

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

Tese



***Spin* em Revisões Sistemáticas na área de Odontologia Restauradora**

Felipe de Araujo Sensever

Pelotas, 2023

Felipe de Araujo Sensever

***Spin* em Revisões Sistemáticas na área de Odontologia Restauradora**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, área de concentração em Clínica Odontológica, ênfase em Cariologia e Dentística da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Odontologia.

Orientadora: Tatiana Pereira Cenci

Pelotas, 2023

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

S478s Sensever, Felipe de Araujo

Spin em revisões sistemáticas na área de odontologia restauradora / Felipe de Araujo Sensever ; Tatiana Pereira Cenci, orientadora. — Pelotas, 2023.

60 f.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Clínica Odontológica - ênfase em Dentística e Cariologia, Programa de pós-graduação em Odontologia / Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas, 2023.

1. Odontologia. 2. Dentística operatória. 3. Revisão sistemática. 4. Viés de publicação. I. Cenci, Tatiana Pereira, orient. II. Título.

Black : D2

Felipe de Araujo Sensever

Título: *Spin* em Revisões Sistemáticas na área de Odontologia Restauradora

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

Data da Defesa: 16 de fevereiro de 2023.

Banca examinadora:

Prof^a. Dr^a. Tatiana Pereira Cenci (Orientadora)

Doutora em Prótese Dentária pela Universidade Estadual de Campinas

Prof^a. Dr^a. Anelise Fernandes Montagner

Doutora em Dentística pela Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Jovito Adiel Skupien

Doutor em Dentística pela Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Kauê Farias Collares

Doutor em Dentística pela Universidade Federal de Pelotas

Agradecimentos

Aos meus pais Carlos e Mara, minha avó materna Maria e meus irmãos Daniele e Fábio, pelo apoio familiar sempre presente, por me incentivarem nessa trajetória acadêmica e não medirem esforços para eu sempre continuar estudando.

À Universidade Federal de Pelotas (UFPel), a Faculdade de Odontologia da UFPel e ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da UFPel, pelo acolhimento desde que prestei a prova de seleção do doutorado, a organização e o incentivo a pesquisa científica, mesmo em períodos de incertezas orçamentárias para manter as atividades.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de estudos durante os anos de doutorado.

À minha orientadora querida Tatiana Pereira Cenci, por ter sido receptiva desde o primeiro contato, me acolher, me fazer crescer na pesquisa científica e transmitir muitos dos seus ensinamentos, além de me tranquilizar em período de pandemia quando não tínhamos certeza do que ia acontecer no dia seguinte. Tenho muito orgulho de dizer que sou seu orientado, não só pela grande pesquisadora, mas também pela professora e pessoa admirável que é. Muito obrigado pela parceria nesses anos.

Ao projeto de extensão PRODENTE, no qual fiz amigos incríveis, passei bons momentos e aprendi muito. Sou muito grato pelo acolhimento, parceria e amizade.

A todos os professores que tive a oportunidade de conhecer e trocar conhecimentos, em especial aos que me acolheram em estágios de docência em suas disciplinas da graduação e pós-graduação.

Aos meus colegas de doutorado, com os quais tive momentos inesquecíveis e fizeram eu me sentir em casa quando estava morando em Pelotas. Sinto saudades de todos e torço muito para que alcancem seus objetivos.

Aos meus amigos, que sempre me apoiaram, estiveram comigo quando eu morei longe, me visitaram, e nunca me deixaram desistir nos momentos de aflição e ansiedade.

A todos que contribuíram de alguma forma na minha trajetória acadêmica no doutorado e que auxiliaram nesse estudo.

Resumo

SENSEVER, Felipe de Araujo. ***Spin* em Revisões Sistemáticas na área de Odontologia Restauradora**. Orientadora: Tatiana Pereira Cenci. 2023. 60 f. Tese (Doutorado em Clínica Odontológica – Cariologia e Dentística) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2023.

Revisões sistemáticas e Meta-análises (RSMAs) são altamente recomendadas para resumo de evidências sobre determinado assunto e são fontes importantes para profissionais da saúde, pacientes e/ou gestores. Para que sejam realmente úteis, as RSMAs necessitam de uma metodologia rigorosa e um relato adequado. No processo de escrita, os pesquisadores tem livre escolha de como vão representar e interpretar seus dados, e podem ser instigados, conscientemente ou não, a deformar a impressão que esses resultados vão gerar sobre os leitores, e consequentemente fazer *spin* no relato de seus estudos. O *spin* pode ocorrer por conta de uma falta de entendimento dos princípios metodológicos, na tentativa de alguns autores convencerem os leitores sobre seus achados, uma forma inconsciente ou uma vontade real de enganar o leitor, porém, na maior parte das vezes favorece o interesse pessoal do autor da publicação, seja ele financeiro, intelectual e/ou acadêmico. O objetivo do presente estudo foi estimar a prevalência de *spin* e completude do relato de RSMAs de ensaios clínicos randomizados (ECRs) em odontologia restauradora. Os critérios de inclusão foram: RSMA de ECRs em odontologia restauradora sobre taxas de sobrevivência, sucesso ou falha de tratamentos em humanos, sem restrição de idioma ou ano. Aquelas RSMA nas quais incluíram outros tipos de estudos que não ECRs, foram excluídas. PubMed/MEDLINE, Web of Science, Scopus, Embase e Cochrane Collaboration Library foram pesquisados até abril de 2022. Foram avaliadas a prevalência de *spin* (desfecho primário) e a completude do relato (desfecho secundário) do resumo e texto completo dos artigos incluídos. Os dados foram apresentados por meio de médias e desvio padrão ou frequências absolutas e relativas. O *spin* em cada item foi considerado baixo quando ocorreu em menos de 25% dos artigos, moderado (25 a 75%) ou alto (mais de 75%). Identificamos 7.029 estudos e 49 manuscritos foram incluídos na análise. Houve presença moderada de *spin* nos resumos e baixa nos textos completos. Nos resumos, 65,9% não relataram eventos adversos, enquanto no resumo e texto completo, mais de 16% relataram uma conclusão contendo recomendações para a prática clínica não suportadas pelos achados. Em relação à completude do relato, houve reporte não adequado para a maioria dos itens do checklist no resumo, enquanto houve relato adequado nos textos completos, exceto para nome da plataforma de registro da RSMA e o número do registro (não informado em 32,7%). Os resumos de RSMA em odontologia restauradora devem ser melhor relatados, já que um reporte ruim foi mais frequente nos resumos e pode levar os leitores à percepção de recomendações clínicas que podem estar inadequadas. O *spin* é uma prática prejudicial na comunidade científica. A não descrição de efeitos adversos é preocupante e a ausência dessa informação pode levar a falsas interpretações, afetando na tomada de decisão clínica e escolha de tratamento por cirurgiões-dentistas e pacientes.

Palavras-chave: Odontologia; Dentística Operatória; Revisão Sistemática; Viés; Viés de Publicação

Abstract

SENSEVER, Felipe de Araujo. **Spin and reporting in systematic reviews in restorative dentistry**. Advisor: Tatiana Pereira Cenci. 2023. 54 f. Thesis (Doctorate in Clinical Dentistry – Cariology and Dentistry) – Faculty of Dentistry, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2023.

Systematic Reviews and Meta-Analyses (SRMAs) are often used for summarizing evidence on a given subject and are important sources of information for healthcare professionals, patients and/or managers. To be reliable useful, SRMAs need a rigorous methodology and adequate reporting. In the writing process, researchers have free choice of how they will represent and interpret their data, and may be instigated, consciously or not, to distort the impression that these results will generate on readers, and consequently spin the report of their studies. Spin can occur due to a lack of understanding the methodological principles, in an attempt of some authors to convince readers of their findings, an unconscious way or a real desire to deceive the reader, however, most of the time it favors personal interest of the author of the publication, be it financial, intellectual and/or academic. The aim of the present study was to estimate the prevalence of spin and completeness of reporting SRMAs from randomized controlled trials (RCTs) in restorative dentistry. Inclusion criteria were: SRMA of RCTs in restorative dentistry on survival rates, success or failure of treatments in humans, without language or year restriction. Those SRMA which included types of studies other than RCTs were excluded. PubMed/MEDLINE, Web of Science, Scopus, Embase, and the Cochrane Collaboration Library were searched through April 2022. The prevalence of spin (primary outcome) and completeness of reporting (secondary outcome) in the abstract and full text of included articles were evaluated. Data were presented as means and standard deviation or absolute and relative frequencies. The spin in each item was considered low when it occurred in less than 25% of the articles, moderate (25 to 75%) or high (more than 75%). We identified 7029 studies and 49 manuscripts were included in the analysis. There was a moderate presence of spin in abstracts and low in full texts. In the abstracts, 65.9% reported no adverse events, while in the abstract and full text, more than 16% reported a conclusion containing recommendations for clinical practice not supported by the findings. Regarding the completeness of the report, there was inadequate reporting for most of the checklist items in the summary, while there was adequate reporting in the full texts, except for the name of the SRMA registration platform and the registration number (not reported in 32.7 %). SRMA abstracts in restorative dentistry should be better reported, as poor reporting was more frequent in abstracts and may lead readers to perceive clinical recommendations that may be inappropriate. Spin is a harmful practice in the scientific community. The non-description of adverse effects is unsettling and the absence of this information can lead to false interpretations, affecting clinical decision-making and choice of treatment by dentists and patients.

Key-words: Dentistry; Operative Dentistry; Systematic Review; Bias; Publication Bias

Sumário

1 Introdução e revisão de literatura.....	8
1.1 Objetivos.....	12
2 Artigo - <i>Spin and reporting in systematic reviews with meta-analysis of randomized clinical trials in restorative dentistry</i>.....	13
3 Considerações Finais.....	56
Referências.....	57

1 Introdução e revisão de literatura

As Revisões Sistemáticas e Meta-análises (RSMAs) devem ser conduzidas com metodologia rigorosa e, sempre que possível gerando conclusões que auxiliem a prática clínica, seja enquanto paciente, profissional de saúde e/ou gestor. Revisões sistemáticas (RS) são fontes importantes para profissionais de saúde, pois trazem uma visão geral em um campo específico do conhecimento, auxiliando na tomada de decisões em diagnósticos, prevenção e/ou tratamento de doenças, sendo altamente recomendadas para resumo de evidências disponíveis sobre determinado assunto (COOK; MULROW; HAYNES, 1997; GUREVITCH *et al.*, 2018; MURAD; MONTORI, 2013). Em 2017, quase 500 RS foram indexadas no PubMed na área odontológica, o que representava 6,05% das RS publicadas (BASSANI *et al.*, 2019). De 2017 até o final de 2022 havia, somente no PubMed, existiam mais de 9 mil RS publicadas quando utilizadas palavras-chaves como 'revisão sistemática E odontologia' (SYSTEMATIC REVIEW DENTISTRY - SEARCH RESULTS - PUBMED, [s.d.]). Na área da odontologia restauradora, diversas decisões podem ser tomadas por um clínico utilizando-se os resultados destas RSMA, como por exemplo a utilização de bochechos antes de um procedimento para prevenir a transmissão de doenças em profissionais de saúde. Sabe-se que não há evidência suficiente para indicar um bochecho prévio (KUMBARGER NAGRAJ *et al.*, 2022) e este procedimento pode estar sendo realizado por profissionais que talvez tenham tido acesso a apenas um estudo primário que mostrou algum resultado benéfico. Sabe-se, por exemplo, que a utilização de selantes para prevenir cárie em dentes decíduos está baseada em poucos Ensaios Clínicos Randomizados (ECRs) com pouca ou muito pouca qualidade/certeza da evidência (RAMAMURTHY *et al.*, 2022). Evidências incertas e de baixa qualidade dizem que o uso de isolamento absoluto com dique de borracha em tratamentos restauradores diretos pode levar a uma menor taxa de falha de restaurações em comparação ao isolamento relativo com roletes de algodão, enquanto o importante a ser enfatizado é a necessidade de um controle efetivo de umidade e secreções bucais (MIAO *et al.*, 2021). Há diversos outros exemplos que se destaca ser inegável que RS são uma importante ferramenta para o clínico e, mais recentemente, para os pacientes, já que muitos indivíduos procuram nestas publicações, respostas para seus questionamentos quando decidem procurar por um

tratamento odontológico. Nesse sentido, podemos citar a polêmica acerca da retirada de restaurações de amálgama por ela oferecer riscos à saúde dos pacientes. Diante de poucos ECRs sobre o assunto, sabe-se que assim como a resina composta, o amálgama não foi relacionado a nenhum risco de doenças sistêmicas, sem qualquer influência na saúde geral, sendo a sua substituição recomendada apenas quando clinicamente necessário (GALLUSI *et al.*, 2021).

Neste contexto, é fundamental que uma RS seja adequadamente conduzida e reportada. A Declaração de Helsinque da Associação Médica Mundial sobre os “Princípios éticos para pesquisas médicas envolvendo seres humanos” defendem que autores e editores têm obrigações éticas com a publicação dos resultados de pesquisa, sendo os pesquisadores obrigados a preservar a precisão dos resultados, sendo eles positivos ou negativos, e devem ser publicados ou disponibilizados publicamente (WORLD MEDICAL ASSOCIATION, 2013). Estudos que avaliaram aspectos relevantes do processo de uma RS, revelam que essas revisões não são totalmente confiáveis e que é necessário melhorar a qualidade de condução e relato desses estudos (SARKIS-ONOFRE *et al.*, 2019). A alta produção de RSMA desnecessárias e conflitantes acabam prejudicando os cuidados à saúde baseados em evidências, além de desperdiçar recursos de pesquisas (IOANNIDIS, 2016). Por isso, os autores devem ser instigados a realizarem relatos completos, precisos e transparentes, justificando o porquê da realização daquela revisão, como ela foi feita e o que foi encontrado, a fim de fornecer um estudo robusto, útil e reproduzível aos leitores (MOHER, 2018).

As publicações são essenciais no processo científico, geram conhecimento e impactam na prática clínica e saúde pública, por isso, precisam ser relatadas em sua completude, de forma transparente e precisa (WORLD MEDICAL ASSOCIATION, 2013). Porém, no processo de escrita desses resultados, os pesquisadores tem livre escolha de como vão representar e interpretar seus dados, e podem ser instigados, conscientemente ou não, a deformar a impressão que esses resultados vão gerar sobre os leitores, e conseqüentemente fazer um *spin* nos resultados dos seus estudos (BOUTRON; RAVAUD, 2018). O *spin* surgiu nas relações políticas e públicas como uma forma de propagação da interpretação tendenciosa de algum fato com o objetivo de induzir o público a favor ou contra alguma organização ou figura pública. Quem fazia essas modificações nas percepções dos acontecimentos, eram chamados de

“*spin doctor*” (BOUTRON; RAVAUD, 2018). O conceito de *spin* também começou a ser aplicado nas comunicações científicas, e foi estudado sistematicamente pela primeira vez em 2010 em uma amostra de ECRs com desfecho primário não estatisticamente significativo (BOUTRON, 2020). Nas publicações científicas, ele pode ser definido como um manuscrito que falha em repassar fielmente as descobertas, afetando a impressão que os resultados causam aos leitores, sendo uma forma de distorcer o relato científico sem realmente mentir (BOUTRON; RAVAUD, 2018). Esse *spin* pode ocorrer por conta de uma falta de entendimento dos princípios metodológicos, uma prática comum ao autor, uma forma inconsciente ou uma vontade real de enganar o leitor, porém, na maior parte das vezes favorece o interesse pessoal do autor da publicação, seja ele financeiros, intelectual e/ou acadêmico (BOUTRON; RAVAUD, 2018). Existem diferentes maneiras de fazer *spin* em um manuscrito, sendo que várias abordagens são possíveis para classificação, como por exemplo, o relato incorreto de métodos e resultados, relato seletivo de resultados e análises, ignorar ou subestimar resultados contrários a hipótese inicial, resultados com números incorretos, má interpretação dos resultados, além de outros inúmeros tipos de *spin* que podem ser identificados (BOUTRON; RAVAUD, 2018).

Diversas evidências já encontraram discrepâncias entre os resultados e as conclusões publicadas de estudos, principalmente em seus resumos. Em uma RS de ECRs sobre medicina de emergência foi encontrado resultados seletivos em 10% dos ECRs e uma prevalência de 44% de *spin* nos resumos desses estudos (REYNOLDS-VAUGHN *et al.*, 2019). Já outra RS a respeito da prevalência de *spin* na literatura biomédica, encontrou uma mediana de 67% de resumos de ECRs relatados com *spin* (CHIU; GRUNDY; BERO, 2017). Na área odontológica, várias especialidades já foram estudadas. Em um estudo de avaliação da prevalência e identificação de fatores associados ao *spin* em resumos de RSMA de ortodontia, a inclusão de pelo menos um tipo de *spin* foi registrado em 48,6% dos estudos (MAKOU; ELIADES; KOLETISI, 2021). Já no campo da endodontia, um estudo mostrou a inclusão de *spin* em 67,2% dos resumos de RSMA (GIANNAKOULAS; KOLETISI; TZANETAKIS, 2022). Em contrapartida, uma RS de ECRs de implantodontia sobre taxa de sobrevivência, sucesso ou falha, demonstrou uma baixa prevalência de *spin*, com exceção do relato de efeitos adversos nos resumos, porém percebeu-se um relato incompleto da maioria

dos itens do resumo considerando o checklist PRISMA-A (DE LUCENA ALVES *et al.*, 2022).

Um ponto a ser destacado é o porquê de os autores adicionarem *spin* em seus relatos. Devido a fatores que vem do próprio ambiente acadêmico, como a pressão para publicarem, conhecida como "publish or perish" (RAWAT; MEENA, 2014; ROND; MILLER, 2005), o ambiente altamente competitivo dentro do meio científico e a importância de publicações de resultados positivos, acabam favorecendo os autores a omitir achados de seus estudos, gerando uma falsa produtividade acadêmica e influência entre os cientistas (BOUTRON; RAVAUD, 2018). Além disso, evidências já mostraram que editores, revisores e pesquisadores tem um maior interesse em resultados estatisticamente significativos. Quando avaliaram duas versões de um ECR que apenas tinham os achados diferentes, sendo um positivo e o outro um desfecho primário negativo, os revisores foram propensos a recomendarem a versão positiva para publicação, enquanto na versão negativa foram detectados mais erros e pontuação baixa em relação a metodologia (EMERSON *et al.*, 2010). No meio científico, os estudos com resultados negativos ou não-estatisticamente significativos podem ser considerados falhos e inúteis (BOUTRON; RAVAUD, 2018), como se não fossem dignos de publicação. Diante dessa questão, primeiramente é necessário que se tenha consciência na comunidade científica do quanto o uso de *spin* é prejudicial e precisa ser levado a sério, com ações para que seja identificado de maneira eficaz e repreendido. O registro do protocolo antes da realização da pesquisa e os dados estarem acessíveis, melhoram a confiabilidade e credibilidade da literatura científica, e evitam que a prática de *spin* seja realizada, pois o planejamento já foi estruturado antes do estudo começar, não permitindo que análises e resultados sejam criados (MUNAFÒ *et al.*, 2017). Diretrizes de relato como a *Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses* (PRISMA) foram projetadas e são atualizadas com frequência, a fim de auxiliar o relato transparente e completo das revisões, para que sejam realmente valiosas aos usuários, sejam eles autores, editores e revisores de RS, desenvolvedores de diretrizes, formuladores de políticas, profissionais da saúde ou pacientes (PAGE *et al.*, 2021). Porém, essas diretrizes não fornecem recomendações sobre como os resultados devem ser interpretados, como relatar as conclusões e como evitar distorções que gerem *spin* (BOUTRON; RAVAUD, 2018). Também nesse sentido, a Colaboração Cochrane faz contribuições com pesquisas

para compreender o viés nos ensaios clínicos e como eles podem influenciar nas RS, a fim de melhorar esses estudos. Aqui, viés é definido como um erro sistemático, desvio nos resultados ou inferências de verdade, que não tem a ver com a qualidade da condução do estudo (TURNER *et al.*, 2013). Por essa razão, as revisões Cochrane são referências de boas práticas e escrita no mundo inteiro. Outra ação importante, é o treinamento e ferramentas específicas de detecção de *spin* para editores e revisores de revistas, como um guia (MONTORI *et al.*, 2004) e orientações (SUTHERLAND; SPIEGELHALTER; BURGMAN, 2013) que já existem, mas precisam ser amplamente utilizados. Além disso, o atual sistema em que os cientistas são valorizados apenas por número de publicações e fator de impacto pode acabar incentivando o uso de *spin* nas publicações (EDWARDS; ROY, 2017). Alguns pesquisadores sugerem a substituição do sistema atual para um outro que valorize a pesquisa produtiva, sem desperdícios, de alta qualidade, reproduzível e compartilhável (IOANNIDIS; KHOURY, 2014). Todos esses esforços são de grande importância pois o *spin* realmente pode impactar e afetar pesquisadores, profissionais da saúde, jornalistas que estão divulgando algum achado científico, e também o público em geral que pode ser mais vulnerável a acreditar em relatos distorcidos e interpretações enganosas de pesquisas, levando a mudanças de hábitos ou tratamentos, podendo gerar riscos à saúde dos indivíduos (BOUTRON; RAVAUD, 2018).

1.1 Objetivos

Objetivo geral:

Avaliar a ocorrência de *spin* em revisões sistemáticas com meta-análises de ensaios clínicos randomizados na área da odontologia restauradora.

Objetivos específicos:

- Avaliar o *spin* em revisões sistemáticas com meta-análise de ensaios clínicos randomizados em odontologia restauradora no resumo dos manuscritos;
- Avaliar o *spin* em revisões sistemáticas com meta-análise de ensaios clínicos randomizados em odontologia restauradora no texto completo dos manuscritos;

- Comparar a ocorrência de *spin* no resumo e texto completo;
- Avaliar a completude do relato destas revisões sistemáticas com meta-análise em odontologia restauradora através do checklist dos 12 itens do PRISMA-A no resumo;
- Avaliar a completude do relato destas revisões sistemáticas com meta-análise em odontologia restauradora através do checklist PRISMA no texto completo para os mesmos itens avaliados no resumo;
- Comparar os resultados do checklist PRISMA e PRISMA-A, considerando-se apenas os 12 itens do PRISMA-A.

2 Artigo

Title

Spin and reporting in systematic reviews with meta-analysis of randomized clinical trials in restorative dentistry

Short title

Spin and reporting in systematic reviews in restorative dentistry

Authors

Felipe de Araujo Sensever¹, Charles Phillipe de Lucena Alves², Giana da S. Lima¹, Bas Loomans³, Niek Opdam³, Tatiana Pereira-Cenci^{1,3}

¹Graduate Program in Dentistry, Federal University of Pelotas, R. Gonçalves Chaves 457, 96015-560, Pelotas, Brazil

²Postgraduate Program in Epidemiology, Federal University of Pelotas, R. Mal Deodoro, 1160, 96020-220, Pelotas, RS, Brazil

³Department of Dentistry, Radboud Institute for Health Sciences, Radboud University Medical Center, Philips van Leydenlaan 25, 6525 EX, Nijmegen, The Netherlands

Authors' emails: felipesensever@gmail.com, charleslucenaa@gmail.com, gianalima@gmail.com, bas.loomans@radboudumc.nl, Niek.Opdam@radboudumc.nl, Tatiana.pereira-cenci@radboudumc.nl

Corresponding author

Tatiana Pereira-Cenci

Department of Dentistry, Radboud Institute for Health Sciences, Radboud University Medical Center, Philips van Leydenlaan 25, 6525 EX, Nijmegen, The Netherlands

Tatiana.pereira-cenci@radboudumc.nl Telephone: +31 243614027

Conflict of interest

The authors declare that the inclusion of one manuscript in which the authors have co-authored may be perceived as a conflict of interest.

Data availability statement

Data will be available at Open Science Framework (<https://osf.io/6jf7v/>).

Keywords: misleading interpretation, misleading reporting, meta-research, review, dentistry and bias

Spin and reporting in systematic reviews with meta-analysis of randomized clinical trials in restorative dentistry

Abstract

Objective: To estimate the prevalence of spin and completeness of reporting of systematic reviews with metanalysis (SRMAs) in restorative dentistry. **Methods:** Inclusion criteria were SRMAs of randomized clinical trials of restorative dentistry on survival, success, or failure rates of treatment in humans, with no language or year restriction. SRMAs performed with non-RCTs were excluded. PubMed/MEDLINE, Web of Science, Scopus, Embase, and Cochrane Collaboration Library were searched from inception to April 2022. Outcomes were the prevalence of spin (primary outcome) and completeness of reporting (secondary outcome) in the abstract and full text. Data were reported through means and standard deviations or absolute and relative frequencies. Spin in each item was considered low when occurring in less than 25% of the papers, moderate (25 to 75%), or high (more than 75%). **Results:** We identified 7,029 studies and 49 unique manuscripts were included. There was a moderate presence of spin in the abstracts and low in full texts. In the abstracts, 65.9% did not report adverse events; while in the abstract and full text, more than 16% reported a conclusion containing recommendations for clinical practice not supported by the findings. Regarding completeness of reporting, there was poor reporting for most items in the abstract while there was an adequate report in full texts, except for register name and registration number (not reported in 32.7%). **Conclusions:** Abstract of SRMAs in restorative dentistry should be better reported. Spin and poor reporting were more frequent in the abstracts, which misleads readers and could lead to inadequate clinical recommendations.

Clinical significance: Spin and incomplete reporting are a threat to evidence-based practice, especially in systematic reviews. Therefore, care providers, researchers, and other stakeholders should be aware of the possibility of spin in systematic reviews and other sources to prevent misinterpretation, which could lead to inadequate decisions and treatments.

1 Introduction

Good research practices consist of ethically, transparently, completely, and accurately reporting the results of a study [1]. Authors have different ways of representing and interpreting data, and so they may end up being urged, consciously or not, to shape their results to make them more attractive to readers [2]. *Spin*, in addition to being present in public and political relations, can also be found in scientific communications and is defined as a report that does not faithfully reflect the nature and series of discoveries, which may affect the impression that the results produced on the readers, distorting scientific reports without actually lying [3]. In that context, both reporting bias and publication bias (mainly due to negative results) is also a common problem in biomedical research, increasing waste in research [4–6]. There are indications that researchers, editors, and reviewers prefer statistically significant results and are more likely to refuse and find errors in studies that show negative results, often being considered failed and useless studies, which end up not being published [2,7].

There is evidence containing systematic cohort assessments showing differences between the results and conclusions of published studies [8,9], as well as the high prevalence of spin in randomized clinical trials in the biomedical literature [10]. It is a harmful research practice, driven by the competitive environment in science, the importance of positive conclusions in studies, and the lack of guidelines for interpreting the results and avoiding distortions [2].

Some publications dealt with spin in dentistry [11–13]. Abstracts of randomized clinical trials (RCTs) presented almost 40% of some form of spin [11]. Spin was also found in RCTs abstracts in endodontics [14], orthodontics [13], periodontics, and implantology [11], but incomplete/poor reporting of the abstract of SRMAs were found, which also makes it difficult to the readers to correctly interpret the results [12]. SRMAs in restorative dentistry are extensively published and studies have shown results of restorative treatments and techniques [15,16]. Briefly, these reviews aim to generate knowledge for professionals, patients, researchers, and public policymakers [17–19]. However, systematic reviews are the source of evidence-based practices in restorative dentistry, whether in the choice of materials [20] or the decision of restorative techniques [21], and these reviews must be well-reported and provide accurate

information. Therefore, we aimed to evaluate the presence of spin and completeness of reporting in SRMAs of RCTs in restorative dentistry.

2 Methods

This study was reported using the recommendations of Preferred Reporting Items for Systematic Review and Meta-Analysis (PRISMA) [21] and the reporting guideline for meta-research studies [22], whenever applicable. The study protocol and data used in the analyses are publicly available in the Open Science Framework (OSF) repository (<https://osf.io/6jf7v/>).

2.1 Eligibility criteria

Inclusion criteria were defined as SRMAs in restorative dentistry comparing at least two treatments/materials that included RCTs with no restriction of the year of publication or language. If the study had other study designs in addition to the RCTs, but analyses of the RCTs were performed separately, the study was also included. When the study made no distinction between children, youth, or adults, the study was included only if permanent teeth were considered in the results. The date of collection was from the first SRMA published on the subject until April 5th, 2022. The systematic reviews that included the following outcomes were considered: survival, success, and failure or retention rates of restorations. Exclusion criteria were defined as follows: brief communications, research letters, narrative reviews, systematic reviews without meta-analysis, or SRMAs performed with different study designs altogether. Trials that focused exclusively on economic assessments and accuracy of diagnostic tests were excluded, as were studies focusing on outcomes unrelated to restorative dentistry.

2.2 Literature search and study selection

The electronic databases were: PubMed MEDLINE, Embase, Scopus, Web of Science, and Cochrane Collaboration Library. The search strategy is shown in Supplementary material 1. Initially, all available records retrieved from the databases were uploaded to the Rayyan QCRI website to remove duplicates and two independent reviewers (FAS and TPC) performed the screening phase, selecting potentially eligible

articles, and checking titles, and abstracts. To reduce interpretation bias, any discrepancies were reviewed until a consensus was reached. We obtained substantial agreement (97.66% with Cohen's $K = 0.67$). Potentially eligible records were downloaded for the final decision on eligibility. A list of ineligible full-texts was recorded with the reasons for exclusions (Supplementary material 2).

2.3 Data collection process

Data from the included studies were extracted and coded in Microsoft Excel (Microsoft Corp, Washington, USA) by two independent reviewers (FAS and TPC). Specific journal information was extracted, as follows: journal impact factor (2020); ICMJE/PRISMA endorsement (journal's website) (yes/no); structured abstract (yes/no), and abstract word count limit (journal's website) (yes/no). information about each included paper was extracted as follows: abstract word count; PRISMA citation (in full text) (yes/no); open access (yes/no); continent of publication (corresponding author); the number (considering the main outcome of this study) of RCTs included in the meta-analyses; the number of primary and secondary outcomes; if there was a distinction between primary and secondary outcomes (in the full text) (yes/no); declaration of funding sources (yes/no); registration status (yes/no); registration number; declaration of conflict of interest (yes/no); risk of bias assessment (yes/no) and assessment tool; and GRADE assessment (yes/no). In case of doubt, the opinion of a third reviewer (GSL) was requested. When data were absent or unclear, two attempts were made to request data from the authors by email. Studies were excluded if there was no response from the authors after two attempts or if the data no longer existed.

2.4 Outcome assessment

Initially, spin was considered in the abstracts and the full texts with the final evaluation of present or absent (yes or no), based on the most severe types of spin and considering misleading interpretation and misleading reporting [23]. The following items were evaluated: (1) the conclusion contains recommendations for dental clinical practice not supported by the findings; (2) the title claims or suggests a beneficial effect of restorative material or technique not supported by the findings; (3) selective

reporting of or overemphasis on efficacy outcomes or analysis favoring the beneficial effect of one of restorative techniques or materials; (4) omission of primary outcomes; (5) fail to mention adverse events that could occur with the restorative materials or techniques; (6) selective reporting of positive results and omission of negative results of primary outcomes; (7) fail to report statistically nonsignificant primary outcomes; (8) focus on statistically significant outcomes other than the primary; and (9) overenthusiastic interpretation of primary outcomes results as effective. Next, each item of the PRISMA 2020 for abstracts was assessed. The same items from the abstract were searched in the full texts. All items were considered as fully reported if the reporting was complete (rated as 'yes'), e.g., if inclusion criteria were reported but exclusion criteria were not reported, this item was considered poor and rated as 'no'.

Data were extracted in duplicate, and discrepancies were resolved by a third evaluator. All Cochrane reviews were considered as a yes for 'Identify the report as a systematic review', because Cochrane is a database of systematic reviews only, even if the title does not report it. Likewise, protocol registration is mandatory for those reviews and was considered always present. For PRISMA-A evaluations, the information was only considered present if presented on the abstract page (first page of the manuscript).

2.5 Data Analysis

Means and standard deviations were calculated for quantitative variables; proportions and counts were used to describe categorical variables. Categorical variables were accompanied by their 95% confidence intervals. Chi-square tests were used to evaluate the association between abstract spin and completeness of reporting in PRISMA- A (both classified as "yes") with limit for word count. For this analysis, the value of the cell expected should be 5 or more in at least 80% of the cells, and no cell should have an expected of less than one. Therefore, we excluded some items with values lower than 5. All statistical analyzes were performed using Stata 15.1. Individual data are shared at OSF.

3 Results

3.1 Study selection process

A total of 7,029 studies was retrieved in the search process. After removing 2,024 duplicates 5,005 studies were evaluated by title and abstract, 4,807 were excluded in this process according to inclusion and exclusion criteria, and 198 were left for full-text reading. In the search for full texts, 4 studies were not found, and the authors were contacted by email 2 times, without success, and then excluded. Next, 145 studies were excluded for the following reasons: not a systematic review; did not perform a meta-analysis; did not include RCTs in the meta-analysis; other study designs were included in the meta-analysis together with RCTs; did not include a meta-analysis of the outcomes of interest; update of the same SRMA. When the same study was published in two languages, we chose the English language version for evaluation. Thus, 49 studies were included in this review. The flowchart (Figure 2) summarizes the study selection process.

3.2 Characteristics of the studies included in the systematic review

The characteristics of the 49 studies included in this systematic review are described in Table 1 and supplementary material 3. Most SRs were from South America (n= 25), followed by Europe (n= 10), Asia (n= 8), and North America (n= 4), and were published between 2012 and 2022, with more than 60% published in the last 5 years. The mean number of RCTs included in the SRs was 10.8 ± 10.5 . The average word count of the abstract of the non-Cochrane studies was 264.82 ± 54.9 , while the average with the Cochrane studies was 325.1 ± 182.3 . Regarding the limit of words contained in the abstract, 35 (71.43%) imposed a limit. The number of journals that endorsed the use of the ICMJE/PRISMA was 47 (96.0%) and 34 (69.3%) of the studies cited PRISMA. Only 15 (30.6%) of the studies were open access. Most studies reported funding (79.5%), as well as declared whether there were conflicts of interest (69.3%). All included studies had a risk of bias assessment, with 23 (46.9%) also presenting GRADE assessment, while 33 (67.3%) had a registration number.

3.3 PRISMA and PRISMA-A compliance

The PRISMA assessments in the abstract and full text showed that the 12 checklist items were reported in most of the SRs included (Table 2). In the abstracts, full report of the inclusion and exclusion criteria were not present (97.9%), the number of included studies and included participants/subjects was also not complete as well as the summary of the relevant characteristics of the studies (65.3%), the report of the primary source of funding (100%) and the protocol record number (83.6%) as the least reported items in the included studies. In the evaluation of the full text, 5 of the 12 items were fully reported by all included studies and a few studies did not report the other items. Cochrane reviews were considered “reported” in the items ‘identify the study as a systematic review’ and ‘provide the protocol name and registration number’, as all are systematic reviews and require a protocol registration in Cochrane. In the items where multiple information needed to be described, studies were classified as “not reported” when one or more items were missing from the full description.

3.4 Presence of spin in the abstract and full text

The percentages of spin in the abstract and full text, assessed through a 9-item checklist, are shown in Table 3. In the abstracts of the included studies, the highest rate of spin was in the reporting of adverse effects of the interventions (65.3%), while the other items had low prevalence or did not present studies with spin. In the full text, 22.4% of the included studies had conclusions that contained recommendations for clinical dental practice not supported by the findings, and most spin items were not found in the included articles. Regarding the item reporting adverse effects of interventions, the term “adverse effect” hardly ever appeared in the included articles. However, throughout the full text, it was possible to identify adverse events being discussed, and thus the study received “no” in the presence of spin. Hence, 66.6% of at least one item in the abstract received “yes” in the spin assessment, while in the full text this percentage decreased to 44.4%. Additionally, we evaluated the agreement between PRISMA and spin items checklists. Table 4 shows in detail the agreement between abstract and full-text for PRISMA, PRISMA-A, and spin items. We performed

an exploratory analysis to identify if the limit for word count was associated with abstract spin and completeness of reporting in PRISMA-A items (table 5).

4 Discussion

To the best of our knowledge, this is the first study investigating the prevalence of spin and completeness of reporting in abstracts and full texts in systematic reviews with a meta-analysis in restorative dentistry. Our main findings are reported in detail in Figure 1. Spin, also known as misinformation, misreporting or misinterpretation, has been reported in the scientific literature for more than 10 years and refers to reporting practices (intentionally or not) that may distort the interpretation of results and mislead readers so that results are shown in a more agreeable way [24,25]. The presence of spin in scientific papers, especially in biomedical research, can negatively impact the development of studies, clinical practice, and health policies. Researchers, dentists (and dentists-to-be), patients, and stakeholders may base their decisions on SRMAs of RCTs because they are considered the 'best evidence'. However, if these SRs contain recommendations not supported by the findings or some reporting bias, this could result in inadequate clinical practices and decisions. Additionally, spin in abstracts has been reported in the literature and is known to be problematic because they are the most read part of the manuscript, many times because the full text can be difficult to access.

Overall, there was a moderate presence of spin in the abstracts and low spin in full texts. In the abstracts, 65.9% of the authors did not report any adverse event related to the treatment or technique. These results are in accordance with previous findings that evaluated the presence of spin in the success of dental implants [12]. Briefly, the authors identified a low presence of spin in the abstracts and full text, except for mentioning adverse events, in which 51.1% (abstract) failed to mention any adverse event for summarized interventions. In addition, according to a recent study, there is a suboptimal reporting quality of systematic review abstracts in operative dentistry. For instance, authors have reported that only four items (e.g., 'objective', 'results of main outcomes', 'description of the effect', and 'interpretation') were adequately reported in most abstracts (>75%) [26], indicating that this phenomenon (i.e., poor reporting) is also prevalent in other areas.

We believe that these results can be partially explained by the following aspect: as there is a perceived limit for abstract size, several items were not fully reported because of the word count limit or because the authors decided to suppress such information. We identified that limit for word count (yes/no) was associated with failure to mention adverse events of interventions ($\chi^2 (1): 4.36; p=0.03$). Similar findings were also found in a recent study on operative dentistry, reporting an inverse association between greater word count and poor reporting in the abstract [26]. However, for PRISMA-A items, we did not identify any items associated with the limit for word count.

Selective outcome reporting (SOR) is used as a "proxy" of spin bias. SOR is a type of bias that occurs when the primary outcome of a trial or review protocol is changed or omitted in the paper, and some research indicates that SOR of findings is a widespread event that leads to biased conclusions and clinical decisions making [27,28]. Based on our findings, as many included studies did not have a protocol registration (32.7%), no comparison between what has been published and what has been registered was possible. Therefore, this might have underestimated the presence of spin.

As a secondary outcome, we have also analyzed the completeness of reporting of the abstract and full text. Briefly, our main findings indicate that most items were properly reported in the full text, except for "specify the primary source of funding for the review" (22.4% not reported) and registration number (32.7% not reported). In the abstract items, based on PRISMA-A, there was poor reporting, especially for "specify the inclusion and exclusion criteria for the review" (98% not reported, mainly not reporting exclusion criteria); giving the total number of included studies and participants (65.3% not reported); specify the primary source of funding for the review (100% not reported) and register name and registration number (83.7% not reported).

We hypothesized that the problem would be related to the word count limit, but based on chi-squared test, poor reporting was not associated with word count limit (Table 5). However, it is possible that many authors are unaware of which items are important to be described or their own perceived importance is considered when writing an abstract, even though the majority of the included studies are less than 5 years old (60%). Also, it is important to mention that reporting guidelines, such as PRISMA statement are highly recommended for more than 10 years by researchers and biomedical journals [29]. High-quality reporting in scientific publications is pivotal for the dissemination and implementation of research findings and it might improve the

accuracy and reliability of research reports, providing that they are themselves developed to high standards.

We compared the spin checklist to the PRISMA items for abstract and full text. An agreement between the completeness of information reported in the abstract and the full text is crucial because many healthcare professionals only decide to read an entire text after reading the abstract. In general, our main findings indicate that there was a good agreement between abstract and full text, considering spin-checklist and PRISMA items, except for inclusion and exclusion criteria (6%), source of funding (22.4%), and the total number of included studies and participants (36.7%).

Finally, some limitations of this study should be mentioned. Some items as adverse events are simply not reported nor discussed. Except for Cochrane reviews, where almost all presented this data, adverse events were rarely found in abstracts and sometimes found in the full text, but not as such. Many times, we have classified 'adverse event' item as reported because they were discussed, without however using the term 'adverse event'. For example, when two dental techniques were being tested, one was much more complex and could lead to more postoperative sensitivity, but both yielded the same survival rates. If this was discussed, we classified it as containing information about adverse events in the full text, but this was never found to be reported in the abstract and could be the reason why a dentist would select one technique instead of another. In summary, adverse events should be reported, even if as 'there is no adverse event related to this technique/material'.

Moreover, the assessment of spin was sometimes not possible because some authors decided not to present a recommendation for clinical practice but rather a repetition of the results. It is unknown whether the reader had to assume a recommendation based on the results presented, but it also means that spin assessment can be underestimated, as this item was rated as 'no spin'. Also, a few studies presented inconsistencies between the number of studies presented in the meta-analyses (and also in-text) and the flowchart. Although reporting was one of the outcome measures of our studies, some items are not adequately reported as we could perceive. As guidance, it would be best if the authors separated the number of articles included in each meta-analysis, when applicable. This is important since the reader will know how many articles have been considered in a specific analysis, unlike the full presentation which may be misleading. One of the limitations in other similar studies is that few have assessed spin in the main text [10,25]. Still, our data shows that not

always spin in the abstract relates to spin in the main text and we hypothesize that this could be related to the authors trying to find a way to publish their manuscripts by showing increased importance of their findings.

Frequently, clinicians, scientists, stakeholders, or other readers', may use systematic reviews as the main source for helping in clinical decision-making. It is well-documented that healthcare professionals, due to lack of time, only decide to read an entire text after reading the abstract. Then, an agreement between the completeness of information reported in the abstract and the full text is crucial.

5 Conclusions

Overall, the full-text completeness of reporting was adequate, however prospective register is still missing in most SRs. Abstracts, in contrast, presented poor reporting for most items, especially for inclusion and exclusion criteria and adverse events. Thus, we suggest and endorse that researchers, reviewers, and editors improve the quality of their research, monitoring, reporting, and developing editorial policies to increase transparency and integrity in research, especially when writing or assessing abstracts.

References

- [1] World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects., *JAMA*. 310 (2013) 2191–2194. <https://doi.org/10.1001/jama.2013.281053>.
- [2] I. Boutron, P. Ravaud, Misrepresentation and distortion of research in biomedical literature., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 115 (2018) 2613–2619. <https://doi.org/10.1073/pnas.1710755115>.
- [3] I. Boutron, Spin in Scientific Publications: A Frequent Detrimental Research Practice, *Ann. Emerg. Med.* 75 (2020) 432–434. <https://doi.org/10.1016/j.annemergmed.2019.11.002>.
- [4] A. Mlinaric, M. Horvat, V. Smolicic, Research integrity corner negative results, 27 (2017) 1–6.
- [5] R. Joober, N. Schmitz, L. Annable, P. Boksa, Publication bias: What are the challenges and can they be overcome?, *J. Psychiatry Neurosci.* 37 (2012) 149–152. <https://doi.org/10.1503/jpn.120065>.
- [6] I. Correction Chalmers, M.B. Bracken, B. Djulbegovic, S. Garattini, J. Grant, A.M. Gülmezoglu, D.W. Howells, J.P.A. Ioannidis, S. Oliver, How to increase value and reduce waste when research priorities are set, *Lancet*. 383 (2014) 156–165. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)62229-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)62229-1).

- [7] G.B. Emerson, W.J. Warme, F.M. Wolf, J.D. Heckman, R.A. Brand, S.S. Leopold, Testing for the Presence of Positive-Outcome Bias in Peer Review, *Arch. Intern. Med.* 170 (2010) 1934–1939. <https://doi.org/10.1001/archinternmed.2010.406>.
- [8] A.K. Altwaigi, C.M. Booth, W.M. Hopman, T.D. Baetz, Discordance between conclusions stated in the abstract and conclusions in the article: analysis of published randomized controlled trials of systemic therapy in lung cancer., *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 30 (2012) 3552–3557. <https://doi.org/10.1200/JCO.2012.41.8319>.
- [9] A.W. Brown, M.M. Bohan Brown, D.B. Allison, Belief beyond the evidence: using the proposed effect of breakfast on obesity to show 2 practices that distort scientific evidence, *Am. J. Clin. Nutr.* 98 (2013) 1298–1308. <https://doi.org/10.3945/ajcn.113.064410>.
- [10] I. Boutron, S. Dutton, P. Ravaud, D.G. Altman, Reporting and interpretation of randomized controlled trials with statistically nonsignificant results for primary outcomes., *JAMA.* 303 (2010) 2058–2064. <https://doi.org/10.1001/jama.2010.651>.
- [11] X. Wu, Q. Yan, X. Fang, F. Hua, B. Shi, Y.-K. Tu, Spin in the abstracts of randomized controlled trials in periodontology and oral implantology: A cross-sectional analysis., *J. Clin. Periodontol.* (2020) 1079–1086. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13340>.
- [12] C.P. de Lucena Alves, B.M. Vetromilla, L.B. Moreno, L. Helal, R. Sarkis-Onofre, T. Pereira-Cenci, Systematic reviews on the success of dental implants present low spin of information but may be better reported and interpreted: An overview of systematic reviews with meta-analysis., *Clin. Implant Dent. Relat. Res.* 24 (2022) 105–115. <https://doi.org/10.1111/cid.13067>.
- [13] F. Guo, X. Fang, C. Li, D. Qin, F. Hua, H. He, The presence and characteristics of “spin” among randomized controlled trial abstracts in orthodontics., *Eur. J. Orthod.* 43 (2021) 576–582. <https://doi.org/10.1093/ejo/cjab044>.
- [14] X. Fang, F. Hua, P. Riley, F. Chen, L. Zhang, T. Walsh, Z. Chen, Abstracts of published randomized controlled trials in Endodontics: reporting quality and spin, *Int. Endod. J.* 53 (2020) 1050–1061. <https://doi.org/10.1111/iej.13310>.
- [15] P.A. Da Rosa Rodolpho, B. Rodolfo, K. Collares, M.B. Correa, F.F. Demarco, N.J.M. Opdam, M.S. Cenci, R.R. Moraes, Clinical performance of posterior resin composite restorations after up to 33 years., *Dent. Mater.* 38 (2022) 680–688. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2022.02.009>.
- [16] A.M.A. da Veiga, A.C. Cunha, D.M.T.P. Ferreira, T.K. da Silva Fidalgo, T.K. Chianca, K.R. Reis, L.C. Maia, Longevity of direct and indirect resin composite restorations in permanent posterior teeth: A systematic review and meta-analysis, *J. Dent.* 54 (2016) 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2016.08.003>.
- [17] D. Moher, Reporting guidelines: doing better for readers., *BMC Med.* 16 (2018) 233. <https://doi.org/10.1186/s12916-018-1226-0>.
- [18] D. Gough, J. Thomas, S. Oliver, Clarifying differences between reviews within evidence ecosystems., *Syst. Rev.* 8 (2019) 170. <https://doi.org/10.1186/s13643-019-1089-2>.
- [19] J. Gurevitch, J. Koricheva, S. Nakagawa, G. Stewart, Meta-analysis and the science of research synthesis., *Nature.* 555 (2018) 175–182. <https://doi.org/10.1038/nature25753>.
- [20] C. Miao, X. Yang, M.C. Wong, J. Zou, X. Zhou, C. Li, Y. Wang, Rubber dam isolation for restorative treatment in dental patients., *Cochrane Database Syst.*

- Rev. 5 (2021) CD009858. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD009858.pub3>.
- [21] H. V Worthington, S. Khangura, K. Seal, M. Mierzwinski-Urban, A. Veitz-Keenan, P. Sahrman, P.R. Schmidlin, D. Davis, Z. Iheozor-Ejiofor, M.G. Rasines Alcaraz, Direct composite resin fillings versus amalgam fillings for permanent posterior teeth., *Cochrane Database Syst. Rev.* 8 (2021) CD005620. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD005620.pub3>.
- [22] M.H. Murad, Z. Wang, Guidelines for reporting meta-epidemiological methodology research., *Evid. Based. Med.* 22 (2017) 139–142. <https://doi.org/10.1136/ebmed-2017-110713>.
- [23] A. Yavchitz, P. Ravaud, D.G. Altman, D. Moher, A. Hrobjartsson, T. Lasserson, I. Boutron, A new classification of spin in systematic reviews and meta-analyses was developed and ranked according to the severity, *J. Clin. Epidemiol.* 75 (2016) 56–65. <https://doi.org/10.1016/j.jclinepi.2016.01.020>.
- [24] K. Chiu, Q. Grundy, L. Bero, “Spin” in published biomedical literature: A methodological systematic review., *PLoS Biol.* 15 (2017) e2002173. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2002173>.
- [25] I. Boutron, R. Haneef, A. Yavchitz, G. Baron, J. Novack, I. Oransky, G. Schwitzer, P. Ravaud, Three randomized controlled trials evaluating the impact of “spin” in health news stories reporting studies of pharmacologic treatments on patients’/caregivers’ interpretation of treatment benefit., *BMC Med.* 17 (2019) 105. <https://doi.org/10.1186/s12916-019-1330-9>.
- [26] T. Li, F. Hua, S. Dan, Y. Zhong, C. Levey, Y. Song, Reporting quality of systematic review abstracts in operative dentistry: An assessment using the PRISMA for Abstracts guidelines, *J. Dent.* 102 (2020) 103471. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2020.103471>.
- [27] F. Freudenstein, R.J. Croft, S.P. Loughran, B.M. Zeleke, P.M. Wiedemann, Effects of selective outcome reporting on risk perception., *Environ. Res.* 196 (2021) 110821. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.110821>.
- [28] D.I. Sendyk, E.S. Rovai, N.V. Souza, M.C.Z. Deboni, C.M. Pannuti, Selective outcome reporting in randomized clinical trials of dental implants., *J. Clin. Periodontol.* 46 (2019) 758–765. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13128>.
- [29] A. Liberati, D.G. Altman, J. Tetzlaff, C. Mulrow, P.C. Gotzsche, J.P.A. Ioannidis, M. Clarke, P.J. Devereaux, J. Kleijnen, D. Moher, The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate healthcare interventions: explanation and elaboration, *BMJ.* 339 (2009) b2700–b2700. <https://doi.org/10.1136/bmj.b2700>.

