 33) cingulo invaginado: não visível ou visível;
- 34) dens in dente: não visível ou visível;
- 35) bráquetes ortodônticos: não visível ou visível;
- 36) contenção metálica: não visível ou visível;
- 37) preparo para fins protéticos: não visível ou visível;
- 38) espaço vazio não preenchido por pino ou metal obturador: não visível ou visível;
- 39) retentor intrarradicular: não visível ou visível;
- 40) anquilose: não visível ou visível;
- 41) atresia do canal radicular: não visível ou visível;
- 42) hipercementose: não visível ou visível;
- 43) agulhas cálcicas: não visível ou visível;
- 44) área de reabsorção dental: não visível, interna terço cervical, interna terço médio, interna terço apical, externa, invasiva cervical ou comunicante;
- 45) índice periapical radiográfico;
- 46) área radiolúcida na região lateral das raízes: não visível, visível ou lesão endo-periodontal;
- 47) tratamento endodôntico prévio: ausente, presente/satisfatório ou presente/insatisfatório;

- 48) tempo após tratamento endodôntico;
- 49) limite apical inadequado aquém;
- 50) limite apical inadequado além;
- 51) falta de compactação do material obturador;
- 52) canais não tratados: M, MV, ML, MP, D, DV, DL, P e/ou V;
- 53) desvios no preparo do canal: terço cervical, terço médio e/ou terço apical;
- 54) perfuração: radicular terço cervical, radicular terço médio, radicular terço apical e/ou região de furca;
- 55) instrumento fraturado: terço cervical, terço médio e/ou terço apical;
- 56) cones de prata: não visível ou canal M, MV, ML, MP, D, DV, DL, P e/ou V;
- 57) curvatura das raízes: reta, moderada (10-20°) ou severa (>20°);
- 58) exame tomográfico: sim ou não;
- 59) diagnóstico pulpar: polpa saudável, pulpite com prognóstico reversível, pulpite com prognóstico irreversível, pólipos pulpar e/ou necrose pulpar;
- 60) diagnóstico periapical: periápice saudável, pericementite apical traumática, pericementite apical infecciosa, abscesso periapical agudo inicial, abscesso periapical agudo em evolução, abscesso periapical agudo evoluído, periodontite apical crônica sem fístula ou abscesso periapical crônico com fístula;
- 61) reabsorção comunicante, reabsorção externa substitutiva, reabsorção cervical, trauma oclusal e/ou sensibilidade dentinária;
- 62) tratamento endodôntico: apicegênese, apicificação, revascularização, tratamento endodôntico, retratamento endodôntico, cirurgia paraendodôntica ou tratamento endodôntico com finalidade protética.

Serão consideradas como variáveis (possíveis preditivos, exposições, fatores de confundimento ou com efeito modificador no desfecho de sucesso de tratamentos ou retratamentos endodônticos) os seguintes aspectos do **tratamento ou retratamento endodôntico**:

- 1) dente;
- 2) uso de magnificação: sim ou não;
- 3) isolamento: relativo, absoluto ou não realizado;
- 4) acesso aos canais radiculares: abertura da câmara pulpar, remoção de selamento provisório, adequação da abertura ou não realizado;

- 5) esvaziamento: pulpectomia, penetração desinfetante, desobturação parcial e/ou desobturação total;
- 6) instrumento para preparo do terço cervical: broca Largo, broca Gates-Glidden, LA AXXESS e/ou instrumento de NiTi
- 7) substâncias químicas auxiliares: não empregada, hipoclorito de sódio 0,5%, hipoclorito de sódio 1%, hipoclorito de sódio 2,5%, hipoclorito de sódio 5,25%, soro fisiológico, clorexidina gel 2%, clorexidina líquida 0,12%, clorexidina líquida 2%, EDTA 17%, EDTA-T 17%, eucaliptol, xilol, óleo de casca de laranja, Endo-PTC e/ou Endo-PTC gel;
- 8) preparo químico-mecânico: técnica manual escalonada, técnica manual coroa-ápice, técnica automatizada rotatória, técnica automatizada reciprocante, técnica manual oscilatória, instrumento apical inicial, instrumento apical final e/ou tipo de instrumento manual utilizado;
- 9) medicação intracanal: não empregada, corticoesteróide/antibiótico tópico, tricresol formalina, hidróxido de cálcio P.A. associado a veículo viscoso, hidróxido de cálcio P.A. associado a veículo aquoso, pasta Calen®, pasta Calen associada a PMCC®, Ultracal®, PMCC, pasta triantibiótica e/ou clorexidina gel 2%;
- 10) indução de coágulo: sim ou não;
- 11) proteção cervical: matriz colágena, MTA, MTA branco, adesivo resinoso, hidróxido de cálcio ou outro;
- 12) obturação: técnica de condensação lateral, técnica híbrida de Tagger, e/ou técnica de ondas contínuas;
- 13) material obturador sólido: cone de guta percha principal convencional, cone de guta percha único, cone de guta percha invertido e/ou cone de guta percha rolado;
- 14) cimento endodôntico: à base de óxido de zinco e eugenol, à base de resina epóxi, à base de hidróxido de cálcio ou biocerâmico;
- 15) prescrição medicamentosa: analgésico, anti-inflamatório, antimicrobiano e/ou não realizada;
- 16) intercorrências: não houve intercorrências, houve intercorrência no período entre consultas e/ou houve intercorrência durante a consulta.

Serão consideradas como variáveis (possíveis preditivos, exposições, fatores de confundimento ou com efeito modificador no desfecho de sucesso de tratamentos ou retratamentos endodônticos) os seguintes aspectos do **controle pós-operatório**:

- 1) dente;
- 2) histórico de sensibilidade: sim ou não;
- 3) histórico de dor: sim ou não;
- 4) histórico de edema: sim ou não;
- 5) relato de pigmentação coronária: sim ou não;
- 6) relato de fratura dentária: sim ou não;
- 7) relato de perda de selamento coronário: sim ou não;
- 8) tempo após a perda do selamento coronário: até 7 dias, até 30 dias ou mais de 6 meses;
- 9) edema extraoral: ausente, presente/difuso ou presente com ponto de flutuação;
- 10) localização do edema extraoral;
- 11) linfadenopatia: ausente ou presente;
- 12) dor à palpação: ausente ou presente;
- 13) fístula extraoral: ausente ou presente;
- 14) localização da fístula extraoral;
- 15) coroa dentária: ausente, íntegra, cariada, fratura coronária, coroa protética, restaurada com resina composta, restaurada com material provisório, fratura corono-radicular ou prognóstico restaurador duvidoso;
- 16) adaptação marginal: satisfatória, insatisfatória ou não se aplica;
- 17) exposição da cavidade pulpar: ausente ou presente;
- 18) alteração cromática: ausente ou presente;
- 19) mobilidade dental: ausente ou presente;
- 20) retração gengival: ausente ou presente;
- 21) edema intraoral: ausente, presente/difuso ou presente/com ponto de flutuação;
- 22) fístula intraoral: ausente ou presente;
- 23) rastreamento de fístula: sim ou não;
- 24) origem do processo fistuloso: periápice, região de furca ou periodontal;
- 25) hiperplasia tecidual: ausente, presente/origem na gengiva marginal ou presente/origem na cavidade dental;

- 26) alteração oclusal: ausente, contato prematuro ou sobrecarga mastigatória;
- 27) percussão vertical: positiva ou negativa;
- 28) percussão horizontal: positiva ou negativa;
- 29) som metálico à percussão: positiva ou negativa;
- 30) pressão apical: positiva ou negativa;
- 31) digitação apical: positiva ou negativa;
- 32) teste de sensibilidade ao frio: negativo, positivo e normal, positivo e exacerbado, positivo e atenuado ou não realizado;
- 33) teste de cavidade: positivo, negativo ou não realizado;
- 34) teste de anestesia: positivo, negativo ou não realizado;
- 35) teste de sensibilidade ao calor: positivo, negativo ou não realizado;
- 36) exame radiográfico periapical: realizado ou não realizado;
- 37) alteração periapical: ausente, presente/reduzida, presente/sem alteração, presente/aumentada;
- 38) índice periapical radiográfico;
- 39) reabsorções radiculares: ausente, presente/estabilizada ou presente/aumentada;
- 40) tratamento endodôntico prévio: ausente, presente/satisfatório ou presente/insatisfatório;
- 41) tempo após tratamento endodôntico;
- 42) limite apical inadequado aquém;
- 43) limite apical inadequado além;
- 44) falta de compactação do material obturador;
- 45) canais não tratados: M, MV, ML, MP, D, DV, DL, P e/ou V;
- 46) desvios no preparo canal: terço cervical, terço médio e/ou terço apical;
- 47) perfuração: radicular terço cervical, radicular terço médio, radicular terço apical e/ou região de furca;
- 48) instrumento fraturado: terço cervical, terço médio e/ou terço apical;
- 49) encaminhamento dado ao caso: indicação de acompanhamento clínico e radiográfico, exodontia, retratamento endodôntico, tratamento restaurador, tratamento protético, tratamento periodontal e/ou paciente recebeu alta para o controle do sucesso do tratamento endodôntico;

50) foi realizado algum procedimento clínico na consulta de controle pós-operatório: não se aplica, procedimento de urgência, restaurador ou periodontal.

2.3.3 Controle de qualidade da coleta de dados

Este projeto de pesquisa foi delineado e escrito seguindo as recomendações do *Strengthening the reporting of observational studies in epidemiology* (STROBE), um guia desenvolvido por um grupo internacional de especialistas em metodologia científica, pesquisadores e editores de revistas científicas para melhorar a qualidade de estudos observacionais desenvolvidos.

Os dados referentes as informações da anamnese, exame clínico, diagnóstico, tratamento indicado e preservação serão coletadas a partir dos prontuários de pessoas submetidas a tratamento ou retratamento endodôntico na Faculdade de Odontologia da UFPel. Em caso de dúvidas referentes às informações descritas nos prontuários, será consultada a professora responsável pelo projeto.

As imagens das radiografias periapicais serão classificadas de acordo com o Índice Periapical (PAI) (ØRSTAVIK et al., 1986), utilizando escores de 1 a 5, conforme descrito a seguir:

- 1) estruturas periapicais normais;
- 2) pequenas alterações na estrutura óssea periapical;
- 3) alterações na estrutura óssea periapical com perda mineral;
- 4) periodontite apical com área radiolúcida bem definida;
- 5) periodontite apical severa com alterações exacerbadas na estrutura óssea.

Este processo será realizado por um examinador experiente na área de Endodontia, treinado e calibrado, através da aplicação do teste *kappa* (análise de escores/variável categórica). A análise radiográfica considerará o dente em sua totalidade. Assim, dentes multirradiculares terão seu PAI definido como o maior índice encontrado em suas raízes.

2.3.4 Análise dos dados

Para avaliação da intensidade da dor das pacientes, será aplicada uma Escala de Avaliação Numérica da Dor (EAND), validada em na língua portuguesa por Ferreira-Valente et al. (2011). A escala será aplicada em momentos distintos: na primeira consulta, após exame clínico completo; após o preparo biomecânico

(passadas 24 e 48 horas); após a obturação dos canais radiculares (passadas 24 e 48 horas).

A EAND consiste em uma escala de 11 pontos apresentados, frequentemente, em caixotes fechados em ordem crescente de números inteiros da esquerda para a direita de 0 à 10, na qual os pontos extremos significam “sem dor” para 0 e “pior dor que se pode imaginar” para 10. Os participantes serão solicitados a assinalar com um X o único número que melhor representa a intensidade da dor. A EAND pode fornecer dados para análise paramétrica e vem sendo amplamente utilizada na Odontologia (BOLTON, WILKINSON, 1998; CHANQUES et al., 2010; DOS SANTOS CALDERON et al., 2012; FERREIRA-VALENTE et al. 2011; WILLIAMSON, HOGGART, 2005).

Na primeira consulta após exame clínico completo, os pacientes serão questionados quanto à intensidade da experiência de dor de origem dentária nas últimas 48 horas, sendo orientados e solicitados a registrarem na escala o número correspondente à intensidade de dor. O registro será feito em uma ficha específica de avaliação da intensidade da ocorrência de dor pré-operatória e pós-operatória.

Serão considerados “sucesso” casos em que existirem $PAI \leq 2$ e ausência de sinais e sintomas. Dentes que apresentarem ausência de sinais e sintomas e $PAI \geq 3$ serão considerados como “dentes em função”. A presença de sinais e sintomas, independente do PAI, definirá o caso como “insucesso” (FRIEDMAN; ABITBOL; LAWRENCE, 2003).

Os dados registrados serão acessados no banco de dados. Inicialmente, será realizada uma análise descritiva de frequência de cada um dos fatores coletados (co-variáveis), a qual será apresentada por meio de gráficos e tabelas. Além disso, os diferentes níveis de aprendizado, bem como os aspectos clínicos e radiográficos abordados na anamnese, exame inicial e demais etapas do tratamento serão avaliados quanto ao seu potencial de interferir nos desfechos clínicos pretendidos.

2.3.5 Considerações éticas

O projeto será enviado para apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal de Pelotas (UFPel) e da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Este projeto consiste em um recorte de um projeto multicêntrico, realizado em conjunto com a Faculdade de Odontologia da UFRGS (Universidade Federal do Rio Grande do Sul). Desta forma, todos os apêndices referentes aos aspectos éticos e autorizações, contém dados de ambas as universidades.

Os prontuários que serão consultados pertencem a Faculdade de Odontologia da UFPel. A consulta aos prontuários foi autorizada pelo setor responsável da UFPel. A proteção e confidencialidade de dados coletados nos prontuários será garantida pelo Termo de Compromisso assinado pelos pesquisadores, informando conhecimento da resolução 466/12 bem como o seu cumprimento e Termo de Compromisso assinado pelos pesquisadores comprometendo-se a preservar a identidade dos pacientes.

Este trabalho não trará riscos aos participantes no que se refere ao atendimento propriamente dito, uma vez que não serão modificados protocolos e controles pós-operatórios. Os riscos do presente projeto referem-se à possibilidade de quebra de sigilo dos dados dos prontuários e serão minimizados pelo comprometimento dos pesquisadores em divulgar os dados de forma anônima. O participante poderá beneficiar-se indiretamente, uma vez que o estudo trará informações, ao profissional e aos educadores, a respeito de fatores que interferem no sucesso dos tratamentos e retratamentos endodônticos.

Além disso, solicita-se dispensa de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, pois:

- a) Não haverá contato direto com paciente;
- b) Por ser um estudo retrospectivo, que empregará apenas informações relacionadas com os dados do prontuário, sobre os tratamentos endodônticos realizados por alunos da Faculdade de Odontologia da UFPel;
- c) Todos os dados serão manejados e analisados de forma anônima, sem identificação nominal dos participantes de pesquisa;
- d) Os resultados decorrentes do estudo serão apresentados de forma agregada, não permitindo a identificação individual dos participantes;
- e) Trata-se de um estudo não intervencionista (sem intervenções clínicas) e sem alterações/influências na rotina/tratamento do participante de pesquisa, e consequentemente sem adição de riscos ou prejuízos ao bem-estar dos mesmos.

2.4 Orçamento

Descrição	Quantidade	Preço unitário (R\$)	Preço total (R\$)

Folha A4	2 pacotes de 500 folhas	18,00	36,00
Impressão	920	0,10	92,00
Luvas	2 caixas	20,00	40,00
Máscaras	1 caixa	7,00	7,00
Gorros	1 caixa	15,00	15,00
TOTAL			190,00

2.5 Cronograma

	2020											
	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Elaboração e entrega do projeto	X	X										
Busca e análise dos prontuários		X	X									
Lançamento dos dados na plataforma digital				X	X							
Análise dos resultados						X	X	X				
Redação final									X	X	X	

3 Relatório de trabalho de campo

O projeto apresentado na sessão anterior desta Tese de Doutorado consiste em um recorte de um estudo observacional retrospectivo multicêntrico mais amplo, o qual já originou três artigos científicos, um deles em fase de submissão, e outros dois já publicados. Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal de Pelotas, Pelotas/RS, sendo registrado sob o CAAE: 06198819.6.2001.5317 (ANEXO A). O estudo visa a coleta de uma série de dados, avaliando fatores dos tratamentos e retratamentos endodônticos realizados nas clínicas de graduação, em um longo período de recrutamento de pacientes e preservação dos casos. As informações pessoais dos pacientes foram mantidas em sigilo através da codificação de suas identidades durante as análises e divulgação dos resultados.

Considerando que esta tese apresenta um estudo observacional transversal, sua idealização e construção foi conduzida baseada nas determinações do STROBE (VON ELM et al., 2008), apresentado no ANEXO B.

4 Artigo

Impact of instrumentation technique and root curvature of molars on the on the frequency of technical failures of endodontic treatments performed by undergraduate students – a retrospective cross-sectional study

Carolina Clasen Vieira^a, Luciéli Andréia Zajkowski^a, Daniele Prado Assumpção^a,
Tatiana Pereira Cenci^a, Maísa Casarin^a, Erick Miranda Souza^b, Fernanda Geraldo
Pappen^a

^a Graduate Program in Dentistry, Federal University of Pelotas, Pelotas-RS, Brazil.

^b School of Dentistry, Federal University of Maranhão, UFMA, São Luis-MA, Brazil.

Corresponding author:

Fernanda Geraldo Pappen

R. Gonçalves Chaves, 457.

Pelotas, RS, Brazil 96015-560

Tel/Fax: 3225-6741

Abstract

Aim: To evaluate the frequency of technical failures in root canal treatment (RCT) of molars performed by undergraduate students and its association with root curvature and instrumentation technique.

Materials and methods: This cross-sectional observational study evaluated the technical failures which occurred in RCT of mesial roots of molars and their association with root curvature and instrumentation technique. Root curvature was measured according to Schneider (1971) method and classified according to the American Association of Endodontics (AAE, 2019) recommendations. Root canal filling was scored taking into account the filling extension, density and taper, as well as ledge/zip occurrence. Bivariate associations using the Chi-square test and logistic regression analysis was performed to determine associations between ledge/zip formation, inadequate density, inadequate taper, root canal filling length shorter than 2mm and root canal filling material beyond apex and the independent variables. The level of significance was set at 5%. Odds ratios (OR) and 95% confidence intervals (CI) were calculated.

Results: A total of 206 RCTs were included in the study. The bivariate analysis demonstrated that instrumentation technique was significantly associated with all the outcome criteria investigated. The manual technique in both unadjusted and adjusted analysis was associated with higher risk of ledge/zip formation, inadequate density, inadequate taper and short root canal filling length. The occurrence of root filling beyond the apex was more frequent when reciprocating technique was used.

Conclusion: The instrumentation technique strongly influenced the frequency of technical failures in molars RCT performed by undergraduate students. However, there was no association between the investigated failures and the root curvature.

Keywords: Technical Failures; Root Curvature; Root Canal Preparation; Root Canal Treatment; Dental Students Technical Quality

Introduction

One of the main factors related to the failure of endodontic treatment is the complex anatomy of the root canal system, which does not permit the complete cleaning of the canal, allowing the maintenance of viable microorganisms (Wada *et al.* 1998). The incidence of unsatisfactory fillings and, consequently, endodontic failure in molars turns out to be higher than in other dental groups, probably due to these complexities and to the presence of root curvatures, which is common in this dental group, hindering the disinfection and satisfactory shaping and the achievement of a satisfactory filling (Riddel *et al.* 2006).

According to the European Society of Endodontics (ESE), an endodontic treatment is considered adequate when, radiographically, the canal is completely filled, without the presence of voids, and when it maintains its original anatomy after shaping (ESE, 2006). The literature points out that the technical quality of RCT performed by undergraduate students ranges from 13% to 55% (Hayes *et al.* 2001, Eleftheriadis & Lambrianidis 2005, Dadresanfar *et al.* 2008, Balto *et al.* 2010, Khabbaz *et al.* 2010, Kumar & Duncan, 2012, Ribeiro *et al.* 2018), being the lower rates attributed to multiradicular teeth (Barrieshi-Nusair *et al.* 2004, Eleftheriadis & Lambrianidis 2005, Donnelly *et al.* 2017). To evaluate the technical quality of RCT, these studies usually take into account the root canal filling length, density, taper, and the occurrence of accidents or iatrogenies. One of the factors contributing to the low quality rates is the occurrence of accidents during the operative act, such as ledge/zip formation, root perforation and instrument fractures (Eleftheriadis & Lambrianidis 2005, Dadresanfar *et al.* 2008), and to obtain better results, the use of technologies such as apex location devices, reciprocating nickel-titanium instruments and the use of gutta-percha cones with greater conicity, may turn RCT more safer, effective and satisfactory (Kumar & Duncan 2012, Vaudt *et al.* 2009, Del Fabbro *et al.* 2018). Despite the little evidence available, reciprocating instruments seem to be a potential alternative for root canal preparation mainly by untrained or inexperienced practitioners, as they have a lower occurrence of accidents and transoperative complications (Silvani *et al.* 2013).

The literature shows that the quality of obturation developed by undergraduate students when using mechanized systems is better and faster to be achieved (Abu-Tahun *et al.* 2014). However, even today, the strategy commonly taught root canal instrumentation in Brazilian universities consists in the conventional techniques using

hand-files, which require a high levels of operator sensitivity, in addition to the extensive learning curve. Thus, with the intention of improving student performance and charisma for Endodontics, the systematic incorporation of reciprocating instrumentation into the preclinical and clinical curriculum becomes promising and should be advocated to achieve higher technical quality endodontic treatments.

Therefore, the aim of this study was to evaluate the frequency of technical failures in root canal treatment of molars performed by undergraduate students and its association with root curvature and instrumentation technique. The null hypothesis is that there is no association between the frequency of technical failures in root canal treatment of molars with the root curvature degree and instrumentation technique.

Materials and methods

Ethical considerations

The study was approved by the Local Research and Ethic Committee (CAAE #06198819.6.2001.5317). The patients' personal information was kept confidential in order to preserve their identities.

Study design

The present study consists in a cross-sectional observational evaluation of the frequency of technical failures in RCT in undergraduate dental clinics developed and reported based on the STROBE guideline recommendations (von Elm *et al.* 2008). The association of failures with root curvature and instrumentation technique was also investigated.

Cases selection

The study comprised primary RCT in molar teeth, performed by 5th year undergraduate students from a dental school (Federal University of Pelotas - UFPel, Brazil). The RCT were carried out under supervision of professors specialists in Endodontics from March, 2018 to October, 2021. Periapical radiographies were obtained, and radiographic images were scanned (HP ScanJet G4050, HP Brasil, Barueri, SP, Brazil). All images were recorded as TIFF-files with 300 DPI resolutions.

Case selection was performed as a census. The evaluation was performed in mesial roots of upper and lower molars. Only those cases who had their clinical records

completely filled out, with a properly processed and stored final periapical radiograph, performed with a radiographic positioner to avoid length and angle distortions, were included in the analysis. Periapical radiographic images should include the entire dental crown and roots and approximately 2 to 3 mm of the periapical region (ESE, 2006). Images with unclear dental crown or root; impossibility to determine the occlusal plane; teeth presenting immature root development, other teeth than molars, and endodontic retreatments were excluded. Additionally, records with missing data of technical variables (unreported instrumentation and filling technique) were also excluded (Figure 1).

The study sample power was determined using OpenEpi software version 3.01 (Andrew G. Dean & Kevin M. Sullivan, Atlanta, GA, USA).

Technical procedures

All endodontic and restorative procedures were performed under controlled and standardized conditions, under the supervision of professor specialist in Endodontics. The students received expository theoretical classes and laboratory training in both manual and reciprocating techniques, and received instructions related to the importance of correctly filling out the patient's clinical records.

A part of the sample the chemical-mechanical preparation was performed with hand files using the crown-down technique with cervical preflaring using Gates-Glidden drills (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland), while in part of the sample RCT was performed using the reciprocating instrumentation technique, with Reciproc® files (VDW, Munich, Germany).

Data collection

Data collection was performed by single researcher. The variables collected from the patient's clinical records were: gender (female or male); tooth position (lower or upper molar); initial diagnosis (vital pulp or necrotic pulp); root canal preparation technique (reciprocating files or hand-files); and obturation technique (single cone or cold lateral condensation). From the radiographic analysis, the variables collected were: root canal filling length (adequate, when the filling was between 0 – 2 mm from the apex; root canal filling length $\geq$ 2 mm from the apex; root canal filling length beyond the apex), density (adequate or inadequate), taper (adequate or inadequate) and ledge/zip occurrence (absent or present).

Evaluation of the degree of root curvature

The degree of root curvature of mesial roots of the included molars were accessed. The final radiographic images were analyzed by a single trained and calibrated examiner, in relation to root curvature degree and the technical quality of root canal filling. Prior to the evaluation, a consensus regarding all variables was established among the seniors' researchers and the examiner. Ten percent of the cases were randomly selected and re-analyzed two weeks later in order to set intra-examiner's agreement. The evaluation was performed in a dark room on a 19-inch LCD monitor, 64 bit, color, and 1600 X 1220 pixels the ImageJ software (version 1.52a, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA), where the examiner was able to freely explore image-editing tools during the analysis, such as: density, contrast, gamma curvature, and magnification. There was no time limit for analyzing each image.

The degree of root curvature was measured by drawing in the X-ray images a first line parallel to the long axis of the canal and a second line from the apical foramen towards the point of beginning of the root curvature, and, finally, measuring the acute angle formed by the lines (Schneider, 1971). These lines were traced using Adobe Photoshop (version 7.0) and root curvature was measured using ImageJ software. To data analysis, the root curvature degree was dichotomized taking into account the AAE classification (2019): minimal difficulty level, considering no curvatures or curvatures up to 10°; and moderate or high difficulty level, considering root curvatures higher than 10°.

Evaluation of the factors associated with the technical failures

The assessment of root canal filling quality was performed based on the parameters described in the ESE's quality guideline for RCT (2006) and by Barrieshi-Nusair *et al.* (2004). The evaluation took into account the root canal filling length, density and taper, as well as the occurrence of accidents (Table 1).

To evaluate the extent of the obturation, the radiographs were redimensioned, with an increase of 10 times the original size, and measurement of the distance between the obturation and the radiographic apex was achieved. The evaluation was performed using the ImageJ software (version 1.52a, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA).

Statistical analysis

Descriptive analysis (frequencies, mean, minimum and maximum and standard deviation values) was performed for ledge/zip formation, inadequate density, inadequate taper, root canal filling length shorter than 2mm and root canal filling material beyond apex, teeth position, instrumentation technique and root curvature. Bivariate associations between the dependent variables with the tooth type, root canal instrumentation technique and root curvature degree were performed using the Chi-square test. Logistic regression analysis was performed to determine associations between ledge/zip formation, inadequate density, inadequate taper, root canal filling length shorter than 2mm and root canal filling material beyond apex and the independent variables (teeth: lower or upper molar; instrumentation technique: reciprocating or manual; and root curvature: up to 10°, or higher than 10°). Variables with a p-value < 0.20 in the bivariate logistic regression analysis were incorporated into the multivariate model. The level of significance was set at 5%. Odds ratios (OR) and 95% confidence intervals (CI) were calculated. Data analysis was performed using STATA 14 (Stata Corporation, College Station, TX, USA).

Results

The intra observer agreement on qualitative parameters was calculated using Cohen's kappa coefficient, and it resulted on an index equal or higher than 0.88. Intra-class coefficient correlation determined the intra observer agreement at root curvature measurements and it had resulted on an index of 0.84.

A total of 206 RCT from 197 patients (female, n=101; male, n=96), with mean age of the 38.85 years $\pm$ 19.42 were analyzed. The frequency of baseline characteristics from the sample is described in Table 2. Most treated teeth was lower molars (71.4%), presenting pulp necrosis (66.5%). The conventional manual technique, using hand files was used in 102 (49.5%) cases, 104 (50.5%) were instrumented by reciprocating technique. Eighteen molars (8.7%) presented root curvature degree up to 10°, while in 131 teeth (63.6%) the curvature degree was between 10° and 30°, and in 57 (27.7%), the curvature was higher than 30°.

Inadequate density and inadequate taper, followed by short filling length were the most frequent factors responsible for failures in the root canal obturation. The frequencies of failure parameters within the pre- and intra-operative variables are

described in Table 3. The bivariate analysis demonstrated that instrumentation technique was significantly associated with all the outcome criteria investigated to determine root canal filling technical failures. Also, the frequency of each studied outcome, within reciprocating and manual instrumentation technique groups, is describe in Figure 2.

In the unadjusted analysis for short filling length, inadequate density, inadequate taper, only the manual instrumentation technique was associated with higher odds ratio. The unadjusted analysis also demonstrated that upper molars and the manual technique represent protection factors for the occurrence of root filling beyond the apex (Table 4).

In the adjusted analysis the manual instrumentation technique presented higher risk of ledge/zip formation, inadequate density, inadequate taper and short root canal filling length. However, upper molars and the manual technique represent protection factors for the occurrence of root filling beyond the apex (Table 5).

The study power was calculated for all the dependent variables (ledge/zip formation, short filling length, root canal filling material beyond the apex, inadequate density and inadequate taper) considering the following parameters: 95% CI; exposed to root canal instrumentation with reciprocating files (n=106) and non-exposed to instrumentation with reciprocating technique, but with hand-files (n=102). The study power was set in 100% for short filling length, inadequate density and inadequate taper; 97.98% for root canal filling material beyond the apex; and 71.11% for ledge/zip formation.

Discussion

The present study comprise data collected from endodontic clinical and radiographic records from teeth with endodontic treatment performed by undergraduate students of the School of Dentistry, Federal University of Pelotas, Brazil. The results obtained in the present research is fundamental to evaluate the learning skills and the technical quality of treatments during undergraduation, as well as to identify possible teaching aspects in Endodontics to be improved. The null hypothesis of the study was partially accepted, once the instrumentation technique showed strong association with factors related to technical failure.

Many authors have been using different criteria to classify endodontic treatment as adequate or inadequate. Some of them take into consideration only the extent of root canal filling (Saunders *et al.* 1997, De Moor *et al.* 2000), while others indicate that the association of the filling extension and filling density must be evaluated (Chueh *et al.* 2003, Dugas *et al.* 2003, Barrieshi-Nusair *et al.* 2004, Segura-Egea *et al.* 2004). According to the ESE (2006), the root canal instrumentation should result in a tapered and uniform shape, from the cervical third to the apex, and the evaluation of RCT quality should include the observation of adequate working length, defined as the closest possible to the apical constriction; the canal should be completely filled with a (semi-) solid material associated with an endodontic sealer; no space between the filling material and the canal walls should be seen radiographically (adequate density); and tapered preparation from crown to apex (adequate taper). Nevertheless, in the present study, the parameters chosen for the evaluation of the frequency of failures in endodontic root canal treatments, were based in this recommendation.

According to Cunningham and Senia (1992), 100% of the molars present some degree of curvature. There are several methods to determine the degree of root curvature, and it can be through periapical radiographs, which have their limitations for presenting only two dimensions, or even through cone-beam computer tomography (CBCT) (Hartmann *et al.* 2019). In the present study, the method used for curvature measurement was based on the classical method of Schneider (1971) and classified according to the AAE (2019), which classifies the canal and tooth root morphology according to its degree of difficulty for treatment, in three different categories: minimal or mild, considering curvatures less than 10°; moderate, with the presence of curvatures between 10° and 30°; and high or severe, which are the curvatures greater than 30°. For the purposes of statistical analysis, the degree of curvature were dichotomized in: 0 = minimal and; 1 = moderate and high degree of curvature. The dicotomization was performed because, according to the AAE, curvatures less than 10° are considered to have a minimal degree of difficulty, and the outcome of the treatment is more predictable, can be achieved by a competent professional, even with limited experience, such as undergraduate students. Curvatures greater than 10° may present a moderate to high degree of difficulty, being a challenge even for experienced professionals and specialists. Therefore, they should not be encouraged for undergraduate students (AAE, 2019).

Endodontic procedural errors are not the direct cause of treatment failure (Lin *et al.* 2005), however, when procedural errors occur, the technical quality indices of endodontic treatment are lower (da Silva *et al.* 2018). The accidents could compromise the root canal cleaning and shaping, resulting in an incomplete obturation, which could compromise the success of the treatment. Previous studies show that accidents during the procedure are more common in molars and canals with curvature (Barrieshi-Nusair *et al.* 2004, Elefthriadis & Lambrianidis 2005, Er *et al.* 2006, Balto *et al.* 2010, Haug *et al.* 2018). Furthermore, root curvature is pointed out as a determining factor for the occurrence of deviations (Dadresanfar *et al.* 2008, da Silva *et al.* 2018), which occurred in 13.6% of the molars in our study. This is because molar teeth have a higher prevalence of narrow and curved canals and are more challenging for students. To avoid accidents, it is essential to have a correct diagnosis, knowledge of the dental anatomy, use of adequate materials and instruments, mastery of the technique to be used, and the clinical ability of the professional (Bierenkrant *et al.* 2008).

Most of the molars analyzed in the present study had a degree of root curvature greater than or equal to 20°, i.e., curvatures considered to have a moderate to high degree of difficulty according to the AAE. However, an association with technical failures in obturation was not found. The degree of curvature would probably have a significant impact if only manual instrumentation was evaluated, as demonstrated in previous studies (Eleftheriadis & Lambrianidis 2005, Sousa e Silva *et al.* 2020). It is known that canal volume enlargement associated with a conically shaped and centered preparation are more difficult to achieve in canals with curvature, as they depend not only on the degree of angulation, but also on the kinematics of instrumentation employment, their flexibility and diameter, and instrumentation technique (Juhasz *et al.* 2019). Thus, in reciprocating instrumentation, the ease of technique, as well as the use of Ni-Ti instruments, make the preparation easier and safer, eliminating the high percentage of failures. Thus, when looking at the results in a grouped manner, angulation no longer had any influence.

Our results demonstrated that the instrumentation technique was strongly associated with all variables analyzed to evaluate the occurrence of technical failure, and inadequate density was the most commonly technical failure found, followed by inadequate taper and short filling extension, corroborating with previous findings reported in the literature (Er *et al.* 2006, Balto *et al.* 2010, Ribeiro *et al.* 2018). Moreover, according to the adjusted analysis, the manual kinematics presented higher

chances of obtaining short obturations, with inadequate density and taper, as well as higher risk of the ledges. Crown-down techniques with stainless steel hand-files are still widely used and taught in undergraduation courses (Khabbaz *et al.* 2010). Previous studies comparing automatized and manual techniques have shown that manual instrumentation has a higher incidence of procedural errors, such as ledge/zip formation, canal transportation and instrument fracture, as well as lower success rates (Cheung & Liu 2009; Hamid *et al.* 2018, Ribeiro *et al.* 2018), specially when less experienced operators are involved (Greene & Krell 1990, Gambarini 1999, Kfir *et al.* 2004). The high number of steps in these hand file techniques, associated with the significant stiffness of stainless steel files, may help explain this data (Coelho *et al.* 2017).

Conversely, numerous benefits of NiTi rotary instruments over stainless steel hand instruments had been demonstrated, including improved maintenance of the original shape and curvature of the original canal anatomy, decreased catastrophic errors, and reduced treatment time (Esposito & Cunningham 1995, Schäfer *et al.* 2004, Hamid *et al.* 2018). Even though the literature is still limited in evidence on the impact of automatized instrumentation on the quality of endodontic treatment, especially in relation to reciprocating files, these instruments are indicated as possible alternatives for root canal preparation by undergraduate students because the learning curve is shorter and presents a lower occurrence of accidents and complications, which is important to be considered, especially for beginners (Silvani *et al.* 2013, Munoz *et al.* 2019, Mahmoodi *et al.* 2020).

It has been demonstrated that mechanized Ni-Ti instruments shape the root canal better than hand files (Park 2001). However, due to easy handling and mainly, due to the lack of attention to reference points, especially by undergraduate students, overinstrumentation has been reported to be frequent in the reciprocating instrumentation technique (Berutti *et al.* 2011, Haug *et al.* 2018). Consequently, widening the apical foramen, the extrusion of root canal filling material, can be more common in the reciprocating technique, as demonstrated in our study. It is important to highlight that the literature is still unclear whether sealer extrusion or unintentional overfilling is considered as an inadequate treatment. In the past, many authors believed that extrusion of filling material into the periapical tissues could cause a chronic inflammatory response and decrease the success rates of RCT (Engström *et al.* 1964, Seltzer *et al.* 1968). However, Goldberg *et al.* (2020) recently evaluated the

outcome of RCT with unintentional root canal overfilling and concluded that the type of material extruded, its resorption or persistence, are not related to unfavorable outcomes.

Additionally to the root canal filling length, other aspect to be observed in RCT, is the density of root canal obturation. The ideal density is reached when a homogeneous radiopaque image is perceived radiographically in the filling mass. Some authors have reported that less dense and non-homogeneous obturations have a higher risk of infiltration, increasing the possibility of a negative RCT outcome (Kirkevang *et al.* 2001, Stoll *et al.* 2005). In contrast, homogeneous obturations, without the presence of spaces, are strongly related to better outcomes (Hayes *et al.* 2001). Inadequate density occurs due to deficiencies in the chemical-mechanical preparation and, mainly, in the filling of the root canals. In our study, all cases of manual instrumentation were filled by cold lateral condensation technique, fact that explains that 63.7% of them were scored as presenting inadequate density. Contrarily, more than 95% of cases where the reciprocation technique was used, were filled using the single cone technique, and only 1.9% had fillings with unsatisfactory density. The formation of spaces, due to the introduction of the bigital spacer used for inserting accessory cones, is common when the cold lateral condensation technique is used (Khabbaz *et al.* 2010).

The present study has limitations. The first one is related to the radiographic interpretation of endodontics performed through periapical radiographs. As has long been known, radiography provides a two-dimensional image of a three-dimensional structure, which sometimes makes it impossible to dissociate overlapping anatomical structures. Moreover, root lengths and obturations may not be accurately reproduced due to distortions in the vertical angulation of the radiographic incidence and it needs to be correctly processed and stored in order to provide an image of quality that can be analyzed. The second is a limitation attributed to retrospective studies, where some factors cannot be controlled or analyzed, such as the skills of an individual dental student, patient behavior, differences in assistance received from faculty, and case difficulty were likely similar but remained uncontrolled.

The literature shows us that the increase in RCT success rates is also dependent on the clinical experience of the operator, being significantly higher when using automatized Ni-Ti instruments (Cheung & Liu 2009). In order to improve the clinical performance of undergraduate dental students and deliver better quality treatments to patients, the endodontics curriculum has to be revised and curricular

changes should be made even in the preclinical discipline. The introduction of new technologies should be encouraged extensively in under graduation courses, such as the use of foraminal locators and Ni-Ti endodontic instruments driven through reciprocating kinematics (Donnelly *et al.* 2017). This will provide a safer, faster, higher quality RCT with less chance of accidents and complications. Furthermore, it is also relevant that dental schools design teaching and clinical practice strategies based on the difficulty of instrumentation and obturation of each case and on the anatomical complexity involved in each dental element.

Conclusions

The instrumentation technique strongly influenced the frequency of technical failures in molars RCT performed by undergraduate students. However, there was no association between the investigated failures and the root curvature.

Acknowledgements

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Brazil (Finance Code 001).

Funding

The present study did not receive any financial resources from public or private institutions.

Conflict of interest

The authors disclaim any conflict of interest.

Table 1. Parameters for evaluating the technical quality of root fillings

Variable	Standard	Definition
Root canal filling length	Adequate	Endodontic material placed 0 to 2 mm from the apex
	≥ 2 mm from the apex	Endodontic material more than 2 mm from the apex
	Beyond the apex	Endodontic sealer or gutta-percha beyond the apex
Root canal filling density	Adequate	Uniform density, without gaps in the filler
	Inadequate	Non-uniform density, with clear presence of gaps in the filler
Root canal filling taper	Adequate	Uniform taper from the coronal third to the apical portion, respecting the anatomy of the root canal
	Inadequate	Excessive, insufficient or irregular taper
Occurrence of accidents	Absent	No accidents or interurrences; maintenance of the root canal original path
	Ledge/zip formation	Occurrence of ledges and zips from the original path of the root canal

Table 2. Baseline characteristics of patients within the groups

Factors	
Age (mean, SD)	38.85 ± 19.42
Gender n (%)	
Female	110 (53.4)
Male	96(46.6)
Tooth type n (%)	
Lower molar	147 (71.4)
Upper molar	59 (28.6)
Initial diagnosis n (%)	
Vital Pulp	69 (33.5)
Necrotic Pulp	137 (66.5)
Root canal preparation n (%)	
Reciprocating	104 (50.5)
Manual	102 (49.5)
Obturation technique n (%)	
Single cone	99 (48.1)
Lateral condensation	107 (51.9)
Root canal curvature (AAE classification) n (%)	
< 10°	18 (8.7)
10° to 30°	131 (63.6)
> 30°	57 (27.7)

Table 3. Factors associated with the technical failures of root canal filling in molars

	Filling length ≥ 2 mm from the apex	P value	Filling length beyond the apex	P value	Inadequate density	P value	Inadequate taper	P value	Ledge/zip occurrence	P value
Total	57 (27.7)		22 (10.7)		67 (32.5)		67 (32.5)		28 (13.6)	
Tooth										
Lower molar	40 (27.2)	0.952	21 (14.3)	0.045	48 (32.7)	1.000	49 (33.3)	0.821	23 (15.6)	0.257
Upper molar	17 (28.8)		2 (3.4)		19 (32.2)		18 (30.5)		5 (8.5)	
Instrumentation										
Reciprocating	6 (5.8)	< 0.001	21 (20.2)	< 0.001	2 (1.9)	< 0.001	7 (6.7)	< 0.001	8 (7.7)	0.022
Manual	51 (50)		2 (2.0)		65 (63.7)		60 (58.8)		20 (19.6)	
Root curvature										
< 10° (minimal difficulty)	1 (5.6)	0.055	3 (16.7)	0.701	5 (27.8)	0.852	5 (27.8)	0.852	1 (5.6)	0.496
$\geq 10^\circ$ (moderate/high difficulty)	56 (29.8)		20 (10.6)		62 (33)		62 (32)		27 (14.4)	

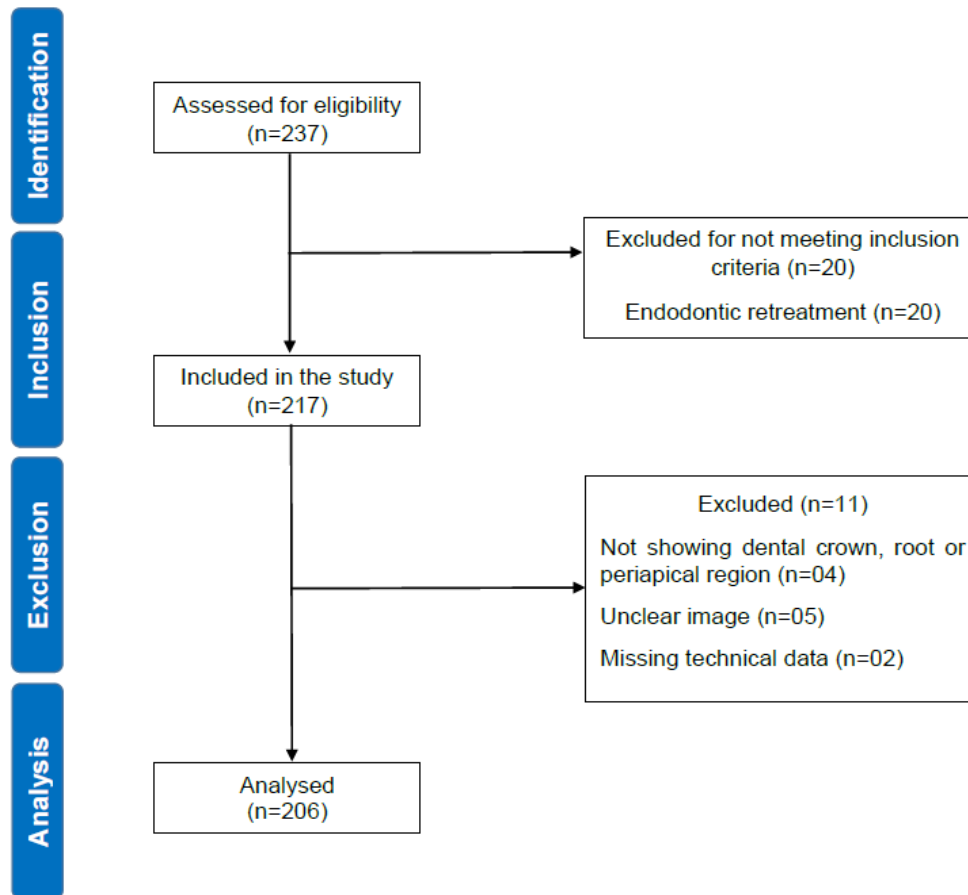
* Chi-square test

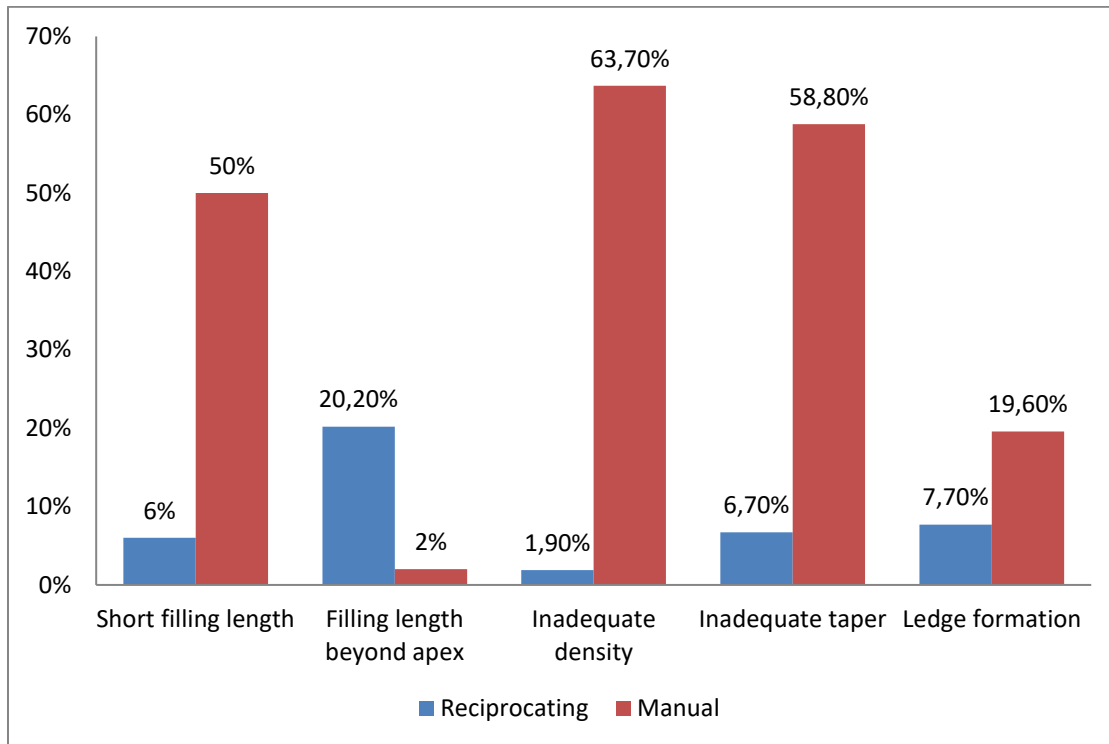
Table 4. Unadjusted association between the outcome (short filling length, filling length beyond the apex, inadequate density, inadequate taper, and ledge/zip formation) and independent variables, determined using Logistic regression

	Filling length $\geq$ 2 mm from the apex		Filling length beyond the apex		Inadequate density		Inadequate taper		Ledge/zip occurrence	
	OR (IC)	P	OR (IC)	P	OR (IC)	P	OR (IC)	P	OR (IC)	P
Tooth										
Lower molar	1	0.816	1	0.040	1	0.950	1	0.696	1	0.214
Upper molar	1.08 (0.55-2.11)		0.21 (0.04-0.92)		0.97 (0.51 – 1.86)		0.87 (0.45-1.68)		0.54 (0.20-1.42)	
Instrumentation										
Reciprocating	1	0.000	1	0.001	1	0.000	1	0.000	1	0.025
Manual	16.33 (6.56-40.62)		0.07 (0.01-0.34)		89.59 (20.88-384.43)		19.79 (8.35-46.89)		2.54 (1.12-5.78)	
Root curvature										
< 10°	1	0.590	1	0.413	1	0.547	1	0.653	1	0.318
$\geq$ 10°	1.37 (0.43-4.36)		2.36 (0.30-18.65)		0.73 (0.27-1.99)		1.27 (0.43-3.75)		2.85 (0.36-22.21)	

Table 5. Adjusted association between the outcome (short filling length, filling length beyond the apex, inadequate density, inadequate taper, and ledge/zip formation) and independent variables, determined using Logistic regression

[illegible]

FIGURE 1 Flowchart of the study sample reported according to the STROBE guideline**FIGURE 2** Frequency of each studied outcome, within reciprocating and manual instrumentation technique groups



References

- Abu-Tahun I, Al-Rabab'ah MA, Hammad M, Khraisat A (2014) Technical quality of root canal treatment of posterior teeth after rotary or hand preparation by fifth year undergraduate students, The University of Jordan. *Australian Endodontic Journal* **40**, 123-30.
- American Association of Endodontists (2019) Endodontic case difficulty assessment form and guidelines [WWW document]. URL https://www.aae.org/specialty/wp-content/uploads/sites/2/2019/02/19AAE_CaseDifficultyAssessmentForm.pdf [accessed on 04 January 2022].
- Balto H, Al Khalifah S, Al Mugairin S, Al Deeb M, Al-Madi E (2010) Technical quality of root fillings performed by undergraduate students in Saudi Arabia. *International Endodontic Journal* **43**, 292-300.
- Barrieshi-Nusair KM, Al-Omari MA, Al-Hiyasat AS (2004) Radiographic technical quality of root canal treatment performed by dental students at the Dental Teaching Center in Jordan. *Journal of Dentistry* **32**, 301-7.
- Berutti E, Chiandussi G, Paolino DS, et al. (2011) Effect of canal length and curvature on working length alteration with WaveOne reciprocating files. *Journal of Endodontics* **37**, 1687–90.
- Bierenkrant DE, Parashos P, Messer HH (2008) The technical quality of nonsurgical root canal treatment performed by a selected cohort of Australian endodontists. *International Endodontic Journal* **41**, 561-70.
- Cheung GS, Liu CS (2009) A retrospective study of endodontic treatment outcome between nickel-titanium rotary and stainless steel hand filing techniques. *Journal of Endodontics* **35**, 938-43.
- Chueh LH, Chen SC, Lee CM et al. (2003) Technical quality of root canal treatment in Taiwan. *International Endodontic Journal* **36**, 416–22.
- Coelho MS, Card SJ, Tawil PZ (2017) Safety assessment of two hybrid instrumentation techniques in a dental student endodontic clinic: a retrospective study. *Journal of Dental Education* **81**, 333-9.
- Cunningham CJ, Senia ES (1992) A three-dimensional study of canal curvatures in the mesial roots of mandibular molars. *Journal of Endodontics* **18**, 294-300.
- Dadresanfar B, Akhlaghi NM, Vatanpour M, Yekta HA, Mohajeri LB (2008) Technical quality of root canal treatment performed by undergraduate dental students. *Iranian Endodontic Journal* **3**, 73-8.
- Da Silva E, Vieira V, Hecksher F, Oliveira M, Antunes H, Moreira E (2018) Cyclic fatigue using severely curved canals and torsional resistance of thermally treated reciprocating instruments. *Clinical Oral Investigations* **22**, 2633-8.

Del Fabbro M, Afrashtehfar KI, Corbella S, El-Kabbaney A, Perondi I, Taschieri S (2018) In vivo and in vitro effectiveness of Rotary nickel-titanium vs manual Stainless steel instruments for root canal therapy: systematic review and meta-analysis. *The Journal of Evidence-Based Dental Practice* **18**, 59-69.

De Moor RJ, Hommez GM, De Boever JG, Delme KI, Martens GE (2000) Periapical health related to the quality of root canal treatment in a Belgian population. *International Endodontic Journal* **33**, 113-20.

Donnelly A, Coffey D, Duncan HF (2017) A re-audit of the technical quality of undergraduate root canal treatment after the introduction of new technology and teaching practices. *International Endodontic Journal* **50**, 941-50.

Dugas NN, Lawrence HP, Teplitsky PE, Pharoah MJ, Friedman S (2003) Periapical health and treatment quality assessment of root-filled teeth in two Canadian populations. *International Endodontic Journal* **36**, 181-92.

Eleftheriadis GI, Lambrianidis TP (2005) Technical quality of root canal treatment and detection of iatrogenic errors in an undergraduate dental clinic. *International Endodontic Journal* **38**, 725-34.

Engström B, Hard AF, Segerstad L, Ramstrom G, Frostell G (1964) Correlation of positive cultures with the prognosis for root canal therapy. *Odontologisk Revy* **15**, 257-69.

Er O, Sagsen B, Maden M, Cinar S, Kahraman Y (2006) Radiographic technical quality of root fillings performed by dental students in Turkey. *International Endodontic Journal* **39**, 867-72.

Esposito PT, Cunningham CJ (1995) A comparison of canal preparation with nickel-titanium and stainless steel instruments. *Journal of Endodontics* **21**, 173-6.

European Society of Endodontology (2006) Quality guidelines for endodontic treatment: consensus report of the European Society of Endodontology. *International Endodontic Journal* **39**, 921-30.

Gambarini G (1999) Shaping and cleaning the root canal system. A scanning electron microscopic evaluation of a new instrumentation and irrigation technique. *Journal of Endodontics* **25**, 800-3.

Goldberg F, Cantarini C, Alfie D, Macchi RL, Arias A (2020) Relationship between unintentional canal overfilling and the long-term outcome of primary root canal treatments and nonsurgical retreatments: a retrospective radiographic assessment. *International Endodontic Journal* **53**, 19-26.

Greene KJ, Krell KV (1990) Clinical factors associated with ledged canals in maxillary and mandibular molars. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics* **70**, 490-7.

Hamid HR, Gluskin AH, Peters OA, Peters CI (2018) Rotary versus reciprocation root canal preparation: initial clinical quality assessment in a novice clinician cohort. *Journal of Endodontics* **44**, 1257-62.

Hartmann RC, Fensterseifer M, Peters OA, de Figueiredo JAP, Gomes MS, Rossi-Fedele G (2019) Methods for measurement of root canal curvature: a systematic and critical review. *International Endodontic Journal* **52**, 169-80.

Haug SR, Solfjeld AF, Ranheim LE, Bårdsen A (2018) Impact of case difficulty on endodontic mishaps in an undergraduate student clinic. *Journal of Endodontics* **44**, 1088-95.

Hayes SJ, Gibson M, Hammond M, Bryant ST, Dummer PM (2001) An audit of root canal treatment performed by undergraduate students. *International Endodontic Journal* **34**, 501-5.

Juhasz A, Hegedus C, Marton I, Benyo B, Orhan K, Dobó-Nagy C (2019) Effectiveness of parameters in quantifying root canal morphology change after instrumentation with the aid of a microcomputed tomography. *BioMed Research International* **2**, 2019:9758176.

Kfir A, Rosenberg E, Zuckerman O, Tamse A, Fuss Z (2004) Comparison of procedural errors resulting during root canal preparations completed by senior dental students in patients using an '8-step method' versus 'serial step-back technique'. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics* **97**, 745-8.

Khabbaz MG, Protogerou E, Douka E (2010) Radiographic quality of root fillings performed by undergraduate students. *International Endodontic Journal* **43**, 499-508.

Kirkevang LL, Horsted-Bindslev P, Orstavik D, Wenzel A (2001) A comparison of the quality of root canal treatment in two Danish subpopulations examined 1974–75 and 1997–98. *International Endodontic Journal* **34**, 607-12.

Kumar M, Duncan HF (2012) Radiographic evaluation of the technical quality of undergraduate endodontic competence cases in the Dublin Dental University Hospital: an audit. *Journal of the Irish Dental Association* **58**, 162-6.

Lin LM, Rosenberg PA, Lin J (2005) Do procedural errors cause endodontic treatment failure? *Journal of the American Dental Association* **136**, 187-93.

Mahmoodi B, Azaripour A, Sagheb K, Sagheb K, Willershausen B, Weusmann J (2020) Undergraduate students' acceptance of a reciprocating one-file system for endodontic treatment. *European Journal of Dentistry* **14**, 393-6.

Muñoz E, Forner L, Garcet S, Rodríguez-Lozano FJ, Llena C (2019) Canal shaping with a reciprocating system is easy to learn. *International Endodontic Journal* **52**, 1244-9.

Park H (2001) A comparison of greater taper files, profiles and stainless steel files to shape curved root canals. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics* **91**, 715-8.

Ribeiro DM, Réus JC, Felipe WT, *et al.* (2018) Technical quality of root canal treatment performed by undergraduate students using hand instrumentation: a meta-analysis. *International Endodontic Journal* **51**, 269-83.

Ridell K, Peterson A, Matsson L, Mejare I (2006) Periapical status and technical quality of root-filled teeth in Swedish adolescents and young adults: a retrospective study. *Acta Odontologica Scandinavica* **64**, 104-10.

Saunders WP, Saunders EM, Sadiq J, Cruickshank E (1997) Technical standard of root canal treatment in an adult Scottish subpopulation. *British Dental Journal* **182**, 382-6.

Schneider SW (1971) A comparison of canal preparations in straight and curved root canals. *Oral Surgery, Oral Medicine, and Oral Pathology* **32**, 271-5.

Segura-Egea JJ, Jimenez-Pinzón A, Poyato-Ferrera M, Velasco-Ortega E, Rios-Santos JV (2004) Periapical status and quality of root fillings and coronal restorations in an adult Spanish population. *International Endodontic Journal* **37**, 525-30.

Seltzer S, Soltanoff W, Sinai I, *et al.* (1968) Biologic aspects of endodontics: Part III. Periapical tissue reactions to root canal instrumentation. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology* **26**, 694-705.

Schäfer E, Schulz-Bongert U, Tulus G (2004) Comparison of hand stainless steel and nickel titanium rotary instrumentation: a clinical study. *Journal of Endodontics* **30**, 432-5.

Silvani M, Brambilla E, Cerutti A, Amato M, Gagliani M (2013) Root canal treatment quality in undergraduate program: a preliminary report on NiTi reciprocating files. *Giornale Italiano di Endodonzia* **27**, 33-7.

Souza e Silva MG, Al-Alam F, Xavier SR, *et al.* (2020). Influência do grau de curvatura radicular na obturação de canais radiculares de molares. *Revista Sul Brasileira de Odontologia* **17**, 21-30.

Stoll R, Betke K, Stachniss V (2005) The influence of different factors on the survival of root canal fillings: A 10-year retrospective study. *Journal of Endodontics* **31**, 783-90.

Vaudt J, Bitter K, Neumann K, Kielbassa AM (2009). Ex vivo study on root canal instrumentation of two rotary nickel–titanium systems in comparison to stainless steel hand instruments. *International Endodontic Journal* **42**, 22-33.

von Elm E, Altman DG, Egger M, *et al.* (2008) The strengthening the reporting of observational studies in epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. *Journal of Clinical Epidemiology* **61**, 344-9.

Wada M, Takase T, Nakanuma K, *et al.* (1998) Clinical study of refractory apical periodontitis treated by apicectomy. Part 1. Root canal morphology of resected apex. *International Endodontic Journal* **31**, 53-6.

5 Considerações finais

O presente estudo teve por objetivo avaliar a frequência de falhas técnicas em

tratamentos endodônticos desenvolvidos por alunos de graduação em Odontologia do 5º ano da Universidade Federal de Pelotas, avaliando sua associação com a técnica de instrumentação utilizada e o grau de curvatura radicular. Este estudo é de fundamental importância para identificar possíveis fatores que tenham influência no desfecho do tratamento e que, ao mesmo tempo, estão relacionados ao ensino e aprendizagem dos alunos.

Foi possível concluir que a técnica de instrumentação está fortemente associada à frequência de falhas técnicas nas obturações de molares. A instrumentação manual foi atribuída ao maior número de falhas e ocorrência de acidentes quando comparada à técnica reciprocante. Isso reforça que os cursos de Odontologia devem avançar para uma prática endodôntica contemporânea, com a implantação de novas tecnologias, agregando o ensino e a utilização de instrumentos reciprocantes aos currículos de graduação, e estimulando a prática nos laboratórios e clínicas de endodontia.

O grau de curvatura radicular não demonstrou associação com a frequência de falhas na obturação. Porém, segundo a AAE (2019), quanto maior o grau de curvatura, maior o nível de dificuldade do caso. Assim, os tratamentos endodônticos de molares devem indicados com muita cautela para alunos de graduação, sempre levando em consideração a aptidão e interesse do aluno e, principalmente, o grau de complexidade do elemento dentário.

Referências

ALLEY, B.S. *et al.* A comparison of survival of teeth following endodontic treatment performed by general dentists or by specialists. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics**, St. Louis, v. 98, n. 1, p. 115-118, 2004.

AMERICAN ASSOCIATION OF ENDODONTISTS. Endodontic case difficulty assessment form and guidelines [WWW document]. URL https://www.aae.org/specialty/wp-content/uploads/sites/2/2019/02/19AAE_CaseDifficultyAssessmentForm.pdf. 2019 [accessed on 29 December 2021].

ARBAB-CHIRANI, R.; VULCAIN, J.M. Undergraduate teaching and clinical use of rotary nickel-titanium endodontic instruments: a survey of French dental schools. **International Endodontic Journal**, Oxford, v. 37, n. 5, p. 320-4, 2004.

BALTO, H.; *et al.* Technical quality of root fillings performed by undergraduate students in Saudi Arabia. **International Endodontic Journal**, Oxford, v. 43, n. 4, p. 292-300, 2010.

BARRIESHI-NUSAIR, K.M.; AL-OMARI, M.A.; AL-HIYASAT, A.S. Radiographic technical quality of root canal treatment performed by dental students at the Dental Teaching Center in Jordan. **Journal of Dentistry**, Guildford, v. 32, n. 4, p. 301-307, 2004.

BARTOLS, A. *et al.* Assessment of Different Root Canal Preparation Techniques with Rotary Nickel-Titanium Instruments by Novice Students. **Dentistry Journal**, Basel, v. 6, n. 3, p. 46, 2018.

BIERENKRANT, D.E; PARASHOS, P.; MESSER, H.H. The technical quality of nonsurgical root canal treatment performed by a selected cohort of Australian endodontists. **International Endodontic Journal**, Oxford, v. 41, n. 7, p. 561-570, 2008.