Table 1. Characteristics of included studies (n=49)

Characteristics	Median	Mean (SD)
Number of included RCTs	6	10.8 (10.5)
Journal IF (2020)	3.63	4.1 (2.3)
Abstract word count		
Without Cochrane	261	264.8 (54.9)
With Cochrane	266	325.1 (182.3)
	No. of Articles (%)	
Number of primary outcomes		
1	27 (55.1)	
>1	22 (54.9)	
Number of secondary outcomes		
0	32 (65.3)	
≥ 1	17 (34.7)	
Continent		
Africa	1 (2.0)	
Asia	8 (16.3)	
Europe	10 (20.4)	
North America	4 (8.1)	
Oceania	1 (2.0)	
South America	25 (51.0)	
Journal Endorsement of ICMJE/PRISMA		
Yes	47 (96.0)	
No	2 (4.0)	
Manuscript cites PRISMA		
Yes	34 (69.3)	
No	15 (30.7)	
Manuscript Open Access		
Yes	15 (30.6)	
No	34 (69.3)	
Structured Abstract		
Yes	47 (96.0)	
No	2 (4.0)	
Limit for word count		
Yes	35 (71.4)	
No	14 (28.6)	
Number of primary outcomes		
1	27 (55.1)	

>1	22 (44.9)
Number of secondary outcomes	
0	32 (65.3)
>=1	17 (34.7)
Distinction primary/secondary outcomes	
Yes	28 (57.2)
No	21 (42.8)
Funding sources reported	
Yes	39 (80.0)
No	10 (20.0)
Conflict of interest reported	
Yes	34 (69.4)
No	15 (30.6)
Risk of bias assessment	
Yes	49 (100)
No	0 (0)
GRADE assessment	
Yes	23 (47.0)
No	26 (53.0)
Registered Protocol	
Yes	33 (67.3)
No	16 (32.7)

Data are expressed as mean (SD) – standard deviation

Table 2. Compliance of systematic reviews that reported PRISMA and PRISMA-A items in full-text and abstract (n=49)

Item	Description	PRISMA - n (%)			
		Abstract		Full-text	
		Reported	Not Reported	Reported	Not Reported
Title	Identify the report as a systematic review	49 (100)	0 (0)	49 (100)	0 (0)
Background	Provide an explicit statement of the main objective(s) or question(s) the review addresses	49 (100)	0 (0)	49 (100)	0 (0)
Methods	Specify the inclusion and exclusion criteria for the review	1 (2.0)	48 (98.0)	47 (96.0)	2 (4.0)
	Specify the information sources (e.g., databases, registers) used to identify studies and the date when each was last searched	29 (59.2)	20 (40.8)	46 (93.9)	3 (6.1)
	Specify the methods used to assess risk of bias in the included studies.	32 (65.3)	17 (34.7)	47 (95.9)	2 (4.1)
	Specify the methods used to present and synthesize results	35 (71.4)	14 (28.6)	49 (100)	0 (0)
	Give the total number of included studies and participants and summaries relevant characteristics of the studies	17 (34.7)	32 (65.3)	48 (97.9)	1 (2.1)
Results	Present results for main outcomes, preferably indicating the number of included studies and participants for each. If meta-analysis was done, report the summary estimate and confidence/credible interval. If comparing groups, indicate the direction of the effect (i.e., which group is favored)	30 (61.2)	19 (38.8)	49 (100)	0 (0)
Discussion	Provide a brief summary of the limitations of the evidence included in the review (e.g., study risk of bias, inconsistency and imprecision)	34 (69.4)	15 (30.6)	47 (95.9)	2 (4.1)
	Provide a general interpretation of the results and important implications	46 (93.9)	3 (6.1)	49 (100)	0 (0)
Others	Specify the primary source of funding for the review	0 (0)	49 (100)	38 (77.6)	11 (22.4)
	Provide the register name and registration number	8 (16.3)	41 (83.7)	32 (65.3)	17 (32.7)

Table 3. Percentage of included studies that contain each spin item in the abstract and full-text (n=49)

Description	Spin - n (%)			
	Abstract		Full-text	
	Yes	No	Yes	No
Conclusion contains recommendations for dental clinical practice not supported by the findings	8 (16.3)	41 (83.7)	11 (22.4)	38 (77.6)
Title claims or suggests a beneficial effect of restorative material or technique not supported by the findings	0 (0)	49 (100)	0 (0)	49 (100)
Selective reporting of or overemphasis on efficacy outcomes or analysis favoring the beneficial effect of one of restorative techniques or materials	8 (16.3)	41 (83.7)	7 (14.3)	42 (85.7)
Omission of primary outcomes	1 (2.0)	48 (98.0)	0 (0)	49 (100)
Fail to mention adverse events that could occur with the restorative materials or techniques	32 (65.3)	17 (34.7)	7 (14.3)	42 (85.7)
Selective reporting of positive results and omission of negative results of primary outcomes	2 (4.1)	47 (95.9)	0 (0)	49 (100)
Fail to report statistically nonsignificant primary outcomes	0 (0)	49 (100)	0 (0)	49 (100)
Focus on statistically significant outcomes other than the primary	0 (0)	49 (100)	0 (0)	49 (100)
Overenthusiastic interpretation of primary outcomes results as effective	10 (20.4)	39 (79.6)	9 (18.4)	40 (81.6)

Table 4. Percentage of the agreement to the recommendations in the PRISMA and spin items checklists (n=49).

Item	Description	% agreement
PRISMA-A and PRISMA are classified as “fully reported” and “not reported”.	Identify the report as a systematic review	100
	Provide objective(s) or question(s)	100
	Specify the inclusion and exclusion criteria for the review	6.0
	Specify the information sources (e.g., databases, registers)	65.3
	Specify the methods used to assess risk of bias in the included studies	69.4
	Specify the methods used to present and synthesize results	71.4
	Give the total number of included studies and participants	36.7
	Present results for main outcomes	61.2
	Limitations	73.4
	General interpretation of the results	93.8
	Source of funding	22.4
	Register	51.0
Spin-checklist classified as “yes” and “no”.	Recommendations for clinical practice not supported by the findings	89.8
	Title	100
	Selective reporting	85.7
	Omission of primary outcomes	97.7
	Fail to mention adverse events of interventions	40.8
	Selective reporting of positive results	95.9
	Fail to report statistically nonsignificant primary outcomes	100
	Focus on statistically significant outcomes other than the primary	100
	Overenthusiastic interpretation	98.0

Table 5. Association of abstract spin and completeness of reporting in PRISMA- A with limit for word count (n=49)

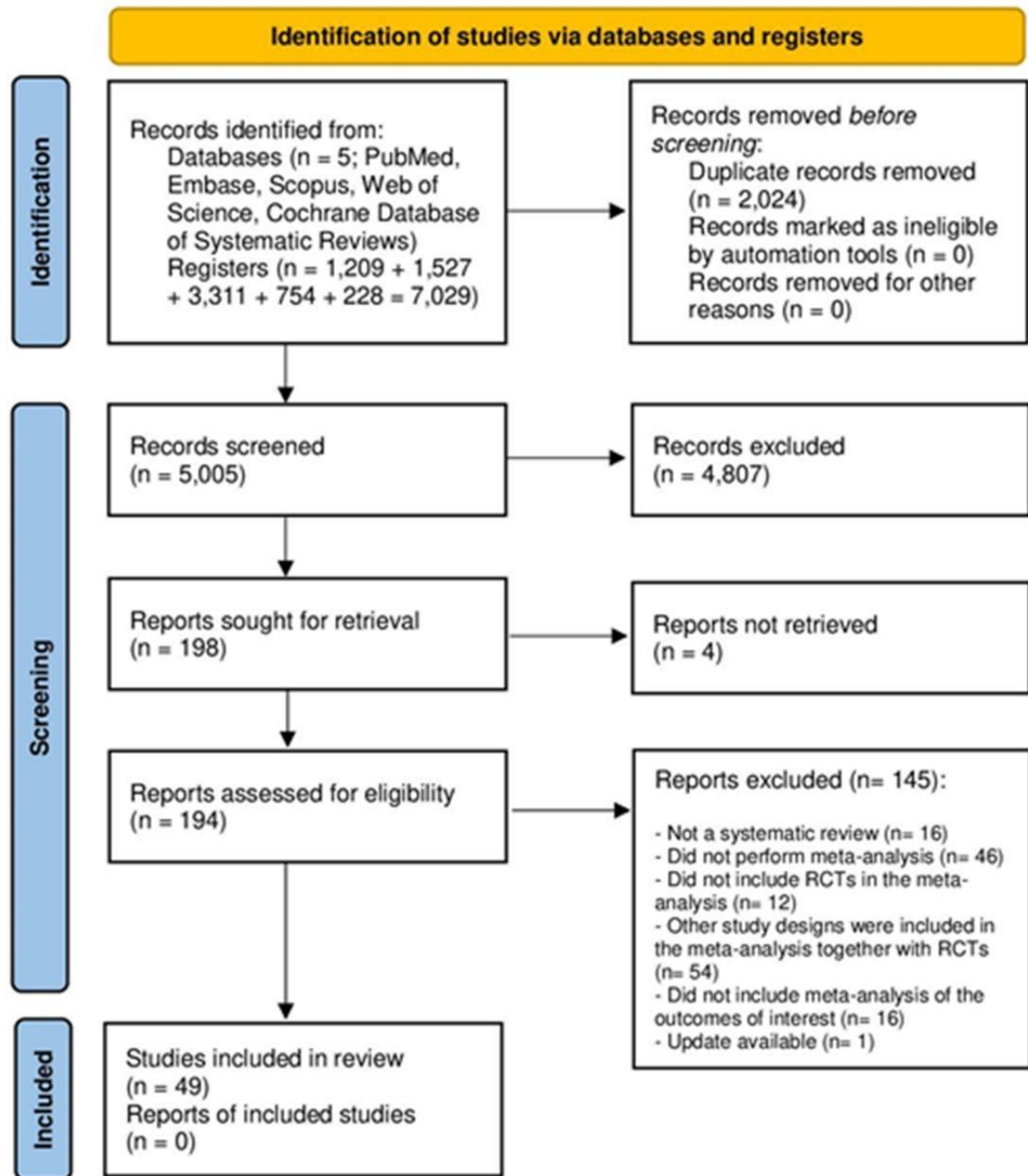
Description of item (spin checklist)	Limit for word count	
	X ² values	P Values
Recommendations for clinical practice not supported by the findings	1.21	0.27
Selective reporting	1.21	0.27
Omission of primary outcomes	0.41	0.52
Fail to mention adverse events of interventions	4.36	0.03*
Overenthusiastic interpretation	0.01	0.91
Description of item (PRISMA-A items)		
Specify the inclusion and exclusion criteria for the review	2.55	0.11
Specify the information sources (e.g., databases, registers)	0.21	0.64
Specify the methods used to assess risk of bias in the included studies	3.60	0.06
Specify the methods used to present and synthesize results	1.96	0.16
Give the total number of included studies and participants	2.03	0.15
Present results for main outcomes	0.14	0.71
Limitations	2.46	0.11
General interpretation of the results	1.28	0.25
Register	0.06	0.80

Note.: * Values with P<.05.

Figure 1. Main findings

- **Why this paper is important to restorative dentistry:**
 - ✓ Spin (i.e., misinformation, misinterpretation, etc.) and incomplete reporting, in biomedical research are a threat to evidence-based practice, especially in systematic reviews with meta-analysis.
 - ✓ Care providers, researchers, and other stakeholders should be aware of the possibility of spin in systematic reviews and other sources to prevent misinterpretation, which could lead to inadequate decisions and treatments.
- **Main findings:**
 - ✓ There was a moderate presence of spin in the abstract and full texts. In the abstracts, 65.9% did not report any adverse event . In the full text, 22.4% contained conclusions with recommendations for clinical practice not supported by results.
 - ✓ There was a good report in the full text, except for protocol registration (32.7%). In the abstract, there was poor reporting for most items, especially for eligibility criteria (98%).

Figure 2. Flowchart



Supplementary Table 1 - Electronic Database and Search Strategy

Eletronic Database	Search Strategy (05/04/2022)
PubMed MEDLINE	#1: (Dentistry, Operative) OR (Operative Dentistry) OR (Dental Restoration, Permanent) OR (Restorations, Permanent Dental) OR (Permanent Dental Restorations) OR (Restoration, Permanent Dental) OR (Dental Restorations, Permanent) OR (Permanent Dental Restoration) OR (Dental Permanent Fillings) OR (Fillings, Permanent Dental) OR (Permanent Dental Fillings) OR (Permanent Fillings, Dental) OR (Permanent Filling, Dental) OR (Dental Filling, Permanent) OR (Dental Permanent Filling) OR (Filling, Dental Permanent) OR (Filling, Permanent Dental) OR (Permanent Dental Filling) OR (Fillings, Dental Permanent) OR (Dental Fillings, Permanent) OR (dental restoration) OR (restorative dentistry) OR (Dental Restoration Repair) OR (Dental Restoration Repairs) OR (Repair, Dental Restoration) OR (Repairs, Dental Restoration) OR (Restoration Repair, Dental) OR (Restoration Repairs, Dental) OR (Dental Restoration Failure) OR (Failure, Dental Restoration) OR (Restoration Failure, Dental) OR (Restoration Failures, Dental) OR (Dental Restoration Failures) OR (Failures, Dental Restoration) OR (Crowns) OR (Crown) OR (Dental Crowns) OR (Dental Crown) OR (Crown, Dental) OR (Crowns, Dental) OR (tooth crown) OR (Dental Veneers) OR (Veneer, Dental) OR (Veneers, Dental) OR (Dental Laminates) OR (Dental Laminate) OR (Laminate, Dental) OR (Laminates, Dental) OR (Dental Veneer) OR (tooth veneer) #2: (Meta-Analysis) OR (Meta-Analysis as Topic) OR (Meta Analysis as Topic) OR (Data Pooling) OR (Data Poolings) OR (Overviews, Clinical Trial) OR (Clinical Trial Overviews) OR (Clinical Trial Overview) OR (Overview, Clinical Trial) OR (Network Meta-Analysis) OR (Meta-Analyses, Network) OR (Meta-Analysis, Network) OR (Network Meta Analysis) OR (Network Meta-Analyses) OR (Multiple Treatment Comparison Meta-Analysis) OR (Multiple Treatment Comparison Meta Analysis) OR (Mixed Treatment Meta-Analysis) OR (Meta-Analyses, Mixed Treatment) OR (Meta-Analysis, Mixed Treatment) OR (Mixed Treatment Meta Analysis) OR (Mixed Treatment Meta-Analyses) OR (meta analysis) OR (analysis, meta) OR (metaanalysis) OR (metaanalyses) #3: (Systematic Reviews as Topic) OR (Systematic Review as Topic) OR (Reviews Systematic as Topic) OR (Systematic Review) OR (Review, Systematic) OR (systematic literature review) OR (systematic scoping review) OR (systematic narrative review) OR (systematic qualitative review) OR (systematic evidence review) OR (systematic quantitative review) OR (systematic meta-review) OR (systematic critical review) OR (systematic mixed studies review) OR (systematic mapping review) OR (systematic cochrane review) OR (systematic integrative review) OR (systematic reviews) #4: (((systematic review[ti] OR systematic literature review[ti] OR systematic scoping review[ti] OR systematic narrative review[ti] OR systematic qualitative review[ti] OR systematic evidence review[ti] OR systematic quantitative review[ti] OR systematic meta-review[ti] OR systematic critical review[ti] OR systematic mixed studies review[ti] OR systematic mapping review[ti] OR systematic cochrane review[ti] OR systematic search and review[ti] OR systematic integrative review[ti])

	NOT comment[pt] NOT (protocol[ti] OR protocols[ti])) NOT MEDLINE [subset]) OR (Cochrane Database Syst Rev[ta] AND review[pt]) OR systematic review[pt] #1 AND #2 AND #3 AND #4
Embase	#1: (Dentistry, Operative) OR (Operative Dentistry) OR (Dental Restoration, Permanent) OR (Restorations, Permanent Dental) OR (Permanent Dental Restorations) OR (Restoration, Permanent Dental) OR (Dental Restorations, Permanent) OR (Permanent Dental Restoration) OR (Dental Permanent Fillings) OR (Fillings, Permanent Dental) OR (Permanent Dental Fillings) OR (Permanent Fillings, Dental) OR (Permanent Filling, Dental) OR (Dental Filling, Permanent) OR (Dental Permanent Filling) OR (Filling, Dental Permanent) OR (Filling, Permanent Dental) OR (Permanent Dental Filling) OR (Fillings, Dental Permanent) OR (Dental Fillings, Permanent) OR (dental restoration) OR (restorative dentistry) OR (Dental Restoration Repair) OR (Dental Restoration Repairs) OR (Repair, Dental Restoration) OR (Repairs, Dental Restoration) OR (Restoration Repair, Dental) OR (Restoration Repairs, Dental) OR (Dental Restoration Failure) OR (Failure, Dental Restoration) OR (Restoration Failure, Dental) OR (Restoration Failures, Dental) OR (Dental Restoration Failures) OR (Failures, Dental Restoration) OR (Crowns) OR (Crown) OR (Dental Crowns) OR (Dental Crown) OR (Crown, Dental) OR (Crowns, Dental) OR (tooth crown) OR (Dental Veneers) OR (Veneer, Dental) OR (Veneers, Dental) OR (Dental Laminates) OR (Dental Laminate) OR (Laminate, Dental) OR (Laminates, Dental) OR (Dental Veneer) OR (tooth veneer) #2: (Meta-Analysis) OR (Meta-Analysis as Topic) OR (Meta Analysis as Topic) OR (Data Pooling) OR (Data Poolings) OR (Overviews, Clinical Trial) OR (Clinical Trial Overviews) OR (Clinical Trial Overview) OR (Overview, Clinical Trial) OR (Network Meta-Analysis) OR (Meta-Analyses, Network) OR (Meta-Analysis, Network) OR (Network Meta Analysis) OR (Network Meta-Analyses) OR (Multiple Treatment Comparison Meta-Analysis) OR (Multiple Treatment Comparison Meta Analysis) OR (Mixed Treatment Meta-Analysis) OR (Meta-Analyses, Mixed Treatment) OR (Meta-Analysis, Mixed Treatment) OR (Mixed Treatment Meta Analysis) OR (Mixed Treatment Meta-Analyses) OR (meta analysis) OR (analysis, meta) OR (metaanalysis) OR (meta analysis (topic)) OR (metaanalyses) #3: (Systematic Reviews as Topic) OR (Systematic Review as Topic) OR (Reviews Systematic as Topic) OR (Systematic Review) OR (Review, Systematic) OR (systematic literature review) OR (systematic scoping review) OR (systematic narrative review) OR (systematic qualitative review) OR (systematic evidence review) OR (systematic quantitative review) OR (systematic meta-review) OR (systematic critical review) OR (systematic mixed studies review) OR (systematic mapping review) OR (systematic cochrane review) OR (systematic search and review) OR (systematic integrative review) OR (systematic review (topic)) OR (systematic reviews) #1 AND #2 AND #3
Scopus	#1: (Dentistry, Operative) OR (Operative Dentistry) OR (Dental Restoration, Permanent) OR (Restorations, Permanent Dental) OR (Permanent Dental Restorations) OR (Restoration, Permanent Dental) OR (Dental Restorations,

	Permanent) OR (Permanent Dental Restoration) OR (Dental Permanent Fillings) OR (Fillings, Permanent Dental) OR (Permanent Dental Fillings) OR (Permanent Fillings, Dental) OR (Permanent Filling, Dental) OR (Dental Filling, Permanent) OR (Dental Permanent Filling) OR (Filling, Dental Permanent) OR (Filling, Permanent Dental) OR (Permanent Dental Filling) OR (Fillings, Dental Permanent) OR (Dental Fillings, Permanent) OR (dental restoration) OR (restorative dentistry) OR (Dental Restoration Repair) OR (Dental Restoration Repairs) OR (Repair, Dental Restoration) OR (Repairs, Dental Restoration) OR (Restoration Repair, Dental) OR (Restoration Repairs, Dental) OR (Dental Restoration Failure) OR (Failure, Dental Restoration) OR (Restoration Failure, Dental) OR (Restoration Failures, Dental) OR (Dental Restoration Failures) OR (Failures, Dental Restoration) OR (Crowns) OR (Crown) OR (Dental Crowns) OR (Dental Crown) OR (Crown, Dental) OR (Crowns, Dental) OR (tooth crown) OR (Dental Veneers) OR (Veneer, Dental) OR (Veneers, Dental) OR (Dental Laminates) OR (Dental Laminate) OR (Laminate, Dental) OR (Laminates, Dental) OR (Dental Veneer) OR (tooth veneer) #2: (Meta-Analysis) OR (Meta-Analysis as Topic) OR (Meta Analysis as Topic) OR (Data Pooling) OR (Data Poolings) OR (Overviews, Clinical Trial) OR (Clinical Trial Overviews) OR (Clinical Trial Overview) OR (Overview, Clinical Trial) OR (Network Meta-Analysis) OR (Meta-Analyses, Network) OR (Meta-Analysis, Network) OR (Network Meta Analysis) OR (Network Meta-Analyses) OR (Multiple Treatment Comparison Meta-Analysis) OR (Multiple Treatment Comparison Meta Analysis) OR (Mixed Treatment Meta-Analysis) OR (Meta-Analyses, Mixed Treatment) OR (Meta-Analysis, Mixed Treatment) OR (Mixed Treatment Meta Analysis) OR (Mixed Treatment Meta-Analyses) OR (meta analysis) OR (analysis, meta) OR (metaanalysis) OR (metaanalyses) #3: (Systematic Reviews as Topic) OR (Systematic Review as Topic) OR (Reviews Systematic as Topic) OR (Systematic Review) OR (Review, Systematic) OR (systematic literature review) OR (systematic scoping review) OR (systematic narrative review) OR (systematic qualitative review) OR (systematic evidence review) OR (systematic quantitative review) OR (systematic meta-review) OR (systematic critical review) OR (systematic mixed studies review) OR (systematic mapping review) OR (systematic cochrane review) OR (systematic integrative review) OR (systematic reviews) #1 AND #2 AND #3
Web of science	#1: TS=((Dentistry, Operative) OR (Operative Dentistry) OR (Dental Restoration, Permanent) OR (Restorations, Permanent Dental) OR (Permanent Dental Restorations) OR (Restoration, Permanent Dental) OR (Dental Restorations, Permanent) OR (Permanent Dental Restoration) OR (Dental Permanent Fillings) OR (Fillings, Permanent Dental) OR (Permanent Dental Fillings) OR (Permanent Fillings, Dental) OR (Permanent Filling, Dental) OR (Dental Filling, Permanent) OR (Dental Permanent Filling) OR (Filling, Dental Permanent) OR (Filling, Permanent Dental) OR (Permanent Dental Filling) OR (Fillings, Dental Permanent) OR (Dental Fillings, Permanent) OR (dental restoration) OR (restorative dentistry) OR (Dental Restoration Repair) OR (Dental Restoration Repairs) OR

	(Repair, Dental Restoration) OR (Repairs, Dental Restoration) OR (Restoration Repair, Dental) OR (Restoration Repairs, Dental) OR (Dental Restoration Failure) OR (Failure, Dental Restoration) OR (Restoration Failure, Dental) OR (Restoration Failures, Dental) OR (Dental Restoration Failures) OR (Failures, Dental Restoration) OR (Crowns) OR (Crown) OR (Dental Crowns) OR (Dental Crown) OR (Crown, Dental) OR (Crowns, Dental) OR (tooth crown) OR (Dental Veneers) OR (Veneer, Dental) OR (Veneers, Dental) OR (Dental Laminates) OR (Dental Laminate) OR (Laminate, Dental) OR (Laminates, Dental) OR (Dental Veneer) OR (tooth veneer)) #2: TS=((Meta-Analysis) OR (Meta-Analysis as Topic) OR (Meta Analysis as Topic) OR (Data Pooling) OR (Data Poolings) OR (Overviews, Clinical Trial) OR (Clinical Trial Overviews) OR (Clinical Trial Overview) OR (Overview, Clinical Trial) OR (Network Meta-Analysis) OR (Meta-Analyses, Network) OR (Meta-Analysis, Network) OR (Network Meta Analysis) OR (Network Meta-Analyses) OR (Multiple Treatment Comparison Meta-Analysis) OR (Multiple Treatment Comparison Meta Analysis) OR (Mixed Treatment Meta-Analysis) OR (Meta-Analyses, Mixed Treatment) OR (Meta-Analysis, Mixed Treatment) OR (Mixed Treatment Meta Analysis) OR (Mixed Treatment Meta-Analyses) OR (meta analysis) OR (analysis, meta) OR (metaanalysis) OR (metaanalyses)) #3: TS=((Systematic Reviews as Topic) OR (Systematic Review as Topic) OR (Reviews Systematic as Topic) OR (Systematic Review) OR (Review, Systematic) OR (systematic literature review) OR (systematic scoping review) OR (systematic narrative review) OR (systematic qualitative review) OR (systematic evidence review) OR (systematic quantitative review) OR (systematic meta-review) OR (systematic critical review) OR (systematic mixed studies review) OR (systematic mapping review) OR (systematic cochrane review) OR (systematic integrative review) OR (systematic reviews)) #1 AND #2 AND #3
Cochrane Collaboration Library	#1: (Dentistry, Operative) OR (Operative Dentistry) OR (Dental Restoration, Permanent) OR (Restorations, Permanent Dental) OR (Permanent Dental Restorations) OR (Restoration, Permanent Dental) OR (Dental Restorations, Permanent) OR (Permanent Dental Restoration) OR (Dental Permanent Fillings) OR (Fillings, Permanent Dental) OR (Permanent Dental Fillings) OR (Permanent Fillings, Dental) OR (Permanent Filling, Dental) OR (Dental Filling, Permanent) OR (Dental Permanent Filling) OR (Filling, Dental Permanent) OR (Filling, Permanent Dental) OR (Permanent Dental Filling) OR (Fillings, Dental Permanent) OR (Dental Fillings, Permanent) OR (dental restoration) OR (restorative dentistry) OR (Dental Restoration Repair) OR (Dental Restoration Repairs) OR (Repair, Dental Restoration) OR (Repairs, Dental Restoration) OR (Restoration Repair, Dental) OR (Restoration Repairs, Dental) OR (Dental Restoration Failure) OR (Failure, Dental Restoration) OR (Restoration Failure, Dental) OR (Restoration Failures, Dental) OR (Dental Restoration Failures) OR (Failures, Dental Restoration) OR (Crowns) OR (Crown) OR (Dental Crowns) OR (Dental Crown) OR (Crown, Dental) OR (Crowns, Dental) OR (tooth crown) OR (Dental Veneers) OR (Veneer, Dental) OR (Veneers, Dental) OR (Dental

	Laminates) OR (Dental Laminate) OR (Laminate, Dental) OR (Laminates, Dental) OR (Dental Veneer) OR (tooth veneer) #2: (Meta-Analysis) OR (Meta-Analysis as Topic) OR (Meta Analysis as Topic) OR (Data Pooling) OR (Data Poolings) OR (Overviews, Clinical Trial) OR (Clinical Trial Overviews) OR (Clinical Trial Overview) OR (Overview, Clinical Trial) OR (Network Meta-Analysis) OR (Meta-Analyses, Network) OR (Meta-Analysis, Network) OR (Network Meta Analysis) OR (Network Meta-Analyses) OR (Multiple Treatment Comparison Meta-Analysis) OR (Multiple Treatment Comparison Meta Analysis) OR (Mixed Treatment Meta-Analysis) OR (Meta-Analyses, Mixed Treatment) OR (Meta-Analysis, Mixed Treatment) OR (Mixed Treatment Meta Analysis) OR (Mixed Treatment Meta-Analyses) OR (meta analysis) OR (analysis, meta) OR (metaanalysis) OR (metaanalyses) #3: (Systematic Reviews as Topic) OR (Systematic Review as Topic) OR (Reviews Systematic as Topic) OR (Systematic Review) OR (Review, Systematic) OR (systematic literature review) OR (systematic scoping review) OR (systematic narrative review) OR (systematic qualitative review) OR (systematic evidence review) OR (systematic quantitative review) OR (systematic meta-review) OR (systematic critical review) OR (systematic mixed studies review) OR (systematic mapping review) OR (systematic cochrane review) OR (systematic integrative review) OR (systematic reviews) #1 AND #2 AND #3

Supplementary Table 2 - Reports excluded and reasons (n= 145)**Not a systematic review (n= 16):**

1. Baghdadi ZD. Preservation-based approaches to restore posterior teeth with amalgam, resin or a combination of materials. *Am J Dent* [Internet]. 2002;15(1):54–65. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-0036463409&partnerID=40&md5=0241c53e84df599e5e0b13b8fde256c1>
2. Carvalho RM, Manso AP. Biodegradation of Resin-Dentin Bonds: a Clinical Problem? *Curr Oral Heal Reports* [Internet]. 2016;3(3):229–33. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0.085044050129&doi=10.1007%2Fs40496-016-01040&partnerID=40&md5=7069e77085c0e97c92ced01a47ce2661>
3. Davies H, Ahmed SH, Edwards D. Metal vs fibre posts - which is clinically superior for the restoration of endodontically treated teeth? *Evid Based Dent* [Internet]. 2021 Dec 17 [cited 2022 Apr 8];22(4):162–3. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34916651/>
4. Manso AP, Carvalho RM. Dental Cements for Luting and Bonding Restorations: Self-Adhesive Resin Cements. *Dent Clin North Am* [Internet]. 2017;61(4):821–34. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85028985850&doi=10.1016%2Fj.cden.2017.06.006&partnerID=40&md5=fdffb6d4cef2c4281e ecf7f6d2ad25e6>
5. Mickenautsch S. High-viscosity glass-ionomer cements for direct posterior tooth restorations in permanent teeth: The evidence in brief. *J Dent*. 2016;55:121–3.
6. Pecie R, Krejci I, García-Godoy F, Bortolotto T. Noncarious cervical lesions (NCCL) - A clinical concept based on the literature review. Part 2: Restoration. *Am J Dent* [Internet]. 2011;24(3):183–92. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-80051756407&partnerID=40&md5=152f40b5bf104b84ba2f89871088232a>
7. Perdigão J, Swift Jr. EJ. Universal Adhesives. *J Esthet Restor Dent* [Internet]. 2015;27(6):331–4. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84959520793&doi=10.1111%2Fjerd.12185&partnerID=40&md5=a4e32d1d512685627c9fde df28e3f4f8>
8. Pini NP, Aguiar FHB, Leite Lima DAN, Lovadino JR, Suga Terada RS, Pascotto RC. Advances in dental veneers: Materials, applications, and techniques. *Clin Cosmet Investig Dent* [Internet]. 2012;4:9–16. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84857577644&partnerID=40&md5=6a965d7b034f7c48cb8837794fe53651>
9. Sadowsky SJ. An overview of treatment considerations for esthetic restorations: A review of the literature. *J Prosthet Dent* [Internet]. 2006;96(6):433–42. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-33845476725&doi=10.1016%2Fj.prosdent.2006.09.018&partnerID=40&md5=f40560352f0241 a7adf1dd1935cfb2ad>
10. Schwendicke F. [Incomplete dental caries restoration: a systematic review and meta-analysis]. *Z Evid Fortbild Qual Gesundheitswes*. 2015;109(1):56–8.
11. Soleimani F, Jalali H, Mostafavi AS, Zeighami S, Memarian M. Retention and Clinical Performance of Zirconia Crowns: A Comprehensive Review. *Int J Dent* [Internet]. 2020;2020. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85094857337&doi=10.1155%2F2020%2F8846534&partnerID=40&md5=9a76a3b931de52d65 77192a5b9684f2c>
12. Tsujimoto A, Barkmeier WW, Fischer NG, Nojiri K, Nagura Y, Takamizawa T, et al. Wear of resin composites: Current insights into underlying mechanisms, evaluation methods and influential factors. *Jpn Dent Sci Rev* [Internet]. 2018;54(2):76–87. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85037562536&doi=10.1016%2Fj.jdsr.2017.11.002&partnerID=40&md5=02220b64e8f54e6920 a1b5e1dbf15a43>

13. Tang W, Wu Y, Smales RJ. Identifying and Reducing Risks for Potential Fractures in Endodontically Treated Teeth. J Endod [Internet]. 2010;36(4):609–17. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-77949434245&doi=10.1016%2Fj.joen.2009.12.002&partnerID=40&md5=12a699e02506332dc5d6b501d80e46cd>
14. Tezvergil-Mutluay A, Pashley D, Mutluay MM. Long-Term Durability of Dental Adhesives. Curr Oral Heal Reports [Internet]. 2015;2(4):174–81. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84969728226&doi=10.1007%2Fs40496-015-0070-y&partnerID=40&md5=aee31f2c418ae50945ddbf8a244e65e6>
15. Tjäderhane L, Tezvergil-Mutluay A. Performance of Adhesives and Restorative Materials After Selective Removal of Carious Lesions: Restorative Materials with Anticaries Properties. Dent Clin North Am [Internet]. 2019;63(4):715–29. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85068748950&doi=10.1016%2Fj.cden.2019.05.001&partnerID=40&md5=78310dd84989230c13483916a397340a>
16. Van Meerbeek B, Peumans M, Poitevin A, Mine A, Van Ende A, Neves A, et al. Relationship between bond-strength tests and clinical outcomes. Dent Mater [Internet]. 2010;26(2):e100–21. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-75449111109&doi=10.1016%2Fj.dental.2009.11.148&partnerID=40&md5=f6231fedc0d3f86fdf054a0d6f5adb27>

Did not perform meta-analysis (n= 46):

1. Ástvaldsdóttir Á, Dagerhamn J, Van Dijken JW V, Naimi-Akbar A, Sandborgh-Englund G, Tranæus S, et al. Longevity of posterior resin composite restorations in adults - A systematic review. J Dent [Internet]. 2015;43(8):934–54. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84937512855&doi=10.1016%2Fj.jdent.2015.05.001&partnerID=40&md5=4a92119eac839d08f89259057ae0e392>
2. Abad-Coronel C, Naranjo B, Valdiviezo P. Adhesive Systems Used in Indirect Restorations Cementation: Review of the Literature. Dent J. 2019;7(3).
3. Abdullah AO, Muhammed FK, Zheng B, Liu Y. An overview of extrinsic tooth bleaching and its impact on oral restorative materials. World J Dent [Internet]. 2017;8(6):503–10. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85040929900&doi=10.5005%2Fjp-journals-10015-1494&partnerID=40&md5=416016f906a54743c400b65e116f87b7>
4. Abduo J, Sambrook RJ. Longevity of ceramic onlays: A systematic review. J Esthet Restor Dent [Internet]. 2018;30(3):193–215. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85049138989&doi=10.1111%2Fjerd.12384&partnerID=40&md5=21a59ed9c9f2806ba83d718f529e2d51>
5. Agossa K, Godel G, Dubar M, S.Y. K, Behin P, Delcourt-Debruyne E. Does Evidence Support a Combined Restorative Surgical Approach for the Treatment of Gingival Recessions Associated With Noncarious Cervical Lesions? J Evid Based Dent Pract [Internet]. 2017;17(3):226–38. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85019928623&doi=10.1016%2Fj.jebdp.2017.04.001&partnerID=40&md5=6dae861def9a54ceb749245ea69b5161>
6. AlJazairy YH. Survival Rates for Porcelain Laminate Veneers: A Systematic Review. Eur J Dent. 2021 May;15(2):360–8.
7. Alvanforoush N, Palamara J, Wong RH, Burrow MF. Comparison between published clinical success of direct resin composite restorations in vital posterior teeth in 1995–2005 and 2006–2016 periods. Aust Dent J [Internet]. 2017;62(2):132–45. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85018591233&doi=10.1111%2Fadj.12487&partnerID=40&md5=8e63d94f9a49d95a72b096a2>

06412146

8. Ansari SH, Alfaqeeh AA, Al Buryk A, Alfaqeeh SA, Almusharraf AYA, Aljarullah AHN. Indications and Success Rate of Endo Crowns - A Systematic Review. *J Evol Med Dent Sci*. 2020;9(43):3247–51.
9. Angerame D, De Biasi M. Do Nanofilled/Nanohybrid Composites Allow for Better Clinical Performance of Direct Restorations Than Traditional Microhybrid Composites? A Systematic Review. *Oper Dent* [Internet]. 2018;43(4):E191–209. Available from: <https://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&id=L625708719&from=export>
10. Aurélio IL, Fraga S, Rippe MP, Valandro LF. Are posts necessary for the restoration of root filled teeth with limited tissue loss? A structured review of laboratory and clinical studies. *Int Endod J* [Internet]. 2016;49(9):827–35. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85083932215&doi=10.1111%2Fiej.12538&partnerID=40&md5=781e5417dc01767e2ec58b025961ac15>
11. Aziz A, El-Mowafy O, Paredes S. Clinical outcomes of lithium disilicate glass-ceramic crowns fabricated with CAD/CAM technology: A systematic review. *Dent Med Probl*. 2020;57(2):197–206.
12. Bhuva B, Giovarruscio M, Rahim N, Bitter K, Mannocci F. The restoration of root filled teeth: a review of the clinical literature. *Int Endod J* [Internet]. 2021;54(4):509–35. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85099108029&doi=10.1111%2Fiej.13438&partnerID=40&md5=3dc35d04706228c7326eabe10169e953>
13. Blum IR, Özcan M. Reporative Dentistry: Possibilities and Limitations. *Curr Oral Heal Reports* [Internet]. 2018;5(4):264–9. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85065435140&doi=10.1007%2Fs40496-018-0191-1&partnerID=40&md5=da89e15deb0178efb19bd5cb6b19eb26>
14. Boitelle P, Mawussi B, Tapie L, Fromentin O. A systematic review of CAD/CAM fit restoration evaluations. *J Oral Rehabil* [Internet]. 2014;41(11):853–74. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84909946382&doi=10.1111%2Fjoor.12205&partnerID=40&md5=aa53ee4805eab4704e5b0aa73c2ea9b1>
15. Brian HCM, Lam OL, Jagannathan N, Botelho MG. A systematic review of amalgam bonded restorations: In vitro and clinical findings. *J Contemp Dent Pract* [Internet]. 2018;19(8):1012–24. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-850555630973&doi=10.5005%2FJJP-JOURNALS-100242374&partnerID=40&md5=8ba0e7b69505bf332b803b0b5362f62d>
16. Conejo J, Nueesch R, Vonderheide M, Blatz MB. Clinical Performance of All-Ceramic Dental Restorations. *Curr Oral Heal Reports* [Internet]. 2017;4(2):112–23. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85048392993&doi=10.1007%2Fs40496-017-0132-4&partnerID=40&md5=48b461535778a19dcd41921eaa7a4f81>
17. Conrad HJ, Seong WJ, Pesun GJ. Current ceramic materials and systems with clinical recommendations: A systematic review. *J Prosthet Dent*. 2007;98(5):389–404.
18. da Mota Martins V, Paranhos LR, de Oliveira MN, Maia LC, Machado AC, Santos-Filho PCF. Does the addition of chlorhexidine to glass ionomer cements influence its antimicrobial effect and survival rate? A systematic review. *Eur Arch Paediatr Dent* [Internet]. 2022 Mar 14 [cited 2022 Apr 8]; Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35286624/>
19. de Carvalho MA, Lazari PC, Gresnigt M, Del Bel Cury AA, Magne P. Current options concerning the endodontically-treated teeth restoration with the adhesive approach. *Braz Oral Res* [Internet]. 2018;32:147–58. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85055612381&doi=10.1590%2F1807->

- 3107bor-2018.vol32.0074&partnerID=40&md5=d93d6ad974e8d984b01db19c7cecfb2b
20. de Carvalho Martins BM, Nogueira Leal da Silva EJ, Masterson Tavares Pereira Ferreira D, Rodrigues Reis K, da Silva Fidalgo TK. Longevity of defective direct restorations treated by minimally invasive techniques or complete replacement in permanent teeth: A systematic review. *J Dent* [Internet]. 2018;78:22–30. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85053142263&doi=10.1016%2Fj.jdent.2018.09.001&partnerID=40&md5=440cd531b8364d89da5b06de69131607>
 21. Demarco FF, Collares K, Coelho-De-Souza FH, Correa MB, Cenci MS, Moraes RR, et al. Anterior composite restorations: A systematic review on long-term survival and reasons for failure. *Dent Mater* [Internet]. 2015;31(10):1214–24. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84942523998&doi=10.1016%2Fj.dental.2015.07.005&partnerID=40&md5=54c92772ebb41265363225c32818346d>
 22. Dionysopoulos D. Effect of digluconate chlorhexidine on bond strength between dental adhesive systems and dentin: A systematic review. *J Conserv Dent* [Internet]. 2016;19(1):11–6. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84954570096&doi=10.4103%2F0972-0707.173185&partnerID=40&md5=6aae55ca839470ecb766c5119a01e156>
 23. Fathy H, Hamama HH, El-Wassefy N, Mahmoud SH. Clinical performance of resin-matrix ceramic partial coverage restorations: a systematic review. *Clin Oral Investig* [Internet]. 2022 Mar 23 [cited 2022 Apr 8]; Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35320383/>
 24. Ferracane JL, Lawson NC. Probing the hierarchy of evidence to identify the best strategy for placing class II dental composite restorations using current materials. *J Esthet Restor Dent* [Internet]. 2021;33(1):39–50. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85096671289&doi=10.1111%2Fjerd.12686&partnerID=40&md5=19755c882aea590de7c401e268e73403>
 25. Ferrari M, Vichi A, Zarone F. Zirconia abutments and restorations: From laboratory to clinical investigations. *Dent Mater* [Internet]. 2015;31(3):e63–76. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84925444234&doi=10.1016%2Fj.dental.2014.11.015&partnerID=40&md5=7ca9614d532ae0e9a333cd3e49f20f38>
 26. Guess PC, Schultheis S, Bonfante EA, Coelho PG, Ferencz JL, Silva NRFA. All-ceramic systems: Laboratory and clinical performance. *Dent Clin North Am* [Internet]. 2011;55(2):333–52. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-79953299695&doi=10.1016%2Fj.cden.2011.01.005&partnerID=40&md5=48bc4fa04ab0834614fb2239ccb105ff>
 27. Hayes M, Brady P, Burke FM, Allen PF. Failure rates of class V restorations in the management of root caries in adults - a systematic review. *Gerodontology*. 2016 Sep;33(3):299–307.
 28. Heintze SD, Loguercio AD, Hanzen TA, Reis A, Rousson V. Clinical efficacy of resin-based direct posterior restorations and glass-ionomer restorations - An updated meta-analysis of clinical outcome parameters. *Dent Mater* [Internet]. 2022 Feb [cited 2022 Apr 8]; Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35221127/>
 29. Heintze SD. Systematic reviews: I. The correlation between laboratory tests on marginal quality and bond strength. II. The correlation between marginal quality and clinical outcome. *J Adhes Dent*. 2007;9(35th Annual Meeting of the American-Association-for-Dental-Research/American-Dental-Education-Association):77–106.
 30. Heydecke G, Peters MC. The restoration of endodontically treated, single-rooted teeth with cast or direct posts and cores: a systematic review. *J Prosthet Dent*. 2002 Apr;87(4):380–6.

31. Hickel R, Brühshaver K, Ilie N. Repair of restorations - Criteria for decision making and clinical recommendations. *Dent Mater* [Internet]. 2013;29(1):28–50. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84871009495&doi=10.1016%2Fj.dental.2012.07.006&partnerID=40&md5=8b0b37514bc0295b0b5249ef8ee36e78>
32. Josic U, Maravic T, Mazzitelli C, Radovic I, Jacimovic J, Del Bianco F, et al. Is clinical behavior of composite restorations placed in non-carious cervical lesions influenced by the application mode of universal adhesives? A systematic review and meta-analysis. *Dent Mater*. 2021 Sep;
33. Kanzow P, Wiegand A, Schwendicke F, Göstemeyer G. Same, same, but different? A systematic review of protocols for restoration repair. *J Dent* [Internet]. 2019;86:1–16. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85066814539&doi=10.1016%2Fj.jdent.2019.05.021&partnerID=40&md5=081acd5b693052efa2608b323de82b1>
34. Khabadze Z, Mordanov O, Taraki F, Magomedov O, Kuznetsova A, Solimanov S, et al. Effects of the ferrule design on fracture resistance to endodontically-treated teeth restored with fiber posts: A systematic review. *Open Dent J* [Internet]. 2019;13(1):493–8. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85079497835&doi=10.2174%2F1874210601913010493&partnerID=40&md5=300046adfed03839b0a1eb53dc164713>
35. Maroulakos G, Thompson GA, Kontogiorgos ED. Effect of cement type on the clinical performance and complications of zirconia and lithium disilicate tooth-supported crowns: A systematic review. Report of the Committee on Research in Fixed Prosthodontics of the American Academy of Fixed Prosthodontic. *J Prosthet Dent*. 2019 May;121(5):754–65.
36. Maroulakos G, Nagy WW, Stathopoulou PG, Mattheos N, Chronopoulos V. Restoration of the Worn Dentition: Basic Prosthodontic Principles and Current Rehabilitation Techniques. *Curr Oral Heal Reports* [Internet]. 2017;4(2):124–30. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85100646155&doi=10.1007%2Fs40496-017-0133-3&partnerID=40&md5=075a565a586d0e0321ef08d273249266>
37. Mesko ME, Sarkis-Onofre R, Cenci MS, Opdam NJ, Loomans B, Pereira-Cenci T. Rehabilitation of severely worn teeth: A systematic review. *J Dent* [Internet]. 2016;48:9–15. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84962147300&doi=10.1016%2Fj.jdent.2016.03.003&partnerID=40&md5=d25aed9f0ab20c14820dfff7b847f8a3>
38. Mejäre I, Lingström P, Petersson LG, Holm A-K, Twetman S, Källestål C, et al. Caries-preventive effect of fissure sealants: A systematic review. *Acta Odontol Scand* [Internet]. 2003;61(6):321–30. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-9144246157&doi=10.1080%2F00016350310007581&partnerID=40&md5=d99894ec6f4beach928663ee98960110>
39. Mickenautsch S. Are high-viscosity glass-ionomer cements inferior to silver amalgam as restorative materials for permanent posterior teeth? A Bayesian analysis. *BMC Oral Health* [Internet]. 2015;15(1):118. Available from: <https://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&id=L627094319&from=export>
40. Mickenautsch S, Yengopal V. Failure Rate of Direct High-Viscosity Glass-Ionomer Versus Hybrid Resin Composite Restorations in Posterior Permanent Teeth - a Systematic Review. *Open Dent J*. 2015;9:438–48.
41. Miyazaki T, Nakamura T, Matsumura H, Ban S, Kobayashi T. Current status of zirconia restoration. *J Prosthodont Res* [Internet]. 2013;57(4):236–61. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84886414697&doi=10.1016%2Fj.jpor.2013.09.001&partnerID=40&md5=fcb5df984724c434432a0b6cf01bd6af>
42. Naaman R, El-Housseiny AA, Alamoudi N. The use of pit and fissure sealants-a literature review. *Dent J* [Internet]. 2017;5(4). Available from:

<https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85054797475&doi=10.3390%2Fdj5040034&partnerID=40&md5=560ee16c44a2cd2bd1fee720202fa6cb>

43. Perdigão J, Araujo E, Ramos RQ, Gomes G, Pizzolotto L. Adhesive dentistry: Current concepts and clinical considerations. J Esthet Restor Dent [Internet]. 2021;33(1):51–68. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85097079598&doi=10.1111%2Fjerd.12692&partnerID=40&md5=f81147174e3bdbb5016c511b47e289f9>
44. Stavropoulou AF, Koidis PT. A systematic review of single crowns on endodontically treated teeth. J Dent [Internet]. 2007;35(10):761–7. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-34548671613&doi=10.1016%2Fj.jdent.2007.07.004&partnerID=40&md5=e03c2c6acb1e5aa76e50215bfb105551>
45. Tiu J, Belli R, Lohbauer U. Contemporary CAD/CAM Materials in Dentistry. Curr Oral Heal Reports [Internet]. 2019;6(4):250–6. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85100627342&doi=10.1007%2Fs40496-019-00236-3&partnerID=40&md5=9822696bd7672803730b5b0b7b13f807>
46. Wittneben JG, Wright RF, Weber HP, Gallucci GO. A Systematic Review of the Clinical Performance of CAD/CAM Single-Tooth Restorations. Int J Prosthodont. 2009;22(5):466–71.

Did not include RCTs in the meta-analysis (n= 12)

1. Avila WD, Hesse D, Bonifacio CC. Surface Conditioning Prior to the Application of Glass-Ionomer Cement: A Systematic Review and Meta-analysis. J Adhes Dent. 2019;21(5):391–+.
2. Cuevas-Suarez CE, da Rosa WLD, Lund RG, da Silva AF, Piva E. Bonding Performance of Universal Adhesives: An Updated Systematic Review and Meta-Analysis. J Adhes Dent. 2019;21(1):7–26.
3. Dhanraj M, Ranganathan H, Jain AR, Varma ACU. Effect of tooth surface modifications influencing retention in complete veneer restorations - A systematic review and meta analysis. Biomed Pharmacol J [Internet]. 2017;10(2):927–36. Available from: <https://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&id=L618553311&from=export>
4. Fröhlich TT, Rocha R de O, Botton G. Does previous application of silver diammine fluoride influence the bond strength of glass ionomer cement and adhesive systems to dentin? Systematic review and meta-analysis. Int J Paediatr Dent. 2020 Jan;30(1):85–95.
5. Inokoshi M, De Munck J, Minakuchi S, Van Meerbeek B. Meta-analysis of Bonding Effectiveness to Zirconia Ceramics. J Dent Res. 2014;93(4):329–34.
6. Kiuru O, Sinervo J, Vähäniikkilä H, Anttonen V, Tjäderhane L. MMP Inhibitors and Dentin Bonding: Systematic Review and Meta-Analysis. Int J Dent [Internet]. 2021;2021. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85107674246&doi=10.1155%2F2021%2F9949699&partnerID=40&md5=8a35e92ffcac420222a71b5be194659d>
7. Kreulen CM, Creugers NH, Meijering AC. Meta-analysis of anterior veneer restorations in clinical studies. J Dent. 1998 May;26(4):345–53.
8. Mendes LT, Pedrotti D, Casagrande L, Lenzi TL. Risk of failure of repaired versus replaced defective direct restorations in permanent teeth: a systematic review and meta-analysis. Clin Oral Investig [Internet]. 2022 Apr 1 [cited 2022 Apr 8]; Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35362754/>
9. Petridis HP, Zekeridou A, Malliari M, Tortopidis D, Koidis P. Survival of ceramic veneers made of different materials after a minimum follow-up period of five years: a systematic review and meta-analysis. Eur J Esthet Dent Off J Eur Acad Esthet Dent. 2012;7(2):138–52.

10. Puleio F, Fiorillo L, Gorassini F, Iandolo A, Meto A, D'Amico C, et al. Systematic Review on White Spot Lesions Treatments. Eur J Dent [Internet]. 2021; Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85114289303&doi=10.1055%2Fs-0041-1731931&partnerID=40&md5=bf5fc2fd9c3c2496c899248cbc7a25f7>
11. Sedrez-Porto JA, Rosa WL de O da, da Silva AF, Münchow EA, Pereira-Cenci T. Endocrown restorations: A systematic review and meta-analysis. J Dent. 2016 Sep;52:8–14.
12. Shaalan OO, Abou-Auf E, El Zoghby AF. Clinical evaluation of flowable resin composite versus conventional resin composite in carious and noncarious lesions: Systematic review and meta-analysis. J Conserv Dent. 2017;20(6):380–5.

Other study designs were included in the meta-analysis together with RCTs (n= 54):

1. Albanesi RB, Pigozzo MN, Sesma N, Laganá DC, Morimoto S. Incisal coverage or not in ceramic laminate veneers: A systematic review and meta-analysis. J Dent. 2016 Sep;52:1–7.
2. Al-Bermani ASA, Quigley NP, Ha WN. Do zirconia single-retainer resin-bonded fixed dental prostheses present a viable treatment option for the replacement of missing anterior teeth? A systematic review and meta-analysis. J Prosthet Dent [Internet]. 2021 [cited 2022 Apr 8]; Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34893319/>
3. Al-Dabbagh RA. Survival and success of endocrowns: A systematic review and meta-analysis. J Prosthet Dent. 2021 Mar;125(3):415.e1-415.e9.
4. AlSaleh E, Dutta A, Dummer PMH, Farnell DJJ, Vianna ME. Influence of remaining axial walls on of root filled teeth restored with a single crown and adhesively bonded fibre post: A systematic review and meta-analysis. J Dent. 2021 Sep;114:103813.
5. Banh W, Hughes J, Sia A, Chien DCH, Tadakamadla SK, Figueredo CM, et al. Longevity of Polymer-Infiltrated Ceramic Network and Zirconia-Reinforced Lithium Silicate Restorations: A Systematic Review and Meta-Analysis. Mater (Basel, Switzerland). 2021 Sep;14(17).
6. Batista VE de S, Bitencourt SB, Bastos NA, Pellizzer EP, Goiato MC, Dos Santos DM. Influence of the ferrule effect on the failure of fiber-reinforced composite post-and-core restorations: A systematic review and meta-analysis. J Prosthet Dent. 2020 Feb;123(2):239–45.
7. Beck F, Lettner S, Graf A, Bitriol B, Dumitrescu N, Bauer P, et al. Survival of direct resin restorations in posterior teeth within a 19-year period (1996-2015): A meta-analysis of prospective studies. Dent Mater [Internet]. 2015;31(8):958–85. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84937522176&doi=10.1016%2Fj.dental.2015.05.004&partnerID=40&md5=719a3dc1a61ae3a8be62f4ad8afafe81>
8. Bezerra IM, Brito ACM, de Sousa SA, Santiago BM, Cavalcanti YW, de Almeida L de FD. Glass ionomer cements compared with composite resin in restoration of noncarious cervical lesions: A systematic review and meta-analysis. Heliyon. 2020 May;6(5):e03969.
9. Bustamante-Hernández N, Montiel-Company JM, Bellot-Arcís C, Mañes-Ferrer JF, Solá-Ruiz MF, Agustín-Panadero R, et al. Clinical Behavior of Ceramic, Hybrid and Composite Onlays. A Systematic Review and Meta-Analysis. Int J Environ Res Public Health. 2020 Oct;17(20).
10. de Amorim RG, Frencken JE, Raggio DP, Chen X, Hu X, Leal SC. Survival percentages of atraumatic restorative treatment (ART) restorations and sealants in posterior teeth: an updated systematic review and meta-analysis. Clin Oral Investig. 2018 Nov;22(8):2703–25.
11. de Carvalho IFA, Marques TMS, Araujo FM, Azevedo LF, Donato H, Correia A. Clinical Performance of CAD/CAM Tooth-Supported Ceramic Restorations: A Systematic Review. Int J Periodontics Restorative Dent. 2018;38(4):E68–78.
12. Dioguardi M, Alovisi M, Troiano G, Caponio CVA, Baldi A, Rocca GT, et al. Clinical outcome of bonded partial indirect posterior restorations on vital and non-vital teeth: a systematic review

- and meta-analysis. *Clin Oral Investig*. 2021 Oct;
13. Fan J, Xu Y, Si L, Li X, Fu B, Hannig M. Long-term Clinical Performance of Composite Resin or Ceramic Inlays, Onlays, and Overlays: A Systematic Review and Meta-analysis. *Oper Dent*. 2021 Jan;46(1):25–44.
 14. Figueiredo FED, Martins-Filho PRS, Faria-E-Silva AL. Do metal post-retained restorations result in more root fractures than fiber post-retained restorations? A systematic review and meta-analysis. *J Endod*. 2015 Mar;41(3):309–16.
 15. Frencken JE, Liang S, Zhang Q. Survival estimates of atraumatic restorative treatment versus traditional restorative treatment: a systematic review with meta-analyses. *Br Dent J*. 2021 Apr;
 16. Garbim JR, Laux CM, Tedesco TK, Braga MM, Raggio DP. Atraumatic restorative treatment restorations performed in different settings: systematic review and meta-analysis. *Aust Dent J*. 2021 Aug;
 17. Heintze SD, Rousson V, Hickel R. Clinical effectiveness of direct anterior restorations - A meta-analysis. *Dent Mater [Internet]*. 2015;31(5):481–95. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84927909793&doi=10.1016%2Fj.dental.2015.01.015&partnerID=40&md5=c77d1abb80e1b6b9d81bac55afc7b4f4>
 18. Heintze SD, Ruffieux C, Rousson V. Clinical performance of cervical restorations - A meta-analysis. *Dent Mater [Internet]*. 2010;26(10):993–1000. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-77956176858&doi=10.1016%2Fj.dental.2010.06.003&partnerID=40&md5=314ec7c9d944eab780187cb8a792c304>
 19. Hong N, Yang H, Li J, Wu S, Li Y. Effect of Preparation Designs on the Prognosis of Porcelain Laminate Veneers: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Oper Dent*. 2017;42(6):E197–213.
 20. Kassardjian V, Varma S, Andiappan M, Creugers NHJ, Bartlett D. A systematic review and meta analysis of the longevity of anterior and posterior all-ceramic crowns. *J Dent*. 2016 Dec;55:1–6.
 21. Karrabi M, Sarandi F, Kianipour A. Evaluate the difference in failure rates between amalgam and composite resin posterior restorations: A systematic review and meta-analysis. *Int J Pharm Res [Internet]*. 2020;12(1):573–9. Available from: <https://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&id=L2003623585&from=export>
 22. Kühnisch J, Bedir A, Lo Y-F, Kessler A, Lang T, Mansmann U, et al. Meta-analysis of the longevity of commonly used pit and fissure sealant materials. *Dent Mater [Internet]*. 2020;36(5):e158–68. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85079387785&doi=10.1016%2Fj.dental.2020.02.001&partnerID=40&md5=459cd5d97e7230a9af116d610243c157>
 23. Layton DM, Clarke M. A systematic review and meta-analysis of the survival of non-feldspathic porcelain veneers over 5 and 10 years. *Int J Prosthodont*. 2013;26(2):111–24.
 24. Layton DM, Clarke M, Walton TR. A systematic review and meta-analysis of the survival of feldspathic porcelain veneers over 5 and 10 years. *Int J Prosthodont*. 2012;25(6):590–603.
 25. Leitão CIMB, Fernandes GV de O, Azevedo LPP, Araújo FM, Donato H, Correia ARM. Clinical performance of monolithic CAD/CAM tooth-supported zirconia restorations: systematic review and meta-analysis. *J Prosthodont Res*. 2021 Oct;
 26. Liu M, Gai K, Chen J, Jiang L. Comparison of Failure and Complication Risks of Porcelain Laminate and Indirect Resin Veneer Restorations: A Meta-Analysis. *Int J Prosthodont [Internet]*. 2019;32(1):59–65. Available from: <https://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&id=L626099273&from=export>
 27. Liu Y, Hou X, Zhang W, Zhao J. Efficacy of indirect and direct resin composite restorations in

- permanent posterior teeth: A meta-analysis. *Chinese J Evidence-Based Med* [Internet]. 2017;17(6):685–91. Available from: <https://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&id=L623184691&from=export>
28. Martins MD, Junqueira RB, de Carvalho RF, Lacerda MFLS, Faé DS, Lemos CAA. Is a fiber post better than a metal post for the restoration of endodontically treated teeth? A systematic review and meta-analysis. *J Dent* [Internet]. 2021;112. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85111496715&doi=10.1016%2Fj.jdent.2021.103750&partnerID=40&md5=414e1e03ce10f62b33fca38ffb135981>
 29. Melo GD, Batistella EA, Bertazzo-Silveira E, Goncalves T, de Souza BDM, Porporatti AL, et al. Association of sleep bruxism with ceramic restoration failure: A systematic review and meta-analysis. *J Prosthet Dent*. 2018;119(3):354–62.
 30. Monsarrat P, Garnier S, Vergnes J-N, Nasr K, Grosogeat B, Joniot S. Survival of directly placed ormocer-based restorative materials: A systematic review and meta-analysis of clinical trials. *Dent Mater*. 2017 May;33(5):e212–20.
 31. Moraschini V, Fai CK, Alto RM, Dos Santos GO. Amalgam and resin composite longevity of posterior restorations: A systematic review and meta-analysis. *J Dent*. 2015 Sep;43(9):1043–50.
 32. Morimoto S, Albanesi RB, Sesma N, Agra CM, Braga MM. Main Clinical Outcomes of Feldspathic Porcelain and Glass-Ceramic Laminate Veneers: A Systematic Review and Meta-Analysis of Survival and Complication Rates. *Int J Prosthodont*. 2016;29(1):38–49.
 33. Morimoto S, Rebello de Sampaio FBW, Braga MM, Sesma N, Özcan M. Survival Rate of Resin and Ceramic Inlays, Onlays, and Overlays: A Systematic Review and Meta-analysis. *J Dent Res*. 2016 Aug;95(9):985–94.
 34. Muller-Bolla M, Lupi-Pégurier L, Taidieu C, Velly AM, Antomarchi C. Retention of resin-based pit and fissure sealants: A systematic review. *Community Dent Oral Epidemiol* [Internet]. 2006;34(5):321–36. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-33748328244&doi=10.1111%2Fj.1600-0528.2006.00319.x&partnerID=40&md5=0846e73949dd7742efbbc6d038a5e005>
 35. Nagarkar SR, Perdigão J, Seong W-J, Theis-Mahon N. Digital versus conventional impressions for full-coverage restorations: A systematic review and meta-analysis. *J Am Dent Assoc*. 2018 Feb;149(2):139-147.e1.
 36. Opdam NJMM, van de Sande FH, Bronkhorst E, Cenci MS, Bottenberg P, Pallesen U, et al. Longevity of posterior composite restorations: a systematic review and meta-analysis. *J Dent Res* [Internet]. 2014 Oct 1 [cited 2021 Sep 16];93(10):943–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25048250/>
 37. Peumans M, De Munck J, Mine A, Van Meerbeek B. Clinical effectiveness of contemporary adhesives for the restoration of non-carious cervical lesions. A systematic review. *Dent Mater* [Internet]. 2014;30(10):1089–103. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84922338302&doi=10.1016%2Fj.dental.2014.07.007&partnerID=40&md5=b2dbd937607c1a8cab7721fe11bb95e0>
 38. Pjetursson BE, Sailer I, Zwahlen M, Hammerle CHF. A systematic review of the survival and complication rates of all-ceramic and metal-ceramic reconstructions after an observation period of at least 3 years. Part I: Single crowns. *Clin Oral Implants Res*. 2007 Jun;18 Suppl 3:73–85.
 39. Ploumaki A, Bilkhair A, Tuna T, Stampf S, Strub JR. Success rates of prosthetic restorations on endodontically treated teeth; a systematic review after 6 years. *J Oral Rehabil*. 2013 Aug;40(8):618–30.
 40. Qin W, Lei L, Huang QT, Wang L, Lin ZM. Clinical effectiveness of self-etching adhesives with or without selective enamel etching in noncarious cervical lesions: A systematic review. *J Dent*

Sci. 2014;9(4):303–12.

41. Rodrigues SB, Franken P, Celeste RK, Leitune VCB, Collares FM. CAD/CAM or conventional ceramic materials restorations longevity: a systematic review and meta-analysis. *J Prosthodont Res*. 2019 Oct;63(4):389–95.
42. Ruengrungsom C, Palamara JEA, Burrow MF. Comparison of ART and conventional techniques on clinical performance of glass-ionomer cement restorations in load bearing areas of permanent and primary dentitions: A systematic review. *J Dent [Internet]*. 2018;78:1–21. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85053724386&doi=10.1016%2Fj.jdent.2018.07.008&partnerID=40&md5=4e1f9e86f869478e826e82c2dcc17c2f>
43. Sailer I, Makarov NA, Thoma DS, Zwahlen M, Pjetursson BE. All-ceramic or metal-ceramic tooth-supported fixed dental prostheses (FDPs)? A systematic review of the survival and complication rates. Part I: Single crowns (SCs). *Dent Mater*. 2015 Jun;31(6):603–23.
44. Sampaio FBWR, Özcan M, Gimenez TC, Moreira MSNA, Tedesco TK, Morimoto S. Effects of manufacturing methods on the survival rate of ceramic and indirect composite restorations: A systematic review and meta-analysis. *J Esthet Restor Dent Off Publ Am Acad Esthet Dent [et al]*. 2019 Nov;31(6):561–71.
45. Sarkis-Onofre R, Fergusson D, Cenci MS, Moher D, Pereira-Cenci T. Performance of Post-retained Single Crowns: A Systematic Review of Related Risk Factors. *J Endod [Internet]*. 2017;43(2):175–83. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85010399518&doi=10.1016%2Fj.joen.2016.10.025&partnerID=40&md5=6e1d3032ea5a71a541904189dc0fd71c>
46. Schwendicke F, Jäger AM, Paris S, Hsu LY, Tu YK. Treating pit-and-fissure caries: a systematic review and network meta-analysis. *J Dent Res*. 2015 Apr;94(4):522–33.
47. Shu X, Mai Q-Q, Blatz M, Price R, Wang X-D, Zhao K. Direct and Indirect Restorations for Endodontically Treated Teeth: A Systematic Review and Meta-analysis, IAAD 2017 Consensus Conference Paper. *J Adhes Dent*. 2018;20(3):183–94.
48. Skupien JA, Luz MS, Pereira-Cenci T. Ferrule effect: A meta-analysis. *JDR Clin Transl Res [Internet]*. 2016;1(1):31–9. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85040032334&doi=10.1177%2F2380084416636606&partnerID=40&md5=7e02d1bed2be8048188afd211bcef2ef>
49. Tabesh M, Nejatidanesh F, Savabi G, Davoudi A, Savabi O, Mirmohammadi H. Marginal adaptation of zirconia complete-coverage fixed dental restorations made from digital scans or conventional impressions: A systematic review and meta-analysis. *J Prosthet Dent*. 2021 Apr;125(4):603–10.
50. Thomas RM, Kelly A, Tagiyeva N, Kanagasingam S. Comparing endocrown restorations on permanent molars and premolars: a systematic review and meta-analysis. *Br Dent J*. 2020 Nov.
51. Vagropoulou GI, Klifopoulou GL, Vlahou SG, Hirayama H, Michalakis K. Complications and survival rates of inlays and onlays vs complete coverage restorations: A systematic review and analysis of studies. *J Oral Rehabil*. 2018 Nov;45(11):903–20.
52. Van De Sande FH, Collares K, Correa MB, Cenci MS, Demarco FF, Opdam NJM. Restoration survival: Revisiting patients' risk factors through a systematic literature review. *Oper Dent [Internet]*. 2016;41:S7–26. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84991745798&doi=10.2341%2F15-120-LIT&partnerID=40&md5=0129ade25577a0615e1336794269e511>
53. Zhang X, Pei X, Pei X, Wan Q, Chen J, Wang J. Success and complication rates of root-filled teeth restored with zirconia posts: A critical review. *Int J Prosthodont [Internet]*. 2019;32(5):411–9. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85071740402&doi=10.11607%2Fijp.6179&partnerID=40&md5=8a3e00b6f8f5e27085ad813fd3>

81c95b

54. Zou Y, Bai J, Xiang JZ. Survival rate of ceramic inlay and onlay restorations in posterior teeth with one-surface or multi-surface after a 10-year follow-up: A systematic review and meta-analysis. *Vojnosanit Pregl.* 2021;78(5):549–55.

Did not include meta-analysis of the outcomes of interest (n= 16):

1. Askar H, Krois J, Göstemeyer G, Schwendicke F. Secondary caries risk of different adhesive strategies and restorative materials in permanent teeth: Systematic review and network meta-analysis. *J Dent.* 2021 Jan;104:103541.
2. Correia A, Bresciani E, Borges AB, Pereira DM, Maia LC, Caneppele T. Do Tooth- and Cavity-related Aspects of Noncarious Cervical Lesions Affect the Retention of Resin Composite Restorations in Adults? A Systematic Review and Meta-analysis. *Oper Dent.* 2020;45(3):E124–40.
3. Dorri M, Dunne SM, Walsh T, Schwendicke F. Micro-invasive interventions for managing proximal dental decay in primary and permanent teeth. *Cochrane database Syst Rev.* 2015 Nov;2015(11):CD010431.
4. Garcia PP, Wambier LM, de Geus JL, da Cunha LF, Correr GM, Gonzaga CC. Do anterior and posterior teeth treated with post-and-core restorations have similar failure rates? A systematic review and meta-analysis. *J Prosthet Dent.* 2019 Jun;121(6):887-894.e4.
5. Hong XF, Huang ZX, Tong ZR, Jiang HM, Su MX. Clinical effects of different etching modes for universal adhesives: a systematic review and meta-analysis. *Ann Palliat Med.* 2021;10(5):5462–73.
6. Jurema ALB, Filgueiras AT, Santos KA, Bresciani E, Caneppele TMF. Effect of intraradicular fiber post on the fracture resistance of endodontically treated and restored anterior teeth: A systematic review and meta-analysis. *J Prosthet Dent.* 2021 Feb;
7. Maran BM, de Geus JL, Gutiérrez MF, Heintze S, Tardem C, Barceleiro MO, et al. Nanofilled/nanohybrid and hybrid resin-based composite in patients with direct restorations in posterior teeth: A systematic review and meta-analysis. *J Dent.* 2020 Aug;99:103407.
8. Nedeljkovic I, Teughels W, De Munck J, Van Meerbeek B, Van Landuyt KL. Is secondary caries with composites a material-based problem? *Dent Mater [Internet].* 2015;31(11):e247–77. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84944747536&doi=10.1016%2Fj.dental.2015.09.001&partnerID=40&md5=04cc1ea7586d902fb4f06ee7c25b2d77>
9. Palmier NR, Madrid Troconis CC, Normando AGC, Guerra ENS, Araújo ALD, Arboleda LPA, et al. Impact of head and neck radiotherapy on the longevity of dental adhesive restorations: A systematic review and meta-analysis. *J Prosthet Dent.* 2021 Mar;
10. Poggio CE, Ercoli C, Rispoli L, Maiorana C, Esposito M. Metal-free materials for fixed prosthodontic restorations. *Cochrane database Syst Rev.* 2017 Dec;12(12):CD009606.
11. Saber AM, El-Housseiny AA, Alamoudi NM. Atraumatic restorative treatment and interim therapeutic restoration: A review of the literature. *Dent J [Internet].* 2019;7(1). Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85064052859&doi=10.3390%2Fdj7010028&partnerID=40&md5=721386329d06d75f3dc94ff55f374726>
12. Sorrentino R, Di Mauro MI, Ferrari M, Leone R, Zarone F. Complications of endodontically treated teeth restored with fiber posts and single crowns or fixed dental prostheses—a systematic review. *Clin Oral Investig [Internet].* 2016;20(7):1449–57. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84979669595&doi=10.1007%2F00784-016-1919-8&partnerID=40&md5=715f1f81d9015c46e6c1bdf9e77c2f8>
13. Sousa SJL, Poubel DL do N, Rezende LVM de L, Almeida FT, de Toledo IP, Garcia FCP.

Early clinical performance of resin cements in glass-ceramic posterior restorations in adult vital teeth: A systematic review and meta-analysis. J Prosthet Dent. 2020 Jan;123(1):61–70.

14. Yengopal V, Mickenautsch S. Caries-preventive effect of resin-modified glass-ionomer cement (RM-GIC) versus composite resin: a quantitative systematic review. Eur Arch Paediatr Dent Off J Eur Acad Paediatr Dent. 2011 Feb;12(1):5–14.
15. Zhang S, DU Q, Han L, Liu P, Li T, Zhang L. [Fiber post versus metal screw post for repair of residual crowns and roots: a systematic review]. Shanghai Kou Qiang Yi Xue. 2014 Apr;23(2):237–42.
16. Zotti F, Falavigna E, Capocasale G, De Santis D, Albanese M. Microleakage of Direct Restorations Comparison between Bulk-Fill and Traditional Composite Resins: Systematic Review and Meta-Analysis. Eur J Dent [Internet]. 2021; Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85114364213&doi=10.1055%2Fs-0041-1724155&partnerID=40&md5=1ad1409e13768d4de9194fc40c3fed3f>

Update available (n= 1):

1. Mickenautsch S, Yengopal V, Banerjee A. Atraumatic restorative treatment versus amalgam restoration longevity: a systematic review. Clin Oral Investig. 2010 Jun;14(3):233–40.

Supplementary Material 3 – List of included studies (n= 49)***Studies included in review (n= 49)***

1. Afrashtehfar KI, Emami E, Ahmadi M, Eilayyan O, Abi-Nader S, Tamimi F. 2017. Failure rate of single-unit restorations on posterior vital teeth: A systematic review. *J Prosthet Dent.* 117(3):345-353.e8.
2. Alsabek L, Al-Hakeem A, Alagha MA, Comisi JC. 2021. Efficacy of hydrophilic resin-based sealant: A systematic review and meta-analysis. *J Dent.* 114:103816.
3. Angeletaki F, Gkogkos A, Papazoglou E, Kloukos D. 2016. Direct versus indirect inlay/onlay composite restorations in posterior teeth. A systematic review and meta-analysis. *J Dent.* 53:12–21.
4. Arbildo H, Lamas-Lara C, Cruzado-Oliva F, Rosas-Prado C, Gómez-Fuertes A, Vásquez-Rodrigo H. 2018. Comparison of the clinical effect of the adhesive strategies of universal adhesives in the treatment of non-carious cervical lesions. Systematic review and meta-analysis. *J Oral Res.* 7(5):210–222. <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85048298569&doi=10.17126%2Fjoralres.2018.049&partnerID=40&md5=643c106ad53d1506238fe806efd38845>.
5. Arbildo-Vega H, Rendón-Alvarado A, Cruzado-Oliva FH, Infantes-Ruiz E, Agüero-Alva J, Vásquez-Rodrigo H. 2021. Clinical effectiveness of pre-treatment with Chlorhexidine in adhesive dental restorations. Systematic review and meta-analysis. *J Oral Res.* 10(3). <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85117451809&doi=10.17126%2Fjoralres.2021.034&partnerID=40&md5=b96193395a4ca24080d0242433f65167>.
6. Arbildo-Vega HI, Lapinska B, Panda S, Lamas-Lara C, Khan AS, Lukomska-Szymanska M. 2020. Clinical Effectiveness of Bulk-Fill and Conventional Resin Composite Restorations: Systematic Review and Meta-Analysis. *Polymers (Basel).* 12(8).
7. Bagherian A, Sarraf Shirazi A, Sadeghi R. 2016. Adhesive systems under fissure sealants: Yes or no? A systematic review and meta-analysis. *J Am Dent Assoc.* 147(6):446–456. <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84960984055&doi=10.1016%2Fj.adaj.2016.01.014&partnerID=40&md5=a49ad5c02eeb5270e7ffc90a4cb7987a>.
8. Bagherian A, Sarraf Shirazi A. 2016. Preparation before acid etching in fissure sealant therapy: yes or no?: A systematic review and meta-analysis. *J Am Dent Assoc.* 147(12):943–951. <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84994517752&doi=10.1016%2Fj.adaj.2016.08.003&partnerID=40&md5=265bc123a77220a040745f8711ec4b80>.
9. Bagherian A, Shiraz AS. 2018. Flowable composite as fissure sealing material? A systematic review and meta-analysis. *Br Dent J.* 224(2):92–97. <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85041122039&doi=10.1038%2Fsj.bdj.2018.40&partnerID=40&md5=967f49252c610692a967004590d99dda>.
10. Boing TF, de Geus JL, Wambier LM, Loguercio AD, Reis A, Gomes OMM. 2018. Are Glass-Ionomer Cement Restorations in Cervical Lesions More Long-Lasting than Resin-based Composite Resins? A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Adhes Dent.* 20(5):435–452.
11. Cavaleiro CP, Scherer H, Imparato JCP, Collares FM, Lenzi TL. 2021. Use of flowable resin composite as an intermediate layer in class II restorations: a systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Investig.* 25(10):5629–5639.
12. Cidreira Boaro LC, Pereira Lopes D, de Souza ASC, Lie Nakano E, Ayala Perez MD, Pfeifer CS, Gonçalves F. 2019. Clinical performance and chemical-physical properties of bulk fill composites resin -a systematic review and meta-analysis. *Dent Mater.* 35(10):e249–e264.
13. da Silva TSP, de Castro RF, Magno MB, Maia LC, Silva E Souza MH da J. 2018. Do HEMA-free adhesive systems have better clinical performance than HEMA-containing systems in noncarious cervical lesions? A systematic review and meta-analysis. *J Dent.* 74:1–14.
14. da Veiga AMA, Cunha AC, Ferreira DMTP, da Silva Fidalgo TK, Chianca TK, Reis KR, Maia LC. 2016. Longevity of direct and indirect resin composite restorations in permanent posterior teeth: A systematic review and meta-analysis. *J Dent.* 54:1–12. [accessed 2021 Sep 16]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27523636/>.
15. de Assis C, Lemos C, Gomes J, Vasconcelos B, Moraes S, Braz R, Pellizzer EP. 2020. Clinical

- Efficiency of Self-etching One-Step and Two-Step Adhesives in NCCL: A Systematic Review and Meta-analysis. *Oper Dent.* 45(6):598–607.
16. de Geus JL, Maran BM, Cabral KA, Dávila-Sánchez A, Tardem C, Barceleiro MO, Heintze SD, Reis A, Loguercio AD. 2021. Clinical Performance of Filled/Nanofilled Versus Nonfilled Adhesive Systems in Noncarious Cervical Lesions: A Systematic Review and Meta-analysis. *Oper Dent.* 46(1):E34–E59.
 17. de Kuijper MCFM, Cune MS, Özcan M, Gresnigt MMM. 2021 Dec 31. Clinical performance of direct composite resin versus indirect restorations on endodontically treated posterior teeth: A systematic review and meta-analysis. *J Prosthet Dent.*
 18. Dorri M, Martinez-Zapata MJ, Walsh T, Marinho VC, Sheiham Deceased A, Zaror C. 2017. Atraumatic restorative treatment versus conventional restorative treatment for managing dental caries. *Cochrane database Syst Rev.* 12(12):CD008072.
 19. Dreweck F, Burey A, de Oliveira Dreweck M, Fernandez E, Loguercio A, Reis A. 2021 Dec 17. Challenging the Concept that OptiBond FL and Clearfil SE Bond in NCCLs Are Gold Standard Adhesives: A Systematic Review and Meta-analysis. *Oper Dent.* [accessed 2022 Apr 8]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34919728/>.
 20. Dreweck FDS, Burey A, de Oliveira Dreweck M, Loguercio AD, Reis A. 2021. Adhesive strategies in cervical lesions: systematic review and a network meta-analysis of randomized controlled trials. *Clin Oral Investig.* 25(5):2495–2510.
 21. Fron Chabouis H, Smail Faugeron V, Attal J-P. 2013. Clinical efficacy of composite versus ceramic inlays and onlays: A systematic review. *Dent Mater.* 29(12):1209–1218. <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84888016279&doi=10.1016%2Fj.dental.2013.09.009&partnerID=40&md5=254cbf6926bb1d39729b9cd47a398553>.
 22. Josic U, Maravic T, Mazzitelli C, Radovic I, Jacimovic J, Del Bianco F, Florenzano F, Breschi L, Mazzoni A. 2021 Sep. Is clinical behavior of composite restorations placed in non-carious cervical lesions influenced by the application mode of universal adhesives? A systematic review and meta-analysis. *Dent Mater.*
 23. Josic U, Mazzitelli C, Maravic T, Radovic I, Jacimovic J, Mancuso E, Florenzano F, Breschi L, Mazzoni A. 2022. The influence of selective enamel etch and self-etch mode of universal adhesives' application on clinical behavior of composite restorations placed on non-carious cervical lesions: A systematic review and meta-analysis. *Dent Mater.* 38(3):472–488. [accessed 2022 Apr 8]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35151466/>.
 24. Kruly P de C, Giannini M, Pascotto RC, Tokubo LM, Suga USG, Marques A de CR, Terada RSS, De Castro Kruly P, Giannini M, Pascotto RC, et al. 2018. Meta-analysis of the clinical behavior of posterior direct resin restorations: Low polymerization shrinkage resin in comparison to methacrylate composite resin. *PLoS One.* 13(2):e0191942. <https://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&id=L620772503&from=export>.
 25. Kunz PVM, Wambier LM, Kaizer M da R, Correr GM, Reis A, Gonzaga CC. 2022. Is the clinical performance of composite resin restorations in posterior teeth similar if restored with incremental or bulk-filling techniques? A systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Investig.* 26(3):2281–2297. [accessed 2022 Apr 8]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35031879/>.
 26. Lins R, Sebold M, Magno MB, Maia LC, Martins L, Giannini M. 2020. Does the Type of Solvent in Dental Adhesives Influence the Clinical Performance of Composite Restorations Placed in Noncarious Cervical Lesions? A Systematic Review and Meta-analysis. *Oper Dent.* 45(5):E237–E254.
 27. Magno MB, Nascimento GCR, Rocha YSP da, Ribeiro B d'Paula G, Loretto SC, Maia LC. 2016. Silorane-based Composite Resin Restorations Are Not Better than Conventional Composites - A Meta-Analysis of Clinical Studies. *J Adhes Dent.* 18(5):375–386.
 28. Miao C, Yang X, Wong MCM, Zou J, Zhou X, Li C, Wang Y. 2021. Rubber dam isolation for restorative treatment in dental patients. *Cochrane Database Syst Rev.* 2021(5). [accessed 2021 Oct 7]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33998662/>.
 29. Mickenautsch S, Yengopal V. 2012. Failure rate of atraumatic restorative treatment using high-viscosity glass-ionomer cement compared to that of conventional amalgam restorative treatment in primary and permanent teeth : a systematic review update. *J Minim Interv Dent.* 5(3):63–124.
 30. Nguyen K V, Sathorn C, Wong RH, Burrow MF. 2015. Clinical performance of laminate and non-laminate resin composite restorations: a systematic review. *Aust Dent J.* 60(4):520–527.
 31. Papageorgiou SN, Dimitraki D, Kotsanos N, Bekes K, van Waas H. 2017. Performance of pit

- and fissure sealants according to tooth characteristics: A systematic review and meta-analysis. *J Dent.* 66:8–17. <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85028329812&doi=10.1016%2Fj.jdent.2017.08.004&partnerID=40&md5=6bc8846db12f950ef33b285696e94172>.
32. Paula AM de, Boing TF, Wambier LM, Hanzen TA, Loguercio AD, Armas-Vega A, Reis A. 2019. Clinical Performance of Non-Carious Cervical Restorations Restored with the “Sandwich Technique” and Composite Resin: A Systematic Review and Meta-analysis. *J Adhes Dent.* 21(6):497–508.
 33. Rocha AC, Da Rosa W, Cocco AR, Da Silva AF, Piva E, Lund R-G. 2018. Influence of Surface Treatment on Composite Adhesion in Noncarious Cervical Lesions: Systematic Review and Meta-analysis. *Oper Dent.* 43(5):508–519.
 34. Santos MJMC, Ari N, Steele S, Costella J, Banting D. 2014. Retention of tooth-colored restorations in non-caries cervical lesions--a systematic review. *Clin Oral Investig.* 18(5):1369–1381.
 35. Schenkel AB, Veitz-Keenan A. 2019. Dental cavity liners for Class I and Class II resin-based composite restorations. *Cochrane database Syst Rev.* 3(3):CD010526.
 36. Schroeder M, Correa IC, Bauer J, Loguercio AD, Reis A. 2017. Influence of adhesive strategy on clinical parameters in cervical restorations: A systematic review and meta-analysis. *J Dent.* 62:36–53.
 37. Schroeder M, Reis A, Luque-Martinez I, Loguercio AD, Masterson D, Maia LC. 2015. Effect of enamel bevel on retention of cervical composite resin restorations: A systematic review and meta-analysis. *J Dent.* 43(7):777–788.
 38. Schwendicke F, Göstemeyer G, Blunck U, Paris S, Hsu L-Y, Tu Y-K. 2016. Directly Placed Restorative Materials: Review and Network Meta-analysis. *J Dent Res.* 95(6):613–622.
 39. Schwendicke F, Walsh T, Lamont T, Al-Yaseen W, Bjørndal L, Clarkson JE, Fontana M, Gomez Rossi J, Göstemeyer G, Levey C, et al. 2021. Interventions for treating cavitated or dentine carious lesions. *Cochrane database Syst Rev.* 7(7):CD013039.
 40. Sequeira-Byron P, Fedorowicz Z, Carter B, Nasser M, Alrowaili EF. 2015. Single crowns versus conventional fillings for the restoration of root-filled teeth. *Cochrane Database Syst Rev.* (9). <http://dx.doi.org/10.1002/14651858.CD009109.pub3>.
 41. Solon-de-Mello M, da Silva Fidalgo TK, Dos Santos Letieri A, Masterson D, Granjeiro JM, Monte Alto R V, Maia LC. 2019. Longevity of indirect restorations cemented with self-adhesive resin luting with and without selective enamel etching. A Systematic review and meta-analysis. *J Esthet Restor Dent Off Publ Am Acad Esthet Dent . [et al].* 31(4):327–337.
 42. Szesz A, Parreiras S, Martini E, Reis A, Loguercio A. 2017. Effect of flowable composites on the clinical performance of non-caries cervical lesions: A systematic review and meta-analysis. *J Dent.* 65:11–21.
 43. Szesz A, Parreiras S, Reis A, Loguercio A. 2016. Selective enamel etching in cervical lesions for self-etch adhesives: A systematic review and meta-analysis. *J Dent.* 53:1–11.
 44. Veloso SRM, Lemos CAA, de Moraes SLD, do Egito Vasconcelos BC, Pellizzer EP, de Melo Monteiro GQ. 2019. Clinical performance of bulk-fill and conventional resin composite restorations in posterior teeth: a systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Investig.* 23(1):221–233.
 45. Vetromilla BM, Opdam NJ, Leida FL, Sarkis-Onofre R, Demarco FF, van der Loo MPJ, Cenci MS, Pereira-Cenci T. 2020. Treatment options for large posterior restorations: a systematic review and network meta-analysis. *J Am Dent Assoc.* 151(8):614-624.e18. [accessed 2022 Apr 1]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32718491/>.
 46. Wang X, Shu X, Zhang Y, Yang B, Jian Y, Zhao K. 2019. Evaluation of fiber posts vs metal posts for restoring severely damaged endodontically treated teeth: a systematic review and meta-analysis. *Quintessence Int.* 50(1):8–20.
 47. Worthington H V, Khangura S, Seal K, Mierzwinski-Urban M, Veitz-Keenan A, Sahrman P, Schmidlin PR, Davis D, Iheozor-Ejiofor Z, Rasines Alcaraz MG. 2021. Direct composite resin fillings versus amalgam fillings for permanent posterior teeth. *Cochrane Database Syst Rev.* (8). <http://dx.doi.org/10.1002/14651858.CD005620.pub3>.
 48. Zhang Y, Wang Y, Chen Y, Chen Y, Zhang Q, Zou J. 2019. The clinical effects of laser preparation of tooth surfaces for fissure sealants placement: A systematic review and meta-Analysis. *BMC Oral Health.* 19(1). <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85071764729&doi=10.1186%2F12903-019-0892-4&partnerID=40&md5=d3d9457216dec70d53c7e1fa71e6ad3e>.
 49. Zhu Z, Dong X-Y, He S, Pan X, Tang L. 2015. Effect of Post Placement on the Restoration of

3 Considerações Finais

O *spin*, uma prática prejudicial na comunidade científica, ocorre em diversas áreas como a da odontologia restauradora e é um problema que precisa ser observado com atenção. Diversos fatores impactam na forma como os artigos são escritos, seja o relato de forma completa de seus estudos, seja o planejamento prévio e publicação de um protocolo de pesquisa e utilização de diretrizes que guiem a forma de como o relato destes achados deve ser realizado a fim de evitar distorções. A completude do relato do resumo e texto completo dos manuscritos é de extrema importância e deve ser orientada, sempre que possível, por meio de guias validados, para evitar que faltem informações como aconteceu nos manuscritos observados nesse estudo. O registro prospectivo dos estudos, critérios de inclusão e exclusão e a falta de relato dos efeitos adversos dos tratamentos são algumas falhas observadas e que precisavam estar presentes nesses relatos.

Por exemplo, neste estudo, observou-se que a não descrição de efeitos adversos é massiva. Desta forma, é preciso destacar qual o impacto da ausência de reporte de efeitos adversos para o usuário. Para um paciente, a ausência desta informação pode levar a uma falsa compreensão de que um tratamento é semelhante em relação a outro baseado apenas em resultados descritos em um resumo, sendo que o efeito adverso poderia ser uma das razões de não-escolha de um tratamento. Desta forma, o *spin* não é somente maléfico à ciência por muitas vezes "esconder" resultados, mas principalmente na tomada de decisão clínica e escolha de tratamentos por cirurgiões-dentistas ou pacientes. Estudos são necessários em todas áreas do conhecimento da odontologia para avaliação de *spin* e futuras resoluções para que essa prática seja extinta do meio científico.

Referências

BASSANI, Rafaela *et al.* Systematic reviews in dentistry: Current status, epidemiological and reporting characteristics. **Journal of Dentistry**, [s. l.], v. 82, p. 71–84, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.JDENT.2019.01.014>

BOUTRON, Isabelle. Spin in Scientific Publications: A Frequent Detrimental Research Practice. **Annals of Emergency Medicine**, [s. l.], v. 75, n. 3, p. 432–434, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.annemergmed.2019.11.002>

BOUTRON, Isabelle; RAVAUD, Philippe. Misrepresentation and distortion of research in biomedical literature. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [s. l.], v. 115, n. 11, p. 2613–2619, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.1710755115>

CHIU, Kellia; GRUNDY, Quinn; BERO, Lisa. “Spin” in published biomedical literature: A methodological systematic review. **PLoS biology**, [s. l.], v. 15, n. 9, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PBIO.2002173>. Acesso em: 15 jan. 2023.

COOK, Deborah J.; MULROW, Cynthia D.; HAYNES, R. Brian. Systematic reviews: Synthesis of best evidence for clinical decisions. **Annals of Internal Medicine**, [s. l.], v. 126, n. 5, p. 376–380, 1997. Disponível em: <https://doi.org/10.7326/0003-4819-126-5-199703010-00006>

DE LUCENA ALVES, Charles Phillipe *et al.* Systematic reviews on the success of dental implants present low spin of information but may be better reported and interpreted: An overview of systematic reviews with meta-analysis. **Clinical implant dentistry and related research**, [s. l.], v. 24, n. 1, p. 105–115, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/CID.13067>. Acesso em: 1 abr. 2022.

EDWARDS, Marc A.; ROY, Siddhartha. Academic Research in the 21st Century: Maintaining Scientific Integrity in a Climate of Perverse Incentives and Hypercompetition. **Environmental engineering science**, [s. l.], v. 34, n. 1, p. 51–61, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1089/EES.2016.0223>. Acesso em: 15 jan. 2023.

EMERSON, Gwendolyn B. *et al.* Testing for the presence of positive-outcome bias in peer review: a randomized controlled trial. **Archives of internal medicine**, [s. l.], v. 170, n. 21, p. 1934–1939, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1001/ARCHINTERNMED.2010.406>. Acesso em: 15 jan. 2023.

GIANNAKOULAS, Dimitrios G.; KOLETISI, Despina; TZANETAKIS, Giorgos N. Assessment of spin in abstracts of Endodontic Systematic Reviews with meta-analyses published between 2010 and 2022. Are we in need of more transparent interpretation of findings? **International endodontic journal**, [s. l.], v. 55, n. 12, p. 1347–1358, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/IEJ.13832>. Acesso em: 15 jan. 2023.

GUREVITCH, Jessica *et al.* Meta-analysis and the science of research synthesis. **Nature**, [s. l.], v. 555, n. 7695, p. 175–182, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/NATURE25753>. Acesso em: 22 set. 2022.

IOANNIDIS, John P.A. The Mass Production of Redundant, Misleading, and Conflicted

Systematic Reviews and Meta-analyses. **The Milbank Quarterly**, [s. l.], v. 94, n. 3, p. 485–514, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1468-0009.12210>. Acesso em: 15 jan. 2023.

IOANNIDIS, John P.A.; KHOURY, Muin J. Assessing value in biomedical research: the PQRS of appraisal and reward. **JAMA**, [s. l.], v. 312, n. 5, p. 483–484, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1001/JAMA.2014.6932>. Acesso em: 15 jan. 2023.

KUMBARGER NAGRAJ, Sumanth *et al.* Preprocedural mouth rinses for preventing transmission of infectious diseases through aerosols in dental healthcare providers. **The Cochrane database of systematic reviews**, [s. l.], v. 8, n. 8, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/14651858.CD013826.PUB2>. Acesso em: 15 jan. 2023.

MAKOU, Olga; ELIADES, Theodore; KOLETISI, Despina. Reporting, interpretation, and extrapolation issues (SPIN) in abstracts of orthodontic meta-analyses published from 2000 to 2020. **European journal of orthodontics**, [s. l.], v. 43, n. 5, p. 567–575, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/EJO/CJAB009>. Acesso em: 15 jan. 2023.

MOHER, David. **Reporting guidelines: Doing better for readers**. [S. l.]: BMC Med, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12916-018-1226-0>. Acesso em: 7 out. 2021.

MONTORI, Victor M. *et al.* Users' guide to detecting misleading claims in clinical research reports. **BMJ (Clinical research ed.)**, [s. l.], v. 329, n. 7474, p. 1093–1096, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1136/BMJ.329.7474.1093>. Acesso em: 15 jan. 2023.

MUNAFÒ, Marcus R. *et al.* A manifesto for reproducible science. **Nature human behaviour**, [s. l.], v. 1, n. 1, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/S41562-016-0021>. Acesso em: 15 jan. 2023.

MURAD, M. Hassan; MONTORI, Victor M. Synthesizing Evidence: Shifting the Focus From Individual Studies to the Body of Evidence. **JAMA**, [s. l.], v. 309, n. 21, p. 2217–2218, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1001/JAMA.2013.5616>. Acesso em: 15 jan. 2023.

PAGE, Matthew J. *et al.* The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. **BMJ**, [s. l.], v. 372, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1136/BMJ.N71>. Acesso em: 13 abr. 2022.

RAMAMURTHY, Priyadarshini *et al.* Sealants for preventing dental caries in primary teeth. **The Cochrane database of systematic reviews**, [s. l.], v. 2, n. 2, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/14651858.CD012981.PUB2>. Acesso em: 15 jan. 2023.

RAWAT, Seema; MEENA, Sanjay. Publish or perish: Where are we heading? **Journal of Research in Medical Sciences : The Official Journal of Isfahan University of Medical Sciences**, [s. l.], v. 19, n. 2, p. 87, 2014. Disponível em: <http://pmc/articles/PMC3999612/>. Acesso em: 15 jan. 2023.

REYNOLDS-VAUGHN, Victoria *et al.* Evaluation of Spin in the Abstracts of Emergency Medicine Randomized Controlled Trials. **Annals of emergency medicine**, [s. l.], v. 75,

n. 3, p. 423–431, 2019. Disponível em:
<https://doi.org/10.1016/J.ANNEMERGEMED.2019.03.011>. Acesso em: 15 jan. 2023.

ROND, Mark de; MILLER, Alan. Publish or Perish: Bane or Boon of Academic Life? **Journal of Management Inquiry**, [s. l.], v. 14, n. 4, 2005. Disponível em:
https://digitalscholarship.unlv.edu/met_fac_articles/21. Acesso em: 15 jan. 2023.

SARKIS-ONOFRE, R *et al.* Systematic reviews in restorative dentistry: discussing relevant aspects. **JOURNAL OF ESTHETIC AND RESTORATIVE DENTISTRY**, [s. l.], v. 31, n. 3, p. 222–232, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jerd.12463>

SUTHERLAND, William J.; SPIEGELHALTER, David; BURGMAN, Mark A. Policy: Twenty tips for interpreting scientific claims. **Nature**, [s. l.], v. 503, n. 7476, p. 335–337, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/503335A>. Acesso em: 15 jan. 2023.

SYSTEMATIC REVIEW DENTISTRY - SEARCH RESULTS - PUBMED. [S. l.], [s. d.]. Disponível em:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=systematic+review+dentistry&filter=years.2017-2023>. Acesso em: 15 jan. 2023.

TURNER, Lucy *et al.* The evolution of assessing bias in Cochrane systematic reviews of interventions: celebrating methodological contributions of the Cochrane Collaboration. **Systematic Reviews**, [s. l.], v. 2, p. 79, 2013. Disponível em:
<https://doi.org/10.1186/2046-4053-2-79>. Acesso em: 5 jan. 2023.