BOLTON, J.E ; WILKINSON, R.C Responsiveness of pain scales: a comparison of three pain intensity measures in chiropractic patients. **Journal of Manipulative and Physiological Therapeutics**, Lombard IL, v.21, n.1, p.1-7, 1998.

CHANQUES, G. *et al.* The measurement of pain in intensive care unit: comparison of 5 self-report intensity scales. **Pain**, Amsterdam, v. 151, n. 3, p. 711-21, 2010.

CHUEH, L.H. *et al.* Technical quality of root canal treatment in Taiwan. **International Endodontic Journal**, Oxford, v. 36, n. 6, p. 416-422, 2003.

CHEVIGNY, C. *et al.* Treatment outcome in endodontics: The Toronto Study—Phase 4: Initial treatment. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v. 34, n. 3, p. 258-63, 2008.

COLOMBO, M. *et al.* Radiographic technical quality of root canal treatment performed by a new rotary single-file system. **Annali di stomatologia, Rome**, v. 8, n. 1, p. 18-22, 2017.

CUNNINGHAM, C.J.; SENIA, E.S. A three-dimensional study of canal curvatures in the mesial roots of mandibular molars. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v. 18, n. 6, p. 294-300, 1992.

DADRESANFAR, B. *et al.* Technical quality of root canal treatment performed by undergraduate dental students. **Iranian Endodontic Journal**, Tehran, v. 3, n. 3, p. 73-8, 2008.

DEL FABBRO, M. *et al.* In vivo and in vitro effectiveness of Rotary nickel-titanium vs manual Stainless steel instruments for root canal therapy: systematic review and meta-analysis. **Journal of Evidence- Based Dental Practice**, St. Louis, v. 18, n. 1, p. 59-69, 2018.

DOS SANTOS CALDERON, P. *et al.* Concordance among different pain scales in patients with dental pain. **Journal of Orofacial Pain**, Carol Stream, v. 26, n. 2, p. 126-31, 2012.

ELEFThERIADIS, G.I.; LAMBRIANIDIS, T.P. Technical quality of root canal treatment and detection of iatrogenic errors in an undergraduate dental clinic. **International Endodontic Journal**, Oxford, v. 38, n. 10, p. 725-34, 2005.

EUROPEAN SOCIETY OF ENDODONTOLOGY. Quality guidelines for endodontic treatment: consensus report of the European society of endodontology. **International Endodontic Journal**, Oxford, v. 39, n. 12, p. 921-930, 2006.

EUROPEAN SOCIETY OF ENDODONTOLOGY. Undergraduate Curriculum Guidelines for Endodontology. **International Endodontic Journal**, Oxford, v. 46, n. 12, p. 1105-1114, 2013.

FARZANEH, M. *et al.* Treatment Outcome in Endodontics—The Toronto Study. Phase II: Initial Treatment. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v. 30, n. 5, p. 302-309, 2004.

FERREIRA-VALENTE, M.A.; PAIS-RIBEIRO, J.L.; JENSEN, M.P. Validity of four pain intensity rating scales. **Pain**, Amsterdam, v. 152, n. 10, p. 2399-404, 2011.

FRIEDMAN, S.; ABITBOL, S.; LAWRENCE, H.P. Treatment Outcome in Endodontics: The Toronto Study. Phase 1: Initial Treatment. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v. 29, n. 12, p. 787-793, 2003.

GORNI, F.G.M.; GAGLIANI, M.M. The outcome of endodontic retreatment: a 2-yr follow-up. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v. 30, n. 1, p. 1–4, 2004.

HANSRANI, V. Assessing root canal fillings on a radiograph – an overview. **British Dental Journal**, London, v. 219, n. 10, p. 481-483, 2015.

HAYES, S.J., *et al.* An audit of root canal treatment performed by undergraduate students. **International Endodontic Journal**, Oxford, v. 34, n. 7, 501-505, 2001.

IMURA, N. *et al.* The Outcome of endodontic treatment: a retrospective study of 2000 cases performed by a specialist. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v. 33, n. 11, p. 1278-82, 2007.

KEREKES, K.; TRONSTAD, L. Long-term results of endodontic treatment performed with a standardized technique. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v. 5, n. 3, p. 83-90, 1979.

KHABBAZ, M.G.; PROTOGEROU, E.; DOUKA, E. Radiographic quality of root fillings performed by undergraduate students. **International Endodontic Journal**, Oxford, v. 43, n. 6, p. 499-508, 2010.

KUMAR, M.; DUNCAN, H.F. Radiographic evaluation of the technical quality of undergraduate endodontic competence cases in the Dublin Dental University Hospital: an audit. **Journal of the Irish Dental Association**, Dublin, v. 58, 162-166, 2012.

KWAK, S.W. *et al.* Preference of undergraduate students after first experience on nickel-titanium endodontic instruments. **Restorative Dentistry e Endodontics**, Seoul, v. 41, n. 3, p. 176-181, 2016.

MAHMOODI, B. *et al.* Undergraduate Students' Acceptance of a Reciprocating One-File System for Endodontic Treatment. **European Journal Of Dentistry**, Stuttgart, v. 14, n. 3, p. 393-396, 2020.

MARTINS, R.C. *et al.* Dental students' perceptions about the endodontic treatments performed using NiTi rotary instruments and hand stainless steel files. **Brazilian Dental Journal**, Ribeirão Preto, v.23, n.6, p. 729-736, 2012.

MOLLO, A. *et al.* Efficacy of two Ni-Ti systems and hand files for removing gutta-percha from root canals. **International Endodontic Journal**, Oxford, v. 45, n. 1, p. 1-6, 2012.

NAIR, P.N. *et al.* Microbial status of apical root canal system of human mandibular first molars with primary apical periodontitis after "one-visit" endodontic treatment. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics**, St. Louis, v. 99, n. 2, p. 231-52, 2005.

NG, Y.L. *et al.* Outcome of primary root canal treatment: systematic review of the literature – Part 2 Influence of clinical factors. **International Endodontic Journal**, Oxford, v. 41, p. 6-31, 2008.

NG, Y.L.; MANN, V.; GULABIVALA, K. A prospective study of the factors affecting outcomes of nonsurgical root canal treatment: part 1: periapical health. **International Endodontic Journal**, Oxford, v. 44, n. 7, p. 583-609, 2011.

NG, Y.L.; MANN, V.; GULABIVALA, K. A prospective study of the factors affecting outcomes of non- surgical root canal treatment: part 2: tooth survival. **International Endodontic Journal**, Oxford, v. 44, n. 7, p. 610-625, 2011 (b).

OLIVEIRA, P.S. *et al.* Impact of root canal preparation performed by ProTaper Next or Reciproc on the quality of life of patients: a randomized clinical trial. **International Endodontic Journal**, Oxford, v. 52, n. 2, p. 139-148, 2018.

ØRSTAVIK, D.; KEREKES, K.; ERIKSEN, H.M. The periapical index: a scoring system for radiographic assessment of apical periodontitis. **Endodontics and Dental Traumatology**, Copenhagen, v. 2, n. 1, p. 20-34, 1986.

PEAK, J.D. *et al.* The outcome of root canal treatment. A retrospective study within the armed forces (Royal Air Force). **British Dental Journal**, London, v. 190, n. 3, p. 140-44, 2001.

RIBEIRO, D.M. *et al.* Technical quality of root canal treatment performed by undergraduate students using hand instrumentation: a meta-analysis. **International Endodontic Journal**, Oxford, v. 51, n. 3, p. 269-283, 2018.

RIDELL, K. *et al.* Periapical status and technical quality of root-filled teeth in Swedish adolescents and young adults: a retrospective study. **Acta Odontologica Scandinavica**, Stockholm, v. 64, n. 2, p. 104-110, 2006.

SCHNEIDER, S.W. A comparison of canal preparations in straight and curved root canals. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics**, St. Louis, v. 32, n. 2, p. 271-275, 1971.

SEGURA-EGEA, J.J. *et al.* Periapical status and quality of root fillings and coronal restorations in an adult Spanish population. **International Endodontic Journal**, Oxford, v. 37, n. 8, p. 525-530, 2004.

SEIJO, M.O. *et al.* Learning experience in endodontics: Brazilian students' perceptions. **Journal of Dental Education**, Washington, v. 77, n. 5, p. 648-655, 2013.

SILVANI, M. *et al.* Root canal treatment quality in undergraduate program: a preliminary report on niti reciprocating files. **Giornale Italiano di Endodonzia**, Verona, v. 27, n. 1, p. 33-37, 2013.

SIQUEIRA-JÚNIOR, J.F. *et al.* Clinical outcome of the endodontic treatment of teeth with apical periodontitis using an antimicrobial protocol. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics**, St. Louis, v. 106, n. 5, p. 757-762, 2008.

SOUZA, E. *et al.* Movimento Reciprocante e a Curva de Aprendizagem do Preparo Mecânico. O Movimento Reciprocante na Endodontia. **São Paulo: Quintessence Editora**, 2017. Cap. 8, p. 214-231.

SOUZA E SILVA, M.G. *et al.* Influência do grau de curvatura radicular na obturação de canais radiculares de molares. **Revista Sul-Brasileira de Odontologia**, Joinville, v. 17, p. 21-30, 2020.

SUNDQVIST, G. *et al.* Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics**, St. Louis, v. 85, n. 1, p. 86-93, 1998.

TAVARES, P.B. *et al.* Prevalence of apical periodontitis in root canal-treated teeth from an urban French population: influence of the quality of root canal fillings and coronal restorations. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v. 35, n. 6, p. 810-813, 2009.

TOUBOUL, V. *et al.* Outcome of endodontic treatments made by postgraduate students in the dental clinic of bretonneau hospital. **International Journal of Dentistry**, Cairo, 2014:684979, 2014.

VAUDT, J.; *et al.* Ex vivo study on root canal instrumentation of two rotary nickel–titanium systems in comparison to stainless steel hand instruments. **International Endodontic Journal**, Oxford, v. 42, n. 1, p. 22–33, 2009.

WADA, M. *et al.* Clinical study of refractory apical periodontitis treated by apicectomy. Part 1. Root canal morphology of resected apex. **International Endodontic Journal**, Oxford, v. 31, n. 1, p. 53-56, 1998.

WILLIAMSON, A.; HOGGART, B. Pain: a review of three commonly used pain rating scales. **Journal of Clinical Nursing**, Oxford, v. 14, n. 7, p. 798-804, 2005.

ANEXOS

ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO CEP/UFPEL

UFPEL - FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DE PELOTAS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: SUCESSO DE TRATAMENTOS E RETRATAMENTOS ENDODÔNTICOS E DEFINIÇÃO DE FATORES PREDITIVOS UTILIZANDO UMA ESTRATÉGIA DE MINERAÇÃO DE DADOS: ESTUDO OBSERVACIONAL LONGITUDINAL

Pesquisador: Fernanda G Pappen

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 06198819.6.2001.5317

Instituição Proponente: Universidade Federal de Pelotas

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.242.347

Apresentação do Projeto:

A Endodontia foi beneficiada, especialmente na última década, pelo desenvolvimento e difusão de novas tecnologias para diagnóstico e análise da anatomia dentária, assim como para o preparo químico-mecânico e obturação do sistema de canais radiculares. Contudo, no mesmo período, os estudos envolvendo a análise de índices de sucesso e insucesso de tratamentos e retratamentos endodônticos ao longo do tempo pouco variaram em seus resultados, permanecendo entre 69% (GORNI; GAGLIANI, 2004) e 100% de sucesso (TOUBOUL et al., 2014). Além disso, retratamentos endodônticos apresentam menores índices de sucesso comparados a dentes submetidos ao procedimento pela primeira vez (IMURA et al., 2007).

Isso pode ser explicado, por exemplo, pela dificuldade de acesso e falha na remoção do material obturador inicial dos canais radiculares (MOLLO et al., 2012)e, conseqüentemente, pela permanência de microrganismos viáveis no seu interior (SIQUEIRA-JÚNIOR et al., 2008). A permanência de microrganismos viáveis no interior do canal radicular devido a falhas técnicas durante os procedimentos endodônticos é a causa mais apontada pelo "senso comum" para o insucesso endodôntico.

Objetivo da Pesquisa:

Determinar o índice de sucesso e os fatores preditivos para o sucesso, incluindo os métodos de trabalho de alunos com o mesmo ou diferentes níveis de aprendizado, de tratamentos e

Endereço: Av Duque de Caxias 250

Bairro: Fragata

CEP: 96.030-001

UF: RS

Município: PELOTAS

Telefone: (53)3284-4960

Fax: (53)3221-3554

E-mail: cep.famed@gmail.com

**UFPEL - FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DE PELOTAS**



Continuação do Parecer: 3.242.347

retratamentos endodônticos realizados de janeiro de 2012 a dezembro de 2018 por alunos de graduação em Odontologia da UFRGS e da UFPel e do curso de especialização em Endodontia da UFRGS, com período de preservação de 12 meses a 5 anos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Este trabalho não trará riscos aos participantes no que se refere ao atendimento propriamente dito, uma vez que se trata de um estudo observacional, com captura de dados de prontuários de pacientes já tratados e que, portanto, não serão modificados protocolos e controles pós-operatórios. Os riscos do presente projeto referem-se à possibilidade de quebra de sigilo dos prontuários e serão minimizados pela codificação da identificação dos mesmos durante a análise de dados e pelo comprometimento dos pesquisadores em divulgar os dados de forma anônima.

O participante poderá beneficiar-se indiretamente, uma vez que o estudo trará informações, ao profissional e aos educadores, a respeito de fatores que interferem no sucesso dos tratamentos e retratamentos endodônticos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Este é um estudo observacional longitudinal retrospectivo, utilizando informações disponíveis em prontuários de pacientes atendidos na Faculdade de Odontologia da UFRGS e da UFPel. A proteção e confidencialidade de dados coletados nos prontuários será garantida pelo Termo de Compromisso assinado pelos pesquisadores informando conhecimento da resolução 466/12 bem como o seu cumprimento e Termo de Compromisso assinado pelos pesquisadores comprometendo-se a preservar a identidade dos pacientes. Anteriormente à coleta dos dados será feita a codificação dos prontuários, mantendo a identidade dos pacientes preservada.

solicitou dispensa de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido no corpo do projeto.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Apresenta os seguintes termos de apresentação obrigatória, estando anexados em separado os seguintes termos:

- Termo de proteção e confidencialidade de dados coletados nos prontuários; Termo de conhecimento da resolução 466/12; Aceite das duas instituições (Faculdade de Odontologia da UFRGS e da UFPel, e folha de rosto. Todos devidamente assinados.

Recomendações:

Projeto aprovado.

Endereço: Av Duque de Caxias 250

Bairro: Fragata

CEP: 96.030-001

UF: RS

Município: PELOTAS

Telefone: (53)3284-4960

Fax: (53)3221-3554

E-mail: cep.farmed@gmail.com

**UFPEL - FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DE PELOTAS**



Continuação do Parecer: 3.242.347

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

OK

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_1295082.pdf	11/03/2019 18:44:49		Aceito
Folha de Rosto	folharosto.pdf	11/03/2019 18:44:04	Fernanda G Pappen	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Termo_2.pdf	11/03/2019 18:39:37	Fernanda G Pappen	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Termo_1.pdf	11/03/2019 18:39:17	Fernanda G Pappen	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Autorizacao_UFRGS.pdf	11/03/2019 18:38:56	Fernanda G Pappen	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Autorizacao_UFPel.pdf	11/03/2019 18:38:45	Fernanda G Pappen	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_CEP.pdf	18/01/2019 11:39:04	Patrícia Maria Poli Kopper Móra	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

PELOTAS, 03 de Abril de 2019

**Assinado por:
Patrícia Abrantes Duval
(Coordenador(a))**

Endereço: Av Duque de Caxias 250

Bairro: Fragata

CEP: 96.030-001

UF: RS

Município: PELOTAS

Telefone: (53)3284-4960

Fax: (53)3221-3554

E-mail: cep.famed@gmail.com

ANEXO B – CHEKLIST DO STROBE

STROBE Statement—checklist of items that should be included in reports of observational studies

	Item No	Recommendation	Page No	Relevant text from manuscript
Title and abstract	1	(a) Indicate the study's design with a commonly used term in the title or the abstract	30	"The present study consists in a cross-sectional observational evaluation (...)"
		(b) Provide in the abstract an informative and balanced summary of what was done and what was found	30	"The present study consists in a cross-sectional observational evaluation of the frequency of technical failures in root canal treatments (RCT) in undergraduate dental clinics (...). The association of failures with root curvature and instrumentation technique was also investigated." "The instrumentation technique chosen by undergraduate students for the treatment of molar root canals influenced the appearance of technical obturation failures."
Introduction				
Background/rationale	2	Explain the scientific background and rationale for the investigation being reported	29 30	"However, even today, the strategy commonly taught root canal instrumentation in Brazilian universities consists in the conventional techniques using hand-files, which require a high levels of operator sensitivity, in addition to the extensive learning curve. Thus, with the intention of improving student performance and charisma for Endodontics, the systematic incorporation of reciprocating instrumentation into the preclinical and clinical curriculum becomes promising and should be advocated to achieve higher technical quality endodontic treatments."
Objectives	3	State specific objectives, including any prespecified hypotheses	30	"Therefore, the aim of this study was to evaluate the frequency of technical failures in root canal treatment of molars performed by undergraduate students and its association with root curvature and instrumentation technique. The null hypothesis is that there is no association between the frequency of technical failures in root canal treatment of molars with the root curvature degree and instrumentation technique."
Methods				
Study design	4	Present key elements of study design early in the paper	30	"The present study consists in a cross-sectional observational evaluation of the frequency of technical failures in root canal treatments (RCT) in undergraduate dental clinics developed and reported based on the STROBE guideline recommendations (von Elm et al. 2008)."
Setting	5	Describe the setting, locations, and relevant dates, including periods of recruitment, exposure, follow-up, and data collection	30	"The study comprised primary RCT in molar teeth, performed by 5th year undergraduate students from a dental school (Federal University of Pelotas - UFPel, Brazil). The RCT were carried out under supervision of professors specialists in Endodontics from March, 2018 to October, 2021."

Participants	6	Cross-sectional study—Give the eligibility criteria, and the sources and methods of selection of participants	31	“Case selection was performed as a census. The evaluation was performed in mesial roots of upper and lower molars. Only those cases who had their clinical records completely filled out, with a properly processed and stored final periapical radiograph, performed with a radiographic positioner to avoid length and angle distortions, were included in the analysis. Periapical radiographic images should include the entire dental crown and roots and approximately 2 to 3 mm of the periapical region (European Society of Endodontology, 2006). Images with unclear dental crown or root; impossibility to determine the occlusal plane; teeth presenting immature root development, and endodontic retreatments were excluded. Additionally, records with missing data of technical variables (unreported instrumentation and filling technique) were also excluded.”
Variables	7	Clearly define all outcomes, exposures, predictors, potential confounders, and effect modifiers. Give diagnostic criteria, if applicable	30,31,32	“(…) evaluation of the frequency of technical failures in root canal treatments (RCT) in undergraduate dental clinics developed (…).” “The association of failures with root curvature and instrumentation technique was also investigated.” “The variables collected from the patient's clinical records were: gender (female or male); tooth position (lower or upper molar); initial diagnosis (vital pulp or necrotic pulp); root canal preparation technique (reciprocating files or hand-files); and obturation technique (single cone or cold lateral condensation). From the radiographic analysis, the variables collected were: root canal filling length (adequate, when the filling was between 0 – 2 mm from the apex; root canal filling length $\geq$ 2 mm from the apex; root canal filling length beyond the apex), density (adequate or inadequate), taper (adequate or inadequate) and ledge/zip occurrence (absent or present).”
Data sources/ measurement	8*	For each variable of interest, give sources of data and details of methods of assessment (measurement). Describe comparability of assessment methods if there is more than one group	32,33	“The degree of root curvature was measured by drawing in the X-ray images a first line parallel to the long axis of the canal and a second line from the apical foramen towards the point of beginning of the root curvature, and, finally, measuring the acute angle formed by the lines (Schneider, 1971). These lines were traced using Adobe Photoshop (version 7.0) and root curvature was measured using ImageJ software. To data analysis, the root curvature degree was dichotomized taking into account the AAE classification (2019): minimal difficulty level, considering no curvatures or curvatures up to 10°; and moderate or high difficulty level, considering root curvatures higher than 10°.” “The assessment of root canal filling quality was performed based on the parameters described in the ESE's quality guideline for RCT (2006) and by Barrieshi-Nusair, Al-Omari, Al-Hiyasat (2004). The evaluation took into account the root canal filling length, density and taper, as well as the occurrence of accidents (Table 1).”
Bias	9	Describe any efforts to address potential sources of bias	30,31,32,33	“Periapical radiographies were obtained, and radiographic images were scanned (HP ScanJet G4050, HP Brasil, Barueri, SP, Brazil). All images were recorded as TIFF-files with 300 DPI resolutions.” “Case selection was performed as a census. The evaluation was performed in mesial roots of upper and lower molars. Only those cases who had their clinical records completely filled out, with a properly processed and stored final periapical radiograph, performed with a radiographic positioner to avoid length and angle distortions, were included in the analysis. Periapical radiographic images should include the entire dental crown and roots and approximately 2 to 3 mm of the periapical region (European Society of Endodontology, 2006). Images with unclear dental crown or root; impossibility to determine the occlusal plane; teeth presenting immature root development, other teeth than molars, and endodontic retreatments were excluded. Additionally, records with missing

				data of technical variables (unreported instrumentation and filling technique) were also excluded (Figure 1). “ “The final radiographic images were analyzed by a single trained and calibrated examiner, in relation to root curvature degree and the technical quality of root canal filling. Prior to the evaluation, a consensus regarding all variables was established among the seniors’ researchers and the examiner. Ten percent of the cases were randomly selected and re-analyzed two weeks later in order to set intra-examiner’s agreement.” “The intra observer agreement on qualitative parameters was calculated using Cohen’s kappa coefficient, and it resulted on an index equal or higher than 0.88. Intra-class coefficient correlation determined the intra observer agreement at root curvature measurements and it had resulted on an index of 0.84.”
Study size	10	Explain how the study size was arrived at	31	“The study sample power was determined using OpenEpi software version 3.01 (Andrew G. Dean & Kevin M. Sullivan, Atlanta, GA, USA).”
Quantitative variables	11	Explain how quantitative variables were handled in the analyses. If applicable, describe which groupings were chosen and why	32	“The degree of root curvature was measured by drawing in the X-ray images a first line parallel to the long axis of the canal and a second line from the apical foramen towards the point of beginning of the root curvature, and, finally, measuring the acute angle formed by the lines (Schneider, 1971). These lines were traced using Adobe Photoshop (version 7.0) and root curvature was measured using ImageJ software. To data analysis, the root curvature degree was dichotomized taking into account the AAE classification (2019): minimal difficulty level, considering no curvatures or curvatures up to 10°; and moderate or high difficulty level, considering root curvatures higher than 10°.”
Statistical methods	12	(a) Describe all statistical methods, including those used to control for confounding	33	“Descriptive analysis (frequencies, mean, minimum and maximum and standard deviation values) was performed for ledge/zip formation, inadequate density, inadequate taper, root canal filling length shorter than 2mm and root canal filling material beyond apex, teeth position, instrumentation technique and root curvature. Bivariate associations between the dependent variables with the tooth type, root canal instrumentation technique and root curvature degree were performed using the Chi-square test. Logistic regression analysis was performed to determine associations between ledge/zip formation, inadequate density, inadequate taper, root canal filling length shorter than 2mm and root canal filling material beyond apex and the independent variables (teeth: lower or upper molar; instrumentation technique: reciprocating or manual; and root curvature: up to 10°, or higher than 10°). Variables with a p-value < 0.20 in the bivariate logistic regression analysis were incorporated into the multivariate model. The level of significance was set at 5%. Odds ratios (OR) and 95% confidence intervals (CI) were calculated. Data analysis was performed using STATA 14 (Stata Corporation, College Station, TX, USA).”
		(b) Describe any methods used to examine subgroups and interactions	33	“Logistic regression analysis was performed to determine associations between ledge/zip formation, inadequate density, inadequate taper, root canal filling length shorter than 2mm and root canal filling material beyond apex and the independent variables (teeth: lower or upper molar; instrumentation technique: reciprocating or manual; and root curvature: up to 10°, or higher than 10°).”
		(c) Explain how missing data were addressed	31	“Only those cases who had their clinical records completely filled out, with a properly processed and stored final periapical radiograph, performed with a radiographic positioner to avoid length and angle distortions, were included in the analysis. Periapical radiographic images should include the entire dental crown and roots and approximately 2 to 3 mm of the periapical region (European Society of Endodontology, 2006). Images with unclear dental crown or root; impossibility to determine the occlusal plane; teeth

				presenting immature root development, other teeth than molars, and endodontic retreatments were excluded. Additionally, records with missing data of technical variables (unreported instrumentation and filling technique) were also excluded (Figure 1)."
(d) <i>Cross-sectional study</i> —If applicable, describe analytical methods taking account of sampling strategy			31	"The study sample power was determined using OpenEpi software version 3.01 (Andrew G. Dean & Kevin M. Sullivan, Atlanta, GA, USA)."
Results				
Participants	13*	(a) Report numbers of individuals at each stage of study—eg numbers potentially eligible, examined for eligibility, confirmed eligible, included in the study, completing follow-up, and analysed	45	Figure 1
		(b) Give reasons for non-participation at each stage	45	Figure 1
		(c) Consider use of a flow diagram	45	Figure 1
Descriptive data	14*	(a) Give characteristics of study participants (eg demographic, clinical, social) and information on exposures and potential confounders	41	Table 2
		(b) Indicate number of participants with missing data for each variable of interest	31	"Only those cases who had their clinical records completely filled out, with a properly processed and stored final periapical radiograph, performed with a radiographic positioner to avoid length and angle distortions, were included in the analysis."
Outcome data	15*	<i>Cross-sectional study</i> —Report numbers of outcome events or summary measures	34	"Inadequate density and inadequate taper, followed by short filling length were the most frequent factors responsible for failures in the root canal obturation. The frequencies of failure parameters within the pre- and intra-operative variables are described in Table 3. The bivariate analysis demonstrated that instrumentation technique was significantly associated with all the outcome criteria investigated to determine root canal filling technical failures. Also, the frequency of each studied outcome, within reciprocating and manual instrumentation technique groups, is describe in Figure 2."
Main results	16	(a) Give unadjusted estimates and, if applicable, confounder-adjusted estimates and their precision (eg, 95% confidence interval). Make clear which confounders were adjusted for and why they were included	43	Table 4
		(b) Report category boundaries when continuous variables were categorized	46	Figure 2
		(c) If relevant, consider translating estimates of relative risk into absolute risk for a meaningful time period	NA	
Other analyses	17	Report other analyses done—eg analyses of subgroups and interactions, and sensitivity analyses	34	"In the unadjusted analysis for short filling length, inadequate density, inadequate taper, only the manual instrumentation technique was associated with higher odds ratio. The unadjusted analysis also demonstrated that upper molars and the manual tecnique represent protection factors for the occurrence of root filling beyond the apex (Table 4)." "In the adjusted analysis the manual instrumentation technique presented higher risk of ledge/zip formation, inadequate density, inadequate taper and short root canal filling length. However, upper molars and the manual tecnique represent protection factors for the occurrence of root filling beyond the apex (Table 5)."
Discussion				
Key results	18	Summarise key results with reference to study objectives	34,35	"The present study comprise data collected from endodontic clinical and radiographic records from teeth with endodontic treatment performed by undergraduate students of the School of Dentistry, Federal University of Pelotas, Brazil. The results spawned in the present research is fundamental to evaluate the learning skills and the technical quality of treatments during undergraduation, as well as to identify possible teaching aspects in

				Endodontics to be improved. The null hypothesis of the study was partially accepted, once the instrumentation technique showed a strong association with factors related to technical failure."
Limitations	19	Discuss limitations of the study, taking into account sources of potential bias or imprecision. Discuss both direction and magnitude of any potential bias	38	"The present study has limitations. The first one is related to the radiographic interpretation of endodontics performed through periapical radiographs. As has long been known, radiography provides a two-dimensional image of a three-dimensional structure, which sometimes makes it impossible to dissociate overlapping anatomical structures. Moreover, root lengths and obturations may not be accurately reproduced due to distortions in the vertical angulation of the radiographic incidence and it needs to be correctly processed and stored in order to provide an image of quality that can be analyzed. The second is a limitation attributed to retrospective studies, where some factors cannot be controlled or analyzed, such as the skills of an individual dental student, patient behavior, differences in assistance received from faculty, and case difficulty were likely similar but remained uncontrolled."
Interpretation	20	Give a cautious overall interpretation of results considering objectives, limitations, multiplicity of analyses, results from similar studies, and other relevant evidence		-
Generalisability	21	Discuss the generalisability (external validity) of the study results	35,39	"Curvatures greater than 10° may present a moderate to high degree of difficulty, being a challenge even for experienced professionals and specialists. Therefore, they should not be encouraged for undergraduate students." "In order to improve the clinical performance of undergraduate dental students and deliver better quality treatments to patients, the endodontics curriculum has to be revised and curricular changes should be made even in the preclinical discipline." "This will provide a safer, faster, higher quality RCT with less chance of accidents and complications. Furthermore, it is also relevant that dental schools design teaching and clinical practice strategies based on the difficulty of instrumentation and obturation of each case and on the anatomical complexity involved in each dental element." "The instrumentation technique strongly influenced the frequency of technical failures in molars RCT performed by undergraduate students. However, there was no association between the investigated failures and the root curvature."
Other information				
Funding	22	Give the source of funding and the role of the funders for the present study and, if applicable, for the original study on which the present article is based	39	"The present study did not receive any financial resources from public or private institutions. The authors disclaim any conflict of interest."

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Odontologia
Programa de Pós-Graduação em Odontologia



Tese

**Avaliação do canabidiol como um potencial biomaterial para aplicações
odontológicas e biomédicas**

Carla Lucía David Peña

Pelotas, 2023

Carla Lucía David Peña

**Avaliação do canabidiol como um potencial biomaterial para aplicações
odontológicas e biomédicas**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Odontologia área de concentração Biomateriais e Biologia Oral, com Ênfase em Materiais Dentários.

Orientador: Rafael Ratto de Moraes
Co-orientador: André Ricardo Fajardo

Pelotas, 2023

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

P349a Peña, Carla Lucía David

Avaliação do canabidiol como um potencial biomaterial para aplicações odontológicas e biomédicas / Carla Lucía David Peña ; Rafael Ratto de Moraes, orientador ; André Fajardo, coorientador. — Pelotas, 2023.

124 f. : il.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Biomateriais e Biologia Oral - ênfase em materiais odontológicos, Programa de pós-graduação em Odontologia / Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas, 2023.

1. Hidrogéis. 2. Materiais biocompatíveis. 3. Canabidiol. 4. Receptores de canabinoides. 5. Óleos vegetais. I. Moraes, Rafael Ratto de, orient. II. Fajardo, André, coorient. III. Título.

CDD : D5

Carla Lucía David Peña

Avaliação do canabidiol como um potencial biomaterial para aplicações odontológicas e biomédicas

Tese apresentada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Doutor em Odontologia, Programa de Pós Graduação em Odontologia, Faculdade de Odontologia de Pelotas, Universidade Federal de Pelotas.

Data da defesa: 10/03/2023

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Rafael Ratto de Moraes (Orientador)

Doutor em Materiais Dentários pela Universidade Estadual de Campinas

Prof. Dr. Carlos Enrique Cuevas Suárez

Doutor em Odontologia (Biomateriais e Biologia Oral) pela Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dra. Cristina Pereira Isolan

Doutor(a) em Odontologia (Biomateriais e Biologia Oral) pela Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dra. Giana Lima

Doutor(a) em Odontologia (Dentística) pela Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Evandro Piva (Suplente)

Doutor em Materiais Dentários pela Universidade Estadual de Campinas

Prof. Dra. Juliana Ribeiro da Silva (Suplente)

Doutor em Odontologia (Clínica odontológica) pela Universidade Federal de Pelotas

*Dedico esse trabalho
para minha avó Carlota (in memoriam) que sempre
me ensinou a ser uma mulher determinada e capaz de seguir meus sonhos,
aos meus pais que fizeram que o impossível fosse possível
e a todas as pessoas que lutam por uma melhor
vida dentro e fora da Venezuela.*

Agradecimentos

Primeiramente a Deus e San Judas Tadeo, foram eles quem me trouxeram até aqui, atravessando um país e guiando meus passos em todos momentos. Guiaram minha estadia, me deram paciência e sabedoria em cada dia, em cada tentativa e em cada queda, me fazendo crescer e ser melhor a cada momento.

A minha mãe, pai e irmãos que sempre me deram apoio à distância e torcem por mim seja qual for o caminho que eu decida. Vocês são o pilar fundamental da minha vida. Especialmente e profundamente para ti *mami querida*. Eu amo vocês!

Ao Laboratório de Tecnologia e Desenvolvimento de Compósitos e Materiais Poliméricos (LaCoPol) do campus Capão de Leão da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), não tenho como que agradecer a todos por me acolher como uma de vocês num mundo de químicos. Em especial, para você Jaqueline Souza, GRATIDÃO eterna por estar sempre ao meu lado, me orientando, me ouvindo e me explicando com tanta paciência e parceria. Fizemos! E a todos os meus colegas Julie, Andressa, Thalia, Rafa, Matheus, Henrique e Emily, obrigada por sua solidariedade, paciência e sempre oferecendo uma mão amiga.

Também, agradeço aos laboratórios: Centro de Desenvolvimento e Controle de Biomateriais (CDC-Bio) e Microbiologia Oral (LAMICRO). As técnicas laboratoristas Josiane Kuhn, Tatiana Ramos, Alessandra Garcez e Lizangela Ferreira pela ajuda e colaboração, assim como suas palavras positivas para que tudo desse certo.

A meu orientador Prof. Dr. Rafael Ratto de Moraes, agradeço como pesquisador sua parceria, apoio, e paciência para me ensinar e orientar. Sou grata da oportunidade de trabalhar com você. Agradeço como pessoa, sua sabedoria, colaboração e mão solidaria, digna de admiração e carinho sempre. Obrigada por ser um apoio e contribuição fundamental neste estudo e no meu doutorado.

Ao coorientador Prof. Dr. André Fajardo agradeço toda sua paciência, acolhimento, parceria aprendizado e por me apoiar a criar novos horizontes. Obrigada professor, meu respeito e carinho sempre.

Aos professores que sempre acreditaram em mim, deram oportunidades para seguir crescendo como pesquisadora e pessoa na trajetória deste doutorado: Prof. Dr. Evandro Piva, Prof. Dra. Adriana Fernandes da Silva, Prof. Dr. Carlos Cuevas- Suarez (UAEH), Prof. Dra. Cristina Isolan (UFVM), Prof. Dr. Rafael Guerra Lund, Prof. Dr. Guillermo Grazioli (UniLaR), Prof. Dr. Francisco Wilker Mustafa, Prof. Dra. Juliana Silva Ribeiro (UFSC), Prof. Dra. Fernanda Pappen (UFPel), Prof. Dra. Karina Silveiro (UNICAMP) uma admiração incrível pelos senhores. Um agradecimento especial ao Prof. Dr. Carlos Cuevas-Suarez e a Prof. Dra. Cristina Isolan, pela amizade e conhecimento compartilhado, por vocês cultivarem e dar aos outros sem pedir nada de retorno. Vocês são grandes pessoas. São amigos que levarei para toda a vida.

Ao programa de pós-graduação em odontologia (PGGO) nas coordenadoras Prof. Dra. Tatiana Cenci e Prof. Dra. Giana Lima e o Dr. Celanirio Junior, pelo enorme calor humano, pela vontade de ajudar, sempre me orientaram e guiaram nesta viagem a Pelotas/RS - Brasil. Sou muito grata a vocês. Meu carinho sempre.

Aos colegas que conheci no PGGO, especialmente a meus amigos (as): Alejandro Elizalde-Hernandez, Andressa Barboza, Gabriela Cardoso, Fernanda Lauer, Verônica Lima, Felipe Sensever, Sarai Baena, Andressa Goicochea, Cristina Isolan e Carlos Cuevas que estiveram em várias etapas desta estrada e ainda estamos juntos, obrigada por tudo! Fizemos uma conexão incrível que sempre está no meu coração. Por mais dias de luta e dias de glória. Gratidão para vocês! também quero agradecer a meus novos colegas e amigos: Rodrigo Rohenkohl Silva, Julia Fazenda, Leticia Sartori, Maria Eduarda Lima, Eduardo Trota e Jaqueline Barberi e Monika Lamas, por suas risadas, alegria, bons momentos e as palavras de ânimo, o caminho agora é de vocês, a brilhar!

A meu querido Jonathan Mackedanz, obrigada por me acompanhar neste caminhar. Pelo apoio em minhas ideias, por me ouvir, pelas palavras, pela solidariedade, pela paciência, por sempre torcer por mim, por comemorar minhas vitórias e consolar a minhas quedas, contigo a estrada é mais leve. Obrigada por estar junto comigo nessa caminhada. Te amo.

A Universidade Federal de Pelotas que me acolheu aqui em 2019, brindando-me uma experiência acadêmica e pessoal incrível, me proporcionando muitas oportunidades e abrindo caminhos para mais conhecimento. A minha Universidade de

origem, a Universidade de Los Andes por me formar como profissional e me tornar parte da pesquisadora que sou, além de sempre estar presente na minha trajetória.

O Programa Bolsas Brasil (PAEC), grupo de Cooperação Internacional de Universidades Brasileiras (GCUB), a Organização dos Estados Americanos (OEA) e ao apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, agradeço a concessão de bolsa o que permitiu a realização desta conquista durante minha trajetória no doutorado.

A todos que de uma forma ou de outra contribuíram para a realização desta pesquisa. Obrigada!

*“Se você quer algo que nunca teve, você precisa fazer algo
que nunca fez.” - Thomas Jefferson*

Notas Preliminares

O presente trabalho de conclusão de curso foi redigido segundo o Manual de normas UFPel para trabalhos acadêmicos da Universidade Federal de Pelotas de 2019, adotando o Nível de Descrição em Artigo, descrita no referido manual. < <https://wp.ufpel.edu.br/sisbi/normas-da-ufpel-para-trabalhos-academicos/>. > Acesso em: <08 de março de 2020>.

O projeto de pesquisa foi qualificado em 14 de abril de 2020 e aprovado pela Banca Examinadora composta pelos Professores Doutores Rafael Ratto de Moraes, Carlos Enrique Cuevas Suárez, Fernanda Geraldo Pappen e Cristina Pereira Isolan.

Resumo

DAVID, Carla Lucía Peña. **Avaliação do canabidiol como um potencial biomaterial para aplicações odontológicas e biomédicas**. Orientador: Rafael Ratto de Moraes. 2023. 124f. Tese (Doutorado em Odontologia). Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal de Pelotas, 2023.

O canabidiol (CBD), é um fitocanabinoide que possui diversas propriedades biológicas e regenerativas mediadas pela interação com o sistema endocanabinoide, que sinaliza processos metabólicos e células. Assim, o objetivo desta pesquisa foi analisar as propriedades físico-químicas, biológicas e microbiológicas do óleo de canabidiol microencapsulado e incluído em um hidrogel para uso biomédico e odontológico. No primeiro estudo foi avaliado, através de uma revisão de escopo e mapeamento tecnológico, os potenciais usos do CBD em odontologia. A busca na literatura foi em: PubMed/MEDLINE, Scopus, Web of Science, Cochrane Wiley e embase e das patentes foi realizada pelo sistema em Oficina de Patentes y marcas dos Estados Unidos (USPTO), Patentes de Google, Organización Mundial da Propriedade Intelectual (OMPI), Espacenet (Oficina Europeia de Patentes, EPO) e Questel Orbit. Os dados foram tabulados e analisados no Microsoft Office Excel 2013 e no Questel Orbit. No segundo estudo, através do estudo experimental foram realizadas micropartículas de poli (ácido láctico-co-glicólico) contendo óleo de canabidiol (PGLA@CBD) pela técnica de evaporação de solvente de emulsão única (O / W) e incluídas em hidrogéis de sulfato de condroitina (SC) e poli (álcool vinílico) (PVA). Foi determinado o tamanho de partícula, a eficácia de encapsulação (EE%) e capacidade de carga da droga (DL%). As caracterizações dos hidrogéis foram com microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), análises termogravimétricas (TGA), degradação *in vitro*, grau de inchaço, ângulo de contato, porosidade, citotoxicidade e atividade antibacteriana. Os dados foram analisados com software Sigmaplot 12 ($p \leq 0.05$). Na revisão, foram incluídos 11 artigos e 13 patentes. Os principais usos foram: terapia periodontal, adjuvantes na regeneração óssea e uso geral em terapias orais. No estudo experimental, as imagens MEV mostraram a incorporação de micropartículas no hidrogéis. O tamanho médio das micropartículas foi de $81,1 \pm 7,7 \mu\text{m}$, EE% foi 52% e DL% 50%. Os análise FTIR e TGA confirmaram quimicamente a incorporação de micropartículas. O maior percentual de degradação foi em 144 h em todos os hidrogéis ($p=0,122$). O hidrogel com PGLA@CBD apresentou um grau máximo de taxa de inchaço de $351\% \pm 9,6$ ($p<0,001$) e os ângulos de contato com a água estabeleceram comportamento hidrofílico semelhante ($p= 0,568$). O hidrogel com PGLA@CBD apresentou menor porosidade ($p<0,001$) e propriedades mecânicas modificadas ($p=0,05$). Os resultados evidenciaram o crescente interesse no CBD, sugerindo propriedades físico-químicas e biológicas positivas na saúde. Na odontológica as propriedades anti-inflamatórias, analgésicas, antimicrobianas e osteoindutoras apresentam possíveis usos. Aliás, os hidrogéis SC/PVA-PGLA@CBD com maiores concentrações apresentaram zonas crescentes de inibição contra *S. aureus* sem valores de citotoxicidade. Foram desenvolvidas exitosamente micropartículas de PGLA@CBD e incluídas num hidrogel poroso com propriedades favoráveis para um andaime com função regenerativa

Palavras-chave: Hidrogéis, Canabidiol, Óleos Vegetais, Materiais, Biocompatíveis, Receptores de Canabinoides

Abstract

DAVID, Carla Lucía Peña. **Evaluation of Cannabidiol as a potential biomaterial for dental and biomedical applications.** Advisor: Rafael Ratto de Moraes. 2023. 124f. Thesis (Ph.D. in Dentistry). Graduate Program in Dentistry, Federal University of Pelotas, 2023.

Cannabidiol (CBD) is a phytocannabinoid that has several biological and regenerative properties mediated by interaction with the endocannabinoid system, which signals metabolic processes and cells. Thus, the objective of this research was to analyze the physical-chemical, biological and microbiological properties of Cannabidiol Oil microencapsulated and included in a hydrogel for biomedical and dental use. In the first study, through a scope review and technological mapping, the potential uses of CBD in dentistry were evaluated. The literature search was in: PubMed/MEDLINE, Scopus, Web of Science, Cochrane Wiley and patent base and was performed by the United States Patent and Trademark Office (USPTO) system, Google Patents, World Intellectual Property Organization (WIPO), Espacenet (European Patent Office, EPO) and Questel Orbit. Data were tabulated and analyzed using Microsoft Office Excel 2013 and Questel Orbit. In the second study, through the experimental study microparticles of poly (lactic-co-glycolic acid) containing cannabidiol oil (PGLA@CBD) were made by the technique of single emulsion solvent evaporation (O / W) and included in sulfate hydrogels chondroitin (SC) and poly(vinyl alcohol) (PVA). Particle size, encapsulation efficiency (EE%) and drug carrying capacity (DL%) were determined. The characterizations of the hydrogels were with scanning electron microscopy (SEM), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), thermogravimetric analysis (TGA), in vitro degradation, degree of swelling, contact angle, porosity, cytotoxicity and antibacterial activity. Data were analyzed with Sigmaplot 12 software ($p \leq 0.05$). In the review, 11 articles and 13 patents were included. The main uses were: periodontal therapy, adjuvants in bone regeneration and general use in oral therapies. In the experimental study, SEM images showed the incorporation of microparticles into hydrogels. The average microparticle size was $81.1 \pm 7.7 \mu\text{m}$, EE% was 52% and DL% 50%. FTIR and TGA analyzes chemically confirmed the incorporation of microparticles. The highest percentage of degradation was in 144 h in all hydrogels ($p=0.122$). The SC/PVA-PGLA@CBD hydrogel showed a maximum degree of swelling rate of $351\% \pm 9.6$ ($p<0.001$) and the contact angles with water established similar hydrophilic behavior ($p= 0.568$). The PGLA@CBD hydrogel showed lower porosity ($p<0.001$) and modified mechanical properties ($p=0.05$). The results evidenced the growing interest in CBD, suggesting positive physicochemical and biological properties on health. In dentistry, anti-inflammatory, analgesic, antimicrobial and osteoinductive properties have possible uses. Incidentally, SC/PVA-PGLA@CBD hydrogels with higher concentrations showed increasing zones of inhibition against *S. aureus* without cytotoxicity values. PGLA@CBD microparticles were successfully developed and included in a porous hydrogel with favorable properties for a scaffold with regenerative function

Keywords: Hydrogels, Cannabidiol, Vegetable Oils, Materials, Biocompatibles, cannabinoid receptor

Sumário

1 Introdução.....	9
1.1 Objetivos	14
1.1.1 Geral	14
1.1.2 Específicos	14
1.2 Justificativa	14
2 Projeto de Pesquisa	17
3 Relatório de trabalho de campo	51
Artigo 1.....	53
Artigo 2.....	81
4 Considerações finais	114
Referências	115
Apêndices	120
Anexos	122

Lista de abreviaturas e siglas

2-AG - 2-araquidonoilglicerol

AEA - Anandamida

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

Au - ouro

CBD - canabidiol

CBG - canabigerol

CBC - canabichromene

CBGV - canabigerivarin

CRM - Conselho Regional de Medicina

CFM - Conselho Federal de Medicina

CFO - Conselho Federal de Odontologia

Δ^9 -THCV Δ^9 -tetrahydrocannabidiol

DMEM – Dulbecco's Modified Eagle's Medium

EDTA - Ácido etilenodiamino tetra-acético

FAAH- Aminohidrolasa de ácido graxo

gene PLOD1 – gene procollagen-lysine,2-oxoglutarate 5-dioxygenase 1

HA - Hidroxiapatita

KCl - Cloreto de potássio

IPC - Classificação internacional de patentes

MEC - Matriz extracelular

MEV - Microscopia eletrônica de varredura

MTT - 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5 difenil tetrazólio

min – minutos

NAPE-PLD- N - acil fosfatidil etanolamina fosfolipase D

N₂ - Nitrogênio

NaCl - Cloreto de sódio

NaHCO₃ - Bicarbonato de sódio

K₂HPO₄ - Fosfato de potássio

H₂O - Água

MgCl₂ - Cloreto de magnésio

CaCl₂ - Cloreto de cálcio

Na₂ SO₄ – Sulfato de sódio

HCl- Ácido clorídrico

NH₂C(CH₂OH)₃ - (tris (hidroximetil) aminometano)

PPARs- receptores de ativação de proliferadores

SC - Sulfato de condroitina

SEC - Sistema endocanabinóide

SFB - Soro fetal bovino

SNC - Sistema nervoso central

PCR-RT - Reação em cadeia da polimerase em tempo real

PBS - Solução tampão fosfato

PVC - Polivinil álcool

THC - Tetraacnabidiol

TRPV1 - Receptor transitório potencial vanilóide 1

RDC - Resolução

ROG - Renegeração óssea gui

1 Introdução

A população mundial está em constante crescimento, gerando um aumento na estimativa de vida e nas expectativas de saúde. É importante estabelecer melhorias na saúde bucal e a preservação dos dentes a longo prazo na população (KASSEBUM et al., 2017). Apesar dos múltiplos esforços nos últimos anos, as etiologias mais frequentes que afetam à saúde bucal não hão mudado, e as condições bucais permaneceram um grande desafio de saúde pública em todo o mundo (KASSEBUM et al., 2017; PERES et al., 2019). Maiores esforços e abordagens potencialmente diferentes são necessários se a meta de saúde bucal de reduzir o nível de doenças bucais e minimizar seu impacto (KASSEBUM et al., 2017). Pela natureza crônica e progressiva, as doenças bucais são as principais causas de perda dentárias e refletem o ponto final de uma vida inteira de tratamento dentário (PERES et al., 2019). As principais causas são a periodontite, cáries, fraturas e condições ortodônticas. Derivando não apenas perda dos dentes senão a perda dos tecidos circundantes e de suporte (ossos, tecidos moles, entre outros) deixando defeitos ósseos fechados ou abertos que devem ser reabilitados por médio de prótese e/ou implantes (RAD et al., 2017). Também as perdas podem ser consequências secundárias por trauma ósseo accidental, tumores ósseos, doenças e infecções ósseas que podem apresentem desafios maiores para reabilitações posteriores (QI et al., 2022).

Tradicionalmente, prévio as reabilitações bucais se aplicam técnicas padronizadas baseadas na substituição de tecidos perdidos ou deteriorados por biomateriais de diferentes origens, enxertos autólogos ou heterólogos e até doados de cadáveres ainda são utilizadas na odontologia e em outras áreas médicas (TATULLO et al., 2015). A medicina regenerativa, com objetivo de regenerar, reparar ou substituir tecidos e garantir a restauração das funções prejudicadas, combina a engenharia de tecidos com a capacidade de autocura dos seres humanos, oferecendo alternativas inovadoras para repor o tecido perdido. Este campo emergente da biotecnologia, reúne em uma abordagem multidisciplinar, juntamente com a medicina, ciência dos materiais, química, biologia celular e molecular, bioengenharia e genética (MATICHESCU et al., 2020).

Atualmente, o foco para desenvolvimento de biomateriais é tentar criar biomateriais inteligentes e instrutivos que sejam capazes de atrair e acumular células relevantes e fatores de crescimento *in vitro* e sejam mantidos *in vivo* e *in situ*, para iniciar e estimular o processo de regeneração sem a necessidade de adição pré-operatória de células ou biológicos (OTHMAN et al., 2021). Diversos materiais tem sido propostos baseados em polímeros, cerâmicas, suas combinações e, a capacidade de degradação total dentro do corpo após cumprirem o papel para o qual foram inicialmente projetados (MARIN et al., 2020).

Embora existam múltiplos esforços por entender as dinâmicas do corpo humano para criar biomateriais com proposito similar, os sistemas têm mecanismos e processos complexos de homologar sem coadjuvantes. Especificamente, nos tecidos apresentam sistemas com receptores e enzimas que regulam o comportamento biológico que pode ser influenciado pelos biomateriais desenvolvidos, o sistema Endocanabinóide (SEC) por exemplo, é um complexo sistema molecular/biológico que trabalha como sinalizador entre células e processos metabólicos (GOWRAM; MCKAYED; CAMPPELL, 2013, SMITH et al., 2015; LOWE et al., 2021a) e é alvo de ligantes endógenos chamadas canabinóides. Com uma distribuição variável posse três principais classes de receptores celulares com as quais os canabinóides interagem (1) Receptores de Proteína G-Acoplada (por exemplo, CB1 e CB2) (2) Canais iônicos sensíveis ao ligante (por exemplo, Receptor transitório Potencial vanilóide 1—TRPV1), e (3) receptores nucleares (por exemplo, PPARs). O SEC está em constates interações constates com os ligantes endógenos anandamida (AEA) e 2-araquidonoilglicerol (2-AG); e as enzimas metabólicas endocanabinoides responsáveis pela síntese e degradação de endocanabinoides (isoenzimas α e β da diacilglicerol lipase, aminohidrolasa de ácidos graxos- FAAH, entre outras) (LOWE et al., 2021b). O SEC humano foi descoberto logo após a identificação do receptor CB1, o mesmo é expresso no coração, fígado, pâncreas, músculos, tecido adiposo e sistema de reprodução. O receptor CB2 é expresso principalmente em células relacionadas ao sistema imunológico, como os leucócitos, mas também é encontrado no baço, timo, medula óssea e outros tecidos relacionados às funções imunes e reparadoras (PENG et al., 2022). O SEC tem ações, nos processos fisiológicos, como homeostase, ansiedade, comportamento alimentar/apetite, comportamento emocional, depressão, funções nervosas, neurogênese, neuroproteção, recompensa,

cognição, aprendizado, memória, sensação de dor, fertilidade, gravidez e pré- e desenvolvimento pós-natal, balance energético, resposta imunológica (GOWRAM; MCKAYED; CAMPPELL, 2013, SMITH et al., 2015; LOWE et al., 2021b). Devido ao envolvimento do SEC em múltiplos processos fisiológicos direta e indiretamente, é um promissor alvo para o desenvolvimento de novos medicamentos terapêuticos e biomateriais à base de canabinóides que podem ser projetados para atingir diferentes componentes e/ou vias de sinalização celular oferecendo um potencial de benefício terapêutico (ZOU et al., 2018; LOWE et al., 2021a). Além disso, o SEC tem demonstrado afinidade pelos fitocanabinoides (LOWE et al., 2021a; LOWE et al., 2021b; LEGARE et al., 2022). Os canabinóides de origem natural mais conhecidos são aqueles derivados da planta *Cannabis sativa*, como o delta-9-tetrahydrocannabinol (delta-9-THC) e o Canabidiol (CBD), este último é um composto sem atividade psicoativa.

O CBD (fórmula $C_{21}H_{30}O_2$ -massa molar 314,47 g/mol) é o primeiro canabinóide isolado que remonta à década de 1940, é um dos extratos mais abundantes de *C. sativa*, junto com outros cannabiodes que estão distribuídos uniformemente nas folhas, flores, resina, troncos e raízes da pranta (GRIFFONI et al., 2022; CUBA et al., 2020). Diversos estudos (GARCIA- GUTIERREZ et al., 2020; GRIFONNI et al 2022; ABIDI et al; CUBA et al., 2020) sugerem que o mecanismo molecular do CBD está amplamente relacionado ao sistema endocanabinoide humano e tem afinidade com mais de 65 alvos moleculares. Alguns mecanismos que tenta explicar as ações do CBD estabelecem, que não se liga ao local de ligação ortostática dos receptores CB1 e CB2, pela menor afinidade e um tipo de ligação diferente nesses dois receptores (LOWE et al., 2021a). Tem sido reportado que atua como um agonista inverso dos receptores, induzindo outras respostas farmacológicas (ABIDI et al). O CBD também se liga aos receptores TRPV1, que também funcionam como canais iônicos (GRIFONNI et al., 2022). Além disso, pode aumentar as concentrações de AEA pela inibição da enzima degradadora FAAH, potenciando os efeitos dos endocanabinoides no SEC (BRUNETTI et al., 2020).

O CBD é um composto orgânico que posse o anel tetrahydrofurano clivado, é desprovido de propriedades psicoativas (LOWE et al., 2021a). Precisamente por esta falta de efeitos psicoativos, o CBD é sem dúvida o fitocanabinoide mais auspicioso para o tratamento de diversas patologias, devido as propriedades anti-inflamatórias

(BURSTEIN, 2015), antioxidantes (PISANTI et al., 2017), antimicrobianas (BLASKOVICH et al., 2021), analgésicas (COSTA et al., 2016), anticancerígenas, ansiolíticas (LOWE et al., 2021a), atividade regenerativas na diferenciação celular *in vitro* de tecido ósseo e resposta óssea. O CBD tem sido utilizado em doenças inflamatórias e neurodegenerativas, doenças mentais, dores neuropáticas, epilepsia e câncer (LAGARE et al., 2022; LOWE et al., 2021a; MONTERO-OLEAS et al., 2020). Também está relacionada no tratamento de esclerose múltipla, distúrbios do movimento (síndrome de Tourette, doença de Parkinson), condições psiquiátricas, doença de Alzheimer, epilepsia, dor aguda e crônica, distúrbios reumáticos, sintomas relacionados ao HIV, glaucoma (MONTERO-OLEAS et al. 2020). No entanto, devido à origem controversa foram sintetizados canabinóides ou análogos sintéticos, como HU-308, HUF-101, fluoro-cannabidiol, HU-320, CBD-DMH-7-oic acid, deoxy-CBD, 11-hydroxy-CBD ou O-1602, que demonstraram também ser semelhantes ao CBD (LOWE et al., 2021a).

O descobrimento destas propriedades estabelece um potencial uso terapêutico a nível regenerativo. Tem sido reportado atividades na analgesia, processos inflamatórios e proliferativos. O CBD demonstrou diminuir a nocicepção ao inibir a enzima FAAH que decompõe os endocanabinóides e, conseqüentemente, aumentar o AEA. Portanto, o AEA se liga imediatamente aos receptores CB1 e TRPV1, promovendo analgesia e diminuindo a nocicepção via receptores TRPV1 (ABIDI et al; CRIVELARO DO NASCIMENTO et al., 2020; PERES et al., 2018). O CBD possui mecanismos pelos que modula a inflamação bloqueando a capacidade de captação de Adenosina, aumentando a sua sinalização e inibindo o complexo do fator nuclear kappa B, reduzindo direta ou indiretamente a expressão de genes associados à resposta pró-inflamatória (IL-1 β , fator de necrose tumoral [TNF- α], IL-6) e ciclooxigenase-2 (COX-2) (CARRIER et al., 2006). Na proliferação celular, o CBD influencia na migração das células mesenquimais indiferenciadas, podendo causar recrutamento celular nos locais de regeneração do tecido ósseo e apoiar a regeneração óssea por meio de ação osteo-anabólica em células mesenquimais regenerativamente ativas (SCHMUHL et al. 2013; RAPHEL-MIZRAHI et al. 2020). Também, pode aumentar a proliferação dos osteoblastos e taxa de reticulação de colágeno, melhorando as propriedades biomecânicas do osso (APÓSTU et al., 2019; KAMALI et al., 2019; KOGAN et al., 2014; et al., NAPIMOGA et al., 2009). Os estudos

sobre o tema ainda são incipientes, porém a literatura já descreve que o CBD tem impacto na diferenciação osteogênica das células-tronco (KAMALI et al., 2019; QI et al., 2022; PETRUSCO et al., 2020). O CBD pode promover cicatrização de feridas, propriedades mediadas pelo aumento da migração de células regenerativas para locais de regeneração tecidual (CALLEJAS et al., 2018, KLEIN et al., 2018) e tem um efeito positivo em melhorar a gravidade das lesões orais (CUBA et al., 2020).

Embora os mecanismos de ação do CBD nos tecidos apresentem vantagens, é uma molécula altamente lipofílica e pouco solúvel em meios aquosos (ITIN et al., 2020; APARICIO-BRANCO et al., 2019; MATARAZO et al., 2021). O CBD pode ser classificado como um medicamento Classe II do Sistema de Classificação Biofarmacêutica, o que o torna um medicamento pouco solúvel em água e altamente permeável, que é eliminado pelo metabolismo (GRIFFONI et al., 2022). A alta lipofilicidade dos canabinóides, incluindo o CBD, podem ajudar a atravessar facilmente as barreiras biológicas, mas esta capacidade pode prejudicar seu potencial terapêutico no corpo se é administrado por vias afastadas dos locais alvo. Nesse contexto, pode-se tirar grande proveito de estratégias de formulação, para aumentar a biodisponibilidade e evitar o metabolismo inicial por outras vias de administração. Aliás, existe com aumentada tendência para a aplicação de fitoquímicos com atividade farmacológica comprovada, para gerar produtos de origem natural e novas formas de entrega para favorecer as propriedades biológicas, farmacológicas e regenerativas do CBD. Por tanto, o objetivo desta pesquisa foi analisar as propriedades físico-químicas, biológicas e microbiológicas do Óleo de Canabidiol microencapsulado e incluído em um hidrogel para uso biomédico e odontológico. Para isso, foi realizado um mapeamento com prospecção científica e tecnológica do CBD na odontologia e foi desenvolvido um biomaterial a base de óleo de CBD em forma de micropartículas e incluídas num hidrogel com caracterização físico-química, biológica e atividade microbiológica.

1.1 Objetivos

1.1.1 Geral

Analisar as propriedades físico-químicas, biológicas e microbiológicas do Óleo de Canabidiol microencapsulado e incluído em um hidrogel para uso biomédico e odontológico.

1.1.2 Específicos

1. Mapear as evidências disponíveis para fornecer visão geral e tecnológica do uso do canabidiol em odontologia;
2. Desenvolver micropartículas carregadas com óleo de canabidiol;
3. Incluir as micropartículas carregadas com óleo de canabidiol num andamie tipo hidrogel;
4. Estabelecer propriedades físicas e químicas semelhantes nos hidrogéis sem e modificados com micropartículas carregadas com óleo de CBD;
5. Medir a capacidade de absorção, degradação e porosidade do hidrogel modificado com micropartículas carregadas com óleo de CBD;
6. Avaliar a viabilidade celular e o potencial microbiológico das micropartículas de CBD e os hidrogéis modificados com micropartículas de óleo de CBD;
7. Avaliar *in vitro* e *in vivo* a capacidade osteoindutiva do das micropartículas de óleo de CBD.

1.2 Justificativa

Os diversos usos terapêuticos e propriedades medicinais da cannabis foram explorados desde o início do século XIX na medicina ocidental (PENG et al., 2022). Entre as décadas de 1960 e 1970, os cientistas conseguiram isolar seus constituintes psicoativos e terapêuticos (PENG et al., 2022). Especificamente, o CBD era um fitocanabinóide não psicoativo derivado da planta cannabis, aprovado para uso clínico em 2018 em diversos países (QI et al., 2022).

Derivado de um crescente interesse em pesquisa e em diversos produtos ricos em CBD (gotas de óleo oral, cápsulas, biomateriais com diversos usos) e com um

desenvolvimento comercial considerável. Diversos jornais como *Forbes Magazine*, estimaram que as vendas de produtos de CBD nos EUA ultrapassem US\$ 20 bilhões até 2024 (GOOD et al., 2019; ABIDI et al., 2022). Pelas diferentes propriedades o CBD tem sido frequentemente usado para melhorar uma variedade de condições, como dor (GOOD et al., 2019), enxaquecas e outras condições inflamatórias (BURSTEIN, 2015; ABIDI et al., 2022). Além disso, recentes pesquisas (CALLEJAS et al., 2018; KLEIN et al., 2018; KAMALI et al., 2019; QI et al., 2022) estabeleceram os cannabinoides, especificamente, o CBD poderia promover cicatrização de feridas ósseas estimulando a proliferação de células regenerativas e posteriormente induzindo a diferenciação osteoblástica de células mesenquimais indiferenciadas (SCHMUHL et al., 2013), consequentemente, o impacto do CBD na remodelação óssea está sob intensa investigação.