WORLD MEDICAL ASSOCIATION. **World Medical Association declaration of Helsinki: Ethical principles for medical research involving human subjects** **JAMA - Journal of the American Medical Association**. [S. l.]: JAMA, 2013. Disponível em:
<https://doi.org/10.1001/jama.2013.281053>. Acesso em: 16 set. 2021.

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



Tese

**Confiabilidade da cirurgia guiada sem retalho para instalação de implantes
dentários em pacientes edêntulos: uma revisão sistemática**

Leandro Calcagno Reinhardt

Pelotas, 2022

LEANDRO CALCAGNO REINHARDT

Confiabilidade da cirurgia guiada sem retalho para instalação de implantes dentários em pacientes edêntulos: uma revisão sistemática

Tese apresentada ao Programa de Pós- Graduação da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial para obter o título de Doutor em Odontologia, Área de concentração em Clínica Odontológica, ênfase em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofaciais, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas.

Data da defesa: 21/09/2022

Banca examinadora:

Prof. Dr. Otacilio Luiz Chagas Junior (Orientador)
Doutor em Odontologia (Área de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial)
pela Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Mateus Bertolini Fernandes dos Santos
Doutor em Odontologia (Área de Prótese Dental) pela FOP-UNICAMP

Prof. Dr. Mario Sergio Medeiros Pires (Suplente)
Doutor em Odontologia (Área de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial)
pela Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Paulo Eduardo Kreisner
Doutor em Odontologia (Área de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial)
pela Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Marcos Antonio Torriani (Suplente)
Doutor em Odontologia (Área de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial)
pela Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Alisson André Robe da Fonseca
Doutor em Odontologia (Área de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial)
pela Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação:
Bibliotecária Daiane Schramm – CRB-10/1881

R369c Reinhardt, Leandro Calcagno

Confiabilidade da cirurgia guiada sem retalho para instalação de implantes dentários em pacientes edêntulos: uma revisão sistemática. / Leandro Calcagno Reinhardt; Prof. Dr. Otacilio Luiz Chagas Junior, orientador. – Pelotas, 2022.

53p.

Tese (Doutorado) Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

1. Implantes dentários. 2. Maxila Edentada. 3. Cirurgia Guiada. I. Título. II. Chagas Junior, Otacilio Luiz; orient.

CDD 617.69

Banca examinadora:

.....
Prof. Dr. Otacilio Luiz Chagas Junior (Orientador)
Doutor em Odontologia (Área de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial) pela
Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

.....
Prof. Dr. Mateus Bertolini Fernandes dos Santos
Doutor em Odontologia (Área de Prótese Dental) pela FOP-UNICAMP

.....
Prof. Dr. Mario Sergio Medeiros Pires (Suplente)
Doutor em Odontologia (Área de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial) pela
Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

.....
Prof. Dr. Paulo Eduardo Kreisner
Doutor em Odontologia (Área de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial) pela
Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

.....
Prof. Dr. Marcos Antonio Torriani (Suplente)
Doutor em Odontologia (Área de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial) pela
Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

.....
Prof. Dr. Alisson André Robe da Fonseca
Doutor em Odontologia (Área de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial) pela
Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

**Dedico este trabalho aos
meus filhos Beatriz e Antônio,
os maiores presentes da vida.**

AGRADECIMENTOS

A Deus, que sempre me protegeu e me deu capacidade para eu chegar até aqui.

Ao meu pai Osvaldo e minha mãe e colega Marlene, meus exemplos que me deram educação, condições de estudar e sempre me mostraram o caminho que eu deveria seguir.

Aos meus filhos Beatriz e Antônio, que simplesmente significam tudo para mim. Tudo que faço e farei nessa vida é por eles. Muito obrigado por sempre estarem ao meu lado em todos os momentos, minha princesa Bibia e meu amigão Totô. Espero que sempre sintam muito orgulho do “papai”.

Ào meu orientador Otacilio pelo esforço para a execução do trabalho, ensinamentos além de ser um grande amigo.

À banca examinadora, que prontamente aceitou o convite.

RESUMO

REINHARDT, Leandro Calcagno. **Confiabilidade da cirurgia guiada sem retalho para instalação de implantes dentários em pacientes edêntulos: uma revisão sistemática.** 2022. 53 f. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2022.

Na tentativa de diminuir o desconforto do paciente submetido à instalação de implantes dentários, tanto na hora do procedimento cirúrgico como no pós operatório, pode-se agregar a execução de implantes dentários pelo sistema de “implantes guiados”. O objetivo do presente estudo foi realizar uma revisão sistemática acerca da confiabilidade da técnica de cirurgia guiada sem retalhos para instalação de implantes dentários em pacientes edentados, considerando dados numéricos como discrepâncias entre planejamento e execução, e também dados empíricos como avaliação de ansiedade e dor. A questão de foco (PICO) foi elaborada de acordo com problema (pacientes edentados), intervenção (cirurgia guiada), comparação (cirurgia convencional com retalho) e desfecho (confiabilidade da técnica através da taxa de sucesso dos trabalhos). Foram encontrados 2.237 artigos no total. Após a remoção de duplicatas, sobraram 1.800 trabalhos. Os primeiros títulos e resumos foram selecionados (54) e finalmente foram obtidos relatórios completos para todos os estudos que foram considerados elegíveis para inclusão neste artigo, totalizando 10. Destes, alguns apresentaram dados quantitativos com medidas exatas, como por exemplo grau de desvio coronal e apical, desvio angular e perda óssea ao redor dos implantes, enquanto outros tiveram como resultados dados subjetivos, como padrão de ansiedade e quantidade de dor. Concluiu-se que a técnica de cirurgia guiada sem retalho para a instalação de implantes dentários é uma alternativa confiável nos casos de pacientes edentados totais. Baseado nos resultados obtidos, segundo a metodologia aplicada neste trabalho, é possível concluir que apesar da possibilidade de desvios lineares e angulares da cirurgia guiada sem retalho para instalação de implantes dentários em paciente edêntulos, essa técnica é confiável, e que o momento da instalação e estabilidade do guia cirúrgico é o fator influenciador desses desvios.

Palavras-chave: Implantes dentários; Maxila Edentada; Cirurgia Guiada.

REINHARDT, Leandro Calcagno. **Reliability of flapless guided surgery in fully edentulous patients: a systematic review**. 2022. 53 f. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2022.

In an attempt to reduce the discomfort of the patient undergoing the installation of dental implants, both at the time of the surgical procedure and in the postoperative period, the execution of dental implants by the system of "guided implants" can be added. The aim of the present study was to perform a systematic review on the reliability of the flapless guided surgery technique for installing dental implants in edentulous patients, considering numerical data such as discrepancies between planning and execution, as well as empirical data such as anxiety and pain assessment. The focus question (PICO) was elaborated according to problem (edentulous patients), intervention (guided surgery), comparison (conventional flap surgery) and outcome (technical reliability through the success rate of the works). A total of 2,237 articles were found. After removing duplicates, 1,800 jobs were left. The first titles and abstracts were selected (54) and finally, complete reports were obtained for all studies that were considered eligible for inclusion in this article, totaling 10. Of these, some presented quantitative data with exact measures, such as degree of coronal deviation and apical, angular deviation and bone loss around the implants, while others had subjective data as results, such as anxiety pattern and amount of pain. It was concluded that the flapless guided surgery technique for the installation of dental implants is a reliable alternative in cases of totally edentulous patients. Based on the results obtained, according to the methodology applied in this work, it is possible to conclude that despite the possibility of linear and angular deviations from flapless guided surgery for the installation of dental implants in edentulous patients, this technique is reliable, and that the moment of installation and surgical guide stability is the factor influencing these deviations.

Keywords: Dental Implantations; Edentulous jaw; Image Guided Surgery.

SUMÁRIO

1. Introdução e Revisão de Literatura	8
2. Objetivo	12
3. Relatório de Trabalho de Campo	13
4. Capítulo 1	14
4.1. Introdução	16
4.2. Materiais e Métodos	18
4.3. Resultados	22
4.4. Discussão	36
4.5. Conclusão	40
5. Considerações Finais	48
Referências	49

1. INTRODUÇÃO

A reabilitação oral com implantes osseointegráveis é uma realidade cada vez mais consolidada (BRANEMARK, 1969; BRANEMARK, 1983). Independente do motivo das perdas dentárias, este tipo de tratamento é o mais indicado por devolver a qualidade funcional de mastigação e consequentemente, melhor estética e estabilidade para os pacientes. Embora o protocolo tradicional de implantes osseointegrados preconize o procedimento em duas fases cirúrgicas e tenha sucesso reconhecido na literatura, cada vez mais tem havido a busca por procedimentos menos invasivos e com resultados mais rápidos, ou seja, a aplicação imediata de carga funcional ou também a carga precoce. Para que seja bem sucedida, a utilização deste tipo de reabilitação deve atingir vários pré-requisitos, como por exemplo, estabilidade primária adequada e boa qualidade óssea. O posicionamento ideal dos implantes é essencial ao sucesso deste tipo de reabilitação. Contudo, durante a cirurgia é difícil para o cirurgião visualizar a localização da prótese conforme planejada pelo protesista (Lal et al, 2006; JUNG et al, 2014; NEVES et al, 2016; CASSETTA & BELLARDINI, 2017; CATTONI et al, 2020).

Com a evolução da Odontologia, do planejamento virtual e técnicas cirúrgicas avançadas, já se consegue por exemplo, realizar procedimentos de implantodontia sem incisões, mesmo em reabilitações mais extensas. Os primeiros implantes eram realizados apenas com base no exame de raio-x, o que dava uma ideia bidimensional, além de se ter precisão da proximidades com estruturas importantes e nobres. Atualmente a tomografia computadorizada de feixe cônico (Cone Beam) é uma realidade e praticamente mandatória como exame de escolha para este tipo de procedimento. A partir do planejamento tridimensional de implantes dentários com o uso de tomografias computadorizadas podem ser confeccionados guias cirúrgicos prototipados que permitem acurada precisão na instalação dos implantes (VERCRUYSEN et al, 2014; SHEN et al, 2015; MARRA et al, 2017; AFRASHTEHFAR, 2021; CHACKARTCHI et al, 2022).

Sendo assim, um fator imprescindível, é o planejamento pré-operatório do posicionamento dos implantes, já que estes são o “meio” onde serão fixadas as próteses futuramente. Por isso, um adequado posicionamento tridimensional é importantíssimo para o sucesso final na reabilitação. Devido a essas tecnologias, é

possível predeterminar a posição tridimensional precisa do implante planejado antes da sua inserção real no leito cirúrgico. Kopp et al descreveram as facilidades do planejamento pré-cirúrgico por meio da conjunção dos dados das imagens da tomografia computadorizada e de um *software* interativo, usando um guia cirúrgico convencional durante a cirurgia. As mensurações são predeterminadas no planejamento virtual e transferidas com precisão para o guia cirúrgico, o que leva a um ótimo posicionamento do implante, com grande estabilidade clínica. Portanto, em casos que se tem necessidade de planejamento e execução mais detalhados, os benefícios deste tipo de planejamento e técnica cirúrgica justificam o investimento em detrimento ao custo (KOPP et al, 2003; LEE et al, 2016; LOPES & MALÓ, 2017; VERMEULEN, 2017)

Na tentativa de diminuir o desconforto do paciente tanto na hora do procedimento cirúrgico como no pós operatório, pode-se agregar a execução de implantes dentários pelo sistema de “implantes guiados”. Os primeiros casos deste tipo de tratamento exigiam que fossem realizadas duas tomografias, da seguinte forma: realização de um guia tomográfico em resina acrílica, com perfeito selado periférico imitando a prótese do paciente e o futuro posicionamento dos dentes; marcas radiopacas realizadas (geralmente com guta percha) no guia tomográfico por meio de perfurações realizadas com brocas de 1mm ou 2 mm, distribuídas em cinco pontos ao longo do guia; em seguida, realizado um registro oclusal com silicone a fim de alinhar o guia durante a aquisição da tomografia; daí então realização de uma tomografia com o guia tomográfico em boca e outra somente do guia tomográfico. Atualmente para pacientes edentulos, o fluxo é fazer tomo do paciente com a prótese nova ou ao menos com os relacionamentos corretos com marcações aleatórias de guta percha na área chapeavel. Depois se faz a tomo só da prótese, para no software fazer a união das imagens gerando um arquivo stl mais fidedigno. O método consiste no planejamento virtual dos implantes realizado diretamente no software, bem como o planejamento e execução do guia cirúrgico, prevendo o exato posicionamento do local dos implantes, paralelismo e angulação (Figura 1). Com este guia, o cirurgião tem o exato posicionamento do local dos implantes. Essas guias orientam o ponto de perfuração na crista óssea, o ângulo e a direção das brocas durante a perfuração (de WIELE et al, 2015; TOPÇU et al, 2017 ALZAREA, 2019; STAFFORD, 2019; VELASCO-ORTEGA et al, 2021).

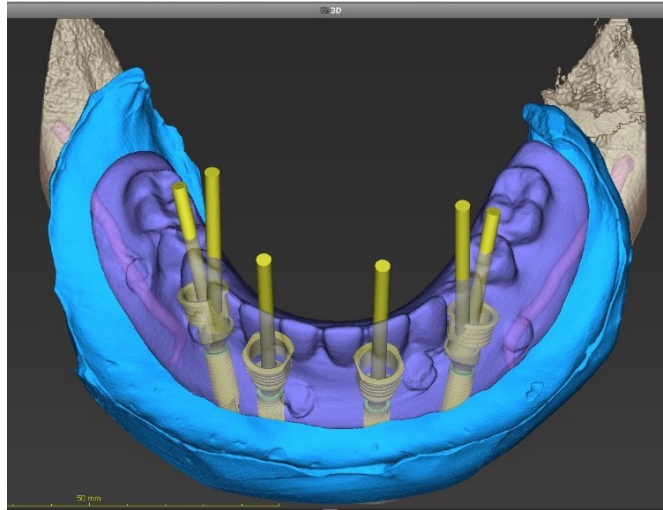


Figura 1: Planejamento virtual da posição dos implantes (Arquivo pessoal)

É sempre importante manter a cautela quando se trata de inovações, pois nem sempre tudo é possível, além disso corre-se o risco de iludir o paciente e na prática não fazer muita diferença. Portanto cada situação é diferente da outra. Devem-se avaliar muitos aspectos clínicos do paciente, bem como saúde geral da pessoa, e é claro possibilidade de investimento de cada um. Em casos específicos, é uma técnica excelente que apresenta como principais vantagens a execução de cirurgia sem retalho (sem cortes); a tranquilidade de ter as angulações dos implantes guiadas durante o procedimento; redução do tempo cirúrgico; redução do edema e do desconforto pós-operatório (POZZI et al, 2016; AL-JOHANY et al, 2017; MAREI et al, 2019; FLUGGE et al, 2022).

No procedimento cirúrgico, deve ser realizado protocolo pré operatório conforme preconizado pelo profissional. O guia cirúrgico deve ser esterilizado e estabilizado na superfície chapeável. Procede-se então a anestesia do paciente, cuidando para evitar excesso na área do guia, o que pode distorcer o posicionamento do mesmo. O guia mucossuportado é estabilizado com 3 ou 4 perfurações transversais e inserção de pinos de estabilização. Pode-se remover a mucosa correspondente à área circunferencial referente à anilha, com bisturi circular ou extrator de mucosa (Figura 2). A instrumentação cirúrgica é realizada de modo progressivo pelos diâmetros das brocas e o diâmetro do implante correspondente ao da última broca. Por isso é importante que o guia cirúrgico seja personalizado em cada caso, respeitando tanto o sistema de implantes a ser utilizado, como o tipo e formatos dos implantes. A conexão do implante é próprio do kit de cirurgia guiada e apresenta

um stop. Após a instalação de todos os implantes, remove-se os parafusos do montador e os pinos estabilizadores.



Figura 2: Guia cirúrgico estabilizado (Arquivo pessoal)

Como mencionado, não é um substituto dos métodos convencionais, e tampouco uma certeza de sucesso do tratamento. Todo profissional bem capacitado tem totais condições de realizar implantes dentários com sucesso, independente da técnica utilizada. Este método é uma maneira inovadora que traz inúmeras vantagens ao paciente, bem como se deve ao aperfeiçoamento e atualização que deve pautar a vida do profissional, buscando sempre o bem estar do seu paciente (GALLARDO et al, 2017; BENCHARIT et al, 2018; YOUNES et al, 2018; LÓPEZ et al, 2019; SCHWINDLING et al, 2021).

2. Objetivo

O objetivo do presente estudo foi realizar uma revisão sistemática acerca da confiabilidade da técnica de cirurgia guiada sem retalhos para instalação de implantes dentários em pacientes edentados totais, a fim de comparar o sucesso desta técnica em comparação com a técnica tradicional com retalho considerando dados numéricos como discrepâncias entre planejamento e execução, e também dados subjetivos como avaliação de ansiedade e dor.

3. Relatório de Trabalho de Campo

O projeto iniciou seu desenvolvimento no mês de abril de 2019 pelo Programa de Pós Graduação em Odontologia, área de concentração Clínica Odontológica, ênfase em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofaciais. O trabalho inicial estava intitulado “Influência do Operador em Cirurgia Guiada de Implantes Dentários” com o objetivo de realizar um estudo do tipo observacional intervencional prospectivo de curta duração, relatando uma série de casos para avaliar a real influência do cirurgião ao executar procedimentos de implantes dentários com a técnica guiada, analisando a precisão de instalação dos implantes com relação ao que foi planejado virtualmente e posteriormente repassado para confecção do guia cirúrgico, considerando o desvio angular entre planejamento e execução, e o torque de inserção dos implantes entre os cirurgiões, além da aferição dos coeficientes de estabilidade de inserção (ISQ) destes, através do OSSTELL®. Este projeto foi aprovado pelo CEP-UFPeL.

As cirurgias seriam realizados no Departamento de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofaciais da Universidade Federal de Pelotas. Serão executadas sob anestesia local, executadas por dois cirurgiões.

No entanto, com a chegada da Pandemia da COVID-19 o departamento de Cirurgia, bem como toda a Faculdade não esteve a disposição para a realização das cirurgias e da pesquisa. Portanto optou-se por realizar o presente trabalho acerca de um revisão sistemática com o mesmo tema. Esta começou em meados de 2021, continuando no presente ano de 2022 seguindo o protocolo de revisões sistemáticas descrito na metodologia do trabalho. Foi realizada pelo aluno de doutorado, com auxílio de um doutor com vasta experiência sobre revisões deste tipo, sob a supervisão do orientador da pesquisa.

Desta forma, o doutorando pôde atuar de maneira interdisciplinar, permitindo uma ampla atuação e participação do mesmo tanto no assunto específico, bem como expandir seu conhecimento e desenvolvimento no âmbito de revisões sistemáticas. Com isso, foi possível alcançar os objetivos propostos, permitindo assim a redação do artigo científico de grande valia para o meio acadêmico e de pesquisa.

4. Capítulo 1

Confiabilidade da cirurgia guiada sem retalho para instalação de implantes dentários em pacientes edêntulos: uma revisão sistemática

Leandro Calcagno Reinhardt ¹, Otacilio Luiz Chagas Junior ², Fernanda Faot ³, Eduardo L Caputo ⁴, Mario Santagata ⁵, Salvatore D'Amato ⁶

^{1, 2, 3} Postgraduate Program in Dentistry, School of Dentistry, Federal University of Pelotas (UFPel)

⁴ Programa de Pós-Graduação em Educação Física

^{5, 6} Universidade Luigi Vanvitelli di Napoli

Autor correspondente

Leandro Calcagno Reinhardt

Enviar toda correspondência a Leandro Calcagno Reinhardt, Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – Rua Gonçalves Chaves, 457, CEP: 96015-000, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil.

leandrodentista@terra.com.br

Artigo formatado segundo as normas do periódico *Clinical Oral Implants Research*

RESUMO

Objetivos: O objetivo do presente estudo foi realizar uma revisão sistemática acerca da confiabilidade da técnica de cirurgia guiada sem retalhos para instalação de implantes dentários em pacientes edentados totais, a fim de comparar o sucesso desta técnica em comparação com a técnica tradicional com retalho considerando dados numéricos como discrepâncias entre planejamento e execução, e também dados subjetivos como avaliação de ansiedade, dor e tempo cirúrgico.

Materiais and Métodos: A revisão incluiu todos os estudos em humanos, sem limite de data de publicação, desde que envolvendo pacientes totalmente edêntulos reabilitados com implantes dentários pela técnica de cirurgia guiada sem retalho com guia cirúrgico com suporte de mucosa. As fontes de informação foram Pubmed, Cochrane, Web of Science, Scopus e Embase. A questão de foco (PICO) foi elaborada de acordo com problema (pacientes edentados), intervenção (cirurgia guiada), comparação (cirurgia convencional com retalho) e desfecho (confiabilidade da técnica através da taxa de sucesso dos trabalhos).

Resultados: Foram obtidos os relatórios completos de todos os estudos considerados elegíveis para inclusão neste artigo, totalizando 10. Destes, alguns apresentaram dados quantitativos com medidas exatas, como grau de desvio coronal e apical, desvio angular e perda óssea ao redor dos implantes, obtendo-se menores desvios entre planejamento e execução nos casos da técnica guiada, enquanto outros tiveram como resultados dados subjetivos, como padrão de ansiedade e quantidade de dor.

Conclusões: Concluiu-se que a técnica de cirurgia guiada sem retalho para instalação de implantes dentários é uma alternativa confiável em casos de pacientes totalmente desdentados. Baseado nos resultados obtidos, segundo a metodologia aplicada neste trabalho, é possível concluir que apesar da possibilidade de desvios lineares e angulares da cirurgia guiada sem retalho para instalação de implantes dentários em paciente edêntulos, essa técnica é confiável, e que o momento da instalação e estabilidade do guia cirúrgico parece ser o fator influenciador desses desvios.

Palavras-chave: Implantes dentários; Maxila Edentada; Cirurgia Guiada.

INTRODUÇÃO

A reabilitação oral com implantes osseointegráveis é uma realidade cada vez mais consolidada (BRANEMARK, 1969; BRANEMARK, 1983). Embora o protocolo tradicional de implantes osseointegrados preconize o procedimento em duas fases cirúrgicas e tenha sucesso reconhecido na literatura, cada vez mais tem havido a busca por procedimentos menos invasivos e com resultados mais rápidos, ou seja, a aplicação imediata de carga funcional ou também a carga precoce. O posicionamento ideal dos implantes é essencial ao sucesso deste tipo de reabilitação. Contudo, durante a cirurgia é difícil para o cirurgião visualizar a localização da prótese conforme planejada pelo protesista (NEVES et al, 2016; CASSETTA & BELLARDINI, 2017; CATTONI et al, 2020).

Com a evolução da Odontologia, do planejamento virtual e técnicas cirúrgicas avançadas, já se consegue por exemplo, realizar procedimentos de implantodontia sem incisões, mesmo em reabilitações mais extensas. A partir do planejamento tridimensional de implantes dentários com o uso de tomografias computadorizadas podem ser confeccionados guias cirúrgicos prototipados que permitem acurada precisão na instalação dos implantes (VERCRUYSEN et al, 2014; MARRA et al, 2017; AFRASHTEHFAR, 2021; CHACKARTCHI et al, 2022).

As mensurações são predeterminadas no planejamento virtual e transferidas com precisão para o guia cirúrgico, o que leva a um ótimo posicionamento do implante, com grande estabilidade clínica. Portanto, em casos que se tem necessidade de planejamento e execução mais detalhados, os benefícios deste tipo de planejamento e técnica cirúrgica justificam o investimento em detrimento ao custo (LOPES & MALÓ, 2017; VERMEULEN, 2017; VELASCO-ORTEGA, 2021)

Na tentativa de diminuir o desconforto do paciente tanto na hora do procedimento cirúrgico como no pós operatório, pode-se agregar a execução de implantes dentários pelo

sistema de “implantes guiados”. O método consiste no planejamento virtual dos implantes realizado diretamente no software, bem como o planejamento e execução do guia cirúrgico, prevendo o exato posicionamento do local dos implantes, paralelismo e angulação. Com este guia, o cirurgião tem o exato posicionamento do local dos implantes. Essas guias orientam o ponto de perfuração na crista óssea, o ângulo e a direção das brocas durante a perfuração (ALZAREA, 2019; STAFFORD, 2019; VELASCO-ORTEGA et al, 2021).

Em casos específicos, é uma técnica excelente que apresenta como principais vantagens a execução de cirurgia sem retalho (sem cortes); a tranquilidade de ter as angulações dos implantes guiadas durante o procedimento; redução do tempo cirúrgico; redução do edema e do desconforto pós-operatório. A sequência de produção do guia cirúrgico mucossuportado depende de uma tomografia realizada com o paciente usando um guia tomográfico ou através da técnica de duplo escaneamento. Na técnica de dupla tomografia, mais utilizada, o primeiro passo é a moldagem da arcada, seguida pela confecção dos modelos, enceramento e produção de um guia tomográfico com resina incolor. O guia precisa estar perfeitamente adaptado e deve ter de cinco a seis marcas de guta-percha, com 1 mm de profundidade, 1,5 mm de diâmetro e de 2 mm a 3 mm de espessura. As flanges e o fundo de sulco do guia tomográfico têm a função de ajudar na estabilização do guia, com três a quatro pinos estabilizadores. Assim, o profissional solicita a realização de duas tomografias, sendo que na primeira o paciente usa o guia tomográfico e um registro interoclusal. Na segunda, a tomografia é apenas do guia tomográfico.

O passo seguinte é a digitalização do modelo. Ao final das capturas, o profissional terá dois arquivos no formato DICOM, referente à dupla tomografia, e um arquivo no formato STL, com a informação do escaneamento do modelo. A partir da sobreposição dos três arquivos, o profissional pode fazer o planejamento virtual, utilizando o *software* adequado, para determinar a posição dos implantes e possibilitar a impressão do guia cirúrgico. (ALJOHANY et al, 2017; MAREI et al, 2019; FLUGGE et al, 2022).

Deve ser realizado protocolo pré operatório conforme preconizado pelo profissional. O guia cirúrgico deve ser esterilizado e estabilizado na superfície chapeável. Procede-se então a anestesia do paciente, cuidando para evitar excesso na área do guia, o que pode distorcer o posicionamento do mesmo. O guia é estabilizado com 3 ou 4 perfurações transversais e inserção de pinos de estabilização. Pode-se remover a mucosa correspondente à área circunferencial referente à anilha, com bisturi circular ou extrator de mucosa. A instrumentação cirúrgica é realizada de modo progressivo pelos diâmetros das brocas e o diâmetro do implante correspondente ao da última broca. A conexão do implante é próprio do kit de cirurgia guiada e apresenta um stop.

Este método é uma maneira inovadora que traz inúmeras vantagens ao paciente, bem como se deve ao aperfeiçoamento e atualização que deve pautar a vida do profissional, buscando sempre o bem estar do seu paciente (GALLARDO et al, 2017; BENCHARIT et al, 2018; YOUNES et al, 2018; LÓPEZ et al, 2019; SCHWINDLING et al, 2021).

O objetivo do presente estudo foi realizar uma revisão sistemática acerca da confiabilidade da técnica de cirurgia guiada sem retalhos para instalação de implantes dentários em pacientes edentados totais, considerando dados numéricos como discrepâncias entre planejamento e execução, e também dados empíricos como avaliação de ansiedade e dor.

MATERIAIS E MÉTODOS

Protocolo e Registro:

Os métodos de análise e os critérios de inclusão foram especificados com antecedência e documentados em um protocolo. A revisão foi registrada no PROSPERO, um registro prospectivo internacional de avaliações sob o número CRD42022323753 (<https://www.crd.york.ac.uk/prospero>).

Foco:

A questão de foco foi elaborada de acordo com problema, intervenção, comparação e resultado (PICO), de acordo com a tabela 1:

P	Pacientes edentados
I	Cirurgia Guiada de implantes dentários
C	Cirurgia com retalho
O	Sucesso da técnica
Foco	Confiabilidade da técnica de cirurgia guiada sem retalho em pacientes edentados totais.

Tabela 1

Tipos de publicações:

A revisão incluiu estudos realizados em humanos publicados em qualquer linguagem.

Tipos de estudos:

A revisão incluiu todos os estudos em humanos, sem limite de data de publicação, desde que envolvessem pacientes edentados totais que tivessem sido reabilitados com implantes dentários pela técnica de cirurgia guiada sem retalhos com a utilização de guia cirúrgico com suporte de mucosa.

Fontes de informação:

As fontes de informação foram Pubmed, Cochrane, Web of Science, Scopus e Embase, com os termos de busca conforme tabela 2 abaixo:

Pubmed	(((((Dental Implantation*[Title/Abstract]) OR (Dental Implant Therap*[Title/Abstract])) OR (Dental Prosthesis Implantation*[Title/Abstract])) OR (Dental Implant*[Title/Abstract])) OR (((((Computer-Assisted Surger*[Title/Abstract]) OR (Computer-Aided Surger*[Title/Abstract])) OR (Image-Guided Surger*[Title/Abstract])) OR (Image Guided Surger*[Title/Abstract])) OR (Surgical Navigation[Title/Abstract])) AND (((Edentulous Jaw*[Title/Abstract]) OR (Edentulous Mouth*[Title/Abstract])) OR (Toothless Mouth[Title/Abstract])) OR (Edentulousness[Title/Abstract]))
Cochrane	(((((Dental Implantation) OR (Dental Implant Therap)) OR (Dental Prosthesis Implantation)) OR (Dental Implant)) OR (((((Computer-Assisted Surger) OR (Computer-Aided Surger)) OR (Image-Guided Surger)) OR (Image Guided Surger)) OR (Surgical Navigation))) AND (((Edentulous Jaw) OR (Edentulous Mouth)) OR (Toothless Mouth)) OR (Edentulousness))
Web of Science	TS = (Edentulous jaw) OR (Edentulous Mouth) OR (Toothless Mouth) OR (Edentulousness) AND TS = (Computer-Assisted Surgeries) OR (Computer-Aided Surgery) OR (Computer-Aided Surgeries) OR (Image-Guided Surgeries) OR (Image Guided Surgery) OR (Surgical Navigation) OR (Dental Implantation) OR (Dental Implant Therapies) OR (Dental Prosthesis Implantation) OR (Dental Implants)
Scopus	(TITLE-ABS ("edentulous jaw") OR TITLE-ABS ("toothless mouth") OR TITLE-ABS ("edentulous mouth") OR TITLE-ABS (edentulousness)) AND ((TITLE-ABS ("Dental Implantation") OR TITLE-ABS ("Dental Implant Therapy") OR TITLE-ABS ("Dental Prosthesis Implantation") OR TITLE-ABS ("Dental Implant") OR TITLE-ABS ("Computer-Assisted Surgery") OR TITLE-ABS ("Computer-Aided Surgery") OR TITLE-ABS ("Image-Guided Surgery") OR TITLE-ABS ("Image Guided Surgery") OR TITLE-ABS ("Surgical Navigation")))
Embase	#1 'edentulous jaw':ab,ti OR 'edentulous mouth':ab,ti OR 'toothless mouth':ab,ti OR edentulousness:ab,ti #2 'dental implantation':ab,ti OR 'dental implant therapy':ab,ti OR 'dental prosthesis implantation':ab,ti OR 'dental implant':ab,ti OR 'computer-assisted surgery':ab,ti OR 'computer-aided surgery':ab,ti OR 'image-guided surgery':ab,ti OR 'image guided surgery':ab,ti OR 'surgical navigation':ab,ti #1 AND #2

Tabela 2

Critérios de inclusão e exclusão:

Os critérios de inclusão para a seleção foram:

- Estudos em humanos analisando a precisão de cirurgias para colocação de implante dentário em mandíbula edêntula usando guia cirúrgico com suporte totalmente de mucosa.

- A precisão da colocação do implante cirúrgico foi avaliada quantitativamente de acordo com o desvio global que é definida como a distância tridimensional entre os centros coronal e apical do planejado e implantes colocados.

- Dados subjetivos foram avaliados através de escalas de avaliação próprias.

Os critérios de exclusão para a seleção foram:

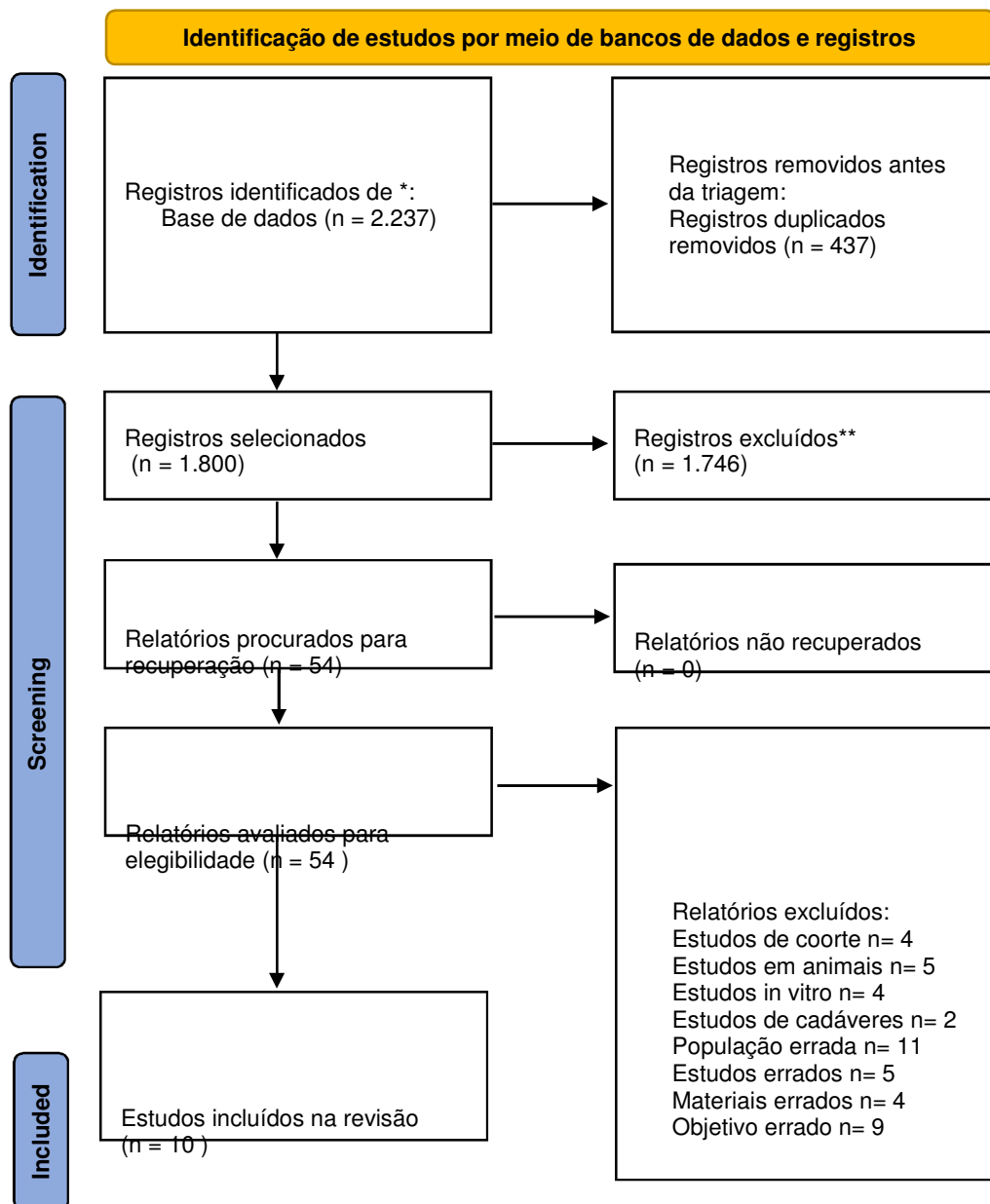
- Estudos in vitro
- Estudos de coorte
- Estudos em animais
- Estudos em cadaver
- População errada (pacientes parcialmente dentados)
- Estudos do tipo resumos ou guias
- Tipo de materiais inadequados
- Foco da pesquisa errado (avaliar prótese)
- Estudos que não utilizaram implantes sob a técnica Flapless

Avaliação do risco de viés:

A escala Downs & Black para estudos randomizados e não randomizados foi usada para avaliar a qualidade metodológica dos estudos (Downs and Black, 1998).

RESULTADOS

Foram encontrados 2.237 artigos no total. Após a remoção de duplicatas, sobraram 1.800 trabalhos. Os artigos resultantes foram submetidos a um piloto de seleção através do título e resumo com dois revisores independentes. Para realização deste piloto foram selecionados 50 artigos aleatoriamente no Rayyan e após análise de título e resumo, alguns artigos foram selecionados. As discrepâncias entre os dois revisores foram esclarecidas e os mesmos considerados calibrados a fim de esclarecer os critérios de inclusão. Os primeiros títulos e resumos foram selecionados (54) e finalmente foram obtidos relatórios completos para todos os estudos que foram considerados elegíveis para inclusão neste artigo, totalizando 10, conforme o Fluxograma do Prisma (Moher et al, 2010).



Fluxograma do PRISMA

Dos 10 artigos utilizados inteiros utilizados nesta revisão sistemática, alguns apresentaram dados quantitativos com medidas exatas, como por exemplo grau de desvio coronal e apical, desvio angular e perda óssea ao redor dos implantes, enquanto outros tiveram como resultados dados subjetivos, como padrão de ansiedade. Com exceção de 2 trabalhos (Lindeboom et al, 2010; Sarhan et al, 2021), todos os outros utilizaram guia estereolitográfica nos grupos de cirurgia guiada (Tabela 4).

Dos padrões de medidas quantitativos, os mais utilizados foram “desvio da porção coronal” dos implantes; “desvio da porção apical” dos implantes (ambos medidos em mm); e “desvio angular” dos implantes. A fim de avaliar a precisão da colocação do implante usando cirurgia estereolitográfica com guia de suporte de mucosa, como parâmetro, o desvio global é definido como a distância tridimensional entre a coroa e centros apicais dos implantes planejados e colocados. O desvio angular é calculado como o ângulo tridimensional entre os eixos longitudinais de ambos (Figura 3).

Estas 3 medidas citadas se referem à imprecisão entre planejamento dos implantes e execução dos mesmos e foram observadas em 3 (três) artigos: Vercruyssen et al (a), 2014; Schnutenhaus et al, 2018 e Sarhan et al, 2021. Não foi possível realizar meta-análises devido à heterogeneidade entre os estudos (estudos diferentes, desenhos, grupos de controle e períodos de observação).

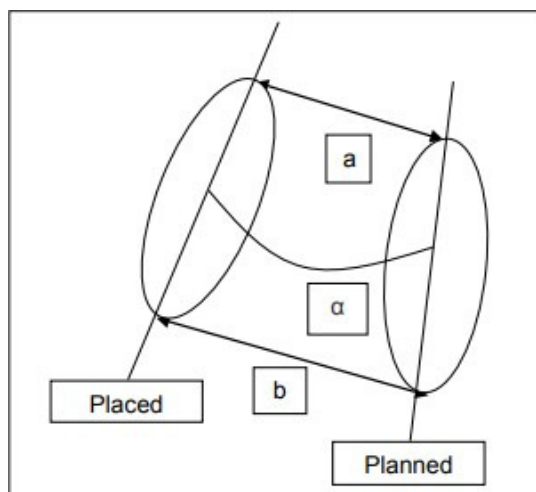


Figura 3: a: desvio apical; b: desvio coronal; c: desvio angular (Van de Wiele et, 2015)

Para melhores condições de comparação dos resultados, foi tratado como 2 tipos de intervenções: Cirurgia Guiada Flapless aquela realizada totalmente e Não Guiada ou Flap qualquer tipo de intervenção para instalação de implantes que não tenha totalmente sem

retalhos (tradicional ou parcialmente guiada como por exemplo as que utilizam guia cirúrgico em tecido ósseo após o rebatimento do retalho)

Vercruyssen (a) et al (2014) realizaram um trabalho para comparar cirurgia guiada com cirurgia não guiada em 59 pacientes. Os resultados mostraram desvio coronal de 1.4 mm; desvio apical de 1.6 mm e desvio angular 3.0° entre planejamento e execução nos casos de cirurgia guiada, enquanto desvio coronal de 2.8 mm; desvio apical de 3.1 mm de desvio angular 9.1° nos pacientes de cirurgia não guiada.

Schnutenhaus et al (2018) instalaram 122 implantes em 56 pacientes, encontrando nos procedimentos Flap desvio coronal de 1.22 mm; desvio apical de 1.9 mm e desvio angular de 4.7°. Já nos casos Flapless: desvio coronal de 1.1 mm; desvio apical de 1.8 mm e desvio angular de 5.0°.

Já Sarhan et al (2021) realizaram 48 implantes em 12 pacientes. Nos pacientes que submeteram-se a cirurgia guiada teve-se como resultado desvio coronal de 1.46 mm; desvio apical de 2.18 mm e desvio angular 11.07°. Neste artigo também foi avaliado o desvio de profundidade (vertical) que foi de 1.35mm. No grupo de pacientes submetidos a cirurgia não guiada os resultados foram de desvio coronal de 4.16 mm; desvio apical de 6.04 mm, desvio angular 17.08° e desvio de profundidade de 2.39mm. Os autores relataram que houve diferença estatística no desvio da porção apical, em favor da cirurgia Flapless.

Outros 4 (quatro) artigos avaliaram outros métodos quantitativos, também aproveitados nesta revisão, também sem condições de metanálise por serem apresentados de forma mais aleatória, sem condições de comparação entre as pesquisas.

Em 2014, Vercruyssen (c) et al realizaram uma pesquisa com 60 pacientes, realizando implantes de forma guiada e não guiada. Os resultados mostraram que no grupo de cirurgia guiada, os desvios foram: desvio vertical de 0.9 mm; desvio horizontal de 0.9 mm; desvio méso-distal (MD) de 0.6 mm desvio vestibulo-lingual (BL) de 0.5 mm, enquanto no grupo de

cirurgia tradicional com retalho observou-se desvio vertical de 1.7 mm; desvio horizontal de 2.1 mm; desvio MD de 1.8 mm (este significativamente maior) e desvio BL de 0.7 mm.

Bernard et al (2019) avaliaram a taxa de perda óssea de 302 implantes após 3 anos de instalação dos mesmos. Foram 24 pacientes no grupo controle e 45 no grupo de cirurgia guiada. A taxa foi de 0.65mm de perda no grupo Flapless, e de 0.45mm no grupo controle. Ou seja, uma pequena perda maior no grupo submetido à cirurgia guiada, mas sem diferença estatística.

Cattoni et al (2021) também avaliaram a perda óssea marginal em 50 pacientes, tendo como resultado 1.12mm de perda no grupo de cirurgia tradicional e 0.83mm no grupo de cirurgia guiada após 4 anos de observação. Houve diferença estatística em favor do grupo de cirurgia guiada. Além disso, neste grupo a taxa de sucesso dos implantes foi de 100%, enquanto no outro foi de 98%.

Elkomy et al (2021) avaliaram as duas técnicas: totalmente guiada e parcialmente guiada. O objetivo foi avaliar a taxa de perda óssea após 6 meses de implantes cilíndricos obtendo-se 3.79 mm(guiado); 3.72 mm (tradicional), sem diferença estatística tanto entre os grupos.

Outros 3 (três) trabalhos usados nesta revisão avaliaram dados subjetivos. O tempo cirúrgico (dado quantitativo) também foi avaliado nestes trabalhos:

Arisan et al (2010) pesquisou 3 grupos: A (cirurgia tradicional – 21 pacientes); B (com guia ósseo – 16 pacientes); e C (Flapless – 15 pacientes). Os índices avaliados foram duração da cirurgia, o qual foi de média 68.71 min no grupo A; 60.94 min grupo B e 23.53 no grupo C, este sendo estatisticamente significante menor; número de analgésicos consumidos; hemorragia; dificuldade de abrir a boca e escala de dor, sendo estes outros parâmetros sem diferença significativa entre os grupos.

Lindeboom e Wijk (2010) pesquisaram 8 pacientes submetidos à técnica tradicional e 8 Flapless. Avaliaram dados de dor, ansiedade, duração do procedimento e dificuldade de execução da técnica. Através de escala própria para cada parâmetro obteve-se como resultado para técnica tradicional índices de 22.5 para dor; 24.38 para ansiedade; 57.5 min para duração da cirurgia e 41.25 para dificuldade de técnica, enquanto no grupo Flapless foi respectivamente 36.88; 26.88; 59.38 min e 43.13. Não houve diferença estatística em nenhum dos índices, embora o grupo Flapless tenha pontuado mais.

Já Vercruyssen (b) et al (2014) aplicaram questionário de dor e de qualidade de vida, avaliou a quantidade de analgésicos, tempo cirúrgico e avaliou escala analógica visual (também de dor) para 59 pacientes, nos quais foram instalados 314 implantes. Estes foram divididos em 6 grupos. Os únicos índices com diferença estatística foram de tempo cirúrgico e o questionário de qualidade de vida, ambos em prol dos grupos de cirurgia guiada sem retalho.