Portanto, para o desenvolvimento e autorização dos produtos que contem CBD, a Administração de Alimentos e Medicamentos dos Estados Unidos (FDA), a Agência Europeia de Medicamentos (EMA) e outras agências reguladoras aprovaram alguns medicamentos derivados que são legalmente vendidos em mais de 25 países. No Brasil, o CBD foi reclassificado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) por não causar dependência e a existência de efeito terapêutico (CPCON/ANVISA, 2014). Para o 2015, a pré-inscrição do CBD estava limitado pelo Conselho Regional de Medicina (CRM) e Conselho Federal de Medicina (CFM) à prescrição médica com finalidade de consumo medicinal no tratamento de Doença de Parkinson, epilepsia resistente, esquizofrenia entre outras enfermidades de acordo com o Art. 2º da RDC Nº 09/2015.

O aumento de pesquisas com o CBD em diferentes fases pré-clínicas (testes em laboratórios) e clínicas no Brasil contribuíram notavelmente nas mudanças das normativas e aos reconhecimentos dos usos de CBD. Inicialmente, foram focadas no tratamento de epilepsia infantil na Universidade de São Paulo, Instituto Nacional de Ciências e Tecnologia Translacional em Medicina (INCT-TM), com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) mas finalmente, em 2019 a Diretoria Colegiada da ANVISA por meio do Voto 92/2019/Quarta Diretoria/ANVISA (0833961) aprovou a regulamentação do uso medicinal do CBD e outros derivados no Brasil. A norma aprovada, denominada Resolução da Diretoria Colegiada (RDC), dispõe sobre procedimentos para concessão de autorização

sanitária para fabricação e importação do produto. Aliás, no 2022 o Conselho Federal de Odontologia (CFO) se posiciona abertamente sobre o uso de medicamentos à base de cannabis por cirurgiões-dentistas, e a ANVISA incluiu à especialidade na plataforma de importação de produtos que contenham canabinóides como o CBD.

Assim, o CBD passou a ser um fito-derivado, com prescrição que oferece uma alternativa que pudesse ser mais segura às drogas sintéticas convencionais usadas no tratamento de diversas doenças, incluindo patologias orais e dentárias, contida em alguns produtos orais e odontológicos comerciais em geral (LEGARE; RAUP-KONSAVAGE; VRANA, 2022; ABIDI et al., 2022). E incluída como coadjuvantes nos processos regenerativos nos tecidos ósseos (KAMALI et al., 2019; PETRUSCO et al., 2020; QI et al., 2022) e nos fibroblastos gengivais (LIBRO et al., 2017). Porém, para que o CBD e produtos à base de canabinóides se tornem uma realidade e proporcionem usos terapêuticos na odontologia convencional, se faz necessários mais estudos científicos rigorosos para confirmar sua segurança, biocompatibilidade, tolerabilidade, toxicidade, eficácia, dosagens e sistemas de entrega ideais no tratamento de doenças orais, dentárias e como coadjuvantes nos processos curativos. Contendo estratégias para compensar a baixa biodisponibilidade, os perfis farmacocinéticos variáveis e baixa estabilidade, que podem ser limitantes no sucesso do CBD como medicamento ou potencial biomaterial. Assim, estudos experimentais e de desenvolvimento são necessários para avaliar e estabelecer novos biomateriais que podem aproveitar ou refutar as propriedades biológicas, farmacológicas e regenerativas do CBD com finalidade médica e odontológica.

2 Projeto de Pesquisa

2.2 Introdução

A prevalência de dentes perdidos e edentulismo é um problema a nível mundial. Esta condição é o resultado das enfermidades de saúde bucal experimentadas ao longo da vida, como a cárie dental e a doença periodontal. Na atualidade, o estudo de RIBEIRA et al., (2019) demonstrou que a perda de dentes afeta negativamente a qualidade de vida, comprometendo atividades como a fonação, a deglutição, a mastigação e a vida social, por comprometer a estética. Além disso, pode estar associada a doenças sistêmicas como hipertensão, obesidade e doenças cardiovasculares (RIBEIRA et al., 2019). A perda dos dentes é indicadora sensível da saúde bucal e está relacionada a condições socioeconômicas, acesso ao atendimento de saúde, além disso, a saúde bucal está correlacionada com o estado de saúde geral (DEGUCHI et al., 2017).

A instalação de implantes dentários para substituição de dentes perdidos é uma opção de tratamento aos pacientes. Há diversas marcas comerciais no mercado, muitas de fabricação nacional, com diversas opções de componentes e variedade de custo, que reduziu muito na última década. Os implantes são dispositivos que tem gerado maiores expectativas e interesse de pacientes que desejam melhor função mastigatória e qualidade de vida (RAD et al., 2017). Embora sejam soluções com altas taxas de sobrevivência de até 90% com acompanhamento de 10 anos (CORREIA et al., 2013), no entanto são necessários requisitos mínimos locais e sistêmicos aos futuros usuários. Um dos principais requisitos é volume suficiente e tecido ósseo saudável, o que interfere na capacidade de osseointegração do implante e sua estabilidade a longo prazo (CHAPPUIS et al., 2018; NOELKEN et al., 2018; ZAVANELLI et al., 2011).

Diferentes métodos como técnicas de enxerto ósseo, distração alveolar e a regeneração óssea guiada (ROG) podem ser aplicadas para restabelecer volume de osso perdido e permitir que o implante seja instalado. A ROG é considerada um dos métodos mais utilizados para reconstrução do osso alveolar e para tratar as deficiências ósseas peri-implantares. A ROG é conseguida quando as células

osteoprogenitoras conseguem repovoar o sítio do defeito ósseo, evitando ingresso de tecido não-osteogênico. Os estudos demonstrar que até 40% dos implantes osseointegrados requerem ROG como parte da reabilitação (BORNSTEIN et al., 2008; CLEMENTINI et al., 2012; ELGALI; DAHLIN; THOMSEN, 2017). Também, descrevem que a taxa de sobrevivência dos implantes colocados varia entre 79% e 100%, e a maioria dos estudos mostraram uma taxa de sobrevivência de mais de 90% após de 1 ano de função (BORNSTEIN et al., 2008; CLEMENTINI et al., 2012; ELGALI; DAHLIN; THOMSEN, 2017).

Portanto, existem diversas técnicas para realização de enxerto ósseo e uso de biomateriais, com enfoque na engenharia tecidual como ramo da medicina regenerativa que promove a reparação de tecido perdido mediante uso de fatores de crescimento, terapia celular e biomateriais, estimulando proliferação celular (STEFFENS et al., 2018). Para desenvolvimento dos biomateriais e matrizes para uso em engenharia tecidual, estão disponíveis no mercado três grupos principais de biomateriais: de origem natural, polímeros sintéticos, e *scaffolds* com ou sem células de órgãos ou tecidos. Os biomateriais sintetizados possuem diversas apresentações, como hidrogéis, nanofibras, *scaffolds* 3D, entre outros, assim como são empregados para diferentes fins na regeneração tecidual (DA SILVA et al., 2017; STEFFENS et al., 2018). Devido ao seu alto conteúdo de água, diversas propriedades e similaridade com a matriz extracelular nativa (MEC), os hidrogéis são usados com multipropósitos: substratos para cultura de células, veículos para drogas e entrega de proteínas. Os hidrogéis podem ser reticulados em volumes contínuos, com dimensões na escala milimétrica ou maior, e uma malha tamanho na escala nanométrica que permite a difusão das moléculas (da SILVA et al., 2017).

No corpo humano, os tecidos apresentam sistemas com enzimas e receptores que regulam o comportamento biológico que pode ser influenciado pelos biomateriais desenvolvidos, particularmente o sistema endocanabinóide que trabalha como sinalizador entre células e processos metabólicos. O sistema endocanabinóide tem ações, por exemplo, nos processos de apetite, balance energético, resposta imunológica e dolorosa (GOWRAM; MCKAYED; CAMPPELL, 2013, SMITH et al., 2015). Além disso, outros estudos estabelecem o desempenho do sistema

endocanabinóide no metabolismo, remodelação e atividade celular do tecido ósseo (OFEK et al., 2006, IDRIS; RALSTON, 2010, IDRIS; RALSTON 2012, WHYTE et al., 2012). No osso, o sistema tem os receptores 1 (CB₁) e 2 (CB₂) acoplados à proteína G: CB₁ está expresso nas fibras nervosas adrenérgicas e CB₂ nas células do tecido ósseo (ROSSI et al., 2009). Os canabinóides formam grupo de moléculas que se acoplam aos receptores CB₁ e CB₂ e há diversos tipos conhecidos: podem ser endógenos (endocanabinóides: anandamida-AEA y 2-araquidonoilglicerol- 2-AG), naturais (fitocanabinóides: canabidiol (CBD), canabigerol (CBG), canabicromeno (CBC), canabigerivarina (CBGV), Δ^9 -tetrahydrocanabidiol (Δ^9 -THC) e sintéticos (agonistas e antagonistas dos receptores) (APÓSTU et al., 2019). Os canabinóides naturais mais conhecido são derivados da planta *Cannabis sativa*, como o CBD, que é um composto sem atividade psicoativa.

No nível ósseo, os endocanabinóides AEA e 2-AG são produzidos por osteoblastos e osteoclastos (IDRIS, RALSTON, 2012). Ambas células ósseas contêm N-acil fosfatidiletanolamina fosfolipase D (NAPE-PLD) e fosfolipídios da membrana enriquecidos com ácido araquidônico, responsáveis pela produção do osso (BAB et al., 2012). Tanto o AEA quanto o 2-AG são sintetizados sob demanda, removidos de seus locais de ação por processos de captação de tecidos e metabolizados por enzimas intracelulares (WHITE et al., 2012). Em relação ao papel dos canabinóides na migração celular, os endocanabinóides, como o 2-AG, exercem impacto pró-migratório nas células microgliais através da ativação de receptores sensíveis, a ativação do CB₂ tem efeitos diferentes nos pré-osteoblastos precoces e em mais células osteoblásticas maduras. Estas últimas podem estimular funções diferenciadas de osteoblastos, como produção da fosfatase alcalina, incrementando a atividade da matriz e mineralização. Na linha dos osteoclastos, a ativação do CB₂ inibe a diferenciação dos osteoclastos ao restringir a mitogênese no estágio monocítico (inibição do RANK-L). Aliás, outros canabinóides podem induzir a migração de diferentes linhagens celulares (BAB et al., 2012).

O CBD tem sido testado por seu potente efeito anti-inflamatório (BURSTEIN, 2015), propriedades antioxidantes (PISANTI et al., 2017), analgésicas (COSTA et al., 2016), e atividade na diferenciação celular *in vitro* de tecido ósseo e resposta óssea, aumentando proliferação dos osteoblastos e taxa de reticulação de colágeno, o que poderia contribuir para as melhores propriedades biomecânicas do osso (APÓSTU et

al., 2019; KAMALI et al., 2019; KOGAN et al., 2014; et al., NAPIMOGA et al., 2009). Os estudos sobre o tema ainda são incipientes, porém a literatura já descreve que o CBD tem impacto na diferenciação osteogênica das células-tronco (KAMALI et al., 2019). Outro estudo (SCHMUHL et al., 2013) relataram efeito de quantidades mínimas de CBD na migração de células-tronco, também podendo causar recrutamento de células-tronco nos locais de regeneração do tecido calcificante e, posteriormente, apoiar a regeneração óssea por meio de ação osteoanabólica em células mesenquimais regenerativamente ativas. Além disso, análises com PCR-RT indicaram três marcadores osteogênicos positivos numa cultura de 21 dias das células-tronco submetidas ao CBD. Assim como foi demonstrado que o CBD aumentou a expressão do gene PLOD1, o que indiretamente aumentou a taxa de reticularização de colágeno (KOGAN et al., 2015). Essa relação é um indicador de maturidade do colágeno considerado extremamente importante para as propriedades mecânicas do osso reparado (KOGAN et al., 2015; KAMALI et al., 2019).

Dessa forma, os resultados destes primeiros estudos parecem sugerir o CBD como um coadjuvante no estímulo da migração das células-tronco e sua diferenciação em linhagens osteogênicas, promovendo a osteoindutividade para células senis. De modo que poderia aumentar a cicatrização óssea, particularmente em defeitos ósseos de tamanho crítico, podendo apresentar aplicações na odontologia. Entretanto, é necessário examinar a concentração ideal de CBD, testar diferentes compostos e veículos em um sistema de liberação controlada e avaliar o efeito no tecido ósseo.

2.2 Justificativa

Nas últimas décadas, a engenharia de tecidos e medicina regenerativa surgiram com estratégias promissoras para a reconstituição óssea, com a ambição de contornar as complicações associadas às técnicas tradicionais. Estruturas de engenharia que combinam uma matriz temporária que fornece ambiente e arquitetura específicos para o crescimento e desenvolvimento ósseo podem melhorar as condições para regeneração de novo tecido. Os biomateriais devem permitir a proliferação e colonização adequada das células hospedeiras para fins de regeneração (ROSETI et al., 2018). Estudos recentes demonstraram que os canabinóides podem promover cicatrização de feridas, propriedades mediadas pelo aumento da migração de células regenerativas para locais de regeneração tecidual (CALLEJAS et al., 2018, KLEIN et

al.,2018). Nesse contexto, o impacto dos canabinóides na remodelação óssea *in vivo* está atualmente sob intensa investigação. No entanto, a contribuição das células-tronco para remodelação óssea induzida pelos canabinóides, como as opções farmacológicas que visam a migração de células-tronco, é pouco conhecida. Os resultados de outros estudos fornecem evidência da indução da migração e diferenciação osteoblástica das células-tronco levado pelo CBD (SCHMUHL et al., 2013), o que sugere que o composto poderia ter aplicações odontológicas.

Porém, devido ao uso controverso e à obtenção desta substância em alguns países do mundo, é necessário lembrar que o CBD foi anteriormente classificado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) como um composto químico que faz parte na Lista C1 do Anexo I da Portaria SVS/MS n. 344/98 e de suas atualizações. Este composto pode ser extraído da planta *Cannabis sativa*, que é uma planta que consta na lista E – (Lista de plantas prescritas que podem originar substâncias entorpecentes e/ou psicotrópicas). No entanto, recentes estudos demonstraram que o CBD se diferencia de outros derivados de *Cannabis sativa* e tem maior afinidade de receptores CBD para CB₂ em comparação com CB₁ do SNC (MATOS et al., 2014).

Em 2014, a ANVISA passou a considerar a reclassificação do CBD devido aos critérios fundamentais para que uma substância deixe de ser proibida: o fato de não causar dependência e a existência de efeito terapêutico, pela afinidade a CB₂ (CPCON/ANVISA, 2014). Em princípio o uso do CBD está limitado pelo Conselho Regional de Medicina (CRM) e Conselho Federal de Medicina (CFM) à prescrição médica com finalidade de consumo medicinal. No 2015 foi aprovado a regulamentação no Brasil para o uso do CBD no tratamento de Doença de Parkinson, epilepsia resistente a tratamentos e esquizofrenia entre outras enfermidades de acordo com o Art. 2º da RDC Nº 09/2015, graças aos estudos iniciais desde 2010 até a atualidade da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (USP) e Instituto Nacional de Ciências e Tecnologia Translacional em Medicina (INCT-TM), do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), em parceria com outros pesquisadores do Brasil e do mundo, mostram benefícios do CBD, principalmente, no tratamento de epilepsia infantil, nos casos que não respondem aos medicamentos tradicionais.

Os anos seguintes foram realizadas modificações nos regulamentos e a temática foi debatida até no 2019 a Diretoria Colegiada da ANVISA por meio do Voto 92/2019/Quarta Diretoria/ANVISA (0833961) aprovou o 03 de dezembro a regulamentação do uso medicinal do CBD e outros derivados no Brasil. Com a decisão, produtos à base de cannabis passarão a ser vendidos em farmácias de todo o Brasil e sujeitos à vigilância sanitária e a regulamentação do uso medicinal da maconha. A norma aprovada, denominada Resolução da Diretoria Colegiada (RDC), dispõe sobre procedimentos para concessão de autorização sanitária para fabricação e importação do produto, assim como estabelece normas para comercialização, prescrição, monitoramento e fiscalização de produtos para fins medicinais com o princípio ativo. O medicamento somente poderá ser vendido sob prescrição médica, com retenção da receita e em farmácias e drogarias.

Porém, a comunidade científica no Brasil vem desenvolvendo ao CBD como grandes possibilidades terapêuticas, com muitas pesquisas em fases pré-clínicas (testes em laboratórios). No Brasil a AVINSA estipula no Art. 2º da RDC Nº 09/2015, que somente ensaios clínicos com medicamentos que terão todo ou parte de seu desenvolvimento clínico no Brasil precisam de sua aprovação, no entanto, estudos acadêmicos com finalidade de pesquisa, sem envolver seres humanos, necessitam de aprovação por Comitês de Ética em Pesquisa, o que foi confirmado pelos autores do projeto em contato com a ANVISA (Apêndice A). Além disso, estudos mostraram evidência terapêutica do CBD em diferentes quadros patológicos (CALLEJAS et al., 2018; De FARIA et al., 2020; FERREIRA- JUNIOR et al., 2020; VOULO et al., 2020), descrevem que ele poderia ser purificado e, portanto, separado da erva e seguro para pesquisa, sem efeito psicoativo ou alucinógeno (FULAR- POLI et al., 2010; NAHLER et al., 2020; BOYAJI et al., 2020). Os estudos ainda mostraram que o CBD também amenizava os efeitos do Δ^9 -THC, composto responsável pelos efeitos típicos associados à planta (MATOS et al., 2014; OLIVERA, 2017).

De acordo com essa noção, a afinidade pelo CB₂, mas não o CB₁, demonstrou conferir o papel pró-migratório da CBD e efeitos de ativação dos mediadores químicos. Também, o receptor CB₂ tem possível envolvimento nas etapas dos processos de cicatrização de feridas demonstrando a regulação positiva durante a cicatrização de feridas. Estudos experimentais são necessários para avaliar e desenvolver novos

biomateriais que podem aproveitar ou refutar as propriedades biológicas, farmacológicas e regenerativas do CBD com finalidade médica e odontológica.

2.3 Objetivo

2.3.1 Objetivo geral

Analisar as propriedades físico-químicas e osteo-indutivas de um compósito experimental à base de hidrogel modificado por óleo de canabidiol para regeneração óssea e engenharia tecidual.

2.3.2 Objetivos específicos

- Mapear as evidências disponíveis para fornecer visão geral e tecnológica do uso do canabidiol;
- Desenvolver um compósito contendo óleo de canabidiol encapsulado num hidrogel;
- Modificar as propriedades físicas e químicas do compósito de hidrogel com óleo de canabidiol encapsulado;
- Medir a capacidade de absorção e liberação de canabidiol no compósito de hidrogel;
- Avaliar *in vitro* e *in vivo* a capacidade osteoindutiva do óleo de canabidiol;
- Propor o desenvolvimento de micropartículas modificadas que contêm óleo de canabidiol para regeneração óssea.

A hipótese a ser testada será que a incorporação de canabidiol ao hidrogel melhorará as propriedades mecânico-biológicas do composto e induzirá diferenciação celular osteogênica para reparo ósseo.

Estudo 1

Canabidiol na odontologia: revisão exploratória científica e tecnológica

Na odontologia o uso de CBD tem sido pouco estudado e seus efeitos no tratamento de doenças bucais não são bem conhecidos. No entanto, considerando suas propriedades, mecanismos de ação e resultados favoráveis no tratamento de outras doenças complexas, acredita-se que ele possa exercer um efeito terapêutico positivo em algumas patologias ainda desafiadoras para o cirurgião-dentista. O propósito desta revisão (*scoping review*) será mapear as evidências disponíveis para fornecer visão geral e tecnológica do uso do canabidiol, seus efeitos e produtos relacionados na odontologia.

Metodologia

O protocolo deste estudo será registrado publicamente no Open Science Framework (OSF) devido à natureza do desenho do estudo. O protocolo desta revisão exploratória é baseado na estrutura proposta por Peters et al., 2015, de acordo com o Instituto Joanna Briggs. Para o mapeamento serão considerados seguintes parâmetros, (i) população: áreas odontológicas (ii) intervenção: canabidiol, (iii) comparação: outros canabinoides e análogos sintéticos (iv), uso na odontologia (v): estudos laboratoriais e *in vivo*. Não haverá uma questão PICO clássica, mas uma pergunta norteará a revisão: Qual é o uso do canabidiol na odontologia?

Critérios de inclusão e exclusão

Serão incluídos os estudos e patentes que avaliaram ou relataram o efeito do canabidiol (exceto aqueles com efeitos psicotrópicos), isolado ou associado a outras substâncias ou biomateriais na odontologia. Serão incluídos estudos que avaliaram o efeito do CBD e análogos sintéticos. Serão excluídos os estudos sob o uso da planta de cannabis e outros canabinóides com finalidade de fumo. Artigos de opinião de especialistas, revisão narrativa e cartas também serão excluídos. Além disso, estudos não publicados em periódicos de revisão por pares ou resumos de conferências serão excluídos. Serão excluídas as patentes com usos diferentes à odontologia, outros

derivados da *cannabis sativa* e patentes ou outras associadas a outras substâncias farmacológicas.

Estratégia de Busca

A pesquisa será realizada em cinco bases de dados, PubMed/MEDLINE, Scopus, Web of Science, Cochrane Wiley, EMBASE e será limitada a artigos escritos em inglês sem restrição de data. A estratégia de busca será baseada nos termos MeSH do PubMed e nos termos específicos do Scopus, Web of Science e Cochrane Wiley e EMBASE, usando as palavras-chave apresentadas na Tabela 1.

Além disso, a busca e análise de patentes serão realizadas pelo sistema on-line Questel Orbit (Paris, França), que contém dados de patentes de mais de 90 autoridades. O sistema on-line Questel Orbit (Paris, França) será acessado para recuperar documentos de patentes relacionados ao uso de canabidiol em aplicações odontológicas. A estratégia de busca está descrita na Tabela 1. Será realizada uma busca de patente usando a Classificação Internacional de Patentes (IPC) com os seguintes códigos: A61K-6/00 (preparações para odontologia), A61K-8/97 (derivada de algas, fungos, líquens ou plantas; de seus derivados) sem limites de data ne língua.

Tabela 1. Estratégia da busca

Base	Keys words
PubMed/MEDLINE	(THC) OR (Tetrahydrocannab) OR (Dronabin) OR (Cannab) OR (Phytocannab) OR (Marijuana) OR (Synthetic cannab) OR (Cannabidiol)AND ("Bone and Bones"[Mesh] OR "Bone and Bones" OR (Bones and Bone Tissue) OR (Bones and Bone) OR (Bone Tissue) OR (Bone Tissues) OR (Tissue, Bone) OR (Tissues, Bone) OR (Bony Apophyses) OR (Apophyses, Bony) OR (Bony Apophysis) AND (Dentistry) OR (Implants, Dental) OR (Dental Implant) OR (Implant, Dental) OR (dental Pain) OR (anti-inflammatory) OR (Pulp, Dental) OR (Pulps, Dental) OR (Dental Pulps) OR (Regeneration, Periodontal Guided Tissue) OR (Guided Periodontal Tissue Regeneration) OR (Periodontal Guided Tissue Regeneration) OR (Bone reparation)
Scopus	(THC) OR (Tetrahydrocannab) OR (Dronabin) OR (Cannab) OR (Phytocannab) OR (Marijuana) OR (Synthetic cannab) OR (Cannabidiol)AND (Bone and Bones)[Mesh] OR (Bone and Bones) OR (Bones and Bone Tissue) OR (Bones and Bone) OR (Bone Tissue) OR (Bone Tissues) OR (Tissue, Bone) OR (Tissues, Bone) OR (Bony Apophyses) OR (Apophyses, Bony) OR (Bony Apophysis) AND (Dentistry) OR (Implants, Dental) OR (Dental Implant) OR (Implant, Dental) OR (dental Pain) OR (anti-inflammatory) OR (Pulp, Dental) OR (Pulps, Dental) OR (Dental Pulps) OR (Regeneration, Periodontal Guided Tissue) OR (Guided Periodontal Tissue Regeneration) OR (Periodontal Guided Tissue Regeneration) OR (Bone reparation))

Web of Science	TS= (THC) OR (Tetrahydrocannab*) OR (Dronabin*) OR (Cannab*) OR (Phytocannab*) OR (Marijuana*) OR (Synthetic cannab*)AND (Dentistry) OR (Implants, Dental) OR (Dental Implant) OR (Implant, Dental) OR (dental Pain) OR (anti-inflammatory) OR (Pulp, Dental) OR (Pulps, Dental) OR (Dental Pulps) OR (Regeneration, Periodontal Guided Tissue) OR (Guided Periodontal Tissue Regeneration) OR (Periodontal Guided Tissue Regeneration) OR (Bone reparation)
Cochrane Wiley	(THC) OR (Tetrahydrocannab) OR (Dronabin) OR (Cannab) OR (Phytocannab) OR (Marijuana) OR (Synthetic cannab) OR (Cannabidiol)AND (Bone and Bones)[Mesh] OR (Bone and Bones) OR (Bones and Bone Tissue) OR (Bones and Bone) OR (Bone Tissue) OR (Bone Tissues) OR (Tissue, Bone) OR (Tissues, Bone) OR (Bony Apophyses) OR (Apophyses, Bony) OR (Bony Apophysis) AND (Dentistry) OR (Implants, Dental) OR (Dental Implant) OR (Implant, Dental) OR (dental Pain) OR (anti-inflammatory) OR (Pulp, Dental) OR (Pulps, Dental) OR (Dental Pulps) OR (Regeneration, Periodontal Guided Tissue) OR (Guided Periodontal Tissue Regeneration) OR (Periodontal Guided Tissue Regeneration) OR (Bone reparation)
EMBASE	(THC) OR (Tetrahydrocannab) OR (Dronabin) OR (Cannab) OR (Phytocannab) OR (Marijuana) OR (Synthetic cannab) OR (Cannabidiol)AND (Bone and Bones)[Mesh] OR (Bone and Bones) OR (Bones and Bone Tissue) OR (Bones and Bone) OR (Bone Tissue) OR (Bone Tissues) OR (Tissue, Bone) OR (Tissues, Bone) OR (Bony Apophyses) OR (Apophyses, Bony) OR (Bony Apophysis) AND (Dentistry) OR (Implants, Dental) OR (Dental Implant) OR (Implant, Dental) OR (dental Pain) OR (anti-inflammatory) OR (Pulp, Dental) OR (Pulps, Dental) OR (Dental Pulps) OR (Regeneration, Periodontal Guided Tissue) OR (Guided Periodontal Tissue Regeneration) OR (Periodontal Guided Tissue Regeneration) OR (Bone reparation)
Orbit	THC OR Tetrahydrocannab OR Dronabin OR Cannab OR Endocannab OR Phytocannab OR Marijuana OR Synthetic cannab OR Cannabidiol OR Endocannabinoide AND Bone and Bones OR Bones and Bone Tissue OR Bones and Bone OR Bone Tissue OR Bone Tissues OR Tissue, Bone OR Tissues, Bone OR "Bony Apophyses OR Apophyses, Bony OR Bony Apophysis OR Dentistry OR Implants, Dental OR Dental Implant OR Implant, Dental OR dental Pain OR anti-inflammatory OR Pulp, Dental OR Pulps, Dental OR Dental Pulps OR Regeneration, Periodontal Guided Tissue OR Guided Periodontal Tissue Regeneration OR Periodontal Guided Tissue Regeneration or Bone reparation

Fonte: própria (2019)

Inicialmente, a pesquisa científica e tecnológica será realizada utilizando o programa EndNote X9 (Thomson Reuters, Nova York, NY). Dois pesquisadores independentes selecionarão os artigos analisando primeiramente os títulos e resumos quanto aos critérios de relevância e elegibilidade. Os registros recuperados serão classificados como incluídos, excluídos ou incertos. Artigos em texto completo dos estudos incluídos e registros incertos serão selecionados para triagem adicional de elegibilidade pelos mesmos dois revisores. Discrepâncias na triagem de títulos /

resumos e textos completos serão resolvidas por discussão. Em caso de desacordo, a opinião de um terceiro revisor será recebida.

Tratamento dos resultados

Os dados serão levados a uma planilha no MS Excel para extração de dados. A planilha será conferida por três revisores para chegar a um consenso sobre quais dados coletar e como será realizada a coleta. Um dos revisores extrairá os dados e outro verificará a extração. Os principais dados relevantes a serem extraídos são os resultados sobre a influência do canabidiol na odontologia. Os seguintes dados secundários serão coletados: ano, autor, desenho do estudo, periódico, país do autor correspondente, doses, via de administração, apresentação, fabricante, especialidade, metodologia, aplicações, conclusão principal, patrocínio relatado. O mapeamento será realizado de acordo com a aplicação do canabidiol, considerando as diferentes áreas odontológicas. Além disso, os seguintes dados secundários das patentes serão coletados: patentes, código de tipo, país, ano, título, reivindicação, inventores e empresa.

Análise de dados

Uma análise descritiva será realizada considerando o desenho do estudo, diferentes usos do CBD testado e diferentes áreas odontológicas, utilizando tabelas, gráficos e mapas.

Estudo 2

Avaliação *in vitro* e *in vivo* do óleo de Canabidiol para regeneração óssea e reparo osso

Metodologia

Delineamento experimental

Este estudo tem delineamento experimental a ser realizado a partir da síntese previamente desenvolvida do hidrogel de polivinil álcool (PVC) e sulfato de condroitina (SC) conforme descrição prévia (da SILVA et al., 2017) como *scaffolds* para a liberação do óleo de canabidiol.

Reagentes

Será formulado o compósito experimental hidrogel modificado com óleo de canabidiol contendo como *scaffolds* um hidrogel PVA (Massa molar 85-124 kg/mol, 99% hidrolisado, Sigma-Aldrich, EUA) e Sulfato de condroitina (30 % m/v, Sigma-Aldrich, EUA) além do óleo de canabidiol (Epifractán, contem 5% CBD e menos de 0,1% THC, Medic Plast S.A, Montevideo, Uruguai).

Síntese do hidrogel controle

O hidrogel será preparado a partir da mistura de duas soluções poliméricas utilizando a técnica de congelamento/descongelamento (do inglês *freezing/thawing*). A primeira, uma solução de PVA (15% m/v), será preparada a partir da solubilização de 1,5 g de PVA em 10 mL de água destilada, sendo que a solução mantida sob agitação magnética a temperatura de 75°C durante 24 h. A segunda solução preparada será a de SC (30% m/v), para esta 3,0 g do biopolímero e solubilizada em 10 mL de água destilada, e a mesma mantida a temperatura ambiente sob agitação magnética por 24 h.

Posteriormente, as duas soluções serão misturadas sob agitação magnética moderada a temperatura ambiente. A solução resultante da mistura de ambas será mantida sob agitação por aproximadamente 60 min, até a obtenção de uma mistura homogênea. Por seguinte, a solução PVA/SC será levada ao freezer, a temperatura

de aproximadamente -20°C , com o objetivo de iniciar o processo de reticulação do material.

Serão realizados 5 ciclos de congelamento/descongelamento com 24 h cada (16 h congelado e 8 horas descongelado). Ao final, o material será imerso em uma solução de KCL por 30 min e em água destilada por mais 30 min. Por fim, será levado a estufa a 37°C para secagem.

Sínteses do hidrogel com óleo de Canabidiol encapsulado

Composição do óleo CBD 5%

O óleo de CBD ao 5% será analisado em cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrofotômetro de massas (GC-MS, QP2010, Shimadzu Ultra, Japão). Uma coluna capilar (30 m x 0.32 mm x 0.25 μm) revestida com 100% dimetil polissiloxano (Restek Corporation, EUA) será usada. Uma alíquota da amostra vai ser diluída em hexano (1:10) e 10 μL será injetado a 200°C no modo split. A temperatura do forno será configurada para 60°C por 5 min e aumentada para 180°C .

Preparação das emulsões

As emulsões serão preparadas em uma solução óleo de CBD em água (outras soluções surfactantes serão testadas), as concentrações do composto serão 5%, 10%, 20%, 30% e 50% (p/p). O óleo será adicionado lentamente, nas concentrações pré-determinadas, sobre agitação de 1200 rpm por 10 min (Isotemp, Fisher Scientific, EUA). A solução será sonicada em ultrassom (VC 505, Sonics & Materials, Inc., EUA) à 20 kHz em ultrassom de sonda por 4 min para formar a emulsão.

Preparação do hidrogel com CBD encapsulado

Os hidrogéis serão preparados com uma emulsão óleo de CBD em água. Seguindo será realizado o processo de congelamento-descongelamento para reticulação do hidrogel. Na fase água, será solubilizada uma quantidade definida de PVA em água destilada e separadamente será solubilizado o SC também em água destilada. Em princípio, será fixada a razão mássica entre o PVA e o SC em proporções de 1:1. As duas soluções serão misturadas sob agitação magnética moderada a temperatura ambiente. Após a mistura das duas soluções (de PVA e SC),

será gotejado o óleo de CBD e homogeneizado o sistema com agitação vigorosa. Posteriormente, a formação da emulsão, será congelado o sistema imediatamente utilizando N2 líquido. Será alternado ciclos de congelamento com descongelamento. Por fim, o material obtido será secado pela liofilização.

Caracterização físico-química do hidrogel com óleo de canabidiol CBD encapsulado

Liberação de CBD encapsulado

Ensaio in vitro de liberação de CBD encapsulado

Será preparada uma suspensão do óleo encapsulado com uma concentração final de 1mg / ml em solução salina fosfatada (PBS, pH7.4), posteriormente será incubada a 37 ° C sob agitação constante a 50rpm. O meio liberado totalmente será retirado em momentos pré-determinados, seguido pela adição de PBS fresco. A liberação de CBD no hidrogel será realizada imergindo amostras (n=3) em PBS a 37°C. O meio de liberação será recolhido nos mesmos pontos de tempo que as amostras. A concentração de CBD nos sobrenadantes será determinada por espectroscopia de fluorescência com um comprimento de onda de excitação de 280nm e um comprimento de onda de emissão de 307nm (KAMALI et al., 2019). O perfil da liberação será determinado com base a Eq.1.:

$$\text{Liberação da droga \%} = \frac{M_t}{M_0} \times 100 \text{ (Eq. 1)}$$

Sendo:

Mt: a massa de CBD liberado em cada intervalo de tempo.

M0: a massa total de capsulas químicas de CBD.

Ensaio in vitro de liberação em fluido simulado

A avaliação de desempenho do hidrogel com óleo de CBD encapsulado em fluido corporal simulado será realizado com plasma humano simulado em um processo de incubação a 37 ° C por 3, 7, 15 e 30 dias, utilizando uma célula que

permite a exposição ao fluido fisiológico de uma área de 3,14 cm² da superfície do revestimento.

A solução usada como fluido fisiológico é preparado em 500 mL de água adicionando NaCl, KCl, NaHCO₃, K₂HPO₄, 3H₂O, MgCl₂, CaCl₂, Na₂SO₄, 1M HCl e NH₂C(CH₂OH)₃ (tris (hidroximetil) aminometano).

O processo de incubação será em um Equipamento HEIDOLPH, com agitação orbital a 187 rpm controlado pelo sistema UNIMAX 1010. Uma vez após cada teste, o fluido fisiológico simulado utilizado para avaliar cada amostra (n=3) e será analisado por espectrofotometria para determinar a concentração de íons fosfato e cálcio.

Microscopia Eletrônica de Varredura e Energia dispersiva de raios-X

A avaliação morfológica do hidrogel com CBD encapsulado antes e depois dos ensaios de liberação *in vitro* do CBD. Será realizada com auxílio de Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) (JEOL, JSM - 6610LV - EUA) equipado com microsonda de Espectrometria de Energia Dispersiva de Raios-X (EDX). Para a obtenção das imagens de MEV, as porções superficiais das amostras serão previamente metalizadas com uma fina camada de Au em um metalizador (Denton Vacuum, Desky - EUA). Também será utilizada a microsonda de EDX para avaliar a composição química da superfície dos materiais. O tamanho médio de poros do hidrogel preparado será determinado a partir de 70 poros com tamanhos aleatórios em cada amostra. A dimensão dos poros será avaliada com o auxílio do software Size Meter, versão 1.1.

Difração de raios X (DRX)

A difração de raios-X será utilizada para identificar as fases cristalinas do composto. Um difractômetro (D500; Siemens, Munique, Alemanha) com uma fonte de radiação Cu-K α ($\lambda = 1,54 \text{ \AA}$) a 40 kV e 1,75 mA. Um ângulo de varredura (2θ) variado de 20 a 50° com resolução de 0,02° e velocidade de 2° / min. será utilizado e os padrões de difração serão gravados.

Micro-CT

Para quantificar a porosidade do hidrogel obtido, a análise com Micro-CT será realizada utilizando um raio monocromático com uma energia de 23,5 keV a uma

distância de 5cm em amostras cilíndricas de 10mm de diâmetro e 10mm de altura. Uma imagem 3D será obtida com o auxílio de um software e os voxels que representam estrutura e poros serão identificados, obtendo assim, a distribuição dos poros.

Absorção e retenção de líquidos

Para avaliar a capacidade de absorver e reter líquido do hidrogel modificado por CBD, distintos parâmetros serão avaliados: intumescimento máximo, efeito do pH, taxa de perda de água, capacidade de retenção de água. Para isso, 500 mg serão pesados e mergulhados em 100 mL de solução tampão PBS (pH 7,4) durante 24 h em temperatura de 37 °C sem agitação (Da SILVA et al., 2017). Os valores de intumescimento máximo serão calculados utilizando a Eq. 3. Os testes serão realizados em triplicata.

$$I (\%) = \frac{(M_i - M_f)}{M_f} \times 100 \text{ (Eq. 3)}$$

Sendo:

M_i: Massa da amostra seca (mg)

M_f: Massa da amostra intumescida no equilíbrio (mg)

Os grupos com maior capacidade de intumescimento serão utilizados nos testes subsequentes. O efeito do pH do meio de intumescimento na capacidade de absorção dos compósitos hidrogéis será investigado por meio da imersão de amostras pesando 500 mg em 100 mL de solução tampão durante 24 h a temperatura de 37 °C sem agitação magnética. Serão testadas soluções tampão com diferentes pHs (2, 5 e 12). Os valores referentes à capacidade de intumescimento em diferentes pHs serão calculados utilizando a mesma equação. Os testes serão realizados em triplicata. Para o teste de taxa de perda de água, em 100 mL de solução tampão PBS (pH 7,4) serão imersos 500 mg de cada grupo durante 24 h a 37 °C, sem agitação. Posteriormente, as amostras serão recolhidas e secas numa estufa a 37 °C. Em intervalos de tempo pré-determinados, as amostras serão removidas da estufa e pesadas a fim de se avaliar a cinética de perda de água. O processo de pesagem será realizado até as

amostras apresentarem peso constante. A perda de água em cada intervalo de tempo será calculada utilizando a seguinte equação (Eq. 4):

$$I (\%) = \frac{(M_s - M_i)}{M_i} \times 100 \text{ (Eq. 4)}$$

Ms: Massa da amostra seca (mg)

Mi: Massa da amostra intumescida em diferentes intervalos de tempo (mg)

A capacidade de retenção de água das amostras será avaliada utilizando centrifugação. Inicialmente as amostras serão imersas em solução tampão PBS (pH 7,4) durante 24h para que atinjam o intumescimento de equilíbrio. Posteriormente, estas serão pesadas e centrifugadas em uma centrífuga de eppendorfs, a 10.000 rpm por 5min a temperatura ambiente. As amostras serão novamente pesadas, e para obter o valor de retenção de água será utilizada a seguinte equação (Eq. 5.):

$$\text{Capacidade} = \frac{M_c}{M_i} \times 100 \text{ (Eq. 5)}$$

Mc: Massa da amostra após ser centrifugada (mg)

Mi: Massa da amostra intumescida no equilíbrio (mg)

Biodegradabilidade *in vitro*

Para estabelecer a biodegradabilidade dos diferentes grupos, serão utilizados dois meios; solução tampão PBS (pH 7,4) e solução tampão PBS (pH 7,4) suplementado com 3,0mg da enzima hialuronidase (E) (600 unidades/mg). Tubos com amostras suspensas na metade serão mantidos em repouso durante 1 semana; após este período, será efetuado a lavagem cuidadosa das amostras com água destilada. Após isso, serão secas em estufa a 50°C durante 48 h. Finalmente, as amostras serão novamente pesadas. Em seguida, retornará as amostras aos tubos de origem. As mesmas serão retiradas e pesadas nos intervalos de 2 e 3 semanas de incubação. O percentual de biodegradação das amostras será calculado utilizando a Eq. 6. Os ensaios de biodegradabilidade serão realizados em triplicada para cada grupo em cada um dos meios analisados (Da SILVA et al., 2017).

$$\% \text{ Biod} = \frac{(M_i - M_f)}{M} \times 100 \text{ (Eq. 6)}$$

M_i: Massa inicial da amostra (mg)

M_f: Massa após o período de incubação (mg).

Ensaio de compressão

Para avaliar o comportamento mecânico do hidrogel modificado com CBD, corpos de prova serão confeccionados de forma cúbica (0,6 cm) sendo previamente intumescidos em solução tampão PBS (pH 7,4) por 24 h à temperatura ambiente. Será realizado assim um ensaio de compressão, onde o limite de deformação será fixado em 95 % ou até o rompimento do corpo de prova. Os testes serão realizados a uma velocidade de 0,5 mm/s e realizados em triplicata.

Caracterização biológica *in vitro* do hidrogel com óleo de canabidiol encapsulado

Avaliação do comportamento celular e a capacidade indutora

Para avaliar o comportamento celular sobre do hidrogel modificado, será analisado a adesão celular, a viabilidade e proliferação, assim como a diferenciação óssea de células-tronco. Para esse estudo uma linhagem de células-tronco da polpa dental serão utilizadas. 3 corpos de prova por concentração de aproximadamente 10mm de diâmetro e 2mm de comprimento serão utilizados para cada grupo e óleo de CBD em cada um dos experimentos.

Células-tronco da polpa dental serão do um dente decíduo procedente de um doador, depois de haver assinado seu representante o consentimento informado. As células serão cultivadas no meio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) (Cultilab®) suplementados com soro fetal bovino (SFB) (Cultilab®) a 10%. Uma garrafa (75 cm³) de cultivo celular contendo as células será transferida para a incubadora controlada com temperatura de 37°C, 95% de umidade e 5 % de CO₂. Posteriormente, quando a subconfluência for atingida (80%) as células serão lavadas com tampão fosfato-salino (PBS) (GIBCO®), com objetivo de remover os metabólitos.

Após isso, será utilizado 5mL de tripsina/EDTA (GIBCO®) por 5 min para que ocorra a desagregação celular. Para inativação da tripsina, será utilizada a mesma quantidade de uma solução de DMEM + SFB 10%. A suspensão com as células será depositada em tubos cônicos de 15 mL e centrifugada por 5 min, sob a rotação de 1000 rpm resultando em uma força G de 180. Desta forma, a precipitação das células no fundo do tubo será realizada. O sobrenadante será removido, restando apenas o pellet celular. As células serão resuspendidas em 3 ml de DMEM + SFB 10 % e 20 µL serão removidos para contagem em câmara de Neubauer. Após a contagem, serão semeadas 5×10^4 células (800 µl de DMEM com respectiva suplementação) por poço em uma placa de 48 poços.

Ensaio de viabilidade celular

A viabilidade e proliferação celular será avaliada pelo protocolo de MTT (Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-difeniltetrazólio) do acordo a norma ISO 10993-5: 2009. As avaliações serão realizadas em dois tempos diferentes, em 24h e 48 h, de cultivo. Brevemente, as células-tronco serão cultivadas em uma placa de 96 poços (n=10 por grupo) sendo suplementadas com DMEM + SFB 10% (200 µL). A placa será incubada em condições controladas (37 °C e 5% de CO₂) por 24 h para que ocorra a adesão celular. Os corpos de prova de hidrogel serão confeccionados com dimensão de 5 mm x 1 mm e esterilizados por 1 h em radiação ultravioleta. Após isso, serão imersos em eppendorfs contendo 1 mL de DMEM/SFB 10 % e mantidos por 24 h a temperatura de 37 °C para realização dos eludatos.

Em seguida, 200µL dos eludatos serão depositados sobre as células e mantidos por 24 h e 48 h. Após o período, 0,5mg de MTT será diluído em PBS, onde serão depositas 200µL da solução em cada poço. A placa será mantida por mais 4hs em condições controladas. Após o período, o meio será aspirado e os cristais que se formarão serão suspensos em 200 µL de dimetil sulfóxido (DMSO) 10%. O DMSO permanecerá em contato com as células por 15 min e em seguida a placa será colocada por mais 5 min em um agitador (150 rpm). Os resultados serão avaliados por meio de espectrofotometria no Leitor Universal de ELISA, em um comprimento de onda de 540 nm, onde serão considerados os valores de absorbância como indicador da viabilidade celular.

Por fim, a citotoxicidade ser classificada com base na viabilidade celular relativa para controles como; não citotóxico > 90% de viabilidade celular, viabilidade celular ligeiramente citotóxica 60-90% e viabilidade celular moderadamente citotóxica 30-59%, e severamente citotóxico <30% de viabilidade celular.

Análise qualitativo da Morfologia celular

A avaliação qualitativa será feita por meio de inspeção geral da morfologia celular por contraste de fase em microscópio de luz invertido, atentando também para a presença de vacuolização, destacamento e lise celular de acordo a norma ISO 10993-5: 2009. Baseado nas alterações encontradas serão atribuídos graus de reatividade (presença e severidade de citotoxicidade), em escala crescente de 0 a 4, como se descreve na tabela 2.

Tabela 2. Classificação morfológica qualitativa da citotoxicidade.

Grau	reatividade	Condições de todas as culturas
0	nenhum	Grânulos intracitoplasmáticos discretos, sem lise celular, sem redução do crescimento celular.
1	Ligeira	Não mais de 20% das células são redondas, fixadas frouxamente e sem grânulos intracitoplasmáticos ou mostram alterações na morfologia; ocasionais células lisadas estão presentes; apenas uma ligeira inibição do crescimento observável.
2	leve	Não mais de 50% das células são redondas, desprovidas de grânulos intracitoplasmáticos, sem lise celular extensa; inibição do crescimento não superior a 50% observável.
3	Moderada	Não mais de 70% das camadas celulares contêm células arredondadas ou são lisadas; camadas de células não completamente destruídas, mas com mais de 50% de inibição de crescimento observável.
4	Severa	Destruição quase completa ou completa das camadas celulares.

Fonte: norma ISO 10993-5: 2009

Adesão celular

Para avaliar a adesão celular serão utilizados marcadores indicadores de vinculina, e observados por imuno-histoquímica. Após três dias de contato das células com os hidrogéis, os grupos e óleo do CBD serão imersos em formol para que ocorra a fixação. Os espécimes serão estendidos em lâminas de vidro onde os cortes inicialmente serão desparafinizados e reidratados e submetidos à imuno-histoquímica utilizando marcadores para vinculina. A análise descritiva do padrão de marcação imuno-histoquímica, identificação e a distribuição dos antígenos será realizada através da microscopia óptica. Os achados serão anotados individualmente e estabelecido o padrão de marcação para o antígeno pesquisado, bem como a sua

localização. Depois serão considerados em microscópio confocal para avaliar as células que ficarão aderidas no hidrogel ou no cannabidiol.

As células-tronco serão extraídas de uma de um dente decíduo de uma criança doadora, com termo de consentimento previamente assinado pelo responsável da criança. As células serão isoladas em meio Eagle modificado alfa (Gibco) (suplementado com soro fetal bovino a 10%, 20 µg/mL de ácido ascórbico e fator de crescimento básico de fibroblasto de 5 ng/mL para culturas comuns). O meio será trocado a cada 2 dias até alcançar uma confluência de 80%. Serão coletadas com tripsina a 0,25% (GIBCO), colhidas em uma concentração de $0,5 \times 10^4/\text{cm}^2$ em 0,5mL, posteriormente, serão incubadas com anticorpos monoclonaveis e levados a um citometro de fluxo Auttune© que vai caracterizar as células-tronco positivas para anticorpos eBioscience™: anti-CD73 (clone AD2) (RRID AB_2717047), anti-CD90 (clone eBio5E10 (5E10)) (RRID AB_2637318), anti-CD105 (clone SN6) (RRID AB_10392382) e negativa a anticorpos de superfície anti-CD19 (HIB19) (clone (RRID AB_1272053), anti- CD34 (clone 4H11) (RRID AB_10733282), anti-CD45 (clone 30-F11) (RRID AB_1518806).

Ensaio de diferenciação osteogênica in vitro

O ensaio *in vitro* será realizado de acordo com o estudo de VATER et al., (2011), em placas de 24 poços. Brevemente, as células serão plaqueadas em triplicata a densidade e volume de meio base: $0,5 \times 10^4/\text{cm}^2$ em 0,5mL. A indução da diferenciação em linhagem osteogênica será realizada quando as culturas atingirem a confluência de ~70% (após 24h), ~90% (após 24h) e pós-confluência (após 3h), respectivamente. Neste momento, o meio base será trocado por 0,5mL dos respectivos meios de indução com suplementos, além da suplementação comum de 1% de antibiótico e 0,1% de antifúngico. Todos os suplementos serão esterilizados por filtração em membrana de 0,2µm. O meio de indução sem suplementos específicos será utilizado como controle negativo para todas as linhagens.

As diferenciações serão mantidas em cultura osteogênica por 21 dias sendo os respectivos meios de indução e controle trocados cuidadosamente a cada 3 dias. Após 3 ciclos, as células permaneceram por mais 3 dias em meio de manutenção. Ao final de cada período de indução, os poços serão lavados com HBSS, fixados com

paraformaldeído 4% por 30min à temperatura ambiente, lavados novamente com água destilada e corados de acordo com a diferenciação. Para a diferenciação osteogênica, a coloração utilizada será vermelho de alizarina S (Sigma Aldrich, San Luis, Missouri, EUA) 2% pH 4,2 por 20 min, de modo que depósitos de cálcio na matriz óssea mineralizada pudessem ser detectados.

Avaliação no modelo animal *in vivo*

Para avaliar o comportamento *in vivo* do hidrogel, será realizado em modelo animal testando aproximadamente 5 grupos de estudo.

Calculo amostral

O cálculo do tamanho da amostra foi realizado de acordo com os resultados reportados no estudo de NAGATA et al., (2010), que analisaram a consolidação óssea em defeitos críticos cirurgicamente criados em crânios de ratos. Para o cálculo, considerou-se o delineamento experimental comparativo de cinco grupos independentes, diferença mínima detectável de nova área de osso entre os grupos de 11,5%, desvio-padrão médio esperado de 6,5%, poder do teste 0,8 e $\alpha=0,05$. O cálculo indicou que o número mínimo deveria ser de 8 ratos por grupo, sendo adicionado 2 ratos por grupo no caso de perdas pela intervenção ou doenças, $n=10$ por grupo, totalizando 50 amostras para o experimento. O software utilizado foi o SigmaPlot® 12.0.

Após a aprovação e aceite do comitê de ética em experimentação animal da Universidade Federal de Pelotas - UFPEL (CEEa-UFPEL) e de acordo com Arrive, 2013, os procedimentos cirúrgicos serão realizados em uma amostra de 50 ratos machos (*Rattus norvegicus*, *albinus Wistar*) com idade 5 a 6 meses e com peso $\pm$ 450g. Os ratos serão mantidos em uma sala com ciclo de 12 horas claro/escuro e temperatura entre 22 e 24 C. Eles serão aleatoriamente designados para cinco grupos:

- Material 1: Controle negativo, sem tratamento
- Material 2: Controle positivo, hidrogel convencional
- Material 3: Experimental 1, Hidrogel com óleo de CBD encapsulado
- Material 4: Controle comercial (Bioss Collagen®)

Material 5: Experimental 2, óleo de CBD

Procedimento cirúrgico

Os ratos serão anestesiados e será feito o protocolo de MESSORA et al., 2008 e NAGATA et al., 2010. A anestesia será intraperitoneal com 0,008mL/100g de ketamina e 0,004 mL/100 g de cloridrato de xilazina 2%. Após o preparo asséptico e tricotomia, será realizada uma incisão semilunar no couro cabeludo na região anterior do crânio, permitindo a reflexão de um retalho de espessura total em uma direção posterior. Um defeito de tamanho crítico de 5 mm de diâmetro será realizado com uma trefina usada em uma peça de mão de baixa velocidade sob irrigação salina estéril contínua. O defeito incluía uma porção da sutura sagital. Uma marca em forma de L será feita 2 mm anterior e uma 2 mm posterior às margens do defeito cirúrgico, utilizando uma pequena broca de fixação de metal duro tipo cilíndrica e um stent cirúrgico. As marcas serão preenchidas com amálgama. As feridas ósseas serão preenchidas com as amostras em uma dimensão de 5 mm x 1 mm na cavidade e a ferida será suturada. Depois dos procedimentos, os animais serão colocados em caixas individuais até a sua recuperação injetando 50mg/kg de analgésico opioide.

Morte animal programada ou eutanásia

Os animais serão eutanasiados depois de 30 dias do ensaio. A eutanásia será feita com isoflurano, por inalação em câmara fechada até a observação de parada cardiorrespiratória.

Analises de Histomorfometria

A área tratada com os tecidos circundantes será removida em bloco. Cada fragmento será guardado em formalina neutra tamponada por 48 h. Os fragmentos serão descalcificados com ácido nítrico 10% sob agitação por 3-4 semanas a temperatura ambiente. As amostras serão fixadas em blocos de parafina e processadas para realização de análise histomorfométrica. Por fim, será quantificada a quantidade de tecido ósseo formado através do auxílio de um software (Image J).

Análise Estatística

Os resultados obtidos serão analisados qualitativa e quantitativamente. Dados qualitativos serão apresentados com testes descritivos (Frequências relativas e absolutas) enquanto dados quantitativos (serão obtidos média e desvio padrão), checados quanto à normalidade de sua distribuição, para a escolha do teste estatístico apropriado. Diferenças estatísticas serão consideradas quando $p \text{ for } \leq 0.05$. Os dados serão analisados pelo software SigmaPlot® 12.0

6 Orçamento

Descrição	Custo unitário (R\$)	Custo total (R\$)
Reagentes para a síntese		
Álcool poli(vinílico) 500G	882 (1U)	882
Sulfato de condroitina 25G	1532 (1U)	1532
Epifractán 30mL 5%	568 (2U)	1136
Controle Celular		
PBS 10L	290 (1U)	290
Meio DMEM 10L	727 (1U)	727
Soro Fetal Bovino 500 mL	794 (2U)	1588
Tripsina/EDTA 100ml	204 (1U)	204
Anticorpos monoclonais	1500 (6 U)	9000
Diferenciação osteogênica		
α-MEM 2mM L-glutamina FBS 10%:		
β-glicerofosfato 10g	488 (1U)	488
Dexometasona 25 mg	249 (1U)	249
2-fosfato L- ascórbico 10g	608 (1U)	608
HBSS 100 mL	252 (1U)	252
Paraformaldeído 4%	319 (1U)	319
vermelho de alizarina S 2% pH 4,2	519 (1U)	519
Controle <i>in vivo</i>		
40 ratos wistar	25 (40)	1000
Cloridrato de Ketamina 10%	184 (2U)	368
Cloridrato de Xilazina 20%	120 (2U)	240
Tramadol 50%	20 (5U)	100
Isoflourano 100%	180 (1U)	180
Bioss Collagen	2500 (2U)	5000
TOTAL	10461	23822

* O financiamento pelos recursos próprios dos pesquisadores.

7 CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO COM ATIVIDADES E PRAZOS

Tabela 1 - Cronograma das atividades do projeto.

	2020- 2021		2021- 2022		2022- 2023	
Atividades por semestres	1°	2°	1°	2°	1°	2°
Levantamento bibliográfico e tecnológico	X	X	X	X	X	X
Aprovação do Comitê de ética (Faculdade de Odontologia-UFPEL)	X					
Aprovação do financiamento para execução do projeto e organização dos ensaios	X					
Aquisição de insumos/reagentes	X					
Formulação dos hidrogeis com óleo de Canabidiol em diferentes concentrações		X				
Desenvolvimento dos ensaios físico-mecânicos e parte dos biológicos		X				
Desenvolvimento dos ensaios biológicos dos compósitos experimentais		X				
Aprovação do Comitê de ética animal (UFPEL)			X			
Avaliação do modelo animal (Biotério -UFPEL)			X			
Análise e interpretação dos dados				X		
Redação e Submissão de artigos para publicação em periódicos de relevância internacional					X	
Relatório Final e Prestação de Contas.						X

Referências

APOSTU, Dragos et al., Cannabinoids and bone regeneration. **Drug metabolism reviews**, vol. 51, no 1, p. 65-75, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1080/03602532.2019.1574303>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/03602532.2019.1574303>. Acesso em: 15 set 2019.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução - RDC nº- 17, de 6 de maio de 2015**. Define os critérios e os procedimentos para a importação, em caráter de excepcionalidade, de produto à base de Canabidiol em associação com outros canabinóides, por pessoa física, para uso próprio, mediante prescrição de profissional legalmente habilitado, para tratamento de saúde. Brasília: AVINSA, 2015.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Nota Técnica nº 093/2015 – CPCON/GGFIS/SUCOM**. Orientações para a aquisição intermediada de produtos à base de Canabidiol em associação com outros canabinóides para pessoa física, para uso próprio, mediante prescrição de profissional legalmente habilitado, para tratamento de saúde. Brasília: AVINSA, 2015.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Voto **Nº 92/2019/QUARTA DIRETORIA/ANVISA/2019/SEI/DIRE4/ANVISA Processo nº 25351.421833/2017-76**. Retorno de vista relativamente à proposta de RDC que dispõe sobre procedimento para registro e monitoramento de medicamentos à base de Cannabis spp., seus derivados e análogos sintéticos. Brasília: AVINSA, 2019:

BAB, I. et al., Endocannabinoids and the regulation of bone metabolism. **Journal of neuroendocrinology**, vol. 20, p. 69-74, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2008.01675>. Acesso em: 30 set 2019

BORNSTEIN M, HALBRITTER S, HARNISCH H, WEBER HP, BUSER D. A retrospective analysis of patients referred for implant placement to a specialty clinic: indications, surgical procedures, and early failures. **Int J Oral Maxillofac Implants**, 23: 1109–1116, 2008. Disponível em: <https://pdfs.semanticscholar.org/493e/2d47fd29aac80fead56b2f0079bee09b87f1.pdf>. Acesso em: 12 de março 2020

BOYAJI, Shafik et al., The Role of Cannabidiol (CBD) in Chronic Pain Management: An Assessment of Current Evidence. **Current Pain and Headache Reports**, vol. 24, no 2, p. 4, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11916-020-0835-4>. Acesso em: 02 fev. 2020

BURSTEIN, Sumner. Cannabidiol (CBD) and its analogs: a review of their effects on inflammation. **Bioorganic & medicinal chemistry**, vol. 23, no 7, p. 1377-1385, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2015.01.059>. Acesso em 30 set. 2019

CALLEJAS, G. H. et al., Maternal administration of cannabidiol promotes an anti-inflammatory effect on the intestinal wall in a gastroschisis rat model. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, vol. 51, no 5, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1590/1414-431x20177132>. Disponível em

<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-879X2018000500607&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 25 nov. 2019

CORREIRA Francisco, FARIA Ricardo, FELINO Antônio. Taxa de sobrevivência dos implantes dentários em pacientes com história de doença periodontal: estudo de corte retrospectivo **Arq Odontol, Belo Horizonte**, 49(3): 103-112, jul/set 2013. DOI: 10.7308/aodontol/2013.49.3.01. Acesso em: <https://repositorioaberto.up.pt/handle/10216/90087>.

COSTA, M. et al., The endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol dysregulates the synthesis of proteins by the human syncytiotrophoblast. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, vol. 1861, no 3, p. 205-212, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2015.12.008>. Acesso em: 25 nov. 2019

CLEMENTINI M, MORLUPI A, CANULLO L, AGRESTINI C, BARLATTANI A. Success rate of dental implants inserted in horizontal and vertical guided bone regenerated areas: a systematic review. **Int J Oral Maxillofac Surg**, 41: 847–852, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijom.2012.03.016>. Disponível em: [https://www.ijoms.com/article/S0901-5027\(12\)00124-5/pdf](https://www.ijoms.com/article/S0901-5027(12)00124-5/pdf). Acesso em: 12 de março 2020

CHAPPUIS, Vivianne; ARAÚJO, Mauricio G.; BUSER, Daniel. Clinical relevance of dimensional bone and soft tissue alterations post-extraction in esthetic sites. **Periodontology** 2000, 73.1: 73-83, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1111/prd.12167>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/prd.12167>. Acesso em: 15 jan.2020

DA SILVA, Gabriela T. et al., Development, characterization and biocompatibility of chondroitin sulfate/poly (vinyl alcohol) /bovine bone powder porous biocomposite. **Materials Science and Engineering: C**, vol. 72, p. 526-535, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.11.069>. Acesso em: 25 nov. 2019

DE FARIA, S. M. et al., Effects of acute cannabidiol administration on anxiety and tremors induced by a Simulated Public Speaking Test in patients with Parkinson's disease. **Journal of Psychopharmacology**, v. 34, n. 2, p. 189–196, 2020.

DEGUCHI, M. et al., Preventable Tooth Loss in Hawai'i: The Role of Socioeconomic Status, Diabetes, and Dental Visits. **Preventing Chronic Disease**, no 14, E115, 2017. DOI: 10.5888 / pcd14.170214. Disponível em: https://www.cdc.gov/pcd/issues/2017/17_0214.htm. Acesso em: 16 set. 2019

ELGALI, I., Omar, O., DAHLIN, C., & THOMSEN, P. (2017). Guided bone regeneration: materials and biological mechanisms revisited. **European journal of oral sciences**, no 125, vol.5 315–337. doi:10.1111/eos.12364. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/eos.12364>. Acesso em: 16 set. 2019

FERREIRA-JUNIOR, Nilson C. et al., Bases biológicas para un posible efecto del cannabidiol en la enfermedad de Parkinson. **Revista Brasileña de Psiquiatria**, 2019, no AHEAD.

GOWRAN, Aoife; MCKAYED, Katey; CAMPBELL, Veronica A. The cannabinoid receptor type 1 is essential for mesenchymal stem cell survival and differentiation:

implications for bone health. **Stem cells international**, vol. 2013, ID 796715, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1155/2013/796715>. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/sci/2013/796715/>. Acesso em: 30 jun. 2019.