Tabela 4:

Autor/Ano	n	Técnicas Utilizadas	Objetivos	Principais Resultados	Tipo de Guia
Arisan, 2010	52	Técnica tradicional (grupo A); Guia ósseo (grupo B) e Flapless (grupo C)	Avaliar tempo cirúrgico e dados subjetivos	Diferença estatística no tempo cirúrgico favor da técnica Flapless Grupo A: 68.71 min Grupo B: 60.94 min Grupo C: 23.53 min	Estereolitográfico
Lindeboom 2010	16	Técnica Flapless e Técnica tradicional com retalho	Comparar os 2 grupos com escalas de mensuração	Não houve diferença estatística em nenhum dos índices, embora o grupo Flapless tenha pontuado mais.	Nobel Guide Template

				Dor FL=36.88 F=22.5 Ansiedade FL=26.88 F=24.38 Duração do procedimento FL=59.38 F=57.5	
Vercruyssen 2014 (a)	59	Técnica Flapless e Técnica tradicional com retalho	Comparar desvios de medidas	Houve diferença estatística nos desvios apical e angular em favor da técnica Flapless. FL DC=1.4 mm DA=1.6 mm D°=3.0° F DC=2.8 mm DA=3.1 mm D°=9.1°	Estereolitográfico
Vercruyssen 2014 (b)	60	Técnica Flapless e Técnica tradicional com retalho	Comparar os 2 grupos com escalas de mensuração	Diferença estatística no tempo cirúrgico e no questionário de qualidade de vida, ambos em prol dos grupos de cirurgia guiada sem retalho. Qualidade de vida FL=26.6	Estereolitográfico

				F=43.4 Tempo FL=71.5min F=100min	
Vercruyssen 2014 (c)	60	Técnica Flapless e Técnica tradicional com retalho	Comparar desvios de medidas	Diferença estatística no desvio méso-distal em favor da Cirurgia Flapless FL DV=0.9 mm DH=0.9 mm DMD=0.6 mm DBL=0.5 mm F DV=1.7 mm DH=2.1 mm DMD=1.8 mm	Estereolitográfico
Schnutenhauss 2018	56	Técnica Flapless e Técnica tradicional com retalho	Comparar desvios de medidas	Sem diferença estatística entre os grupos F DC=1.22mm DA=1.9mm D°=4.7° FL DC=1.1mm DA=1.8mm D°=5.0°	Estereolitográfico
Bernard 2019	24	Técnica Flapless e Técnica tradicional com retalho	Comparar taxa de sucesso dos implantes após 3 anos	Pequena perda maior no grupo submetido à cirurgia guiada, mas sem diferença estatística	Estereolitográfico

				F PO=0.45mm FL PO=0.65mm	
Cattoni 2021	50	Técnica Flapless e Técnica tradicional com retalho	Avaliar perda óssea marginal após 4 anos	Houve diferença estatística em favor do grupo de cirurgia guiada F PO=1.12mm FL PO=0.83mm	Estereolitográfico
Elkomy 2021	12	Totalmente guiada e parcialmente guiada	Avaliar perda óssea marginal após 6 meses	Não houve diferença estatística entre os grupos F PO=3.79mm (imp cilíndrico) PO=3.08mm (imp C-shape) FL PO=3.72mm (imp cilíndrico) PO=3.31mm (imp C-shape)	Estereolitográfico
Sarhan 2021	12	Técnica Flapless e Técnica tradicional com retalho	Comparar desvios de medidas	Houve diferença estatística no desvio da porção apical, em favor da cirurgia Flapless. F DC=4.16mm	Não informado

				DA=6.04mm D°=17.08° DV=2.39 FL DC=1.46mm DA=2.18mm D°=11.07° DV=1.35mm	

Legenda: Flapless (FL); Flap (F); Desvio Coronal (DC); Desvio Apical (DA); Desvio Angular (D°); Desvio Horizontal (DH); Desvio Vertical (DV); Desvio Mesio-Distal (DMD); Desvio Buco-Lingual (DBL); Perda Óssea (PO)

A escala Downs & Black para estudos randomizados e não randomizados que foi usada para avaliar a qualidade metodológica dos estudos (Downs e Black, 1998), foi adaptada na última questão sobre tamanho da amostra e cálculo do poder em uma questão de sim ou não. Além disso, a questão sobre estudos de coorte não foi levada em consideração. Então, a pontuação máxima possível na escala foi 26 (Track et al, 2016). Os estudos que atingiram pontuações acima de 50% foram considerados com qualidade metodológica moderada e acima de 75% alta (Feter et al, 2019; Fukuoka et al, 2010; Willems et al, 2015). (Tabela 3)

Tabela 3

QUESTÃO	Arisan 2010	Bernard 2019	Cattoni 2021	Elkomy 2021	Lindeboom 2010
1 - As hipóteses e/ou objetivos do estudo estão claramente descritos?	1	1	1	1	1
2 - Os principais desfechos a serem medidos estão claramente descritos na introdução ou metodologia?	1	1	1	1	1
3 - As características dos entrevistados estão claramente descritas?	1	1	0	0	0
4 - As exposições de interesse estão claramente descritas?	1	1	1	1	1
5 - As distribuições dos principais fatores de confusão estão claramente descritas?	1	0	0	0	0
6 - Os principais desfechos do estudo estão claramente descritos?	1	1	1	1	1
7 - O estudo fornece dados sobre as estimativas de variabilidade aleatória dos principais achados?	1	1	1	1	1
8 - Todos os eventos adversos que poderiam ser consequência da intervenção estão citados?	0	0	0	0	0
9 - As características dos sujeitos perdidos durante o acompanhamento estão citadas?	0	1	0	0	0
10 - A probabilidade real está citada (p.e.0,035 ao invés de <0,05) para os principais desfechos, exceto quando a probabilidade é <0,01?	1	1	0	1	1
11 - Os sujeitos selecionados para o estudo são representativos da população de onde foram recrutados?	1	1	1	1	1
12 - Os sujeitos incluídos para o estudo são representativos da população de onde foram recrutados?	1	1	1	1	1
13- A equipe, o local e os cuidados onde os pacientes recebiam o tratamento eram representativos do tratamento que a maioria dos pacientes recebia?	0	0	0	0	0

14 - Houve uma tentativa de cegamento dos sujeitos para as exposições?	0	0	0	0	0
15 - Houve uma tentativa de cegamento dos examinadores dos principais desfechos para a exposição?	0	0	0	0	0
16 - As análises dos principais resultados foram estabelecidas a priori? Ou teve alguma análise de subgrupo?	1	1	1	1	1
17 - A análise foi ajustada para diferentes durações de follow-up em estudos de coorte?					
18 - Testes estatísticos utilizados para medir os principais desfechos foram adequados?	1	1	1	1	1
19 - As exposições foram realísticas (confiáveis), ou seja, sem erro de classificação?	1	1	1	1	1
20 - As medidas utilizadas para os principais desfechos foram acuradas?	1	1	1	1	1
21 - Os sujeitos dos diferentes grupos de comparação foram recrutados da mesma população?	1	1	1	1	1
22 - Os sujeitos dos diferentes grupos de comparação foram recrutados no mesmo tempo?	1	1	1	1	1
23 - Os sujeitos foram randomizados para a intervenção (exposição)?	1	1	0	1	1
24 - A randomização foi completa e irrevogável?	1	1	0	1	1
25 - A análise foi ajustada para os principais fatores de confusão?	0	0	0	0	0
26 - Os pacientes perdidos durante o acompanhamento foram levados em conta?	0	0	0	0	0
27 - O poder estatístico do estudo era suficiente para detectar um efeito importante, com nível de significância de 5%?	1	1	1	1	1
Total	19	19	14	17	17

QUESTÃO	Sarhan 2021	Schnutenhaus 2018	Vercruyssen 2014a	Vercruyssen 2014b	Vercruyssen 2014c
1 - As hipóteses e/ou objetivos do estudo estão claramente descritos?	1	1	1	1	1
2 - Os principais desfechos a serem medidos estão claramente descritos na introdução ou metodologia?	1	1	1	1	1
3 - As características dos entrevistados estão claramente descritas?	0	1	1	0	1
4 - As exposições de interesse estão claramente descritas?	1	1	1	1	1
5 - As distribuições dos principais fatores de confusão estão claramente descritas?	0	0	0	0	0
6 - Os principais desfechos do estudo estão claramente descritos?	1	1	1	1	1
7 - O estudo fornece dados sobre as estimativas de variabilidade aleatória dos principais achados?	1	1	1	1	1
8 - Todos os eventos adversos que poderiam ser consequência da intervenção estão citados?	0	0	0	0	0
9 - As características dos sujeitos perdidos durante o acompanhamento estão citadas?	0	0	0	0	0
10 - A probabilidade real está citada (p.e. 0,035 ao invés de <0,05) para os principais desfechos, exceto quando a probabilidade é <0,01?	1	1	1	0	1
11 - Os sujeitos selecionados para o estudo são representativos da população de onde foram recrutados?	1	1	1	1	1
12 - Os sujeitos incluídos para o estudo são representativos da população de onde foram recrutados?	1	1	1	1	1
13 - A equipe, o local e os cuidados onde os pacientes recebiam o tratamento eram representativos do tratamento que a maioria dos pacientes recebia?	0	0	0	0	0
14 - Houve uma tentativa de cegamento dos sujeitos para as exposições?	0	0	0	0	0

15 - Houve uma tentativa de cegamento dos examinadores dos principais desfechos para a exposição?	0	0	0	0	0
16 - As análises dos principais resultados foram estabelecidas a priori? Ou teve alguma análise de subgrupo?	1	1	1	1	1
17 - A análise foi ajustada para diferentes durações de follow-up em estudos de coorte?					
18 - Testes estatísticos utilizados para medir os principais desfechos foram adequados?	1	1	1	1	1
19 - As exposições foram realísticas (confiáveis), ou seja, sem erro de classificação?	1	1	1	1	1
20 - As medidas utilizadas para os principais desfechos foram acuradas?	1	1	1	1	1
21 - Os sujeitos dos diferentes grupos de comparação foram recrutados da mesma população?	1	1	1	1	1
22 - Os sujeitos dos diferentes grupos de comparação foram recrutados no mesmo tempo?	1	1	1	1	1
23 - Os sujeitos foram randomizados para a intervenção (exposição)?	1	0	1	1	1
24 - A randomização foi completa e irrevogável?	1	0	1	1	1
25 - A análise foi ajustada para os principais fatores de confusão?	0	0	0	0	0
26 - Os pacientes perdidos durante o acompanhamento foram levados em conta?	0	0	0	0	0
27 - O poder estatístico do estudo era suficiente para detectar um efeito importante, com nível de significância de 5%?	1	1	1	1	1
Total	17	16	18	16	18

Não foi possível realizar meta-análises devido à heterogeneidade entre os estudos (estudos diferentes, desenhos, grupos de controle e períodos de observação).

DISCUSSÃO

Nesta revisão sistemática, a precisão do guia cirúrgico com suporte de mucosa foi avaliado. A intenção com este trabalho foi trazer dados reais para que cada vez mais os implantodontistas possam adquirir segurança para realização desta técnica sem retalho, a fim de otimizar o tempo cirúrgico e a precisão de instalação dos implantes, proporcionando mais conforto aos pacientes. Como limitação desta revisão, apresenta-se o fato de não ser todos os estudos clínicos randomizados.

É muito importante pesquisar e aprender muito sobre este assunto, pois se trata de uma técnica que gera muitos conflitos de interesse entre indústria querendo vender a técnica, vender os produtos, também de instituições tentando imbuir a ideia que qualquer profissional pode realizar um curso de curta duração e sair desenvolvendo o procedimento com segurança e precisão.

Dos artigos utilizados na revisão final deste trabalho, alguns apresentaram dados objetivos de avaliação de precisão, como desvio de posicionamento com medidas exatas (desvio coronal, desvio apical, desvio angular, taxa de perda óssea ao redor dos implantes, desvio de profundidade etc) (Vercruyssen (a) et al, 2014; Vercruyssen (c) et al, 2014; Schnutenhauss et al, 2018; Bernard et al, 2019; Cattoni et al, 2021; Elkomy et al, 2021; Sarhan et al, 2021). Outros artigos tiveram como resultados dados subjetivos, como padrão de ansiedade e quantidade de dor, além da avaliação do tempo cirúrgico que é um dado objetivo (Arisan et al, 2010; Lindeboom, 2010; Vercruyssen (b) et al, 2014).

Dos padrões de medidas quantitativos, os mais utilizados foram “desvio da porção coronal” dos implantes; “desvio da porção apical” dos implantes (ambos medidos em mm); e “desvio angular” dos implantes. Estas 3 medidas foram mensuradas nos artigos de Vercruyssen (a) et al, 2014; Schnutenhaus et al, 2018 e Sarhan et al, 2021. Também foram

encontradas em outros trabalhos não incluídos nesta revisão (Albiero et al, 2019; Kivovics et al, 2020).

TIREI OS NÚMEROS DA DISCUSSÃO

Vercruyssen (a) et al (2014) tiveram com resultados uma diferença estatística nos desvios apical e angular em favor da cirurgia “Flapless”, enquanto Schnutenhaus et al (2018) instalaram 122 implantes em 56 pacientes, encontrando nos procedimentos menores desvios na técnica Flapless, sem diferença estatística: desvio coronal de 1.1 mm; desvio apical de 1.8 mm e desvio angular de 5.0°. Por sua vez, Albiero et al (2019) distribuíram 20 pacientes em 2 grupos: totalmente edentados e parcialmente edentados. Ambos os grupos tiveram implantes instalados com a técnica de cirurgia sem retalho e o grupo A (de interesse nesta pesquisa) teve pequenos desvios coronal, apical e angular.

Kivovics et al (2020) compararam a técnica de cirurgia guiada entre cirurgiões experientes e novatos, tendo como resultados que não houve diferença entre os dois grupos de cirurgiões, portanto é muito importante o engajamento entre planejamento e execução. Enquanto isso Sarhan et al (2021) realizaram 48 implantes em 12 pacientes, obtendo diferença estatística a favor da técnica sem retalho no desvio da porção apical, mostrando que quando a técnica é utilizada da maneira correta, com o guia bem instalado, executada por cirurgião treinado pode ser muito vantajosa, apresentando menor risco de distorção entre o planejamento e a execução dos implantes. Além disso, o maior desvio ser na porção apical pode ser explicado pelo fato do operador ter melhor visualização na porção coronal, enquanto a porção apical acaba ficando sem visualização direta (Ku et al, 2022). Também pode-se supor que quando são utilizados guias cirúrgicos, os implantes tendem ser colocados mais

superficialmente do que o planejado e eles aproximam-se da posição planejada quando inserido mais profundamente (D'haese et al, 2022).

Marra et al (2013) avaliaram a perda óssea marginal ao redor dos implantes, com a média de 1.9mm de perda óssea após 3 anos dos implantes instalados, enquanto Bernard et al (2019) avaliou a taxa de perda óssea de 302 implantes após 3 anos de instalação dos mesmos, com valores de perda óssea inferiores. Em alguns casos a falha na irrigação no momento de execução da técnica sem retalho (pela barreira formada pelo próprio guia) pode ser responsável pela necrose óssea superficial e posteriormente perda óssea marginal ao redor dos implantes, podendo acabar em desvantagem. Cattoni et al (2021) também avaliaram a perda óssea marginal, com diferença estatística em favor da cirurgia guiada. Por sua vez, Elkomy et al (2021) avaliaram 2 tipos de implantes com 2 técnicas: totalmente guiada e parcialmente guiada. O objetivo também foi avaliar a taxa de perda óssea após 6 meses de implantes cilíndricos, obtendo-se maior perda na técnica sem retalho.

No trabalho de Sun et al (2013) tiveram como resultado em seu trabalho uma diferença estatística de menores desvios vertical e angular em favor das maxilas quando comparadas a mandíbulas, utilizando a técnica “Flapless”. Já em 2014, Vercruyssen (c) et al realizaram uma pesquisa com 60 pacientes, realizando implantes de forma guiada e não guiada. Os resultados mostraram que no grupo de cirurgia guiada, o desvio mesio-distal foi significativamente inferior. Com o objetivo de diminuir cada vez mais estes desvios, já se estuda a utilização de robôs (cirurgia assistida) para execução das cirurgias. Com isso, o planejamento e execução ficam mais fiéis (Feng et al, 2022; Rawal, 2022).

Arisan et al (2010) pesquisou 3 grupos: A (cirurgia tradicional – 21 pacientes); B (com guia ósseo – 16 pacientes); e C (Flapless – 15 pacientes), avaliou o tempo de cirurgia, o qual foi menor estatisticamente no grupo C, enquanto Lindeboom e Wijk (2010) pesquisaram 8 pacientes submetidos à técnica tradicional e 8 Flapless com tempo cirúrgico médio

respectivamente de 57.5 minutos e 59.38 minutos. Já Vercruyssen et al (2014) obteve diferença estatística no tempo cirúrgico em prol dos grupos de cirurgia guiada sem retalho. O tempo cirúrgico menor justifica-se pela dispensa de incisão, descolamento, sutura. Além disso, por se tratar de um procedimento mais confortável, na maioria das vezes não há necessidade de anestesiá-lo novamente o paciente.

Outros dados avaliados em trabalhos foram padrão de ansiedade, quantidade de analgésicos consumidos, escala de dor, entre outros. Arisan et al (2010) não achou diferença estatística no número de analgésicos consumidos; hemorragia; dificuldade de abrir a boca e escala de dor, sendo estes outros, bem como Lindeboom e Wijk (2010) que avaliaram dados de dor, ansiedade, e dificuldade de execução da técnica. Através de escala própria para cada parâmetro não houve diferença estatística em nenhum dos índices, embora o grupo Flapless tenha pontuado mais. Muitas vezes a própria condição de estar se submetendo a algo novo, já gera uma certa ansiedade nos pacientes. No entanto, Vercruyssen et al (2014) observou diferença estatística na aplicação do questionário de qualidade de vida, a favor dos grupos de cirurgia guiada sem retalho, o que é justificado pela melhor recuperação no pós operatório, com menos edema e dor.

Com exceção de 2 trabalhos (Lindeboom et al, 2010; Sarhan et al, 2021), todos os outros utilizaram guia estereolitográfico nos grupos de cirurgia guiada, ou seja, o tipo de guia e até mesmo a maneira de esterilização do mesmo também podem influenciar na precisão e qualidade do procedimento cirúrgico.

A perspectiva é que mais trabalhos sejam realizados para avaliar e otimizar a execução desta técnica, sempre acompanhando a evolução tecnológica seja através da utilização de robótica ou com a inovação e conhecimento dos próprios cirurgiões.

CONCLUSÕES

A técnica de cirurgia guiada sem retalho para a instalação de implantes dentários é uma alternativa confiável nos casos de pacientes edentados totais. Baseado nos resultados obtidos, segundo a metodologia aplicada neste trabalho, é possível concluir que apesar da possibilidade de desvios lineares e angulares da cirurgia guiada sem retalho para instalação de implantes dentários em paciente edêntulos, essa técnica parece ser confiável, e que o momento da instalação e estabilidade do guia cirúrgico parece ser o fator influenciador desses desvios.

Conflitos éticos: Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil. Para este tipo de estudo não é necessário consentimento formal.

Divulgação financeira: Os autores não têm relações financeiras relevantes para divulgar este artigo.

Conflito de interesse: Os autores não têm conflitos de interesse a serem divulgados.

REFERÊNCIAS

- Afrashtehfar KI. Conventional free-hand, dynamic navigation and static guided implant surgery produce similar short-term patient-reported outcome measures and experiences. *Evid Based Dent*. 2021 Dec;22(4):143-145. doi: 10.1038/s41432-021-0216-9.
- Albiero, A. M., Quartuccio, L., Benato, A., & Benato, R. Accuracy of computer-guided flapless implant surgery in fully edentulous arches and in edentulous arches with fresh extraction sockets. *Implant Dentistry*, (2019); 28(3), 256-264.
- AlZarea, Bader K. "Randomized controlled clinical investigation on the association between personality profiles and the impacts of two types of maxillary anterior implant-supported crown restorations on daily living and dental satisfaction." *Clinical Implant Dentistry and Related Research* 21.4 (2019): 602-612.
- Al-Johany, S. S., Al Amri, M. D., Alsaeed, S., & Alalola, B. (2017). Dental implant length and diameter: a proposed classification scheme. *Journal of Prosthodontics*, 26(3), 252-260.
- Arısan, Volkan, Cüneyt Z. Karabuda, and Tayfun Özdemir. "Implant surgery using bone-and mucosa-supported stereolithographic guides in totally edentulous jaws: surgical and post-operative outcomes of computer-aided vs. standard techniques." *Clinical oral implants research* 21.9 (2010): 980-988.
- Bencharit S, Staffen A, Yeung M, Whitley D 3rd, Laskin DM, Deeb GR. In vivo tooth-supported implant surgical guides fabricated with desktop stereolithographic printers: Fully guided surgery is more accurate than partially guided surgery. *J Oral Maxillofac Surg* 2018;76:1431–1439.
- Bernard, Lauren, et al. "A randomized controlled clinical trial comparing guided with nonguided implant placement: A 3-year follow-up of implant-centered outcomes." *The Journal of Prosthetic Dentistry* 121.6 (2019): 904-910.

Brånemark, P.I. et al. Intra-osseous anchorage of dental prostheses I. Experimental studies. Scand J Plast Reconstr Surg 1969;3:81-100.

Brånemark PI. Osseointegration and its experimental background. J Prosthet Dent. 1983 Sep;50(3):399-410.

Cassetta M, Bellardini M. How much does experience in guided implant surgery play a role in accuracy? A randomized controlled pilot study. Int J Oral Maxillofac Surg 2017;46:922–930.

Cattoni, F.; Tetè, G.; Uccioli, R.; Manazza, F.; Gastaldi, G.; Perani, D. An fMRI Study on Self-Perception of Patients after Aesthetic Implant-Prosthetic Rehabilitation. Int. J. Environ. Res. Public Health 2020, 17, 588.

Cattoni, Francesca. "Digital Smile Designed Computer-Aided Surgery versus Traditional Workflow in “All on Four” Rehabilitations: A Randomized Clinical Trial with 4-Years Follow-Up." *International Journal of Environmental Research and Public Health* 18.7 (2021): 3449.

Chackartchi T, Romanos GE, Parkanyi L, Schwarz F, Sculean A. Reducing errors in guided implant surgery to optimize treatment outcomes. Periodontol 2000. 2022 Feb;88(1):64-72.

Downs SH, Black N. The feasibility of creating a checklist for the assessment of the methodological quality both of randomised and non-randomised studies of health care interventions. Journal of Epidemiology & Community Health. 1998;52(6):377–84.

D'haese R, Vrombaut T, Hommeez G, De Bruyn H, Vandeweghe S. Accuracy of Guided Implant Surgery Using an Intraoral Scanner and Desktop 3D-Printed Tooth-Supported Guides. Int J Oral Maxillofac Implants. 2022 May-Jun;37(3):479-484.

Elkomy, Mostafa M., Mohamed M. Khamis, and Ahlam M. El-Sharkawy. "Clinical and radiographic evaluation of implants placed with fully guided versus partially guided tissue-supported surgical guides: A split-mouth clinical study." *The Journal of Prosthetic Dentistry* 126.1 (2021): 58-66.

Feng Y, Fan J, Tao B, Wang S, Mo J, Wu Y, Liang Q, Chen X. An image-guided hybrid robot system for dental implant surgery. *Int J Comput Assist Radiol Surg*. 2022 Jan;17(1):15-26.

Feter N, dos Santos TS, Caputo EL, da Silva MC. What is the role of smartphones on physical activity promotion? A systematic review and meta-analysis. *International Journal of Public Health*. 2019;7(2012).

Flügge T, Kramer J, Nelson K, Nahles S, Kernen F. Digital implantology-a review of virtual planning software for guided implant surgery. Part II: Prosthetic set-up and virtual implant planning. *BMC Oral Health*. 2022 Jan 30;22(1):23

Fukuoka Y, Vittinghoff E, Jong SS, Haskell W. Innovation to motivation--pilot study of a mobile phone intervention to increase physical activity among sedentary women. *Prev Med*. 2010/07/06. 2010;51(3-4):287-9.

Higgins JPT, Green S. *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions*. [URL: <http://www.cochrane.org/cochrane-interventions-handbook>]

Kivovics, Márton, et al. "The Influence of Surgical Experience and Bone Density on the Accuracy of Static Computer-Assisted Implant Surgery in Edentulous Jaws Using a Mucosa-Supported Surgical Template with a Half-Guided Implant Placement Protocol—A Randomized Clinical Study." *Materials* 13.24 (2020): 5759.

Ku JK, Lee J, Lee HJ, Yun PY, Kim YK. Accuracy of dental implant placement with computer-guided surgery: a retrospective cohort study. *BMC Oral Health*. 2022 Jan 16;22(1):8.

Lindeboom, Jerome A., and Arjen J. Van Wijk. "A comparison of two implant techniques on patient-based outcome measures: a report of flapless vs. conventional flapped implant placement." *Clinical oral implants research* 21.4 (2010): 366-370.

Lopes, A. and Maló, P. The NobelGuide All-on-4 Treatment Concept for Rehabilitation of Edentulous Jaws: A retrospective Report on the 7-Years Clinical and 5-Years Radiographic Outcomes. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2017;19:233-244.

López SDA, García I, da Silva SG, Laganá CD. Potential deviation factors affecting stereolithographic surgical guides: a systematic review. *Implant Dent* 2019;28:68-73.

Marei, H. F., Abdel-Hady, A., Al-Khalifa, K., & Al-Mahalawy, H. (2019). Influence of surgeon experience on the accuracy of implant placement via a partially computer-guided surgical protocol. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 34(5).

Marra, R., Acocella, A., Rispoli, A., Sacco, R., Ganz, S. D., & Blasi, A. Full-mouth rehabilitation with immediate loading of implants inserted with computer-guided flap-less surgery: a 3-year multicenter clinical evaluation with oral health impact profile. *Implant dentistry*, (2013); 22(5), 444-452.

Marra R, Acocella A, Alessandra R, Ganz SD, Blasi A. Rehabilitation of full-mouth edentulism: Immediate loading of implants inserted with computer-guided flapless surgery versus conventional dentures: A 5-year multicenter retrospective analysis and OHIP questionnaire. *Implant Dent* 2017;26:54–58.

Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG; PRISMA Group. Preferred reporting items for systematic reviews and metaanalyses: the PRISMA statement. *Int J Surg*. 2010;8(5):336-41. [Medline: 20171303] [doi: 10.1016/j.ijisu.2010.02.007]

Neves, J. and Maló, P. et al. Risk Factors for Implant Failure and Peri-Implant Pathology in Systemic Compromised Patients. *J prosthodont*. 2016;27:409-415.

Raico Gallardo YN, da Silva-Olivio IRT, Mukai E, Morimoto S, Sesma N, Cordaro L.

Accuracy comparison of guided surgery for dental implants according to the tissue of support: A systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Implants Res* 2017;28:602–612.

Rawal S. Guided innovations: Robot-assisted dental implant surgery. *J Prosthet Dent.* 2022 May;127(5):673-674.

Sarhan, Moamen M., Mohamed M. Khamis, and Ahlam M. El-Sharkawy. "Evaluation of the accuracy of implant placement by using fully guided versus partially guided tissue-supported surgical guides with cylindrical versus C-shaped guiding holes: A split-mouth clinical study." *The Journal of Prosthetic Dentistry* 125.4 (2021): 620-627.

Schnutenhaus, S., Edelmann, C., Rudolph, H., Dreyhaupt, J., & Luthardt, R. G. 3D accuracy of implant positions in template-guided implant placement as a function of the remaining teeth and the surgical procedure: a retrospective study. *Clinical Oral Investigations*, (2018); 22(6), 2363-2372.

Schwindling FS, Juerchott A, Boehm S, Rues S, Kronsteiner D, Heiland S, Bendszus M, Rammelsberg P, Hilgenfeld T. Three-dimensional accuracy of partially guided implant surgery based on dental magnetic resonance imaging. *Clin Oral Implants Res.* 2021 Oct;32(10):1218-122

Stafford GL. The effectiveness of diferente attachment systems maxillary and mandibular implant overdentures. *Evid Based Dent.* 2019;20(1):26-7. D

Sun, Yi, et al. "Accuracy of dental implant placement using CBCT-derived mucosa-supported stereolithographic template." *Clinical implant dentistry and related research* 17.5 (2015): 862-870.

Trac MH, McArthur E, Jandoc R, Dixon SN, Nash DM, Hackam DG, et al. Macrolide antibiotics and the risk of ventricular arrhythmia in older adults. *Cmaj.* 2016;188(7):E120–9.

Van de Wiele G, Teughels W, Vercruyssen M, Coucke W, Temmerman A, Quirynen M. The accuracy of guided surgery via mucosa-supported stereolithographic surgical templates in the hands of surgeons with little experience. *Clin Oral Implants Res.* 2015 Dec;26(12):1489-94.

- Velasco-Ortega E, Jiménez-Guerra A, Ortiz-Garcia I, Garrido NM, Moreno-Muñoz J, Núñez-Márquez E, Rondón-Romero JL, Cabanillas-Balsera D, López-López J, Monsalve-Guil L. Implant Treatment by Guided Surgery Supporting Overdentures in Edentulous Mandible Patients. *Int J Environ Res Public Health*. 2021 Nov 11;18(22):11836.
- Vercruyssen M (a), Cox C, Coucke W, Naert I, Jacobs R, Quirynen M. A randomized clinical trial comparing guided implant surgery (bone- or mucosa-supported) with mental navigation or the use of a pilot-drill template. *J Clin Periodontol*. 2014 July;41(7):717-23.
- Vercruyssen, M. (b), De Laat, A., Coucke, W., & Quirynen, M. An RCT comparing patient-centred outcome variables of guided surgery (bone or mucosa supported) with conventional implant placement. *Journal of Clinical Periodontology*, (2014); 41(7), 724-732.
- Vercruyssen, M. (c), Coucke, W., Naert, I., Jacobs, R., Teughels, W., & Quirynen, M. Depth and lateral deviations in guided implant surgery: An RCT comparing guided surgery with mental navigation or the use of a pilot-drill template. *Clinical Oral Implants Research*, (2015); 26(11), 1315-1320.
- Vermeulen J. The accuracy of implant placement by experienced surgeons: Guided vs freehand approach in a simulated plastic model. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2017;32:617–624.
- Wells GA, Shea B, O'Connell D, Peterson J, Welch V, Losos M, Tugwell P. The Newcastle-Ottawa Scale (NOS) for assessing the quality of nonrandomised studies in meta-analyses. [URL: http://www.ohri.ca/programs/clinical_epidemiology/oxford.asp]
- Van de Wiele G, Teughels W, Vercruyssen M, Coucke W, Temmerman A, Quirynen M. The accuracy of guided surgery via mucosa-supported stereolithographic surgical templates in the hands of surgeons with little experience. *Clin Oral Implants Res*. 2015 Dec;26(12):1489-94.

Younes F, Cosyn J, De Bruyckere T, Cleymaet R, Bouckaert E, Eghbali A. A randomized controlled study on the accuracy of free-handed, pilot-drill guided and fully guided implant surgery in partially edentulous patients. *J Clin Periodontol* 2018;45:721–732.

4. Considerações Finais

A técnica de cirurgia guiada sem retalho para a instalação de implantes dentários é uma alternativa real nos casos de pacientes edentados totais. Os cirurgiões devem estar ciente dos possíveis desvios lineares e angulares do sistema, por isso a precisão na hora da instalação da guia é imprescindível para o sucesso. Outros fatores, como densidade óssea, tipo de mandíbula e até mesmo tamanho do implante, podem influenciar.

Referências

Afrashtehfar KI. Conventional free-hand, dynamic navigation and static guided implant surgery produce similar short-term patient-reported outcome measures and experiences. *Evid Based Dent*. 2021 Dec;22(4):143-145. doi: 10.1038/s41432-021-0216-9.

Albiero, A. M., Quartuccio, L., Benato, A., & Benato, R. Accuracy of computer-guided flapless implant surgery in fully edentulous arches and in edentulous arches with fresh extraction sockets. *Implant Dentistry*, (2019); 28(3), 256-264.

AlZarea, Bader K. "Randomized controlled clinical investigation on the association between personality profiles and the impacts of two types of maxillary anterior implant-supported crown restorations on daily living and dental satisfaction." *Clinical Implant Dentistry and Related Research* 21.4 (2019): 602-612. Al-Johany, S. S., Al Amri, M. D., Alsaeed, S., & Alalola, B. (2017). Dental implant length and diameter: a proposed classification scheme. *Journal of Prosthodontics*, 26(3), 252-260.

Arısan, Volkan, Cüneyt Z. Karabuda, and Tayfun Özdemir. "Implant surgery using bone-and mucosa-supported stereolithographic guides in totally edentulous jaws: surgical and post-operative outcomes of computer-aided vs. standard techniques." *Clinical oral implants research* 21.9 (2010): 980-988.

Bencharit S, Staffen A, Yeung M, Whitley D 3rd, Laskin DM, Deeb GR. In vivo tooth-supported implant surgical guides fabricated with desktop stereolithographic printers: Fully guided surgery is more accurate than partially guided surgery. *J Oral Maxillofac Surg* 2018;76:1431–1439.

Bernard, Lauren, et al. "A randomized controlled clinical trial comparing guided with nonguided implant placement: A 3-year follow-up of implant-centered outcomes." *The Journal of Prosthetic Dentistry* 121.6 (2019): 904-910.

Brånemark, P.I. et al. Intra-osseous anchorage of dental prostheses I. Experimental studies. **Scand J Plast Reconstr Surg** 1969;3:81-100.

Brånemark PI. Osseointegration and its experimental background. *J Prosthet Dent*. 1983 Sep;50(3):399-410.

Cassetta M, Bellardini M. How much does experience in guided implant surgery play a role in accuracy? A randomized controlled pilot study. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2017;46:922–930.

Cattoni, F.; Tetè, G.; Uccioli, R.; Manazza, F.; Gastaldi, G.; Perani, D. An fMRI Study on Self-Perception of Patients after Aesthetic Implant-Prosthetic Rehabilitation. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2020, 17, 588.

Cattoni, Francesca, et al. "Digital Smile Designed Computer-Aided Surgery versus Traditional Workflow in "All on Four" Rehabilitations: A Randomized Clinical Trial with

4-Years Follow-Up." *International Journal of Environmental Research and Public Health* 18.7 (2021): 3449.

Chackartchi T, Romanos GE, Parkanyi L, Schwarz F, Sculean A. Reducing errors in guided implant surgery to optimize treatment outcomes. *Periodontol* 2000. 2022 Feb;88(1):64-72.

Downs SH, Black N. The feasibility of creating a checklist for the assessment of the methodological quality both of randomised and non-randomised studies of health care interventions. *Journal of Epidemiology & Community Health*. 1998;52(6):377–84.

D'haese R, Vrombaut T, Hommeez G, De Bruyn H, Vandeweghe S. Accuracy of Guided Implant Surgery Using an Intraoral Scanner and Desktop 3D-Printed Tooth-Supported Guides. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2022 May-Jun;37(3):479-484. doi: 10.11607/jomi.9432. PMID: 35727238.

Elkomy, Mostafa M., Mohamed M. Khamis, and Ahlam M. El-Sharkawy. "Clinical and radiographic evaluation of implants placed with fully guided versus partially guided tissue-supported surgical guides: A split-mouth clinical study." *The Journal of Prosthetic Dentistry* 126.1 (2021): 58-66.

Feng Y, Fan J, Tao B, Wang S, Mo J, Wu Y, Liang Q, Chen X. An image-guided hybrid robot system for dental implant surgery. *Int J Comput Assist Radiol Surg*. 2022 Jan;17(1):15-26.

Feter N, dos Santos TS, Caputo EL, da Silva MC. What is the role of smartphones on physical activity promotion? A systematic review and meta-analysis. *International Journal of Public Health*. 2019;7(2012).

Flügge T, Kramer J, Nelson K, Nahles S, Kern F. Digital implantology-a review of virtual planning software for guided implant surgery. Part II: Prosthetic set-up and virtual implant planning. *BMC Oral Health*. 2022 Jan 30;22(1):23

Fukuoka Y, Vittinghoff E, Jong SS, Haskell W. Innovation to motivation--pilot study of a mobile phone intervention to increase physical activity among sedentary women. *Prev Med*. 2010/07/06. 2010;51(3–4):287–9.

Higgins JPT, Green S. *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions*. [URL: <http://www.cochrane.org/cochrane-interventions-handbook>]

Jung RE, Schneider D, Ganeles J, Wismeijer D, Zwahlen M, Hammerle CTA. Computer technology applications in surgical implant dentistry: a systematic review. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2014;29 Suppl:25-42.

Kivovics, Márton, et al. "The Influence of Surgical Experience and Bone Density on the Accuracy of Static Computer-Assisted Implant Surgery in Edentulous Jaws Using a Mucosa-Supported Surgical Template with a Half-Guided Implant Placement Protocol—A Randomized Clinical Study." *Materials* 13.24 (2020): 5759.

Kopp KC, Koslow AH, Abdo OS. Predictable Implant placement with a diagnostic/surgical template and advanced radiographic imaging. *The Journal of Prosthetic Dentistry*. 2003; 89(6):611-5. DOI: 10.1016/S0022-3913(03)00198-7.

Ku JK, Lee J, Lee HJ, Yun PY, Kim YK. Accuracy of dental implant placement with computer-guided surgery: a retrospective cohort study. *BMC Oral Health*. 2022 Jan 16;22(1):8.

Lee KM, Song JM, Cho JH, Hwang HS. Influence of head motion on the accuracy of 3D reconstruction with cone-beam CT: Landmark identification errors in maxillofacial surface model. *PLoS One* 2016;11:e0153210.

Lindeboom, Jerome A., and Arjen J. Van Wijk. "A comparison of two implant techniques on patient-based outcome measures: a report of flapless vs. conventional flapped implant placement." *Clinical oral implants research* 21.4 (2010): 366-370.

Lopes, A. and Maló, P. The NobelGuide All-on-4 Treatment Concept for Rehabilitation of Edentulous Jaws: A retrospective Report on the 7-Years Clinical and 5-Years Radiographic Outcomes. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2017.19:233-244.

López SDA, García I, da Silva SG, Laganá CD. Potential deviation factors affecting stereolithographic surgical guides: a systematic review. *Implant Dent* 2019;28:68-73.

Marei, H. F., Abdel-Hady, A., Al-Khalifa, K., & Al-Mahalawy, H. (2019). Influence of surgeon experience on the accuracy of implant placement via a partially computer-guided surgical protocol. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 34(5).

Marra, R., Acocella, A., Rispoli, A., Sacco, R., Ganz, S. D., & Blasi, A. Full-mouth rehabilitation with immediate loading of implants inserted with computer-guided flapless surgery: a 3-year multicenter clinical evaluation with oral health impact profile. *Implant dentistry*, (2013); 22(5), 444-452.

Marra R, Acocella A, Alessandra R, Ganz SD, Blasi A. Rehabilitation of full-mouth edentulism: Immediate loading of implants inserted with computer-guided flapless surgery versus conventional dentures: A 5-year multicenter retrospective analysis and OHIP questionnaire. *Implant Dent* 2017;26:54–58.

Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG; PRISMA Group. Preferred reporting items for systematic reviews and metaanalyses: the PRISMA statement. *Int J Surg*. 2010;8(5):336-41. [Medline: 20171303] [doi: 10.1016/j.ijsu.2010.02.007]

Neves, J. and Maló, P. et al. Risk Factors for Implant Failure and Peri-Implant Pathology in Systemic Compromised Patients. *J prosthodont*. 2016.27:409-415.

Pozzi A, Polizzi G, Moy PK. Guided surgery with tooth-supported templates for single missing teeth: A critical review. *Eur J Oral Implantol* 2016;9(suppl 1):s135–s153.

Raico Gallardo YN, da Silva-Olivio IRT, Mukai E, Morimoto S, Sesma N, Cordaro L. Accuracy comprison of guided surgery for dental implants according to the tissue of

support: A systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Implants Res* 2017;28:602–612.

Rawal S. Guided innovations: Robot-assisted dental implant surgery. *J Prosthet Dent*. 2022 May;127(5):673-674.

Sarhan, Moamen M., Mohamed M. Khamis, and Ahlam M. El-Sharkawy. "Evaluation of the accuracy of implant placement by using fully guided versus partially guided tissue-supported surgical guides with cylindrical versus C-shaped guiding holes: A split-mouth clinical study." *The Journal of Prosthetic Dentistry* 125.4 (2021): 620-627.

Schnutenhaus, S., Edelmann, C., Rudolph, H., Dreyhaupt, J., & Luthardt, R. G. 3D accuracy of implant positions in template-guided implant placement as a function of the remaining teeth and the surgical procedure: a retrospective study. *Clinical Oral Investigations*, (2018); 22(6), 2363-2372.

Schwindling FS, Juerchott A, Boehm S, Rues S, Kronsteiner D, Heiland S, Bendszus M, Rammelsberg P, Hilgenfeld T. Three-dimensional accuracy of partially guided implant surgery based on dental magnetic resonance imaging. *Clin Oral Implants Res*. 2021 Oct;32(10):1218-122

Shen, P., Zhao, J., Fan, L., Qiu, H., Xu, W., Wang, Y., ... & Kim, Y. J. (2015). Accuracy evaluation of computer-designed surgical guide template in oral implantology. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 43(10), 2189-2194.

Stafford GL. The effectiveness of diferente attachment systems maxillary and mandibular implant overdentures. *Evid Based Dent*. 2019;20(1):26-7. DOI: 10.1002/14651858.CD008001.pub2.

Sun, Yi, et al. "Accuracy of dental implant placement using CBCT-derived mucosa-supported stereolithographic template." *Clinical implant dentistry and related research* 17.5 (2015): 862-870.

Topçu AO, Yamalik N, Güncü GN, Tözüm TF, El H, Uysal S, Hersek N. Implant-Site Related and Patient Based Factors With the Potential to Impact Patients' Satisfaction, Quality of Life Measures and Perceptions Toward Dental Implant Treatment. *Implant Dent*. 2017;26(4):581-91. DOI: 10.1097/ID.0000000000000623. satisfaction. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2019 Apr 16. DOI: 10.1111/cid.12776.

Trac MH, McArthur E, Jandoc R, Dixon SN, Nash DM, Hackam DG, et al. Macrolide antibiotics and the risk of ventricular arrhythmia in older adults. *Cmaj*. 2016;188(7):E120–9.

Van de Wiele G, Teughels W, Vercruyssen M, Coucke W, Temmerman A, Quirynen M. The accuracy of guided surgery via mucosa-supported stereolithographic surgical templates in the hands of surgeons with little experience. *Clin Oral Implants Res*. 2015 Dec;26(12):1489-94.

Velasco-Ortega E, Jiménez-Guerra A, Ortiz-García I, Garrido NM, Moreno-Muñoz J, Núñez-Márquez E, Rondón-Romero JL, Cabanillas-Balsera D, López-López J, Monsalve-Guil L. Implant Treatment by Guided Surgery Supporting Overdentures in Edentulous Mandible Patients. *Int J Environ Res Public Health*. 2021 Nov 11;18(22):11836.

Vercruyssen M (a), Cox C, Coucke W, Naert I, Jacobs R, Quirynen M. A randomized clinical trial comparing guided implant surgery (bone- or mucosa-supported) with mental navigation or the use of a pilot-drill template. *J Clin Periodontol*. 2014 July;41(7):717-23.

Vercruyssen M (b), De Laat, A, Coucke, W, & Quirynen, M. An RCT comparing patient-centred outcome variables of guided surgery (bone or mucosa supported) with conventional implant placement. *Journal of Clinical Periodontology*, (2014); 41(7),724-732.

Vercruyssen M (c), Coucke W, Naert I, Jacobs R, Teughels W, & Quirynen M. Depth and lateral deviations in guided implant surgery: An RCT comparing guided surgery with mental navigation or the use of a pilot-drill template. *Clinical Oral Implants Research*, (2015); 26(11), 1315-1320.

Vermeulen J. The accuracy of implant placement by experienced surgeons: Guided vs freehand approach in a simulated plastic model. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2017;32:617–624.

Wells GA, Shea B, O'Connell D, Peterson J, Welch V, Losos M, Tugwell P. The Newcastle-Ottawa Scale (NOS) for assessing the quality of nonrandomised studies in meta-analyses. [URL: http://www.ohri.ca/programs/clinical_epidemiology/oxford.asp]

Willems LM, Vriezekolk JE, Schouffoer AA, Poole JL, Stamm TA, Boström C, et al. Effectiveness of nonpharmacologic interventions in systemic sclerosis: a systematic review. *Arthritis care & research*. 2015;67(10):1426–39.

Younes F, Cosyn J, De Bruyckere T, Cleymaet R, Bouckaert E, Eghbali A. A randomized controlled study on the accuracy of free-handed, pilot-drill guided and fully guided implant surgery in partially edentulous patients. *J Clin Periodontol* 2018;45:721–732.

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

Tese



**Relação entre bruxismo do sono e cortisol capilar em crianças de 48 meses:
resultados de uma Coorte de nascidos vivos no sul do Brasil**

Laís Anschau Pauli

Pelotas, 2023

Laís Anschau Pauli

**Relação entre bruxismo do sono e cortisol capilar em crianças de 48 meses:
resultados de uma Coorte de nascidos vivos no sul do Brasil**

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

Orientador: Prof^a Dra. Marília Leão Goettems

Co-Orientador (es): Prof Dr. Flavio Fernando Demarco
Prof. Dr. Marcos Britto Corrêa

Pelotas, 2023

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

P327r Pauli, Laís Anschau

Relação entre bruxismo do sono e cortisol capilar em crianças de 48 meses : resultados de uma coorte de nascidos vivos no sul do Brasil / Laís Anschau Pauli ; Marília Leão Goettems, orientadora ; Flávio Fernando Demarco, Marcos Britto Corrêa, coorientadores. — Pelotas, 2023.

110 f.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Clínica Odontológica - ênfase em Odontopediatria, Programa de pós-graduação em Odontologia / Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas, 2023.

1. Estudo de coorte. 2. Bruxismo do sono. 3. Estresse. 4. Cortisol capilar. 5. Crianças pré-escolar. I. Goettems, Marília Leão, orient. II. Demarco, Flávio Fernando, coorient. III. Corrêa, Marcos Britto, coorient. IV. Título.

CDD : D37

Laís Anschau Pauli

**Relação entre bruxismo do sono e cortisol capilar em crianças de 48 meses:
resultados de uma Coorte de nascidos vivos no sul do Brasil**

Tese apresentada, como requisito parcial, para obtenção do grau 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: 31/03/2023

Banca examinadora:

**Profa. Dra. Marília Leão Goettems (Orientadora)
Doutora em Odontopediatria pela Universidade Federal de Pelotas**

**Prof. Dr. Thiago Machado Ardenghi
Doutor em Odontopediatria pela Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo**

**Profa. Dra. Catiara Terra da Costa
Doutora em Odontopediatria pela Universidade Federal de Pelotas, Rio Grande do Sul**

**Profa. Dra. Mariana Gonzalez Cademartori
Doutora em Clínica Odontológica, área Odontopediatria, pela Universidade Federal de Pelotas**

**Profa. Dra. Ana Regina Romano (suplente)
Doutora em Odontopediatria pela faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo**

**Profa. Dra. Vanessa Polina Pereira da Costa (suplente)
Doutora em Odontopediatria pela Universidade Federal de Pelotas**

Notas Preliminares

A presente tese foi redigida segundo o Manual de normas UFPel trabalhos acadêmicos (2019), adotando o Nível de Descrição 4 – estrutura em Artigos, descrita referido manual: <<https://wp.ufpel.edu.br/sisbi/normas-da-ufpel-para-trabalhos-academicos/>> Acesso em: 09/01/2023.

O projeto de pesquisa contido nesta tese é apresentado em sua forma final após qualificação realizada no dia 24 de abril de 2020 e aprovada pela Banca Examinadora composta pela Prof^a. Dr^a. Marília Leão Goettems (orientadora), Prof^a. Dr^a. Marina Sousa Azevedo e Prof^a. Dr^a. Helena Silveira Schuch.

**Dedico este trabalho à minha família, por serem o
que tenho de mais valioso nesta vida.**

Agradecimentos

A Deus, que guia a minha trajetória na busca dos meus sonhos.

À minha orientadora, Prof^a. Dr^a. **Marília** Leão Goettems, pelos ensinamentos e experiência compartilhada e pela compreensão e suporte ao longo dos anos em todas as etapas do doutorado, especialmente na concretização desta tese.

Aos coorientadores Prof. Dr. **Flávio** Fernando Demarco e **Marcos** Brito Corrêa, agradeço pela disponibilidade em auxiliarem na orientação desta tese.

Aos membros efetivos e suplentes da banca avaliadora desta tese, Prof^o. Dr. **Thiago** Machado Ardenghi, Prof^a. Dr^a. **Catiara** Terra da Costa, Prof^a. Dr^a. **Mariana Gonzalez** Cademartori, Prof^a. Dr^a. **Ana** Regina Romano e Prof^a. Dr^a. **Vanessa** Polina Pereira da Costa pelo pronto aceite ao convite. É um privilégio poder contar com as contribuições de professores tão competentes.

Aos meus pais, **Luiz Carlos** e **Teresinha**, agradeço pela vida, pela educação, pelo amor incondicional e por tamanho incentivo durante toda a trajetória acadêmica. Esta conquista e todo o meu amor são por vocês e para vocês.

Ao meu noivo **Rômulo**, por ter me encorajado diante das dificuldades e ter compreendido as minhas inúmeras ausências. Agradeço por contar com teu apoio, teu amor e teu abraço que conforta.

Aos meus irmãos, meus irmãos **Thiago** e **Rafael** e suas esposas, **Ana Paula** e **Kaoana**, por todo apoio e pela nossa amizade e cumplicidade.

Ao meus sobrinhos-afilhados, **Rafael**, **Luís Miguel** e **João Pedro**, agradeço por iluminarem a minha vida e colorirem os meus dias. Vocês me inspiram a oferecer sempre o melhor para os meus pequenos pacientes.

Aos amigos que o PPGO-UFPel apresentou, **Tamara**, **Natália** e **Edvin**, pela troca de experiências e aprendizado nestes anos e pela amizade que construímos.

Ao **PPGO-UFPel**, pela oportunidade em cursar o doutorado em um programa de renome e excelência e ao secretário do programa, **Celaniro** Junior, por todo auxílio prestado.

A todos os **professores do PPGO** e da **Odontopediatria**, que compartilharam seu conhecimento com dedicação.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior** (CAPES), pela concessão de bolsa durante o primeiro ano do doutorado.

Aos **Coordenadores da Coorte de Nascimentos de 2015** pela oportunidade de participar de um projeto tão grandioso e importante.

E a todos que de alguma forma contribuíram nesta jornada. Muito obrigada!

– *Quem estará nas trincheiras ao teu lado?*

– *E isso importa?*

– *Mais do que a própria guerra.*

Ernest Hemingway

Resumo

PAULI, Laís Anschau. **Relação entre bruxismo do sono e cortisol capilar em crianças de 48 meses: resultados de uma Coorte de nascidos vivos no sul do Brasil**. Orientadora: Marília Leão Goettems. 2023. 110 f. Tese (Doutorado em Clínica Odontológica ênfase em Odontopediatria) – Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas-RS, 2023.

O bruxismo do sono (BS) é um comportamento motor, de etiologia multifatorial, definido como uma atividade repetitiva e involuntária dos músculos da mandíbula, caracterizada pelo apertar ou ranger dos dentes durante o sono. Em indivíduos adultos, o estresse determinado pela concentração de cortisol salivar tem sido relatado como um fator associado ao BS, mas em crianças essa associação é controversa. O BS é um comportamento que tende a ocorrer por longos períodos e a concentração de cortisol no cabelo fornece uma medida de exposição ao estresse nos últimos 3 meses, o que pode representar uma vantagem para investigar a relação do estresse com o bruxismo em crianças. O objetivo deste trabalho foi investigar a relação entre o possível BS e a concentração de cortisol capilar como marcador biológico de estresse crônico, em uma amostra de base populacional de crianças de 48 meses de idade, em uma cidade brasileira. Foram utilizados dados do acompanhamento aos 48 meses da Coorte de Nascimentos de Pelotas 2015 (n=3.997). O diagnóstico do possível BS foi baseado nos relatos dos cuidadores. Amostras de cabelo das crianças e mães foram coletadas por pesquisadores treinados. Características socioeconômicas (renda familiar e escolaridade materna), demográficas (sexo), psicológicas (estresse materno e problemas de saúde mental infantil) e comportamentais (tempo de uso de telas) foram fornecidas pelos responsáveis por meio de questionários. O estresse materno foi avaliado pela Escala de Estresse Percebido (EPS-10) e problemas comportamentais nas crianças foram avaliados pelo SDQ (*Strengths and Difficulties Questionnaire*). Inicialmente, foram realizadas análises descritivas. A regressão de Poisson com variância robusta foi utilizada para avaliar o efeito da concentração de cortisol no cabelo sobre a ocorrência de possível BS. Um gráfico acíclico dirigido (DAG) foi utilizado no modelo estatístico. A prevalência de possível BS foi de 21,21% (n = 848). A concentração de cortisol no cabelo não foi associada à ocorrência de BS em crianças (RP=1,00; IC 0,99-1,01). A presença de BS foi associada à maior escolaridade materna (RP = 1,20; IC 95% 1,00-1,43), maior renda familiar (RP = 1,28; IC 95% 1,03-1,58), uso excessivo de aparelhos eletrônicos (RP = 1,30; IC 95% 1,05-1,62) e comportamento infantil anormal (RP = 1,35; IC 1,12-1,64). Sexo feminino (RP = 0,79; IC 95% 0,68-0,91) foi associado a uma menor frequência de possível BS. Estresse materno determinado pela concentração de cortisol no cabelo da mãe, estresse materno percebido e aglomeração familiar não foram associados ao BS. Em conclusão, fatores sociodemográficos e comportamento infantil estiveram associados à ocorrência de BS nas crianças. No entanto, o BS não foi associado ao estresse crônico medido pela concentração de cortisol capilar nesta amostra.