IDRIS, Aymen I.; RALSTON, Stuart H. Cannabinoids and bone: friend or foe? **Calcified tissue international**, 2010, vol. 87, no 4, p. 285-297. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00223-010-9378-8>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00223-010-9378-8?shared-article-renderer>. Acesso em: jun. 2019

IDRIS, Aymen I.; RALSTON, Stuart H. Role of cannabinoids in the regulation of bone remodeling. **Frontiers in endocrinology**, vol. 3, p. 136, 2012. DOI: 10.3389/fendo.2012.00136. Disponível em: https://www.research.ed.ac.uk/portal/files/8501146/Role_of_cannabinoids_in_the_regulation_of_bone_remodeling.pdf. Acesso em: jun. 2019

KAMALI, Amir et al., Cannabidiol-loaded microspheres incorporated into osteoconductive scaffold enhance mesenchymal stem cell recruitment and regeneration of critical-sized bone defects. **Materials Science and Engineering: C**, vol. 101, p. 64-75, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.03.070>. Acesso em: 30 set. 2019

KIM, Hwan D. et al., Biomimetic materials and fabrication approaches for bone tissue engineering. **Advanced healthcare materials**, vol. 6, no 23, p. 1700612, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1002/adhm.201700612>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/adhm.201700612>. Acesso em: 30 set. 2019

KLEIN, Mariana et al., Effects of cannabidiol, a Cannabis sativa constituent, on oral wound healing process in rats: Clinical and histological evaluation. **Phytotherapy research**, 2018, vol. 32, no 11, p. 2275-2281. DOI: <https://doi.org/10.1002/ptr.6165>. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/ptr.6165>. Acesso em: 30 set 2019.

KOGAN, Natalya M. et al., Cannabidiol, a major non-psychoactive cannabis constituent enhances fracture healing and stimulates lysyl hydroxylase activity in osteoblasts. **Journal of Bone and Mineral Research**, vol. 30, no 10, p. 1905-1913, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1002/jbmr.2513>. Disponível em: <https://asbmr.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jbmr.2513>. Acesso em: 18 jun. 2019

MATOS, Rafaella LA et al., O uso do canabidiol no tratamento da epilepsia. **Revista Virtual de Química**, vol. 9, no 2, p. 786-8, 2017. DOI: doi.org/10.1590/S0104-12902019180812 Disponível em: <http://static.sites.s bq.org.br/rvq.s bq.org.br/pdf/v9n2a24.pdf>. Acesso em: 18 Jan. 2020

MESSORA, M. R. et al., Bone healing in critical-size defects treated with platelet-rich plasma: a histologic and histometric study in rat calvaria. **Journal of periodontal research**, 43.2: 217-223, 2008. DOI: 10.1111/j.1600-0765.2007.01017.x. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1600-0765.2007.01017.x>. Acesso em: 19 Nov. 2019

NAGATA, M. et al., Influence of the proportion of particulate autogenous bone graft/platelet-rich plasma on bone healing in critical-size defects: An immunohistochemical analysis in rat calvaria. **Bone**, v. 45, n. 2, p. 339–345, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bone.2009.04.246>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S875632820901549X?via%3Dihub>. Acesso em: 22 nov. 2019

NAHLER, Gerhard et al., A conversion of oral cannabidiol to delta9-tetrahydrocannabinol seems not to occur in humans. **Cannabis and cannabinoid research**, vol. 2, no 1, p. 81-86 ,2017. Acesso em: 22 nov. 2019

NAPIMOGA, Marcelo H. et al., Cannabidiol decreases bone resorption by inhibiting RANK/RANKL expression and pro-inflammatory cytokines during experimental periodontitis in rats. **International immunopharmacology**, vol. 9, no 2, p. 216-222, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2008.11.010>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1567576908003469?via%3Dihub>. Acesso em: 21 Jul. 2019.

NOELKEN, Robert et al., Influence of soft tissue grafting, orofacial implant position, and angulation on facial hard and soft tissue thickness at immediately inserted and provisionalized implants in the anterior maxilla. **Clinical implant dentistry and related research**, 20.5: 674-682, 2018. DOI: 10.1111/cid.12643. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/cid.12643>. Acesso em: jan. 2020

OFEK, Orr et al., Peripheral cannabinoid receptor, CB2, regulates bone mass. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2006, vol. 103, no 3, p. 696-701. DOI: doi.org/10.1073/pnas.0504187103. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.0504187103>. Acesso em: 14 jun. 2019.

INTERNATIONAL ORGANIZATION for STANDARDIZATION. ISO 10993-5. Biological evaluation of medical devices -- Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity, 2009. 24p. Acesso em: 16 maio. 2020

OLIVEIRA, Monique Batista. A regulamentação do canabidiol no Brasil: como nasce a expertise leiga| Cannabidiol regulation in Brazil: how lay expertise is born. **Liinc em revista**, vol. 13, no 1, 2017. DOI: <https://doi.org/10.18617/liinc.v13i1.3749>. Disponível em: <https://doi.org/10.18617/liinc.v13i1.3749>. Acesso em: 16 jan. 2020.

PETERS, M. et al., Guidance for conducting systematic scoping reviews. **Int J Evid Based Healthc**. 2015. Vol. 3, no 13 p.141-146. DOI: <https://doi.org/10.1097/XEB.0000000000000050>. Acesso em: 25 Jul. 2019

PISANTI, Simona et al., Cannabidiol: State of the art and new challenges for therapeutic applications. **Pharmacology & therapeutics**, vol. 175, p. 133-150, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2017.02.041>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0163725817300657?via%3Dihub>. Acesso em: 15 jun. 2019

FUSAR-POLI, Paolo et al., Modulation of effective connectivity during emotional processing by Δ^9 -tetrahydrocannabinol and cannabidiol. **International journal of**

neuropsychopharmacology, vol. 13, no 4, p. 421-432, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1017/S1461145709990617>. Acesso em: 20 Janeiro 2020.

RAD, Maryam Masoudi et al., Fabrication and characterization of two-layered nanofibrous membrane for guided bone and tissue regeneration application. **Materials Science and Engineering: C**, vol. 80, p. 75-87, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.05.125>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493117303053?via%3Dihub>. Acesso em: 19 nov. 2019

RIBEIRO, Camila Garcez et al., Edentulismo, pérdida severa de dientes y falta de dentición funcional en ancianos: un estudio en el sur de Brasil. **Braz. Abolladura. J.**, Ribeirão Preto, vol. 27, no 3, p. 345-352, junio de 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0103-6440201600670>. Disponible en <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-64402016000300345&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 03 set. de 2019.

ROSETI, Livia et al., Scaffolds for bone tissue engineering: state of the art and new perspectives. **Materials Science and Engineering: C**, vol. 78, p. 1246-1262, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.05.017>. Acesso em: https://www.researchgate.net/publication/316781176_Scaffolds_for_Bone_Tissue_Engineering_State_of_the_art_and_new_perspectives. Acesso em: 30 nov. 2019

SCHMUHL, Ellen et al., Increase of mesenchymal stem cell migration by cannabidiol via activation of p42/44 MAPK. **Biochemical pharmacology**, vol. 87, no 3, p. 489-501, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2013.11.016>. Acesso em: 30 nov. 2019

SMITH, Marie et al., The effects of the endocannabinoid's anandamide and 2-arachidonoylglycerol on human osteoblast proliferation and differentiation. **PloS one**, vol. 10, no 9, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0136546>. Acesso em: 30 set. 2019

STEFFENS, Daniela et al., Update on the main use of biomaterials and techniques associated with tissue engineering. **Drug discovery today**, vol. 23, no 8, p. 1474-1488, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2018.03.013>. Acesso em: 26 jun. 2019.

VATER, Corina, KASTEN, Phillips, STIEHLER, Maik. Culture media for the differentiation of mesenchymal stromal cells. **Acta Biomater**, vol. 2 no 7, p.463-77, 2011. doi: 10.1016/j.actbio.2010.07.037. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2010.07.037>. Acesso em: 30 Nov. 2019.

VUOLO, Francieli et al., Cannabidiol reduces airway inflammation and fibrosis in experimental allergic asthma. **European journal of pharmacology**, vol. 843, p. 251-259, 2019. Acesso em: 30 set. 2019

WHYTE, Lauren Sarah et al., Cannabinoids and bone: endocannabinoids modulate human osteoclast function in vitro. **British journal of pharmacology**, 2012, vol. 165, no 8, p. 2584-2597. DOI: <https://dx.doi.org/10.1111%2Fj.1476-5381.2011.01519.x>. Acesso em: 30 set. 2019

ZAVANELLI, Ricardo Alexandre et al., Fatores locais e sistêmicos relacionados aos pacientes que podem afetar a osseointegração. **RGO. Revista Gaúcha de Odontologia (Online)**, 59: 133-146, 2011. Disponível em: https://pdfs.semanticscholar.org/50fc/3e68646a7225a2dd3f927989389946b19ea3.pdf?_ga=2.227941853.1338052889.1583155910-402046497.1580230383. Acesso em: 30 jan. 2020

Apêndices

Apêndice A- Comunicação via e-mail dos pesquisadores com à central de atendimento da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (AVINSA).



3 Relatório de trabalho de campo

O desenvolvimento do projeto original foi modificado tendo em vista as metodologias propostas, a natureza hidrófoba do óleo comercial de CBD utilizado, as sugestões da banca, as limitações que surgiram no decorrer da pesquisa experimental e à situação mundial originada a partir da pandemia COVID-19, pelo que a última fase da avaliação *in vivo* não conseguiu ser executada.

Foram realizados os testes pilotos das metodologias citadas no projeto inicial, no entanto, foi mais estável e fatível encapsular o óleo em forma de partículas para depois ser incluídas e fixadas num hidrogel como scaffold. Uma vez executado o estudo piloto para estabelecer a quantidade de CBD incluído nas partículas, foi realizada a capacidade de carga das partículas e o percentual a ser adicionado à os hidrogéis, 4 grupos foram criados para a executar a sua caracterização. Os grupos finais foram: Hidrogel Controle, Hidrogel + CBD (2.5, 5 e 10% em massa).

Na caracterização das micropartículas é os hidrogéis foi realizada a DRX, mas devido à natureza química das partículas e os hidrogéis sintetizados os resultados apenas determinaram que é uma sustância semicristalina e confirmaram os resultados da FTIR. Também, foi incluído um teste de porosidade nos hidrogéis para corroborar a mudança neste parâmetro pela inclusão das micropartículas e pela dificuldade de realizar as imagens de Micro- CT.

Inicialmente o teste de liberação de CBD foi proposto, mas não foi possível executar por ser o meio de liberação hidrofílico e devido à natureza hidrófoba do óleo de CBD não conseguiram se homogeneizar, os meios disponíveis para fazer o teste não funcionaram e assim não se conseguiu quantificar a real concentração do CBD pelo método inicial. Para determinar o tempo da degradação foi realizado apenas o teste de degradação *in vitro*, esperando confirmar os resultados por médio do teste *in vivo*.

Também a proposta inicial avaliaria a capacidade de absorção e retenção de líquidos, os testes foram realizados, porém somente os dados sobre a absorção de

líquidos foram utilizados nesta tese, mas os dados de retenção de líquidos não foram de interesse para a futura aplicação clínica deste biomaterial.

Outra modificação foram os testes de adesão celular e diferenciação *in vitro*, os quais não foram executados por dificuldades em relacionadas a linhagem celular, a tempo e recursos, pelo que foi possível apenas executar o teste de citotoxicidade, mas com vista na limitação do teste de liberação e ao tempo de degradação *in vitro*, o teste foi modificado positivamente com a determinação da viabilidade celular no tempo. O teste de adesão celular e diferenciação *in vitro* com expressão da fosfatase alcalina será executado no futuro.

A proposta de um estudo avaliando o comportamento *in vivo* dos hidrogéis com as partículas de CBD havia sido proposta no projeto de pesquisa. No entanto, devido à redução de capacidade de pessoas nos laboratórios, o tempo de execução dos hidrogéis e as partículas, conserto dos equipamentos durante e pós pandemia COVID-19 e a aprovação do comitê de ética animal, não foi possível executar esta parte no estudo nos prazos de tempo estabelecidos. Atualmente o projeto de pesquisa derivado está em submissão pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Pelotas (UFPel) sob número de registro 23110.045769/2022-29.

Foi incluído o efeito antibacteriano medido no tempo por médio do teste de contacto direto modificado sobre bactérias *Staphylococcus Aureus* e *Enterococcus faecalis* num modelo platônico. Com apenas resultados de inibição no *S. Aureus*.

No futuro, é esperado que os resultados de todas estas metodologias ainda não executadas possam dar continuidade à linha de pesquisa originando mais um artigo científico, mostrando uma aplicação mais específica do biomaterial sintetizado

Artigo 1

O presente artigo foi publicado na revista *open access Dentistry Journal- Fator de impacto:0.535 (2022) Q2 cites core 2,2. Qualis B1 (2017-2020)* sobre orientação do professor Rafael Ratto de Moraes.

CANNABIDIOL IN DENTISTRY: A SCOPING REVIEW

Carla David ^{1,2}, Alejandro Hernandez-Elizalde ², Andressa da Silva Barboza ², Gabriela Cardoso de Cardoso ², Mateus Bertolini Fernandes dos Santos ², Rafael Ratto de Moraes*.

1 Biopathological Research Group, Faculty of Dentistry (GIBFO), University of the Andes Mérida, Mérida 5101, Venezuela

2 Graduate Program in Dentistry, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas 96015-560, Brazil

*Author to whom correspondence should be addressed.

Prof. Rafael Ratto de Moraes

Graduate Program in Dentistry

Universidade Federal de Pelotas

Rua Gonçalves Chaves 457, sala 505

96015-560, Pelotas, RS, Brazil

Tel/Fax: +55 53 3260.2831 (rrmoraes@gmail.com, rafael.moraes@ufpel.edu.br)

ORCID: 0000-0003-1358-5928

Dent. J. 2022, 10(10), 193; <https://doi.org/10.3390/dj10100193>

Abstract

Cannabidiol (CBD) has been gaining increased attention in contemporary society but seems to have been little explored in dentistry. This scoping review mapped the scientific and technological scenarios related to the use of CBD in dentistry. Peer-reviewed publications were searched in five international databases, patents were searched in five technological platforms. In total, 11 articles and 13 patents involving CBD in dentistry-related applications were included. The countries contributing to most articles were Brazil (27.3%) and USA (18.2%). The studies involved experiments on animals (63.6%) and/or using bacteria or cells (36.4%), and no clinical study was found. Three different applications of CBD were observed: periodontal therapy (45.4%), aid for bone regeneration (27.3%), and general use in oral therapies (27.3%). Patent inventors were based in China (53.8%) or USA (46.2%). The patent claims were mainly compositions for oral care, tooth whitening, injury repair, antifungal, anti-inflammatory, and analgesic effects. A total of 76.9% of the patents were filed in association with a company. In general, research suggests that CBD has promising biological properties for applications in dentistry, whereas patents indicate that the current interest of industry relies on compositions for oral care. There appears to be extensive room available for research and technological applications of CBD in dentistry.

Keywords: plants; cannabinoids; cannabis; dental medicine; patents

1. Introduction

Endocannabinoids are naturally occurring molecules in mammals produced in the endocannabinoid system [1,2], which interact with endogenous substances (e.g., anandamide and 2-arachidonoylglycerol), phytocannabinoids (e.g., cannabidiol, tetrahydrocannabinol), or synthetic cannabinoid analogs [3]. Cannabinoids can bind to specific CB1 and CB2 receptors found in plasma membranes, nerve fibers (CB1), and tissue cells (CB2) [1]. CB1 receptors in the brain are predominantly presynaptic and responsible for regulating memory, mood, sleep, appetite, and pain by releasing neurotransmitters. CB1 receptors are also present at lower concentrations in peripheral tissues, including cardiac, testicular, muscular, hepatic, pancreatic, and adipose tissues.

CB2 receptors are probably responsible for the immunomodulatory and anti-inflammatory effects of cannabinoids and are expressed in the spleen and hematopoietic cells [2].

Cannabidiol (CBD) is a compound without psychoactive activity derived from *Cannabis sativa* plant [4]. CBD has been investigated more frequently and to a greater extent when compared with other cannabinoids in the contemporary literature [4], and has shown potential as a therapeutic agent in various physiopathological conditions or disease states [4]. Therapeutic uses of CBD have been linked to its anti-inflammatory [5], antioxidant [2], and analgesic [6] properties, including varied applications such as in bone tissue cell differentiation [3,7,8,9], neuroprotection, antiepileptic, anxiolytic, and anti-cancer agents [10]. CBD may also be used for health benefits that are not yet thoroughly studied, including stress relief, relaxation, and sleep improvement. The product can be used in edible, tincture, and vape modes.

Increasing research and development of CBD and its medical applications have been undertaken due to financial support by various private and governmental organizations in the past years. The global CBD market is expected to reach approximately USD 30 billion by 2025 [11]. CBD has a variety of potential uses in dentistry and oral medicine. Research targeting the therapeutic possibilities of CBD has been developed relative to its use in the oral cavity [12] and expression of endocannabinoid receptors in tooth, periodontal, and bone tissues [13,14], for instance. Therefore, it would appear to be promising to explore the possibilities for future research on the use of CBD, its compounds, or their synthetic analogs for dental applications. The aim of this scoping review was to map the contemporary scientific and technological scenarios related to the use and applications of CBD in dentistry at present.

2. Materials and Methods

This scoping review has been reported according to the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis Extension for Scoping Reviews guideline [15]. The study protocol was based on the framework proposed by Peters et al., (2015) [16], according to The Joanna Briggs Institute [17], and is available at <https://osf.io/yk65c/> (accessed on 10 October 2022). For the mapping, the following parameters were selected: (i) Population—articles and technological products; (ii) intervention—use of CBD

or its synthetic analogs; (iii) comparison: other substances or treatments that may have been tested (if applicable); (iv) dental and oral medicine applications, (v): articles or patents. One general question guided the review: What scientific applications and technological products based on CBD or its synthetic analogs are being used in dentistry at present?

2.1. Eligibility Criteria

The inclusion criteria consisted of in vitro or in vivo studies and patents that have evaluated or reported the use of CBD for dental applications or subjects (e.g., periodontology, oral surgery). Studies that evaluated the use of CBD alone or associated with other substances (e.g., vitamins) or biomaterials in dentistry were included. In addition, studies that evaluated other synthetic analogs (HU-308, HUF-101, fluorocannabidiol, HU-320, CBD-DMH-7-oic acid, deoxy-CBD, 11-hydroxy-CBD or O-1602) were also included. The search was restricted to documents published in English without restriction on date. Case reports, case series, pilot studies, opinion articles, letters, and conference abstracts were excluded due to the high risk of bias associated to these articles. Reviews were excluded to concentrate the analysis to original articles. Studies on the use or smoke of cannabis plants and other cannabinoids also were excluded. Patents including CBD were excluded when its application or scope of patents was not related to dentistry or oral medicine.

2.2. Information Sources and Search

The searches in literature databases were performed by two independent reviewers (CD and AE-H) and patent tools (CD and AB), with no starting date and continuing through to December 2021. The research for articles was carried out in five international databases: PubMed/MEDLINE, Scopus, Web of Science, Embase, and Cochrane Library. The search strategy was based on the MeSH terms of PubMed and the specific terms of the other databases, using the search strategies presented in Table 1. The reviewers also hand-searched the reference lists of the included articles to identify additional manuscripts. In addition, a search and analysis of patent applications was conducted via the following databases—United States Patent and Trademark Office (USPTO), Google Patents, World Intellectual Property Organization (WIPO), Espacenet (European Patent

Office, EPO), and Questel Orbit (Paris, France), which contains patent data on over 90 authorities. The search strategy is described in Table 1. Furthermore, a patent search was carried out using the following International Patent Classification codes: A61K-6/00 (preparations to dentistry), A61K-8/97 (derived to algae, fungi, lichens or plants; from derivatives thereof). The searches were conducted in December 2021.

2.3. Selection of Sources of Evidence

All records identified were imported into the EndNote program (EndNote X9; Thomson Reuters, New York, NY, USA). The independent researchers identified articles and patents by first analyzing titles and abstracts for relevance and eligibility criteria using the online system Rayyan QCRI (Hamad Bin Khalifa University, Doha, Qatar). Retrieved records were classified as included, excluded, or uncertain. Full-text versions of the included and uncertain records were selected for further eligibility screening. Discrepancies in a screening of titles/abstracts and full texts were resolved by discussion. In case of disagreement, the opinion of a third reviewer (RRM) was sought.

2.4. Data Charting, Data Items, and Analysis

We created two spreadsheets in the Microsoft Office Excel 2013 software (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, DC, USA) for data extraction from articles and patents. The spreadsheets were pilot tested by three reviewers (CD, AB, RRM) to reach a consensus on which data to collect and how. Two independent reviewers (CD, AB) extracted the main relevant data, specifically focusing on the outcomes in dentistry, and influence of CBD on the dental applications. The following items of data were collected for articles: year, first author, journal, study design, country of the corresponding author, CBD dosage, route of administration, CBD presentation, manufacturers, applications (e.g., periodontal therapy, aid for bone regeneration, oral therapy), and sponsors of the studies. From patents, the following data were collected: patent numbers, year, title, inventors, country of inventors, main claims, and company. The mapping of research findings and patents was carried out considering the application of CBD in different dental subjects.

3. Results

A total of 2312 unique articles and 989 patents were identified (Figure 1) with 2294 articles and 974 patents excluded based on title and/or abstracts. From the 18 full-text articles and 15 patents assessed for eligibility, 11 studies and 13 patents were included in the qualitative synthesis, making up a total of 24 documents included in this review.

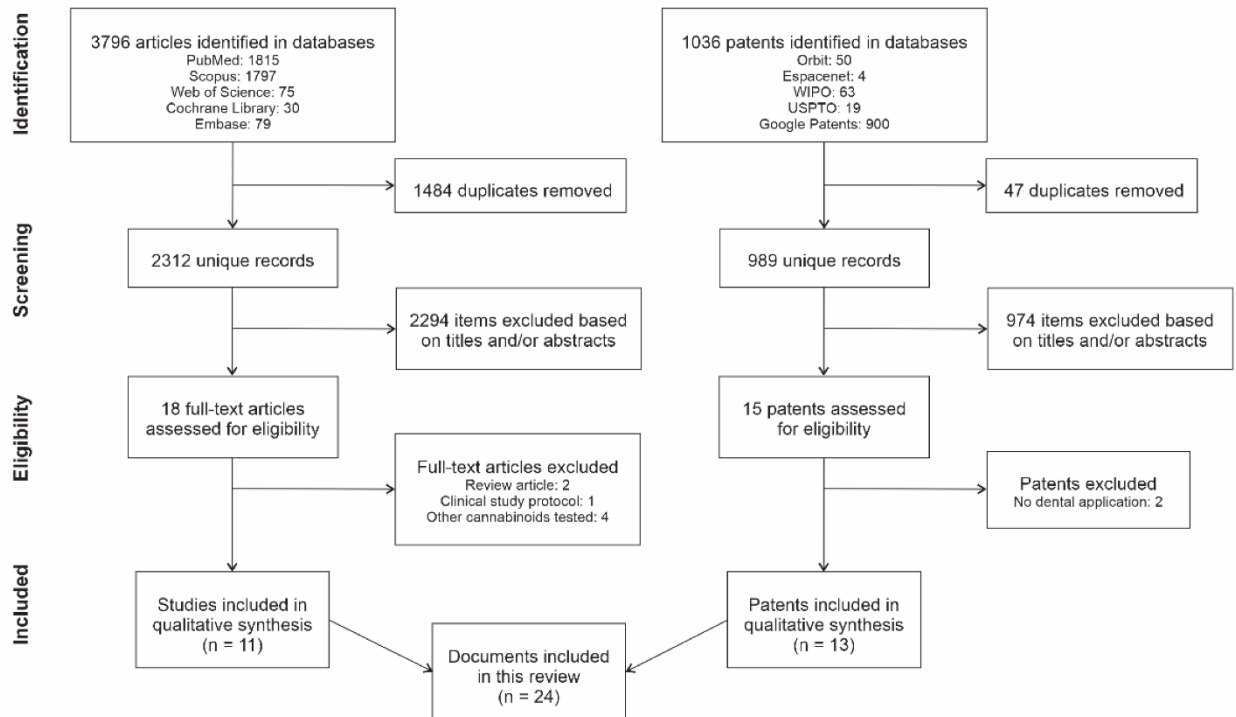


Figure 1. Flowchart of the selection process of articles and patents.

3.1. Characteristics of Studies

Characteristics of the 11 original studies included are presented in [Table 2](#). The studies were published between 2009 and 2020 in various journals, the majority of which could not be categorized as being dedicated to publishing dental science only. The countries that contributed most of the articles were Brazil (27.3%) and USA (18.2%). The studies involved experiments in animals (63.6%) and/or using bacteria or cells (36.4%), no clinical study was found. Ten studies investigated CBD and one study investigated its derivative HU-308. CBD dosages used across the studies varied widely, with 3–10 mg/kg being the most frequent range of dosage in animal studies, with intraperitoneal administration, whereas direct contact of CBD was the mode of administration in cell

studies. The presentation of CBD was mainly in the form of a powder dissolved in saline (54.5%). The most frequent manufacturers of CBD were from the USA (36.4%) and Germany (27.3%). Three different applications of CBD in dentistry were observed, namely periodontal therapy (45.4%), aid for bone regeneration processes in oral surgery (27.3%), and a general use in oral therapies (27.3%). Sponsors of the studies were either federal funding agencies, governmental authorities, or universities. We could not detect any studies that were sponsored by private companies.

3.2. Characteristics of Patents

Characteristics of the 13 patents included are shown in Table 3 [27,28,29,30,31,32,33,34,35,36,37,38,39]. The inventors were based in only two countries: China (53.8%) and USA (46.2%). One patent was published in 2014 and the others between 2017 and 2020. The main claims presented in the patents involved compositions for oral care (e.g., toothpaste, mouthwash, dental floss), tooth whitening ability, injury repair potential, antifungal and anti-inflammatory agents, analgesic effects, and even treatment of viral infections. One group of inventors and one company from China were the inventors of four patents included. A total of 76.9% of the patents were filed in association with a company.

3.3. Synthesis of Results and Summary of Evidence

The main applications of CBD and its synthetic analogs in dentistry are illustrated in Figure 2. The in vitro and in vivo studies included in this review reported that CBD may have beneficial effects as an adjunct to periodontal therapy. When HU-308, a CBD-derivative drug, was tested, the study demonstrated that the CB2 receptor played a role in the control of periodontal damage and the oral alterations it causes in the alveolar bone, gingival tissue, and salivary function [23]. CBD showed anti-inflammatory and anti-bone resorption properties [23]. Modulation of host responses by CBD was described as an interesting and alternative approach to conventional periodontal therapy [18,24]. Furthermore, CBD could promote fibrotic gingival enlargement, increase in the production of gingival fibroblasts and production of healing growth factors. It also led to a decrease in the production and activity of metalloproteinases [24]. The possibility was also observed

that CBD may have antimicrobial properties and be effective in reducing the colony count of bacterial strains of dental plaque, which could control and reduce inflammatory periodontal diseases of bacterial origin [22,25].

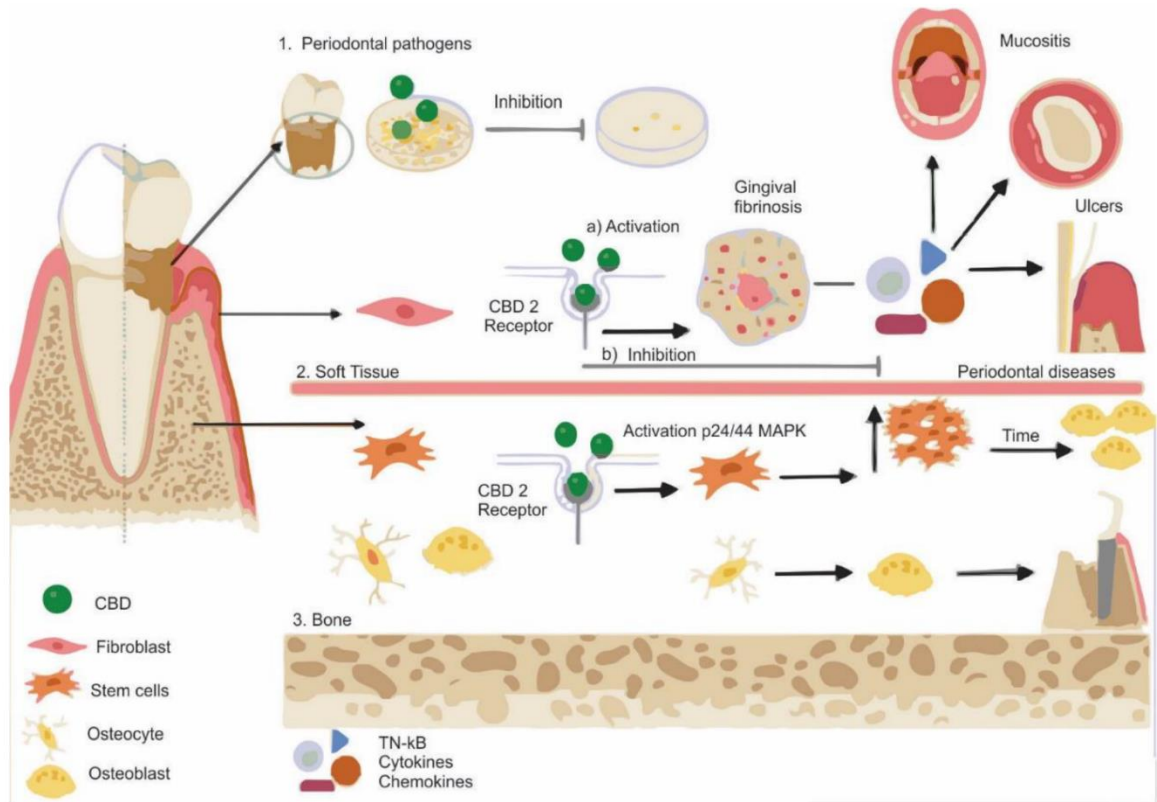


Figure 2. Applications of CBD in dentistry according to the reviewed literature. (1) CBD could reduce colonies of periodontal pathogens, showing antimicrobial properties. (2) In soft tissues, CBD could activate CB2 receptors in fibroblasts and lead to gingival fibrosis by increasing the production of gingival fibroblasts via stimulation of growth factors and decrease in matrix metalloproteinases. Simultaneously, CBD could inhibit or modulate the production of cytokines, chemokines, and pro-inflammatory growth factors, interfering with the migration of macrophages and neutrophils, generating anti-inflammatory, antioxidant, and analgesic potentials. Potential treatments include ulcers, mucositis, and as an adjunct in periodontal diseases. (3) In bone, CBD may promote the stimulation of mesenchymal cells via p42/44 mitogen-activated protein kinases (MAPK) toward the lesion site and its differentiation into osteoblasts.

The anti-inflammatory properties of CBD also made it a suitable alternative for the prevention and treatment of oral mucositis, by reducing the inflammatory process and the severity of lesions [9,19]. CBD was shown to enhance the healing process of common ulcers by reducing the number of colony counts of bacterial strains in dental plaque when compared with well-established synthetic oral care products [25]. Furthermore, CBD alone was shown to improve fracture healing by promoting the stimulation of mesenchymal cells via activation of p42/44 receptors at the lesion site and stimulating their differentiation into osteoblasts, which indicated biocompatibility and osteoinductivity [6,7]. Furthermore, mesenchymal stem cells isolated from dental tissues were capable of differentiating into osteoblasts when exposed to a low CBD dose, and a better expression of bone proteins was observed [26].

4. Discussion

This scoping review mapped the available literature and patents on the use of CBD for dentistry-related applications. Most of the peer-reviewed literature suggested that the positive effects of CBD could be attributed to its anti-inflammatory, analgesic, antimicrobial, biological, and osteoinductive properties. The patents also seemed to rely on these properties to offer technological applications of CBD in dentistry. The dental subjects mainly involved in the literature and patents reviewed were periodontology, oral medicine, and oral surgery. These subjects, the potential technological applications of CBD, and future research challenges on the topic are discussed as follows.

4.1. Periodontal Therapy

CBD has anti-inflammatory properties and was shown to be capable of reducing alveolar bone loss in induced periodontitis [18,25]. Pharmacologically, the selective activation of CBD at CB2 receptors allows therapeutic, analgesic, or anti-inflammatory effects, while they prevent the secondary effects resulting from the activation of CB1 receptors [5]. These anti-inflammatory properties manifested themselves in a similar way to that of other endogenous cannabinoids, including anandamide. Specifically, the studies demonstrated that anandamide is present and regulated during the progression of periodontal disease and is involved in the suppression of pro-inflammatory mediators. Moreover, it is possibly physiologically involved in the protection of periodontal tissues

against excess inflammation [18]. Furthermore, it can block NT-kB, a regulator of the immune and inflammatory response, normally activated by endotoxins from bacterial lipopolysaccharides, and is also capable of reducing the production of inflammatory mediators such as interleukins [5]. Effects also have been shown to involve the inhibition or modulation of the production of cytokines, chemokines, and pro-inflammatory growth factors, along with interference in macrophage and neutrophil migration and reduction of oxidative and nitrosative stress [2]. The anti-inflammatory potential of CBD, similar to that of endocannabinoids, has directly or indirectly demonstrated similar behavior at cannabinoid receptors, which could have interesting clinical implications. However, the results of another study suggested that CBD may promote increased gingival fibrosis, thereby increasing the production of gingival fibroblasts, transformative growth factor b and fibronectin with decrease in matrix metalloproteinase production and activity [24]. Low CBD concentrations have increased transforming growth factor beta levels by as much as 40% at 24 h, suggesting that CBD may promote fibrosis in this way [24]. Moreover, CBD may increase the levels of anandamide, which may promote fibrosis via CB1 or other receptors [24].

4.2. Oral Medicine

These anti-inflammatory and analgesic properties of CBD have been reported to be dose-responsive, without ideal doses having been established for a possible antioxidant and anti-inflammatory action [9,21,26]. This combination of anti-inflammatory, antioxidant, and analgesic properties of CBD may render a more potent action than classical antioxidants, which could generate a change in the production of pro-inflammatory mediators responsible for inflammatory pathologies such as oral mucositis [9]. This could make it possible to use of CBD as a potential therapy for the treatment of the symptoms of mucositis as CBD resulted in favorable epithelial changes in ulcer lesions in vivo. An important point capable of influencing this tissue response is the possible ability of CBD to induce effects on keratinocytes without showing side effects. Despite its anti-inflammatory effect, CBD did not accelerate wound healing [19]. Therefore, the influence of CBD on keratinocytes continues to be controversial and further studies are needed to investigate its effects and identify the mechanisms of action.

In an in vivo study [23], the synthetic analog HU-308 caused a reduction in alveolar bone loss and inflammatory mediators in gingival tissues, which are increased by lipopolysaccharide-induced periodontitis in the absence of treatment. The main effect is local and produced by activation of the CB2 receptors, stimulating the differentiation of osteoblast cells and mitigating osteoclastogenesis. This suggests that the signaling of the CB2 receptor produces blockade of bone loss through a direct action on bone cells and simultaneously by inhibiting the expression of pro-reabsorption cytokines [23].

CBD showed effective antimicrobial properties in the reduction of colonies of bacterial strains against oral bacteria and two biofilms [22]. High doses of CBD suppressed the growth of *Porphyromonas gingivalis* and *Filifactor alocis*, which are key components of subgingival microbiota [22]. Dental plaque is a balanced, biofilm-organized structure that contains bacteria responsible for various oral diseases such as gingivitis, periodontitis, and dental caries. The majority of the microorganisms which dental biofilms are composed of are Gram-positive bacteria and could be susceptible to the action of CBD, which showed a greater reduction in bacterial colonies when compared with other oral hygiene products [25]. However, the efficacy of CBD could vary from one individual to another due to the microbial diversity of oral biofilms [25].

4.3. Adjuncts to Oral Surgery and Traumatology

CBD has shown favorable biological and osteoinductive properties. When used alone or in combination with other substances, CBD was sufficiently effective and reliable to produce cell migration and bone differentiation [6,7,26] and exerted an impact on the promigratory activity of microglial cells through the activation of the endocannabinoid system [25]. Bone cells express cannabinoid receptors and endocannabinoid metabolizing enzymes, and cannabinoid receptors are specifically expressed in skeletal sympathetic nerve endings. Moreover, cannabinoids play an important role in regulation and remodeling of bone mass [7]. Furthermore, studies have shown that CBD increased the expression of PLOD1 gene [6,7,26], which indirectly increases the cross-linking ratio of collagen, showing an indicator of collagen maturity and potential for inducing bone protein expression and enhancing mineralization. Both actions may improve neobone formation and the biomechanical properties of bone tissue. However, there are still questions to be

answered about the selective mechanisms of the receptors in the healing and regeneration of bone.

4.4. The Scientific and Technological Scenario

In line with the recent literature on the use of CBD in dentistry, our findings also revealed an increasing interest in technology and appropriation relative to dental applications of CBD in recent years. Despite the increasing progress in filing these patents, only one patent [31] dating back to 2018 appeared simultaneously with publication of the results in a scientific study [24] in 2020. The patents deposited with the application of CBD in dentistry were mostly related to products for oral care. This area seems to offer space for exploration of CBD due to the multiplicity of potential dentistry-related applications and the increasing interest in natural products [40,41]. The incentive to the industrial exploitation of CBD in dentistry through the consolidation of policies to stimulate scientific and technological projects could result in economic growth based on research [42]. In spite of the challenges, today CBD and its synthetic analogs are seen as promising compounds in multiple areas, especially because of the low cost of these phyto-derivatives [43].

4.5. Limitations

A number of limitations relative to research and technological applications of CBD in dentistry can be cited. One limitation is the absence of clear regulations governing the supervision of the quality of CBD [40], which could lead to varied efficiency of CBD for dental applications across origins of its supply and manufacturers. The constituents of plant-derived natural products vary greatly, often due to variation in environmental conditions. Consequently, the quality and concentration of natural products depend on their geographic location, vegetation, and extraction conditions [44]. Therefore, they may contain different chemical constituents that promote their therapeutic activities. These aspects leave room for research concerning the effect of different constituents of CBD-containing solutions for dental applications. Another limitation highlighted in this review was the heterogeneity of analytical techniques used for characterizing the products. Variations in control of the source of these materials, their storage, production process,

and contamination could all be relevant factors influencing quality of products and their therapeutic results [45].

4.6. Future Challenges

The scientific articles reviewed indicated challenges to the current clinical use of CBD in dentistry and a potentially extensive field for research and products using CBD and its synthetic analogs, including:

- Studying of the behavior, dosage, and mechanisms of action of CBD used in dentistry-related clinical conditions;
- Acceptability of CBD-based treatments among dental patients;
- Standardization of the methods used for extraction of CBD and standardization of in vitro and in vivo tests with this compound [46];
- Evaluation of the cytocompatibility of CBD in order to develop safe products;
- More basic studies are needed to increase safety of CBD for use in dental patients;
- Since CBD has been approved for use in patients in many countries, clinical studies with patients are also needed in dentistry, which means that the available evidence is of low quality, low certainty, and prone to risk of bias.

5. Conclusions

Cannabidiol has been gaining increasing attention in contemporary science and society but seems to have been little explored in dentistry-related research and patents to date. Dental research evidence suggests that CBD has anti-inflammatory, analgesic, antimicrobial, biological, and osteoinductive properties for potential periodontal, oral surgery, and oral medicine applications. Patents available indicate that at present, the interest of industry relies on compositions for oral care products including toothpaste, mouthwash, and dental floss. There appears to be extensive room available for research and technological applications of CBD in dentistry, especially as far as the lack of clinical trials is concerned.

Author Contributions

Conceptualization, C.D., A.S.B., M.B.F.S. and R.R.M.; methodology, C.D., A.E.-H., A.S.B., G.C.C.; validation, C.D., A.E.-H., A.S.B., G.C.C., and R.R.M.; investigation, C.D.; and R.R.M. data curation, C.D. and R.R.M.; writing—original draft preparation, C.D., A.E.-H. and R.R.M.; writing—review and editing, C.D., A.E.-H., A.S.B., G.C.C., M.B.F.S., R.R.M. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding

This study was partially supported by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior—(CAPES), Brazil—Finance Code 001.

Data Availability Statement

The data presented in this study are openly available in Open Science Framework at <https://doi.org/10.17605/OSF.IO/YK65C> (accessed on 10 October 2022).

Conflicts of Interest

The authors declare no conflict of interest.

References

1. Rossi, F.; Siniscalco, D.; Luongo, L.; De Petrocellis, L.; Bellini, G.; Petrosino, S.; Torella, M.; Santoro, C.; Nobili, B.; Perrotta, S.; et al., The endovanilloid/endocannabinoid system in human osteoclasts: Possible involvement in bone formation and resorption. *Bone* **2009**, *44*, 476–484. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Pisanti, S.; Malfitano, A.M.; Ciaglia, E.; Lamberti, A.; Ranieri, R.; Cuomo, G.; Abate, M.; Faggiana, G.; Proto, M.C.; Fiore, D.; et al., Cannabidiol: State of the art and new challenges for therapeutic applications. *Pharmacol. Ther.* **2017**, *175*, 133–150. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Apostu, D.; Lucaciu, O.; Mester, A.; Benea, H.; Oltean-Dan, D.; Onisor, F.; Baciut, M.; Bran, S. Cannabinoids and bone regeneration. *Drug Metab. Rev.* **2019**, *51*, 65–75. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
4. Amin, M.R.; Ali, D.W. Pharmacology of Medical Cannabis. *Adv. Exp. Med. Biol.* **2019**, *1162*, 151–165. [[Google Scholar](#)]
5. Burstein, S. Cannabidiol (CBD) and its analogs: A review of their effects on inflammation. *Bioorg. Med. Chem.* **2015**, *23*, 1377–1385. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Pavanini, S.; Lauriola, S.; Mottola, A.; Cocchi, R. Il sistema endocannabinoide: Attuali conoscenze e potenziali applicazioni in odontostomatologia. *Ital. Oral Surg.* **2011**, *10*, 66–86. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
7. Kamali, A.; Oryan, A.; Hosseini, S.; Ghanian, M.H.; Alizadeh, M.; Eslaminejad, M.B.; Baharvand, H. Cannabidiol-loaded microspheres incorporated into osteoconductive scaffold enhance mesenchymal stem cell recruitment and regeneration of critical-sized bone defects. *Mater. Sci. Eng. C* **2019**, *101*, 64–75. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
8. Kogan, N.M.; Melamed, E.; Wasserman, E.; Raphael, B.; Breuer, A.; Stok, K.S.; Sondergaard, R.; Escudero, A.V.; Baraghithy, S.; Attar-Namdar, M.; et al., Cannabidiol, a major non-psychoactive cannabis constituent enhances fracture healing and stimulates lysyl hydroxylase activity in osteoblasts. *J. Bone Miner. Res.* **2015**, *30*, 1905–1913. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

9. Whyte, L.S.; Ford, L.; Ridge, S.; Cameron, G.; Rogers, M.; Ross, R. Cannabinoids and bone: Endocannabinoids modulate human osteoclast function in vitro. *Br. J. Pharmacol.* **2012**, *165*, 2584–2597. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
10. Jung, B.; Lee, J.K.; Kim, J.; Kang, E.K.; Han, S.Y.; Lee, H.Y.; Choi, I.S. Synthetic strategies for (-)-cannabidiol and its structural analogs. *Chem. Asian J.* **2019**, *14*, 3749–3762. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
11. Technavio. Cannabidiol Market by Source and Geography-Forecast and Analysis 2021-025. 27 October 2021. Available online: <https://www.technavio.com/report/cbd-oil-market-industry-analysis> (accessed on 14 December 2021).
12. Cuba, L.F.; Salum, F.G.; Guimarães, F.S.; Cherubini, K.; Borghetti, R.L.; de Figueiredo, M.A. Cannabidiol on 5-FU-induced oral mucositis in mice. *Oral Dis.* **2020**, *26*, 1483–1493. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Konermann, A.; Jäger, A.; Held, S.A.; Brossart, P.; Schmöle, A. In vivo and in vitro identification of endocannabinoid signaling in periodontal tissues and their potential role in local pathophysiology. *Cell. Mol. Neurobiol.* **2017**, *37*, 1511–1520. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Miyashita, K.; Oyama, T.; Sakuta, T.; Tokuda, M.; Torii, M. Anandamide induces matrix metalloproteinase-2 production through cannabinoid-1 receptor and transient receptor potential vanilloid-1 in human dental pulp cells in culture. *J. Endod.* **2012**, *38*, 786–790. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Tricco, A.C.; Lillie, E.; Zarin, W.; O'Brien, K.K.; Colquhoun, H.; Levac, D.; Moher, D.; Peters, M.D.J.; Horsley, T.; Weeks, L.; et al., PRISMA extension for scoping reviews (PRISMA-ScR): Checklist and explanation. *Ann. Intern. Med.* **2018**, *169*, 467–473. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
16. Peters, M.D.; Godfrey, C.M.; Khalil, H.; McInerney, P.; Parker, D.; Soares, C.B. Guidance for conducting systematic scoping reviews. *Int. J. Evid. Based Healthc.* **2015**, *13*, 141–146. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
17. Levac, D.; Colquhoun, H.; O'Brien, K.K. Scoping studies: Advancing the methodology. *Implement. Sci.* **2010**, *5*, 69. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]

18. Napimoga, M.H.; Benatti, B.B.; Lima, F.O.; Alves, P.M.; Campos, A.C.; Pena-Dos-Santos, D.R.; Severino, F.P.; Cunha, F.Q.; Guimarães, F.S. Cannabidiol decreases bone resorption by inhibiting RANK/RANKL expression and pro-inflammatory cytokines during experimental periodontitis in rats. *Int. Immunopharmacol.* **2009**, *9*, 216–222. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
19. Klein, M.; de Quadros De Bortolli, J.; Guimarães, F.S.; Salum, F.G.; Cherubini, K.; de Figueiredo, M.A. Effects of cannabidiol, a Cannabis sativa constituent, on oral wound healing process in rats: Clinical and histological evaluation. *Phytother. Res.* **2018**, *32*, 2275–2281. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
20. Cuba, L.F.; Salum, F.; Cherubini, K.; Figueiredo, M. Cannabidiol: An alternative therapeutic agent for oral mucositis? *J. Clin. Pharm. Ther.* **2017**, *42*, 245–250. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
21. Scionti, D.; Diomede, F.; Marchisio, M.; Grassi, G.; Pollastro, F.; Piattelli, A.; Piattelli, A.; Bramanti, P.; Mazzon, E.; Trubiani, O. Cannabidiol modulates the immunophenotype and inhibits the activation of the inflammasome in human gingival mesenchymal stem cells. *Front. Physiol.* **2016**, *7*, 559. [[Google Scholar](#)]
22. Gu, Z.; Singh, S.; Niyogi, R.G.; Lamont, G.J.; Wang, H.; Lamont, R.J.; Scott, D.A. Marijuana-derived cannabinoids trigger a CB2/PI3K axis of suppression of the innate response to oral pathogens. *Front. Immunol.* **2019**, *10*, 2288. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Ossola, C.A.; Surkin, P.N.; Mohn, C.E.; Elverdin, J.C.; Fernández-Solari, J. Anti-inflammatory and osteoprotective effects of cannabinoid-2 receptor agonist HU-308 in a rat model of lipopolysaccharide-induced periodontitis. *J. Periodontol.* **2016**, *87*, 725–734. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Rawal, S.; Dabbous, M.K.; Tipton, D. Effect of cannabidiol on human gingival fibroblast extracellular matrix metabolism: MMP production and activity, and production of fibronectin and transforming growth factor β . *J. Periodontal Res.* **2012**, *47*, 320–329. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Stahl, V.; Vasudevan, K. Comparison of efficacy of cannabinoids versus commercial oral care products in reducing bacterial content from dental plaque: A preliminary observation. *Cureus* **2020**, *12*, e6809. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]

26. Petrescu, N.B.; Jurj, A.; Sorițău, O.; Lucaciu, O.P.; Dirzu, N.; Raduly, L.; Berindan-Neagoe, I.; Cenariu, M.; Boșca, B.A.; Campian, R.S.; et al., Cannabidiol and vitamin D3 impact on osteogenic differentiation of human dental mesenchymal stem cells. *Medicina* **2020**, *56*, 607. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
27. Anastassov, G.; Lekhram, C. Oral Care Composition Comprising Cannabinoids. U.S. Patent US20190076349, US10172786, EP3233021, EP3233021, WO2016/100516, US20160166498, 15 December 2014. [[Google Scholar](#)]
28. Ke, Z.; Xin, T.; Chaohui, Y.; Meng, L.; Tanran, C.; Qian, J. Use of the Tooth Whitening CBD. China Patent CN109939012, 12 December 2017. [[Google Scholar](#)]
29. Ke, Z.; Xin, T.; Chaohui, Y.; Meng, L.; Tanran, C.; Qian, J. Composition Comprising a Cannabinoid Toothpaste and its Preparation Method. China Patent CN109939011, 20 December 2017. [[Google Scholar](#)]
30. Curatola, G.P. Oral Care Formulations and Methods for Use. U.S. Patent WO2019/055420, US20190076343, 14 September 2017. [[Google Scholar](#)]
31. Stahl, V. Cannabis and Derivatives Thereof for the Treatment of Pain and Inflammation Related with Dental Pulp and Bone Regeneration Related to Dental Jaw Bone Defects. U.S. Patent WO2019030762A2, EP3664795A2, US20200222361A1, 8 September 2018. [[Google Scholar](#)]
32. Ke, Z.; Xin, T.; Zhaohui, Y.; Meng, L.; Calm, C.; Qian, J. A kind of Toothpaste and Preparation Method Thereof Containing Cannabinoid. China Patent CN109939011A, 28 June 2019. [[Google Scholar](#)]
33. Ke, Z.; Xin, T.; Zhaohui, Y.; Meng, L.; Calm, C.; Qian, J. Application of the Cannabidiol in Tooth Whitening. China Patent CN109939012A, 28 June 2019. [[Google Scholar](#)]
34. Yunpeng, L.; Shuangqing, Z.; Zhipeng, L. A Kind of Toothpaste and Preparation Method Thereof with Sterilization, Anti-inflammatory and Analgesic Efficacy. China Patent CN109925246A, 25 June 2019. [[Google Scholar](#)]
35. Tumey, D.M.; Panahi, H. Cannabinoid-Infused Post-Operative Dental Dressing. U.S. Patent US20200163746A1, 6 November 2019. [[Google Scholar](#)]

36. Zeitouni, D.B.; Eyal, A.M. Dental Care Cannabis Device and Use Thereof. U.S. Patent WO2019239357A1, 12 June 2019. [[Google Scholar](#)]
37. Haiyan, X.; Wei, H.; Meilian, X.; Zhijiang, H.; Xiao, K.; Xiao, H.; Lingyu, X. Cannabinoid-Containing Functional Toothpaste. ChinaPatent. CN111671698A, 5 August 2019. [[Google Scholar](#)]
38. Qi, C.; Fengsha, X.; Lianmengm, G.; Tanran, C.; Ruyan, L.; Qingzhong, L. Oral Care Composition and Application Thereof. China Patent CN111973480A, 30 December 2019. [[Google Scholar](#)]
39. Crisler, M.; Diponio, E.; Kennedy, P.J. Compositions for Preventing and Treating Viral Infections. U.S. Patent WO2020257588A1, 19 June 2020. [[Google Scholar](#)]
40. Koturbash, I.; MacKay, D. *Cannabidiol and other Cannabinoids: From Toxicology and Pharmacology to the Development of a Regulatory Pathway*; Taylor & Francis: Abingdon, UK, 2020. [[Google Scholar](#)]
41. Dick, T.N.; Marques, L.C.; Lopes, A.L.; Candreva, M.S.; Santos, L.R.; Picciani, B.L. Phytotherapy in dentistry: A literature review based on clinical data. *Eur. J. Med. Plants*. **2020**, 1–13. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
42. Park, H.; Kim, K.; Choi, S.; Yoon, J. A patent intelligence system for strategic technology planning. *Expert Syst. Appl.* **2013**, *40*, 2373–2390. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
43. Nelson, K.M.; Bisson, J.; Singh, G.; Graham, J.G.; Chen, S.N.; Friesen, J.B.; Dahlin, J.L.; Niemitz, M.; Walters, M.A.; Pauli, G.F. The essential medicinal chemistry of cannabidiol (CBD). *J. Med. Chem.* **2020**, *63*, 12137–12155. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
44. Bernardini, S.; Tiezzi, A.; Laghezza Masci, V.; Ovidi, E. Natural products for human health: An historical overview of the drug discovery approaches. *Nat. Prod. Res.* **2018**, *32*, 1926–1950. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
45. Yau, W.P.; Goh, C.H.; Koh, H.L. Quality control and quality assurance of phytomedicines: Key considerations, methods, and analytical challenges. In *Phytotherapies: Efficacy, Safety, and Regulation*; Wiley: Hoboken, NJ, USA, 2015. [[Google Scholar](#)]

46. Das, K.; Tiwari, R.; Shrivastava, D. Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: Current methods and future trends. *J. Med. Plants Res.* **2010**, *4*, 104–111. [[Google Scholar](#)]

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

© 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Table 1. Search strategy used in the different databases.

PubMed/MEDLINE	(THC) OR (Tetrahydrocannab) OR (Dronabin) OR (Cannab) OR (Phytocannab) OR (Marijuana) OR (Synthetic cannab) OR (Cannabidiol) AND (Bone and Bones [Mesh] OR (Bone and Bones) OR (Bones and Bone Tissue) OR (Bones and Bone) OR (Bone Tissue) OR (Bone Tissues) OR (Tissue, Bone) OR (Tissues, Bone) OR (Bony Apophyses) OR (Apophyses, Bony) OR (Bony Apophysis) AND (Dentistry) OR (Implants, Dental) OR (Dental Implant) OR (Implant, Dental) OR (dental Pain) OR (anti-inflammatory) OR (Pulp, Dental) OR (Pulps, Dental) OR (Dental Pulps) OR (Regeneration, Periodontal Guided Tissue) OR (Guided Periodontal Tissue Regeneration) OR (Periodontal Guided Tissue Regeneration) OR (Bone reparation)
Scopus	ALL ("THC" OR "Tetrahydrocannab" OR "Dronabin" OR "Cannab" OR "Phytocannab" OR "Synthetic cannab" OR "Cannabidiol" AND ("Bone and Bones" OR "Bone and Bones" OR "Bones and Bone Tissue" OR "Bones and Bone" OR "Bone Tissue" OR "Bone Tissues" OR "Tissue, Bone" OR "Tissues, Bone" OR "Bony Apophyses" OR "Apophyses, Bony" OR "Bony Apophysis") AND ("Dentistry" OR "Implants, Dental" OR "Dental Implant" OR "Implant, Dental" OR "dental Pain" OR "anti-inflammatory" OR "Pulp, Dental" OR "Pulps, Dental" OR "Dental Pulps" OR "Regeneration, Periodontal Guided Tissue" OR "Guided Periodontal Tissue Regeneration" OR "Periodontal Guided Tissue Regeneration" OR "Bone reparation")
Web of Science	TS = (THC) OR (Tetrahydrocannab *) OR (Dronabin *) OR (Cannab *) OR (Phytocannab *) OR (Marijuana *) OR (Synthetic cannab *) AND (Dentistry) OR (Implants, Dental) OR (Dental Implant) OR (Implant, Dental) OR (dental Pain) OR (anti inflammatory) OR (Pulp, Dental) OR (Pulps, Dental) OR (Dental Pulps) OR (Regeneration, Periodontal Guided Tissue) OR (Guided Periodontal Tissue Regeneration) OR (Periodontal Guided Tissue Regeneration) OR (Bone reparation)
Cochrane Library	(THC) OR (Tetrahydrocannab) OR (Dronabin) OR (Cannab) OR (Phytocannab) OR (Marijuana) OR (Synthetic cannab) OR (Cannabidiol) AND (Bone and Bones) [Mesh] OR (Bone and Bones) OR (Bones and Bone Tissue) OR (Bones and Bone) OR (Bone Tissue) OR (Bone Tissues) OR (Tissue, Bone) OR (Tissues, Bone) OR (Bony Apophyses) OR (Apophyses, Bony) OR (Bony Apophysis) AND (Dentistry) OR (Implants, Dental) OR (Dental Implant) OR (Implant, Dental) OR (dental Pain) OR (anti-inflammatory) OR (Pulp, Dental) OR (Pulps, Dental) OR (Dental Pulps) OR (Regeneration, Periodontal Guided Tissue) OR (Guided Periodontal Tissue Regeneration) OR (Periodontal Guided Tissue Regeneration) OR (Bone reparation)
Embase	(THC) OR (Tetrahydrocannab) OR (Dronabin) OR (Cannab) OR (Phytocannab) OR (Marijuana) OR (Synthetic cannab) OR (Cannabidiol) AND (Bone and Bones) [Mesh] OR (Bone and Bones) OR (Bones and Bone Tissue) OR (Bones and Bone) OR (Bone Tissue) OR (Bone Tissues) OR (Tissue, Bone) OR (Tissues, Bone) OR (Bony Apophyses) OR (Apophyses, Bony) OR (Bony Apophysis) AND (Dentistry) OR (Implants, Dental) OR (Dental Implant) OR (Implant, Dental) OR (dental Pain) OR (anti inflammatory) OR (Pulp, Dental) OR (Pulps, Dental) OR (Dental Pulps) OR (Regeneration, Periodontal Guided Tissue) OR (Guided Periodontal Tissue Regeneration) OR (Periodontal Guided Tissue Regeneration) OR (Bone reparation)

Orbit	THC OR Tetrahydrocannab OR Dronabin OR Cannab OR Endocannab OR Phytocannab OR Marijuana OR Synthetic cannab OR Cannabidiol OR Endocannabinoide AND "Bone and Bones OR Bones and Bone Tissue OR Bones and Bone OR Bone Tissue OR Bone Tissues OR Tissue, Bone OR Tissues, Bone OR "Bony Apophyses OR Apophyses, Bony OR Bony Apophysis OR Dentistry OR Implants, Dental OR Dental Implant OR Implant, Dental OR dental Pain OR anti-inflammatory OR Pulp, Dental OR Pulps, Dental OR Dental Pulps OR Regeneration, Periodontal Guided Tissue OR Guided Periodontal Tissue Regeneration OR Periodontal Guided Tissue Regeneration or Bone reparation
Google patents	THC OR Tetrahydrocannab OR Dronabin OR Cannab OR Endocannab OR Phytocannab OR Marijuana OR Synthetic cannab OR Cannabidiol OR Endocannabinoide AND "Bone and Bones OR Bones and Bone Tissue OR Bones and Bone OR Bone Tissue OR Bone Tissues OR Tissue, Bone OR Tissues, Bone OR "Bony Apophyses OR Apophyses, Bony OR Bony Apophysis OR Dentistry OR Implants, Dental OR Dental Implant OR Implant, Dental OR dental Pain OR anti-inflammatory OR Pulp, Dental OR Pulps, Dental OR Dental Pulps OR Regeneration, Periodontal Guided Tissue OR Guided Periodontal Tissue Regeneration OR Periodontal Guided Tissue Regeneration or Bone reparation
USPTO	THC OR Tetrahydrocannab OR Dronabin OR Cannab OR Endocannab OR Phytocannab OR Marijuana OR Synthetic cannab OR Cannabidiol OR Endocannabinoide AND "Bone and Bones OR Bones and Bone Tissue OR Bones and Bone OR Bone Tissue OR Bone Tissues OR Tissue, Bone OR Tissues, Bone OR "Bony Apophyses OR Apophyses, Bony OR Bony Apophysis OR Dentistry OR Implants, Dental OR Dental Implant OR Implant, Dental OR dental Pain OR anti-inflammatory OR Pulp, Dental OR Pulps, Dental OR Dental Pulps OR Regeneration, Periodontal Guided Tissue OR Guided Periodontal Tissue Regeneration OR Periodontal Guided Tissue Regeneration or Bone reparation
WIPO	THC OR Tetrahydrocannab OR Dronabin OR Cannab OR Endocannab OR Phytocannab OR Marijuana OR Synthetic cannab OR Cannabidiol OR Endocannabinoide AND "Bone and Bones OR Bones and Bone Tissue OR Bones and Bone OR Bone Tissue OR Bone Tissues OR Tissue, Bone OR Tissues, Bone OR "Bony Apophyses OR Apophyses, Bony OR Bony Apophysis OR Dentistry OR Implants, Dental OR Dental Implant OR Implant, Dental OR dental Pain OR anti-inflammatory OR Pulp, Dental OR Pulps, Dental OR Dental Pulps OR Regeneration, Periodontal Guided Tissue OR Guided Periodontal Tissue Regeneration OR Periodontal Guided Tissue Regeneration or Bone reparation
Espacenet	THC OR Tetrahydrocannab OR Dronabin OR Cannab OR Endocannab OR Phytocannab OR Marijuana OR Synthetic cannab OR Cannabidiol OR Endocannabinoide AND "Bone and Bones OR Bones and Bone Tissue OR Bones and Bone OR Bone Tissue OR Bone Tissues OR Tissue, Bone OR Tissues, Bone OR "Bony Apophyses OR Apophyses, Bony OR Bony Apophysis OR Dentistry OR Implants, Dental OR Dental Implant OR Implant, Dental OR dental Pain OR anti-inflammatory OR Pulp, Dental OR Pulps, Dental OR Dental Pulps OR Regeneration, Periodontal Guided Tissue OR Guided Periodontal Tissue Regeneration OR Periodontal Guided Tissue Regeneration or Bone reparation

*: The asterisk is used for searching terms with other variations at the end of the word.

Table 2. Characteristics of the original articles included, n = 11.

First author	Journal	Country	Study desing	CBD/ analogs	Dosage	Administration	Presentation	Manufacturer	Main Application	Sponsorship
Napimoga et al., [18]	Int. Immunopharmacol.	Brazil	Animal	CBD	1 mg/kg	Injected i.p	CBD powder dissolved in 2% polysorbate 20 /Tween 80-in saline.	THC Pharm, Germany	Periodontical therapy	CAPES and PAPE-UNIUBE-Brazil.
Klein et al., [19]	Phytother Res	Brazil	Animal	CBD	5 -10 mg/kg	Injected i.p	CBD powder dissolved in 2% polysorbate 20/ Tween 80-in saline.	THC Pharm, Germany	Oral therapy	CAPES and PUCRS- Brazil
Kogan et al., [8]	J Bone Miner Res	Israel	Animal	CBD	5 mg/kg	Injected i.p	CBD powder dissolved in ethanol/emulphor/saline	MAX-IV laboratory, Sweden	Aid for bone regeneration	NIH 9789 (R. Me., I.B.), and Israel Anti=Drug Authority-Israel
Kamali et al., [7]	Material sciences	Iran	Animal	CBD	30 mg/kg	Direct contact	CBD powder dissolved in 2% polysorbate 20/ Tween 80-in saline.	Tocris company, USA	Aid for bone egeneration	Shiraz University, Shiraz, Royan Institute, and the Iran National Science Foundation, Tehran, Iran
Cuba et al., [20]	Oral Diseases	Brazil	Animal	CBD	3, 10 e 30 mg/kg	Injected i.p	CBD powder dissolved in Tween 80- in saline	THC Pharm, Germany	Oral therapy	CAPES and – PUCRS- Brazil

Scionti et al., [21]	Front Physiol.	Italy	Animal	CBD	10 mg/kg	NS	Pure CBD (>99%)	Greenhouse cultivation at CREA-CIN, Italy	Periodontical therapy	Health Ministry to IRCCS Centro Neurolesi "Bonino Pulejo"-Italy
Gu et al., [22]	Front. Immunol	USA	Animal	CBD	10 mg/kg	NS	NS	Cayman Chemical Co. USA	Periodontical therapy	U.S. Department of Health and Human Services (National Institute of Dental and Craniofacial Research) USA
Ossola et al., [23]	Journal of Periodontology	Argentina	Animal	HU-308	200 µl per tooth	Topical	HU-308 powder dissolved 100% ethanol/saline.	Tocris company, USA	Periodontical therapy	University of Buenos Aires, Argentina and (CONICET), Argentina
Rawal et al., [24]	J Periodontal Res	USA	Cells	CBD	0,01-30 µM	Direct contact	CBD powder dissolved in methanol	Sigma-Aldrich USA	Periodontical therapy	University of Tennessee (College of Dentistry) USA
Stanl et al., [25]	Cureus	Belgium	Cells/Bacterias	CBD	NS	Direct contact	NS	NS	Oral therapy	NS
Petrescu et al., [26]	Medicina	Romania	Cells	CBD	0,75 µM	Direct contact	NS	NS	Aid for bone regeneration	CNCS-UEFISCDI, PN-III-P2-2.1-PED-2019-3664 (PRIM_TIS)

Abbreviations: i.p: intraperitoneal, NS: not specified, polysorbate 20: polyoxyethylenes orbitan monooleate, CAPES: Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel - Brazil, CONICET: The National Council of Scientific and Technical Research-Argentina, PUCRS: Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul.

Table 3. Characteristics of the patents included, n = 13.

Patent Number(s)	Country	Year	Title	Main Claims	Inventors	Company
US20190076349 US10172786 EP3233021 EP3233021 WO2016/100516 US20160166498	USA	2014	Oral care composition comprising cannabinoids	Toothpaste, tooth powder, or mouthwash solution	George Anastassov, Lekhram Changoer	Axim Biotechnologies
CN109939012	China	2017	Use of the tooth whitening CBD	Toothpaste, dentifrice, mouthwash, gel, gum or film-forming agent for tooth whitening	Zhang Ke, Tan Xin, Yu Zhaohui, Lian Meng, Chang Tanran, Jin Qian	Han Yi Biotechnology
CN109939011	China	2017	Composition comprising a cannabinoid toothpaste and its preparation method	Toothpaste with oral injury repair potential	Zhang Ke, Tan Xin, Yu Zhaohui, Lian Meng, Chang Tanran, Jin Qian	Han Yi Biotechnology
WO2019/055420 US20190076343	USA	2017	Oral care formulations and methods for use	Toothpaste, mouthwash, chewing gum, lozenge, coated interdental device, and coated dental floss as oral care products	Gerald Curatola	NS
WO2019030762A2 EP3664795A2 US20200222361A1	USA	2018	Cannabis and derivatives thereof for the treatment of pain and inflammation related with dental pulp and bone regeneration related to dental jaw bone defects	Composition for treating dental pulp inflammation/infection and bone defects	Veronica Stahl	CannIBite
CN109939011A	China	2019	A kind of toothpaste and preparation method thereof containing cannabinoid	Toothpaste with oral injury repair potential	Zhang Ke, Tan Xin, Yu Zhaohui, Lian Meng, Chang Tanran, Jin Qian	Han Yi Biotechnology

CN109939012A	China	2019	Application of the cannabidiol in tooth whitening	Tooth whitening product	Zhang Ke, Tan Xin, Yu Zhaohui, Lian Meng, Chang Tanran, Jin Qian	Han Yi Biotechnology
CN109925246A	China	2019	A kind of toothpaste and preparation method thereof with sterilization, anti-inflammatory, and analgesic efficacy	Toothpaste	Luan Yunpeng, Zheng Shuangqing, Li Zhipeng	NS
US20200163746A1	USA	2019	Cannabinoid-infused post-operative dental dressing	Dental dressing pouch for an oral surgical site	David Tumey, Harry Panahi	NS
WO2019239357A1	USA	2019	Dental care cannabis device and use thereof	Device for topical administration	Dana Zeitouni, Aharon M. Eyal	Buzzelet Development and Technologies
CN111671698A	China	2019	Cannabinoid-containing functional toothpaste	Toothpaste with antifungal, anti-inflammatory, analgesic, and neuroprotector effects	Xu Haiyan, He Wei, Xia Meilian, He Zhijiang, Kite Xiao, Xiao Hong, Xie Lingyu	Jiangxi Caoshanhu Oral Care Products
CN111973480A	China	2019	Oral care composition and application thereof	Toothpaste, dentifrice, mouthwash, oral spray, oral patch, chewing gum or buccal tablet for oral hygiene	Chen Qi, Xiao Fengsha, Gull Lianmeng, Chang Tanran, Li Ruyan, Li Qingzhong	Yunnan Hanmeng Pharmaceutical
WO2020257588A1	USA	2020	Compositions for preventing and treating viral infections	Composition for treating viral infections	Maria Crisler, Emma Diponio, Philip Kennedy	Shaman Naturals

Abbreviations: i.p: intraperitoneal, NS: not specified.

Artigo 2

Synthesis and characterization of cannabidiol-containing microparticles and application in hydrogels for biomedical use¹

Carla David ^{1,2}, Jaqueline F. de Souza ³, Adriana F. Silva ², Guillermo Grazioli ⁴, Andressa Barbosa ², Rafael G. Lund ², André Fajardo ³, Rafael R. Moraes ²

¹ Biopathological Research Group, Faculty of Dentistry (GIBFO), University of the Andes, Mérida, Venezuela

² Graduate Program in Dentistry, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Brazil

³ Laboratory of Technology and Development of Composites and Polymeric Materials – LaCoPol, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Brazil

⁴ Department of Dental Materials, University of the Republic, Montevideo, Uruguay

Corresponding author:

Prof. Rafael R. Moraes

Graduate Program in Dentistry, Universidade Federal de Pelotas

Rua Gonçalves Chaves 457, 96015-560, Pelotas, RS, Brazil

Tel/Fax: +55 53 32602831 (rafael.moraes@ufpel.edu.br)

ORCID: 0000-0003-1358-5928

¹ O seguinte artigo foi formatado e será submetido à apreciação pelo periódico *Journal Of Biomedical Materials Research Part A- Fator de impacto: 4.854 (2021) Qualis A1*. O estudo foi desenvolvido em parceria com o Laboratório de Tecnologia e Desenvolvimento de Compósitos e Materiais Poliméricos LaCoPol, sob a orientação do professor Rafael Ratto de Moraes e a co-orientação do prof. Dr. André Fajardo.¹

Abstract

Cannabidiol (CBD) is a non-psychotropic phytocannabinoid, highly lipophilic, with several properties applicable in regenerative processes. Objective: synthesize and characterize microparticles containing CBD oil and its application in hydrogels for biomedical use. Materials and Methods: Single emulsion solvent evaporation method was used to prepare CBD-containing poly (lactic-co-glycolic acid) microparticles (PLGA@CBD microparticles). Microparticle size, encapsulation efficiency (EE%), and drug loading (DL%) were evaluated. PLGA@CBD microparticles were incorporated into chondroitin sulfate (CS) and polyvinyl alcohol (PVA) hydrogels in fractions of up to 10% by weight. Characterizations included scanning electron microscopy (SEM), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), thermogravimetric analysis, *in vitro* degradation, degree of swelling, contact angle, porosity, mechanical properties, % cell viability, and antimicrobial properties against *Staphylococcus Aureus*. Results: SEM images showed the incorporation of microparticles in the hydrogels. The mean size was $81.1 \pm 7.7 \mu\text{m}$, the EE% was $52 \pm 0.3 \%$ and DL% was $50 \pm 1.1 \%$. FTIR spectra and thermogravimetric analyses chemically confirmed the incorporation of PLGA@CBD microparticles. The highest percentage of degradation was in 144 h in all tested hydrogels ($p=0.122$). The PLGA@CBD hydrogel showed a maximum degree of swelling rate of around $351\% \pm 9.6$ ($p<0.001$). However, contact angles with water established similar hydrophilic behavior ($p=0.568$). The PLGA@CBD hydrogel showed a lower percentage of porosity ($p<0.001$) and modified mechanical properties ($p=0.05$). The PLGA@CBD microparticles and all hydrogels showed similar cell viability values for cell control. The PLGA@CBD hydrogels with the highest concentrations and PLGA@CBD microparticles showed increasing zones of inhibition against *S. aureus*. Conclusion: The PLGA@CBD hydrogel was successfully synthesized, showing promising physicochemical properties to be a potential scaffold in biomedical applications.

Keywords: phytocannabinoids; scaffolds; chondroitin sulfate; polyvinyl alcohol; bone.

1 Introduction

In tissue engineering, several biomaterials are used to manufacture scaffolds, including a variety of polymers, ceramics, metals, and biocompatible composites [1]. The scaffolds are synthesized to provide, support, and induce bone or soft tissue regeneration [1,2] their three-dimensional structure offers mechanical resistance and allows the transport and delivery of drugs loaded in capsules or particles [1,3]. The capsules and particles may be vehicles for active molecules, cells, and nutrients acting as adjuvants in the healing, repair, and remodeling processes of tissues [1,4]. Specifically, polymeric microparticles are gaining interest not only as drug delivery systems but also as catalysts in tissue engineering [5–7].

Recently, there is a growing interest in the use and therapeutic potential of cannabidiol (CBD). This substance is one of more than 120 phytocannabinoids derived from the *Cannabis sativa* plant [8–11] with a chemical composition similar to delta-9-tetrahydrocannabinol, but CBD is not psychotropic [8,11]. According to data from the global CBD oil extract market, it was valued at US\$ 7.94 billion in 2021 and with a prospect of US\$ 37.74 billion in 2029 [12]. The increasing popularity of CBD may be attributed to its multiple medicinal properties, not all proven yet, including antiemetic, antioxidant [13–16], anticancer [9,17,18], regenerative [10,19,20], and anti-inflammatory [21] effects. CBD has been tested in therapies for cancer, epilepsy, pain, inflammation, and psychiatric disorders [8]. Additionally, evidence suggests that CBD has antimicrobial [22,23], biological, and osteoinductive properties for potential periodontal [24], oral surgery [20,23,25], and oral medicine applications [7,26].

Studies have tested CBD in drug delivery and release systems incorporated into scaffolds [20,23,25] due to its ability to interact directly or indirectly by potentiating all elements of the endocannabinoid system (CB1, CB2 receptors and endogenous ligands). Cannabinoid-like actions may mediate tissue healing processes by recruitment of regenerative cells at sites of injury [10,20,23,27]. In addition, CBD has ability to stimulate undifferentiated mesenchymal cells through the activation of mitogen-activated protein kinases (plasma P42/44 MAPK receptors) and induce new cell lineages, such as osteoblasts [27–29]. The CBD has shown positive *in vitro* effects on cell migration,

collagen synthesis, mineral deposits, inflammatory response, and angiogenic activities [23].

The development of CBD formulations is challenging because the oil is highly lipophilic, hydrophobic, and permeable [30–32]. CBD for oral applications is often administered as oil or alcoholic formulations with very low bioavailability (<20%) [31]. CBD also has low stability and can be degraded by light or auto-oxidation at room temperature [30]. Thus, effective loading and incorporation of CBD into compatible vehicles, with improved aqueous solubility, could favor its positive properties and effects when added to biomaterials [22,23,30]. The aim of this study was to synthesize and characterize microparticles containing CBD and their subsequent application in hydrogels for potential biomedical use for bone and tissue repair.

2 Materials and methods

2.1 Study design and reagents used

This *in vitro* study was designed to synthesize and characterize CBD-containing poly lactic-co-glycolic acid (PLGA) microparticles that were later added to a previously developed hydrogel synthesized using similar chondroitin sulfate (CS) and polyvinyl alcohol (PVA) (2,33). The study was approved by the Institutional Review Board, Universidade Federal de Pelotas (protocol 2.078.368). The reagents used were cannabidiol (Epifractán, contains 5% CBD and less than 0.1% THC, Medic Plast SA, Montevideo, Uruguay), PLGA (65:35, FraktionC/gr, Sigma-Aldrich, St. Louis, MI, USA), PVA (molar mass 85-124 kg/mol, 99% hydrolyzed, Sigma-Aldrich), CS (cat. 27042, ≥90%, Sigma-Aldrich), tween 80 (Sigma-Aldrich), and dichloromethane (Synth, São José dos Campos, SP, Brazil). CBD was analyzed in a gas chromatograph coupled to a mass spectrophotometer (GC-MS, QP2010, Shimadzu Ultra, Kyoto, Japan). The presence of CBD in the commercial oil was confirmed by the presence of a higher load-mass band of CBD, as shown in the supplemental material (S1). A capillary column (30 m × 0.32 mm × 0.25 µm) coated with 100% polydimethylsiloxane (Restek Corporation, Bellefonte, PA, USA). An aliquot of the sample will be diluted in hexane (1:10) and 10 µL were injected at 200°C in split mode. The oven temperature was set to 60°C for 5 min and increased to 180°C for 5 min more.

2.2 Synthesis of PLGA@CBD microparticles

The synthesis route is illustrated in Figure 1. A single emulsion (oil/water) solvent evaporation method was used to prepare PLGA microspheres that contained CBD [20]. The first solution (oil phase) was prepared with PLGA and 300 μL of CBD dissolved in 10 mL of dichloromethane. This oil phase was dropped into a second solution of distilled water (DW), 0.5% w/v PVA, and 300 μL of tween 80, in an ice bath to form an emulsion. The resulting emulsion was homogenized for 30 min at 7000 rpm (Heidolph Silent Crusher M, Schwabach, Germany) in an ice bath. The emulsion was immediately added to a third solution (DW/PVA 0.5% w/v). The final solution was stirred for 3 h at 6000 rpm at room temperature to allow the organic solvent to evaporate and for the solidification of the microparticles. The PLGA@CBD microparticles were collected by filtration on filter paper with porous size 0.5 and washed three times with DW to remove residual surfactants, frozen at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, lyophilized, and stored at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ until use.

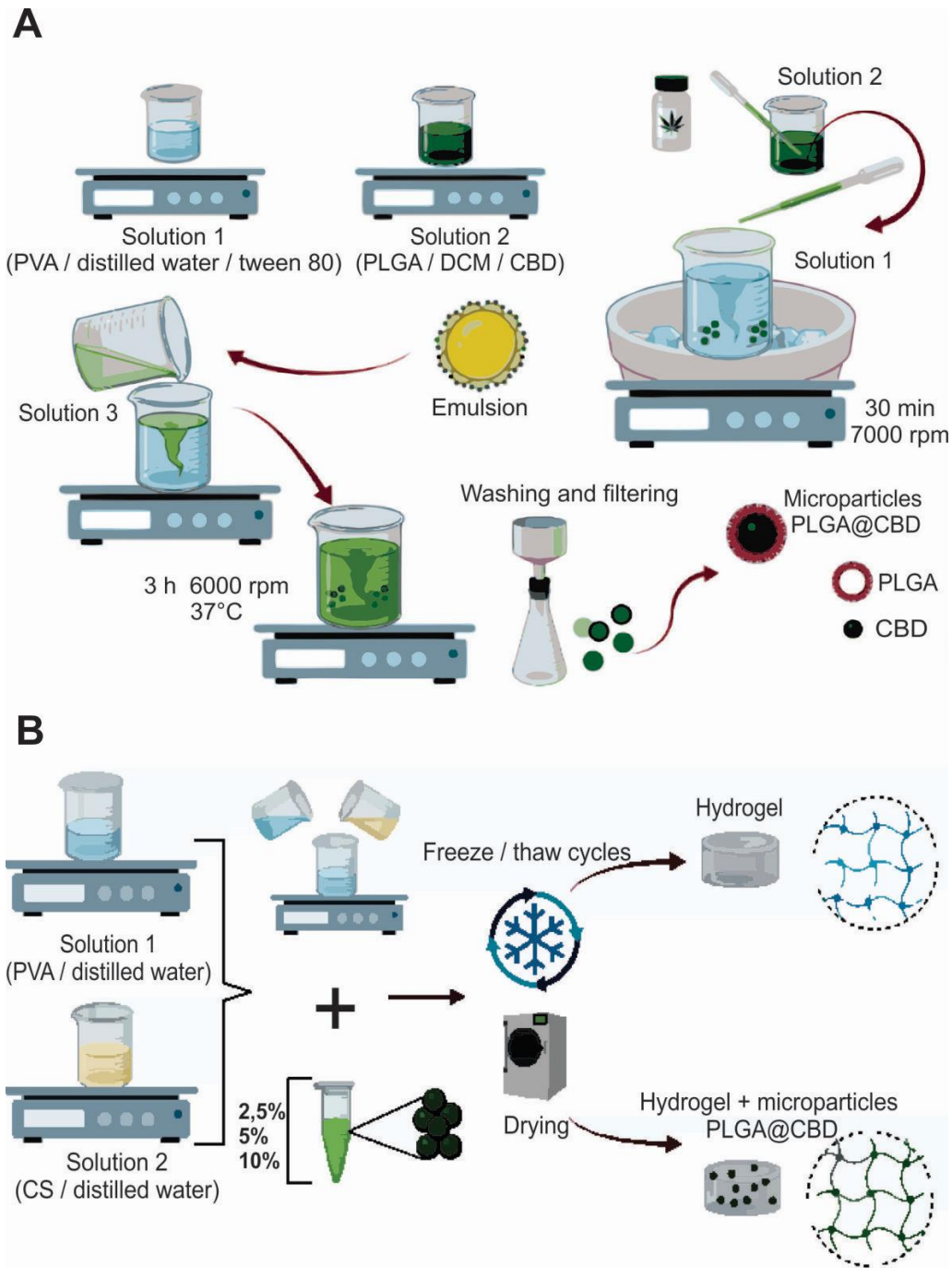


Figure 1. Illustration of the synthesis route of PLGA@CBD microparticles (A) that were subsequently added to a Control hydrogel (B). PLGA: poly lactic-co-glycolic acid; CBD: cannabidiol; DCM: dichloromethane; CS: chondroitin sulfate, PVA: polyvinyl alcohol.

2.3 Drug encapsulation efficiency and loading

The content of CBD that was encapsulated within the PLGA microparticles was determined (n=3) using a UV-vis spectrometer (model Lambda 24; Perkin-Elmer, Waltham, MA, USA). The PLGA@CBD microparticles were completely ground and soaked in dichloromethane for 24 h with agitation. The solutions obtained were centrifuged (5000 rpm for 15 min) and the supernatants were analyzed by fluorescence spectroscopy at an excitation wavelength of 280 nm and an emission wavelength of 307 nm. CBD content was estimated using a previously constructed calibration curve ($R^2 > 0.999$). Encapsulation efficiency (EE%) and drug loading (DL%) were calculated by using Equations 1 and 2 [34]:

$$EE (\%) = \frac{\text{Amount of drug entrapped}}{\text{total amount initial drug}} * 100 \quad (\text{Eq. 1})$$

$$DL (\%) = \frac{\text{Amount of drug entrapped}}{\text{Total amount of drug taken}} * 100 \quad (\text{Eq. 2})$$

2.4 Synthesis of hydrogels and addition of PLGA@CBD microparticles

The hydrogels modified with PLGA@CBD microparticles and the hydrogel without particles (control hydrogel) were prepared by mixing two polymeric solutions and using a freeze/thaw cycling technique [33]. A CS solution (3% w/v) was prepared using DW and kept under magnetic stirring at room temperature for 1 h. A PVA solution (1.5% w/v) was prepared from the solubilization of PVA in DW, and was kept under magnetic stirring at 80°C for 1 h. The two solutions were mixed under moderate magnetic stirring at room temperature for 1 h, until obtaining a homogeneous mixture CS/PVA. Then, the solution was taken to the freezer at -20°C to start the crosslinking process of the material. Four freeze/thaw cycles of 20 h each were performed (16 h frozen and 4 h thawed). Finally, the material was lyophilized at -20°C. The hydrogels with PLGA@CBD microparticles were prepared using a similar method, except that lyophilized microparticles were added to the solution before the freeze/thaw cycles at concentrations of 2.5%, 5%, or 10% (w/w).

2.5 Physicochemical characterization of PLGA@CBD microparticles and hydrogels

2.5.1 SEM and FTIR analyses

Morphology of PLGA@CBD microparticles and hydrogels were observed by using a scanning electron microscope – SEM (JSM 6610LV; Jeol Ltd., Tokyo, Japan). The size of the PLGA@CBD microparticles was calculated using the Size Meter® software, version 1.1, with the differentiation threshold established according to the image scale. The chemical nature of the hydrogel after the incorporation of the particles was evaluated by Fourier transform infrared spectroscopy – FTIR (IR-Affinity-1; Shimadzu, Tokyo, Japan) coupled to an attenuated total reflectance device. Before the spectra acquisition, disk shaped specimens were formed using KBr and analyzed in wavelengths from 400 to 4000 cm^{-1} , with 100 scans and 2 cm^{-1} resolution.

2.5.2 Thermal properties

Thermogravimetric (TG) and derivative thermogravimetry (DTG) analyses were performed using 1 to 10 mg of the dried specimens accurately weighed ($n=3$). For this analysis, the hydrogels were crushed. The specimens were put into hermetically-sealed platinum sample holders and analyzed in a temperature range of 30 to 500 $^{\circ}\text{C}$, under a N_2 flow at 50 mL/min, and 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ heating rate (SDT Q600 analyzer; TA Instruments, New Castle, DE, USA).

2.5.3 In vitro degradation assays

In vitro degradation assays ($n=3$) were carried in phosphate buffered saline – PBS (pH = 7.4) [2]. The pre-weighed samples of control hydrogel and PLGA@CBD 10% hydrogel were put in sealed tubes filled with 10 mL of PBS. After 48 h and 144 h, the specimens were removed from storage, washed with ultrapure water to remove undesired compounds, and dried to a constant weight in an oven at 50 $^{\circ}\text{C}$. The percentage of degradation was calculated using the Equation 3:

$$\text{Degradation (\%)} = \left[\frac{w_0 - w_t}{w_0} \right] * 100 \quad (\text{Eq. 3}),$$

where w_0 is the specimen initial weight and w_t is the weight after soaking.

2.5.4 Porosity

Porosity of the hydrogels was evaluated using a simple liquid displacement method [2]. Cube-shaped samples ($n=3$) of control hydrogel and PLGA@CBD 10% hydrogel were immersed in a known initial volume (v_1) of acetone for 24 h at room temperature. After impregnation with acetone, the volume of the hydrogel-acetone set (v_2) was determined. Finally, the acetone-impregnated specimen was separated and the remaining liquid volume was determined (v_3). The total porosity was calculated using Equation 4:

$$Porosity (\%) = \frac{(v_1 - v_3)}{(v_2 - v_3)} * 100 \quad (\text{Eq. 4})$$

2.5.5 Swelling capacity

The liquid uptake capacity (swelling capacity) of control hydrogel and PLGA@CBD 2.5, 5 and 10% hydrogels were measured ($n=3$) by a conventional gravimetric procedure [2]: 50 mg of each dried hydrogel were left in contact with PBS (pH = 7.4) under low stirring and weighted periodically (at intervals initially of 5 min and then every 10 min) until swelling equilibrium. Equation 5 was used to calculate the swelling degree at different times:

$$Swelling (\%) = \left(\frac{W_s - W_d}{W_d} \right) * 100 \quad (\text{Eq. 5}),$$

where W_d is the initial dry weight and W_s is the swollen weight.

2.5.6 Water contact angle

The water contact angle formed on the surface of control hydrogel and PLGA@CBD 2.5, 5 and 10% hydrogels ($n=3$) were measured with a sessile drop method [2] using an optical tensiometer (Theta Lite TL101; Biolin Scientific, Gothenburg, Sweden). Standardized drops of distilled water (5 μL) were dispensed directly onto the surface of

disk-shaped specimens (diameter 10 mm, thickness 2 mm). Immediately after dispensing the drop, a dynamic reading in real time was taken of the right and left contact angles formed with the surface using 20 frames/s for 20 s. The contact angle (°) was recorded as the mean between the right and left readings.

2.5.7 Mechanical properties

Five cubic specimens (1 mm³) of control hydrogel and PLGA@CBD 10% hydrogel were swelled up to equilibrium in PBS [2] and tested by using a texture analyzer (TA XT plus C; Stable Micro Systems, London, UK) with 50% maximum strain, 0.5 mm/s test speed, and 50 N load cell. The response variables were Young's modulus of elasticity, rupture force, and strain at rupture.

2.6 Cytotoxicity

Human dental pulp cells (HDPCs) were obtained, cryopreserved, and characterized as reported in a previous study [33]. Previous cell characterization was performed by flow cytometry, with CD73, CD90, and CD105 markers as positive markers and CD34 and CD45 as negative markers (BD Biosciences, San Jose, CA, USA). The cells were resuspended in PBS and incubated for 30 min at room temperature (protected from light) with specific antibodies labeled with fluorescein isothiocyanate or phycoerythrin. Cells were then washed with PBS and analyzed with a flow cytometer (FACS Calibur; BD Biosciences).

Biocompatibility of the hydrogels with the different concentrations of PLGA@CBD microparticles was determined in a cell viability assay using (3-(4,5-dimethylthiazol2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) – MTT, according to ISO standard 10993-5 (35). Disk-shaped hydrogel specimens (diameter 5 mm, thickness 1 mm thickness, n = 3 *per* group) with 10% microparticles were prepared and sterilized by UV treatment (30 min on each side). The specimens were placed in sterile glass vials containing 5 mL of alpha minimal essential medium (α-MEM) supplemented with 10% fetal bovine serum, L-glutamine, and 1% penicillin-streptomycin, then incubated at 37 °C. At predetermined time points up to 21 days [23,36], 500 µL aliquots were collected and equal amounts were added to each vial to keep the initial volume constant.

The HDPCs were seeded in 96-well plates at a rate of 10×10^4 cells per well and allowed to adhere for 24 h at 37 °C, with 5% CO₂. Cell culture media were then replaced with culture media + eluates that were in contact with the disk-shaped specimens and left for another 24 h. The solutions in each well were then removed and replaced with 200 µL of MTT solution (5 mg/mL). After 4 h incubation at 37 °C in the dark, the MTT solution was removed and 200 µL dimethyl sulfoxide was added to each well, and the plates were placed on a shaker for 5 min. The absorbance at 540 nm was determined using a spectrophotometer (TP-Reader; Thermoplate, Shenzhen, China).

2.7 Direct contact test and antimicrobial properties

The direct contact test was performed to investigate the antimicrobial effect of the hydrogels in a planktonic model [36,37]. The hydrogels were tested against *Staphylococcus Aureus* (ATCC 25923). First, a pilot direct contact test was carried out with the hydrogels and the PLGA@CBD microparticles to determine inhibition halos. Subsequently, to determine sustained antimicrobial effects over time and following *in vitro* degradation times of hydrogels and considering the hydrophobic nature of CBD. Dry specimens (200 mg) of the control hydrogel, the hydrogels with the different concentrations of PLGA@CBD microparticles, and the equivalent of the maximum weight of added PLGA@CBD microparticles (10% equivalent weight) were prepared (n = 3 per group) and were disinfected by UV-irradiation. Next, the samples were individually incubated in glass vials with 5 mL of sterile PBS at 37 °C. At default time intervals up to 21 days, 500 µL aliquots were drawn and replaced with an equivalent amount of fresh PBS. The retrieved aliquots were stored at -20 °C until further use. Each bacterial plate was divided into four zones, namely 10 µL of 2% chlorhexidine digluconate (CHX; positive control), 10 µL of DW (negative control), and 20 µL of the hydrogel's aliquots (2 zones/plate randomly assigned). After 24 h of incubation, the diameters (in mm) of the clear zones of growth inhibition were measured.

2.8 Statistical analysis

Data were tested for normality (Shapiro-Wilk) and Equal Variance Test for all studied variables. Swelling capacity and water contact angle data were submitted to one-

way Analysis of Variance – ANOVA. *In vitro* degradation assay, cytotoxicity, and antimicrobial activity were analyzed using Two-Way ANOVA (% *in vitro* degradation/ % cell viability/ inhibition halo × time period). Porosity data were analyzed using the student's-*t* test. All pairwise multiple comparisons were carried out using Tukey's *post-hoc* test. The mechanical properties (Young's modulus, rupture force, strain at rupture) were compared with the Mann-Whitney rank sum test. For all tests, a significance level of $\alpha=0.05$ was used. The statistical analyses were carried out using SigmaPlot 12.0 software (Systat Inc., San Jose, CA, USA).

3 Results

3.1 Physicochemical characterization of PLGA@CBD microparticles and hydrogels

SEM analysis of the hydrogels showed high porosity and well-distributed pores (Figure 2). The PLGA@CBD microparticles had a spherical shape with a mean size of $81 \pm 8 \mu\text{m}$. The EE% was $52 \pm 0.3 \%$ and DL% was $50 \pm 1.1 \%$. The PLGA@CBD hydrogels showed the presence of microparticles in the pores of the hydrogels, which maintained their spherical structure. The FTIR analysis of the control hydrogel and the PLGA@CBD hydrogel showed the banding characteristic of the precursor polymers (Figure 3). All the synthesized hydrogels showed signals at 3441 cm^{-1} , 1642 cm^{-1} , 1413 cm^{-1} , and 1052 cm^{-1} corresponding to CS. Broad bands were also identified around 3342 cm^{-1} and 2285 cm^{-1} of the PVA. The analysis of the PLGA@CBD 10% hydrogel showed bands corresponding to the PLGA@CBD microparticles at 3450 cm^{-1} , $2850\text{-}3000 \text{ cm}^{-1}$, and 1754 cm^{-1} of the PLGA spectrum; and the CBD spectrum bands at 3500 cm^{-1} , 2987 cm^{-1} , 2850 cm^{-1} , in addition to and intense bands at 1746 cm^{-1} and 1460 cm^{-1} (Figure 3).

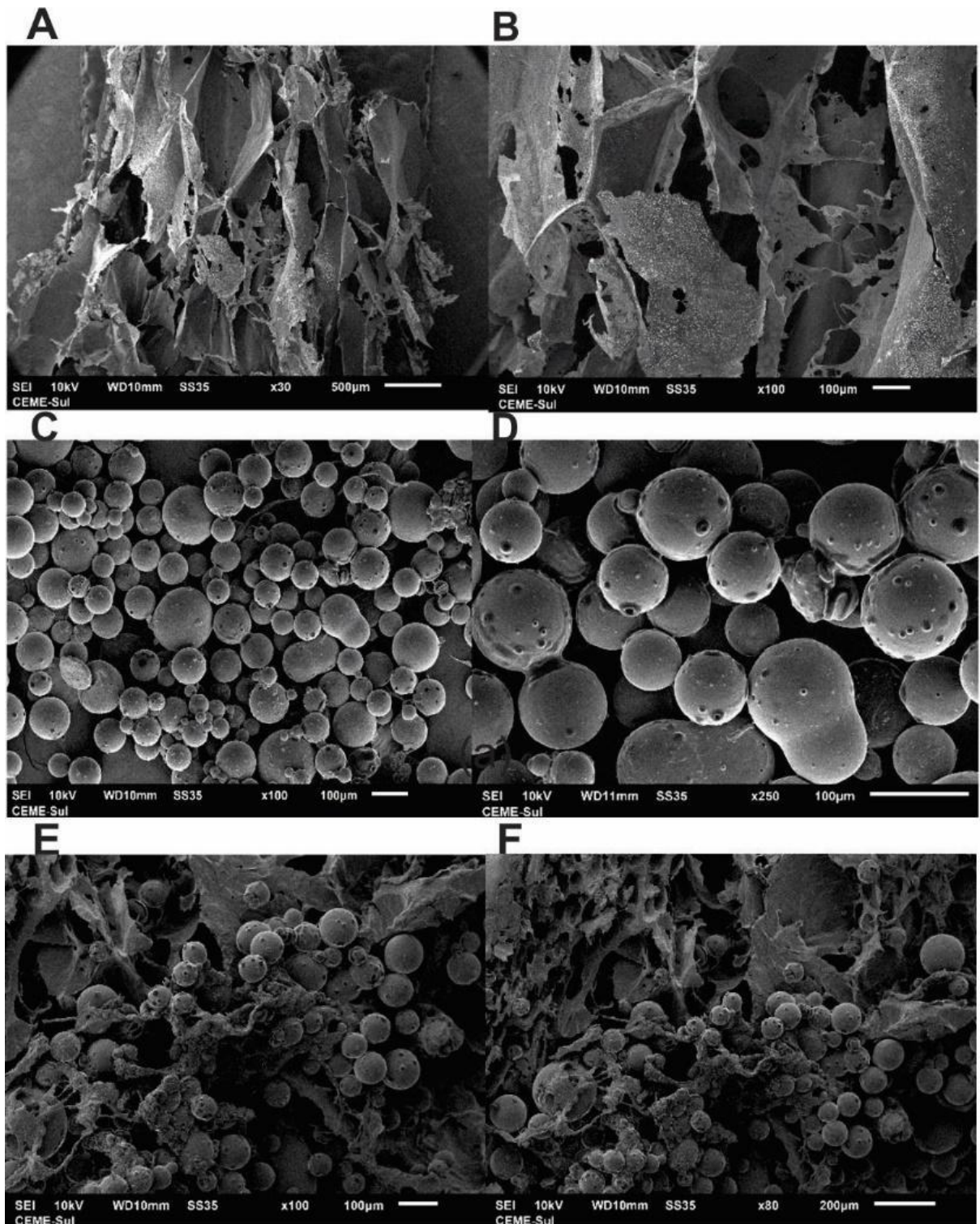


Figure 2. SEM images of control hydrogel, PLGA@CBD microparticles, and PLGA@CBD hydrogel. A, B) Control hydrogel; C, D) PLGA@CBD microparticles; E) PLGA@CBD 10% hydrogel; f) PLGA@CBD 5% hydrogel. PLGA: poly lactic-co-glycolic acid; CBD: cannabidiol.

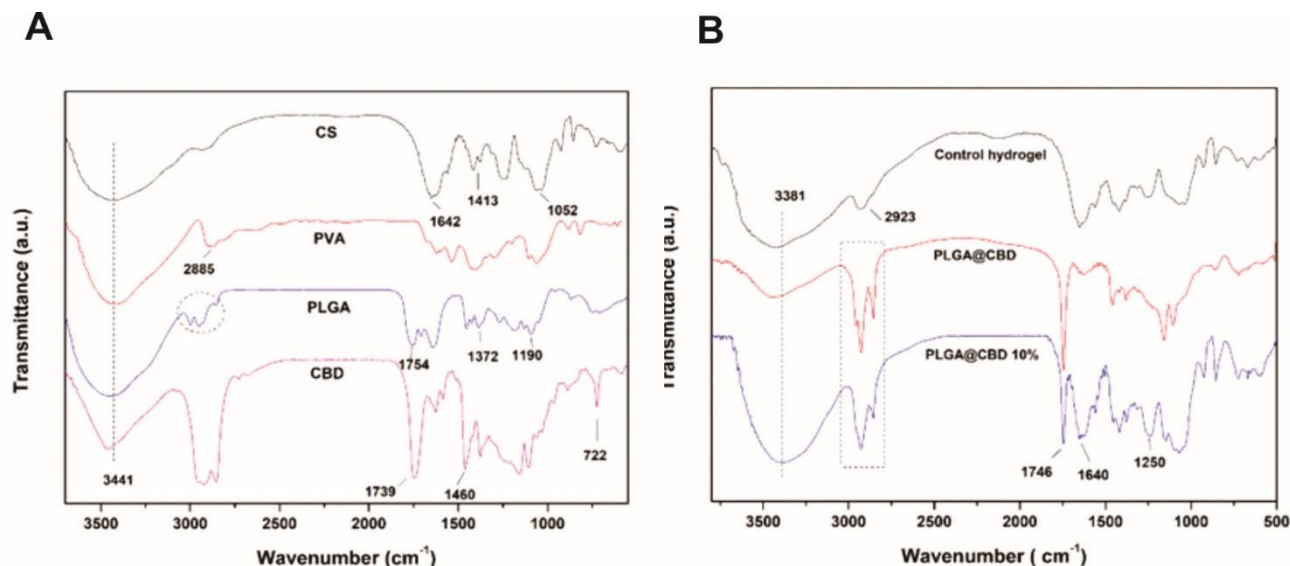


Figure 3. A) FTIR spectra of the precursor's CS, PVA, PLGA, CBD. B) FTIR spectra of synthesized control hydrogel, PLGA@CBD microparticles, and PLGA@CBD 10% hydrogel. PLGA: Poly (lactic-co-glycolic acid), CBD: cannabidiol

The thermal analyses are shown in Figure 4. The TG and DTG curves for the PLGA@CBD microparticles showed the stage of mass loss with a maximum of 308 °C originating from the depolymerization of PLGA and degradation of the CBD oil. The control hydrogel showed two stages of mass loss, first at 55 °C (loss of 12%) referring to water loss between 220 and 258 °C (loss of 25%) with a maximum mass loss at 246 °C. The PLGA@CBD 10% hydrogel presented three stages of mass loss: first at 55 °C referring to the loss of water (approximately 13%); a second stage between 237 and 267 °C, with a maximum loss at 253 °C (approximately 17%); a final stage between 300 and 390 °C, with maximum loss at 343 °C (approximately 25%).

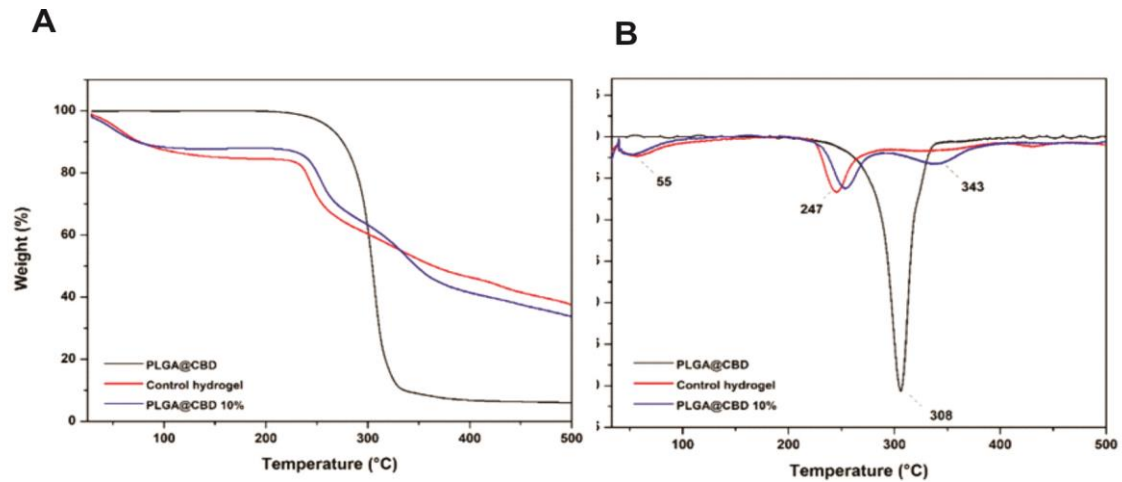


Figure 4. Results of the thermal analyses. A) TG and B) DTG curves of the PLGA@CBD microparticles, control hydrogel, and PLGA@CBD 10% hydrogels. PLGA: Poly (lactic-co-glycolic acid), CBD: cannabidiol.

Results for the degradation test in PBS, and porosity are shown in Table 1. The highest percentage of degradation was at 144 h for control hydrogel and PLGA@CBD 10% hydrogel. Degradation was similar in the control hydrogel and PLGA@CBD 10% hydrogel ($p=0.122$). The PLGA@CBD 10% hydrogel showed a minor percentage of porosity compared with the control hydrogel ($p<0.001$).

Table 1. Means (standard deviations) for the *in vitro* degradation in PBS (D), and porosity, $n=3$

Hydrogel	D (%)		Porosity (%)
	48 h	144h	
Control	54.5 (2.4) ^{Aa}	65.0 (7.9) ^{Ab}	66.6 (0.2) ^A
PLGA@CBD 10%	58.3 (2.0) ^{Aa}	65.9 (3.4) ^{Aa}	50.0 (0.1) ^B

Uppercase letters in the same column indicate significant differences between hydrogels; lowercase letters in the same line indicate significant differences between times ($p<0.05$).

PBS: phosphate buffer solution; PLGA: Poly (lactic-co-glycolic acid); CBD: cannabidiol.

The results of the control hydrogel and 2.5, 5 and 10% PLGA@CBD hydrogels in relation to the water properties such as degree of swelling and angle of contact with water

are presented in Table 2. The samples show a rapid degree of swelling and achieved stability after 40 min of immersion. The control hydrogel showed a maximum degree of swelling of $490 \pm 8 \%$ ($p < 0.001$), and the PLGA@CBD 10% hydrogel showed a maximum swelling rate of around $351 \pm 10\%$. However, the hydrogels had similar water contact angles, establishing a similar hydrophilic behavior ($p = 0.568$). Table 3 shows the results of the mechanical properties. The rupture force and strain at rupture were higher in PLGA@CBD hydrogels ($p = 0.05$) compared with the control hydrogel. The Young's modulus of elasticity was similar across all hydrogels ($p = 1.0$).

Table 2. Means (standard deviations) for the swelling capacity (SC), and water contact angle (WCA), $n=3$

Hydrogel	SC (%)	WCA (°)
Control	490 (2) ^A	65.7 (16.5) ^A
PLGA@CBD 2.5%	311 (1) ^B	57.1 (17.1) ^A
PLGA@CBD 5%	311 (10) ^B	50.1 (13.1) ^A
PLGA@CBD 10%	351 (9) ^C	50.2 (12.7) ^A

Uppercase letters in the same column indicate significant differences between hydrogels; lowercase letters in the same line indicate significant differences between times ($p < 0.05$).

PBS: phosphate buffer solution; PLGA: Poly (lactic-co-glycolic acid); CBD: cannabidiol.

Table 3. Medians (Q1-Q3) for mechanical parameters: Young's modulus of elasticity, rupture force, and strain at rupture, $n=5$

Hydrogel	Young's modulus (MPa)	Rupture force (N)	Strain at rupture (%)
Control hydrogel	0.101 (-0.19 - 0.70) ^A	40 (36.7 - 46.8) ^A	60.4 (57.6 - 65.50) ^A
PLGA@CBD10%	0.124 (0.076 - 0.52) ^A	102.9 (98.7 - 111.2) ^B	91.0 (89.7 - 93.6) ^B

Uppercase letters in the same column indicate significant differences between hydrogels ($p < 0.05$).

PLGA: Poly (lactic-co-glycolic acid), CBD: cannabidiol

3.2 Cytotoxicity

Cell viability results are shown in Figure 5. The control hydrogel, the PLGA@CBD hydrogels, and the PLGA@CBD microparticles evaluated showed similar values for cell control. When comparing the percentages of cell viability over time, the groups

PLGA@CBD 5% hydrogel, PLGA@CBD 10% hydrogel and PLGA@CBD microparticles ($p<0,001$) showed differences in the first day, presenting the highest cell viability. At 21 days, the control hydrogel ($p=0.003$) and the PLGA@CBD 2.5% hydrogel ($p=0.01$) showed lower values at the cellular control and other concentrations ($p<0.001$). The highest concentrations of PLGA@CBD 10% hydrogel and PLGA@CBD microparticles showed a higher percentage of cell viability on day 1 ($p<0.001$) when compared to the other concentrations. Subsequently, the number of surviving cells decreased in aliquots of all hydrogels collected on day 2. However, the percentages of cell viability were similar between groups on day 2 ($p=0.122$) and day 7 ($p=0.192$).

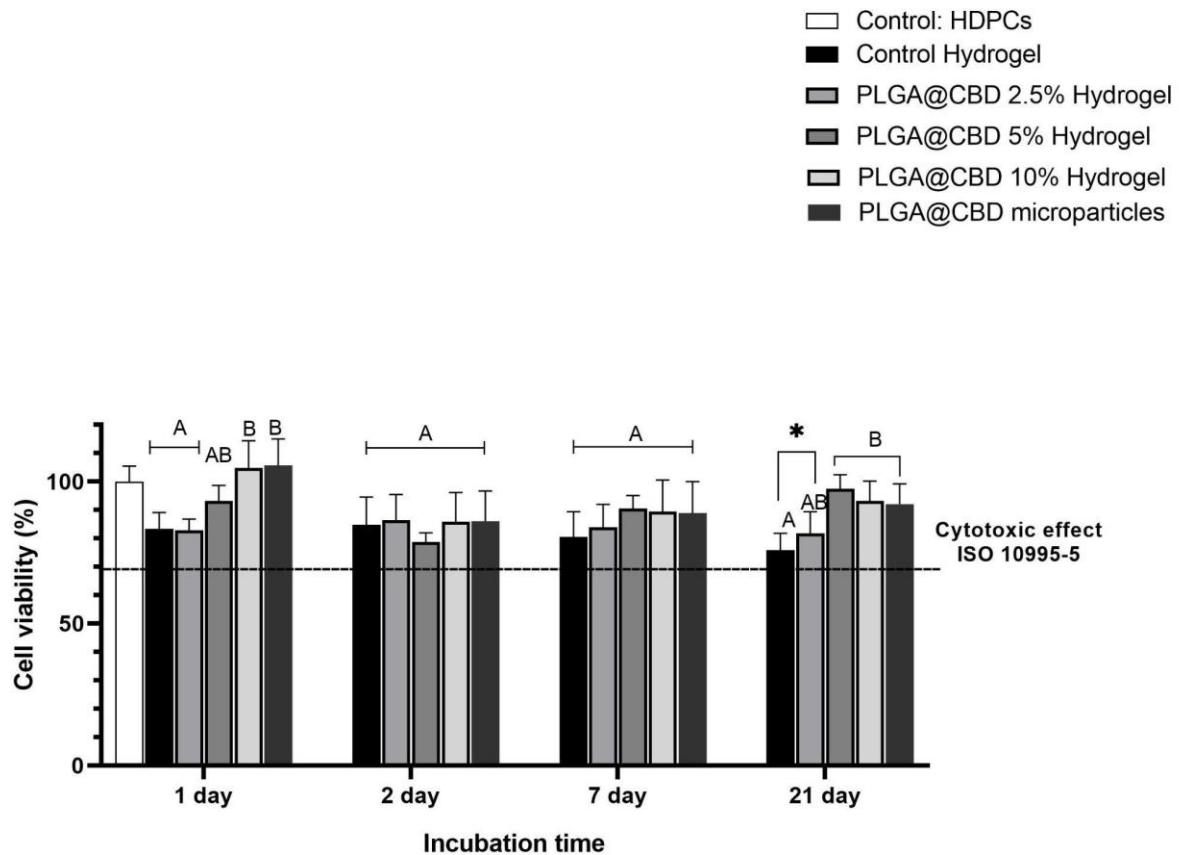


Figure 5. The cytotoxicity assay measured the viability (%) of HUVECs in response to aliquots on day 1, 2, 7, 21 for the control hydrogel, hydrogels with 2.5, 5, and 10% of PLGA@CBD microparticles, and PLGA@CBD microparticles alone ($n=3$). Statistical analyzes were compared to the same day. Distinct letters indicate statistically significant differences between groups. The asterisk indicates differences between the groups with

the cell control. HUVECs: Human dental pulp cells, PLGA: Poly (lactic-co-glycolic acid), CBD: cannabidiol.

3.3 Antimicrobial activity

The pilot direct contact test determined inhibition halos of PLGA@CBD microparticles (12.03 ± 2.1 mm). Figure 6 shows the antimicrobial activity of samples stored in PBS. The control hydrogel and PLGA@CBD hydrogels with lower microparticle aliquots showed no bacterial inhibition at all time points. The highest concentrations of the PLGA@CBD 5% hydrogel (7.6 ± 0.57 mm), the PLGA@CBD 10% hydrogel (10 ± 1.0 mm), and PLGA@CBD microparticles (18 ± 5 mm) showed increasing zones of inhibition in the first hour of contact. Subsequently, inhibition zones decreased (dose-time response) until the first 48 h of contact. All groups at all times showed differences in relation to the chlorhexidine control ($p < 0.001$).

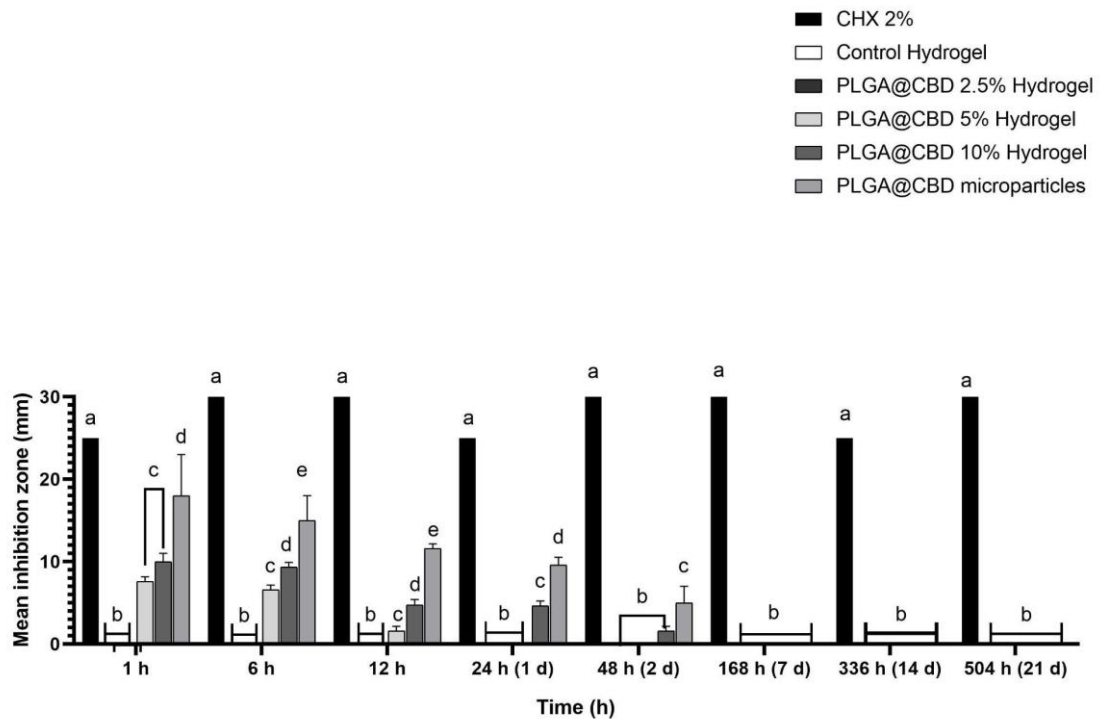


Figure 6. Results from the agar diffusion assays are represented as a mean inhibition zone (mm) against the *S. Aureus* in response to aliquots on 1, 6, 12, 24 and 48 h, 7, 14

and 21 days of control hydrogel, PLGA@CBD hydrogel (2.5, 5 and 10%) and PLGA@CBD microparticles. Statistical analyzes were compared at the same time. Distinct letters indicate statistically significant differences between groups when compared with CHX control. PLGA: Poly (lactic-co-glycolic acid), CBD: cannabidiol, CHX: Chlorhexidine.

4 Discussion

In recent years, various biomaterials have been manufactured with the aim of providing innovative and versatile scaffolds for varied purposes in cell engineering, and tissue and bone regeneration. The success of these systems for biomedical uses is attributed to the possibility of mimicking, favoring, and stimulating a typical cellular environment [1,2]. The scaffolding material is an important factor in the success of tissue regeneration because it might influence cell behavior and act as a support for tissue/cellular regeneration; adjuvant substances can be added to tune their properties [1,38,39]. Due to its chemistry, pharmacology, and molecular targets, including CB1 and CB2 receptors and other components of the endocannabinoid system, CBD may be an important mediator of the tissue healing process [25,40]. Thus, we encapsulate CBD oil and include it in a CS/PVA hydrogel-type scaffold with success as a potential antimicrobial biomaterial and with biomedical applications (bone and tissue repair) in tissue engineering.

CBD oil was encapsulated in the form of PLGA@CBD microparticles. PLGA was selected to contain CBD oil because of its loading capacity for hydrophobic and hydrophilic molecules, being biocompatible, biodegradable, and the possibility of sustained release with the protection of the drug against initial degradation [38]. After the synthesis of the PLGA@CBD microparticles, the EE% was evaluated to establish the amount of drug that was actually associated with the particles, in relation to the total drug present in the formulation [41]. These data have a great influence on the release rate of the drug [42]. The EE% result was compatible with the single solvent emulsion technique [43]. A similar study [20] with pure CBD and PLGA had an EE% increase of CBD in microspheres of $70.12 \mu\text{m} \pm 4.46$. In the case of the encapsulation of substances such as oils and extracts in large quantities, the EE% of the microparticles can be reduced [19,44]. One option to

increase this percentage would be to reduce the size to a nanometric scale, in turn increasing the bioavailability and load capacity [6,30]. SEM analysis of the microparticles showed a spherical morphology and was located close to each other. The surfaces of the microparticles were mostly smooth but with some pores due to the slow removal of the organic solvent and the slow precipitation of the polymer [6].

Also, the SEM analysis showed effective incorporation of the particles into the control hydrogel. PLGA@CBD hydrogel showed high porosity with well-distributed pores and PLGA@CBD microparticles located in the hydrogel pores. The presence of PLGA@CBD microparticles in the hydrogel pores maintained their spherical structure, confirming the effectiveness of the methodology. The FTIR analysis spectrum of the hydrogels showed characteristic bands of precursor polymers [2,3,33] and PLGA@CBD microparticles [5,6]. This analysis confirms the immobilization of microparticles in the hydrogel, as well as the presence of CBD in the developed microparticles [23,45,46]. The PLGA@CBD 10% hydrogel presents characteristic bands of precursor polymers CS and PVA [3,33,45] and signals 3381 cm^{-1} (referring to the stretching of the O-H bond), 2921 cm^{-1} and 2953 cm^{-1} (stretching of the C-H bond) of the aliphatic portion of PLGA and CBD. A band is also observed at 1746 cm^{-1} characteristic of the stretching of the C=C bond of the aromatic ring, at 1640 cm^{-1} the C=O stretching of the secondary amide, and at 1250 cm^{-1} the C-O stretching of the ester. The control hydrogel FTIR spectrum showed band characteristics of precursor polymers in all hydrogels (2,33). The TGA and DTG analyses indicated the inclusion of the PLGA@CBD microparticles in the hydrogel. This result indicates that CBD oil has high thermal stability when encapsulated by PLGA [23]. The boiling point of CBD has an initiation temperature of approximately 170 to 172°C [44,47]. Thus, a change in the thermal behavior of the hydrogels is observed, and the addition of PLGA@CBD microparticles increases the time and temperature of hydrogel degradation [6].

Once the inclusion of the PLGA@CBD in the control hydrogel was confirmed, the *in vitro* degradability of the biomaterial was evaluated. Biodegradability is a crucial property needed for a potential polymeric scaffold [2]; it controls the long-term performance of the scaffold, regulates the rate of cell growth, and acts as a mechanical/structural support while new cells/tissues regenerate the treated area [2,3].

Furthermore, the degradation rate can be an indirect estimator of bioavailability, together with the release and diffusion characteristics [49] The *in vitro* degradation of the control hydrogel or PLGA@CBD 10% hydrogel was evaluated in the first 48 h, with percentages of degradation greater than 50% in the hydrogels (Table 2), but the highest percentage of degradation was up to 144 h (7 days). Degradation was comparable in both hydrogels. This degradation rate of the biomaterial gives the necessary time for primary proliferation, migration, and cell adhesion [44,50], which may favor the action of CBD that can increase cellular migration dose-dependently in the first hours of contact with cell lineages similar to human osteoblasts [28].

The results of the present investigation differ from those reported by other studies, with similar control hydrogel [51] or PGLA@CBD 10% hydrogel [20,23] showed a longer degradation rate. Different crosslinking between hydrogel contents and an increase in density, among other factors, may prolong the degradation rate of hydrogels [18]. This discrepancy may be due to the composition of the hydrogels that Kamali et al. [20] used CBD-PLGA microspheres in a gelatin-nanohydroxyapatite scaffold different from the one used in the present research. Other factors related to the PLGA@CBD microparticles could modify the rate of degradation, such as the ratio of the components of the PLGA copolymer (the ratio of polylactic-glycolic acid), the order of the monomers, end groups, molecular weight. [6,38], the diameter and size of the microparticles [6,38,52]. The hydrophobic nature of CBD and its prolonged degradation [11] may change the degradation mechanism from bulk erosion to PLGA surface degradation, hydrolysis mechanism, and polymer matrix degradation [38].

In order to evaluate the behavior and the changes in the hydrophilicity of the PLGA@CBD hydrogel with water, the concentrations 2.5, 5,10% and, the control hydrogel were analyzed. Despite the fact that the hydrogels showed a rapid degree of swelling and reached stability after 40 min of immersion, the control hydrogel showed a higher maximum degree of swelling compared to the all PLGA@CBD hydrogel. This result suggests that the control hydrogel and PLGA@CBD hydrogels have a considerable liquid retention capacity and confirm their hydrophilic nature, which may decrease with the presence of PLGA@CBD microparticles probably due to the highly hydrophobic nature of CBD [8,31,53]. This characteristic does not seem to affect the contact angle, the

wettability, and favors the diffusion of liquids in the control hydrogel and PLGA@CBD hydrogels, which present a similar hydrophilic behavior on their surfaces. Hydrophilicity is a characteristic sought in tissue engineering as the interaction with liquids allows the transport of wastes and nutrients at the time of cell growth, in addition to helping the accumulation of growth factors [2,3,33]. However, the swelling behavior of hydrogels, as shown in this investigation, can be influenced by the crosslinking density and the composition of the hydrogel or the hydrophobic nature of CBD [8,53].

Another important factor to consider is the lower porosity observed in the PLGA@CBD 10% hydrogel compared to the control hydrogel. All hydrogels have a higher proportion of CS when compared to PVA, this composition can increase the porosity but the inclusion of PLGA@CBD microparticles can influence the density of the hydrogel [18]. However, the hydrogel maintained a high porosity (>50-60%) providing adequate fluid flow to supply nutrients, bioactive compost, growth factors and ensure the removal of degradation by-products [39,51,54]. In addition, the high porosity of the control hydrogel can go against its mechanical properties be affected as in this investigation [55]. Breaking force and breaking stress were higher in the PLGA@CBD hydrogel. The incorporation of microparticles containing PLGA seems to favor elasticity and elastic deformation, helping to better distribute mechanical forces in the PLGA@CBD hydrogel [31]. Only Young's modulus was similar among the hydrogels. The mechanical properties exhibited by the synthesized hydrogels containing PLGA@CBD microparticles were favorable in relation to their deformation, being comparable to other porous scaffolds described in other investigations, despite the difference in system [2,31,32,56].

The cell viability assay to evaluate the biocompatibility of CBD under *in vitro* conditions with HDPCs did not show significant changes in relation to the cell control. CBD has demonstrated a dose-dependent change in cell proliferation of HDPCs and in the range of 0.1 to 100 μM was not cytotoxic [27]. In solutions prepared with pure CBD at low concentrations of 3 μM to 9 μM [20,57] or slightly higher, CBD can significantly increase cell viability compared with the control. Specifically, CBD 5 μM had a positive biphasic effect on HDPCs *in vitro* [27]. This effect can have a direct impact on stimulating cell migration [27,57]. CBD at the evaluated concentrations can positively influence the cell viability of HDPCs, cells that have a high proliferative potential and the ability to

differentiate into various types of cells such as mesenchymal cells: chondrocytes, cardiomyocytes, adipose cells, muscle cells, osteoblasts and odontoblasts [25,27]. CBD perhaps may be a usable substance in tissue regeneration by promoting an important biological response in tissue healing, a complicated biological process with an initial inflammatory response followed by recruitment and differentiation of undifferentiated mesenchymal cells [20]. These data suggest that PLGA@CBD microparticles were safe for HDPCs *in vitro*. Lack of signs of toxicity and viability percentages similar to the cell control during all the time indicate that PLGA@CBD hydrogels and PLGA@CBD microparticles have a promising use as a biomaterial with biomedical applications and the potential use of CBD in the concentration used. Though, other studies have established that higher concentrations may have an inverse effect and CBD can inhibit the proliferation of undifferentiated mesenchymal cells with concentration-dependent characteristics [17,27].

The results of the MTT analysis determined changes may be a consequence of the resorption of the PLGA@CBD hydrogel with high percentages of *in vitro* degradation in the first 7 days, as well as an effect associated with the earlier release of CBD. In addition, the microparticles made with PLGA may have a rapid initial release *in vitro* tests that are associated with a loss of drug content, this can accumulate in the first days, subsequently decrease a cellular capacity and then a lag time [6]. Another study [20] showed that the *in vitro* release profile of CBD loaded into particles with PLGA polymer and placed in a scaffold decreases its concentration over time with the gradual release of CBD up to 25 days [20], suggesting that increasing the percentage of PLGA@CBD microparticles in hold hydrogels are believed to increase viability.

The results of the antimicrobial assay against *S. Aureus* indicated inhibition activity. Only the collected aliquots (24-48 h) of the highest concentrations of PLGA@CBD 5% hydrogel, PLGA@CBD 10% hydrogel, and PLGA@CBD microparticles showed increasing zones of inhibition that can be considered inhibitory zones. These results suggest that including PLGA@CBD has a dose-dependent antimicrobial effect that can work up to 48 h after release. Various studies [13,22,58,59] established that the antimicrobial potential that CBD can develop in low concentrations, the minimum inhibitory concentrations against *S. Aureus* were 3.18 a 15.90 μM [13,22,58,59]. CBD reacts rapidly

by disrupting bacterial cytoplasmic membranes, inhibiting the synthesis of proteins, DNA, RNA and peptidoglycans [13,22,23]. Besides, it is suggested that PLGA@CBD hydrogels and PLGA@CBD microparticles may be effective means of delivering CBD and preventing bacterial infections, as high levels of CBD alone in suitable and compatible vehicles may create this antibacterial effect [22]. This result suggests that PLGA@CBD hydrogel can have an effective antibacterial effect against *S. Aureus*, the most frequent etiological agent in infections in scarring processes, and that can cause recurrent and chronic infections that delay healing processes due to internalization in precursor cells, osteoblasts, and peripheral cells [60,61].