Palavras-chave: Estudo de coorte. Bruxismo do sono. Estresse. Cortisol capilar. Crianças pré-escolares.

Abstract

PAULI, Laís Anschau. **Relationship between sleep bruxism and hair cortisol in 48-month-old children: results from a cohort of live births in southern Brazil.** Advisor: Marília Leão Goettems 2023. 110 f. Thesis (PhD degree in Odontological Clinic emphasis on Pediatric Dentistry). Postgraduate Program in Dentistry, Federal University of Pelotas, Pelotas-RS, 2023.

Sleep bruxism (SB) is a motor behavior of multifactorial etiology, defined as a repetitive and involuntary activity of the jaw muscles, characterized by clenching or grinding of the teeth during sleep. In adults, stress determined by salivary cortisol concentration has been reported as a factor associated with SB, but in children this association is controversial. SB is a behavior that tends to occur for long periods and the cortisol concentration in the hair provides a measure of exposure to stress in the last 3 months, which may represent an advantage for investigating the relationship between stress and bruxism in children. The aim of this study was to investigate the relationship between possible SB and capillary cortisol concentration as a biological marker of chronic stress, in a population-based sample of 48-month-old children in a Brazilian city. Data from the 48-month follow-up of the 2015 Pelotas Birth Cohort (n=3,997) were used. The diagnosis of possible SB was based on caregivers' reports. Hair samples from the children and mothers were collected by trained researchers. Socioeconomic (family income and maternal education), demographic (gender), psychological (maternal stress and child mental health problems) and behavioral (time of use of electronic devices) characteristics were provided by guardians through questionnaires. Perceived maternal stress was assessed using the Perceived Stress Scale (PSS-10) and mental disorders in children were assessed using the Strengths and Difficulties Questionnaire (SDQ). Initially, descriptive analyzes were performed. Poisson regression with robust variance was used to assess the effect of hair cortisol concentration on the occurrence of possible SB. A directed acyclic graph (DAG) was used in the statistical model. The prevalence of possible SB was 21.21% (n = 848). Hair cortisol concentration was not associated with the occurrence of SB in children (PR=1.00; CI 0.99-1.01). The presence of SB was associated with higher maternal education (PR = 1.20; 95% CI 1.00-1.43), higher family income (PR = 1.28; 95% CI 1.03-1.58), excessive use of electronic devices (PR = 1.30; CI 95% 1.05-1.62) and abnormal child behavior (PR = 1.35; CI 1.12-1.64). Female gender (PR = 0.79; 95% CI 0.68-0.91) was associated with a lower frequency of possible SB. Maternal stress determined by cortisol concentration in the mother's hair, perceived maternal stress, and family crowding were not associated with SB. In conclusion, sociodemographic factors and child behavior were associated with the occurrence of SB in children. However, SB was not associated with chronic stress as measured by capillary cortisol concentration in this sample.

Keywords: Cohort study. Sleep bruxism. Stress. Hair cortisol. Preschool children.

Sumário

1 Introdução	10
2 Projeto de pesquisa	13
3 Relatório do trabalho de campo	29
4 Artigo	36
5 Considerações finais	56
Referências	57
Anexos	63

1 Introdução

O bruxismo é um comportamento motor, de etiologia multifatorial, definido como uma atividade repetitiva e involuntária dos músculos da mandíbula, caracterizada pelo apertar ou ranger dos dentes, podendo ocorrer durante a vigília ou durante o sono (bruxismo do sono) (LOBBEZOO et al, 2018; MANFREDINI et al, 2017; AMERICAN ACADEMY OF SLEEP MEDICINE, 2014;). A prevalência de bruxismo do sono (BS) em crianças varia de 3,40-49,60% (FERRARI-PILONI et al, 2022; MACHADO et al., 2014; MANFREDINI et al., 2013;).

Atualmente, reconhece-se que o bruxismo do sono se origina de fatores centrais (fisiopatológicos e psicológicos) e não periféricos (morfológicos), e que sua fisiopatologia envolve o sistema dopaminérgico, alterando seus parâmetros fisiológicos (LOBEZZO; NAEIJE, 2001), sendo, portanto, moldado por neurotransmissores no sistema nervoso central (MANFREDINI al., 2017). A literatura atual converge para a etiologia multifatorial do bruxismo, com características genéticas (GUO et al., 2018; TAKAOKA et al., 2017; AMATO et al., 2015; ORTEGA et al., 2014), comportamentais (RESTREPO; SANTAMARÍA; MANRIQUE, 2021; ALMEIDA, 2016; SERRA-NEGRA et al., 2014; VIEIRA-ANDRADE et al., 2014) e ambientais (BACH et al., 2019; GOETTEMMS et al., 2018; ALMEIDA, 2016), influenciando ou modulando sua ocorrência. Entre os fatores psicossociais, que desempenham um grande papel na ocorrência do bruxismo, a influência do estresse tem recebido especial interesse (FLUERASU et al., 2019). Estudos usando instrumentos de autorrelato para determinar o estresse demonstraram que indivíduos adultos com bruxismo apresentam nível mais elevados de ansiedade e/ou estresse (KOLAK et al., 2022; FLUERASU et al., 2019; AHLBERG et al., 2002). Em crianças, altos níveis de estresse e responsabilidade também se demonstraram

associados com a ocorrência de bruxismo do sono (SERRA-NEGRA et al., 2013). Sampaio e colaboradores (2018), no entanto, não encontraram associação entre o BS da criança e o estresse psicológico infantil ou materno.

A concentração de cortisol salivar como biomarcador de estresse e sua associação com o bruxismo também tem sido investigada. Em indivíduos adultos, uma meta-análise concluiu que existe uma associação positiva entre bruxismo e níveis mais altos de cortisol salivar ao acordar (FRITZEN et al., 2022). Na população infantil, entretanto, os estudos são escassos e apresentam resultados controversos. Enquanto um estudo encontrou níveis aumentados de cortisol salivar em crianças com BS (BACH et al., 2019), em outro estudo (CASTELO et al., 2012) crianças com BS apresentaram menores concentrações de cortisol salivar ao acordar. A metanálise que avaliou esses dois estudos não encontrou diferença significativa nos níveis de cortisol salivar ao acordar em crianças com ou sem bruxismo do sono, sugerindo a ausência de evidências que comprovem uma relação direta entre o bruxismo do sono e o estresse psicológico medido pela concentração de cortisol salivar (FRITZEN et al., 2022).

O cortisol é um hormônio cuja secreção é intensificada com o aumento da atividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) diante de uma situação estressante (AGUILAR CORDERO et al., 2014), sendo considerado o hormônio do estresse (JORGE et al., 2010). Enquanto o cortisol avaliado por meio de amostras de saliva fornece informações sobre os níveis agudos de cortisol (em termos de minutos ou horas), o nível de cortisol mensurado a partir de amostras de cabelo reflete a exposição cumulativa ao estresse (durante um período de meses), sendo um biomarcador relativamente novo de estresse crônico (KAO et al., 2018).

A relação entre bruxismo do sono e estresse crônico avaliado pela concentração de cortisol no cabelo ainda não foi investigada (FRITZEN et al., 2022) e pode contribuir para aumentar o conhecimento atual sobre a associação do estresse com o bruxismo do sono. Considerando que o bruxismo é uma condição crônica, na qual o paciente fica exposto a diversos estressores ao longo do tempo (SALGUEIRO et al., 2021), pode ser interessante avaliar essa associação. Portanto, o objetivo do presente estudo foi investigar a relação entre a ocorrência de possível bruxismo do sono e a concentração de cortisol no cabelo como marcador de

estresse crônico em crianças de 48 meses de idade participantes de uma coorte de nascimentos.

2 Projeto de pesquisa

2.1 Introdução

O bruxismo do sono é uma atividade repetitiva e involuntária dos músculos da mandíbula, ocasionando o apertamento e/ou o ranger dos dentes durante o sono, caracterizada como rítmica (fásica) ou não-rítmica (tônica). Em indivíduos saudáveis, o bruxismo não deve ser considerado um distúrbio de movimento ou do sono, mas uma atividade motora que pode ser um fator de risco e / ou protetor para outras condições. Por outro lado, em alguns casos, o bruxismo do sono é considerado um sinal de um distúrbio, como, por exemplo, em indivíduos com distúrbio de comportamento da fase REM (do inglês: *Rapid Eye Movement*), apneia obstrutiva do sono e epilepsia. Portanto, se não for um fator de risco para outro distúrbio, o bruxismo é considerado um comportamento motor com uma etiologia multifatorial (LOBBEZOO et al., 2018).

O bruxismo do sono pode ser um fator protetor, com consequências positivas para alguns indivíduos, aumentando a permeabilidade do ar das vias aéreas respiratórias superiores (JOKUBAUSKAS; BALTRUŠAITYTĖ, 2017) e estimulando a salivação evitando a erosão dentária (OHMURE, 2011). Além disso, é o episódio final de uma excitação respiratória (TAN et al., 2019).

Por outro lado, quando não controlado, o bruxismo do sono pode causar múltiplas consequências no sistema estomatognático. Os sinais e sintomas mais comuns são desgaste dentário anormal, dores de cabeça, dor ou fadiga nos músculos mastigatórios e distúrbios temporomandibulares (BADER; LAVIGNE, 2000). As consequências podem ser piores em crianças, pela estrutura e características morfofuncionais dos dentes decíduos (RENNER et al., 2012), que

são menos mineralizados, têm menor dureza e possuem a câmara pulpar mais ampla do que os dentes permanentes e, com isso, os processos patológicos progridem mais rapidamente. Assim, o bruxismo do sono pode afetar significativamente a vida e o bem-estar das crianças e seus familiares (RODRIGUES et al., 2020).

Um consenso internacional publicado em 2018 (LOBBEZOO et al., 2018) sugeriu mudanças no sistema de classificação diagnóstica para o bruxismo do sono proposto no consenso anterior (LOBBEZOO et al., 2013). A nova classificação definiu que o “possível” bruxismo do sono é baseado apenas em um autorrelato e / ou relato parental positivo; o “provável” bruxismo durante o sono é baseado em uma inspeção clínica positiva, com ou sem autorrelato e / ou relato parental positivo; e o bruxismo do sono “definitivo” é baseado em uma avaliação instrumental (eletromiografia) positiva, com ou sem autorrelato e / ou relato parental positivo e / ou inspeção clínica positiva (LOBBEZOO et al., 2018).

A avaliação autorreferida e / ou o relato parental é a principal ferramenta na prática clínica e na pesquisa do bruxismo (LOBBEZOO et al., 2018), especialmente em crianças. Com base nessa avaliação, a possível ocorrência de bruxismo do sono e a frequência com que o comportamento ocorre durante um determinado período de tempo podem ser investigadas (YACHIDA et al., 2016), embora o autorrelato ou relato parental possa ser influenciado por limitações subjetivas e viés de memória.

O papel do estresse na etiologia do bruxismo do sono tem sido investigado. O estresse aumenta a atividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) e altera o padrão de secreção de cortisol, um hormônio importante usado como biomarcador do estresse psicológico (AGUILAR CORDERO et al., 2014), que pode ser facilmente medido na saliva.

Estudos têm revelado que altos níveis de estresse e responsabilidade aumentaram a chance de ocorrer bruxismo do sono em crianças de sete a 11 anos (SERRA-NEGRA et al., 2012) e que crianças de sete e oito anos com bruxismo do sono mostraram maior dificuldade em manter o ritmo biológico ($p = 0,002$) e apresentaram níveis mais altos de cortisol salivar ($p = 0,034$) em comparação com crianças sem bruxismo do sono (BACH et al., 2019). Por outro lado, no estudo de Castelo et al. (2012), crianças de seis a oito anos que tinham bruxismo do sono mostraram níveis reduzidos de cortisol salivar ao despertar, sugerindo que o bruxismo do sono não está diretamente associado ao estresse e revelando a

necessidade de mais pesquisas. Portanto, estudos avaliando a associação entre bruxismo do sono e níveis de cortisol salivar apresentam resultados controversos e o papel e o significado do cortisol ainda não são totalmente compreendidos. Além disso, em crianças em idade pré-escolar essa associação ainda não foi investigada.

Todos os estudos avaliando a associação desse hormônio com o bruxismo do sono fizeram a mensuração do cortisol salivar, no entanto, mais recentemente, pesquisas com outros desfechos têm utilizado a concentração de cortisol capilar, para investigar a exposição sistêmica do cortisol nos últimos três meses (CONDON et al., 2019). O cortisol capilar é um indicador não invasivo da atividade do eixo HPA a longo prazo, e, portanto, oferece uma grande vantagem sobre outras fontes de cortisol, como soro e saliva, que fornecem apenas uma medida instantânea dos níveis de cortisol em tempo real (RUSSELL et al., 2012). A relação dos níveis de cortisol capilar da criança e do cuidador com a ocorrência de bruxismo do sono nas crianças ainda não é conhecida.

A prevalência do bruxismo do sono é relatada em revisões sistemáticas variando de 3,4-40,6% (MANFREDINI et al., 2013) a 5,9-49,6% (MACHADO et al., 2014) em crianças de zero a 12 anos. A grande variação da prevalência de bruxismo do sono entre os estudos pode refletir as diferenças nos critérios diagnósticos adotados, que incluíram, predominantemente, o relato dos pais, mas foram baseados em diferentes questionários ou, ainda, foram acrescidos de uma avaliação clínica. Na idade pré-escolar isoladamente a literatura disponível também revela ampla variação da prevalência e de fatores associados à ocorrência de bruxismo do sono entre os estudos e idades avaliadas (Figura 1).

A investigação longitudinal de Rostami et al. (2020), revelou que, aos 1,5 anos de idade a prevalência de bruxismo do sono foi de 7,1%, aumentando para 10,9% aos 2,5 anos e para 17,6% aos 3,5 anos, alcançando 22,4% aos quatro anos. Os achados também demonstraram que 14,1% das crianças apresentaram manifestações crescentes de bruxismo do sono dos 1,5 aos 5 anos de idades. Em crianças de 24 a 36 meses a prevalência foi de 25,9% de acordo com Goettems et al. (2018). Incluindo crianças de dois a cinco anos de idade, os estudos reportaram prevalência de bruxismo do sono de 18,5% (TACHIBANA et al., 2016), 22,3% (MASSIGNAN et al., 2019) a até 33% (SILVA et al., 2017) e em crianças de três a cinco anos a prevalência variou de 14% (VIEIRA-ANDRADE et al., 2014) a 31% (RIBEIRO et al., 2018), chegando até a 44,4% (ALMEIDA, 2016). Aos cinco anos de

idade, Gomes et al. (2018) relataram que 26,9% das crianças tinham bruxismo do sono.

Os fatores associados à ocorrência de bruxismo do sono em crianças em idade pré-escolar ainda foram pouco investigados e os estudos revelam resultados controversos (Figura 1). Os achados de Almeida (2016) demonstraram associação do bruxismo do sono em crianças de dois a cinco anos com a renda familiar mais alta e uso de chupeta, enquanto Massignan et al. (2019) não encontraram associação com nível socioeconômico, sexo da criança, escolaridade do chefe da família, babar-se, desgaste dentário e qualidade do sono de crianças da mesma faixa etária. Isso é corroborado por Silva et al. (2017), que também investigaram crianças de dois a cinco anos e não encontraram associação com sexo, idade, escolaridade dos pais / responsáveis e renda familiar. Por outro lado, no estudo de Gomes et al. (2018) o bruxismo do sono foi associado com o desgaste dentário e à má qualidade do sono em crianças de cinco anos, enquanto aspectos psicossociais (senso de coerência) e sociodemográficos (escolaridade da mãe e idade do cuidador) não foram associados ao bruxismo do sono. Os achados de Vieira-Andrade et al. (2014) revelaram que o bruxismo do sono em crianças de três a cinco anos estava associado à presença de apinhamento no arco inferior, ao hábito de morder objetos, à amamentação prolongada por mais de 12 meses e ao uso da mamadeira por mais de 24 meses. Goettems et al. (2018) investigaram a influência das características maternas e encontraram associação do bruxismo do sono em crianças de 24 a 36 meses com a presença de eventos estressores e episódio maior de depressão materna. A associação entre o cronótipo e o possível bruxismo do sono em crianças de três a cinco anos foi investigada por Ribeiro et al. (2018), que revelaram tendência de associação do perfil noturno em análises univariadas, mas essa característica perdeu associação na análise de regressão múltipla.

Portanto, considerando os estudos prévios, características demográficas como o sexo da criança (MASSIGNAN et al., 2018; SILVA et al., 2017) e a escolaridade dos pais / responsáveis (GOMES et al., 2018; MASSIGNAN et al., 2019; SILVA et al., 2017) parecem não ter associação com a ocorrência de bruxismo do sono em pré-escolares. Por outro lado, a associação do nível socioeconômico, do desgaste dentário e da qualidade do sono, com a ocorrência de bruxismo do sono nessa faixa etária ainda é controversa e precisa ser mais explorada.

Identificação do estudo	Local	Tipo de estudo	Amostra	Resultados principais
Almeida (2016) [tese] “Avaliação da Qualidade de Vida Relacionada à Saúde Bucal de crianças com bruxismo no município de Porto Velho – RO”	Brasil	Transversal	75 crianças de 3 a 5 anos	- 44,4% das crianças tinham bruxismo do sono relatado pelos pais; - Renda familiar mais alta e o uso de chupetas foram associados com o bruxismo do sono; - O bruxismo do sono não teve impacto na qualidade de vida relacionada à saúde bucal das crianças.
Goettems et al. (2018) “Influence of maternal psychological traits on sleep bruxism in children”	Brasil	Transversal aninhado em uma coorte	536 crianças de 24 a 36 meses	- Prevalência de bruxismo relatado pelos pais foi 25,9%; - A ocorrência de bruxismo do sono foi associada com presença de eventos estressores e episódio maior de depressão materna; - Não houve associação com sexo.
Gomes et al. (2018) “Evaluation of the association of bruxism, psychosocial and sociodemographic factors in preschoolers”	Brasil	Transversal	761 crianças de 5 anos	- 26,9% das crianças tinha bruxismo do sono; - O bruxismo do sono foi associado ao desgaste dentário e à má qualidade do sono da criança; - Aspectos psicossociais (senso de coerência) e socioeconômicos (escolaridade da mãe e idade do cuidador) não foram associados ao bruxismo do sono.
Massignan et al. (2019) “Poor sleep quality and prevalence of probable sleep bruxism in primary and mixed dentitions: a cross-sectional study”	Brasil	Transversal	372 crianças de 2 a 5 anos	- Prevalência de bruxismo do sono relatado pelos pais foi 22,3%; - Não houve associação do bruxismo do sono com o sexo, nível socioeconômico, escolaridade do chefe da família, babar-se, desgaste dentário e qualidade do sono.

Ribeiro et al. (2018)					- Prevalência de bruxismo do sono foi de 31%; - Análises univariadas revelaram tendência de associação entre o cronótipo e possível SB. Entre essas crianças com possível SB, apenas 12,5% tinham perfil de manhã e 47,8% tinham perfil de noite, mas a análise de regressão múltipla não demonstrou significância entre essas variáveis.
“Association of possible sleep bruxism in children with different chronotype profiles and sleep characteristics”	Brasil	Transversal	84 crianças de 3 a 5 anos		
Rostami et al. (2020)					Prevalência de bruxismo relatado pelos pais: - Aos 1,5 anos: 7,1% - Aos 2,5 anos: 10,9% - Aos 3,5 anos: 17,6 - Aos 4 anos: 22,4% - 14,1% das crianças apresentaram manifestações crescentes de bruxismo do sono dos 1,5 aos 5 anos.
“High separation anxiety trajectory in early childhood is a risk factor for sleep bruxism at age 7”	Canadá	Longitudinal	1946 crianças de 1,5 anos		
Silva et al. (2017)					- 33% das crianças tinham bruxismo do sono; - Não foi associado ao sexo, idade, escolaridade dos pais / responsáveis e renda familiar; - O bruxismo do sono teve impacto negativo na qualidade de vida relacionada à saúde bucal das crianças.
“Qualidade de vida relacionada à saúde bucal de crianças com bruxismo do sono”	Brasil	Transversal	89 crianças de 2 a 5 anos		
Tachibana et al, 2016					
“Associations of sleep bruxism with age, sleep apnea, and daytime problematic behaviors in children”	Japão	Transversal	1958 crianças de 2 a 4 anos		- Prevalência de bruxismo do sono relatado pelos pais foi de 18,5%.
Vieira-Andrade et al. (2014)					- 14% de prevalência de bruxismo do sono; - Bruxismo do sono foi associado ao apinhamento do arco inferior, ao hábito de morder objetos, à amamentação prolongada por mais de 12 meses e ao uso da mamadeira por mais de 24 meses.
“Prevalence of Sleep Bruxism and Associated Factors in Preschool Children”	Brasil	Transversal	749 crianças de 3 a 5 anos		

Figura 1. Estudos epidemiológicos encontrados na literatura avaliando prevalência e / ou fatores associados à ocorrência de bruxismo do sono em crianças pré-escolares.

A relação entre a ocorrência de bruxismo do sono em pré-escolares e a concentração de cortisol capilar ainda não foi estudada. Além disso, a prevalência desse comportamento em crianças em idade pré-escolar e seus fatores associados ainda não foram suficientemente esclarecidos. Portanto, esse trabalho se propõe a investigar o papel da concentração de cortisol capilar na ocorrência do possível bruxismo do sono e, adicionalmente, determinar a prevalência desse comportamento e sua relação com características demográficas, socioeconômicas e comportamentais, em crianças de 48 meses, pertencentes a uma coorte de nascidos vivos.

2.2 Objetivos

2.2.1 Objetivo geral

Investigar a relação entre possível bruxismo do sono e a concentração de cortisol capilar, em crianças de 48 meses, acompanhadas em uma coorte de nascimentos.

2.2.2 Objetivos específicos

2.2.2.1 Investigar a relação entre possível bruxismo do sono em crianças de 48 meses e a concentração de cortisol capilar;

2.2.2.2 Investigar a relação entre possível bruxismo do sono em crianças e a concentração de cortisol capilar do responsável;

2.2.2.3 Investigar a prevalência de bruxismo do sono em crianças de 48 meses;

2.2.2.4 Determinar a relação entre o bruxismo do sono e características socioeconômicas, demográficas, psicológicas e comportamentais em crianças de 48 meses;

2.3 Hipóteses

2.3.1 A concentração de cortisol capilar da criança influenciará a ocorrência de possível bruxismo do sono;

2.3.2 Crianças cujos cuidadores tem maiores concentrações de cortisol capilar têm mais chances de ter possível bruxismo do sono;

2.3.3 Características socioeconômicas, demográficas, psicológicas e comportamentais influenciam na ocorrência de bruxismo do sono em crianças;

2.4 Produtos da tese

Artigo 1: Relação entre bruxismo do sono e cortisol capilar em pré-escolares: resultados de uma coorte de nascidos vivos no Sul do Brasil

Artigo 2: Prevalência e fatores associados ao bruxismo do sono em crianças de 48 meses pertencentes a uma coorte de nascimentos

2.5 Metodologia

2.5.1 Delineamento

Este estudo é parte integrante da Coorte de nascimentos de Pelotas/RS de 2015. A Coorte de 2015 é um estudo de acompanhamento da saúde de todas as crianças nascidas na zona urbana da cidade de Pelotas entre 1º de janeiro e 31 de dezembro de 2015. O estudo monitora a saúde, o desenvolvimento físico e cognitivo e o contexto socioeconômico dos participantes ao longo da vida. O acompanhamento é realizado desde a gestação, em diferentes etapas. Até o presente momento foram realizadas seis etapas do acompanhamento, sendo elas: (1) pré-natal (abril 2014 a setembro de 2015); (2) perinatal, logo após o nascimento, ainda no hospital (janeiro a dezembro de 2015); (3) aos três meses de idade (abril

de 2015 a abril de 2016); (4) aos 12 meses de idade (janeiro a dezembro de 2016); (5) aos vinte e quatro meses de idade (janeiro a dezembro de 2017); e (6) aos 48 meses de idade (janeiro a dezembro de 2019).

2.5.2 População alvo

A amostra deste estudo inclui todas as crianças nascidas nas seis maternidades na cidade de Pelotas/RS no ano de 2015, cujas mães eram residentes na zona urbana de Pelotas e no bairro Jardim América (Capão do Leão/RS). Foram consideradas elegíveis para o acompanhamento da Coorte de 2015 o total 4.387 crianças, tendo sido acompanhadas em diferentes etapas: (1) pré-natal: 3.200 gestantes; (2) perinatal: 4.275 bebês; (3) três meses de idade: 4.110 bebês; (4) 12 meses de idade: 4.018 bebês; (5) 24 meses de idade: 4.014 crianças; (6) 48 meses de idade: 4.010 crianças. São objetos desse estudo as crianças que participaram do acompanhamento aos 48 meses de vida.

2.5.3 Coleta de dados

A coleta de dados iniciou-se ainda no pré-natal (etapa 1), com a realização de uma entrevista aplicada às 3.200 gestantes com parto previsto para o ano de 2015. A captação das gestantes ocorreu em locais de possível concentração, como laboratórios de análises clínicas, clínicas de ultrassonografia, policlínicas, unidades básicas de saúde, ambulatórios de hospitais e universidades, e consultórios médicos particulares.

No acompanhamento perinatal (etapa 2) foram elegíveis 4.387 bebês, dos quais foram identificados 54 natimortos, restando 4.329 bebês elegíveis. Essa etapa foi realizada ainda na maternidade e houveram sete perdas e 51 recusas, tendo sido acompanhados 4.275 bebês (taxa de resposta de 98,7%). O acompanhamento aos 48 meses (etapa 6) é descrito a seguir por ser de interesse deste projeto de tese. Maiores detalhes da metodologia e outras etapas de acompanhamento podem ser encontrados em Hallal et al. (2018).

O acompanhamento aos 48 meses foi realizado no Centro de Pesquisas em Epidemiologia (CPE) da UFPel e, quando o comparecimento no CPE não foi possível, uma equipe foi deslocada até o domicílio. Essa fase foi realizada no período entre janeiro e dezembro de 2019, respeitando a janela de tempo de dois dias antes do aniversário da criança até 60 dias após. Nessa etapa do estudo foram realizadas: (a) uma entrevista com as mães/responsáveis legais, incluindo questões sobre cuidados e saúde da criança e características da família e do domicílio, (b) avaliação de interação entre a mãe e a criança, (c) testes psicológicos relacionados ao desenvolvimento infantil, realizados com a criança em uma sala separada à sala da mãe, (d) um exame bucal da criança, (e) coletas de saliva (para crianças que não realizaram coleta no acompanhamento anterior) e coleta de cabelo da criança e da mãe, (f) medidas antropométricas, e (g) acelerometria. Nesse acompanhamento 4.010 crianças participaram (taxa de resposta 95,4%) e foram identificados 67 óbitos, 89 perdas e 109 recusas.

2.5.3.1 Coleta de cabelo

Amostras de cabelo foram coletadas no acompanhamento aos 48 meses para avaliar o estresse crônico, mensurado pela exposição sistêmica ao cortisol. Um manual foi desenvolvido para padronização da coleta (Anexo A). Foi definida a coleta de uma mecha de cabelo da região da cabeça conhecida como coroa. A mecha deveria conter aproximadamente 50 a 80 fios (metade do diâmetro de um lápis) e medir aproximadamente 3cm de comprimento, e o corte deveria ser feito o mais próximo possível da raiz do cabelo. A coleta foi realizada utilizando um kit contendo tesoura, papel toalha para higienização da tesoura, cartão de papel e saco ziplock (para armazenar a amostra de cabelo), clips de cabelo, barbante para amarrar a mecha a ser coletada, clips de escritório para fixar amostra de cabelo no cartão de papel, pente e etiquetas de papel comum para identificação provisória (Figura 2). Ao final, uma ficha de identificação e observações da coleta, como, tamanho de cabelo, dificuldades, imprevistos ou qualquer informação não prevista no protocolo e julgada relevante para o procedimento, foi preenchida pela entrevistadora. No dia seguinte, o material foi recolhido por um responsável e encaminhado ao laboratório, onde foi identificado com etiquetas definitivas e

acondicionado em sacos ziplock contendo saquinhos de sílica gel (Figura 3), para preservar o material coletado de possíveis danos (umidade e mofo) até que seja realizada a análise do material.



Figura 2 – Fotografia do kit para coleta de cabelo.
FONTE: Coorte de Nascimentos de 2015 (dados não publicados).

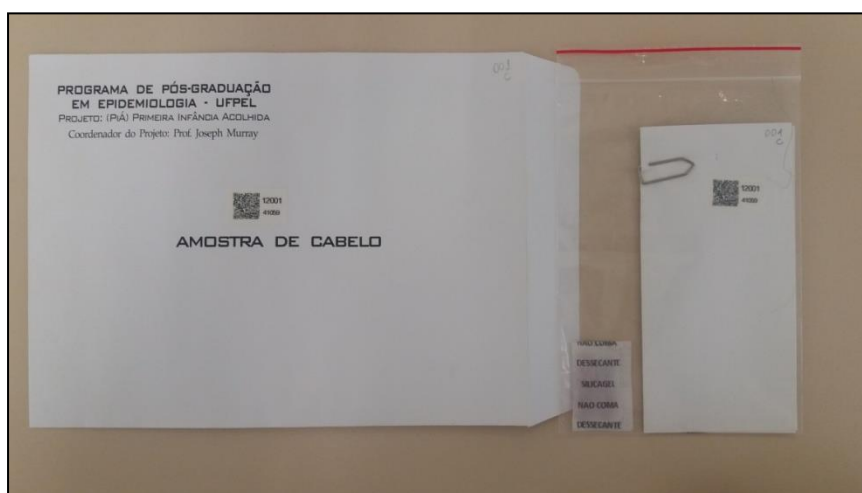


Figura 3 – Fotografia de amostra de cabelo acondicionada em saco ziplock contendo saquinho de sílica gel. FONTE: Coorte de Nascimentos de 2015 (dados não publicados).

2.5.4 Padronização dos exames

Para cada uma das etapas do acompanhamento as entrevistadoras selecionadas receberam treinamento teórico-prático e passaram por um processo de calibração. As mesmas entrevistadoras que aplicaram os questionários também realizaram a coleta de cabelo, utilizando os critérios padronizados já descritos.

2.5.5 Definição operacional das variáveis

2.5.5.1 Variável desfecho - possível bruxismo do sono

A ocorrência do possível bruxismo do sono será coletada da entrevista realizada com as mães e/ou responsáveis legais, a partir de duas questões, aplicadas no acompanhamento aos 48 meses: (a) “O(A) <CRIANÇA> aperta ou range os dentes enquanto dorme? (0) nunca; (1) às vezes 1; (2) todas as noites; ou (9) ignorado” e, (b) “O(A) <CRIANÇA> faz sons com os dentes enquanto dorme? (0) nunca; (1) às vezes 1; (2) todas as noites; ou (9) ignorado”. As respostas para ambas as questões serão dicotomizadas em “não” (nunca) e “sim” (às vezes; todas as noites). O possível bruxismo do sono será considerado presente quando a resposta para pelo menos uma das questões for “sim” (GOETTEMS et al., 2018; ROSTAMI et al., 2020).

2.5.5.2 Variáveis exposições

2.5.5.2.1 Principal variável independente - cortisol capilar

As concentrações de cortisol capilar da criança e da mãe/ responsável serão expressos em picogramas por miligramas (pg/mg) e os resultados serão fornecidos usando a mediana (mínimo/ máximo), média e desvio padrão.

2.5.5.2.2 Características sociodemográficas, psicológicas e comportamentais

As variáveis independentes serão construídas através das informações obtidas das entrevistas (Anexo B) e estão descritas na tabela 1. Os questionários aplicados em todos os levamentos estão disponíveis no site do Centro de Pesquisas Epidemiológicas, no endereço eletrônico <http://www.epidemiologia.fpel.org.br/site/content/coorte_2015/questionarios.php>.

O estresse materno percebido será avaliado por meio da *Perceived Stress Scale* (PSS) (Cohen et al., 1983; Faro, 2015) (Anexo C). Esse questionário é composto por 10 itens que avaliam o quanto as participantes consideram sua vida imprevisível, incontrolável e sobrecarregada nos últimos meses e as respostas são dadas em uma escala Likert (0 = nunca; 1 = quase nunca; 2 = às vezes; 3 = quase sempre e 4 = sempre). O estresse percebido é calculado pela soma dos escores de todas as respostas e categorizado como baixo estresse (0-13 pontos), moderado estresse (14-26 pontos) e alto estresse (> 26 pontos).

A presença de problemas emocionais e comportamentais nas crianças será avaliada por meio do Questionário de Forças e Dificuldades (SDQ) (Goodman, 2001; Saur, 2012; Woerner, 2004). Esse instrumento rastreia problemas de saúde mental por meio de aspectos comportamentais e é composto por 25 itens, divididos em cinco subescalas: sintomas emocionais, problemas de conduta, hiperatividade/desatenção, problemas de relacionamento com pares e comportamento pró-social. As respostas são dadas em uma escala Likert de 3 pontos (0 = não é verdade, 1 = um pouco verdadeiro, 2 = definitivamente verdadeiro). Pontuações mais altas indicam dificuldades, exceto para a subescala de comportamento pró-social, para a qual uma pontuação alta indica força. A soma das pontuações de todas as subescalas, exceto a subescala de comportamento pró-social, determina a pontuação geral, ou pontuação de “dificuldades totais”, que varia de 0 a 40 pontos e permite classificar a criança em três categorias: desenvolvimento normal (0 a 13 pontos), limítrofe (14-16 pontos) ou anormal (> 16 pontos).

Tabela 1. Categorização das variáveis exposições coletadas dos questionários.

Variável	Tipo	Categoria/ código
Acompanhamento aos 48 meses		
Sexo da criança	Categórica nominal	Masculino = 1 Feminino = 2
Escolaridade materna	Categórica ordinal	0-10 anos = 0 ≥ 11 anos = 1
Renda familiar	Categórica ordinal	Tercis de salário mínimo brasileiro
Número de residentes na casa	Categórica nominal	≤ 4 = 0 > 4 = 1
Uso de aparelhos eletrônicos	Categórica nominal	< 2 horas = 0 ≥ 2 horas = 1
Estresse materno percebido	Categórica nominal	Baixo = 0 Moderado = 1 Alto = 2
Comportamento infantil	Categórica nominal	Normal = 0 Limítrofe = 1 Anormal = 2

2.5.6 Análise estatística

Os dados serão analisados no software Stata versão 14.0 (Stata Corporation, College Station, Texas, USA). As frequências absolutas e relativas serão avaliadas por meio de análise descritiva e as associações entre a variável desfecho e as variáveis de exposição serão testadas utilizando análise bivariada a fim de caracterizar a amostra.

A associação entre a frequência de possível bruxismo do sono e a concentração de cortisol, controlando para variáveis sociodemográficas, psicológicas e comportamentais, será determinada através de análise multivariada utilizando modelos de regressão de Poisson com variância robusta, apresentando as razões de prevalência (RP), com estimativa do intervalo de confiança de 95% e adotando um $p < 0,05$ como estatisticamente significativo. Somente as variáveis com valor de $p < 0,20$ na análise bruta, juntamente com a concentração de cortisol capilar (principal variável independente), serão incluídas no modelo multivariado, e aquelas com valor de $p < 0,05$ após ajustes serão consideradas significativamente associadas com possível bruxismo do sono.

2.5.7 Implicações éticas

Os levantamentos realizados na Coorte de 2015 foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da UFPEL sob o protocolo número 717.271/2014 (Anexo D). Todas as mães / responsáveis assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido em todas as etapas do estudo, consentindo a sua participação e de seus filhos.

2.6 Orçamento

O orçamento para o desenvolvimento do projeto “Bruxismo do sono nos primeiros quatro anos de vida: resultados de uma coorte no Sul do Brasil” está descrito na Tabela 2.

Tabela 2. Previsão orçamentária para o desenvolvimento do projeto Bruxismo do sono nos primeiros quatro anos de vida: resultados de uma coorte no Sul do Brasil”.

Descrição do item	Quantidade	Valor unitário (R\$)	Valor Total (R\$)
Custo dos levantamentos de campo	-	-	1.000.000*
Revisão linguística dos artigos	2	600,00	1.200**
Divulgação em congresso	1	-	1.000**
TOTAL			1.002.200

*Financiado pela Fundação Wellcome Trust

**Recursos da pesquisadora

2.7 Cronograma

O cronograma de desenvolvimento do projeto “Bruxismo do sono nos primeiros quatro anos de vida: resultados de uma coorte no Sul do Brasil” está descrito na Figura 4.

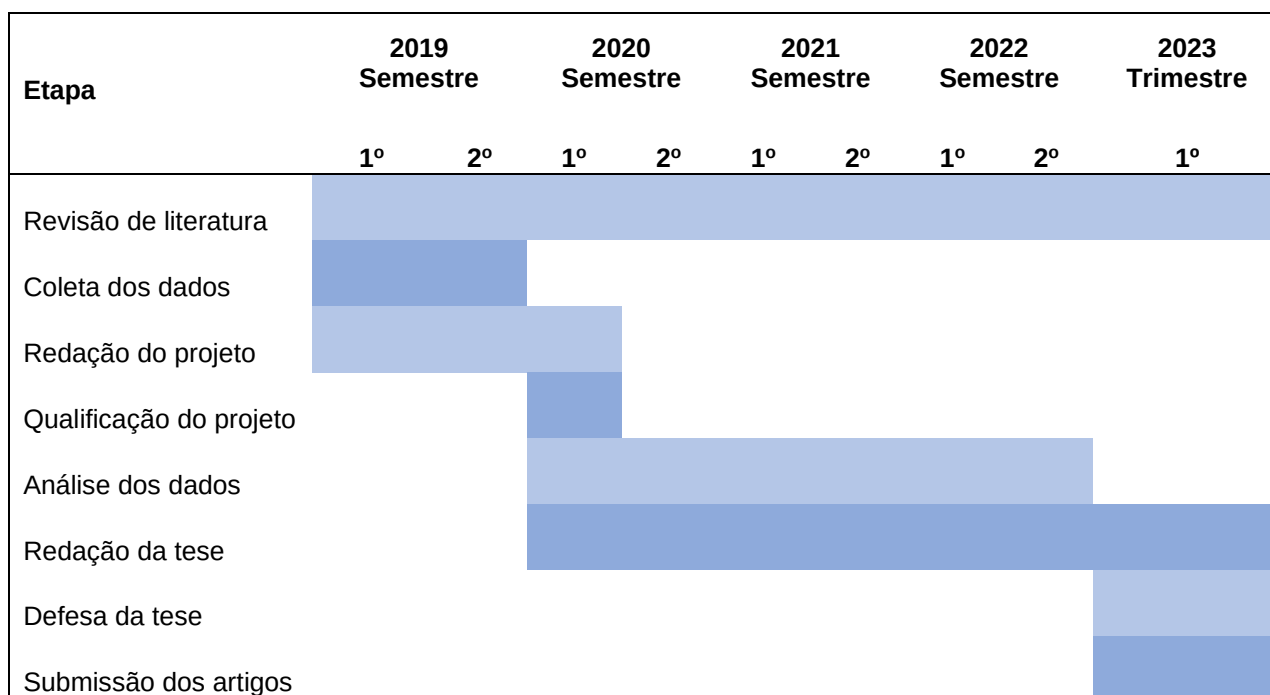


Figura 4 – Cronograma para o desenvolvimento do projeto “Bruxismo do sono nos primeiros quatro anos de vida: resultados de uma coorte no Sul do Brasil”.

3 Relatório do trabalho de campo

Neste capítulo estão descritas informações adicionais sobre metodologia do acompanhamento aos 48 meses da Coorte de 2015 de Nascimentos de Pelotas, o trabalho de campo realizado pela autora desta tese (LAP) e as modificações em relação ao projeto original. Outras informações metodológicas estão descritas no capítulo anterior (Projeto de Pesquisa) e/ou nos capítulos subsequentes.

3.1 Metodologia do acompanhamento aos 48 meses – informações adicionais

3.1.1 Realização e coordenação

O acompanhamento aos 48 meses foi a sexta etapa de acompanhamento da coorte de nascimentos de 2015 e foi realizado entre janeiro e novembro de 2019. Antes do início do trabalho de campo um estudo piloto foi realizado com toda a equipe durante dois dias. Coordenaram esta etapa do acompanhamento: Prof^a Mariângela Freitas da Silveira, Prof. Joseph Murray e Prof^a Andréa Homsí Dâmaso, do Programa de Pós-graduação em Epidemiologia (PPGE) da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), juntamente com o Prof. Marlos Rodrigues Domingues, da Escola Superior de Educação Física (ESEF) da Universidade Federal de Pelotas.

3.1.2 Entrevistas

As entrevistas foram realizadas por 32 entrevistadoras (16 duplas - entrevistadora de mãe e entrevistadora de criança), divididas em dois turnos de 6h de trabalho por dia (8h30 às 14h30 e 14h30 às 20h30), previamente treinadas e calibradas. A seleção das entrevistadoras participantes do estudo considerou o seu desempenho durante o processo de avaliação. Ao longo do levantamento foram realizadas 7 novas contratações, devido a desistência de 4 entrevistadoras e a necessidade de aumentar a equipe para realizar entrevistas domiciliares.

Previamente ao início do trabalho de campo todas as entrevistadoras participaram de uma etapa de treinamento e calibração. Um processo de reciclagem e calibração com as entrevistadoras selecionadas foi realizado no início do trabalho de campo para a retomada das instruções do manual de campo e entrega de materiais. As entrevistas foram realizadas em questionários e registradas em tablets.

A coleta de dados foi realizada na clínica médica do Centro de Epidemiologia da UFPel Dr. Amilcar Gigante, com agendamento prévio, em três turnos (manhã, tarde e noite). Quatro salas foram equipadas para realização das entrevistas. Os dados contidos nesta tese foram coletados no formato de questionário/ entrevista (Anexo B). Ao final da entrevista a criança recebia um livro de pintar e giz de cera com o logo da Coorte de 2015 (Figura 5) como lembrança pela participação na pesquisa.



Figura 5. Brinde oferecido às crianças participantes.

3.1.3 Coletas de cabelo

As coletas de cabelo foram realizadas pelas próprias entrevistadoras, nas salas de entrevista. Elas receberam um treinamento teórico-prático, de acordo com um manual para coleta (Anexo A), onde o método de coleta e armazenamento de cabelo foi explicado, seguido de parte prática, onde realizaram o corte de cabelos entre elas.

Instruções detalhadas foram seguidas para o corte de cabelo para obtenção do cortisol: (a) higienizar a tesoura, (b) se o cabelo estiver molhado ou úmido, secar o cabelo; (c) identificar o vértice posterior da cabeça e amarrar aproximadamente 100 mechas de cabelo com um barbante; (d) colocar a tesoura o mais próximo possível do couro cabeludo e cortar o cabelo. Se o cabelo fosse muito curto no vértice (24,8% das crianças e 1,8% das mães), a orientação era recolher o cabelo do tufo; se o cabelo fosse muito curto também no tufo, então o cabelo era coletado em várias partes da cabeça para obter fios de cabelo suficientes para análise (os níveis de cortisol não diferiram comparando o cabelo coletado no vértice ou outras partes da cabeça: $p = 0,311$ para crianças e $p = 0,243$ para mães). Em seguida, a amostra de cabelo era armazenada dentro de uma placa Bristol, com identificação da ponta do cabelo que mais se aproximava do couro cabeludo, e esses materiais eram lacrados dentro de um saco Ziploc.

O processamento das amostras de cabelo foi realizado no laboratório do PPGE-UFPel, seguindo um protocolo padronizado para lavagem, trituração, extração de hormônios e quantificação de cortisol dos cabelos. Primeiramente, os 3 centímetros do cabelo cortado mais próximo ao couro cabeludo eram medidos e colocados em um tubo de centrifuga falcon de 50 ml, lavado com 12 ml de isopropanol e agitado manualmente por 2 minutos (após o qual o isopropanol foi descartado) - esse procedimento foi realizado duas vezes. Quando estavam completamente secas, as amostras foram moídas em moinho (Retsch NM400). Para extração de cortisol, cerca de 35 mg de pó de cabelo moído mais 1 ml de etanol absoluto foram agitados por 48 horas (Orbit LS Labnet) e depois agitados em vortex. Em seguida, a amostra era centrifugada a 12.000 rpm na centrífuga (Sigma), e o sobrenadante era extraído e mantido em um tubo separado. Mais 1 ml de etanol absoluto era colocado no tubo original e, após mais 48 horas de agitação no vórtex,

o sobrenadante foi transferido para o tubo contendo o primeiro sobrenadante. Esses tubos foram mantidos secando por 5 dias, até secarem completamente. As amostras foram suspensas em 150µl de diluente de ensaio por 24 horas e depois analisadas em duplicata por ELISA, usando o Kit de Imunoensaio de Cortisol Salivar de Alta Sensibilidade (Cat# 1–3002, Salimetrics, Pensilvânia), de acordo com as instruções do fabricante. Os níveis de cortisol foram medidos usando um leitor de placas ELISA (Spectramax 190) e foram expressos em pg/mg. Os coeficientes de variância intra e interensaio ficaram abaixo de 10%.

3.1.4 Controle de qualidade

Semanalmente foram realizados sorteios sistemáticos em 10% da amostra para a realização do controle de qualidade (CQ), sendo metade deles realizados através de ligação telefônica e outra metade de forma presencial, com entrevistas nos domicílios das mães e crianças, com a aplicação de um questionário contendo quinze questões, realizado por uma entrevistadora devidamente treinada para essa função. Reuniões semanais eram realizadas com a equipe, para discutir e encaminhar resoluções para as pendências observadas e, quinzenalmente, nessas reuniões, os dados dos CQ eram analisados.

Duas vezes por semana as entrevistas contidas nos tablets eram descarregados pelas entrevistadoras com o supervisor plantonista e, quando necessário, eram realizadas atualizações dos tablets. Neste dia também eram entregues os termos de consentimento e possíveis inconsistências no banco de dados eram esclarecidas.

Controle de qualidade também foi realizado para o corte de cabelo. Uma supervisora do laboratório irá acompanhava diariamente o processo. Quando havia dificuldade de coletar o cabelo, como em cabelos muito curtos por exemplo, a supervisora do laboratório auxiliou na coleta. A análise laboratorial do cortisol foi realizada em duplicata.

3.1.5 Resultados gerais

A amostra de coorte original incluiu 4.275 bebês. No acompanhamento aos 48 meses foram elegíveis 4.208 crianças (67 participantes foram identificados como falecidos). Neste acompanhamento foram realizadas 4.010 entrevistas, e foram identificadas 89 perdas e 109 recusas. O percentual de acompanhamento foi de 95,4%. A amostra final desta tese compreendeu 3.997, devido a ausência da informação sobre bruxismo do sono para 13 crianças.

3.1.6 Orçamento e financiamento

As primeiras fases do estudo foram financiadas pelo Wellcome Trust (095582). Também recebeu financiamento do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) e da Pastoral da Criança no acompanhamento de vinte e quatro meses; e FAPERGS – PPSUS, Wellcome Trust (210735_Z_18_Z), e FAPERGS – PPSUS e Bernard van Leer Foundation (BRA-2018–178) pelo acompanhamento de 4 anos. Além disso, este trabalho conta com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Código Financeiro 001.

3.2 Trabalho de campo

A autora desta tese (LAP) participou do trabalho de campo integrando a equipe da saúde bucal, na função de dentista examinadora. No acompanhamento aos 48 meses foi realizado o primeiro levantamento de saúde bucal das crianças participantes da Coorte de 2015. Este acompanhamento teve como coordenadores os professores Dr. Flávio Fernando Demarco e Prof. Dr. Marcos Britto Correa (coorientadores desta tese), e colaboração da professora Dra Marília Leão Goettems (orientadora desta tese) e da professora Dra Marina Sousa Azevedo, do Programa de Pós-graduação em Odontologia da Universidade Federal de Pelotas (PPGO-UFPeL).