Despite some limitations, such as the tendency of PLGA@CBD microparticles to aggregate with each other and the lack of quantification of a dose released after hydrogel degradation. PLGA@CBD microparticles from the hydrophobic substance were synthesized and included in a hydrogel to form a stable matrix without toxicity and with an inhibitory effect on *S. Aureus* strains. With these results, the PLGA@CBD microparticles and the inclusion in the hydrogel were effective for the following stages of the research that included the evaluation and behavior as a possible healing and repairing agent for bone tissue, making this potential biomaterial a successful scaffold for tissue regeneration with influence on cell behavior and that could act as a support for tissue/cellular regeneration and with adjuvant CBD microparticles (1). Future studies on the subject could evaluate the minimum and maximum doses after degradation, with cell proliferation capacities and the effect on the differentiation of different cell lines to osteoblasts. In addition to the *in vivo* behavior of this hydrogel containing CBD.

5 Conclusions

The PLGA microparticles containing CBD oil were fabricated and successfully embedded in a CS/PVA hydrogel. Despite the hydrophobic nature of the CBD oil, most of the physicochemical properties were similar to control hydrogel and presented values of *in vitro* degradation, porosity, swelling, humidity, and acceptable mechanical properties for a scaffold with regenerative function. In addition, the inclusion of PLGA@CBD microparticles in the hydrogels in percentages up to 10% presented an inhibitory effect against *S. Aureus*, without presenting cytotoxicity values in undifferentiated cells. This

biomaterial has characteristics to be a potential successful scaffold for tissue regeneration, which can serve as a support and stimulate tissue/cellular regeneration.

Acknowledgments

This study was supported by CAPES, Brazil (Finance Code 001) and FAPERGS, Brazil (grant #17/2551-0001070-1).

Conflict of interest

The authors of this article certify that they have no proprietary, financial, or other personal interest of any nature or kind in any product, service, and/or company that is presented in this article.

References

1. Bahraminasab M, Janmohammadi M, Arab S, Talebi A, Nooshabadi VT, Koohsarian P, et al. Bone Scaffolds: An Incorporation of Biomaterials, Cells, and Biofactors. *ACS Biomater Sci Eng*. 2021 Dec;7(12):5397–431.
2. da Silva GT, Voss GT, Kaplum V, Nakamura C V, Wilhelm EA, Luchese C, et al. Development, characterization and biocompatibility of chondroitin sulfate/poly(vinyl alcohol)/bovine bone powder porous biocomposite. *Mater Sci Eng C*. 2017;72:526–35. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493116322809>
3. Alves NO, da Silva GT, Weber DM, Luchese C, Wilhelm EA, Fajardo AR. Chitosan/poly(vinyl alcohol)/bovine bone powder biocomposites: A potential biomaterial for the treatment of atopic dermatitis-like skin lesions. *Carbohydr Polym*. 2016;148:115–24. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861716304106>
4. Ravor J, Thangavel M, Elsen S R. Comprehensive Review on Design and Manufacturing of Bio-scaffolds for Bone Reconstruction. *ACS Appl Bio Mater*. 2021 Dec 20;4(12):8129–58. Available from: <https://doi.org/10.1021/acsabm.1c00949>
5. Fraguas-Sánchez AI, Torres-Suárez AI, Cohen M, Delie F, Bastida-Ruiz D, Yart L, et al. PLGA nanoparticles for the intraperitoneal administration of CBD in the

- treatment of ovarian cancer: In vitro and in Ovo assessment. *Pharmaceutics*. 2020;12(5).
6. Lagreca E, Onesto V, Di Natale C, La Manna S, Netti PA, Vecchione R. Recent advances in the formulation of PLGA microparticles for controlled drug delivery. *Prog Biomater*. 2020;9(4):153–74. Available from: <https://doi.org/10.1007/s40204-020-00139-y>
 7. David C, Elizalde-Hernández A, Barboza AS, Cardoso GC, Santos MBF, Moraes RR. Cannabidiol in Dentistry: A Scoping Review. *Dent J*. 2022 Oct 1;10(10).
 8. Sosnik A, Shabo R Ben, Halamish HM. Cannabidiol-Loaded Mixed Polymeric Micelles of Chitosan/Poly(Vinyl Alcohol) and Poly(Methyl Methacrylate) for Trans-Corneal Delivery. *Pharmaceutics*. 2021 Dec;13(12).
 9. Anceschi L, Codeluppi A, Brighenti V, Tassinari R, Taglioli V, Marchetti L, et al. Chemical characterization of non-psychoactive Cannabis sativa L. extracts, in vitro antiproliferative activity and induction of apoptosis in chronic myelogenous leukaemia cancer cells. *Phytother Res*. 2022 Feb;36(2):914–27.
 10. Zhang H, Hu T, Xiong M, Li S, Li W-X, Liu J, et al. Cannabidiol-loaded injectable chitosan-based hydrogels promote spinal cord injury repair by enhancing mitochondrial biogenesis. *Int J Biol Macromol*. 2022 Nov;221:1259–70.
 11. Kosović E, Sýkora D, Kuchař M. Stability Study of Cannabidiol in the Form of Solid Powder and Sunflower Oil Solution. *Pharmaceutics*. 2021 Mar;13(3).
 12. Data Bridge Market Research. Global Cannabidiol (CBD) Oil Extract Market – Industry Trends and Forecast to 2029 [Internet]. web 2022. [cited 2022 Dec 5]. Available from: <https://www.databridgemarketresearch.com/reports/global-cbd-oil-extract-market>
 13. Russo C, Lavorgna M, Nugnes R, Orlo E, Isidori M. Comparative assessment of antimicrobial, antiradical and cytotoxic activities of cannabidiol and its propyl analogue cannabidivarin. *Sci Rep*. 2021 Nov;11(1):22494.
 14. Xiheng L, Xinyue L, Tianjiao M, Wanqi Y, Liang T, Jiang L. Cannabidiol promotes proliferation and osteogenic differentiation of human periodontal ligament stem cells. *Chinese J Tissue Eng Res*. 2022 Oct 28;26(30):4867–72.
 15. Pellegrini M, Palmieri S, Ricci A, Serio A, Paparella A, Lo Sterzo C. In vitro

- antioxidant and antimicrobial activity of *Cannabis sativa* L. cv “Futura 75” essential oil. *Nat Prod Res*. 2021 Dec;35(24):6020–4.
16. Chen L, Yang W, Gao C, Liao X, Yang J, Yang B. The complexes of cannabidiol mediated by bridged cyclodextrins dimers with high solubilization, in vitro antioxidant activity and cytotoxicity. *J Mol Liq*. 2022 Jan 1;345.
 17. Solinas M, Massi P, Cantelmo AR, Cattaneo MG, Cammarota R, Bartolini D, et al. Cannabidiol inhibits angiogenesis by multiple mechanisms. *Br J Pharmacol*. 2012 Nov 1;167(6):1218–31. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2012.02050.x>
 18. Suhail M, Liu J-Y, Hung M-C, Chiu I-H, Minhas MU, Wu P-C. Preparation, In Vitro Characterization, and Cytotoxicity Evaluation of Polymeric pH-Responsive Hydrogels for Controlled Drug Release. Vol. 14, *Pharmaceutics*. 2022.
 19. W Z, Q L, R M, W H, X Z, Y L, et al. Modified Alginate-Based Hydrogel as a Carrier of the CB2 Agonist JWH133 for Bone Engineering. *ACS omega*. 2021;6(10):6861–70. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33748600/>
 20. Kamali A, Oryan A, Hosseini S, Ghanian MH, Alizadeh M, Eslaminejad MB, et al. Cannabidiol-loaded microspheres incorporated into osteoconductive scaffold enhance mesenchymal stem cell recruitment and regeneration of critical-sized bone defects. *Mater Sci Eng C*. 2019;101:64–75.
 21. Klein C, Karanges E, Spiro A, Wong A, Spencer J, Huynh T, et al. Cannabidiol potentiates Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC) behavioural effects and alters THC pharmacokinetics during acute and chronic treatment in adolescent rats. *Psychopharmacology (Berl)* [Internet]. 2011;218(2):443–57. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00213-011-2342-0>
 22. Blaskovich MAT, Kavanagh AM, Elliott AG, Zhang B, Ramu S, Amado M, et al. The antimicrobial potential of cannabidiol. *Commun Biol* [Internet]. 2021 Jan 19;4(1):7. Available from: <https://www.nature.com/articles/s42003-020-01530-y>
 23. Qi J, Zheng Z, Hu L, Wang H, Tang B, Lin L. Development and characterization of cannabidiol-loaded alginate copper hydrogel for repairing open bone defects in vitro. *Colloids Surfaces B Biointerfaces*. 2022;212:112339.
 24. Napimoga MH, Benatti BB, Lima FO, Alves PM, Campos AC, Pena-dos-Santos DR,

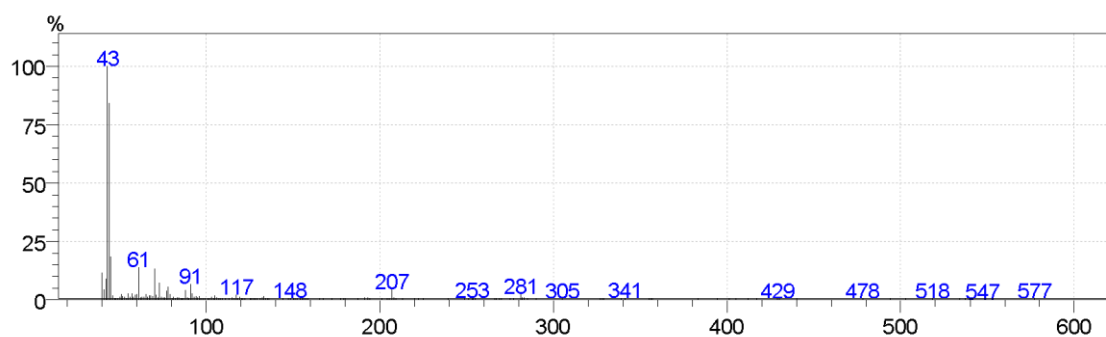
- et al. Cannabidiol decreases bone resorption by inhibiting RANK/RANKL expression and pro-inflammatory cytokines during experimental periodontitis in rats. *Int Immunopharmacol*. 2009 Feb 1;9(2):216–22.
25. NB P, A J, O S, OP L, N D, L R, et al. Cannabidiol and Vitamin D3 Impact on Osteogenic Differentiation of Human Dental Mesenchymal Stem Cells. *Medicina (Kaunas)*. 2020;56(11). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33198232/>
 26. DE FREITAS CUBA L, SALUM F, CHERUBINI K, GUIMARÃES FS, DE FIGUEIREDO MAZ. CANNABIDIOL IN ORAL MUCOSITIS INDUCED IN MICE SUBJECTED TO 5-FLUOROURACIL: CLINICAL AND HISTOLOGIC EVALUATION. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2020 Jan 1;129(1):e166.
 27. Qi X, Liu C, Li G, Luan H, Li S, Yang D, et al. Investigation of in vitro odonto/osteogenic capacity of cannabidiol on human dental pulp cell. *J Dent*. 2021;109:103673. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0300571221000944>
 28. Kang M-A, Lee J, Park S-H. Cannabidiol induces osteoblast differentiation via angiopoietin1 and p38 MAPK. *Environ Toxicol*. 2020 Dec;35(12):1318–25.
 29. H Q, Y Z, Y P, C H, S L, N H, et al. Activation of cannabinoid receptor CB2 regulates osteogenic and osteoclastogenic gene expression in human periodontal ligament cells. *J Periodontal Res*. 2010;45(4):504–11. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20412420/>
 30. Grifoni L, Vanti G, Donato R, Sacco C, Bilia AR. Promising Nanocarriers to Enhance Solubility and Bioavailability of Cannabidiol for a Plethora of Therapeutic Opportunities. *Molecules*. 2022 Sep;27(18).
 31. Momekova D, Danov Y, Momekov G, Ivanov E, Petrov P. Polysaccharide Cryogels Containing β -Cyclodextrin for the Delivery of Cannabidiol. *Pharmaceutics*. 2021 Oct;13(11).
 32. Momekova D, Ivanov E, Konstantinov S, Ublekov F, Petrov PD. Nanocomposite Cryogel Carriers from 2-Hydroxyethyl Cellulose Network and Cannabidiol-Loaded Polymeric Micelles for Sustained Topical Delivery. *Polymers (Basel)*. 2020 May;12(5).

33. Grazioli G, Silva AF, Souza JF, David C, Diehl L, Sousa-Neto MD, et al. Synthesis and characterization of poly(vinyl alcohol)/chondroitin sulfate composite hydrogels containing strontium-doped hydroxyapatite as promising biomaterials. *J Biomed Mater Res A*. 2021 Jul;109(7):1160–72.
34. Lemos TSA, de Souza JF, Fajardo AR. Magnetic microspheres based on pectin coated by chitosan towards smart drug release. *Carbohydr Polym*. 2021 Aug 1;265:118013.
35. Standardization International Organization for I. International Organization for Standardization (2009) ISO 10993- 5:2009 Biological evaluation of medical devices — Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity. [Internet]. 2009. Available from: <https://www.iso.org/standard/36406.html>
36. Ribeiro JS, Bordini EAF, Ferreira JA, Mei L, Dubey N, Fenno JC, et al. Injectable MMP-Responsive Nanotube-Modified Gelatin Hydrogel for Dental Infection Ablation. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2020 Apr;12(14):16006–17.
37. Correa CF, Santana LR, Silva RM, Noremberg BS, Lund RG, Ribeiro JS, et al. Antimicrobial activity from polymeric composites-based polydimethylsiloxane/TiO₂/GO: evaluation of filler synthesis and surface morphology. *Polym Bull*. 2017;74(6):2379–90. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00289-016-1843-8>
38. Jin S, Xia X, Huang J, Yuan C, Zuo Y, Li Y, et al. Recent advances in PLGA-based biomaterials for bone tissue regeneration. *Acta Biomater*. 2021;127:56–79. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1742706121002245>
39. Simão AR, Fragal VH, Lima AM de O, Pellá MCG, Garcia FP, Nakamura C V., et al. pH-responsive hybrid hydrogels: Chondroitin sulfate/casein trapped silica nanospheres for controlled drug release. *Int J Biol Macromol*. 2020 Apr 1;148:302–15.
40. Sangiovanni E, Fumagalli M, Pacchetti B, Piazza S, Magnavacca A, Khalilpour S, et al. Cannabis sativa L. extract and cannabidiol inhibit in vitro mediators of skin inflammation and wound injury. *Phytother Res*. 2019 Aug;33(8):2083–93.
41. Xu L, Wang X, Liu Y, Yang G, Falconer RJ, Zhao C-X. Lipid nanoparticles for drug

- delivery. *Adv NanoBiomed Res.* 2022;2(2):2100109.
42. da Silva Santos V, Badan Ribeiro AP, Andrade Santana MH. Solid lipid nanoparticles as carriers for lipophilic compounds for applications in foods. *Food Res Int.* 2019;122:610–26. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996919300328>
 43. Gurung BD, Kakar S. An overview on microspheres. *Int J Heal Clin Res.* 2020;3(1):11–24.
 44. Vanti G, Grifoni L, Bergonzi MC, Antiga E, Montefusco F, Caproni M, et al. Development and optimisation of biopharmaceutical properties of a new microemulgel of cannabidiol for locally-acting dermatological delivery. *Int J Pharm.* 2021;607:121036. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517321008425>
 45. Ligresti A, De Petrocellis L, Di Marzo V. From phytocannabinoids to cannabinoid receptors and endocannabinoids: Pleiotropic physiological and pathological roles through complex pharmacology. *Physiol Rev.* 2016;96(4):1593–659. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84988674886&doi=10.1152%2Fphysrev.00002.2016&partnerID=40&md5=186de9aeea66dfa50c5a5be4d0f983b3>
 46. Matarazzo AP, Elisei LMS, Carvalho FC, Bonfílio R, Ruela ALM, Galdino G, et al. Mucoadhesive nanostructured lipid carriers as a cannabidiol nasal delivery system for the treatment of neuropathic pain. *Eur J Pharm Sci.* 2021;159:105698.
 47. Pacifici R, Marchei E, Salvatore F, Guandalini L, Busardò FP, Pichini S. Evaluation of cannabinoids concentration and stability in standardized preparations of cannabis tea and cannabis oil by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. 2017;55(10):1555–63. Available from: <https://doi.org/10.1515/cclm-2016-1060>
 48. Peng Z, Kong LX. A thermal degradation mechanism of polyvinyl alcohol/silica nanocomposites. *Polym Degrad Stab.* 2007;92(6):1061–71.
 49. Gao GF, Ashtikar M, Kojima R, Yoshida T, Kaihara M, Tajiri T, et al. Predicting drug release and degradation kinetics of long-acting microsphere formulations of tacrolimus for subcutaneous injection. *J Control Release [Internet].* 2021;329:372–

84. Available from:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168365920307124>
50. Reyna-Urrutia VA, Estevez M, González-González AM, Rosales-Ibáñez R. 3D scaffolds of caprolactone/chitosan/polyvinyl alcohol/hydroxyapatite stabilized by physical bonds seeded with swine dental pulp stem cell for bone tissue engineering. *J Mater Sci Mater Med.* 2022;33(12):81. Available from:
<https://doi.org/10.1007/s10856-022-06702-2>
51. da Silva GT, Voss GT, Kaplum V, Nakamura C V., Wilhelm EA, Luchese C, et al. Development, characterization and biocompatibility of chondroitin sulfate/poly(vinyl alcohol)/bovine bone powder porous biocomposite. *Mater Sci Eng C.* 2017 Mar 1;72:526–35.
52. Hua Y, Su Y, Zhang H, Liu N, Wang Z, Gao X, et al. Poly(lactic-co-glycolic acid) microsphere production based on quality by design: a review. *Drug Deliv.* 2021 Dec;28(1):1342–55.
53. Hammell DC, Zhang LP, Ma F, Abshire SM, McIlwrath SL, Stinchcomb AL, et al. Transdermal cannabidiol reduces inflammation and pain-related behaviours in a rat model of arthritis. *Eur J Pain.* 2016 Jul;20(6):936–48.
54. Radwan-Pragłowska J, Janus Ł, Piątkowski M, Sierakowska A, Szajna E, Matýsek D, et al. Development of Stimuli-Responsive Chitosan/ZnO NPs Transdermal Systems for Controlled Cannabidiol Delivery. *Polymers (Basel).* 2021 Jan;13(2).
55. González SG, Vlad MD, López JL, Aguado EF. Novel bio-inspired 3D porous scaffold intended for bone-tissue engineering: Design and in silico characterisation of histomorphometric, mechanical and mass-transport properties. *Mater Des.* 2023;225:111467. Available from:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264127522010905>
56. Sergeeva A, Feoktistova N, Prokopovic V, Gorin D, Volodkin D. Design of porous alginate hydrogels by sacrificial CaCO₃ templates: Pore formation mechanism. *Adv Mater Interfaces.* 2015;2(18):1500386.
57. Schmuhl E, Ramer R, Salamon A, Peters K, Hinz B. Increase of mesenchymal stem cell migration by cannabidiol via activation of p42/44 MAPK. *Biochem Pharmacol.* 2014 Feb 1;87(3):489–501.

58. Karas JA, Wong LJM, Paulin OKA, Mazeh AC, Hussein MH, Li J, et al. The Antimicrobial Activity of Cannabinoids. *Antibiot (Basel, Switzerland)*. 2020 Jul;9(7).
59. Martinenghi LD, Jönsson R, Lund T, Jenssen H. Isolation, Purification, and Antimicrobial Characterization of Cannabidiolic Acid and Cannabidiol from *Cannabis sativa* L. *Biomolecules*. 2020 Jun;10(6).
60. Widaa A, Claro T, Foster TJ, O'Brien FJ, Kerrigan SW. Staphylococcus aureus protein A plays a critical role in mediating bone destruction and bone loss in osteomyelitis. *PLoS One*. 2012;7(7):e40586.
61. Mouton W, Josse J, Jacqueline C, Abad L, Trouillet-Assant S, Caillon J, et al. Staphylococcus aureus internalization impairs osteoblastic activity and early differentiation process. *Sci Rep*. 2021 Sep;11(1):17685.



S1. Result of analysis of 10 μ L of 5% Epifractan oil with a gas chromatograph coupled to a mass spectrophotometer. The fragmentation pattern of commercial oil Epifractan 5% reflects some differences in the fragment-ion intensities confirming the presence of CBD.

4 Considerações finais

De acordo aos resultados desta pesquisa, o canabidiol é um fitocannabide com interesse crescente na atualidade. Evidências achadas de pesquisas sugerem que o CBD tem propriedades físico-químicas e biológicas positivas na saúde. Na área odontológica as propriedades anti-inflamatórias, analgésicas, antimicrobianas e osteoindutoras apresentam possíveis aplicações periodontais, cirurgia oral e medicina oral. As patentes disponíveis indicam que, existe interesse da indústria pela formulação de produtos que contenham o CBD.

Assim, um potencial biomaterial foi desenvolvido exitosamente em forma de micropartículas de PLGA contendo óleo de CBD e incluídas num hidrogel poroso. Embora o óleo de CBD seja natureza hidrofóbica, a maioria das propriedades físico-químicas foram mantidas com valores de degradação *in vitro*, porosidade, inchamento, umidade e propriedades mecânicas aceitáveis para um andaime com função regenerativa. Além disso, a inclusão de PGLA@CBD nos hidrogéis em porcentagens até 10% apresentou efeito inibitório contra *S. aureus*, sem apresentar valores de citotoxicidade em células indiferenciadas.

Pelo que se abre um amplo espaço disponível para pesquisas e aplicações tecnológicas do CBD. No entanto, estudos adicionais para investigar as doses máximas empregadas e perfil de liberação e mais estudos *in vitro* para determinar diferenciação osteogênica e comportamento num modelo animal são necessários para determinar o potencial do método de entrega de CBD sugerido a ser implementado em ensaios clínicos posteriormente.

Referências

ABIDI, Ammaar; ALGHAMDI, Sahar & DEREFINCO, Karem A critical review of cannabis in medicine and dentistry: A look back and the path forward. **Clinical and experimental dental research**, v. 8 n.3, p. 613–631, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1002/cre2.564>

APARICIO-BLANCO, Juan; SEBASTIÁN, Victor; BENOIT, Jean, & TORRES-SUÁREZ, Ana. Lipid nanocapsules decorated and loaded with cannabidiol as targeted prolonged release carriers for glioma therapy: In vitro screening of critical parameters. **European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics: official journal of Arbeitsgemeinschaft fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik** v.134, p. 126–137, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2018.11.020>

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Resolução - RDC no- 17, de 6 de maio de 2015. Define os critérios e os procedimentos para a importação, em caráter de excepcionalidade, de produto à base de Canabidiol em associação com outros canabinóides, por pessoa física, para uso próprio, mediante prescrição de profissional legalmente habilitado, para tratamento de saúde. Brasília: AVINSA, 2015. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2015/rdc0017_06_05_2015.pdf

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Nota Técnica nº 093/2015 – CPCON/GGFIS/SUCOM. Orientações para a aquisição intermediada de produtos à base de Canabidiol em associação com outros canabinóides para pessoa física, para uso próprio, mediante prescrição de profissional legalmente habilitado, para tratamento de saúde. Brasília: AVINSA, 2015. Disponível em: <http://parecer.pg.df.gov.br/arquivo/PRCON/2016/PRCON.1160.2016.pdf>

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Voto Nº 92/2019/QUARTA DIRETORIA/ANVISA/2019/SEI/DIRE4/ANVISA Processo nº 25351.421833/2017-76. Retorno de vista relativamente à proposta de RDC que dispõe sobre procedimento para registro e monitoramento de medicamentos à base de Cannabis spp., seus derivados e análogos sintéticos. Brasília: AVINSA, 2019. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/composicao/diretoria-colegiada/reunioes-da-diretoria/votos/2019/29a-rop-de-2019/item-2-4-2-voto-92-2019-dire4.pdf>

BLASKOVICH, Mark; KAVANAGH, Angela; ELLIOTT, Alysha; ZHANG, Bing, et al., The antimicrobial potential of cannabidiol. **Commun Biol**, v. 4 n. p7, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1038/s42003-020-01530-y>

BRUNETTI, Pietro *et al.* **Pharmacology and legal status of cannabidiol. Annali dell'Istituto superiore di sanita**, v. 56 n. 3, p. 285–291, 2020. DOI: https://doi.org/10.4415/ANN_20_03_06

BURSTEIN, Sumner. Cannabidiol (CBD) and its analogs: a review of their effects on inflammation. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 23, n. 7, p. 1377-1385, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2015.01.059>.

CALLEJAS, G. H. *et al.* Maternal administration of cannabidiol promotes an anti-inflammatory effect on the intestinal wall in a gastroschisis rat model. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 51, n 5, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1590/1414-431x20177132>

CARRIER, Erica J.; AUCHAMPACH, John A.; HILLARD, Cecilia J. Inhibition of an equilibrative nucleoside transporter by cannabidiol: a mechanism of cannabinoid immunosuppression. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 103, n. 20, p. 7895-7900, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0511232103>

COSTA, M. *et al.*, The endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol dysregulates the synthesis of proteins by the human syncytiotrophoblast. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1861, n. 3, p. 205-212, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2015.12.008>.

CUBA, Leticia *et al.* A. Cannabidiol on 5-FU-induced oral mucositis in mice. **Oral Dis.** 2020, 26, 1483–1493. DOI: <https://doi.org/10.1111/odi.13413>

DO NASCIMENTO, Glauce *et al.* Cannabidiol increases the nociceptive threshold in a preclinical model of Parkinson's disease. **Neuropharmacology**, 163, 107808, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2019.107808>

GARCÍA-GUTIÉRREZ Maria *et al.* Cannabidiol: A potential new alternative for the treatment of anxiety, depression, and psychotic disorders. **Biomolecules**. v. 10 n. 11, p.1575,2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/biom10111575>

GOOD, Phillip *et al.* Oral medicinal cannabinoids to relieve symptom burden in the palliative care of patients with advanced cancer: a double-blind, placebo controlled, randomised clinical trial of efficacy and safety of cannabidiol (CBD). **BMC palliative care**, v. 18, n.1, p. 110. DOI: <https://doi.org/10.1186/s129040>

GOWRAN, Aoife; MCKAYED, Katey; CAMPBELL, Veronica A. The cannabinoid receptor type 1 is essential for mesenchymal stem cell survival and differentiation: implications for bone health. **Stem cells international**, v. 2013, ID 796715, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1155/2013/796715>.

GRIFONI, Lucia *et al.* Promising Nanocarriers to Enhance Solubility and Bioavailability of Cannabidiol for a Plethora of Therapeutic Opportunities. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 27 n.18, p. 6070, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27186070>

ITIN, Constantin; BARASCH, Dinorah; DOMB, Abraham; HOFFMAN, Amnon. Prolonged oral transmucosal delivery of highly lipophilic drug cannabidiol. **International journal of pharmaceutics**, v. 581, p.119276, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119276>

KASSEBAUM, N J *et al.* Global, Regional, and National Prevalence, Incidence, and Disability-Adjusted Life Years for Oral Conditions for 195 Countries, 1990-2015: A Systematic Analysis for the Global Burden of Diseases, Injuries, and Risk Factors. **Journal of dental research**, v.96 n. 4, p. 380–387, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1177/0022034517693566>

KAMALI, Amir *et al.* Cannabidiol-loaded microspheres incorporated into osteoconductive scaffold enhance mesenchymal stem cell recruitment and regeneration of critical-sized bone defects. **Materials Science and Engineering: C**, v. 101, p. 64-75, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.03.070>.

KLEIN, Mariana *et al.*, Effects of cannabidiol, a Cannabis sativa constituent, on oral wound healing process in rats: Clinical and histological evaluation. **Phytotherapy research**, vol. 32, no 11, p. 2275-2281, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1002/ptr.6165>..

KOGAN, Natalya M. *et al.*, Cannabidiol, a major non-psychotropic cannabis constituent enhances fracture healing and stimulates lysyl hydroxylase activity in osteoblasts. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 30, n. 10, p. 1905-1913, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1002/jbmr.2513>.

LEGARE, Christopher; RAUP-KONSAVAGE, Wesley; & VRANA, Kent. Therapeutic Potential of Cannabis, Cannabidiol, and Cannabinoid-Based Pharmaceuticals. **Pharmacology**, v. 107 n. 3-4, p. 131–149, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1159/000521683>

LIBRO, Rosalia *et al.* Cannabidiol Modulates the Expression of Alzheimer's Disease-Related Genes in Mesenchymal Stem Cells. *International journal of molecular sciences*, v. 18 n. 1, p. 26, 2016. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms18010026>

LOWE, Henry *et al.* The Current and Potential Application of Medicinal Cannabis Products in Dentistry. **Dentistry journal**, v. 9 n. 9, p. 106, 2021a. DOI: <https://doi.org/10.3390/dj9090106>-

LOWE, Henry *et al.* The Endocannabinoid System: A Potential Target for the Treatment of Various Diseases. **International journal of molecular sciences**, v. 22 n. 17, p. 9472 2021b. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22179472>

MATARAZZO; Ananda *et al.* Mucoadhesive nanostructured lipid carriers as a cannabidiol nasal delivery system for the treatment of neuropathic pain. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 159, p. 105698, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2020.105698>

MATICHESCU, Anamaria *et al.* Advanced Biomaterials and Techniques for Oral Tissue Engineering and Regeneration-A Review. **Materials (Basel, Switzerland)**, v. 13 n. 22, p. 5303, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/ma13225303>

MARIN, Elia; BOSCHETTO, Francesco, & PEZZOTTI, Giuseppe. Biomaterials and biocompatibility: An historical overview. **Journal of biomedical materials research. Part A**, v.108 n. 8, p. 1617–1633, 2020. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.36930>

MONTERO-OLEAS, Nadia *et al.* Therapeutic use of cannabis and cannabinoids: an evidence mapping and appraisal of systematic reviews. **BMC complementary medicine and therapies**, v. 20 n.1, p. 1-15 2020. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12906-019-2803-2>

NAPIMOGA, Marcelo H. *et al.*, Cannabidiol decreases bone resorption by inhibiting RANK/RANKL expression and pro-inflammatory cytokines during experimental periodontitis in rats. **International immunopharmacology**, v. 9, n. 2, p. 216-222, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2008.11.010>.

OTHMAN, Ziryan *et al.* Understanding interactions between biomaterials and biological systems using proteomics. **Biomaterials**, v. 167, p. 191–204, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2018.03.020>

PENG, Jiangling *et al.* A narrative review of molecular mechanism and therapeutic effect of cannabidiol (CBD). **Basic & clinical pharmacology & toxicology**, v. 130 n. 4, p. 439–456, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1111/bcpt.13710>

PETRESCU, Nausica *et al.* Cannabidiol and vitamin D3 impact on osteogenic differentiation of human dental mesenchymal stem cells. **Medicina**, v. 56, n. 11, p. 607, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/medicina56110607>

PERES, Marco *et al.* Oral diseases: a global public health challenge. **The Lancet**, v. 394 n. 10194), p. 249-260, 2019. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)31146-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)31146-8)

PISANTI, Simona *et al.*, Cannabidiol: State of the art and new challenges for therapeutic applications. *Pharmacology & therapeutics*, vol. 175, p. 133-150, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2017.02.041>

QI, Jianchao *et al.* Development and characterization of cannabidiol-loaded alginate copper hydrogel for repairing open bone defects in vitro. **Colloids and surfaces B: Biointerfaces**, v. 212, n. 112339, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2022.112339>

RAD, Maryam Masoudi *et al.*, Fabrication and characterization of two-layered nanofibrous membrane for guided bone and tissue regeneration application. **Materials Science and Engineering: C**, v. 80, p. 75-87, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.05.125>. Disponível em:

RAPHAEL-MIZRAHI, Bitya; GABET, Yankel. The cannabinoids effect on bone formation and bone healing. *Current Osteoporosis Reports*, v. 18, n. 5, p. 433-438, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11914-020-00607-1>.

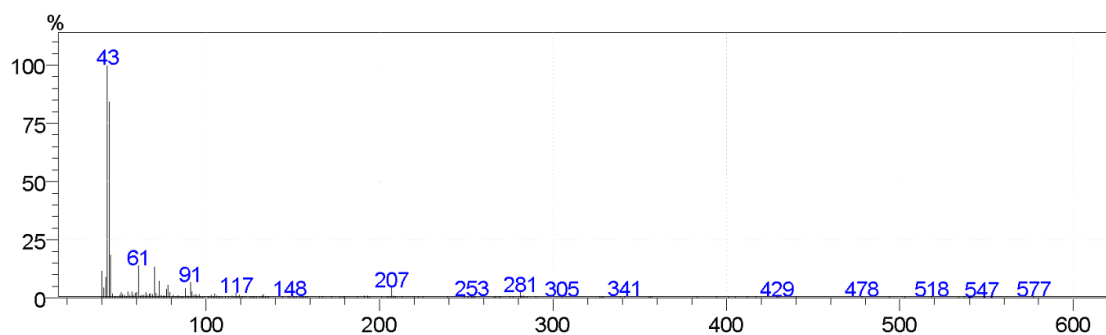
SMITH, Marie et al., The effects of the endocannabinoid's anandamide and 2-arachidonoylglycerol on human osteoblast proliferation and differentiation. **PloS one**, v. 10, n.9, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0136546>.

SCHMUHL, Ellen et al., Increase of mesenchymal stem cell migration by cannabidiol via activation of p42/44 MAPK. **Biochemical pharmacology**, v. 87, n. 3, p. 489-501, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2013.11.016>.

TATULLO, Marco; MARRELLI, Massimo; & PADUANO, Francesco. The regenerative medicine in oral and maxillofacial surgery: the most important innovations in the clinical application of mesenchymal stem cells. **International journal of medical sciences**, v.12 n. 1, p. 72–77, 2015. DOI: <https://doi.org/10.7150/ijms.10706>

ZOU, Shenglong, & KUMAR, Ujendra. Cannabinoid Receptors and the Endocannabinoid System: Signaling and Function in the Central Nervous System. **International journal of molecular sciences**, v. 19 n. 3, p. 833, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms19030833>

Apêndices

Apêndice A -Material suplementar 1

S1. Result of analysis of 10 µL of 5% Epifractan oil with a gas chromatograph coupled to a mass spectrophotometer. The fragmentation pattern of commercial oil epifractan 5% reflects some small differences in the fragment-ion intensities confirming the presence of CBD.

Anexos

Anexo A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

UFPEL - FACULDADE DE ODONTOLOGIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE	

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação do desempenho biológico de biomateriais de interesse para odontologia

Pesquisador: Adriana Fernandes da Silva

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 64527316.4.0000.5318

Instituição Proponente: Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas/ FO-UFPEl

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.078.368

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_831414.pdf	06/04/2017 10:45:09		Aceito
Outros	Carta_resposta.pdf	06/04/2017 10:44:16	Adriana Fernandes da Silva	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_ApDmodificado.docx	06/04/2017 10:35:28	Adriana Fernandes da Silva	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_ApCmodificado.docx	06/04/2017 10:34:54	Adriana Fernandes da Silva	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_ApA_modificado.docx	06/04/2017 10:33:57	Adriana Fernandes da Silva	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_adri.docx	06/04/2017 10:33:06	Adriana Fernandes da Silva	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Termo_ciencia.docx	05/12/2016 17:26:05	Adriana Fernandes da Silva	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_ApE_Saliva.docx	05/12/2016 17:05:46	Adriana Fernandes da Silva	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_assent_ApenB.doc	05/12/2016 17:05:22	Adriana Fernandes da Silva	Aceito
Folha de Rosto	folhaDeRosto.pdf	05/12/2016 16:21:18	Adriana Fernandes da Silva	Aceito

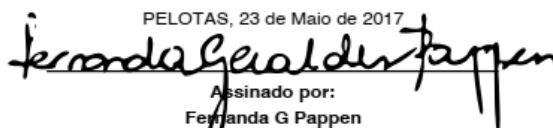
Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

PELOTAS, 23 de Maio de 2017


 Assinado por:
 Fernanda G Pappen

Anexo B –Atestado de submissão da Comissão de ética no uso de animais



Reitoria
Comissão de Ética no Uso de Animais

ATESTADO

Atesto para os devidos fins que, o projeto de pesquisa intitulado "**Nanocarregadores de Canabidiol para regeneração de tecido ósseo e potencial antimicrobiano na aplicação biomédica**", sob responsabilidade do docente Rafael Ratto de Moraes, foi submetido à apreciação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL). O processo, sob número de registro **23110.045769/2022-29**, foi recebido no dia 18 de novembro de 2022 e, conforme protocolo de trabalho da CEUA, após tramitação será emitido o parecer final.

Pelotas, 18 de novembro de 2022.

Priscila Marques Moura de Leon
Coordenadora da CEUA



Documento assinado eletronicamente por **PRISCILA MARQUES MOURA DE LEON, Professor do Magistério Superior**, em 18/11/2022, às 20:08, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 4º, § 3º, do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufpel.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1949581** e o código CRC **A59322D4**.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Odontologia
Programa de Pós-Graduação em Odontologia
Área de Concentração em Clínica Odontológica – Ênfase em Periodontia



Tese

Uso do laser e da terapia fotodinâmica antimicrobiana como adjuvantes à raspagem e alisamento radicular em pacientes submetidos a terapia periodontal de suporte: uma revisão sistemática e meta-análise.

Edvin Walter Brito Gomes

Pelotas, 2022

Edvin Walter Brito Gomes

Uso do laser e da terapia fotodinâmica antimicrobiana como adjuvantes à raspagem e alisamento radicular em pacientes submetidos a terapia periodontal de suporte: uma revisão sistemática e meta-análise.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Odontologia, área de concentração em Clínica Odontológica/Periodontia.

Orientadora: Profa. Dra. Natália Marcumini Pola

Pelotas, 2022

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

G633u Gomes, Edvin Walter Brito

Uso do laser e da terapia fotodinâmica antimicrobiana como adjuvantes à raspagem e alisamento radicular em pacientes submetidos a terapia periodontal de suporte : uma revisão sistemática e meta-análise / Edvin Walter Brito Gomes ; Natália Marcumini Pola, orientadora. — Pelotas, 2022.

88 f.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Clínica Odontológica - ênfase em Periodontia, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas, 2022.

1. Doenças periodontais. 2. Bolsas periodontais. 3. Terapia fotodinâmica. 4. Laserterapia. 5. Terapia periodontal de suporte. I. Pola, Natália Marcumini, orient. II. Título.

Black : D64

Elaborada por Fabiano Domingues Malheiro CRB: 10/1955

Edvin Walter Brito Gomes

Uso do laser e da terapia fotodinâmica antimicrobiana como adjuvantes à raspagem e alisamento radicular em pacientes submetidos a terapia periodontal de suporte: uma revisão sistemática e meta-análise.

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Odontologia, área de concentração em Clínica Odontológica/Periodontia, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas.

Data da defesa: 29/03/2022

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Natália Marcumini Pola (Orientadora)
Doutora em odontologia pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.

Prof. Dr. Wilker Mustafa Gomes Muniz
Doutor em Clínica Odontológica/Periodontia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Profa. Dra. Camila Silveira Sfreddo
Doutora Ciências Odontológicas com Ênfase em Periodontia/ Universidade Federal de Santa Maria.

Prof. Dr. Josué Martos
Doutor em Investigação em Odontologia - Universidad de Granada (ES).

Prof. Dr. Thiago Marchi Martins (Suplente)
Doutor em Odontologia/Periodontia- Araçatuba pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Brasil.

Prof. Dr. José Antônio Mesquita Damé (Suplente)
Doutor em Periodontia, Faculdade de Odontologia de Bauru - Universidade de São Paulo.

Agradecimentos

A Deus que na sua plenitude e sabedoria me guiou até aqui, pela oportunidade de fazer esse doutorado me fazendo crescer pessoal e profissionalmente e ser melhor a cada momento.

Aos Africanos residentes em Pelotas, que me acompanharam durante esta etapa do doutorado.

A minha família que sempre me apoiou e me incentivou mesmo estando longe e que não acompanharam quase nada da minha formação Universitária até aqui, mas espero que eles possam assistir à defesa de forma presencial.

A minha família Pelotense, formada durante estes 10 anos que estou nesta cidade.

Aos amigos do Doutorado e especialmente os da Ênfase em Periodontia, que me ajudaram em tudo que precisei e me ajudaram a construir essa etapa com mais leveza.

A minha Orientadora Natália Marcumini Pola, por acreditar em mim e me apoiar nessa etapa mesmo quando eu não queria.

A Universidade Federal de Pelotas que me acolheu aqui em 2012 e até hoje tem me proporcionado muitas oportunidades que com certeza eu aproveitei da melhor forma possível.

Não importa o que aconteça, continue a nadar (Walters, Graham; Procurando Nemo, 2003)

Notas Preliminares

O presente trabalho de conclusão de curso foi redigido segundo o Manual de normas UFPel para trabalhos acadêmicos da Universidade Federal de Pelotas de 2019, adotando o Nível de Descrição em Artigos, descrita no referido manual. <<https://wp.ufpel.edu.br/sisbi/files/2019/06/Manual.pdf>> Acesso em: <15 de março de 2022>.

Resumo

GOMES, Edvin Walter Brito. **Uso do laser e da terapia fotodinâmica antimicrobiana como adjuvantes à raspagem e alisamento radicular em pacientes submetidos a terapia periodontal de suporte: uma revisão sistemática e meta-análise.** 2022. 101f. Tese (Doutorado em Odontologia). Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal de Pelotas, 2022.

Atualmente a eficácia clínica do laser e da terapia fotodinâmica antimicrobiana (TFDa) no tratamento periodontal é controversa. Portanto, o objetivo deste trabalho é avaliar, por meio de uma revisão sistemática da literatura, o uso dessas terapias adjuntas à raspagem e alisamento radicular (RAR) em pacientes submetidos a terapia periodontal de suporte. As buscas dos estudos foram realizadas em sete bases de dados (MEDLINE - PubMed, Scopus, Web of Science, BBO, Lilacs, SciELO e Cochrane Library) até Dezembro de 2021 para selecionar ensaios clínicos randomizados que utilizaram laser ou aPDT como adjuvantes à RAR no tratamento de bolsas residuais na fase de manutenção periodontal. A seleção dos estudos, extração dos dados e análise de risco de viés foram realizadas de forma independente por dois revisores, e um terceiro pesquisador foi envolvido para resolver as divergências. Metanálises foram realizadas para avaliação dos parâmetros clínicos periodontais profundidade de sondagem (PS), sangramento à sondagem (SS) e nível de inserção clínica (NIC) nos grupos tratados com as terapias adjuntas de laser e terapia fotodinâmica em comparação aos tratados apenas com raspagem e alisamento radicular. A diferença média (DM) entre os parâmetros, o desvio padrão e o intervalo de confiança de 95% (IC95%) foram estimados. Inicialmente 4416 artigos foram encontrados, mas somente 14 preencheram todos os critérios de inclusão para avaliação completa. Para análise quantitativa, 11 estudos foram incluídos. A maioria dos estudos reportou diferenças significativas nos parâmetros de PS, NIC e SS, quando as terapias adjuntas foram utilizadas, mas não houve diferenças significativas quando comparadas a raspagem isolada. Na avaliação quantitativa, a metanálise mostrou redução significativa do SS aos 90 dias quando foi realizada apenas a raspagem e alisamento radicular (DM 2,45, IC95% [0,57 - 4,34]). Conclui-se que o uso do laser e da TFDa como adjuntos a raspagem e alisamento radicular não promovem benefícios no tratamento de

bolsas residuais durante a fase de manutenção periodontal. No entanto, diante da alta heterogeneidade observada nos estudos incluídos, sugere-se que estudos futuros e bem delineados sejam desenvolvidos, avaliando o papel destas terapias como adjuntas ao tratamento periodontal convencional.

Palavras-chaves: doenças periodontais; bolsas periodontais; terapia fotodinâmica; laserterapia; terapia periodontal de suporte.

Abstract

GOMES, Edwin Walter Brito. **Use of laser and antimicrobial photodynamic therapy as adjuncts to scaling and root planing in patients undergoing supportive periodontal therapy: a systematic review and meta-analysis.** 2022. 101f. Thesis (Ph.D. in Dentistry). Post-Graduate Program in Dentistry, Federal University of Pelotas, 2022.

Currently, the clinical efficacy of laser and antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) in periodontal treatment is controversial. Therefore, the objective of this study is to evaluate, through a systematic review of the literature, the use of these therapies adjunct to scaling and root planing (SRP) in patients undergoing supportive periodontal therapy (SPT). Searches for studies were performed in seven databases (MEDLINE - PubMed, Scopus, Web of Science, BBO, Lilacs, SciELO, and Cochrane Library) until December 2022¹ to select randomized clinical trials that used laser or PDT as adjuvants to SRP in the treatment of residual pockets in the SPT. Study selection, data extraction, and risk of bias analysis were performed independently by two reviewers. A third researcher was involved to resolve disagreements. Meta-analyses were performed to assess periodontal clinical parameters probing pocket depth (PPD), bleeding on probing (BOP), and clinical attachment level (CAL) in groups treated with adjunctive therapies compared to untreated. The mean difference (MD) between the parameters, the standard deviation, and the 95% confidence interval (95%CI) were estimated. Initially, 4416 articles were found, but only 14 met all the inclusion criteria for a full evaluation. For quantitative analysis, 11 studies were included. Most of the studies reported significant differences in PPD, CAL and BOP parameters when adjunctive therapies were used, but there were no significant differences when compared to SRP alone. In the quantitative analysis, the meta-analysis showed a significant reduction in BOP at 90 days when photodynamic therapy was performed (DM 2.45, 95%CI [0.57 - 4.34]). It is concluded that the use of PDT laser as adjuncts to scaling and root planing do not promote benefits in the treatment of residual pockets during the SPT phase. However, given the high heterogeneity observed in the included studies, it is suggested that future and well-designed studies be developed, evaluating the role of these therapies as adjuncts to conventional periodontal treatment.

Keywords: periodontal diseases; periodontal pockets; photodynamic therapy; laser therapy; supportive periodontal therapy.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Fluxograma do Prisma que resume a seleção dos artigos Pg. 67
- Figura 2.** Forest plot para a metanálise de medidas clínicas de profundidade de sondagem entre a TFDa e o grupo controle, aos 90 dias após os tratamentos. Pg. 80
- Figura 3.** Forest plot para a metanálise de medidas clínicas de nível de inserção clínica entre a TFDa e o grupo controle, aos 90 dias após os tratamentos. Pg. 81
- Figura 4.** Forest plot para a metanálise de medidas clínicas de sangramento a sondagem entre a TFDa e o grupo controle, aos 90 dias após os tratamentos. Pg. 82
- Figure 5.** Risco de viés dos estudos incluídos. Pg. 83

LISTA DE TABELAS

Tabela S1.	Estratégia de busca para base de dados Medline	Pg. 66
Tabela 1.	Análise descritiva dos estudos incluídos.	Pg. 68
Tabela 2.	Protocolo da laser e terapia fotodinâmica antimicrobiana utilizada nos estudos incluídos.	Pg. 73
Tabela 3.	Valores médios dos parâmetros clínicos periodontais dos estudos incluídos reportados antes e aos 3, 6 e 12 meses após tratamentos realizados.	Pg. 76

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

SRP	Scaling and root planing
PPD	Probing pocket depth
CAL	Clinical attachment level
RCT	Randomized controlled trial
DP	Doença Periodontal
IL	Interleukin
SD	Standard deviation
Dox	Doxycycline
PDT	Antimicrobial photodynamic therapy
SPT	Supportive periodontal therapy
EG	Edvin Gomes
CFS	Caroline Fernandes e Silva
NMP	Natália Marcumini Pola
TPS	Terapia periodontal de suporte
BOP	Bleeding on probing
SPT	Supportive periodontal therapy
RAR	Rapagem e alisamento coronoradicular
VEGF	vascular endothelial growth factor

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	24
LISTA DE TABELAS	25
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	26
1. INTRODUÇÃO	28
2. PROJETO DE PESQUISA*	30
3.1. Objetivo Geral	35
3.2. Objetivos Específicos	35
4. Hipótese	35
5. Metodologia	35
5.2. População e período do estudo	36
5.3. Aspectos éticos	36
5.4. Cálculo amostral	36
5.5. Seleção da amostra – critérios de inclusão e exclusão	37
5.6.1. Entrevista dialogada	37
5.6.2. Instrumentos de avaliação	37
5.7. Análise dos dados	39
6. Orçamento	39
7. Cronograma	40
8. Referências	41
9. Apêndices	47
3. RELATÓRIO DE TRABALHO DE CAMPO	56
4. ARTIGO 1*	58
5. CONCLUSÃO	98
6. REFERÊNCIAS	99

1. INTRODUÇÃO

As doenças periodontais (DP) são causadas por microrganismos e caracterizam-se como condições crônicas infecto-inflamatórias (CEKICI et al., 2014; HOARE et al., 2019). A gengivite induzida por biofilme bacteriano e a periodontite representam as doenças periodontais mais prevalentes, e a progressão destas é dependente da interação dinâmica entre o sistema imunológico do hospedeiro e o desafio microbiano (DAHLEN; BASIC; BYLUND, 2019). A doença periodontal é uma das principais causas de perda dentária, o que leva ao comprometimento da qualidade de vida, estética e função do indivíduo (ALBANDAR; RAMS, 2002; PIHLSTROM; MICHALOWICZ; JOHNSON, 2005).

O tratamento das doenças periodontais é fundamentado na redução da microbiota periodontopatogênica por meio do procedimento de raspagem e alisamento radicular (RAR) (KALDAHL et al., 1993; DRISKO, 2014). Esta modalidade terapêutica, embora efetiva (COBB, 1996), pode falhar na eliminação de microrganismos localizados em áreas inacessíveis aos instrumentos periodontais, como as áreas de furca e depressões radiculares (MATIA et al., 1986; FEKRAZAD et al., 2016), levando a altas taxas de recidiva da doença e perda dentária (ROMANAUSKAITE et al., 2020). Com o objetivo de otimizar os resultados no manejo da patologia, têm-se investigado a necessidade de instituir terapias alternativas à RAR (BUDUNELI et al., 2004) que possam auxiliar na redução das bolsas residuais que permanecem ativas após a primeira intervenção (GRAZIANI et al., 2018). Estudos têm reportado que o uso de modalidades terapêuticas adjuntas a raspagem convencional, como a antibioticoterapia local, laserterapia, dentre outras, pode promover a melhora dos parâmetros clínicos periodontais durante a fase de manutenção periodontal (ROMANAUSKAITE et al., 2020; MATESANZ et al., 2013).

A terapia periodontal de suporte (TPS) ou manutenção periodontal consiste no debridamento de bolsas periodontais persistentes para garantir a interrupção de formação de populações microbianas colonizadoras, além de minimizar a resposta inflamatória que sustenta a progressão da doença periodontal (ROMANAUSKAITE et al., 2021). De acordo com a Academia

Americana de Periodontia (AAP 2000, AAP 2003), para que os objetivos sejam alcançados, a TPS deve incluir atualização do histórico médico e odontológico do paciente, exame de tecidos moles intra e extraorais, exames odontológicos e radiográficos, avaliação do desempenho de higiene bucal do paciente, avaliação periodontal e de risco, remoção supra e subgengival de placa bacteriana, cálculo dentário e retratamento da doença quando indicado.

Dentre as modalidades de tratamento adjuntas a RAR utilizadas na TPS, a laserterapia e a terapia fotodinâmica antimicrobiana (TFDa) têm sido recentemente investigadas (GRZECH-LESNIAK et al., 2019; FRANCO et al., 2019). A justificativa para o uso das modalidades terapêuticas mencionadas está na capacidade de redução da inflamação, celeridade no processo de reparo, e redução da dor promovida pelo laser, e nas propriedades antimicrobianas da TFDa (THEODORO et al., 2021; ALMEIDA et al., 2008a, PRAZMO et al., 2016), características potencialmente benéficas para o auxílio no controle da doença periodontal. No entanto, os estudos são controversos com relação aos resultados reportados com o uso dessas terapias na fase de manutenção periodontal (MANRESA et al., 2018; ROMANAUSKAITE et al., 2020).

Nesse contexto, o objetivo do presente estudo é avaliar, por meio de uma revisão sistemática da literatura, o uso da laserterapia e da terapia fotodinâmica antimicrobiana como adjuvantes ao tratamento periodontal convencional em indivíduos submetidos a terapia periodontal de suporte.

2. PROJETO DE PESQUISA*

Introdução

A má oclusão tem sido definida como um desvio da oclusão normal (SABBATINI, 2012), que pode acarretar alterações funcionais, estéticas ou psicossociais com consequências negativas para a qualidade de vida dos indivíduos (PERES et al. 2008). Os primeiros sinais da má oclusão podem ser observados ainda durante o desenvolvimento da dentição mista, na erupção dos primeiros molares decíduos (DE CASTRO et al. 2002). Caso não ocorram intervenções para correção dessas alterações, o reflexo pode ser eminente na adolescência com altas taxas de prevalência de más oclusões, tais como sobremordida e sobressaliência exageradas, apinhamento ântero-inferior e mordidas cruzadas. A terapia ortodôntica não deve ter como objetivo apenas a correção dessas más oclusões, mas também o estabelecimento de estética dentária e facial adequadas, além da boa função mastigatória (GKANTIDIS et al. 2010).

Os problemas oclusais ocupam a terceira posição em uma escala de prioridades dos problemas bucais, proposta pela Organização Mundial da Saúde (PERES et al. 2008). No Brasil, a prevalência de pelo menos um problema de má oclusão em crianças de cinco anos é de 66,7%, enquanto oclusopatias severa e muito severa entre os 15 e 19 anos registradas em 2010 são 6,6% e 10,3% respectivamente (SBBrasil, 2010).

As alterações oclusais são resultantes da interação entre fatores genéticos e ambientais (RONCALLI et al. 2012). Algumas pesquisas destacam associação entre a presença de más oclusões e condições socioeconômicas desfavoráveis (FRAZÃO, 2006). O mesmo pode ser observado em relação à associação com aspectos demográficos e com a presença de outros agravos bucais como cárie e perda dentária (FRAZÃO, 2006; PEREZ et al. 2007; ROBKE, 2008).

A movimentação dentária que ocorre durante o tratamento ortodôntico baseia-se nas forças aplicadas ao dente, as quais produzem tensões no

ligamento periodontal, promovendo tração ou alongamento de suas fibras. Estas forças induzem a formação ou reabsorção ósseas e, conseqüentemente, o movimento dos dentes (CUOGHI et al. 2018). Nesse processo, é de extrema importância que não haja comprometimento da saúde periodontal, com a manutenção adequada dos tecidos de suporte dos dentes (HAAS et al. 2014; TONDELLI, 2019).

Nesse contexto, a presença de placa bacteriana supragengival em torno da gengiva marginal é o fator etiológico primário para o desenvolvimento das doenças periodontais (DP) (MADARIAGA et al. 2020). As DPs são atualmente classificadas em doenças gengivais e periodontite (CATON et al. 2018), sendo a gengivite caracterizada pela inflamação reversível dos tecidos de revestimento periodontal, enquanto a periodontite está associada a reabsorção óssea, podendo levar a perda dentária (LLAMBÉS et al. 2015; KHARAEVA et al. 2019). As principais manifestações clínicas envolvem o aumento da profundidade de sondagem, perda clínica de inserção e sangramento gengival (PAPAPANOU et al. 2017). Atualmente, a periodontite é considerada uma doença inflamatória disbiótica, com impacto negativo em sítios intra e extraorais (HAJISHENGALLIS, 2015). A gengivite nem sempre progride para uma periodontite, mas a periodontite sempre é precedida de um quadro de gengivite (SOMMER et al. 2019).

A DP é um problema comum entre crianças, adolescentes e adultos (MADARIAGA et al. 2020). Dados epidemiológicos demonstram que 50% da população mundial apresenta a saúde periodontal comprometida (TSIOUFIS et al. 2011), com maior prevalência em minorias, países pobres e em desenvolvimento (NEGRATO et al. 2013; OPPERMANN et al. 2015). A DP tem sido considerada um problema de saúde pública, sobretudo por proporcionar um aumento no comprometimento estético, mastigação e função dos indivíduos (PETERSEN et al. 2012; BOTERO et al. 2015; PAPAPANOU et al. 2017). Isto se deve principalmente ao edentulismo e disfunções mastigatórias ocasionados pela periodontite, que refletem em grandes necessidades de reabilitação oral, influenciando a saúde geral e qualidade de vida dos pacientes (PAPAPANOU et al. 2017).

Considerando que a colocação de bandas e braquetes ortodônticos são fatores de retenção de placa bacteriana (HAAS et al. 2014; GHIJSELINGS et al. 2014; VERRUSIO et al. 2018; JIANG et al. 2018), alguns autores têm demonstrado que pacientes submetidos ao tratamento ortodôntico apresentaram maior acúmulo de placa e aumento da profundidade de sondagem, o que pode resultar em destruição periodontal (MOOSA et al. 2015). Uma revisão sistemática recente avaliou os índices de inflamação dos tecidos periodontais frente ao uso de diferentes aparelhos ortodônticos (VERRUSIO et al. 2018). Os autores demonstraram que após o tratamento ortodôntico há um aumento dos parâmetros clínicos periodontais como sangramento à sondagem, profundidade de sondagem, nível de inserção clínica, entre outros. Os resultados sugerem ainda que durante a movimentação ortodôntica há alteração da composição e acúmulo da microbiota subgengival, o que está relacionado a diferentes quadros de inflamação (VERRUSIO et al. 2018).

Quando avaliados os tipos de aparelhos ortodônticos disponíveis no mercado, a literatura atual ainda é incerta com relação ao acúmulo de biofilme e saúde periodontal. Recentemente, LU et al. (2018) avaliaram o estado de saúde periodontal de pacientes em tratamento ortodôntico com aparelhos fixos e alinhadores por meio de uma revisão sistemática e meta análise. Seus resultados apontaram que os pacientes tratados com os alinhadores apresentam menores índices de placa e sangramento gengival quando comparados com aqueles que fazem uso do aparelho fixo. Outros autores reforçam esta ideia, e sugerem que a dificuldade de higiene que o uso de aparelho fixo promove aos pacientes é responsável pelo maior acúmulo de placa e desenvolvimento de inflamações gengivais (JIANG et al. 2018; ROSSINI et al. 2015). No entanto, durante a terapia periodontal de manutenção, é reportado que não há diferenças significativas entre os aparelhos fixos e alinhadores com relação aos parâmetros de inflamação gengival (MADARIAGA et al. 2020).

Além da saúde periodontal, outro fator extremamente relevante é a ocorrência de quadros de halitose durante o tratamento ortodôntico. A halitose é definida como um cheiro desagradável na boca, proveniente de condições patológicas, não patológicas, fisiológicas ou sistêmicas (TONZETICH, 1977). É uma condição relatada por até 50% da população em diferentes graus (ABDULRAHEEM et al. 2019). Poucas evidências são reportadas na literatura

que avaliem o tratamento ortodôntico e ocorrência de halitose. Um estudo recente relata que aparelhos ortodônticos fixos parecem atuar como fator de risco para o desenvolvimento de mal odor, independente das alterações periodontais e tipo de braquetes utilizados (HUANG et al. 2018). O uso de aparelhos fixos aumentou o mal odor em níveis críticos após 7 meses de tratamento ortodôntico em pacientes diagnosticados com má oclusão Classe I de Angle. Junto a isto, os aumentos no índice de placa, índice gengival, bem como na profundidade de sondagem também foram reportados (SÖKÜCÜ et al. 2016).

Para um controle adequado dessas condições, é importante que os pacientes tenham conhecimento das mesmas, e também de suas formas de prevenção. A percepção dos indivíduos sobre doença é um conceito psicológico (DIEFENBACH e LEVENTHAL, 1996), onde o paciente cria uma representação emocional e cognitiva individual de doença. A representação cognitiva é descrita por identidade (através dos sintomas que fazem parte da doença), linha do tempo (duração da doença), cura ou controle (controle percebido da doença e eficácia do tratamento) e causalidade (fatores que se acredita serem a causa da doença) (HAGGER e ORBELL, 2003). Autores relatam que para o processamento dessas representações os pacientes primeiramente compreendem a doença, depois adotam comportamentos para lidar ela (estratégias de enfrentamento) e, por fim, avaliam a eficácia desses comportamentos (BROADBENT, PETRI, MAIN E WEINMAN, 2006; MACHADO et al. 2019). Interessante ressaltar que a falta de conhecimento dos pacientes sobre as condições bucais que podem vir a apresentar, bem como a negligência com a saúde bucal podem levar a um controle inadequado do biofilme e patologias subsequentes (ELANCHEZHIAN et al. 2010). ALHAIJA et al. (2018) avaliaram o conhecimento e a conscientização de pacientes em tratamento ortodôntico quanto à saúde periodontal que apresentavam. Eles concluíram que conhecimento dos pacientes com relação à saúde periodontal foi pequeno e a conscientização foi influenciada pela idade, atitude e duração do tratamento ortodôntico.

Um estudo que avaliou o desconforto atribuído ao uso do aparelho ortodôntico fixo em adolescentes reportou que fatores como a dificuldade na

alimentação, higiene oral e fala, mobilidade dentária, halitose, comprometimento do paladar e sangramento gengival estavam associados ao desconforto dos pacientes, influenciando negativamente em sua qualidade de vida (MARQUES et al. 2014). Sendo assim, é de extrema importância que estas condições relatadas possam ser controladas durante a movimentação dentária. O cirurgião dentista deve ter como papel orientar seus pacientes quanto as alterações que o tratamento ortodôntico promove e também as implicações na saúde bucal que possam vir a ocorrer. As orientações e motivações dos pacientes devem preceder o tratamento, para que a correção das más oclusões possa ocorrer com saúde bucal adequada. O método de autoavaliação/percepção proporciona ao indivíduo o entendimento de sua própria condição bucal e é um fator essencial, tanto para sua motivação na busca por melhorias na saúde bucal, como para que as estratégias preventivas e educativas possam ser idealizadas da melhor forma (ROSA et al. 2013).

2. Justificativa

A manutenção da saúde oral e periodontal durante o tratamento ortodôntico é de extrema importância, uma vez que permite que movimentações dentárias sejam executadas com segurança, sem prejuízos aos pacientes, como por exemplo, a ocorrência de perdas dentárias. Dentro desse contexto, é importante que os pacientes tenham conhecimento das patologias que podem vir a ocorrer durante o tratamento, e assim possam desenvolver motivação e prática do autocuidado. Com o desenvolvimento de bons hábitos de higiene bucal, há o controle adequado do biofilme, o que auxilia na prevenção de doenças e condições bucais durante a movimentação dentária.

3. Objetivo

3.1. Objetivo Geral

O objetivo do presente estudo será avaliar a autopercepção de doença periodontal, halitose e o impacto da halitose na qualidade de vida de pacientes com má-oclusão, previamente ao tratamento ortodôntico.

3.2. Objetivos Específicos

- Avaliar a autopercepção da doença periodontal de pacientes com más oclusões, previamente ao tratamento ortodôntico, por meio de questões que visem o conhecimento do paciente sobre sinais e sintomas clínicos da doença periodontal;

- Avaliar a autopercepção da halitose de pacientes com más oclusões, previamente ao tratamento ortodôntico, por meio de questões que abordem a ocorrência e percepção de halitose pelo paciente;

- Avaliar o impacto da halitose na qualidade de vida de pacientes com más oclusões, previamente ao tratamento ortodôntico, por meio do teste de qualidade de vida associada a halitose (Halitosis Associated Life quality Test" - HALT).

4. Hipótese

A hipótese testada é que os pacientes que irão iniciar o tratamento ortodôntico possuem baixa conscientização e conhecimento da doença periodontal e halitose. Além disso, a halitose influencia negativamente a qualidade de vida do indivíduo.

5. Metodologia

5.1. Delineamento do estudo

Este estudo clínico se caracteriza como transversal e envolverá uma amostra de adolescentes e adultos que iniciarão o tratamento ortodôntico em clínicas e/ou institutos odontológicos privados da cidade de Pelotas/RS, entre os anos 2020 e 2021. Resumidamente, previamente ao início do tratamento

ortodôntico, os pacientes passarão por uma entrevista de contato inicial, composta por um bloco de identificação, avaliação sociodemográfica, socioeconômica e histórico médico do indivíduo. O segundo bloco será composto por três questionários, que serão aplicados para avaliar (I) nível de percepção de doença periodontal; (II) nível de percepção de halitose; (II) impacto da halitose na qualidade de vida do indivíduo.

5.2. População e período do estudo

O estudo será realizado nas clínicas odontológicas e/ou institutos privados da cidade de Pelotas/RS que realizam tratamento odontológico da especialidade de Ortodontia. O período do estudo será de julho de 2020 a janeiro de 2022.

5.3. Aspectos éticos

Este estudo será submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Pelotas e, somente depois de aprovado, a coleta de dados será iniciada. A concordância em participar do estudo será obtida de forma presencial, por meio de convite realizado aos pacientes durante a consulta de início do tratamento. Serão fornecidas informações sobre o estudo, objetivos, riscos e benefícios a todos os pacientes. Os pacientes ou seus responsáveis receberão o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE – Apêndice A) ao início do estudo, no qual deverão assinar a concordância e consentimento com a pesquisa realizada.

5.4. Cálculo amostral

O cálculo da amostra foi baseado em estudo clínico prévio, que apresentou como objetivo relatar o conhecimento e a conscientização quanto à saúde periodontal dos pacientes ortodônticos (ALHAIJA et al. 2018). Sendo assim, considerando um intervalo de confiança de 5,7% calculado com base no estudo de ALHAIJA et al. (2018), nível de confiança de 95%, o tamanho mínimo da amostra resultou em 297 indivíduos. Considerando possíveis perdas e recusas, foi acrescentado 20% na amostra, totalizando 356 participantes.

5.5. Seleção da amostra – critérios de inclusão e exclusão

Os critérios adotados para a inclusão de pacientes neste estudo serão os seguintes:

- (1) Apresentar idade entre 10 e 59 anos;
- (2) Apresentar má oclusão diagnosticada por um cirurgião dentista;
- (3) Não ter realizado tratamento odontológico nos últimos 6 meses;

Serão excluídos do estudo:

- (1) Pacientes que não se enquadrem na faixa etária de inclusão;
- (2) Pacientes que irão fazer o uso de aparelhos ortopédicos fixos ou removíveis;
- (3) Pacientes com distúrbios neurológicos e/ou cognitivos que sejam impedidos de responder aos questionários;
- (4) Pacientes com fissura labiopalatal;
- (5) Pacientes gestantes.

5.6. Coleta de Dados

5.6.1. Entrevista dialogada

Esta etapa será constituída da aplicação de questionário para investigação das condições sociodemográficas e socioeconômicas dos indivíduos selecionados. Também será realizada anamnese para registro da saúde geral e odontológica dos pacientes (Apêndice B). A coleta dos dados será realizada por um investigador previamente treinado (EBG). Os questionários serão aplicados nas clínicas privadas, em horários convenientes para o paciente, nos dias de consultas para avaliação inicial ou instalação do aparelho ortodôntico.

5.6.2. Instrumentos de avaliação

Os pacientes selecionados passarão por entrevista dialogada, para coleta dos dados e avaliação do perfil sociodemográfico dos mesmos. Os seguintes questionários serão aplicados:

(1) Questionário Sociodemográfico – abrange os tópicos como dados pessoais, hábitos de higiene, fatores comportamentais, socioeconômicos e história médica pacientes (Apêndice B).

(2) Questionário de autopercepção de doença periodontal – este critério será avaliado através de questionário onde serão analisados os sinais e sintomas de doença periodontal percebidos pelos próprios pacientes. As questões referem-se, de forma simplificada, a observação de sangramento gengival, mobilidade dentária, experiências odontológicas prévias do indivíduo segundo a própria capacidade compreensão e relato. Outras variáveis como impactação alimentar entre os dentes e recessão gengival também serão analisados. O questionário será adaptado para ser aplicado em português, com base no estudo de KHADER et al. (2015) (Apêndice C).

(3) Questionário de Autopercepção da Halitose – este critério será avaliado através de questionário que abrange a presença e percepção da halitose pelo próprio paciente. Também será avaliado se o paciente realizou algum tratamento profissional ou caseiro para tratar a halitose. Hábitos de higiene bucal incluindo frequência de escovação, uso de dispositivos interdentais e enxaguantes bucais também serão avaliados, além da autopercepção de outras doenças bucais como cárie dentária, sangramento gengival e ressecamento bucal. O questionário será adaptado para ser aplicado em português, com base no estudo de ASHWATH et al. (2014) (Apêndice D).

(4) Questionário do Impacto da Halitose na qualidade de vida (*Halitosis Associated Life-quality Test – HALT*) – este critério será avaliado através do questionário HALT que abrange o impacto da halitose no desencadeamento de uma autoimagem negativa e restrição ao convívio social do indivíduo. É um questionário composto por 20 perguntas relacionadas a limitações físicas, emocionais e funcionais, bem como as dificuldades pessoais e sociais decorrentes da presença de halitose. Os itens serão medidos por meio de uma escala (escala de Likert) que varia de 0 a 5 pontos, onde o escore atribuído indica a intensidade do problema com base em sua frequência. As pontuações podem variar de 0 a 100 e quanto maior a pontuação, maior impacto na qualidade de vida do indivíduo. O questionário será aplicado em português, seguindo a validação do HALT proposta no estudo de Agostinho et al. (2019) (Apêndice E).

5.7. Análise dos dados

Após tabulação dos dados, será realizada uma análise descritiva (frequência absoluta/relativa, mediana e quartis), para caracterização dos dados da amostra, bem como distribuição dos participantes de acordo com os desfechos avaliados. Os dados serão tabulados no programa Excel, agrupados e submetidos à análise estatística para verificar as possíveis correlações existentes. A normalidade dos dados será analisada e os mesmos serão submetidos ao teste paramétrico ou não paramétrico mais adequado. Para todos os testes, o nível de significância de 5% será adotado. Os dados serão analisados utilizando-se o programa de computador SPSS Statistics, versão 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA).

6. Orçamento

Os recursos necessários para realização do estudo serão financiados pelos próprios pesquisadores.

Descrição	Quantidade	Preço unitário (R\$)	Preço total (R\$)
Folha A4	6 pacotes	18,00	108,00
Canetas	10	0,75	7,50
Impressão	2492	0,10	249,20
Pastas	5	10,00	50,00
Deslocamento do pesquisador	90	8,00	720,00
TOTAL			1134,70

7. Cronograma

	2020					2021						2022
Atividade/ bimestre	Abril- Mai	Jun - Jul	Ago- Set	Out- Nov	Dez	Jan- Fev	Mar- Abr	Mai- Jun	Jul- Ago	Set- Out	Nov- Dez	Jan
Qualificação do projeto de pesquisa e adaptação	X											
Treinamento do examinador		X										
Seleção das pacientes			X	X	X	X	X	X				
Coleta de dados				X	X	X	X	X	X			
Tabulação dos dados						X	X	X	X	X		
Análise dos dados									X	X		
Análise estatística										X		
Redação do relatório final, manuscritos e submissão para publicação											X	X

8. Referências

1. ABDULRAHEEM, S.; PAULSSON, L.; PETRÉN, S.; SONESSON, M. Do fixed orthodontic appliances cause halitosis? A systematic review. *BMC Oral Health*. 2019 May 2;19(1):72. doi: 10.1186/s12903-019-0761-1.
2. AGOSTINHO, A. C.; SOUSA, K. G.; DE Freitas, C. N.; DE & BARBOSA, T. DE S. (2019). Translation, Transcultural Adaptation and Validation of the Halitosis Associated Life-Quality Test for Use in Brazilian Adolescents. *Pesquisa Brasileira Em Odontopediatria e Clínica Integrada*, 19(1), 1–14. doi:10.4034/pboci.2019.191.14
3. ALHAIJA, E.S.A.; AL-SAIF, E.M.; TAANI, D.Q. Periodontal health knowledge and awareness among subjects with fixed orthodontic appliance. *Dental Press J Orthod*. 2018 Sep-Oct;23(5):40.e1-40.e9. doi: 10.1590/2177-6709.23.5.40.e1-9.onl.
4. ASHWATH, B.; VIJAYALAKSHIM, R.; MALINI, S.; Self-perceived halitosis and oral hygiene habits among undergraduate dental students. *J Indian Soc Periodontol*. 2014 May;18(3):357-60. doi: 10.4103/0972-124X.134575.
5. BOTERO, J.E.; RÖSING, C.K.; DUQUE, A.; JARAMILLO, A.; & CONTRERAS, A. Periodontal disease in children and adolescents of Latin America. *Periodontology*, 2015.
6. BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE ATENÇÃO À SAÚDE, DEPARTAMENTO DE ATENÇÃO BÁSICA, PROJETO SB BRASIL 2010: Condições de saúde bucal da população brasileira 2009-2010: resultados principais; 2010, 52p.
7. BROADBENT, E.; PETRIE, K. J.; MAIN, J.; & WEINMAN, J. (2006). The Brief Illness Perception Questionnaire. *Journal of Psychosomatic Research*, 60, 631-637. doi:10.1016/j.jpsychores.2005.10.020
8. CATON, J.G.; ARMITAGE, G.; BERGLUNGH, T.; CHAPPLE, I.L.C.; JEPSEN, S.; KORNMAN, K.S.; MEALEY, B.L.; PAPAPANOU, P.N.; SANZ, M.; TONETTI, M.S. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions- introduction and key changes form 1999 classification, *J periodontal*. 2018 Jun; 89 Suppl 1: S1-S8. doi: 10.1002/JPER.18-0157.

9. CUOGHI, A.O.; TONDELLI, P.M.; MENDONÇA, M.R.; AIELLO, C.A.; COSTA, S.C.; TANAKA, O.M. Effect of different types of force on the amount of tooth movement, hyaline areas, and root resorption in rats. *Eur J Gen Dent*. 2018 SeptDec;7(3):66-71.
10. DE CASTRO, L.A.; MODESTO, A.; VIANNA, R.; SOVIERO, V.L. Cross-sectional study of the evolution of the primary dentition: shape of dental arches, overjet and overbite. *Pesqui Odontol Bras* 2002; 16(4):367-73.
11. DIEFENBACH, M.A.; LEVENTHAL, E.A.; LEVENTHAL, H.; PATRICK-MILLER, L. Negative affect relates to cross-sectional but not longitudinal symptom reporting: data from elderly adults. *Health Psychol*. 1996 Jul;15(4):282-8.
12. ELANCHEZHIAN, S.; RAJA. Awareness on gingival health among orthodontic correction seeking individuals. *J Indian Acad Dent Spec Res*. 2010;1(3):19-21
13. FRAZÃO P.; NARVAI P.C. Socio-environmental factors associated with dental occlusion in adolescents. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2006;129(6):809-16. doi:10.1016/j.ajodo.2004.10.016.
14. GHIJSELINGS, E.; COUCKE, W.; VERDONCK, A.; TEUGHEL, W.; QUIRYNEN, M.; PAUWELS, M.; CARELS, C.; VAN GASTEL, J. Long-term changes in microbiology and clinical periodontal variables after completion of fixed orthodontic appliances. *Orthod Craniofac Res*. 2014 Feb;17(1):49-59. doi: 10.1111/ocr.12031. Epub 2013 Sep 1.
15. GKANTIDIS, N.; CHRISTOU, P.; TOPOUZELIS, N. The orthodontic-periodontic interrelationship in integrated treatment challenges: a systematic review. *J Oral Rehabil*. 2010 May 1;37(5):377-90. doi: 10.1111/j.1365-2842.2010.02068.x. Epub 2010 Feb 25.
16. HAAS, A.N.; PANNUTI, C.M.; ANDRADE, A.K.; ESCOBAR, E.C.; ALMEIDA, E.R.; et al. Mouthwashes for the control of supragingival biofilm and gingivitis in orthodontic patients: evidence-based recommendations for clinicians. *Braz Oral Res*. 2014 July; 28:1-8.
17. HAGGER, M.; & ORBELL, S. (2003). A Meta-Analytic Review of the Common-Sense Model of Illness Representations. *Psychology and Health*, 18 (2), 141–184.

18. HAJISHENGALLIS, G. Periodontitis: From microbial immune subversion to systemic inflammation. *Nat. Rev. Immunol.* 2015 Jan;15(1):30-44. doi:10.1038/nri3785.
19. HUANG, J.; LI, C. Y.; JIANG, J. H. Effects of fixed orthodontic brackets on oral malodor: a systematic review and meta-analysis according to the preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses guidelines. *Medicine*, v. 97, n. 14, p.0-0, Apr. 2018.
20. JIANG, Q.; LI, J.; MEI, L.; DU, J.; LEVRINI, L.; ABBATE, G.M.; LI, H. Periodontal health during orthodontic treatment with clear aligners and fixed appliances: a meta-analysis. *J Am Dent Assoc.* 2018 Aug;149(8):712-720.e12. doi: 10.1016/j.adaj.2018.04.010. Epub 2018 Jun 18.
21. KHADER, Y.; ALHABASHNEH, R.; ALHERSH, F.; Development and validation of a self reported periodontal disease measure among Jordanians. *Int Dent J.* 2015 Aug;65(4):203-10. doi: 10.1111/idj.12170. Epub 2015 Jun 2.
22. KHARAEVA, Z.F.; MUSTAFAEV, M.S.; KHAZHMETOV, A.V.; GAZAEV, I.H.; BLIEVA, L.Z.; STEINER, L.; MAYER, W.; LUCA, C.; KORKINA, L.G. Anti-Bacterial and Anti-Inflammatory Effects of Toothpaste with Swiss Medicinal Herbs towards Patients Suffering from Gingivitis and Initial Stage of Periodontitis: from Clinical Efficacy to Mechanisms. *Dent J (Basel).* 2020 Jan 15;8(1). pii: E10. doi: 10.3390/dj8010010.
23. LLAMBÉS, F.; ARIAS-HERRERA, S.; CAFFESSE, R. Relationship between diabetes and periodontal infection. *World J Diabetes.* 2015 Jul 10;6(7):927-35. doi: 10.4239/wjd.v6.i7.927.
24. LU, H.; TANG, H.; ZHOU, T.; KANG, N. Assessment of the periodontal health status in patients undergoing orthodontic treatment with fixed appliances and Invisalign system: a meta-analysis. *Medicine (Baltimore).* 2018 Mar;97(13):e0248. doi: 10.1097/MD.00000000000010248.
25. MACHADO, V.; BOTELHO, J.; RAMOS C.; PROENÇA, L.; ALVES, R.; CAVACAS.; M.A.; MENDES, J.J. Psychometric properties of the Brief Illness Perception Questionnaire (Brief-IPQ) in periodontal diseases *J Clin Periodontol.* 2019 Dec;46(12):1183-1191. doi: 10.1111/jcpe.13186. Epub 2019 Oct 21.

26. MADARIAGA, A.C.P.; BUCCI, R.; RONGO, R.; SIMEON, V.; D'ANTÒ, V.; VALLETA, R. Impact of Fixed Orthodontic Appliance and Clear Aligners on the Periodontal Health: a prospective clinical study. *Dent J (Basel)*. 2020 Jan 2;8(1). pii: E4. doi: 10.3390/dj8010004.
27. MARQUES, L.S.; PAIVA, S.M.; VIEIRA-ANDRADE, R.G.; PEREIRA, L.J.; RAMOS-JORGE, M.L. Discomfort associated with fixed orthodontic appliances: determinant factors and influence on quality of life. *Dental Press J Orthod*. 2014 May-Jun;19(3):102-7.
28. MOOSA, Y.; HAN, L.N.; SAFDAR, J.; SHEIKH, O.A.; PAN, Y.P. Periodontal status of Pakistani orthodontic patients. *Braz Oral Res*. 2015;29. pii: S1806-83242015000100285. doi: 10.1590/1807-3107BOR-2015.vol29.0091. Epub 2015 Jul 7.
29. NEGRATO, C.A.; TARZIA, O.; JOVANOVIĆ, L.; CHINELLATO, L.E. Periodontal disease and diabetes mellitus. *J Appl Oral Sci*. 2013 Jan-Feb;21(1):1-12.
30. OPPERMANN, R.V.; HAAS, A.N.; ROSING, C.K.; SUSIN, C. Epidemiology of periodontal diseases in adults from Latin America. *Periodontol 2000*. 2015 Feb;67(1):13-33. doi: 10.1111/prd.12061.
31. PAPAPANOU, P.N.; SANZ, M.; et al. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Clin Periodontol*. 2018; 45(Suppl 20): S162–S170.
32. PERES, K.G.; LATORRE, M.R.D.O.; SHEIHAM, A.; PERES, M.A.; VICTORIA, C.G.; BARROS, F.C. Social and biological early life influences on the prevalence of open bite in Brazilian 6-year-olds. *Int J Paediatr Dent*. 2007;17(1):41-9. doi:10.1111/j.1365-263X.2006.00793.x
33. PERES, K.G.; TOMITA, N.E. Oclusopatias. In: ANTUNES JLF, PERES MA. In: *Epidemiologia da saúde bucal*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2008. p.83-101.
34. PEREZ, A.V.; GARCIA, R.G.; CÁRDENAS, L.A.; CARRASCO, G.R.; CASTRO, B.C.; LEZAMA, F.G.; et al. Índice estética dental (DAI) y necesidad de tratamiento ortodóncico en escolares, Verano 2007. *Oral*. 2008;9:472-5.

35. PETERSEN, P. E.; BAEHNI, P. C. Periodontal health and global public health. *Periodontology* 2000, v. 60, n. 1, p. 7–14, 2012.
36. ROBKE, F.J. Effects of nursing bottle misuse on oral health. Prevalence of caries, tooth malalignments and malocclusions in North-German preschool children. *J Orofac Orthop.* 2008;69(1):5-19. DOI:10.1007/s00056-008-0724-7.
37. RONCALLI, A.G.; MOYSES, S.J.; MARQUES, R; PINTO, R.S.; GOES, P.S.A.; FIGUEIREDO, N.; et al. Aspectos metodológicos do projeto SB Brasil 2010 de interesse para inquéritos nacionais de saúde. *Cad Saude Publica.* 2012;28(Suppl):s4057. doi:10.1590/S0102311X2012001300006.
38. ROSA, R.R.; HENRIQUES, J.C.G.; ANHALT, A.C.F., CASTILHO, J.C.d.M.; RODRIGUES, J.R.; NICODEMO, D. Autopercepção da saúde bucal e anamnese em idosos. *Rev Cienc Med* 2013; 22(1):5-11.
39. ROSSINI, G.; PARRINI, S.; CASTROFLORIO, T.; DEREGIBUS, A.; DEBERNARDI, C.L. Periodontal health during clear aligners treatment: a systematic review. *Eur J Orthod.* 2015 Oct;37(5):539-43. doi: 10.1093/ejo/cju083. Epub 2014 Dec 29.
40. SABBATINI, I.F. Avaliação dos componentes anatômicos do sistema estomatognático de crianças com bruxismo, por meio de imagens obtidas por tomografia computadorizada cone beam. Dissertação (Mestrado em Odontopediatria)–Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto. Universidade do Estado de São Paulo, São Paulo. 2012.
41. SÖKUCU, O.; AKPINAR, A.; ÖZDEMİR, H.; BIRLIK, M.; ÇALISIR, M. The effect of fixed appliances on oral malodor from beginning of treatment till 1 year. *BMC Oral Health.* 2016 Feb 4;16:14. doi: 10.1186/s12903-016-0174-3.
42. SOMMER, M.E.; DALIA, R.A.; NOGUEIRA, A.V.; CIRELLI, J.A.; VINOLO, M.A.; FACHI, J.L.; OLIVEIRA, C.A.; ANDRADE, T.A. Immune response mediated by Th1 / IL-17 / caspase-9 promotes evolution of periodontal disease. *Arch Oral Biol.* 2019 Jan;97:77-84. doi: 10.1016/j.archoralbio.2018.09.009. Epub 2018 Sep 19.
43. TONDELLI, P.M. Orthodontic treatment as an adjunct to periodontal therapy. *Dental Press J Orthod.* 2019 Sep 5;24(4):80-92. doi: 10.1590/2177-6709.24.4.080-092.bbo.

44. TONZETICH, J. Production and origin of oral malodor: a review of mechanisms and methods of analysis. *J Periodontol.* 1977 Jan;48(1):13-20.
45. TSIOUFIS, C.; KASIAKOGIAS, A.; THOMOPOULOS, C.; STEFANADIS, C. Periodontitis and blood pressure: the concept of dental hypertension. *atherosclerosis* 2011;219: 1-9.
46. VERRUSIO, C.; IORIO-SICILIANO, V.; BLASI, A.; LEUCI, S.; ADAMO, D.; NICOLÓ, M. The effect of orthodontic treatment on periodontal Tissue inflammation: a systematic review, *Quintessence int.* 2018; ;49(1):69-77. doi: 10.3290/j.qi.a39225.

9. Apêndices

Apêndice A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE

Título do Projeto: **“Avaliação da autopercepção de doença periodontal e halitose e o impacto na qualidade de vida de pacientes com más oclusões”**

Pesquisador Responsável: **Natália Marcumini Pola**

Instituição a que pertence o Pesquisador Responsável: FO/UFPEL

Telefones para contato: (53) 98114-4334

Contato eletrônico: nataliampola@gmail.com

Nome completo: _____

Idade: _____ anos

RG: _____ Telefones: _____

O (A) senhor (a) está sendo convidado (a) a participar do projeto de pesquisa “Avaliação da autopercepção de doença periodontal e halitose e o impacto na qualidade de vida de pacientes com más oclusões”, de responsabilidade da pesquisadora Natália Marcumini Pola.

OBJETIVO DO ESTUDO: Avaliar a autopercepção de doença periodontal, halitose e o impacto da halitose na qualidade de vida de pacientes com má-oclusão, previamente ao tratamento ortodôntico.

PROCEDIMENTOS: Para participar da pesquisa o(a) Sr.(a) responderá a um questionário contendo perguntas sobre a sua saúde, hábitos de vida, hábitos de higiene, histórico médico, dados socioeconômicos, entre outras. Também responderá perguntas sobre sua autopercepção de doença periodontal, halitose e impacto da halitose em sua qualidade de vida.

RISCOS: A presente pesquisa apresenta como risco o cansaço do paciente em responder aos questionários.

BENEFÍCIOS: O benefício em participar desta pesquisa é orientação quanto a importância dos cuidados com a saúde bucal durante o tratamento ortodôntico, com vias a prevenção de ocorrência de outras doenças.

PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA: a participação neste estudo será voluntária, podendo ser interrompida a qualquer momento, sem qualquer prejuízo.

DESPESAS: Eu não terei que pagar por nenhum dos procedimentos, nem receberei compensações financeiras.

CONFIDENCIALIDADE: Estou ciente que a identidade permanecerá confidencial durante todas as etapas do estudo e que em nenhum momento será permitido acesso de outra pessoa a esses dados, além do pesquisador ou do próprio indivíduo.

CONSENTIMENTO: Recebi claras explicações sobre o estudo, todas registradas neste formulário de consentimento, realizado em duas vias, ficando uma comigo e outra com o pesquisador. Os investigadores do estudo responderam e responderão, em qualquer etapa do estudo, a todas as minhas perguntas, até a minha completa satisfação. Portanto, estou de acordo em autorizar a participação no estudo.

Nome do participante: _____

LOCAL e DATA: _____, ____ / ____ / _____

DECLARAÇÃO DE RESPONSABILIDADE DO INVESTIGADOR: Expliquei a natureza, objetivos, riscos e benefícios deste estudo. Coloquei-me à disposição para perguntas e as respondi em sua totalidade. O participante compreendeu minha explicação e aceitou, sem imposições, assinar este consentimento. Tenho como compromisso utilizar os dados e o material coletado para a publicação de relatórios e artigos científicos referentes a essa pesquisa. Se o participante tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da UFPel – Rua: Gonçalves Chaves, 457 – Cep: 96015-560. Bairro: Centro - Pelotas/RS. Telefone (53) 3260-2801.

Assinatura do Pesquisador responsável : _____

Apêndice B - Entrevista dialogada

Prontuário na pesquisa: _____ Data: ____/____/____

Entrevista Dialogada

Dados pessoais

Nome: _____

Endereço: _____

_____ Cidade: _____

Telefones: () _____

Sexo: () F () M Data de Nascimento: ____/____/19____

Qual é a sua idade? _____ anos

Raça ou cor: () Branca () Negra () Parda/Mulata () Amarela () Indígena

Você é: () Solteiro () Casado/Vivendo com alguém () Divorciado () Viúvo
() Outro _____

Você é alfabetizado: () Sim () Não. Você estudou até:

Hábitos de Higiene Bucal

Com qual frequência você escova seus dentes: _____

Você divide a escova de dente com outras pessoas? () Sim () Não

Você costuma limpar entre os dentes? () Sim () Não

Se sim: - O que você usa? () Nada () Fio dental () Palito () Escova interdental
() Outro: _____

Com qual frequência?

Você usa algum produto para bochecho? () Não () Sim,

Frequência: _____

Alguém já te ensinou a escovar os dentes?

☐ nunca ☐ familiar ☐ professora ☐ dentista ☐ outro

Quando foi a última vez que você visitou um dentista?

☐ meses ☐ anos ☐ não lembra ☐ nunca

Você tem ido ao dentista nos últimos 5 anos?

☐ quando tem dor, ☐ quando tem um dente quebrado ou outra urgência

☐ tem ido regularmente para manutenção (De quanto em quanto tempo?
(_____)) ☐ não tem ido

Fatores comportamentais

Você fuma atualmente? ☐ Não ☐ Sim

Se sim: - Quantos cigarros por dia? _____

Há quantos anos? _____

Se não: - Você fumou anteriormente? ☐ Não ☐ Sim

Se sim: - Quantos cigarros por dia? _____

- Por quantos anos? _____

- Quanto tempo faz que você parou de fumar? _____

Você ingere bebidas alcoólicas? ☐ frequentemente ☐ às vezes ☐ raramente
☐ nunca

Se sim: - Qual tipo? ☐ cerveja ☐ vinho ☐ cachaça ☐
outros _____

Quantas doses/copos você, em geral, ingere por semana? _____

História médica

Você tem:	Sim	Não	Não sei
Diabetes?			
Asma, alergia a alimento, pós, medicação, etc.?			
Infecções respiratórias recorrentes (3 ou + por ano)?			
Doença cardíaca ou arterial?			
Artrite reumatoide?			
Osteoporose?			

Depressão?			

Você tem algum outro problema de saúde?

Você está usando alguma medicação no momento? () Não () Sim

Se sim: - Qual?

Nível socioeconômico

Quanto você recebe por mês: _____

Quanto _____ você possui?	Não tem	1	2	3	4 ou mais
TVs coloridas					
Rádios					
Banheiros					
Automóveis					
Empregadas (pagas mensalmente)					
Aspiradores de pó					
Máquinas de lavar roupa					
Dvds					
Refrigeradores					
Freezer (considerar refrigerador duplex)					

Apêndice C - Questionário de autopercepção de doença periodontal

Nº	PERGUNTA	Não	Sim
1	Você tem periodontite ou gengivite?		
2	Você já foi informado por um dentista que você tem doença periodontal/gengival com perda óssea?		
3	Você já foi informado de que precisa de tratamento periodontal ou gengival?		
4	Voce já realizou qualquer tipo de tratamento periodontal ou na gengiva?		
5	Suas gengivas geralmente sangram?		
6	Algum dentista já lhe disse que você tem bolsas periodontais profundas?		
7	Você possui alguma área mais vermelha do que deveria em sua boca?		
8	Você tem mobilidade nos dentes?		
9	Você percebe mudanças em seus dentes?		
10	Você sente dor na gengiva?		
11	Você tem impactação alimentar entre os seus dentes?		
12	Você considera que seus dentes estão ficando mais longos?		
13	Você sente alguma sensibilidade em seus dentes?		
14	Você percebe mau cheiro da sua boca?		
15	Você possui algum abscesso em sua boca?		
16	Você tem cálculo/tártaro nos dentes?		
17	Você sente sua boca seca?		
18	Você já fez cirurgia periodontal?		

Apêndice D - Questionário de autopercepção de halitose

Nº	PERGUNTA	Não	Sim
1	Você consegue sentir seu hálito?		
2	Você já recebeu algum tratamento de profissional para o mau hálito?		
3	Você já tratou o mau hálito sozinho?		
4	O teu hálito interfere na sua vida social e no local de trabalho?		
5	Você escova os dentes duas vezes por dia?		
6	Você usa enxaguante bucal de forma regular?		
7	Você tem cárie dentária?		
8	Você tem sangramento gengival (quando come ou escova os dentes)?		
9	Você tem ressecamento bucal?		
10	Você escova a língua quando escova os dentes?		

Apêndice E- Questionário do impacto da qualidade de vida associada a Halitose (HALT)

Considere a gravidade do problema quando ele acontece e com que frequência ele acontece. Por favor, avalie em cada questão, o quão ruim é o problema, marcando o número correspondente na escala.	Não é problema	Problema muito leve	Problema leve	Problema moderado	Problema grave	Problema tão ruim quanto possível
PERGUNTAS	(0)	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
1. Você costuma respirar pelo nariz?						
2. Apresenta infecções nas amígdalas frequentemente?						
3. Apresenta infecções nos seios da face, tipo sinusite frequentes?						
4. Fica preocupado com sua respiração bucal?						
5. Fica tenso ou irritado devido ao mau hálito?						
6. Apresenta dificuldades para mastigar certos alimentos, limitando-se de comer algo devido ao mau hálito?						
7. Sentiu que houve alteração no sabor dos alimentos?						
8. Houve problemas ao falar com as pessoas (ou tapar a boca) devido ao mau hálito						
9. O mau hálito afetou sua aparência?						
10. Você acha que apresenta uma aparência deprimida (com olheiras abaixo dos olhos) devido à respiração bucal?						
11. Você apresenta problemas de concentração devido ao mau hálito?						
12. Alguma vez ficou constrangido por causa do mau hálito?						
13. Alguma vez ficou preocupado em tratar o mau hálito?						
14. Em relação ao mau hálito, já se manteve distante ao falar com as pessoas?						
15. Já deixou de sair por causa do mau hálito?						
16. Já houve problema para se comunicar com as pessoas por causa do mau hálito?						
17. Alguém já disse que VOCÊ tem mau hálito?						

18. Por causa do mau hálito, houve alguma perda financeira?						
19. Por causa do mau hálito, alguém já se distanciou de você? Terminou um relacionamento?						
20. Alguma vez, ficou insatisfeito (a) com a vida devido ao mau hálito?						

3. RELATÓRIO DE TRABALHO DE CAMPO

Após a qualificação do projeto de tese e aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas, estava planejado iniciar os treinamentos e seleção dos pacientes do projeto de pesquisa inicialmente proposto. O grupo de pesquisa já estava com os materiais preparados para coleta de dados junto a algumas clínicas privadas na cidade de Pelotas, que realizam tratamento ortodôntico. No entanto, dada a ocorrência da Pandemia de COVID-19 no Brasil e no mundo, e a sua extensão durante os anos de 2020, 2021 e 2022 até o presente momento, não foi possível dar início ao desenvolvimento do projeto de pesquisa. Com as restrições impostas referentes a circulação, aglomerações e distanciamento social, os atendimentos nas clínicas odontológicas ficaram por um longo período limitados aos atendimentos de urgência, ficando os procedimentos eletivos em segundo plano. Além disso, a aplicação dos questionários por pesquisadores distintos ao ambiente clínico privado também se tornou dificultada, devido a restrição de contato que deveria ser respeitada. Nesse contexto, optou-se pela alteração do projeto de tese a ser trabalhado, bem como da linha de pesquisa, pensando em um trabalho que pudesse ser realizado no formato “home office”, de forma a não comprometer o período de desenvolvimento de tese inicialmente proposto.

Por já ter acompanhado outros projetos de pesquisa que envolviam terapias adjuntas na Periodontia durante a graduação e o mestrado, me surgiu a ideia de trabalhar em uma revisão sistemática da literatura que pudesse abordar este aspecto terapêutico. Anteriormente, trabalhei e acompanhei revisões e estudos experimentais em animais que exploraram terapias adjuntas no tratamento periodontal como o uso de alendronato de sódio, terapia fotodinâmica antimicrobiana, uso de antibióticos locais, dentre outros. Por ser um assunto de bastante interesse e relevante, resolvi propor um trabalho envolvendo o uso da terapia fotodinâmica antimicrobiana e do laser como adjuntos a raspagem e alisamento radicular no tratamento de bolsas residuais em pacientes submetidos a terapia periodontal de suporte.

Importante ressaltar que para a condução desta revisão, tive ajuda de colegas da ênfase em periodontia do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal de Pelotas e orientação da Profa. Dra. Natália Marcumini Pola. Tudo foi extremamente planejado e conseguimos cumprir todos os prazos estipulados, graças ao empenho e dedicação de todos para que eu pudesse defender a tese no tempo previsto.

Em virtude do cenário da pandemia, infelizmente foi preciso mudar o projeto e o foco da nossa pesquisa durante esses anos de doutorado. No entanto, o projeto que criamos para a qualificação não será esquecido e esperamos que, em um futuro bem próximo, quando as condições sanitárias permitirem e a nossa vida retornar como era antes, possamos dar continuidade a este projeto.

4. ARTIGO 1*

Use of laser and antimicrobial photodynamic therapy as adjuncts to scaling and root planing in patients undergoing supportive periodontal therapy: a systematic review and meta-analysis.

Edvin Walter Brito Gomes¹

Caroline Fernandes e Silva¹

Taciane Menezes Da Silveira¹

Natália Marcumini Pola¹

¹Graduate Program in Dentistry, Faculty of Dentistry, Federal University of Pelotas, Rua Gonçalves Chaves, 457, Pelotas, RS, 96015-560, Brazil.

Corresponding author:

Natália Marcumini Pola, DDS, PhD

Department of Semiology and Clinic, School of Dentistry, Federal University of Pelotas. Rua Gonçalves Chaves, 457, Pelotas, RS, 96015-560, Brazil.

Tel: +55 53 981144334

Email: nataliampola@gmail.com

*Artigo estruturado segundo as normas do periódico "*Journal of Clinical Periodontology*"

Abstract

Objectives: To evaluate, through a systematic review of the literature, the use of laser or antimicrobial photodynamic therapy (PDT) as adjuncts to scaling and root planing (SRP) in patients undergoing supportive periodontal therapy (SPT).

Methods: Systematic electronic searches up to December 2021 were conducted in seven databases to identify randomized clinical trials that used laser or PDT as adjuvants to SRP in the treatment of residual pockets in the SPT. Study selection, data extraction, and risk of bias analysis were performed independently by two reviewers. Probing on depth and clinical attachment level were the primary outcomes and bleeding on probing was the secondary outcome. Meta-analyses were performed to compare periodontal clinical parameters in groups treated by photodynamic therapy to control groups. The mean difference (MD) between the parameters, the standard deviation, and the 95% confidence interval (95%CI) were estimated.

Results: 4416 articles were found, but only 14 met all the inclusion criteria for evaluation. Most of the studies report improvements in PPD and CAL when adjunctive therapies were used, but without differences when compared to SRP. The meta-analysis showed a significant reduction in SS at 90 days when only SRP was performed (MD 2.45, 95%CI [0.57 - 4.34]).

Conclusions: The use of laser or PDT as adjuncts to scaling and root planing does not promote benefits in the treatment of residual pockets during SPT.

Keywords: periodontal diseases; periodontal pockets; photodynamic therapy; laser therapy; supportive periodontal therapy.

INTRODUCTION

Periodontitis is one of the most common inflammatory diseases in humans and severe periodontitis is the sixth most prevalent disease in the world (Tsukasaki, 2021) and is characterized by inflammation of periodontal tissues with alveolar bone destruction, which can cause tooth loss. Also, periodontitis can affect the systemic health of individuals (Tsukasaki and Takayanagi 2019). It is considered the sixth most prevalent disease in the world, affecting about 743 million people (Kassebaum et al., 2014).

Periodontal treatment aims to prevent disease progression and tooth loss, maintain functional dentition for life, preserving the individual's self-esteem and quality of life (Yan et al., 2020). Scaling and root planing (SRP) is the standard treatment aimed at removing subgingival biofilm and tooth calculus (Nakão et al., 2020). Although effective, SRP is not able to remove all periodontopathogenic bacteria, especially those found in deep periodontal pockets (Kawashima et al., 2007; Haffajee et al., 2006). Several alternatives have been studied to reduce the limitations of SRP, including the use of adjuvant therapies such as local antimicrobials, laser therapy, and antimicrobial photodynamic therapy (Mombelli and Décaillot 2011).

After treatment of the active phase of the disease, patients are routinely monitored through a supportive periodontal therapy (SPT) program. This program usually includes debridement of persistent periodontal pockets, to prevent microbial recolonization in the region, and consequently, disease progression (Manresa et al., 2018). The risk of progression of attachment loss is greater, especially in isolated deep interproximal pockets (≥ 6 mm) (Teles et al., 2008). SPT is an opportunity for clinicians to promote periodontal health, detect and intercept recurrence or progression of the previously treated disease (Gaunt et al., 2008).

Some studies have shown improvements in periodontal conditions when the laser is used as an adjunct to SRP in the treatment of periodontitis (Jiang et al., 2021; Zhu et al., 2021; Sezen et al., 2020). Bactericidal and detoxifying effects of low-level laser are reported when it is used with non-surgical periodontal

treatment (Freire et al., 2020; Pamuk et al., 2017; Harris et al., 2004). Laser therapy can promote the debridement and decontamination of periodontal tissues (Cheng et al., 2016). Besides, antimicrobial Photodynamic Therapy (PDT) has also been used as an adjuvant therapy to treat periodontitis (Monzavi et al., 2016) and recent studies reported that was a statistically significant reduction in bleeding on probing (BOP), plaque index (PI), probing pocket depth (PPD), and clinical attachment level (CAL) when PDT was used as adjuvants to SRP in SPT compared to the control group (Grzech-Leśniak et al., 2019; Habashneh et al., 2019). A significant decrease in total bacteria count (Grzech-Leśniak et al., 2019), as well as benefits in controlling inflammation (reduced levels of IL-1 α , IL-1 β , IL-8, and VEGF) during SPT (Da Cruz Andrade et al., 2016), were also observed after 6 months of conventional periodontal treatment associated with PDT. However, the evidence is controversial. Two recent systematic reviews demonstrated that laser does not produce greater clinical benefits when compared to isolated SRP in the treatment of periodontitis (Pawelczyk-Madalinska et al., 2021; Lin et al., 2021).

In the context of SPT, the use of laser therapy modalities as an adjuvant in the treatment of residual pockets is still questioned. However, recent evidence revealed that laser reduces the necessity of more conventional surgical therapies during the SPT (Aoki et al., 2021). Considering that, this systematic review aims to evaluate the effectiveness of laser or PDT in combination with SRP in the treatment of residual pockets in patients undergoing SPT.

MATERIALS AND METHODS

This study followed the PRISMA checklist (Page et al., 2020), and it was registered in the PROSPERO prospective register of systematic reviews (CRD42022270391). The search strategy was developed based on the focused question: *“Does the use of photodynamic therapy (PDT) or laser as an adjuvant to scaling and root planing (SRP) improve the periodontal clinical parameters (probing depth and clinical attachment level) in residual pockets in patients undergoing supportive periodontal therapy?”*

Therefore, the PICO framework was addressed in the following aspects:

Patients: patients with residual pockets undergoing supportive periodontal

therapy; **Intervention:** photodynamic therapy or laser therapy as adjuvants to scaling and root planing; **Comparison:** scaling and root planing or scaling and root planing with placebo; **Outcome:** improvement of periodontal clinical parameters (reduction of probing depth and gain of clinical attachment level as primary outcomes and reduction of bleeding on probing as secondary outcome).

Search strategies

MEDLINE - PubMed, Scopus, Web of Science, BBO, Lilacs, SciELO, and the Cochrane Library were searched up to December 2021, to find relevant studies that assessed the use of PDT or laser as an adjuvant to SRP in patients undergoing SPT. The search developed for the MEDLINE database and adapted for other databases is described in appendix 1 (Table S1). The reference lists of every selected study were manually reviewed for eligibility. Google scholar database was also used to detect the gray literature.

Eligibility Criteria

The inclusion criteria were as follows:

1. Randomized clinical trials (RCT) that evaluated the use of PDT or laser as an adjuvant to SRP in the treatment of residual pockets in patients undergoing SPT;
2. RCT that reported a control group;
3. RCT with at least 3 months follow-up;
4. RCT that evaluated the improvement of periodontal conditions with periodontal clinical parameters;

The exclusion criteria were as follows: Reviews, systematic reviews, case control studies, cohort studies, studies with laser or photodynamic therapy as monotherapy, animals and laboratory studies...

There was no imposition of language or publication date.

Data selection

Two researchers (EG and CFS) independently screened the title and abstracts on the Rayyan (Qatar Computing Research Institute – QCRI) for

systematic reviews. A third researcher (NMP) was involved only in case of discrepancies. Studies in which the abstract was not available, but the title suggested any relation to the eligibility criteria of the present study were also screened for eligibility. Full texts of all the potentially relevant studies were identified. Studies that appeared to meet the inclusion criteria or that contained insufficient data in the title and abstract to make a clear decision were selected for full analysis. At this point, the selection of studies was also carried out independently by two researchers (EG and CFS), and a third researcher (NMP) was contacted when a consensus could not be reached. During the reading of the title/abstract, the agreement between the researchers resulted in a kappa index = 0.82, and an agreement during the full-text reading resulted in a kappa index = 0.91.

Data extraction

The data extraction was performed in a spreadsheet developed for the present study. Two researchers were involved independently in this process (EG and CFS). Again, the third researcher was involved only in case of discrepancies (NMP). The following variables were extracted from each selected study: authors, year, country, study design, follow-up period, intervention, adjuvant therapy protocol, control group, number of subjects, gender, age, periodontal clinical parameters (probing pocket depth – PPD; clinical attachment level – CAL and bleeding on probing – BOP), and main results.

Risk of bias assessment

The risk of bias of each selected study was assessed using RoB 2.0 tool developed by the Cochrane collaboration (Sterne et al., 2019). This version includes 5 domains: 1) bias arising from the randomization process, 2) bias due to deviations from intended interventions, 3) bias due to missing outcome data, 4) bias in the measurement of the outcome, and 5) bias in the selection of the reported result. Each domain assessment was categorized as high risk, some concerns, or low risk. A sixth domain, overall bias, was characterized as a low risk outcome if the rest of the domains were of low-risk; some concerns if there were some domains evaluated with some concerns; and high risk if there were one or more domains with a high risk of bias.

Missing data

To deal with missing data, study authors were contacted by email, where possible, to clarify incompletely reported data related to study characteristics, methodology, and outcomes.

Data synthesis

The characteristics and main results of the included studies were reported in Table 1.

The mean difference (MD) and 95% confidence interval were calculated for continuous data. Differences between baseline and post-treatment values were extracted for PPD, CAL, and BOP, according to the data provided by the authors. The unit of analysis in this review was the individual. For quantitative analyses, the meta-analyses were performed only for studies that presented 3 months of follow-up.

Three meta-analyses were performed focused on: (I) PPD reduction; (II) gain of CAL and (III) BOP reduction. To qualify, the studies had to include the MD of the periodontal parameter between the baseline and the follow-up period of 3 months, independent of longer follow-up time. For all meta-analyses, linear statistical analyses were performed using the software RevMan (version 5.0). Heterogeneity was measured by the Q test and quantified by I^2 . As high heterogeneity was expected (both mathematically and methodologically), it was decided a priori to use random analyses.

Results

Study selection

Figure 1 shows the flowchart that summarizes the article selection process according to the PRISMA statement. Initially, 4416 records were identified from all databases. With the removal of the duplicates, 3659 records were screened. After examining the title and abstract, 3633 were excluded because they did not meet the inclusion criteria. Twenty-six studies were retained for the detailed review, but only fourteen studies fulfilled all the selection criteria and were included in the qualitative analysis. Eleven studies were included in the meta-

analysis of the PPD and CAL, and four were included in the quantitative analyses of the BOP.

Descriptive analysis

All clinical trials included were published after 2009 (Table 1). Seven studies (Cosgarea et al., 2021; Schar et al., 2020; Grzech-Leśniak et al., 2019; Da Cruz Andrade et al., 2016; Carvalho et al., 2015; Lulic et al., 2009; Chondros et al., 2009) used parallel design and seven (Da Silva et al., 2019; Habashneh et al., 2019; Goh et al., 2017; Nguyen et al., 2015; Correa et al., 2015; Campos et al., 2013; Slot et al., 2012) used split-mouth protocol. Four studies lasted 90 days, seven 180 days, and three had 365 days of follow-up. A total of 438 subjects were evaluated, with a mean age of 50 years. The study with the lowest number of participants evaluated 10 subjects (Lulic et al., 2009), and the highest evaluated 105 subjects (Cosgarea et al., 2021). Twelve studies (Cosgarea et al., 2021; Schar et al., 2020; Da Silva et al., 2019; Grzech-Leśniak et al., 2019; Habashneh et al., 2019; Goh et al., 2017; Da Cruz Andrade et al., 2016; Correa et al., 2015; Carvalho et al., 2015; Campos et al., 2013; Lulic et al., 2009; Chondros et al., 2009) used PDT in the intervention, and two used just laser (Nguyen et al., 2015; Slot et al., 2012). SRP alone was the most therapy used as a control, but two studies (Carvalho et al., 2015; Lulic et al., 2009) used SRP plus placebo (PDT simulated or non-activated laser). One study (Lulic et al., 2009) did five applications, other (Carvalho et al., 2015) four and eleven studies did only one application of PDT or laser after SRP. Three (Grzech-Leśniak et al., 2019) and two (Cosgarea et al., 2021) applications appeared only in one study each.

Laser and PDT protocols

Table 2 shows the laser protocol used in all included studies. The diode laser was the most used type of laser. Toluidine blue 0.1% and methylene blue 0.01% were the most used photosensitizers in PDT, in addition to some studies that used aluminum chlorine (Da Silva et al., 2019) and Helbo blue (Cosgarea et al., 2021; Lulic et al., 2009; Chondros et al., 2009). The time of exposure to light varied, with a minimum of 10 and a maximum of 120 seconds, but 60 seconds was the most used time (6 studies). The wavelength of 660 nm was the most reported, while the power ranged from 40 to 330 mw. The energy density used

was quite varied: two studies used 90 J/cm² (Da Cruz Andrade et al., 2016; Carvalho et al., 2015); two 129 J/cm² (Correa et al., 2015; Campos et al., 2013); and two others (Lulic et al., 2009; Chondros et al., 2009) used 75 mw/cm².

Qualitative analysis of the clinical outcomes

Probing pocket depth and Clinical attachment level

The results regarding probing pocket depth, clinical attachment level, and bleeding on probing of the included studies are reported in Table 3. Decreases in the PPD were observed in all studies, with differences favoring the intervention group in 5 studies (Habashneh et al., 2019; Goh et al., 2017; Correa et al., 2015; Campos et al., 2013; Lulic et al., 2009). CAL gain was also observed in almost all studies, except for one that did not evaluate this clinical parameter (Slot et al., 2012). Five studies (Habashneh et al., 2019; Goh et al., 2017; Correa et al., 2015; Campos et al., 2013; Lulic et al., 2009) presented differences favored test group in CAL gain. The PPD reduction and the CAL gain were observed in studies that used PDT as an intervention, and just one did more than one laser application (Lulic et al., 2009).

Bleeding on probing

BOP scores improved in all treatment modalities applied in the included studies, with differences favoring the test group in 5 studies (Schar et al., 2020; Grzech-Leśniak et al., 2019; Habashneh et al., 2019; Lulic et al., 2009; Chondros et al., 2009) (Table 4). These studies used PDT as an intervention with 1 laser application after SRP, except for Grzech-Leśniak et al. (2019), which did 3 applications.

Quantitative analysis

Figures 2, 3 and, 4 show the meta-analyses for the comparison of clinical measures of PPD, CAL, and BOP, respectively, between the PDT+SRP group and control, at 3 months of follow-up. In the included studies, no statistically significant changes (MD=0.02, CI: [-0.38; 0.43]) were observed of PPD for SRP+ PDT when compared to the control group, with substantial inter-study heterogeneity (I²=97%). Similar results were detected in periodontal parameters

of CAL gain (MD=0.00, CI: [-0.80; 0.80]) with substantial heterogeneity ($I^2=97\%$) (Figure 3). However, when BOP scores were analyzed (Figure 4), it showed that the conventional treatment of SRP resulted in an additional benefit (reduction of BOP scores) when compared to the intervention groups (MD=2.45, CI: [-0.57; 4.34]) with no heterogeneity ($I^2=0\%$).

Risk of bias of included studies

The quality assessment across the fourteen studies considering the domain of overall bias showed some concerns (Figure 5). No study obtained a high-risk score. All studies obtained low risk in three domains (Deviations from the intended interventions, Missing of the outcome, Measurement of the outcome). In relation to the randomization process, six studies obtained some concerns (Cosgarea et al., 2021, Schar et al., 2020; Da Silva et al., 2019; Grzech-Leśniak et al., 2019; Habashneh et al., 2019; Chondros et al., 2009). In other to the selection of the reported result, four studies (Goh et al., 2017; Da Cruz Andrade et al., 2017; Nguyen et al., 2015; Carvalho et al., 2015) obtained low risk of bias.

Discussion

This systematic review and meta-analysis were conducted to clarify if laser or photodynamic therapy provides clinical additional benefits when used as adjuvants to SRP in patients undergoing supportive periodontal therapy (SPT). Most studies included in this review showed improvements to all clinical parameters, but with no differences between the treatment modalities. The metanalysis of BOP scores showed results favoring the conventional periodontal therapy of SRP at 3 months of follow-up.

SPT or periodontal maintenance therapy is considered an essential phase for successful periodontal treatment. During SPT, the procedures performed aim to keep the treated teeth functional, with an absence of pain, excessive mobility, and recurrence of infection (Cohen et al., 2003). The individual's susceptibility and risk assessment are determining factors for including the patient in the maintenance program (Gomes Filho et al., 2018). Previous studies have reported that, when SPT is properly developed, only 2% to 5% of teeth in patients originally

treated for chronic periodontitis are lost over a 5- to 10-year period (Chambrone 2006; Fardal 2004; Loesche 2002; Wilson 1987; Wood 1989). Furthermore, tooth loss tends to be associated with a population at high risk of disease progression (Chambrone 2006; Tonetti 2000).

In this sense, the bactericidal action of the laser (Slot et al., 2012), and the toxic effects to microorganisms produced by PDT (Da Silva et al., 2019), can help to control the biofilm in residual pockets that are difficult to access, and consequently, influence in the reduction of loss of attachment in already treated teeth. However, the present review showed that, although these therapies improve periodontal clinical parameters, especially in the early stages after treatment, their results do not differ from those obtained with conventional periodontal therapy of scaling and root planing. It is well established that mechanical debridement can be considered an effective method for nonsurgical causal therapy of periodontitis (Stein et al., 2021). Several studies (Suvan et al., 2019; Jain et al., 2019; Ribeiro et al., 2008) have shown the benefits of SRP in the reduction of PPD and BOP in the treatment of periodontitis. The SRP action occurs through the reduction and disturbance of the organization of bacterial dental biofilm, as well as cytotoxic substances contained in calculus and cementum on the root surfaces of the teeth (Liu et al., 2017; Shibli et al., 2022). These effects will locally influence the inflammatory response, making it possible to clinically visualize the improvement in periodontal parameters.

Although the use of laser and PDT as adjuvants to SRP has been studied for some time, factors related to the standardization of therapeutic protocols in these modalities are generally questioned in the literature. Regarding PDT, in the present review, there was a diversity of PDT protocols reported in the included studies. This fact corroborates recent systematic reviews (Ramanauskaite et al., 2021; Franco et al., 2019; Xue and Zhao, 2017), which investigated the effects of single or repeated applications of PDT in TPS and found similar results. The therapeutic approach to PDT involves the use of a non-toxic light-sensitive dye, characterized as a "photosensitizer", associated with low-intensity light, with an appropriate wavelength to correspond to the absorption spectrum of the photosensitizer (Dai et al., 2012). This activation by light stimulates the dye to form singlet oxygen free radicals, which act as a toxic agent for the microorganisms (De Oliveira et al., 2007). In this sense, it's important to consider

that the absorption coefficient by the bacteria depends not only on the specific laser wavelength but also on the photosensitizer and can have various effects on the periodontal tissue (Chambrone et al., 2018). The diversity of these parameters in the included studies may be associated with the results found in this review. Furthermore, given these findings associated with recent evidence (Ramanauskaite et al., 2021; Franco et al., 2019), it is difficult to suggest standardized treatment protocols using PDT.

The heterogeneity observed in the included studies was mainly related to laser and PDT protocols (number of cycles of PDT, laser settings, photosensitizer, wavelength, energy density, time of light exposure), but also related to sample size, sample profile (inclusion of smokers or not) and follow-up periods. With relation to PDT cycles, 4 studies (Cosgarea et al., 2021; Grzech-Leśniak et al., 2019; Carvalho et al., 2015; Lulic et al., 2009) did more than one application of PDT. The clinical differences in PPD and CAL between the test group and control group were noted in 5 studies (Lulic et al., 2009; Campos et al., 2013; Correa et al., 2015; Goh et al., 2017; Habashneh et al., 2019) and 4 of which used only 1 application of PDT (Campos et al., 2013; Correa et al., 2015; Goh et al., 2017; Habashneh et al., 2019). This aspect corroborates with the same result shown in other systematic reviews (Ramanauskaite et al., 2021; Franco et al., 2019). It's important to highlight that, besides PDT appearing to provide modest additional clinical benefits over those achieved by SRP alone (Chambrone et al., 2018), the use of repeated applications of PDT does not appear to demonstrate superior results when compared to single applications.

Regarding the follow-up period of the included studies, most of the studies showed differences in clinical inflammatory parameters at 90 days after the use of adjunctive therapies. These results corroborate other studies (Goh et al., 2017; Campos et al., 2013) that demonstrate that the effects of laser therapy and photodynamic therapy are more significant in the initial periods of periodontal repair. Evidence shows that laser acts on periodontal tissues through photobiomodulation, intending to reduce the inflammatory process and accelerate the repair process (Theodoro et al., 2021). Its primary effects occur at the level of the cellular respiratory chain, which results in increased vascularization (angiogenesis), modulation of the immunoinflammatory response, and accelerated repair in the treated area (Hamblin, 2017). The

acceleration of the periodontal repair process in the early stages after treatment could explain the absence of greater differences in longer follow-up times.

Another aspect that needs to be considered in this review is the presence of smokers in the studies samples. Risk factors such as smoking and systemic diseases have been identified as capable of influencing the progression of periodontitis (Ramseier, 2005). Only 3 of the included studies (Nguyen et al., 2015; Lulic et al., 2009, Chondros et al., 2009) did not specify the number of cigarettes consumed by the included smokers. The addition of PDT or laser did not show significant benefits in improving clinical parameters when cigarettes were present in the evaluated sample. This result agrees with Matulienė et al. (2008) who indicated that residual periodontal pockets were strongly associated with cigarette consumption. In addition, a systematic review (Xue and Zhao 2017) investigating the efficacy of PDT adjunct to SRP in smokers and non-smokers undergoing SPT report similar results.

This review has some limitations. It was not possible to realize a meta-analysis with the two included studies (Nguyen et al., 2015; Slot et al., 2012) that used Laser as an adjuvant to SRP due to the substantial clinical heterogeneity in respect of the type of laser, therapeutic protocol, and follow-up period. For this reason, the evaluation of the effect of the laser as an adjunct therapy to scaling was impaired in the present study. Besides, the heterogeneity of included studies, including different protocols of PDT, presence of smokers, and different follow-up periods, precluded reaching definitive conclusions.

Conclusion

Within the limits of this review, the present data indicate that the use of PDT or laser as adjuvants to SRP don't promote significant improvements in clinical parameters in patients undergoing to supportive periodontal therapy. However, the evidence is still limited and future well-designed and large-scale clinical trials evaluating the efficacy these adjunctive therapeutic modalities in supportive periodontal therapy are critically needed.

References

1. Aoki A, Mizutani K, Mikami R, Taniguchi Y, Ohsugi Y, Meinzer W, Izumi Y, Iwata T. Residual periodontal pocket treatment with Er: YAG laser-assisted comprehensive periodontal pocket therapy: a retrospective study. *Clin Oral Investig*. 2022 Jan;26(1):761-771. doi: 10.1007/s00784-021-04054-9. Epub 2021 Jul 19.
2. Campos GN, Pimentel SP, Ribeiro FV, Casarin RCV, Cirano FR, Saraceni CHC, Casati MZ. The adjunctive effect of photodynamic therapy for residual pockets in single-rooted teeth: a randomized controlled clinical trial. *Lasers Med Sci*. 2013 Jan;28(1): 317-24. doi: 10.1007/s10103-012-1159-3. Epub 2012 Jul 20.
3. Cappuyns I, Cionca N, Wick P, Giannopoulou C, Mombelli A, Treatment of residual pockets with photodynamic therapy, diode laser, or deep scaling. A randomized, split-mouth controlled clinical trial, *Lasers Med. Sci.* 27 (2012) 979-86.
4. Carvalho VF, Andrade PVC, Rodrigues MF, Hirata MH, Hirata RDC, Pannuti CM, De Micheli G, Conde MC. Antimicrobial photodynamic effect to treat residual pockets in periodontal patients: a randomized controlled clinical trial. *J Clin Periodontol* 2015; doi: 10.1111/jcpe.12393.
5. Chambrone L, Wang HL, Romanos GE. Antimicrobial photodynamic therapy for the treatment of periodontitis and peri-implantitis: An American Academy of Periodontology best evidence review. *J Periodontol*. 2018 Jul;89(7):783-803. doi: 10.1902/jop.2017.170172.
6. Chambrone LA, Chambrone L. Tooth loss in well-maintained patients with chronic periodontitis during long-term supportive therapy in Brazil. *J Clin Periodontol*. 2006 Oct;33(10):759-64. doi:10.1111/j.1600-051X.2006.00972.x. Epub 2006 Aug 7.
7. Cheng Y, Chen JW, Ge MK, Zhou ZY, Yin X, Zou SJ. Efficacy of adjunctive laser in non-surgical periodontal treatment: a systematic review and meta-analysis. *Lasers Med Sci*. 2016 Jan;31(1):151-63. doi: 10.1007/s10103-015-1795-5. Epub 2015 Sep 2.

8. Chondros P, Nikolidakis D, Christodoulides N, Rössler R, Gutknecht N, Sculean A. Photodynamic therapy as adjunct to non-surgical periodontal treatment in patients on periodontal maintenance: a randomized controlled clinical trial. *Lasers Med Sci.* 2009 Sep;24(5): 681-8.doi: 10.1007/s10103-008-0565-z. Epub 2008 May 9.
9. Cohen RE. American Academy of Periodontology. Position Paper: periodontal maintenance. *J Periodontol* 2003; 74: 1395-1401.
10. Corrêa MG, Oliveira DH, Saraceni CHC, Ribeiro FV, Pimentel SP, Cirano FR, Casarin RC. Short-term microbiological effects of photodynamic therapy in non-surgical periodontal treatment of residual pockets: A split-mouth RCT. *Lasers Surg Med.* 2016 Dec;48(10):944-950. doi: 10.1002/lsm.22449. Epub 2015 Dec 10.
11. Cosgarea R, Eick S, Batori-Andronescu I, Jepsen S, Arweiler NB, Rössler R, Conrad T, Ramseier CA, Sculean A. Clinical and Microbiological Evaluation of Local Doxycycline and Antimicrobial Photodynamic Therapy during Supportive Periodontal Therapy: A Randomized Clinical Trial. *Antibiotics* 2021, 10, 277. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10030277>.
12. Da Cruz Andrade PV, Alves VTE, De Carvalho VF, De Franco Rodrigues M, Pannuti CM, Holzhausen M, De Micheli G, Conde MC. Photodynamic therapy decrease immune-inflammatory mediators' levels during periodontal maintenance. *Lasers Med Sci.* 2017 Jan;32(1): 9-17.doi: 10.1007/s10103-016-2076-7. Epub 2016 Oct 4.
13. Da Silva NT, de Araújo Silva DN, da Silva Azevedo ML, da Silva Junior FL, Almeida ML, Longo JPF, de Moraes M, de Vasconcelos Gurgel BC, de Aquino Martins ARL, The effectiveness of photodynamic therapy as a complementary therapy to mechanical instrumentation on residual pocket clinical parameters: a clinical split-mouth test. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*(2019),doi:<https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2019.09.010>.
14. Dai T, Fuchs BB, Coleman JJ, et al. Concepts and principles of photodynamic therapy as an alternative antifungal discovery platform.*Front Microbiol.* 2012;3:120.8.