A equipe de trabalho de campo foi composta por 12 dentistas, alunos de pós-graduação, nível mestrado e doutorado, do PPGO-UFPeI, previamente treinados e calibrados. O levantamento de saúde bucal aconteceu no período de janeiro a novembro de 2019. Neste ano a autora LAP era bolsista do PPGO-UFPeI e não recebeu remuneração pelo trabalho de campo realizado nas dependências do CPE, assim como os demais bolsistas. A participação no trabalho de campo foi requisito para acesso ao banco de dados e utilização em teses e dissertações.

Os exames bucais eram realizados, rotineiramente, no CPE-UFPeI. No entanto, para aquelas famílias impossibilitadas de comparecer ao CPE-UFPeI, exames bucais domiciliares foram agendados e realizados por duas dentistas da equipe, incluindo a autora LAP (Figura 6).



Figura 6. Autora LAP em visitas domiciliares para realização de exames bucais.

3.3 Modificações do projeto original

Uma modificação foi realizada na análise estatística. Um gráfico acíclico direcionado (DAG), desenvolvido usando o software DAGitty, foi utilizado previamente à análise estatística, para selecionar possíveis covariáveis para a análise da associação entre o possível bruxismo do sono e a concentração de cortisol no cabelo da criança. O modelo estruturado incluiu variáveis consideradas potencialmente relevantes para prever o bruxismo do sono na amostra.

4 Artigo ¹

Sleep bruxism and hair cortisol in preschool children: A Brazilian birth cohort study

Laís Anschau Pauli^a, Joseph Murray^b, Luciana Tovo Rodrigues^b, Marcos Britto Correa^a, Flavio Fernando Demarco^{ab}, Fernando Barros^b, Marlos Rodrigues^b, Marília Leão Goettems^a

^a Federal University of Pelotas, Post-Graduate Program in Dentistry, School of Dentistry, Pelotas, RS, Brazil

^b Federal University of Pelotas, Post-Graduate Program in Epidemiology, Pelotas, RS, Brazil

Marília Leão Goettems
Federal University of Pelotas
Department of Social and Preventive Dentistry
School of Dentistry
457, Gonçalves Chaves St. 4th floor
Pelotas, RS, 96015-560, Brazil
Phone/fax: +55 53 32226690
E-mail: marilia.goettems@gmail.com

¹ Artigo formatado para a revista Sleep Medicine

Sleep bruxism and hair cortisol in preschool children: A Brazilian birth cohort study

Abstract

Aim: To investigate the relationship between possible sleep bruxism (SB) and hair cortisol as a marker of chronic stress in a population-based sample of 48-month-old children in a Brazilian city.

Methods: Data from the 48-month follow-up of the 2015 Pelotas Birth Cohort Study were used (n=3,997). Possible sleep bruxism was based on caregivers' reports. Hair samples from children and mothers were collected by trained fieldworkers to analyze average levels of cortisol over a 3-month period. Socioeconomic, demographic, psychological and behavioral characteristics were provided by guardians through questionnaires. Initially, descriptive analyzes were carried out. Poisson regression with robust variance was used to assess the effect of hair cortisol concentration on the occurrence of possible SB. A directed acyclic graph was used in the statistical model.

Results: Prevalence of possible SB was 21.21% (n = 848). Hair cortisol concentration was not associated with the occurrence of SB in children (PR = 1.00; 95% CI 0.99-1.01). Presence of SB was associated with higher maternal education level (PR = 1.20; 95% CI 1.00-1.43), higher family income (PR = 1.28; 95% CI 1.03-1.58), excessive use of electronic devices (PR = 1.30; 95% CI 1.05-1.62) and abnormal child behavior (PR = 1.35; 95% CI 1.12-1.64). Female gender (PR = 0.79; 95% CI 0.68-0.91) was associated with a lower frequency of possible SB.

Conclusion: Sociodemographic factors and children's behavior were associated with the occurrence of SB in children in this sample. However, SB was not associated with chronic stress as measured by capillary cortisol concentration in this sample.

Keywords: Cohort study, Sleep bruxism, Stress, Hair cortisol, Preschool children

Introduction

Bruxism is defined as a repetitive and involuntary activity of the jaw muscles, characterized by clenching or grinding of the teeth, which can occur during wakefulness or during sleep (sleep bruxism) (LOBBEZOO et al, 2018; MANFREDINI et al, 2017; AMERICAN ACADEMY OF SLEEP MEDICINE, 2014). Prevalence of sleep bruxism (SB) in children ranges from 3.40-49.60% (FERRARI-PILONI et al., 2022; MACHADO et al., 2014; MANFREDINI et al., 2013). In healthy individuals, bruxism should not be considered a movement disorder or a sleep disorder, but a motor behavior, of multifactorial etiology, which can be harmless or, even, a risk factor or a protective factor for other clinical conditions (LOBBEZOO et al, 2018; MANFREDINI et al, 2017). Possible negative repercussions include wear and tear, damage to the periodontium, articular muscles and temporomandibular joints, as well as pain and disturbed sleep (AMERICAN ACADEMY OF SLEEP MEDICINE, 2014).

It is well established that sleep bruxism originates from central (pathophysiological and psychological) and not peripheral (morphological) factors, and that its pathophysiology involves the dopaminergic system, altering its physiological parameters (LOBEZZO; NAEIJE, 2001), and is therefore molded by neurotransmitters in the central nervous system (MANFREDINI al., 2017). The current literature converges to the multifactorial etiology of bruxism, with genetic (GUO et al., 2018; TAKAOKA et al., 2017; AMATO et al., 2015; ORTEGA et al., 2014), behavioral (RESTREPO; SANTAMARÍA; MANRIQUE, 2021; ALMEIDA, 2016; SERRA-NEGRA et al., 2014; VIEIRA-ANDRADE et al., 2014), and environmental aspects (BACH et al., 2019; GOETTEMMS et al., 2018; ALMEIDA, 2016), influencing or modulating its occurrence. Among the psychosocial factors, which play a large role in the occurrence of bruxism, the influence of stress has received special interest (FLUERASU et al., 2019). Studies using self-report instruments to determine stress found that adult subjects with bruxism were significantly more anxious or more stressed (KOLAK et al., 2022; FLUERASU et al., 2019; AHLBERG et al., 2002). In children, high levels of stress and responsibility have also been reported to increase the chance of sleep bruxism (SERRA-NEGRA et al., 2013). Sampaio et al. (2018), however, did not found an association between child's SB and maternal or child's psychological stress.

Salivary cortisol concentration as a stress biomarker and its association with bruxism has been investigated. In adult subjects, a meta-analysis concluded that there is a positive association between bruxism and higher levels of salivary cortisol upon waking (FRITZEN et al., 2022). In the child population, however, studies are scarce and showed controversial results. While one study found increased salivary cortisol levels in children with SB (BACH et al., 2019), in another study (CASTELO et al., 2012), children with SB had lower concentrations of salivary cortisol upon waking up. The meta-analysis that evaluated these two studies did not find a significant difference in salivary cortisol levels upon waking up in children with or without sleep bruxism, suggesting the absence of evidence that proves a direct relationship between sleep bruxism and psychological stress measured by concentration of salivary cortisol (FRITZEN et al., 2022).

Cortisol is a hormone whose secretion is intensified with increased activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis in the face of a stressful situation (AGUILAR CORDERO et al., 2014), being considered the stress hormone (JORGE et al., 2010). Noteworthy, cortisol evaluated through saliva samples provides information about acute cortisol levels (in terms of minutes or hours), while hair cortisol reflects cumulative stress exposure (over a period of months), being a relatively new biomarker of chronic stress (KAO et al., 2018).

The relationship between sleep bruxism and chronic stress evaluated by hair cortisol concentration has not yet been investigated (FRITZEN et al., 2022), and may contribute to current knowledge about the association of stress with sleep bruxism. Considering that bruxism is a chronic condition, in which the patient is exposed to various stressors over a period of time (SALGUEIRO et al., 2021), it may be interesting to evaluate this association. Therefore, the aim of the present study was to investigate the relationship between the occurrence of possible sleep bruxism and hair cortisol concentration as a marker of chronic stress in 48-month-old children participating in a birth cohort.

Methods

Study design and sample population

This study was reported as per the STROBE (Strengthening the Report of Observational Studies in Epidemiology) guidelines for observational studies (VANDENBROUCKE et al., 2014). This cross-sectional study was carried out with nested in the 2015 Pelotas Birth Cohort. Pelotas is a medium-sized city, with around 350,000 people, located in southern Brazil (IBGE, 2020). This birth cohort monitors the health, physical and cognitive development, and socioeconomic context of all children born alive in the hospitals in the urban area of the city of Pelotas in 2015, whose mothers lived in the city's urban area, in the city's fishing colony, or in the Jardim América suburb of the neighboring city of Capão do Leão. Assessments were performed during pregnancy, at birth (perinatal), at 3 months of age, 12 months, 24 months and at 48 months of age. More detailed information about the 2015 Birth Cohort methodology can be obtained elsewhere (HALLAL et al., 2018).

Considering the eligible areas of the city, 4,387 children were born; 54 were stillborn, and the remaining 4,333 constituted the study's target population. Refusals accounted for 51 parents and seven births were not captured by the study teams. Then, the original cohort sample included 4,275 newborns (98.7% of the target population). This study was performed with children at 48 months follow-up, when 67 participants identified as deceased, 4,010 children were evaluated (mean age = 3.8 ± 0.2 years), (95.3% follow-up rate).

All evaluation stages of the cohort from 0 to 48 months were approved by the Research Ethics Committee of the School of Physical Education of the Federal University of Pelotas (at 4 years: #26746414.5.0000.531), and for specific measures, including cortisol at 48 months, received additional approval from the Research Ethics Committee of the Faculty of Medicine, also from the same University (#03837318.6.0000.5317). In addition, caregivers provided written authorization through informed consent obtained at each follow-up stage.

Data collection

Outcome

Assessment of possible sleep bruxism

The diagnosis of possible sleep bruxism was based on the criteria of the international consensus (LOBBEZOO et al., 2018), using the parental report, collected by means of two questions answered by the guardian in the follow-up at 48 months of age: (a) “Does the <CHILD> clench or grind their teeth while sleeping? (0) never; (1) sometimes 1; (2) every night; or (9) ignored” and, (b) “Does <CHILD> make teething noises while sleeping? (0) never; (1) sometimes 1; (2) every night; or (9) ignored”. The answers to both questions were dichotomized into “no” (never) and “yes” (sometimes; every night) and possible sleep bruxism was considered present when the answer to at least one of the questions was “yes” (GOETTEMES et al., 2018; ROSTAMI et al., 2020).

Main independent variable

Assessment of hair cortisol concentration of the child

The hair cortisol concentration of the child was evaluated from hair samples collected in the follow-up at 48 months of age by a trained researcher, using standardized collection criteria, which include instrument hygiene, size and location of the hair lock. Cortisol concentration were expressed in picogram per milligram (pg/mg). Intra- and intraassay coefficients of variance were below 10%. More details on hair sample collection and laboratory analysis of cortisol concentration were described in another study (MARTINS et al., 2023).

Covariates

The hair cortisol concentration of the mother was also evaluated from hair samples collected in the follow-up at 48 months of age by a trained researcher, using the standardized collection criteria used for children (MARTINS et al., 2023).

Guardians were interviewed and provided socioeconomic, demographic, psychological and behavioral characteristics. Only the gender (male/female) of the

child was collected at the perinatal follow-up, all other characteristics were provided at the follow-up at 48 months of age. Maternal level of education was collected as the number of years of formal education completed and dichotomized into incomplete secondary education (0-10 years) and complete secondary education (≥ 11 years). Family income was collected as the sum of earnings of all family members in the last months, in Brazilian currency (Real) and categorized into tertiles of the Brazilian minimum wage (BMW) (0-1.90; 1.91-3.60; ≥ 3.61). Caregivers answered how many people lived in the house, dichotomized into ≤ 4 people and > 4 people.

The time spent using electronics was collected in hours and evaluated according to the Academy of Pediatrics definition, being considered normal for children who use it for less than 2 hours and excessive when using it for more than 2 hours a day (RADESKY et al. al., 2020). Perceived maternal stress was assessed using the Perceived Stress Scale (PSS) (COHEN et al., 1983; FARO, 2015), a 10-item questionnaire that seeks to identify how much the participants consider their life unpredictable, uncontrollable and overloaded in the last month. The responses to the items for evaluating situations considered stressful are Likert scale, with options ranging from zero to four points (0 = never; 1 = almost never; 2 = sometimes; 3 = almost always and 4 = always). The perceived stress is given by the sum of the scores of all responses and ranges and categorized as low stress (0-13 points), moderate stress (14-26 points) and high stress (> 26 points). The presence of emotional and behavioral problems in children was assessed using the Strengths and Difficulties Questionnaire (SDQ) (SAUR; LOUREIRO, 2012; WOERNER et al., 2004; GOODMAN, 2001), an instrument that tracks mental health problems by through behavioral aspects. This questionnaire consists of 25 items, divided into five subscales: emotional symptoms, conduct problems, hyperactivity/inattention, relationship problems with peers and prosocial behavior. Each item in the questionnaire receives a specific score according to a 3-point Likert scale (0 = not true, 1 = somewhat true, 2 = definitely true). Higher scores indicate difficulties, except for the prosocial behavior subscale, for which a high score indicates strength. The sum of scores for all subscales, except the prosocial behavior subscale, determines the overall score, or “total difficulties” score, which ranges from 0-40 points and allows the child to be classified into three categories: developmental normal (0-13 points), borderline (14-16 points) or abnormal (> 16 points).

Statistical analysis

Prior to the statistical analysis, a directed acyclic graph (DAG) (VELENTGAS et al., 2013) was used to select possible covariates for the analysis of the association between possible sleep bruxism and the child's hair cortisol concentration. The structured model included variables considered potentially relevant to predict sleep bruxism. The following confounding variables were incorporated to be controlled in the final model: child's gender; family income, number of residents in the household, use of electronics, child behavior, maternal stress and maternal hair cortisol concentration (Figure 1). The DAG was developed using the DAGitty software.

Analyzes were performed using the Stata Statistical Software, version 14.0 (Stata Corporation, College Station, Texas, USA). The outcome variable was the frequency of sleep bruxism. Initially descriptive analyzes were performed. The association between the frequency of possible sleep bruxism and cortisol concentration, controlling for sociodemographic, psychological and behavioral variables, was evaluated using Poisson regression. Poisson regression results were provided using prevalence ratios (PR), 95% confidence intervals (CI) and p values. All variables with a p-value < 0.20 in the crude analysis, together with hair cortisol concentration of the child (main independent variable), were incorporated into the multivariate model, and those with a p-value < 0.05 after adjustments were considered significantly associated with probable SB.

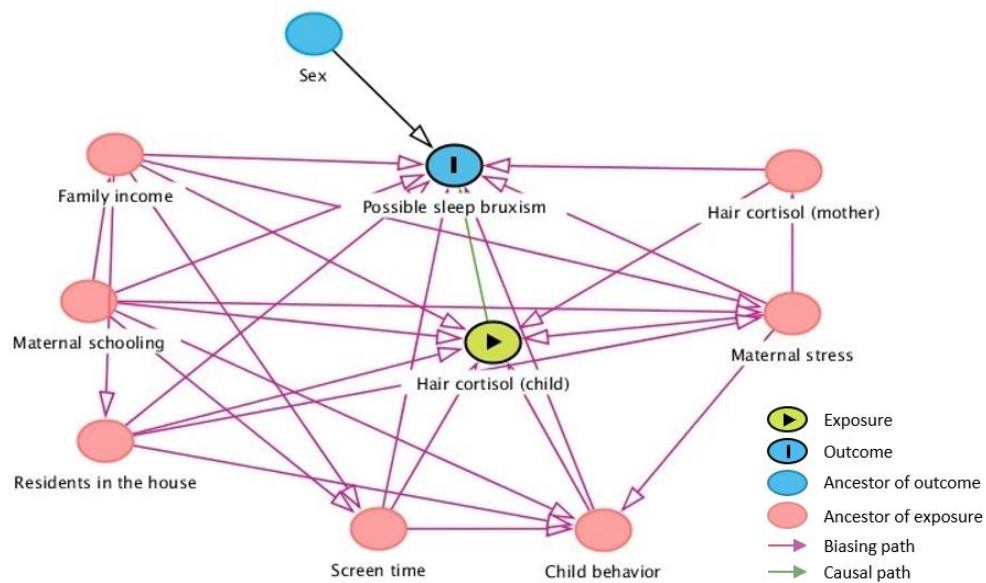


Figure 1. Directed acyclic graph (DAG) of socioeconomic, demographic, psychological and behavioral variables related to possible sleep bruxism in 48-month-old children. The following components make up the DAG: outcome (dependent variable), exposure (main independent variable) and ancestors (independent variables considered as direct or indirect causes of a particular variable).

Results

A total of 4,275 children enrolled in the Pelotas 2015 birth cohort; 4,010 participated in the 48-month follow-up, but 13 (0.32%) guardians did not answer the question to assess possible sleep bruxism. The final sample consisted of 3,997 children, comprising 99.68% of the participants in the evaluation with 48 months of follow-up.

Among the children included in this study, just over half of the children were boys (50.59%), most were children of mothers with complete high school (55.59%) and lived in houses with up to 4 people (73.52%). The average family income was 3.99 Brazilian minimum wages. The most prevalent maternal stress level was moderate (49.21%), followed by low (45.60%), and the predominant child behavior was normal (67.65%), followed by abnormal (20.24%). The median hair cortisol concentration was 7.75 pg/mg in children and 5.61 pg/mg in mothers (Table 1).

The prevalence of possible sleep bruxism at 48 months was 21.22%. Table 1 presents the prevalence of the outcome according to the independent variables. Possible sleep bruxism was significantly more prevalent in boys ($p < 0.001$), with mothers with high school education ($p = 0.007$) and who lived in households with up to 4 people ($p = 0.048$). Excessive use of electronics ($p = 0.012$), high level of maternal experience of stress ($p = 0.002$) and abnormal total difficulties according to SDQ total scores ($p = 0.009$) were also significantly associated with a higher prevalence of possible sleep bruxism. The family income and the mean hair cortisol concentration of the child and the mother were not associated with the presence of possible sleep bruxism.

Table 2 presents the crude and adjusted association between independent variables and SB, determined by Poisson regression analysis. The child's and mother's hair cortisol concentrations were not associated with possible SB. After adjustments, perceived maternal stress and house crowding lost association with SB and a lower frequency of possible SB was found for females (PR = 0.79; 95% CI 0.68-0.91). Higher maternal education (PR = 1.20; 95% CI 1.00-1.43), higher family income (PR = 1.28; 95% CI 1.03-1.58), excessive use of electronic devices (PR = 1.30; 95% CI 1.05-1.62) and abnormal child behavior (PR = 1.35; 95% CI 1.12-1.64) were associated with a higher frequency of possible SB.

Discussion

To our knowledge, this is the first study evaluating the relationship between possible sleep bruxism and hair cortisol to measure biological manifestations of stress in children. Noteworthy, this is part of the largest study in the world of cortisol measured by hair (MARTINS et al., 2023). There were no significant differences in hair cortisol concentration in children with and without possible SB and, therefore, the results suggest that there is no direct relationship between possible sleep bruxism and chronic stress in children in this age group. Considering the hypothesis tested, one possible explanation of the lack of association may be the difference in timing of the two measures, with the possible bruxism referring to the current moment, while hair cortisol refers to longer periods.

Assessment of hair cortisol concentration offers a retrospective measure of emotional stress over the past 3 months, is non-invasive, is not affected by time of day, and is easy to transport and preserve (CAPARROZ-GONZALEZ et al., 2017). Capillary cortisol is therefore an indicator of long-term HPA axis activity and offers a great advantage over other sources of cortisol such as saliva, which only provides an instantaneous measure of real-time cortisol levels (RUSSELL et al., 2012). Since studies evaluating the association between sleep bruxism and cortisol levels in children are still scarce, new investigations could add to current knowledge.

Maternal stress, measured by hair cortisol concentration and the PSS scale, also showed no association with the occurrence of sleep bruxism in children. In the context of child development, caregiver stress can have a major impact on the capacity to provide nurturing care, help children cope with their own stress and develop to maximum potential (MARTINS et al., 2023). Thus, it was thought that the mother's stress could be a possible environmental factor for the stress of her child, considering that the context of daily life and the relationships between parents and their children are essential for the development and maintenance of mental and general health in children (GUNNARSDOTTIR et al., 2015). The present results, however, corroborates previous investigation that revealed that the mother's stress did not influence the occurrence of SB in her children, even when stress was assessed in the more advanced stages (SAMPAIO et al., 2018).

Different risk factors for SB in children have been reported in the literature (GUO et al., 2018, CASTROFLORIO et al., 2015). In the present study, the girls had a lower probability of having possible SB, corroborating the findings of Renner et al. (2012). This adds to the findings of a study that found that male children were 79% more likely to have sleep bruxism (SOARES et al., 2020) and a previous review that reports male gender as a factor of risk for SB in children (GUO et al., 2018). However, a review with Brazilian children (FERRARI-PILONI et al., 2022) and another comprehensive one (MANFREDINI et al., 2013), found similarity in the occurrence of SB between genders. This contrast in results between two systematic reviews on the same topic is due to the different eligibility criteria adopted and shows that gender can act as a confounding variable.

Higher family income was associated with a greater prevalence of possible SB, in agreement with other investigations that showed that children from high-income families had a higher prevalence of bruxism compared to children from

middle or lower family income (RENNER et al., 2012; ALMEIDA, 2016). The higher socioeconomic status of the family associated with sleep bruxism in children may suggest that children from higher social classes are more sensitive to the manifestation of emotional problems (MANFREDINI et al., 2017). In other studies, however, SB was associated with belonging to families with lower economic power (BACH et al., 2019; US; US, 2021), while other authors did not identify an association with social vulnerability (MASSIGNAM et al., 2019; SILVA et al., 2017; TACHIBANA et al., 2016; LAM et al., 2011; SERRA-NEGRA et al., 2009). Higher maternal education was also associated with a higher prevalence of SB in this sample, similarly to an investigation that evaluated probable SB in children aged 8 to 11 years (DRUMOND et al., 2017). On the contrary, another study reported that a lower level of maternal education influenced the occurrence of possible SB (US; US, 2021), while another, still, did not find a relationship between the level of education and SB (MASSIGNAM et al., 2019; GOMES et al., 2018; SILVA et al., 2017; LABERGE et al., 2000). Therefore, the role of socioeconomic level and maternal education in the occurrence of SB are still controversial and more studies are needed to elucidate these associations.

Excessive use of electronic devices was also significantly associated with a higher prevalence of possible SB. Restrepo et al (2021) had already investigated this association and found a strong correlation between screen time and possible SB, where screen time represented a risk factor in terms of increased frequency of possible SB in children aged 4 to 8 years. On the other hand, in children aged 7 to 8 years, the prevalence of probable SB was not associated with screen time (AMARAL et al., 2022) and in the age group of 6 to 14 years, Marceliano & Gavião (2023) also found no difference in screen time between groups with and without sleep bruxism. The literature is still limited and the role of the use of electronic devices in the occurrence of sleep bruxism has not yet been fully elucidated.

The presence of behavioral problems, assessed by the SDQ, was also significantly associated with the occurrence of possible SB. Children with behavior classified as abnormal had higher a prevalence of possible SB, corroborating the findings of Brancher et al. (2020), that showed a prevalence of possible SB 1.75 higher in 8-year-old children with abnormal behavior. Behavioral problems measured by the SDQ were also associated with a higher prevalence of possible SB in children aged 9-11 years from Ribeirão Preto/Brazil and in children aged 7-9 years from São

Luis/Brazil, participants from two birth cohorts (RENNER et al., 2021). The literature on the association between mental health and sleep bruxism in children is still scarce and interdisciplinary research involving dentistry and psychology can help to increase the understanding of bruxism.

The prevalence of sleep bruxism in children in this study was high and similar to the reported by Rostami et al. (2010) in 4-year-old children (22.40%). However, the literature reveals a wide variation in the prevalence of this condition, ranging from 14-47.4% (DA-COSTA et al., 2021; VIEIRA-ANDRADE et al., 2014) among studies with preschool-aged children. This large variation in the prevalence of sleep bruxism may reflect the differences in the diagnostic criteria adopted, which predominantly included the parents' report, but were based on different questionnaires or, even, were added to a clinical evaluation. In this sense, it is important that future studies adopt standardized criteria for the diagnosis of sleep bruxism in young children to allow comparison.

The key strengths of this study are that it is a large, population-based cohort, with a high retention rate. Also, the Pelotas birth cohort is diverse in terms of socioeconomic status and health related issues, which might relate to hair cortisol levels. However, some limitations should be considered. Regarding the diagnosis of SB, we investigated the occurrence of "possible" SB, which is based on a positive self-report or parental report (LOBEZOO et al., 2018). Although self-report or parental report may be influenced by subjective limitations and memory bias, this is considered an acceptable method of data collection for studies involving large numbers of participants, such as the present one, being the main tool in clinical practice and research on bruxism, especially in children, due to its ease of obtaining and low cost. A clinical evaluation of tooth wear to investigate probable SB, despite being more objective, may not indicate the actual state of bruxism, since individuals who have experienced bruxism in the past may present tooth wear, even if the habit no longer exists, while individuals with current sleep bruxism may not show signs of wear (CASTELO et al., 2005), and it is difficult to determine whether tooth wear is indeed a result of bruxism, especially in primary teeth, where tooth surfaces are physiologically worn down, corroborating the understanding that wear facets may represent other clinical situations, such as physiological wear or even signs of previous SB (CARRA; HUYNH; LAVIGNE, 2012).

The findings of this study reinforce the idea that stress is not an initiating and maintaining factor of the clinical picture of possible SB in children. However, there are still few population studies available, with validated instruments and involving representative samples on the association between stress and possible SB in children. Additional studies should use appropriate diagnostic methods and classification systems to investigate whether stress biomarkers, such as cortisol concentration, are involved in the occurrence of SB in children.

Conclusion

In conclusion, the occurrence of sleep bruxism was not associated with chronic stress measured by hair cortisol concentration. Sociodemographic factors and children's behavior were associated with the occurrence of SB in children in this sample.

Funding

This article is based on data from the 2015 Pelotas (Brazil) Birth Cohort Study conducted by the Postgraduate Program in Epidemiology at the Universidade Federal de Pelotas, with the collaboration of the Brazilian Public Health Association (ABRASCO). The first phases of the study were funded by the Wellcome Trust (095582). Funding was also received from the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) and Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) and Children's Pastorate at the twenty-four months follow-up; and FAPERGS – PPSUS, the Wellcome Trust (210735_Z_18_Z), and FAPERGS – PPSUS and the Bernard van Leer Foundation (BRA-2018–178) for the 4-year follow-up. Also, this work is supported by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Finance Code 001.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Table 1. Characterization of the sample and prevalence of sleep bruxism in children aged according to independent variables. Pelotas/RS, Brazil (n=3,997).

Variables	N	%	Possible Sleep bruxism		p*
			N	% (CI 95%)	
Sex					< 0.001
Male	2022	50.59	479	23.69 (21.85-25.60)	
Female	1975	49.41	369	18.68 (16.99-20.47)	
Maternal educational level					0.007
0-10 years	1500	44.01	282	18.80 (16.85-20.87)	
≥ 11 years	1908	55.99	431	22.59 (20.73-24.53)	
Family income (BMW)					0.253
0-1.90	1330	33.67	263	19.77 (17.66-22.02)	
1.91-3.60	1306	33.06	280	21.44 (19.24-23.77)	
≥ 3.61	1314	33.27	294	22.37 (20.15-24.73)	
Number of residents in the house					0.048
≤ 4	2937	73.52	646	22.00 (20.51-23.54)	
> 4	1058	26.48	202	19.09 (16.77-21.59)	
Use of electronics devices					0.012
Normal (< 2 hours)	700	17.71	124	17.71 (14.96-20.75)	
Excessive (≥ 2 hours)	3252	82.29	715	21.99 (20.57-23.45)	
Maternal stress level					0.002
Low	1808	45.60	348	19.25 (17.45-21.14)	
Moderate	1951	49.21	439	22.50 (20.67-24.42)	
High	206	5.20	58	28.16 (22.13-34.83)	
Child Behavior					0.009
Normal	2698	67.65	537	19.90 (14.41-21.46)	
Borderline	483	12.11	111	22.98 (19.30-27.00)	
Anormal	807	20.24	199	24.66 (21.72-27.78)	
	n	Median (Min./Max.)	Mean	SD	
Child hair cortisol	3243	7.75 (0.02/157.11)	9.90	9.97	0.524
Mother hair cortisol	3321	5.61 (0.15/60.35)	6.54	3.86	0.726
Total			848	21.22 (19.96-22.52)	

BMW, Brazilian Minimum Wage

Table 2. Crude and adjusted association between independent variables and possible sleep bruxism in children aged 48 months determined using Poisson regression. Pelotas/RS, Brazil (n=3,997).

Variables	Crude		Adjusted	
	PR (CI 95%)	p	PR (CI 95%)	p
Sex		<0.001		0.002
Male	1.00		1.00	
Female	0.79 (0.70-0.89)		0.79 (0.68-0.91)	
Maternal educational level		0.007		0.047
0-10 years	1.00		1.00	
≥ 11 years	1.20 (1.05-1.37)		1.20 (1.00-1.43)	
Family income (BMW)		0.101		0.032
0-1.90	1.00		1.00	
1.91-3.60	1.08 (0.93-1.26)		1.24 (1.01-1.51)	
≥ 3.61	1.13 (0.98-1.31)		1.28 (1.03-1.58)	
Number of residents in the house		0.050		0.419
≤ 4	1.00		1.00	
> 4	0.89 (0.75-1.00)		0.93 (0.78-1.11)	
Use of electronics devices		0.014		0.018
Normal (< 2 hours)	1.00		1.00	
Excessive (≥ 2 hours)	1.24 (1.04-1.47)		1.30 (1.05-1.62)	
Maternal stress level		0.001		0.69
Low	1.00		1.00	
Moderate	1.17 (1.03-1.33)		1.11 (0.95-1.30)	
High	1.46 (1.15-1.86)		1.34 (0.97-1.87)	
Child Behavior		0.002		0.001
Normal	1.00		1.00	
Borderline	1.15 (0.96-1.38)		1.23 (0.98-1.55)	
Anormal	1.24 (1.07-1.43)		1.35 (1.12-1.64)	
Child hair cortisol	1.00 (0.99-1.01)	0.460	1.00 (0.99-1.01)	0.962
Mother hair cortisol	1.00 (0.98-1.01)	0.578	0.99 (0.97-1.01)	0.283

BMW, Brazilian Minimum Wage

References

- AGUILAR, CORDERO MJ; SÁNCHEZ, LÓPEZ, AM; MURVILLAR, N et al. Cortisol salival como indicador de estrés fisiológico en niños y adultos: Revisión sistemática. **Nutr Hosp**, v. 29, n. 5, p. 960–968, 2014. DOI: 10.3305/nh.2014.29.5.7273
- AHLBERG, J; RANTALA, M; SAVOLAINEN, A; SUVINEN, T; NISSINEN, M; SARNA, S; LINDHOLM, H; KÖNÖNEN, M. Reported bruxism and stress experience. **Community Dent Oral Epidemiol**, v. 30, n. 6, p. 405-408, Dec. 2002. DOI: 10.1034/j.1600-0528.2002.00007.x.
- ALMEIDA, DL. **Avaliação da qualidade de vida relacionada à saúde bucal de crianças com bruxismo no município de Porto Velho – RO**. Araçatuba: UNESP, 2016. Disponível em: https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/148690/almeida_dl_dr_araca.pdf?sequence=3. Acesso em: 01 mar. 2023.
- AMARAL, CC; FERNANDEZ, MDS; JANSEN, K; DA SILVA, RA; BOSCATO, N; GOETTEMMS ML. Daily screen time, sleep pattern, and probable sleep bruxism in children: A cross-sectional study ahead of print. **Oral Dis**, 2022. DOI: 10.1111/odi.14395
- AMATO, JN; TUON, RA; CASTELO, PM; GAVIÃO, MB; BARBOSA, TS. Assessment of sleep bruxism, orthodontic treatment need, orofacial dysfunctions and salivary biomarkers in asthmatic children. **Arch Oral Biol**, v. 60, n. 5, p. 698-705, 2015. DOI: 10.1016/j.archoralbio.2015.02.011
- AMERICAN ACADEMY OF SLEEP MEDICINE. **International Classification of Sleep Disorders–ICSD 3**. 3rd ed. Darien, CT: American Academy of Sleep Medicine, 2014.
- BACH, SL; MOREIRA, FP; GOETTEMMS, ML; BRANCHER, LC; OSES, JP; SILVA, RA; JANSEN, K. Salivary cortisol levels and biological rhythm in schoolchildren with sleep bruxism. **Sleep Med**, v. 54, p. 48-52, Feb. 2019. DOI: 10.1016/j.sleep.2018.09.031.
- BRANCHER, LC; CADEMARTORI, MG; JANSEN, K; DA SILVA, RA; BACH, S; REYES, A; BOSCATO, N; GOETTEMMS, ML. Social, emotional, and behavioral problems and parent-reported sleep bruxism in schoolchildren. **J Am Dent Assoc**, v. 151, n. 5, p. 327-333, May. 2020. DOI: 10.1016/j.adaj.2020.01.025
- CAPARROS-GONZALEZ, RA; ROMERO-GONZALEZ, B; STRIVENS-VILCHEZ, H; GONZALEZ-PEREZ, R; MARTINEZ-AUGUSTIN, O; PERALTA-RAMIREZ, MI. Hair cortisol levels, psychological stress and psychopathological symptoms as predictors of postpartum depression. **PLoS One**, v. 28, n. 12, Aug. 2017. DOI: 10.1371/journal.pone.0182817.
- CARRA, MC; HUYNH, N; LAVIGNE, G. Sleep bruxism: a comprehensive overview for the dental clinician interested in sleep medicine. **Dent Clin North Am**, v. 56, n. 2, p. 387-413, 2012. DOI: 10.1016/j.cden.2012.01.003.
- CASTELO, PM; DE SOUZA, BT; PEREIRA, LJ; FONSECA, FLA; GAVIÃO, MBD. Awakening salivary cortisol levels of children with sleep bruxism. **Ann. Clin. Biochem**, v. 45, n. 9, p. 651-654, Jun. 2012. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2012.03.013
- CASTELO, PM; GAVIÃO, MB; PEREIRA, LJ; BONJARDIM, LR. Relationship between oral parafunctional/nutritive sucking habits and temporomandibular joint dysfunction in primary dentition. **Int J Paediatr Dent**, v. 15, n.1, p. 29-36, Jan. 2005. DOI: 10.1111/j.1365-263X.2005.00608.x.
- CASTROFLORIO, T; BARGELLINI, A; ROSSINI, G; CUGLIARI, G; RAINOLDI, A; DEREGIBUS, A. Risk factors related to sleep bruxism in children: A systematic literature review. **Arch Oral Biol**, v. 60, n. 11, p. 1618-1624, 2015. DOI: 10.1016/j.archoralbio.2015.08.014
- COHEN, S; KAMARCK, T; MERMELSTEIN, R. 1983. A global measure of perceived stress. **J. Health Soc Behav**, v. 24, n. 385, p. 385-396, 1983. DOI: 10.2307/2136404
- DA COSTA, SV; DE SOUZA, BK; CRUVINEL, T; OLIVEIRA, TM; LOURENÇO NETO, N; MACHADO, MAAM. Factors associated with preschool children's sleep bruxism. **Cranio**, v. 25, p. 1-7, Mar. 2021. DOI: 10.1080/08869634.2021.1903663
- DRUMOND, CL; SOUZA, DS; SERRA-NEGRA, JM; MARQUES, LS; RAMOS-JORGE, ML; RAMOS-JORGE, J. Respiratory disorders and the prevalence of sleep bruxism among schoolchildren aged 8 to 11 years. **Sleep Breath**, v. 21, n. 1, p. 203-208, Mar. 2017. DOI: 10.1007/s11325-017-1466-9

FARO, A. Análise fatorial confirmatória das três versões da Perceived Stress Scale (PSS): um estudo populacional. **Psicol Reflex Crit**, v. 28, n. 1, p. 21–30, 2015. DOI: 10.1590/1678-7153.201528103.

FERRARI-PILONI, C; BARROS, LAN; EVANGELISTA, K; SERRA-NEGRA, JM; SILVA, MAG; VALLADARES-NETO, J. Prevalence of Bruxism in Brazilian Children: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Pediatr Dent**, v. 15, n. 44, p. 8-20, Jan. 2022. DOI: 10.1590/2176-9451.19.6.054-061.oar

FLUERAŞU, MI; BOCSAN, IC; BUDURU, S; POP, RM; VESA, SC; ZAHARIA, A; IACOB, SM. The correlation between sleep bruxism, salivary cortisol, and psychological status in young, Caucasian healthy adults. **Cranio**, v. 39, n.3, p. 218-224, May. 2019. DOI: 10.1080/08869634.2019.1619250

FRITZEN, VM; COLONETTI, T; CRUZ, MVB; FERRAZ, SD; CERETTA, L; TUON, L; DA ROSA, MI; CERETTA, RA. Levels of salivary cortisol in adults and children with bruxism diagnosis: a systematic review and meta analysis. **J Evid Based Dent Pract**, v. 22, n. 1, Mar. 2022. DOI: 10.1016/j.jebdp.2021.101634.

GOETTEMES, ML; POLETTO-NETO, V; SHQAIR, AQ; PINHEIRO, RT; DEMARCO, FF. Influence of maternal psychological traits on sleep bruxism in children. **Int J Paediatr Dent**, v. 27, n. 6, p. 469-475, nov. 2017. DOI: 10.1111/ipd.12285

GOMES, MC; NEVES, ET; PERAZZO, MF; SOUZA, EGC; SERRA-NEGRA, JM; PAIVA, SM; GRANVILLE-GARCIA, AF. Evaluation of the association of bruxism, psychosocial and sociodemographic factors in preschoolers. **Braz Oral Res**, v. 32, Feb. 2018. DOI: 10.1590/1807-3107bor-2018.vol32.0009.

GOODMAN, R. Psychometric properties of the strengths and difficulties questionnaire. **J Am Acad Child Adolesc Psychiatry**, v. 40, n.11, p. 1337-1345, 2001. DOI: 10.1097/00004583-200111000-00015.

GUNNARSDOTTIR, H; BJERELD, Y; HENSING, G; PETZOLD, M; POVLSEN L. Associations between parents' subjective time pressure and mental health problems among children in the Nordic countries: a population based study. **BMC Public Health**, v. 10, n. 15, p. 353, 2015. DOI: 10.1186/s12889-015-1634-4.

GUO, H; WANG, T; NIU, X; WANG, H; YANG, W; QIU, J; YANG, L. The risk factors related to bruxism in children: A systematic review and meta-analysis. **Arch Oral Biol**, v. 86, p.18-34, Feb. 2018. DOI: 10.1016/j.archoralbio.2017.11.004.

HALLAL, PC; BERTOLDI, AD; DOMINGUES, MR; DA SILVEIRA, MF; DEMARCO, FF; DA SILVA, ICM; BARROS, FC; VICTORA, CG; BASSANI, DG. Cohort Profile: The 2015 Pelotas (Brazil) Birth Cohort Study. **Int J Epidemiol**, v. 1, v.47, n. 4, p.1048-1048h, Aug. 2018. DOI: 10.1093/ije/dyx219

JORGE, SR; SANTOS, PB; STEFANELLO, JMF. O cortisol salivar como resposta fisiológica ao estresse competitivo: uma revisão sistemática. **Rev. Educ. Fís/UEM**, v. 21, p. 677, 2010. DOI: 10.4025/reveducfis.v21i4.9053

KAO, K; DOAN, SN; ST, JOHN AM; MEYER, JS; TARULLO, AR. Salivary cortisol reactivity in preschoolers is associated with hair cortisol and behavioral problems. **Stress**, v. 21, n. 1, p. 28-35, 2018. DOI: 10.1080/10253890.2017.1391210

KOLAK, V; PAVLOVIC, M; ALEKSIC, E; BIOCANIN, V; GAJIC, M; NIKITOVIC, A; LALOVIC, M; MELIH, I; PESIC, D. Probable Bruxism and Psychological Issues among Dental Students in Serbia during the COVID-19 Pandemic. **Int J Environ Res Public Health**, v. 23, n. 19, Jun. 2022. DOI: 10.3390/ijerph19137729.

LABERGE, L; TREMBLAY, RE; VITARO, F; MONTPLAISIR, J. Development of parasomnias from childhood to early adolescence. **Pediatrics**, v. 106, n. 1, p. 67–74, 2000. DOI: 10.1542/peds.106.1.67
LAM, MH; ZHANG, J; LI, AM; WING, YK. A community study of sleep bruxism in Hong Kong children: association with comorbid sleep disorders and neurobehavioral consequences. **Sleep Med**, 12, n. 7, p. 641-645, Aug. 2011. DOI: 10.1016/j.sleep.2010.11.013. PMID: 21684808.

LOBBEZOO, F; AHLBERG, J; RAPHAEL, K; WETSELAAR, P; GLAROS, AG.; KATO, T; SANTIAGO, V; WINOCUR, E, de LAAT, A; de LEEUW, R; KOYANO, K; LAVIGNE, GJ.; SVENSSON, P; MANFREDINI, D. International consensus on the assessment of bruxism: Report of a work in progress. **J Oral Rehabil**, v. 45, n. 11, p. 837-844, nov. 2018. DOI: 10.1111/joor.12663.

- LOBBEZOO, F; NAEIJE, M. Bruxism is mainly regulated centrally, not peripherally. **J Oral Rehabil**, v. 28, n. 12, p. 1085-1091, Dec. 2001. DOI: 10.1046/j.1365-2842.2001.00839.x.
- MACHADO, E; DAL-FABBRO, C; CUNALI, PA; KAIZER, OB. Prevalence of sleep bruxism in children: a systematic review. **Dental Press J Orthod**. v. 19, n. 6, p. 54-61, Nov-Dec, 2014. DOI: 10.1590/2176-9451.19.6.054-061.oar.
- MANFREDINI, D; RESTREPO, C; DIAZ-SERRANO, K; WINOCUR, E; LOBBEZOO, F. Prevalence of sleep bruxism in children: a systematic review of the literature. **J Oral Rehabil**, v. 40, n. 8, p. 631-642, Aug. 2013. DOI: 10.1111/joor.12069
- MANFREDINI, D; SERRA-NEGRA, J; CARBONCINI, F; LOBEZZO, F. Current concepts of bruxism. **Int J Prosthodont**, v. 30, n. 5, p. 437-438, 2017. DOI: 10.11607/ijp.5210
- MARCELIANO, CRV; GAVIÃO, MBD. Possible sleep bruxism and biological rhythm in school children. **Clin Oral Investig**, v. 16, p. 1-14, Feb. 2023. DOI: 10.1007/s00784-023-04900-y
- MARTINS, RC; TOVO-RODRIGUES, L; OLIVEIRA, I; BLUMENBERG, C; BERTOLDI, AD; SILVEIRA, MF; DOMINGUES, MR; SILVEIRA, MPT; GONZALEZ, A; MURRAY, J. Determinants of hair cortisol in preschool children and their mothers: A Brazilian birth cohort study. **Psychoneuroendocrinology**, v. 150, Apr. 2023. DOI:10.1016/j.psyneuen.2023.106027
- MASSIGNAN, C; ALENCAR, NA; SOARES, JP; SANTANA, CM; SERRA-NEGRA, JM; BOLAN, M; CARDOSO, M. Poor sleep quality and prevalence of probable sleep bruxism in primary and mixed dentitions: a cross-sectional study. **Sleep Breath**, v. 23, n. 3, p. 935-941, Sep. 2019. DOI: 10.1007/s11325-018-1771-y.
- ORTEGA, AO; DOS, SANTOS MT; MENDES, FM; CIAMPONI, AL. Association between anticonvulsant drugs and teeth-grinding in children and adolescents with cerebral palsy. **J Oral Rehabil**, v. 41, n. 9, p. 653-658, 2014. DOI: 10.1111/joor.12185
- RADESKY, JS; WEEKS, HM; BALL, R; SCHALLER, A; YEO, S; DURNEZ, J; TAMAYO-RIOS, M; EPSTEIN, M; KIRKORIAN, H; COYNE, S; BARR, R. Young Children's Use of Smartphones and Tablets. **Pediatrics**, v. 146, n. 1, Jun. 2020. DOI: 10.1542/peds.2019-3518
- RENNER, AC; DA SILVA, AA; RODRIGUEZ, JD; SIMÕES, VM; BARBIERI, MA; BETTIOL, H; THOMAZ, EB; SARAIVA, MDA C. Are mental health problems and depression associated with bruxism in children? **Community Dent Oral Epidemiol**, v. 40, n. 3, p. 277-287, Nov. 2014. DOI: 10.1111/j.1600-0528.2011.00644.x.
- RESTREPO, C; SANTAMARÍA, A; MANRIQUE, R. Sleep bruxism in children: relationship with screen-time and sugar consumption. **Sleep Med X**, v. 3, 2021. DOI: 10.1016/j.sleepx.2021.100035.
- ROSTAMI, EG; TOUCHETTE, É; HUYNH, N; MONTPLAISIR, J; TREMBLAY, RE; BATTAGLIA, M; BOIVIN, M. High separation anxiety trajectory in early childhood is a risk factor for sleep bruxism at age 7. **Sleep**, v. 20, n. 20, p. 1-9, Jan. 2020. DOI: 10.1093/sleep/zsz317.
- RUSSELL, Evan; KOREN, Gideon; RIEDER, Michael; VAN UUMB, Stan. Hair cortisol as a biological marker of chronic stress: Current status, future directions and unanswered questions. **Psychoneuroendocrinology**, v. 37, n. 5, p. 589-601, May. 2020. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2011.09.009.
- SALGUEIRO, MDCC; KOBAYASHI, FY; MOTTA, LJ; GONÇALVES, MLL; HORLIANA, ACRT; MESQUITA-FERRARI, RA; FERNANDES, KPS; GOMES, AO; JUNIOR, AB; BUSSADORI, SK. Effect of Photobiomodulation on Salivary Cortisol, Masticatory Muscle Strength, and Clinical Signs in Children with Sleep Bruxism: A Randomized Controlled Trial. **Photobiomodul Photomed Laser Surg**, v. 39, n. 1, p. 23-29, Jan, 2021. DOI: 10.1089/photob.2019.4778.
- SAMPAIO, NM; OLIVEIRA, MC; ANDRADE, AC; SANTOS, LB; SAMPAIO, M; ORTEGA, A. Relationship between stress and sleep bruxism in children and their mothers: A case control study. **Sleep Sci**, v. 11, n. 4, p. 239-244, Jul-Aug, 2018. DOI: 10.5935/19840063.20180038.
- SAUR, AM; LOUREIRO, SR. Psychometric properties of the strengths and difficulties questionnaire: A literature review. **Estudos de Psicologia (Campinas)**, v. 29, n.4, p. 619-629, 2012. DOI: 10.1590/S0103-166X2012000400016
- SERRA-NEGRA, JM; RAMOS-JORGE, ML; FLORES-MENDOZA, CE; PAIVA, SM, PORDEUS IA et al. Influence of psychosocial factors on the development of sleep bruxism among children. **Int J Paediatr Dent**, v. 19, n. 5, p. 309-317, Sep. 2019. DOI: 10.1111/j.1365-263X.2009.00973.x.

SERRA-NEGRA, JM; SCARPELLI, AC; TIRSA-COSTA, D; GUIMARÃES, FH; PORDEUS, IA; PAIVA, SM. Sleep bruxism, awake bruxism and sleep quality among Brazilian dental students: a cross-sectional study. **Braz Dent J**, v. 25, n. 3, p.241-247, 2014. DOI: 10.1590/0103-6440201302429.

SERRA-NEGRA, JM; TIRSA-COSTA, D; GUIMARÃES, FH; PAIVA, SM; PORDEUS, IA. Evaluation of parents/guardian knowledge about the bruxism of their children: family knowledge of bruxism. **J Indian Soc Pedod Prev Dent**, v. 31, n. 3, p. 153-158, 2013. DOI: doi: 10.4103/0970-4388.117965.

SILVA, CC; LIMA, MDM; LOPES, TSP; MOURA, LFAD; LIMA, CCB; ANDRADE, NS. Qualidade de vida relacionada à saúde bucal de crianças com bruxismo do sono. **Fisioter Bras**, v. 18, n. 1, p. 38-46. 2017, DOI: 10.33233/fb.v18i1.753.

SOARES, JP; GIACOMIN, A; CARDOSO, M; SERRA-NEGRA, JM; BOLAN M. Association of gender, oral habits, and poor sleep quality with possible sleep bruxism in schoolchildren. **Braz Oral Res**, v. 16, n. 34, Mar. 2020 DOI: 10.1590/1807-3107bor-2020.vol34.0019.