15. De Oliveira RR, Schwartz-Filho HO. Antimicrobial photodynamic therapy in the non-surgical treatment of aggressive periodontitis: a preliminary randomized controlled clinical study. *J Periodontol*. 2007;78:965–973.
16. Eduardo CDP, Bello-Silva MS, Ramalho KM, Lee EMR, Aranha ACC. Photodynamic therapy as a complementary benefit in the dental clinic. *Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent*. 2015. vol.69 no.3 Sao Paulo Jul./Set.
17. Fardal O, Johannessen AC, Linden GJ. Tooth loss during maintenance following periodontal treatment in a periodontal practice in Norway. *J Clin Periodontol*. 2004 Jul;31(7):550- 5.
18. Franco TPM, Dos Santos APP, Canabarro A. The effects of repeated applications of antimicrobial photodynamic therapy in the treatment of residual periodontal pockets: a systematic review. *Lasers Med Sci*. 2019 Jul;34(5):855-863. doi: 10.1007/s10103-018-02703-2. Epub 2018 Dec 11.
19. Freire AEN, Carrera TMC, De Oliveira GJPL, Pigossi SC, Ribeiro Júnior NV. Comparison between Antimicrobial Photodynamic Therapy and Low-level laser therapy on non-surgical periodontal treatment: A Clinical Study. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2020 Sep;31:101756. doi:10.1016/j.pdpdt.2020.101756. Epub 2020 Apr 15.
20. Gaunt F, Devine M, Pennington M, Vernazza C, Gwynnett E, Steen N, Heasman P. The cost-effectiveness of supportive periodontal care for patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2008 Sep;35(8 Suppl):67-82. doi: 10.1111/j.1600-051X.2008.01261. x.
21. Goh EX, Tan KS, Chan YH, Lim LP, Effects of root debridement and adjunctive photodynamic therapy in residual pockets of patients on supportive periodontal therapy: a randomized split-mouth trial, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* (2017), <http://dx.doi.org/10.1016/j.pdpdt.2017.03.017>.
22. Gomes Filho VV, Gondinho BVC, Silva-Junior MF, Cavalcante DFB, Bulgareli JV, Sousa MDLR, Frias AC, Batista MJ, Pereira AC.
23. Grzech-Leśniak K, Gaspirc B, Sculean A. Clinical and microbiological effects of multiple applications of antibacterial photodynamic therapy in periodontal maintenance patients. A randomized controlled clinical study.

- Photodiagnosis Photodyn Ther. 2019 Sep; 27:44-50. doi: 10.1016/j.pdpdt.2019.05.028. Epub 2019 May 21.
24. Habashneh RA, Mashal MA, Khader Y, Qudah R. Clinical and Biological Effects of Adjunctive Photodynamic Therapy in Refractory Periodontitis. *J Lasers Med Sci*. 2019 Spring;10(2):139-145. doi: 10.15171/jlms.2019.22. Epub 2019 Feb 25.
 25. Haffajee AD, Teles RP, Socransky SS. The effect of periodontal therapy on the composition of the subgingival microbiota. *Periodontol* 2000. 2006;42: 219-58. doi: 10.1111/j.1600-0757.2006.00191. x.
 26. Hamblin MR. Mechanisms and applications of the anti-inflammatory effects of photobiomodulation. *AIMS Biophys*. 2017;4(3):337-361. doi: 10.3934/biophy.2017.3.337. Epub 2017 May 19.
 27. Harris DM, Gregg RH, McCarthy DK, Colby LE, Lloyd V Tilt. Laser-assisted new attachment procedure in private practice. *Gen Dent*. Sep-Oct 2004;52(5):396-403.
 28. Jain A, Gupta J, Bansal D, Sood S, Gupta S, Jain A. Effect of scaling and root planing as monotherapy on glycemic control in patients of Type 2 diabetes with chronic periodontitis: A systematic review and meta-analysis. *J Indian Soc Periodontol*. 2019 Jul-Aug;23(4):303-310. doi: 10.4103/jisp.jisp_417_18.
 29. Jiang Y, Feng J, Du J, Fu J, Liu Y, Guo L, Liu Y. Clinical and biochemical effect of laser as an adjunct to non-surgical treatment of chronic periodontitis. *Oral Dis*. 2021 Mar 13. doi: 10.1111/odi.13847.
 30. Kassebaum NJ, Bernabé E, Dahiya M, Bhandari B, Murray CJL, Marcenes W. Global burden of severe periodontitis in 1990-2010: a systematic review and meta-regression. *JDentRes*. 2014 Nov;93(11):1045-53. doi: 10.1177/0022034514552491. Epub 2014 Sep 26.
 31. Kawashima N, Suzuki N, Yang G, Ohi C, Okuhara S, Nakano-Kawanishi H, et al. Kinetics of RANKL, RANK and OPG expressions in experimentally induced rat periapical lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2007; May;103(5):707-11. Epub 2007 Feb 28. PubMed PMID: 17336108.
 32. Lin Z, Strauss FJ, Lang NP, Sculean A, Giovanni E Salvi, Stähli A. Efficacy of laser monotherapy or non-surgical mechanical instrumentation in the

- management of untreated periodontitis patients. A systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Investig*. 2021 Feb;25(2): 375-391.doi: 10.1007/s00784-020-03584-y. Epub 2020 Nov 10.
- 33.Liu G, Luan Q, Chen F, Chen Z, Zhang Q, Yu X. Shift in the subgingival microbiome following scaling and root planing in generalized aggressive periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2018 Apr;45(4):440-452. doi: 10.1111/jcpe.12862. Epub 2018 Mar 6.
 - 34.Loesche WJ, Giordano JR, Soehren S, Kaciroti N. The nonsurgical treatment of patients with periodontal disease: results after five years. *Journal of the American Dental Association* 2002;133(3):311-20
 - 35.Lulic M, Leiggener Gorog I, Salvi GE, Ramseier CA, Mattheos N, Lang NP. One-year outcomes of repeated adjunctive photodynamic therapy during periodontal maintenance: a proof-of-principle randomized-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol* 2009; 36: 661–666. doi: 10.1111/j.1600-051X.2009.01432. x.
 - 36.Manresa C, Sanz-Miralles EC, Twigg J, Bravo M. Supportive periodontal therapy (SPT) for maintaining the dentition in adults treated for periodontitis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2018 Jan 1;1(1): CD009376.doi: 10.1002/14651858.CD009376.pub2.
 - 37.Matuliene G, Pjetursson BE, Salvi GE, Schmidlin K, Brägger U, Zwahlen M, Lang NP. Influence of residual pockets on progression of periodontitis and tooth loss: results after 11 years of maintenance. *J Clin Periodontol*. 2008 Aug;35(8):685-95. doi: 10.1111/j.1600-051X.2008.01245. x. Epub 2008 Jul 23.
 - 38.Meseli SE, Kuru B, Kuru L. Effects of 810-nanometer diode laser as an adjunct to mechanical periodontal treatment on clinical periodontal parameters and gingival crevicular fluid volume of residual periodontal pockets. *Niger J Clin Pract*. 2017 Apr;20(4):427-432. doi: 10.4103/1119-3077.181382.
 - 39.Mombelli A, Décaillet F. The characteristics of biofilms in peri-implant disease. *J Clin Periodontol*. 2011 Mar;38 Suppl 11: 203-13.doi: 10.1111/j.1600-051X.2010.01666. x.
 - 40.Monzavi M, Noumbissi S, Nowzari H. The Impact of In Vitro Accelerated Aging, Approximating 30 and 60 Years In Vivo, on Commercially Available

- Zirconia Dental Implants. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2017 Apr;19(2):245-252. doi: 10.1111/cid.12462. Epub 2016 Nov 9.
41. Nakao R, Senpuku H, Ohnishi M, Takai H, Ogata Y. Effect of topical administration of propolis in chronic periodontitis. *Odontology*. 2020 Oct;108(4): 704-714. doi: 10.1007/s10266-020-00500-4. Epub 2020 Feb 28.
 42. Nguyen NT, Byarlay MR, Reinhardt RA, Marx DB, Meinberg TA, Kaldahl WB. Adjunctive Non-Surgical Therapy of Inflamed Periodontal Pockets During Maintenance Therapy Using Diode Laser: A Randomized Clinical Trial. *J Periodontol*. 2015 Oct;86(10):1133-40. doi:10.1902/jop.2015.150152. Epub 2015 Jun 5.
 43. Page MJ, McKenzie J, Bossuyt P, et al. (2020) Updating guidance for reporting systematic reviews: development of the PRISMA statement. 2020. Available at: <https://osf.io/preprints/metaarxiv/jb4dx/>. Accessed 2 Nov 2020.
 44. Pamuk F, Lütfioğlu M, Aydoğdu A, Koyuncuoglu CZ, Cifcibasi E, O S Badur OS. The effect of low-level laser therapy as an adjunct to non-surgical periodontal treatment on gingival crevicular fluid levels of transforming growth factor-beta 1, tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor 1 in smoking and non-smoking chronic periodontitis patients: A split-mouth, randomized control study. *J Periodontal Res*. 2017 Oct;52(5): 872-882. doi: 10.1111/jre.12457. Epub 2017 Apr 10.
 45. Pawelczyk-Madalińska M, Benedicenti S, Sălăgean T, Bordea LR, Hanna R. Impact of Adjunctive Diode Laser Application to Non-Surgical Periodontal Therapy on Clinical, Microbiological and Immunological Outcomes in Management of Chronic Periodontitis: A Systematic Review of Human Randomized Controlled Clinical Trials. *J Inflamm Res*. 2021 Jun 15;14: 2515-2545. doi: 10.2147/JIR.S304946. eCollection 2021
 46. Ramanauskaite E, Moraschini V, Machiulskiene V, Sculean A. Clinical efficacy of single and multiple applications of antimicrobial photodynamic therapy in periodontal maintenance: A systematic review and network meta-analysis. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2021 Dec; 36:102435. doi: 10.1016/j.pdpdt.2021.102435. Epub 2021 Jul 7.

47. Ramanauskaite E, Sakalauskaite UM, Machiulskiene V. The Efficacy of Adjunctive Aids in Periodontal Maintenance Therapy: A Systematic Literature Review and Meta-analysis. *Oral Health Prev Dent*. 2020 Oct 13;18(1):889-910. doi: 10.3290/j.ohpd.a45406.
48. Ramseier CA. Potential impact of subject-based risk factor control on periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2005;32 Suppl 6:283-90. doi: 10.1111/j.1600-051X.2005.00798.x.
49. Ren C, McGrath C, Jin L, Zhang C, Yang Y. The effectiveness of low-level laser therapy as an adjunct to non-surgical periodontal treatment: a meta-analysis. *J Periodontal Res*. 2017 Feb;52(1):8-20. doi: 10.1111/jre.12361. Epub 2016 Mar 2.
50. Ribeiro DPE, Bittencourt S, Sallum EA, Nociti FH Jr, Gonçalves RB, Casati MZ. Periodontal debridement as a therapeutic approach for severe chronic periodontitis: a clinical, microbiological and immunological study. *J Clin Periodontol*. 2008 Sep;35(9):789-98. doi: 10.1111/j.1600-051X.2008.01292.x. Epub 2008 Jul 21.
51. Schär D, Ramseier CA, Eick S, Mettraux G, Giovanni E Salvi, Sculean A. Transgingival photodynamic therapy (tg-aPDT) adjunctive to subgingival mechanical instrumentation in supportive periodontal therapy. A randomized controlled clinical study. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2020 Dec;32: 101971.doi: 10.1016/j.pdpdt.2020.101971. Epub 2020 Aug 21.
52. Sezen D, Hatipoğlu M, Üstün K. Evaluation of the clinical and biochemical efficacy of erbium, chromium: yttrium-scandium-gallium-garnet (ER, CR: YSGG) laser treatment in periodontitis. *Lasers Med Sci*. 2020 Sep;35(7):1567-1575. doi: 10.1007/s10103-020-02990-8. Epub 2020 Mar 25.
53. Sgolastra F, Petrucci A, Gatto R, Monaco A. Efficacy of Er: YAG laser in the treatment of chronic periodontitis: systematic review and meta-analysis. *Lasers Med Sci*. 2012 May;27(3):661-73. doi: 10.1007/s10103-011-0928-8. Epub 2011 May 7.
54. Shibli JA, Feres M, Figueiredo LC, Castro Dos Santos N, Retamal-Valdes B. Decontamination and Biomodification of **Periodontally** Affected Root Surface for Successful Regeneration: Is There Room for Improvement?

- Dent Clin North Am. 2022 Jan;66(1):11-38. doi: 10.1016/j.cden.2021.06.001. Epub 2021 Aug 12.
55. Slot DE, Timmerman MF, Versteeg PA, van der Velden U, van der Weijden FA. Adjunctive clinical effect of a water-cooled Nd: YAG laser in a periodontal maintenance care programme: a randomized controlled trial. *J Clin Periodontol* 2012; 39: 1159–1165. doi: 10.1111/jcpe.12007.
 56. Stein JM, Yekta-Michael SS, Schittenhelm F, Reichert S, Kupietz D, Dommisch H, Kasaj A, Wied S, Vela OC, Stratul SI. Comparison of three full-mouth concepts for the non-surgical treatment of stage III and IV periodontitis: A randomized controlled trial. *J Clin Periodontol*. 2021 Dec;48(12):1516-1527. doi: 10.1111/jcpe.13548. Epub 2021 Oct 4.
 57. Sterne JAC, Savović J, Page MJ, Elbers RG, Blencowe NS, Boutron I et al (2019) RoB 2: a revised tool for assessing risk of bias in randomised trials. *BMJ* 366: l4898. <https://doi.org/10.1136/bmj.l4898>.
 58. Suvan J, Leira Y, Moreno Sancho FM, Graziani F, Derks J, Tomasi C. Subgingival instrumentation for treatment of periodontitis. A systematic review. *J Clin Periodontol*. 2020 Jul;47 Suppl 22:155-175. doi: 10.1111/jcpe.13245.
 59. Teles RP, Patel M, Socransky SS, Haffajee AD. Disease progression in periodontally healthy and maintenance subjects. *J Periodontol*. 2008 May;79(5):784-94. doi: 10.1902/jop.2008.070485.
 60. Theodoro LH, Marcantonio RAC, Wainwright M, Garcia VG. LASER in periodontal treatment: is it an effective treatment or science fiction? *Braz Oral Res*. 2021 Sep 24;35(Suppl 2):e099. doi: 10.1590/1807-3107bor-2021.vol35.0099. PMID: 34586213.
 61. Tomasi C, Schander K, Dahlén G, Wennström JL. Short-term clinical and microbiologic effects of pocket debridement with an Er: YAG laser during periodontal maintenance. *J Periodontol*. 2006 Jan;77(1):111-8. doi: 10.1902/jop.2006.77.1.111.
 62. Tonetti MS, Steffen P, Muller-Campanile V, Suvan J, Lang NP. Initial extractions and tooth loss during supportive care in a periodontal population seeking comprehensive care. *J Clin Periodontol*. 2000 Nov;27(11):824-31. doi: 10.1034/j.1600-051x.2000.027011824.x.

63. Tooth loss in adults: factors associated with the position and number of lost teeth. *Rev Saude Publica*. 2019 Dec 9; 53:105. doi: 10.11606/S1518-8787.2019053001318. eCollection 2019.
64. Tsukasaki M, Takayanagi H. Osteoimmunology: evolving concepts in bone-immune interactions in health and disease. *Nat Rev Immunol*. 2019 Oct;19(10): 626-642. doi: 10.1038/s41577-019-0178-8. Epub 2019 Jun 11.
65. Tsukasaki M. RANKL and osteoimmunology in periodontitis. *J Bone Miner Metab*. 2021 Jan;39(1): 82-90. doi: 10.1007/s00774-020-01165-3.
66. Wang CY, Yang YH, Li H, Lin PI, Su YT, Kuo MYP, Tu YK. Adjunctive local treatments for patients with residual pockets during supportive periodontal care: A systematic review and network meta-analysis. *J Clin Periodontol*. 2020 Dec;47(12): 1496-1510. doi: 10.1111/jcpe.13379. Epub 2020 Nov 9.
67. Wilson TG, Glover ME, Malik AK, Schoen JA, Dorsett D. Tooth loss in maintenance patients in a private periodontal practice. *Journal of Periodontology* 1987;58(4):231-5.
68. Wood WR, Greco GW, McFall WT Jr. Tooth loss in patients with moderate periodontitis after treatment and long-term maintenance care. *Journal of Periodontology* 1989;60(9):516-20
69. Xue D, Zhao Y. Clinical effectiveness of adjunctive antimicrobial photodynamic therapy for residual pockets during supportive periodontal therapy: A systematic review and meta-analysis. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2017 Mar; 17:127-133. doi: 10.1016/j.pdpdt.2016.11.011. Epub 2016 Nov 22.
70. Yan K, Lin Q, Tang K, Liu S, Du Y, Yu X, Li S. Substance P participates in periodontitis by upregulating HIF-1 α and RANKL/OPG ratio. *BMC Oral Health*. 2020 Jan 30;20(1): 27. doi: 10.1186/s12903-020-1017-9.
71. Zhu J, Wei R, Lv X, Qu C. Efficacy of a combined Er: YAG laser and Nd: YAG laser in non-surgical treatment for severe periodontitis. *Lasers Med Sci*. 2021 Jun 14; 1-6. doi: 10.1007/s10103-021-03357-3.

Table S1- Search strategy for MEDLINE database.

#1	"Periodontal maintenance Therapy" OR "Periodontal maintenance" OR "maintenance care" OR "Maintenance therapy" OR "Supportive periodontal therapy" OR "Residual Pocket" OR "Residual Pockets"
#2	"Photochemotherapy" [MeSH Terms] OR "Photochemotherapies" OR "Therapy, photodynamic" OR "Photodynamic Therapy" OR "photodynamic Therapies" OR "Therapies, photodynamic" OR "photodynamic" OR "pdt" OR "Laser" [MeSH Terms] OR "Q-Switched Lasers" OR "Laser, Q-Switched" OR "Lasers, Q-Switched" OR "Q Switched Lasers" OR "Q-Switched Laser" OR "Pulsed Lasers" OR "Laser, Pulsed" OR "Lasers, Pulsed" OR "Pulsed Laser" OR "Continuous Wave Lasers" OR "Continuous Wave Laser" OR "Laser, Continuous Wave" OR "Lasers, Continuous Wave" OR "Masers" OR "Maser" OR "Laser, Semiconductor" OR "Semiconductor Laser" OR "Semiconductor Lasers" OR "Semiconductor Diode Lasers" OR "Diode Laser, Semiconductor" OR "Diode Lasers, Semiconductor" OR "Laser, Semiconductor Diode" OR "Lasers, Semiconductor Diode" OR "Semiconductor Diode Laser" OR "Diode Lasers" OR "Diode Laser" OR "Laser, Diode" OR "Lasers, Diode" OR "Quantum Cascade Lasers" OR "Laser, Quantum Cascade" OR "Quantum Cascade Laser" OR "Lasers, Quantum Cascade" OR "Gallium Aluminum Arsenide Lasers" OR "Lasers, GaAlAs" OR "Lasers, Gallium Aluminum Arsenide" OR "GaAlAs Lasers" OR "GaAlAs Laser" OR "Laser, GaAlAs" OR "Gallium Arsenide Lasers" OR "Arsenide Laser, Gallium" OR "Arsenide Lasers, Gallium" OR "Gallium Arsenide Laser" OR "Laser, Gallium Arsenide" OR "Lasers, GaAs" OR "Lasers, Gallium Arsenide" OR "GaAs Lasers" OR "GaAs Laser" OR "Laser, GaAs" OR "Carbon Dioxide Lasers" [MeSH Terms] OR "Carbon Dioxide Laser" OR "Dioxide Laser, Carbon" OR "Dioxide Lasers, Carbon" OR "Laser, Carbon Dioxide" OR "Lasers, CO2" OR "CO2 Lasers" OR "CO2 Laser" OR "Laser, CO2" OR "Lasers, Carbon Dioxide" OR "Erbium-Doped Yttrium Aluminum Garnet Lasers" [MeSH Terms] OR "Erbium Doped Yttrium Aluminum Garnet Lasers" OR "Lasers, Er-YAG" OR "Laser, Er-YAG" OR "Lasers, Er YAG" OR "Erbium YAG Laser" OR "Erbium YAG Lasers" OR "Laser, Erbium YAG" OR "Lasers, Erbium YAG" OR "YAG Laser, Erbium" OR "YAG Lasers, Erbium" OR "Erbium-Doped Yttrium Aluminum Garnet Laser" OR "Erbium Doped Yttrium Aluminum Garnet Laser" [MeSH Terms] OR "Er-YAG Laser" OR "Er YAG Laser" OR "Lasers, Erbium-Doped Yttrium Aluminum Garnet" OR "Lasers, Erbium Doped Yttrium Aluminum Garnet" OR "Er-YAG Lasers" OR "Er YAG Lasers" OR "Neodymium-Doped Yttrium Aluminum Garnet Lasers" [MeSH Terms] OR "Neodymium Doped Yttrium Aluminum Garnet Lasers" OR "Nd-YAG Laser" OR "Nd YAG Laser" OR "Lasers, Neodymium-Doped" OR "Yttrium Aluminum Garnet" OR "Lasers, Neodymium Doped Yttrium Aluminum Garnet" OR "Laser, Nd-YAG" OR "Laser, Nd YAG" OR "Lasers, Nd-YAG" OR "Lasers, Nd YAG" OR "Nd-YAG Lasers" OR "Nd YAG Lasers" OR "Neodymium-Doped Yttrium Aluminum Garnet Laser" OR "Neodymium Doped Yttrium Aluminum Garnet Laser" OR "Dental scaling" [MeSH Terms] OR "Scaling, Dental" OR "Scaling, Supragingival" OR "Supragingival Scaling" OR "Scaling, Root" OR "Root Scaling" OR "Root Scalings" OR "Scalings, Root" OR "Scaling, Subgingival" OR "Subgingival Scaling" OR "Periodontal treatment" OR "Periodontal therapy" OR "Conventional periodontal therapy" OR "Root planing" [MeSH Terms] OR "Planing, Root" OR "Planings, Root" OR "Root Planings"
#3	"Randomized Controlled Trials as Topic" OR "Controlled Clinical Trials, Randomized" OR "Clinical Trials, Randomized" OR "Trials, Randomized Clinical"

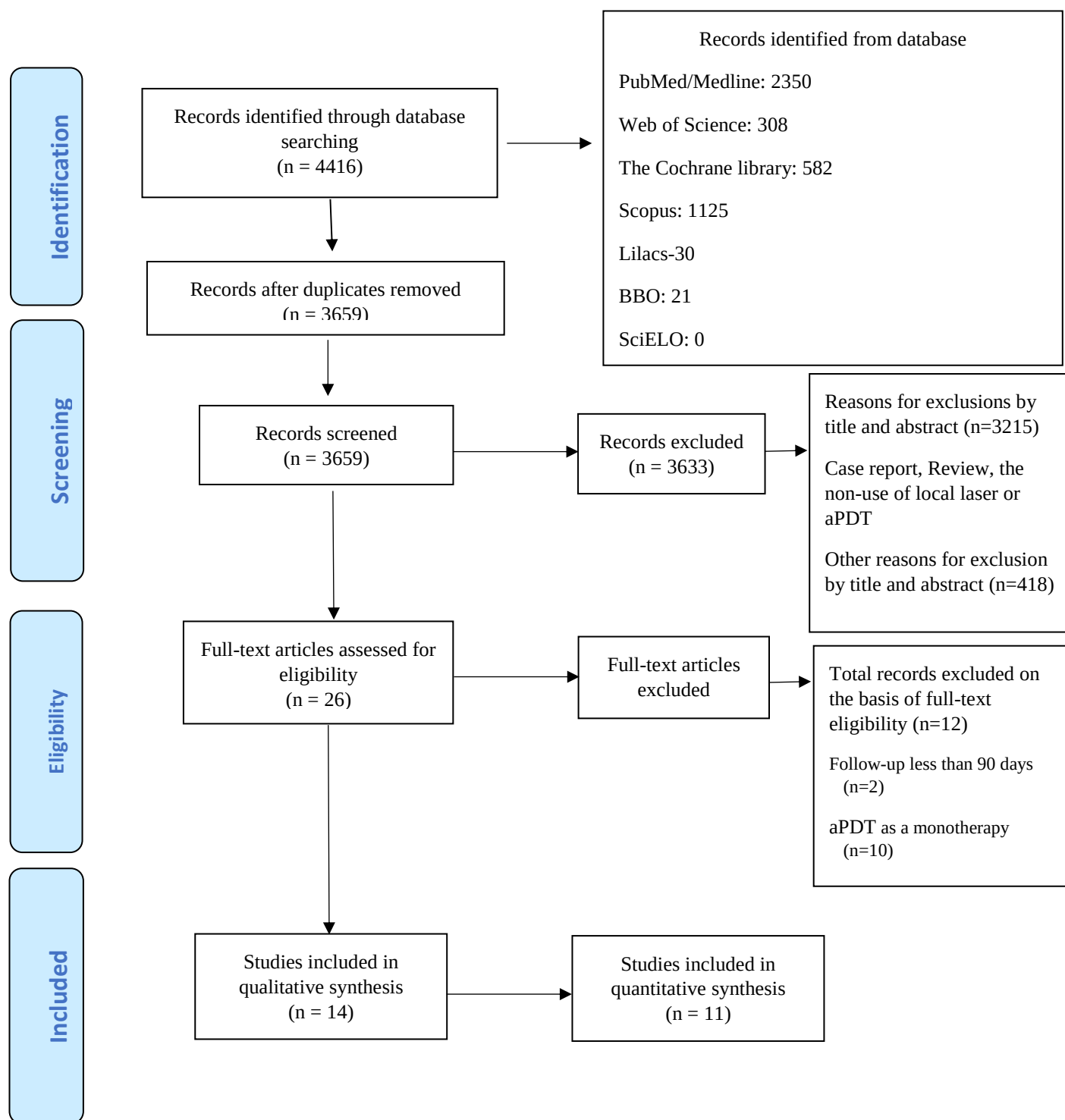


Figure 1- Prisma Flowchart that summarizes the article selection process.

Table 1. Descriptive analyses of included studies.

Author/ Year	Country	Design of study	Duration	Intervention	Dosage	Control	Number of Subjects	Gender	Age	Main findings
Cosgarea et al. 2021	Germany	Parallel	180 days	SRP + PDT; SRP + Dox	2 applications (day 0 and day 7)	SRP	105	41 ♂ and 64 ♀	46.00 (±10.00)	The use of PDT improved the PPD, CAL, BOP, plaque index, and gingival bleeding, with no differences compared to the other treatments (p>0.05).
Schar et al. 2020	Switzerland	Parallel	180 days	SRP + tg-PDT	1 application (day 0)	SRP	40	23 ♂ and 17 ♀	59.00 (±10.50)	Plaque index and BOP improved in both groups over 6 months. The use of PDT promoted higher BOP percentage reduction when compared to SRP at 6 months (p<0.05). PPD and CAL improved at 3- and 6-months in both groups, with no differences between the groups (p>0.05).

Da Silva et al. 2019	Brazil	Split mouth	90 days	SRP + PDT	1 application (day 0)	SRP	19	11 ♂ and 08 ♀	52.00 (±14.00)	The use of PDT decreased 17.74% of plaque index, and 19.91% of gingival bleeding, after 3 months compared to baseline ($p < 0.001$). Both groups promoted decreases in VPI per site, BOP and PPD and CAL gain after 3 months, with no differences between groups ($p > 0.05$).
Grzech- Leśniak et al. 2019	Switzerland	Parallel	180 days	SRP + PDT	3 applications (day 0, 7 and 14)	SRP	40	15 ♂ and 25 ♀	50.30 (±11.60)	Both treatments improved the plaque index, PPD, and CAL values ($p < 0.05$), and the use of PDT provided BOP decreased after 3 and 6 months ($p < 0.05$), while in the control group, the reduction was only at 3 months.
Habashneh et al. 2019	Jordan	Split mouth	180 days	SRP + PDT	1 application (day 0)	SRP	16	08 ♂ and 08 ♀	50.00 (±20.00)	The use of PDT showed superior results when compared to SRP at 2 and 6 months in terms of clinical parameters (PPD, BOP, and CAL).

Goh et al. 2017	Republic of Singapore	Split-mouth	180 days	SRP + PDT	1 application (day 0)	SRP	27	11 ♂ and 16 ♀	44.09 (±04.48)	BOP reduced over time with no differences between the groups. At 3 months, the use of PDT promoted reduction in CAL and PPD compared to SRP (p<0.05).
Da Cruz Andrade et al. 2016	Brazil	Parallel	365 days	SRP + PDT	1 application (day 0)	SRP	28	14 ♂ and 14 ♀	43.20 (±10.00)	Both groups presented a reduction in PPD, CAL, and BOP at 3 and 12 months. There were no differences between groups for any parameter.
Nguyen et al. 2015	EUA	Split-mouth	90 days	SRP + L	1 application (day 0)	SRP	22	13 ♂ and 09 ♀	61.80 (±14.00)	The mean reduction in PPD and CAL were significant for both groups, with no differences between the groups (p > 0.05).
Correa et al. 2015	Brazil	Split-mouth	90 days	SRP + PDT	1 application (day 0)	SRP	15	09 ♂ and 06 ♀	48.10 (±07.50)	A significant reduction in the number of BOP positive sites was detected in both groups at 3 months. The use of PDT increased reductions in PPD and CAL gain compared to the SRP group (p<0.05).

Carvalho et al. 2015	Brazil	Parallel	365 days	SRP + PDT	4 applications (day 0, 90, 180 and 365)	SRP + PDT (simulated)	34	NR ♂ and NR ♀	48.20 (±09.50)	There was a significant reduction in PPD, BOP, and CAL gain at 3, 6 and 12 months ($p > 0.05$), in both groups, with no differences between the groups.
Campos et al. 2013	Brazil	Split-mouth	90 days	SRP + PDT	1 application (day 0)	SRP	15	09 ♂ and 06 ♀	48.15 (±07.53)	Sites treated with PDT presented an increased reduction of PPD and CAL gain compared to the SRP group at 3 months ($p < 0.05$). Sites treated with PDT yielded a reduction in the number of sites with PPD <5 mm without BOP after 3 months compared to sites treated by SRP alone ($p < 0.05$).
Slot et al. 2012	Netherlands	Split-mouth	180 days	SRP + Nd:YAG LASER	1 application (day 0)	SRP	32	14 ♂ and 18 ♀	48.70 (±11.30)	After 6 months, both groups provided PPD and BOP improved, with no differences between the groups ($p > 0.05$).

Lulic et al. 2009	Switzerland	Parallel	365 days	SRP + PDT	5 applications (day 0, 1, 2, 7 and 14)	SRP + non-activated laser	10	07 ♂ and 03 ♀	54.00 (±14.20)	The use of PDT promoted greater PPD reductions and CAL gain after 6 months, when compared to control (p<0.05). The BOP percentage decreases in the PDT group when compared with the control after 3-, 6- and 12-months (p<0.05).
Chondros et al. 2009	Netherlands	Parallel	180 days	SRP + PDT	1 application (day 0)	SRP	24	10 ♂ and 14 ♀	50.60 (±09.20)	At 3 and 6 months after treatment, there were no differences between the groups in terms of PPD, CAL, and plaque index. The use of PDT promoted higher improvement of BOP at 3 and 6 months (p<0.05).

SRP = Scaling and root planing; PDT = antimicrobial photodynamic therapy; L = laser; GCF = Gingival crevicular fluid; VPI = Visible plaque index; PPD = Probing pocket depth; CAL = Clinical attachment level; BOP = Bleeding on probing; Nd: YAG = Neodymium: Yttrium–Aluminium Garnet lasers; NR = not reported; Dox= Doxycycline; ♂= Male; ♀= Female.

Table 2. Laser and PDT protocols of included studies.

Author	Photosensitizer	Type of Laser	Wavelength	Power output	Energy density	Time of light exposure
Cosgarea et al.	HELBO Blue Photosensitizer, Bredent medical, Senden, Germany)	HELBO TheraLite Laser	660nm	100 mW	66 J/cm ²	10s
Schar et al.	1.0 % solution of phenothiazine chloride (Orcos Medical, Küsnacht, Switzerland)	Diode laser (MED 701, Orcos Medical, Küsnacht, Switzerland)	670nm	330 mW	58 J/cm ²	120s
Da Silva et al.	Chloro aluminum Phthalocyanine	Therapy XT DMC, São Carlos, São Paulo, Brazil	660nm	100 mW	54 J/cm ²	15s
Grzech-Leśniak et al.	Toluidine blue 0.1%	Diode laser (Smart M, Lasotronix, Poland)	635nm	200 mW	11764 J/cm ²	30s
Habashneh et al.	Toluidine blue 0.1%	Red LED light system	635nm	200 mW	12 J/cm ²	60s
Goh et al.	0.1 mg/ml toluidine blue	Diode (LED) light source (Fotosan® 630 device, CMS Dental, Copenhagen, Denmark)	630nm	200 mW	40 J/cm ²	20s

Da Cruz Andrade et al.	Methylene blue 0.01 %	Diode laser	660nm	40 mW	90 J/cm ²	90s
Nguyen et al.	NR	Diode laser	940nm	0.80 W	NR	NR
Correa et al.	Methylene blue 0.01 %	Diode laser (Thera Lase—DMC, São Paulo, SP, Brazil)	660nm	60 mW	129 J/cm ²	60s
Carvalho et al.	Methylene blue 0.01%, (Chimiolux, Hypofarma, Belo Horizonte, MG, Brazil)	Laser Hand- MM Optics, São Carlos, SP, Brazil	660nm	40 mW	90 J/cm ²	90s
Campos et al.	Methylene blue 0.01 %	Diode laser (Thera Lase— DMC, São Paulo, SP, Brazil)	660nm	60 mW	129 J/cm ²	60s
Slot et al.	NR	Nd: YAG laser (Genius Periodontal A/S, Copenhagen, Denmark)	1064nm	40 mW	24 J/cm ²	60s
Lulic et al.	Phenothiazine chloride (HELBO Blue Photosensitizer, HELBOs)	Diode laser (HELBOs minilaser 2075 F dent)	670nm	NR	75 mW/cm ²	60s

Chondros et al.	Phenothiazine chloride (HELBO Blue Photosensitizer, HELBOs)	Diode laser (HELBO® minilaser 2075 F dent)	670nm	NR	75 mW/cm ²	60s

NR= Not reported; nm = nanometers; mW – milliwatts; s= seconds; J= joule.

Table 3. Mean values of periodontal clinical parameters of included studies, in baseline and follow-up periods.

Author	PPD (mm)		CAL (mm)		BoP (%)		
	Mean (±SD)		Mean (±SD)		Mean (±SD)		
	Intervention	Control	Intervention	Control	Intervention	Control	
Cosgarea et al.		SRP+ PDT	SRP	SRP+ PDT	SRP	SRP+ PDT	SRP
	Baseline	2.96 (±0.30)	2.97 (±0.24)	3.67 (±0.81)	3.66 (±0.83)	16.52 (±8.31)	16.57 (±8.57)
	3 months	2.72 (±0.30)	2.66 (±0.30)	3.48 (±0.90)	3.38 (±0.84)	12.29 (±6.10)	13.92 (±8.28)
	6 months	2.75 (±0.39)	2.71 (±0.34)	3.53 (±0.86)	3.51 (±0.88)	10.75 (±7.12)	14.04 (±6.07)
	12 months	NR	NR	NR	NR	NR	NR
	ΔSD	-0.21 (±0.30)	-0.26 (±0.24)	-0.14 (±0.81)	-0.15 (±0.83)	-5.77 (±6.10)	-2.53 (±8.28)
Schar et al.		SRP + tg-PDT	SRP	SRP + tg-PDT	SRP	SRP + tg-PDT	SRP
	Baseline	5.70 (±0.00)	5.53 (±0.00)	6.60 (±0.00)	6.33 (±0.00)	100.0 (±0.00)	100.0 (±0.00)
	3 months	5.21 (±0.92)	4.45 (±0.61)	6.79 (±1.72)	5.30 (±2.43)		
	6 months	5.11 (±1.10)	4.35 (±1.14)	6.26 (±1.70)	5.50 (±2.33)	25.0 (±0.00)	65.00 (±0.00)
	12 months	NR	NR	NR	NR	NR	NR
	ΔSD	-0.59 (±1.10)	-1.18 (±1.14)	-0.34 (±1.70)	-0.83 (±2.33)	-75.0 (±0.00)	-35.0 (±0.00)
Da Silva et al.		SRP + PDT	SRP	SRP + PDT	SRP	SRP + PDT	SRP
	Baseline	5.00 (±4.50)	5.00 (±4.50)	6.00 (±6.00)	6.00 (±5.50)	100.0 (±0.00)	100.0 (±0.00)
	3 months	4.00 (±4.00)	4.00 (±4.00)	5.00 (±4.75)	4.00 (±4.50)	50.87 (±0.00)	52.630 (±0.00)
	6 months	NR	NR	NR	NR	NR	NR
	12 months	NR	NR	NR	NR	NR	NR
	ΔSD	-1.00 (±4.00)	-1.00 (±4.00)	-1.00 (±4.75)	-2.00 (±4.50)	-49.13 (±0.00)	-47.370 (±0.00)
	SRP + PDT	SRP	SRP + PDT	SRP	SRP + PDT	SRP	

Grzech- Leśniak et al.	Baseline	2.37 (±0.69)	2.30 (±0.74)	NR	NR	15.70 (±6.50)	17.30 (±7.10)
	3 months	2.04 (± 0.70)	2.01 (±0.58)	NR	NR	12.90 (±6.50)	14.90 (±6.20)
	6 months	2.05 (±0.69)	2.01 (±0.52)	NR	NR	10.40 (±7.30)	16.30 (±6.30)
	12 months	NR	NR	NR	NR	NR	NR
	ΔSD	-0.32 (±0.69)	-0.29 (±0.52)			-5.30 (±6.50)	-01.00 (±6.30)
Habashneh et al.		SRP + PDT	SRP	SRP + PDT	SRP	SRP + PDT	SRP
	Baseline	5.74 (±1.16)	5.87 (±1.20)	6.65 (±1.68)	6.75 (±1.79)	96.00 (±0.19)	99.00 (±0.11)
	3 months	NR	NR	NR	NR	NR	NR
	6 months	4.62 (±0.90)	5.40 (±1.17)	5.61 (±1.43)	6.30 (±1.75)	29.00 (±0.45)	81.00 (±0.40)
	12 months	NR	NR	NR	NR	NR	NR
	ΔSD	-1.12 (±0.90)	-0.47 (±1.17)	-1.04 (±1.43)	-0.45 (±1.75)	-67.00 (±0.19)	-18.00 (±0.11)
Goh et al.		SRP + PDT	SRP	SRP + PDT	SRP	SRP + PDT	SRP
	Baseline	5.42 (±0.16)	5.32 (±0.13)	6.14 (± 0.28)	6.32 (± 0.24)	75.00 (±0.00)	75.00 (±0.00)
	3 Months	4.65 (±0.18)	5.15 (±0.15)	5.49 (±0.20)	6.08 (±0.17)	61.10 (±0.00)	63.90 (±0.00)
	6 months	4.60 (±0.19)	4.76 (±0.16)	5.49 (±0.21)	5.72 (±0.18)	52.80 (±0.00)	52.80 (±0.00)
	12 months	NR	NR	NR	NR	NR	NR
	ΔSD	-0.82 (±0.16)	-0.56 (±0.13)	-0.65 (±0.20)	-0.60 (±0.18)	-22.20 (±0.00)	-22.20 (±0.00)
Da Cruz Andrade et al.		SRP + PDT	SRP	SRP + PDT	SRP	SRP + PDT	SRP
	Baseline	4.69 (±0.11)	4.71 (±0.11)	4.50 (±0.34)	5.54 (±0.24)	17.85 (±3.42)	14.28 (±3.44)
	3 Months	3.58 (±0.22)	3.19 (±0.19)	4.50 (±0.34)	4.09 (±0.34)	10.71 (±6.83)	10.51 (±3.77)
	6 months	NR	NR	NR	NR	NR	NR
	12 months	3.62 (±0.26)	3.25 (± 0.26)	4.61 (±0.30)	4.61 (± 0.30)	12.50 (±4.20)	5.35 (±3.94)
	ΔSD	-1.07 (±0.11)	-1.46 (±0.11)	0.11 (±0.30)	-0.93 (±0.24)	-5.35 (±3.42)	-8.93 (±3.44)
Nguyen et al.		SRP + L	SRP	SRP + L	SRP	SRP + L	SRP
	Baseline	05.68 (±0.15)	05.86 (±0.15)	05.15 (±0.37)	05.37 (±0.37)	100.0 (±0.00)	100.0 (±0.00)
	3 Months	04.75 (±0.15)	04.95 (±0.15)	05.68 (±0.30)	06.05 (±0.30)	72.00 (±0.00)	75.00 (±0.00)
	6 months	NR	NR	NR	NR	NR	NR

	12 months	NR	NR	NR	NR	NR	NR
	ΔSD	-0.93 (±0.15)	-0.91 (±0.15)	0.53 (±0.25)	0.68 (±0.25)	-28.00 (±6.00)	-25.00 (±6.00)
Correa et al.		SRP + PDT	SRP	SRP + PDT	SRP	SRP + PDT	SRP
	Baseline	6.30 (±1.91)	5.50 (±1.60)	11.90 (±2.06)	10.50 (±1.46)	100.0 (±0.00)	100.0 (±0.00)
	3 Months	3.90 (±1.19)	3.90 (±1.60)	10.60 (±2.04)	10.20 (±1.65)	20.0 (±0.00)	40.0 (±0.00)
	6 months	NR	NR	NR	NR	NR	NR
	12 months	NR	NR	NR	NR	NR	NR
	ΔSD	-2.40 (±0.80)	-1.60 (±0.80)	-1.30 (±1.16)	- 0.30 (±0.70)	-80.0 (±0.00)	-60.0 (±0.00)
Carvalho et al.		SRP + PDT	SRP + PDT (simulated)	SRP + PDT	SRP + PDT (simulated)	SRP + PDT	SRP + PDT (simulated)
	Baseline	4.79 (±0.47)	4.87 (±0.74)	5.56 (±0.83)	4.33 (±1.21)	58.33 (±29.70)	42.18 (±19.83)
	3 Months	3.70 (±0.85)	3.39 (±0.76)	4.61 (±1.13)	4.78 (±1.44)	19.44 (±21.95)	17.18 (±23.66)
	6 months	3.41 (±0.93)	3.48 (±0.70)	4.44 (±1.06)	4.78 (±1.44)	31.94 (±29.46)	23.43 (±19.29)
	12 months	3.55 (±0.92)	3.23 (±0.77)	4.60 (±1.11)	5.87 (±1.39)	23.61 (±21.82)	15.63 (±22.13)
	ΔSD	-1.24 (±0.47)	-1.64 (±0.74)	-0.96 (±0.83)	1.54 (±1.21)	-34.72 (±0.00)	-26.55 (±0.00)
Campos et al.		SRP + PDT	SRP	SRP + PDT	SRP	SRP + PDT	SRP
	Baseline	6.20 (±1.77)	5.44 (±1.57)	11.93 (±1.78)	10.81 (±1.41)	100.00 (±0.00)	100.00 (±0.00)
	3 Months	4.03 (±1.77)	4.30 (±1.96)	10.50 (±2.02)	10.30 (±1.57)	20.22 (±0.00)	60.00 (±0.00)
	6 months	NR	NR	NR	NR	NR	NR
	12 months	NR	NR	NR	NR	NR	NR
	ΔSD	-2.17 (±0.91)	-1.14 (±1.53)	-1.43 (±1.61)	-0.51 (±0.76)	-77.78 (±0.00)	-40.00 (±0.00)
Slot et al.		SRP + Nd: YAG LASER	SRP	SRP + Nd: YAG LASER	SRP	SRP + Nd: YAG LASER	SRP
	Baseline	5.39 (±0.32)	5.46 (±0.36)	NR	NR	51.00 (±0.27)	51.00 (±0.23)
	3 Months	NR	NR	NR	NR	NR	NR
	6 months	4.42 (±0.60)	4.61 (±0.53)	NR	NR	49.00 (±0.31)	43.00 (±0.25)
	12 months	NR	NR	NR	NR	NR	NR

	ΔSD	-0.97 (±0.58)	-0.85 (±0.45)	NR	NR	-2.00 (±0.21)	-7.00 (±0.24)
Lulic et al.		SRP + PDT	SRP + non-activated laser	SRP + PDT	SRP + non-activated laser	SRP + PDT	SRP + non-activated laser
	Baseline	6.08 (±1.19)	5.97 (±0.31)	6.70 (±2.17)	7.55 (±1.73)	97.00 (±0.00)	84.00 (±0.00)
	3 Months	5.69 (±1.34)	5.68 (±0.80)	6.41 (±2.61)	7.61 (±1.92)	64.00 (±0.00)	84.00 (±0.00)
	6 months	5.41 (±1.09)	5.93 (±0.49)	6.18 (±2.26)	7.82 (±1.42)	67.00 (±0.00)	90.00 (±0.00)
	12 months	5.81 (±1.33)	5.90 (±0.71)	6.79 (±2.37)	7.76 (±1.66)	77.00 (±0.00)	87.00 (±0.00)
	ΔSD	-0.27 (±0.43)	-0.07 (±0.61)	0.09 (±0.41)	0.20 (±0.61)	-20.00 (±0.00)	03.00 (±0.00)
Chondros et al.		SRP + PDT	SRP	SRP + PDT	SRP	SRP + PDT	SRP
	Baseline	5.20 (±0.40)	5.60 (±0.70)	6.80 (±0.90)	7.10 (±0.90)	15.00 (±0.12)	19.00 (±0.14)
	3 Months	4.60 (±0.70)	5.00 (±0.70)	6.30 (±0.90)	6.70 (±0.90)	11.00 (±0.40)	14.00 (±0.80)
	6 months	4.40 (±0.80)	4.70 (±0.90)	6.10 (±0.90)	6.60 (±0.90)	12.00 (±0.50)	18.00 (±0.80)
	12 months	NR	NR	NR	NR	NR	NR
	ΔSD	-0.80 (±0.50)	-0.90 (±0.80)	-0.70 (±0.70)	-0.50 (±0.60)	-03.00 (±0.12)	-01.00 (±0.14)

NR= Not reported; ΔSD-Δ=mean (difference between initial and final mean of values); SD= standard deviation; SRP- scaling and root planing; PDT- antimicrobial photodynamic therapy; L- laser; Nd: YAG- Neodymium: Yttrium–Aluminium Garnet lasers; %=percentage.

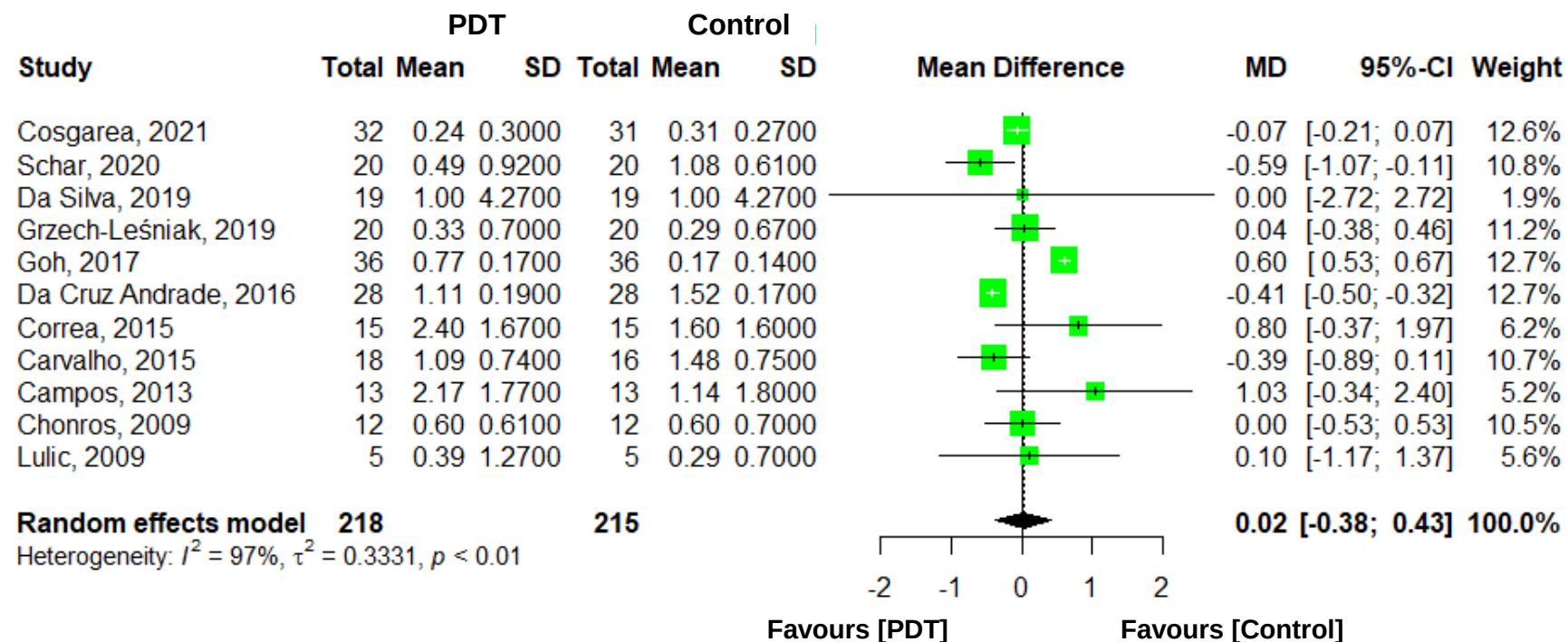


Figure 2- Forest plot for the meta-analyses of clinical measures of Probing Pocket Depth between PDT and control group.

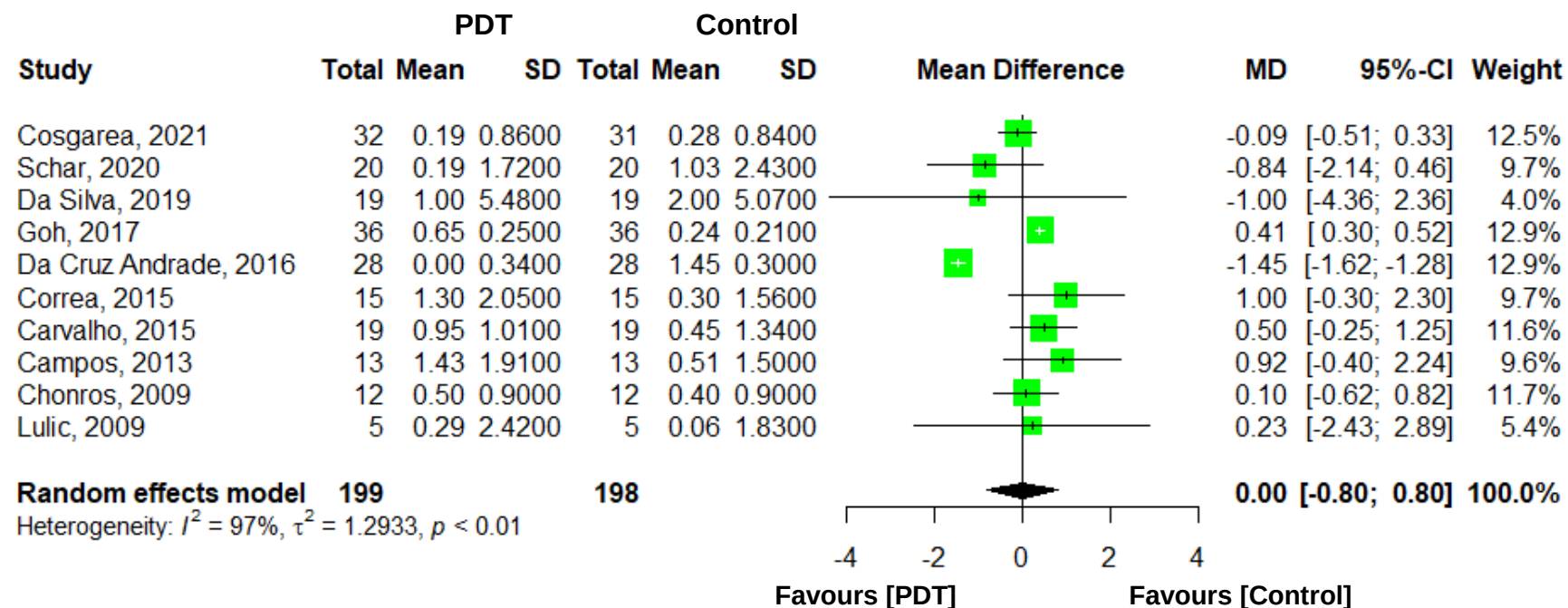


Figure 3- Forest plot for the meta-analyses of clinical measures of Clinical Attachment Level between PDT and control group.

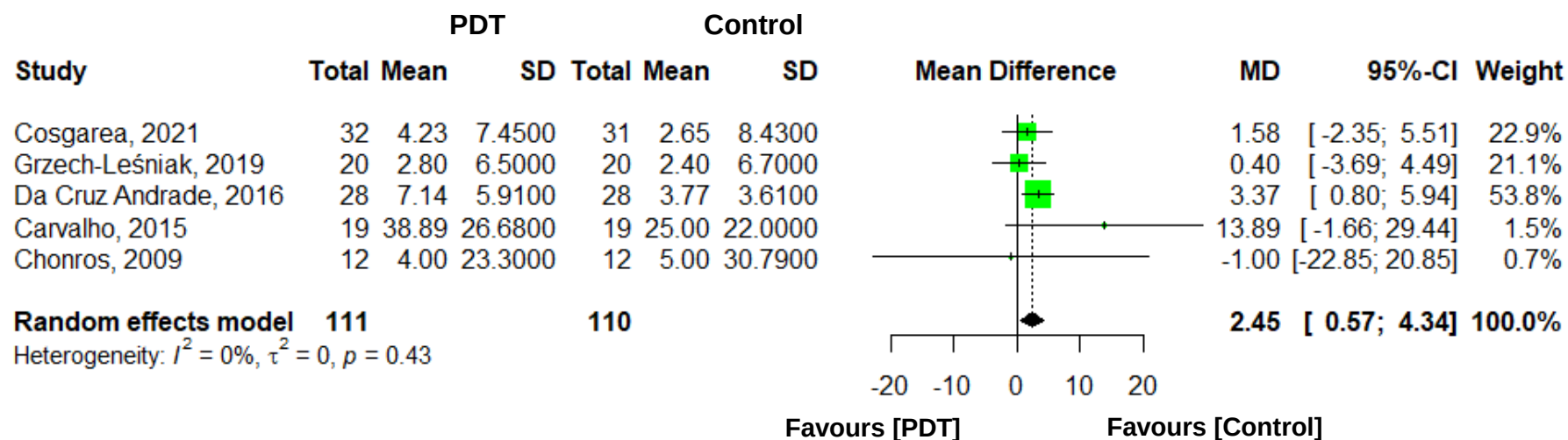


Figure 4- Forest plot for the meta-analyses of clinical measures of Bleeding on Probing between PDT and control group.

Unique ID	Study ID	Experimental	Comparator	Outcome	Weight	D1	D2	D3	D4	D5	Overall	
Cosgorea et al.	NA	NA	NA	NA	1	!	+	+	+	!	!	+
schar et al.	NA	NA	NA	NA	1	!	+	+	+	!	!	!
da Silva et al.	NA	NA	NA	NA	1	!	+	+	+	!	!	!
Grzech et al.	NA	NA	NA	NA	1	!	+	+	+	!	!	!
Habashneh et al.	NA	NA	NA	NA	1	!	+	+	+	!	!	!
Goh et al.	NA	NA	NA	NA	1	+	+	+	+	+	+	+
Da Cruz Andrade et al.	NA	NA	NA	NA	1	+	+	+	+	+	+	+
Nguyen et al.	NA	NA	NA	NA	1	+	+	+	+	+	+	+
Correa et al.	NA	NA	NA	NA	1	+	+	+	+	!	!	!
Carvalho et al.	NA	NA	NA	NA	1	+	+	+	+	+	+	+
Campos et al.	NA	NA	NA	NA	1	+	+	+	+	!	!	!
slot et al.	NA	NA	NA	NA	1	+	+	+	+	!	!	!
Lulic et al.	NA	NA	NA	NA	1	+	+	+	+	!	!	!
Chondros et al.	NA	NA	NA	NA	1	!	+	+	+	!	!	!

 Low risk
 Some concerns
 High risk

D1 Randomization process
D2 Deviations from the intended interventions
D3 Missing of the outcome
D4 Measurement of the outcome
D5 Selection of the reported result

Figure 5- Risk of bias of included studies.

5. CONCLUSÃO

A análise geral dessa revisão sistemática demonstra que o uso da aPDT ou laser como adjuvantes a RAR no tratamento de bolsas residuais em pacientes em terapia de manutenção, não promove benefícios clínicos adicionais à RAR, quando realizada isoladamente. No entanto, os dados encontrados foram limitados devido à heterogeneidade dos estudos. Os estudos incluídos apresentaram diferenças nos critérios de protocolo de uso de laser, número de aplicações, perfil amostral, randomização, cálculo da amostra e tempo de acompanhamento. Desta forma, estudos clínicos com qualidade metodológica apreciável devem ser realizados com o objetivo de elucidar melhor esse tema de grande relevância.

6. REFERÊNCIAS

American Academy of Periodontology. Parameter on chronic periodontitis with slight to moderate loss of periodontal support. Parameters of care supplement. *Journal of Periodontology* 2000;71(Suppl. 5):853-5

American Academy of Periodontology. Position Paper Periodontal Maintenance. *Journal of Periodontology* 2003;74(9):1395-40.

Albandar JM, Rams TE. Risk factors for periodontitis in children and young persons. *Periodontol* 2000. 2002;29:207-22. doi: 10.1034/j.1600-0757.2002.290110.x.

Almeida JM, Theodoro LH, Bosco AF, Nagata MJ, Bonfante S, Garcia VG. Treatment of experimental periodontal disease by photodynamic therapy in rats with diabetes. *J Periodontol*. 2008;79:2156-65.

Buduneli E, Vardar S, Buduneli N, Berdeli AH, Türkoğlu O, Başkesen A, Atilla G. Effects of combined systemic administration of low-dose doxycycline and alendronate on endotoxin-induced periodontitis in rats. *J Periodontol*. 2004 Nov;75(11):1516-23. doi: 10.1902/jop.2004.75.11.1516.

Cekici A, Kantarci A, Hasturk H, Van Dyke TE. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol* 2000. 2014 Feb;64(1):57-80. doi: 10.1111/prd.12002.

Cobb CM. Non-surgical pocket therapy: mechanical. *Ann Periodontol*. 1996 Nov;1(1):443-90. doi: 10.1902/annals.1996.1.1.443

Dahlen G, Basic A, Bylund J. Importance of Virulence Factors for the Persistence of Oral Bacteria in the Inflamed Gingival Crevice and in the Pathogenesis of Periodontal Disease. *J Clin Med*. 2019 Aug 29;8(9):1339.doi: 10.3390/jcm8091339.

Drisko CL. Periodontal debridement: still the treatment of choice, *J Evid Based Dent Pract* 14 (2014) 33–41. Supple1.

Fekrazad R, Naghdi N, Nokhbatolfoghahaei H, Bagheri H. The Combination of Laser Therapy and Metal Nanoparticles in Cancer Treatment Originated From

Epithelial Tissues: A Literature Review. *J Lasers Med Sci*. Spring 2016;7(2):62-75. doi: 10.15171/jlms.2016.13. Epub 2016 Mar 27.

Franco TPM, Dos Santos APP, Canabarro A. The effects of repeated applications of antimicrobial photodynamic therapy in the treatment of residual periodontal pockets: a systematic review. *Lasers Med Sci*. 2019 Jul;34(5):855-863. doi: 10.1007/s10103-018-02703-2. Epub 2018 Dec 11.

Graziani F, Karapetsa D, Mardas N, Leow N, Donos N, Surgical treatment of the residual periodontal pocket, *Periodontol 2000* 76 (1) (2018) 150–163.

Grzech-Leśniak K, Gaspirc B, Sculean A. Clinical and microbiological effects of multiple applications of antibacterial photodynamic therapy in periodontal maintenance patients. A randomized controlled clinical study. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2019 Sep; 27:44-50. doi: 10.1016/j.pdpdt.2019.05.028. Epub 2019 May 21.

Hoare A, Soto C, Rojas-Celis V, Bravo D. Chronic Inflammation as a Link between Periodontitis and Carcinogenesis. *Mediators Inflamm*. 2019 Mar 27;2019:1029857. doi: 10.1155/2019/1029857. eCollection 2019.

Kaldahl WB, Kalkwarf KL, Patil KD. A review of longitudinal studies that compared periodontal therapies. *J Periodontol*. 1993 Apr;64(4):243-53. doi: 10.1902/jop.1993.64.4.243.

Lapp T. AAP issues recommendations on the prevention and treatment of Lyme disease. *Am Fam Physician*. 2000 Jun 1;61(11):3463-4.

Matesanz-Perez P, Garcia-Gargallo M, Figuero E, Bascones-Martinez A, Sanz M, Herrera D. A systematic review on the effects of local antimicrobials as adjuncts to subgingival debridement, compared with subgingival debridement alone, in the treatment of chronic periodontitis, *J Clin Periodontol* 40 (3) (2013) 227–241.

Matia JL, Bissada NF, Maybury JE, Ricchetti P. Efficiency of scaling of the molar furcation area with and without surgical access. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 1986;6(6):24-35.

Pihlstrom BL, Michalowicz BS, Johnson NW. Periodontal diseases. Lancet. 2005 Nov 19;366(9499):1809-20. doi: 10.1016/S0140-6736(05)67728-8.

Prażmo EJ, Kwaśny M, Łapiński M, Mielczarek A. Photodynamic Therapy As a Promising Method Used in the Treatment of Oral Diseases. Adv Clin Exp Med. 2016;25:799-807.

Ramanauskaite E, Moraschini V, Machiulskiene V, Sculean A. Clinical efficacy of single and multiple applications of antimicrobial photodynamic therapy in periodontal maintenance: A systematic review and network meta-analysis. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2021 Dec;36:102435. doi: 10.1016/j.pdpdt.2021.102435. Epub 2021 Jul 7.

Ramanauskaite E, Sakalauskaite UM, Machiulskiene V. The Efficacy of Adjunctive Aids in Periodontal Maintenance Therapy: A Systematic Literature Review and Meta-analysis. Oral Health Prev Dent. 2020 Oct 13;18(1):889-910. doi: 10.3290/j.ohpd.a45406.

Manresa C, Sanz-Miralles EC, Twigg J, Bravo M. Supportive periodontal therapy (SPT) for maintaining the dentition in adults treated for periodontitis. Cochrane DatabaseSystRev. 2018.Jan1;1(1):CD009376. doi:10.1002/14651858.CD009376.pub2.