TACHIBANA, M; KATO, T; KATO-NISHIMURA, K; MATSUZAWA, S; MOHRI, I; TANIKE, M. Associations of sleep bruxism with age, sleep apnea, and daytime problematic behaviors in children. *Oral diseases*, v. 22, n. 6, p. 557–565, 2016. DOI: 10.1111/odi.12492

TAKAOKA, R; ISHIGAKI, S; YATANI, H; OGATA, S; HAYAKAWA, K. Evaluation of genetic factors involved in nocturnal electromyographic activity of masticatory muscles in twins. **Clin Oral Investig**, v. 21, n. 1, p. 319-325, 2017. DOI: 10.1007/s00784-016-1794-3.

US, MC; US, YO. Evaluation of the relationship between sleep bruxism and sleeping habits in school-aged children. **Cranio**, v. 21, p. 1-9, Feb. 2021. DOI: 10.1080/08869634.2021.1890454

VANDENBROUCKE, JP; VON ELM, E; ALTMAN, DG; GOETZCHE, EC; MULROW, CD; POCOCK, SJ, et al. Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE): explanation and elaboration. **Int J Surg**, v. 12, n. 12, p. 1500-1524, 2014. DOI: 10.1016/j.ijsu.2014.07.014

VELENTGAS, P; DREYER, NA; NOURJAH, P; SMITH, SR; TORCHIA, MM. (2013). *Use of Directed Acyclic Graphs*.

VIEIRA-ANDRADE, RG; DRUMOND, CL; MARTINS JÚNIOR, PA; CORRÊA-FARIA, P; GONZAGA, GC; MARQUES, LS; RAMOS-JORGE, ML. Prevalence of sleep bruxism and associated factors in preschool children. **Pediatr Dent**, v. 36, n. 1, p. 46-50, Jan-Feb. 2014.

WOERNER, W; FLEITLICH-BILYK, B; MARTINUSSEN, R., et al. The Strengths and Difficulties Questionnaire overseas: Evaluations and applications of the SDQ beyond Europe. **Eur Child Adolesc Psychiatry**, v. 13, n. 2, p. 47-54, 2004. DOI: 10.1007/s00787-004-2008

5 Considerações finais

A partir dos resultados desse estudo, pode-se observar que:

5.1 A prevalência de bruxismo do sono nos pré-escolares desta amostra foi alta (22%) e consistente com a literatura prévia.

5.2 O estresse determinado pela concentração de cortisol no cabelo não foi associado à ocorrência de possível bruxismo do sono nas crianças.

5.3 A ocorrência de bruxismo do sono foi associada a características sociodemográficas (maior escolaridade e maior renda familiar), comportamentais (uso excessivo de aparelhos eletrônicos) e psicológicas (comportamento infantil anormal) das crianças.

5.4 Sexo feminino foi associado a menor frequência de possível bruxismo do sono nesta amostra.

5.5 O estresse da mãe (determinado pela concentração de cortisol no cabelo da mãe e pela Escala de Estresse Percebido) não foi associado ao possível bruxismo do sono.

Referências

- AGUILAR, CORDERO MJ; SÁNCHEZ, LÓPEZ, AM; MURVILLAR, N et al. Cortisol salival como indicador de estrés fisiológico en niños y adultos: Revisión sistemática. **Nutr Hosp**, v. 29, n. 5, p. 960–968, 2014. DOI: 10.3305/nh.2014.29.5.7273
- AHLBERG, J; RANTALA, M; SAVOLAINEN, A; SUVINEN, T; NISSINEN, M; SARNA, S; LINDHOLM, H; KÖNÖNEN, M. Reported bruxism and stress experience. **Community Dent Oral Epidemiol**, v. 30, n. 6, p. 405-408, Dec. 2002. DOI: 10.1034/j.1600-0528.2002.00007.x.
- ALMEIDA, DL. **Avaliação da qualidade de vida relacionada à saúde bucal de crianças com bruxismo no município de Porto Velho – RO**. Araçatuba: UNESP, 2016. Disponível em: https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/148690/almeida_dl_dr_araca.pdf?sequence=3. Acesso em: 01 mar. 2023.
- AMARAL, CC; FERNANDEZ, MDS; JANSEN, K; DA SILVA, RA; BOSCATO, N; GOETTEMMS ML. Daily screen time, sleep pattern, and probable sleep bruxism in children: A cross-sectional study ahead of print. **Oral Dis**, 2022. DOI: 10.1111/odi.14395
- AMATO, JN; TUON, RA; CASTELO, PM; GAVIÃO, MB; BARBOSA, TS. Assessment of sleep bruxism, orthodontic treatment need, orofacial dysfunctions and salivary biomarkers in asthmatic children. **Arch Oral Biol**, v. 60, n. 5, p. 698-705, 2015. DOI: 10.1016/j.archoralbio.2015.02.011
- AMERICAN ACADEMY OF SLEEP MEDICINE. **International Classification of Sleep Disorders–ICSD 3**. 3rd ed. Darien, CT: American Academy of Sleep Medicine, 2014.
- BACH, SL; MOREIRA, FP; GOETTEMMS, ML; BRANCHER, LC; OSES, JP; SILVA, RA; JANSEN, K. Salivary cortisol levels and biological rhythm in schoolchildren with sleep bruxism. **Sleep Med**, v. 54, p. 48-52, Feb. 2019. DOI: 10.1016/j.sleep.2018.09.031.
- BADER, G; KAMPE, T; TAGDAE, T. Body movement during sleep in subjects with long-standing bruxing behavior. *Int J Prosthodont*, v. 13, n. 4, p. 327-333, jul-aug. 2000.
- BRANCHER, LC; CADEMARTORI, MG; JANSEN, K; DA SILVA, RA; BACH, S; REYES, A; BOSCATO, N; GOETTEMMS, ML. Social, emotional, and behavioral problems and parent-reported sleep bruxism in schoolchildren. **J Am Dent Assoc**, v. 151, n. 5, p. 327-333, May. 2020. DOI: 10.1016/j.adaj.2020.01.025
- CAPARROS-GONZALEZ, RA; ROMERO-GONZALEZ, B; STRIVENS-VILCHEZ, H; GONZALEZ-PEREZ, R; MARTINEZ-AUGUSTIN, O; PERALTA-RAMIREZ, MI. Hair cortisol levels, psychological stress and psychopathological symptoms as predictors of postpartum depression. **PLoS One**, v. 28, n. 12, Aug. 2017. DOI: 10.1371/journal.pone.0182817.
- CARRA, MC; HUYNH, N; LAVIGNE, G. Sleep bruxism: a comprehensive overview for the dental clinician interested in sleep medicine. **Dent Clin North Am**, v. 56, n. 2, p. 387-413, 2012. DOI: 10.1016/j.cden.2012.01.003.

CASTELO, PM; DE SOUZA, BT; PEREIRA, LJ; FONSECA, FLA; GAVIÃO, MBD. Awakening salivary cortisol levels of children with sleep bruxism. **Ann. Clin. Biochem**, v. 45, n. 9, p. 651-654, Jun. 2012. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2012.03.013

CASTELO, PM; GAVIÃO, MB; PEREIRA, LJ; BONJARDIM, LR. Relationship between oral parafunctional/nutritive sucking habits and temporomandibular joint dysfunction in primary dentition. **Int J Paediatr Dent**, v. 15, n.1, p. 29-36, Jan. 2005. DOI: 10.1111/j.1365-263X.2005.00608.x.

CASTROFLORIO, T; BARGELLINI, A; ROSSINI, G; CUGLIARI, G; RAINOLDI, A; DEREGIBUS, A. Risk factors related to sleep bruxism in children: A systematic literature review. **Arch Oral Biol**, v. 60, n. 11, p. 1618-1624, 2015. DOI: 10.1016/j.archoralbio.2015.08.014

COHEN, S; KAMARCK, T; MERMELSTEIN, R. 1983. A global measure of perceived stress. **J. Health Soc Behav**, v. 24, n. 385, p. 385-396, 1983. DOI: 10.2307/2136404

CONDON, Eileen M.; HOLLAND, Margaret L.; SLADE, Arietta; REDEKER, Nancy S.; MAYES, Linda C.; SADLER, Lois S. Associations Between Maternal Experiences of Discrimination and Biomarkers of Toxic Stress in School-Aged Children. *Matern Child Health J*, v. 23, n. 9, p.1147-1151, sep. 2019. DOI: 10.1007/s10995-019-02779-4.

DA COSTA, SV; DE SOUZA, BK; CRUVINEL, T; OLIVEIRA, TM; LOURENÇO NETO, N; MACHADO, MAAM. Factors associated with preschool children's sleep bruxism. *Cranio*, v. 25, p. 1-7, Mar. 2021. DOI: 10.1080/08869634.2021.1903663

DRUMOND, CL; SOUZA, DS; SERRA-NEGRA, JM; MARQUES, LS; RAMOS-JORGE, ML; RAMOS-JORGE, J. Respiratory disorders and the prevalence of sleep bruxism among schoolchildren aged 8 to 11 years. **Sleep Breath**, v. 21, n. 1, p. 203-208, Mar. 2017. DOI: 10.1007/s11325-017-1466-9

FARO, A. Análise fatorial confirmatória das três versões da Perceived Stress Scale (PSS): um estudo populacional. **Psicol Reflex Crit**, v. 28, n. 1, p. 21–30, 2015. DOI: 10.1590/1678-7153.201528103.

FERRARI-PILONI, C; BARROS, LAN; EVANGELISTA, K; SERRA-NEGRA, JM; SILVA, MAG; VALLADARES-NETO, J. Prevalence of Bruxism in Brazilian Children: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Pediatr Dent**, v. 15, n. 44, p. 8-20, Jan. 2022. DOI: 10.1590/2176-9451.19.6.054-061.oar

FLUERAȘU, MI; BOCSAN, IC; BUDURU, S; POP, RM; VESA, SC; ZAHARIA, A; IACOB, SM. The correlation between sleep bruxism, salivary cortisol, and psychological status in young, Caucasian healthy adults. **Cranio**, v. 39, n.3, p. 218-224, May. 2019. DOI: 10.1080/08869634.2019.1619250

FRITZEN, VM; COLONETTI, T; CRUZ, MVB; FERRAZ, SD; CERETTA, L; TUON, L; DA ROSA, MI; CERETTA, RA. Levels of salivary cortisol in adults and children with bruxism diagnosis: a systematic review and meta analysis. **J Evid Based Dent Pract**, v. 22, n. 1, Mar. 2022. DOI: 10.1016/j.jebdp.2021.101634.

GOETTEMES, ML; POLETTO-NETO, V; SHQAIR, AQ; PINHEIRO, RT; DEMARCO, FF. Influence of maternal psychological traits on sleep bruxism in children. **Int J Paediatr Dent**, v. 27, n. 6, p. 469-475, nov. 2017. DOI: 10.1111/ipd.12285

- GOMES, MC; NEVES, ET; PERAZZO, MF; SOUZA, EGC; SERRA-NEGRA, JM; PAIVA, SM; GRANVILLE-GARCIA, AF. Evaluation of the association of bruxism, psychosocial and sociodemographic factors in preschoolers. **Braz Oral Res**, v. 32, Feb. 2018. DOI: 10.1590/1807-3107bor-2018.vol32.0009.
- GOODMAN, R. Psychometric properties of the strengths and difficulties questionnaire. **J Am Acad Child Adolesc Psychiatry**, v. 40, n.11, p. 1337-1345, 2001. DOI: 10.1097/00004583-200111000-00015.
- GUNNARSDOTTIR, H; BJERELD, Y; HENSING, G; PETZOLD, M; POVLSEN L. Associations between parents' subjective time pressure and mental health problems among children in the Nordic countries: a population based study. **BMC Public Health**, v. 10, n. 15, p. 353, 2015. DOI: 10.1186/s12889-015-1634-4.
- GUO, H; WANG, T; NIU, X; WANG, H; YANG, W; QIU, J; YANG, L. The risk factors related to bruxism in children: A systematic review and meta-analysis. **Arch Oral Biol**, v. 86, p.18-34, Feb. 2018. DOI: 10.1016/j.archoralbio.2017.11.004.
- HALLAL, PC; BERTOLDI, AD; DOMINGUES, MR; DA SILVEIRA, MF; DEMARCO, FF; DA SILVA, ICM; BARROS, FC; VICTORA, CG; BASSANI, DG. Cohort Profile: The 2015 Pelotas (Brazil) Birth Cohort Study. **Int J Epidemiol**, v. 1, v.47, n. 4, p.1048-1048h, Aug. 2018. DOI: 10.1093/ije/dyx219
- JOKUBAUSKAS, Laurynas; BALTRUŠAITYTĖ, Ausra. Relationship Between obstructive sleep apnoea syndrome and sleep bruxism: a systematic review. **J Oral Rehabil**, v. 44, n. 2, p. 144- 153, feb. 2017. DOI: 10.1111/joor.12468
- JORGE, SR; SANTOS, PB; STEFANELLO, JMF. O cortisol salivar como resposta fisiológica ao estresse competitivo: uma revisão sistemática. **Rev. Educ. Fis/UEM**, v. 21, p. 677, 2010. DOI: 10.4025/reveducfis.v21i4.9053
- KAO, K; DOAN, SN; ST, JOHN AM; MEYER, JS; TARULLO, AR. Salivary cortisol reactivity in preschoolers is associated with hair cortisol and behavioral problems. **Stress**, v. 21, n. 1, p. 28-35, 2018. DOI:10.1080/10253890.2017.1391210
- KOLAK, V; PAVLOVIC, M; ALEKSIC, E; BIOCANIN, V; GAJIC, M; NIKITOVIC, A; LALOVIC, M; MELIH, I; PESIC, D. Probable Bruxism and Psychological Issues among Dental Students in Serbia during the COVID-19 Pandemic. **Int J Environ Res Public Health**, v. 23, n. 19, Jun. 2022. DOI: 10.3390/ijerph19137729.
- LABERGE, L; TREMBLAY, RE; VITARO, F; MONTPLAISIR, J. Development of parasomnias from childhood to early adolescence. **Pediatrics**, v. 106, n. 1, p. 67–74, 2000. DOI:10.1542/peds.106.1.67
- LAM, MH; ZHANG, J; LI, AM; WING, YK. A community study of sleep bruxism in Hong Kong children: association with comorbid sleep disorders and neurobehavioral consequences. **Sleep Med**, 12, n. 7, p. 641-645, Aug. 2011. DOI: 10.1016/j.sleep.2010.11.013. PMID: 21684808.
- LOBBEZOO, F; AHLBERG, J; RAPHAEL, K; WETSELAAR, P; GLAROS, AG.; KATO, T; SANTIAGO, V; WINOCUR, E, de LAAT, A; de LEEUW, R; KOYANO, K; LAVIGNE, GJ.; SVENSSON, P; MANFREDINI, D. International consensus on the assessment of bruxism: Report of a work in progress. **J Oral Rehabil**, v. 45, n. 11, p. 837-844, nov. 2018. DOI: 10.1111/joor.12663.

LOBBEZOO, F; NAEIJE, M. Bruxism is mainly regulated centrally, not peripherally. **J Oral Rehabil**, v. 28, n. 12, p. 1085-1091, Dec. 2001. DOI: 10.1046/j.1365-2842.2001.00839.x.

LOBBEZOO, F; AHLBERG, J; GLAROS, AG; KATO, T; KOYANO, K; LAVIGNE, GJ, de LEEUW, R; MANFREDINI, D; SVENSSON, P; WINOCUR, E. Bruxism defined and graded: an international consensus. **J Oral Rehabil**, v. 40, n. 1, p. 2-4, jan. 2013. DOI: 10.1111/joor.12011.

MACHADO, E; DAL-FABBRO, C; CUNALI, PA; KAIZER, OB. Prevalence of sleep bruxism in children: a systematic review. **Dental Press J Orthod**. v. 19, n. 6, p. 54-61, Nov-Dec, 2014. DOI: 10.1590/2176-9451.19.6.054-061.oar.

MANFREDINI, D; RESTREPO, C; DIAZ-SERRANO, K; WINOCUR, E; LOBBEZOO, F. Prevalence of sleep bruxism in children: a systematic review of the literature. **J Oral Rehabil**, v. 40, n. 8, p. 631-642, Aug. 2013. DOI: 10.1111/joor.12069

MANFREDINI, D; SERRA-NEGRA, J; CARBONCINI, F; LOBEZZO, F. Current concepts of bruxism. **Int J Prosthodont**, v. 30, n. 5, p. 437-438, 2017. DOI: 10.11607/ijp.5210

MARCELIANO, CRV; GAVIÃO, MBD. Possible sleep bruxism and biological rhythm in school children. **Clin Oral Investig**, v. 16, p. 1-14, Feb. 2023. DOI: 10.1007/s00784-023-04900-y

MARTINS, RC; TOVO-RODRIGUES, L; OLIVEIRA, I; BLUMENBERG, C; BERTOLDI, AD; SILVEIRA, MF; DOMINGUES, MR; SILVEIRA, MPT; GONZALEZ, A; MURRAY, J. Determinants of hair cortisol in preschool children and their mothers: A Brazilian birth cohort study. **Psychoneuroendocrinology**, v. 150, Apr. 2023. DOI:10.1016/j.psyneuen.2023.106027

MASSIGNAN, C; ALENCAR, NA; SOARES, JP; SANTANA, CM; SERRA-NEGRA, JM; BOLAN, M; CARDOSO, M. Poor sleep quality and prevalence of probable sleep bruxism in primary and mixed dentitions: a cross-sectional study. **Sleep Breath**, v. 23, n. 3, p. 935-941, Sep. 2019. DOI: 10.1007/s11325-018-1771-y.

OHMURE, H et al. Influence of experimental esophageal acidification on sleep bruxism: a randomized trial. **J Dent Res**, v. 90, n. 5, p. 665-71, may. 2011. DOI: 10.1177/0022034510393516.

ORTEGA, AO; DOS, SANTOS MT; MENDES, FM; CIAMPONI, AL. Association between anticonvulsant drugs and teeth-grinding in children and adolescents with cerebral palsy. **J Oral Rehabil**, v. 41, n. 9, p. 653-658, 2014. DOI: 10.1111/joor.12185

RADESKY, JS; WEEKS, HM; BALL, R; SCHALLER, A; YEO, S; DURNEZ, J; TAMAYO-RIOS, M; EPSTEIN, M; KIRKORIAN, H; COYNE, S; BARR, R. Young Children's Use of Smartphones and Tablets. **Pediatrics**, v. 146, n. 1, Jun. 2020. DOI: 10.1542/peds.2019-3518

RENNER, AC; DA SILVA, AA; RODRIGUEZ, JD; SIMÕES, VM; BARBIERI, MA; BETTIOL, H; THOMAZ, EB; SARAIVA, MDA C. Are mental health problems and depression associated with bruxism in children? **Community Dent Oral Epidemiol**, v. 40, n. 3, p. 277-287, Nov. 2014. DOI: 10.1111/j.1600-0528.2011.00644.x.

RESTREPO, C; SANTAMARÍA, A; MANRIQUE, R. Sleep bruxism in children: relationship with screen-time and sugar consumption. **Sleep Med X**, v. 3, 2021. DOI: 10.1016/j.sleepx.2021.100035.

RIBEIRO, M B; MANFREDINI, D; TAVARES-SILVA, C; COSTA, L; LUIZ, RR; PAIVA, SM; SERRA-NEGRA, JM; FONSECA-GONÇALVES, MA; MAIA, LC. Association of possible sleep bruxism in children with different chronotype profiles and sleep characteristics. *Chronobiol Int*, v. 35, n. 5, p. 633-642, may. 2018. DOI: 10.1080/07420528.2018.1424176

RODRIGUES, JA; AZEVEDO, Claudia Britto; CHAMI, Vitória Oliveira; SOLANO, Marjana Patricia; LENZI, Thatiane Larissa. Sleep Bruxism and Oral health-related Quality of life in Children: A Systematic Review. *Int J Paediatr Dent*, v. 30, n. 2, p. 136-143, mar. 2020. DOI: 10.1111/ipd.12586.

ROSTAMI, EG; TOUCHETTE, É; HUYNH, N; MONTPLAISIR, J; TREMBLAY, RE; BATTAGLIA, M; BOIVIN, M. High separation anxiety trajectory in early childhood is a risk factor for sleep bruxism at age 7. **Sleep**, v. 20, n. 20, p. 1-9, jan. 2020. DOI: 10.1093/sleep/zsz317.

RUSSELL, Evan; KOREN, Gideon; RIEDER, Michael; VAN UUMB, Stan. Hair cortisol as a biological marker of chronic stress: Current status, future directions and unanswered questions. *Psychoneuroendocrinology*. v. 37, n. 5, p. 589-601, may. 2020. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2011.09.009.

SALGUEIRO, MDCC; KOBAYASHI, FY; MOTTA, LJ; GONÇALVES, MLL; HORLIANA, ACRT; MESQUITA-FERRARI, RA; FERNANDES, KPS; GOMES, AO; JUNIOR, AB; BUSSADORI, SK. Effect of Photobiomodulation on Salivary Cortisol, Masticatory Muscle Strength, and Clinical Signs in Children with Sleep Bruxism: A Randomized Controlled Trial. **Photobiomodul Photomed Laser Surg**, v. 39, n. 1, p. 23-29, Jan, 2021. DOI: 10.1089/photob.2019.4778.

SAMPAIO, NM; OLIVEIRA, MC; ANDRADE, AC; SANTOS, LB; SAMPAIO, M; ORTEGA, A. Relationship between stress and sleep bruxism in children and their mothers: A case control study. **Sleep Sci**, v. 11, n. 4, p. 239-244, Jul-Aug, 2018. DOI: 10.5935/19840063.20180038.

SAUR, AM; LOUREIRO, SR. Psychometric properties of the strengths and difficulties questionnaire: A literature review. **Estudos de Psicologia** (Campinas), v. 29, n.4, p. 619–629, 2012. DOI: 10.1590/S0103-166X2012000400016

SERRA-NEGRA, JM; RAMOS-JORGE, ML; FLORES-MENDOZA, CE; PAIVA, SM, PORDEUS IA et al. Influence of psychosocial factors on the development of sleep bruxism among children. **Int J Paediatr Dent**, v. 19, n. 5, p. 309-317, Sep. 2019. DOI: 10.1111/j.1365-263X.2009.00973.x.

SERRA-NEGRA, JM; SCARPELLI, AC; TIRSA-COSTA, D; GUIMARÃES, FH; PORDEUS, IA; PAIVA, SM. Sleep bruxism, awake bruxism and sleep quality among Brazilian dental students: a cross-sectional study. **Braz Dent J**, v. 25, n. 3, p.241-247, 2014. DOI: 10.1590/0103-6440201302429.

SERRA-NEGRA, JM; TIRSA-COSTA, D; GUIMARÃES, FH; PAIVA, SM; PORDEUS, IA. Evaluation of parents/guardian knowledge about the bruxism of their children: family knowledge of bruxism. **J Indian Soc Pedod Prev Dent**, v. 31, n. 3, p. 153-158, 2013. DOI: doi: 10.4103/0970-4388.117965.

- SERRA-NEGRA, JM; PAIVA, SM, FLORES-MENDOZA, CE.; RAMOS-JORGE, ML.; PORDEUS, IA. Association among stress, personality traits, and sleep bruxism in children. *Pediatr Dent*, v. 34, n. 2, p. e30-e34, mar-apr. 2012.
- SILVA, CC; LIMA, MDM; LOPES, TSP; MOURA, LFAD; LIMA, CCB; ANDRADE, NS. Qualidade de vida relacionada à saúde bucal de crianças com bruxismo do sono. **Fisioter Bras**, v. 18, n. 1, p. 38-46. 2017, DOI: 10.33233/fb.v18i1.753.
- SOARES, JP; GIACOMIN, A; CARDOSO, M; SERRA-NEGRA, JM; BOLAN M. Association of gender, oral habits, and poor sleep quality with possible sleep bruxism in schoolchildren. **Braz Oral Res**, v. 16, n. 34, Mar. 2020 DOI: 10.1590/1807-3107bor-2020.vol34.0019.
- TACHIBANA, M; KATO, T; KATO-NISHIMURA, K; MATSUZAWA, S; MOHRI, I; TANIKE, M. Associations of sleep bruxism with age, sleep apnea, and daytime problematic behaviors in children. *Oral diseases*, v. 22, n. 6, p. 557–565, 2016. DOI: 10.1111/odi.12492
- TAKAOKA, R; ISHIGAKI, S; YATANI, H; OGATA, S; HAYAKAWA, K. Evaluation of genetic factors involved in nocturnal electromyographic activity of masticatory muscles in twins. **Clin Oral Investig**, v. 21, n. 1, p. 319-325, 2017. DOI: 10.1007/s00784-016-1794-3.
- TAN, Madeleine Wan Yong; YAP, Adrian U-Jin Yap; CHUA, Ai Ping; WONG, Johnny Chiew Meng; PAROT, Maria Victoria Jane; TAN, Keson Beng Choon. Prevalence of Sleep Bruxism and Its Association with Obstructive Sleep Apnea in Adult Patients: A Retrospective Polysomnographic Investigation. *J Oral Facial Pain Headache*, v. 33, n. 3, p. 269–277, 2019. DOI: 10.11607/ofph.2068.
- US, MC; US, YO. Evaluation of the relationship between sleep bruxism and sleeping habits in school-aged children. **Cranio**, v. 21, p. 1-9, Feb. 2021. DOI: 10.1080/08869634.2021.1890454
- VANDENBROUCKE, JP; VON ELM, E; ALTMAN, DG; GOETZCHE, EC; MULROW, CD; POCOCK, SJ, et al. Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE): explanation and elaboration. **Int J Surg**, v. 12, n. 12, p. 1500-1524, 2014. DOI: 10.1016/j.ijsu.2014.07.014
- VELENTGAS, P; DREYER, NA; NOURJAH, P; SMITH, SR; TORCHIA, MM. (2013). *Use of Directed Acyclic Graphs*.
- VIEIRA-ANDRADE, RG; DRUMOND, CL; MARTINS JÚNIOR, PA; CORRÊA-FARIA, P; GONZAGA, GC; MARQUES, LS; RAMOS-JORGE, ML. Prevalence of sleep bruxism and associated factors in preschool children. **Pediatr Dent**, v. 36, n. 1, p. 46-50, Jan-Feb. 2014.
- WOERNER, W; FLEITLICH-BILYK, B; MARTINUSSEN, R., et al. The Strengths and Difficulties Questionnaire overseas: Evaluations and applications of the SDQ beyond Europe. **Eur Child Adolesc Psychiatry**, v. 13, n. 2, p. 47-54, 2004. DOI: 10.1007/s00787-004-2008
- YACHIDA, Wataru; ARIMA, Taro; CASTRILLON, Eduardo E.; BAAD-HANSEN, Lene; OHATA, Noboru; SVENSSON, Peter. Diagnostic validity of self-reported measures of sleep bruxism using an ambulatory single-channel EMG device. *J Prosthodont Res*, v. 60, n. 4, p. 250-257, oct. 2016. DOI: 10.1016/j.jpor.2016.01.001.

Anexos

ANEXO A – MANUAL PARA COLETA DE CABELO

MANUAL PARA COLETA DE CABELO

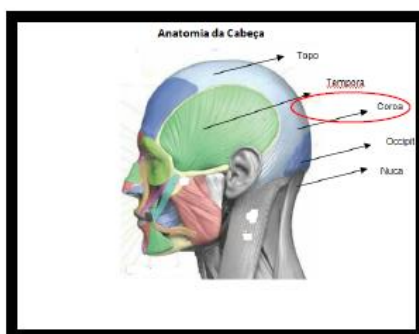
Prof. Luciana Tovo Rodrigues
Prof. Isabel Oliveira de Oliveira
Deise Farias Freitas

I. Instruções ao COLETADOR

Preencher a folha de coleta
Preencher o caderno de campo de laboratório
Vestir o jaleco
Prender o cabelo
Coletar primeiro o cabelo da mãe (ou responsável) e depois o da criança.

II. Instruções de coleta para a MÃE

Explicar a coleta à mãe ou ao responsável. Deixar claro que:
"Nós gostaríamos de coletar aproximadamente 50-80 fios de cabelo (metade do diâmetro de um lápis) **SOMENTE** da região da cabeça conhecida como "coroa", conforme figura abaixo."



Pedir à mãe que fique sentada em uma cadeira.
Em caso de recusa ou questionamentos sobre o corte de cabelo, mostrar para a mãe a quantidade de cabelo que será coletado usando o mostruário e tentar reverter a recusa.

III. Instruções do procedimento de COLETA

1. Descrição do MATERIAL DE COLETA

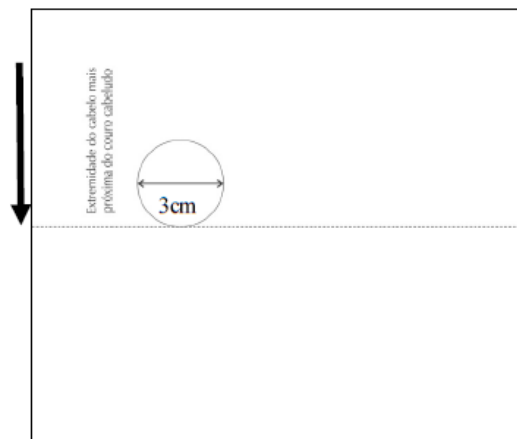
- Tesoura reta ponta romba
- Folhas Papel Toalha
- Álcool 70%
- Etiquetas Identificação do Participante

e. KIT de coleta

2. Descrição do KIT DE COLETA

- i. Saco Ziplock
- ii. Cartão de papel
- iii. Pente pequeno
- iv. Clips de cabelo (4)
- v. Clip de escritório (1)
- vi. Barbante

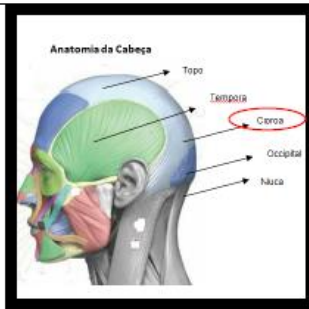
- 3. Higienizar as mãos com álcool;
- 4. Em uma mesa, organizar o **KIT DE COLETA**;
- 5. Abrir o **KIT DE COLETA** na frente do participante a ser coletado. No caso de coleta das crianças, abrir na frente do responsável;
- 6. Identificar o material de coleta com a etiqueta contendo o ID e nome do participante a ser coletado;
- 7. Abrir o cartão de armazenamento do cabelo cortado (ver foto);



- 8. Higienizar a tesoura de coleta de cabelo na frente do participante e do responsável no caso de crianças;

Diretrizes Gerais

“Você precisará coletar aproximadamente 50-80 fios (metade do diâmetro de um lápis) coletados **SOMENTE** da região da cabeça conhecida como “coroa”, conforme figuras abaixo.”



PASSOS DA COLETA DE CABELO

- A) Responsável e criança devem estar sentados perto da mesa do coletador. Posicione-se atrás do participante, a fim de tirar a amostra da “coroa” posterior da cabeça (figura abaixo). Não colete cabelo da parte superior da cabeça; os níveis de cortisol são diferentes e queremos garantir a consistência nas amostras.



- B) Na parte de trás da cabeça, traçar uma linha imaginária acima da ponta da orelha, separar um tufo de cabelo e prender com um clipe acima da área a ser coletada se o participante tiver cabelo longo;
- C) Selecionar um tufo de cabelo, dar uma torcida se possível, enlaçar o tufo com o barbante e ajustar para cortar o cabelo o mais rente possível do couro cabeludo (lado das raízes) com a tesoura sem ponta.



IV. Instruções para corte de cabelo de diferentes tamanhos

CABELOS CURTOS:

Se o cabelo a ser coletado tiver menos que 3,0 cm, a quantidade de cabelo deverá ser o dobro da sugerida para coleta. O cabelo poderá ser coletado de diversos pontos para prevenir falhas esteticamente indesejáveis.

Posicionar o pente na linha imaginária para ajudar no corte da mecha de cabelo.

Use um pente para levantar o cabelo, e coloque a tesoura perto do couro cabeludo e corte duas ou três vezes seguindo a linha imaginária.

OBS: O cartão de coleta contém a medida de 3,0 cm impresso para indicar o tamanho da mecha do cabelo a ser cortado.

CABELOS MUITO CURTOS:

Se cabelo for muito curto, seguir o corte natural da nuca ou das laterais, conforme o corte do cabelo do participante de maneira a não prejudicar a estética.

OBS: Corte o cabelo diretamente no saco ziplock de armazenamento.

CABELOS LONGOS:

Em todas as amostras de cabelos longos, é muito importante que se mantenha as raízes alinhadas para que este controle seja mantido.

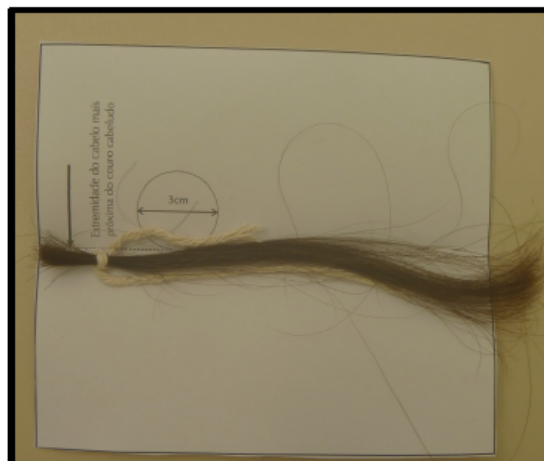
CABELOS ENCARACOLADOS:

Para cabelos encaracolados longos o procedimento é exatamente o mesmo do cabelo liso longo, talvez seja necessário mais cuidado no alinhamento das raízes.

Para cabelos encaracolados curtos, seguir o mesmo procedimento descrito para cabelos lisos curtos.

- D) Uma vez que a amostra de cabelo foi coletada, colocar os fios de cabelo no meio do cartão, cuidando para que a ponta do cabelo mais próxima da raiz (ou couro cabeludo) fique voltada para a direção da seta, ao longo da linha pontilhada, e fechar o cartão;

OBS: o cartão contém a indicação da direção correta que o cabelo deve ser armazenado.



- E) Fixar a amostra de cabelo no cartão dobrado, utilizando o clipe de escritório. (figura abaixo);



- F) Colocar o cartão identificado no saco Ziplock e selar o saco;
 G) Oferecer o pente e o grampo de cabelo utilizado à mãe ou ao responsável caso queira levar para a casa. Se ela (e) não quiser, descartar no lixo contaminado;
 H) Descartar os papéis utilizados na higienização das tesouras no lixo contaminado;
 I) Higienizar as mãos com álcool;

II. Instruções em relação à CRIANÇA

Após coletar o cabelo da mãe ou do responsável, prosseguir para a coleta da amostra de cabelo da criança.

1. Em uma mesa, organizar o **KIT DE COLETA**;
2. Abrir o **KIT DE COLETA** na frente do responsável.
3. Identificar o material de coleta com a etiqueta contendo o ID e nome do participante a ser coletado;
4. Abrir o cartão de armazenamento do cabelo cortado;
5. Higienizar a tesoura de coleta de cabelo na frente do responsável;

CUIDADO

Ter o cuidado para a criança permanecer imóvel durante a coleta;

Idealmente, a criança deve estar sentada no colo da mãe ou responsável. Solicite ajuda a mãe para ajudar a manter a criança imóvel durante a coleta.

A criança pode estar fazendo uma atividade que a mantenha ocupada e relativamente quieta. Pergunte aos pais qual atividade eles sugerem, ou, se os pais concordarem, a criança pode assistir a um vídeo no ipad.

Siga os passos **A ao I** do protocolo descrito para a mãe.

IV. FINALIZAÇÃO

Preencher a folha de coleta respondendo as questões e adicionar as observações de coleta, como, tamanho de cabelo, dificuldades, imprevistos ou qualquer informação não prevista no protocolo que julgue relevante para o procedimento.

Levar o material da coleta devidamente identificado e acompanhado da folha de coleta ao laboratório.

ANEXO C – ENTREVISTA



Universidade Federal de Pelotas
Centro de Pesquisas Epidemiológicas
Coorte de Nascimentos de 2015
ESTUDO DOS 4 ANOS



BLOCO A – IDENTIFICAÇÃO

1. *Número de identificação da criança:*

2. Nome da entrevistadora: _____

3. Local da entrevista:

Clínica 1
Domicílio 2
Telefone/vídeo 3

4. Quem responde a entrevista?

SE 1, 2 ou 3 → Questão Erro! Fonte de referência não encontrada.

SE 4 → Erro! Fonte de referência não encontrada.

SE 5 → b

a. Nome da mãe adotiva: _____

b. Outro: _____

mãe biológica 1
pai biológico 2
avó 3
mãe adotiva 4
outro 5

5. Data e horário de início da entrevista:

___/___/___
__:__

BLOCO B – CUIDADO E ALIMENTAÇÃO DA CRIANÇA

6. Quem são as pessoas diretamente responsáveis pela criança?

Outro: _____

SE 11, 12, 13, 14, 15, 19 ou 20 → 8

pai e mãe biológicos 11
mãe biológica e pai social 12
pai biológico e mãe social 13
só a mãe biológica 14
só o pai biológico 15
pais adotivos 16
avós 17
tios 18
mãe biológica e outro 19
pai biológico e outro 20
outros 21

Se outra pessoa que não os pais biológicos são responsáveis pela criança, pergunte

7. A partir de que idade o(a) Sr.(a) assumiu a responsabilidade pela criança?

___ meses

8. Agora gostaria de saber quem cuidou da <CRIANÇA> durante o dia, desde que completou 2 anos:

QUADRO 1 – CUIDADOS DA CRIANÇA DESDE QUE COMPLETOU 2 ANOS				
	Idade <i>(idade inicial e final em meses; 99=IGN)</i>	Quem tomava conta? 0= pai 1= mãe 2= pai e mãe 3= responsável legal 4= irmão/irmã ≥ 15 anos 5= irmão/irmã < 15 anos 6= parente adulto 7= outro parente menor de idade 8= adulto não parente 9= IGN	Em que lugar? 1= própria casa 2= outra casa 3=escola pública/ filantrópica 4=escola particular 5= abrigo/ outros 9= IGN	Era o dia todo ou só parte do dia? 1= integral 2= parcial 9= IGN
1	___ m até ___ m			
2	___ m até ___ m			
3	___ m até ___ m			
4	___ m até ___ m			
5	___ m até ___ m			
Se atualmente a <CRIANÇA> <u>NÃO</u> é cuidada fora de casa ➔ Erro! Fonte de referência não encontrada.				
9. Quantas crianças além da sua participam do grupo em que <CRIANÇA> é cuidado(a)? <i>(criança sozinha= 00, IGN= 99)</i>				___ crianças
10. Quanto tempo <CRIANÇA> é cuidado(a) fora de casa? <i>(IGN= 99 horas/ dia, IGN= 9 dias/semana)</i>				___ horas/dia ___ dias /semana
11. O(A) <CRIANÇA> participa do Programa “Primeira Infância Melhor” (PIM)? SE NÃO OU IGN ➔ Erro! Fonte de referência não encontrada.				não 0 sim 1 IGN 9
12. Desde quando? <i>(NSA=88; IGN=99;99)</i>				Gestação ___ (meses) Após o nascimento ___ (meses)
13. Nessa última semana, alguém leu ou contou histórias para <CRIANÇA>? <i>(Ler alternativas)</i>				não 0 sim, alguém contou 1 sim, gravação 2 sim, ambos 3 IGN 9
14. Nessa última semana, <CRIANÇA> esteve alguma vez na praça ou no parque?				não 0 sim 1 IGN 9
15. Nessa última semana, <CRIANÇA> foi à casa de outras pessoas?				não 0 sim 1 IGN 9
16. <CRIANÇA> tem algum livro ou revistinha dele(a) em casa?				não 0 sim 1 IGN 9
17. <CRIANÇA> vê televisão? SE NÃO ou IGN ➔ Erro! Fonte de referência não encontrada.				não 0 sim 1 TV sempre ligada 2 IGN 9

18. Quanto tempo <CRIANÇA> vê televisão pela manhã?	__ __ __ minutos
19. Quanto tempo <CRIANÇA> vê televisão pela tarde?	__ __ __ minutos
20. Quanto tempo <CRIANÇA> vê televisão pela noite?	__ __ __ minutos
21. A <CRIANÇA> mora em?	casa 0 apartamento 1
22. Geralmente quando brinca na rua ou no pátio, <CRIANÇA> brinca sozinha ou em grupo? SE 0 ou 1 → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não brinca na rua 0 brinca sozinha 1 brinca em grupo 2
23. Com quantas crianças, mais ou menos, costuma brincar?	__ __ crianças
24. Brinca mais com meninos, mais com meninas ou brinca com todos?	meninos 0 meninas 1 todos 2
25. O(A) <CRIANÇA> usa computador, tablet/Ipad, videogame ou celular? SE NÃO ou IGN → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
26. Quanto tempo o(a) <CRIANÇA> usa esses aparelhos pela manhã? (999=IGN)	__ __ horas __ __ min
27. Quanto tempo o(a) <CRIANÇA> usa esses aparelhos pela tarde? (999=IGN)	__ __ horas __ __ min
28. Quanto tempo o(a) <CRIANÇA> usa esses aparelhos pela noite? (999=IGN)	__ __ horas __ __ min
Agora vou fazer algumas perguntas sobre o que a <CRIANÇA> come:	
29. <CRIANÇA> mama no peito? SE SIM → Erro! Fonte de referência não encontrada. SE NUNCA MAMOU → 33	não 0 sim 1 nunca mamou 2 IGN 9
30. Por quanto tempo mamou no seio? SE PAROU ANTES DOS 2 ANOS → 33	__ anos __ __ meses __ __ dias
31. Por que parou de mamar no seio? (até duas razões) seco o leite 11 pouco leite 12 leite fraco 13 criança não quis mais 14 outra gravidez 15 trabalho da mãe 16 criança não ganhava peso 17 doença da mãe 18 uso de anticoncepcional 19 doença da criança 20 criança já era grande 21 outro 22: _____	_____ _____
PULO INCONDICIONAL → 33	

32. Por que continua a mamar no seio? (até duas razões) <i>criança estava magra e fraca 11</i> <i>criança gosta 12</i> <i>é o melhor leite 13</i> <i>médico mandou 14</i> <i>leite de vaca é caro 15</i> <i>nenhuma razão especial 16</i> outro 17: _____	_____ ____
Agora vou fazer algumas perguntas sobre a alimentação do(a) <CRIANÇA>. Por favor responda com base nos alimentos que são consumidos habitualmente, ou seja, todos ou quase todos os dias. Pensando no consumo habitual do(a) <CRIANÇA>, ele(a) toma...	
33. Leite de vaca (líquido ou em pó, excluindo fórmula)?	não 0 sim 1 IGN 9
34. Alguma fórmula infantil como Nan, Milupa, Milnutri, Pregomin ou outra?	não 0 sim 1 IGN 9
35. Suco de fruta natural?	não 0 sim 1 IGN 9
36. Suco de caixinha ou engarrafado, suco em pó ou água de coco de caixinha?	não 0 sim 1 IGN 9
37. Refrigerante?	não 0 sim 1 IGN 9
Pensando no consumo habitual do(a) <CRIANÇA>, ele(a) come...	
38. Fruta inteira, em pedaço ou amassada?	não 0 sim 1 IGN 9
39. Comida de sal (de panela, papa ou sopa)?	não 0 sim 1 IGN 9
40. Iogurte?	não 0 sim 1 IGN 9
41. Legumes ou verduras?	não 0 sim 1 IGN 9
42. Fígado?	não 0 sim 1 IGN 9
43. Ovo?	não 0 sim 1 IGN 9
44. Carne (vaca, frango, peixe, porco, miúdos; não considerar fígado)?	não 0 sim 1 IGN 9
45. Feijão?	não 0 sim 1 IGN 9

46. Macarrão instantâneo (do tipo miojo)?	não 0 sim 1 IGN 9
47. Arroz, batata, aipim/mandioca ou massa?	não 0 sim 1 IGN 9
48. <i>Nuggets</i> , hambúrguer ou embutidos, como presunto, mortadela, salame, linguiça e salsicha?	não 0 sim 1 IGN 9
49. Salgadinhos de pacote (tipo <i>chips</i>)?	não 0 sim 1 IGN 9
50. Biscoito ou bolacha salgada?	não 0 sim 1 IGN 9
51. Biscoito recheado ou doce?	não 0 sim 1 IGN 9
52. Balas, pirulitos, chicletes, chocolates ou gelatina?	não 0 sim 1 IGN 9
Agora pensando nos costumes da Sra. em relação à alimentação do(a) <CRIANÇA>, a Sra. costuma adicionar...	
53. Açúcar ou mel em líquidos como leite, chá ou suco oferecido(s) para o(a) <CRIANÇA>?	não 0 sim 1 IGN 9
54. Achocolatado no leite do(a) <CRIANÇA>?	não 0 sim 1 IGN 9
55. Açúcar ou mel nas frutas do(a) <CRIANÇA>?	não 0 sim 1 IGN 9
56. O(a) <CRIANÇA> costuma realizar alguma refeição, comer ou beber algo assistindo TV, mexendo no computador, <i>tablet</i> ou celular?	não 0 sim 1 IGN 9

57. Agora vou fazer algumas perguntas sobre como <CRIANÇA> está comendo. Por favor, pense no último dia em que <CRIANÇA> se alimentou como de costume e me diga tudo o que ele(a) comeu/tomou neste dia.

QUADRO 2 – RECORDATÓRIO ALIMENTAR DE 24 HORAS

	acordar	manhã	almoço	tarde	janta	dormir	madrugada
Leite materno							
Leite de vaca							
Leite em pó							
Café							
Água/chá							
Suco							
Pão/ bolacha							
Iogurte							
Frutas							
Ovo							
Arroz							

Feijão							
Legume/ verdura							
Massa							
Batata/aipim							
Carne							
Achocolatado							
Refrigerante							
Outro1:							
Outro2:							

58. CRIANÇA> chupa bico? SE SIM → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
59. Já parou ou nunca chupou? SE NUNCA CHUPOU → Erro! Fonte de referência não encontrada.	nunca chupou 1 já parou 2
60. Quando parou de chupar bico? (99/99 = IGN)	__ __ meses __ __ dias
61. Chupa(va) bico todo o tempo? Outro: _____	todo o dia 1 de vez em quando 2 só para dormir 3 outro 4 ao deitar e depois solta o bico 5 durante o dia e a noite 6 de noite 7 IGN9
62. A Sra. recebeu de algum profissional de saúde alguma orientação sobre como cuidar dos dentes do(a) <CRIANÇA>? (Atenção: não considerar as orientações dadas pelo dentista no levantamento da Coorte de 2015.) SE NÃO OU IGN → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
63. Qual o profissional de saúde lhe orientou? (Ler as alternativas) Em casos de mais de um profissional, considerar aquele que a mãe informa ter dado a melhor orientação. Atenção: não considerar as orientações dadas pelo dentista no levantamento da Coorte de 2015.	médico 1 enfermeiro 2 dentista 3 outro 4 IGN 9
64. O(A) <CRIANÇA> já consultou alguma vez com o dentista, sem considerar o dentista da Coorte 2015? SE NÃO OU IGN → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
65. Qual o motivo da última ida ao dentista? (Ler as alternativas)	consulta de rotina/prevenção/revisão 1 tratamento 2 dor 3 não consultou/não precisou de atendimento 9
66. Quantas vezes por dia os dentes do(a) <CRIANÇA> são limpos ou escovados? (99=IGN) SE NENHUMA VEZ → Erro! Fonte de referência não encontrada.	__ __ vezes
67. A Sra. usa pasta de dente para limpar os dentes do(a) <CRIANÇA>? SE NÃO OU IGN → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
68. Qual a quantidade de pasta de dente que a Sra. usa para limpar os dentes do(a) <CRIANÇA>?	pouca 1 média 2

Mostrar a figura com a quantidade de pasta na escova.	muita 3 IGN 9
69. Que opção melhor descreve como o(a) <CRIANÇA> escova os dentes atualmente? <i>Ler as alternativas.</i> <i>Especifique o outro:</i> _____	os pais/responsáveis escovam 1 a criança escova, com ajuda 2 a criança escova sozinha 3 outro 4 IGN 9
70. Nos últimos 6 meses <CRIANÇA> sentiu dor de dente?	não 0 sim 1 IGN 9
71. A Sra. acha que <CRIANÇA> tem/teria medo de ir ao dentista? (As opções devem ser lidas)	não 0 sim, um pouco 1 sim, muito 2 IGN 9
72. A Sra. acha que os dentes e a boca do(a) <CRIANÇA> são: (As opções devem ser lidas)	muito bons 1 bons 2 mais ou menos 3 ruins 4 muito ruins 5 IGN 9
73. Quanto os dentes ou a boca do(a) <CRIANÇA> lhe incomodam? (As opções devem ser lidas)	não incomodam 1 quase nada 2 um pouco 3 muito 4 muitíssimo 5 IGN 9

BLOCO C – SAÚDE DA CRIANÇA E SONO

74. O(A) <CRIANÇA> dorme em um quarto sozinho(a)? SE SIM OU IGN → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
75. Quantos adultos dormem no quarto com o(a) <CRIANÇA>? (99=IGN; 00=não dorme com adultos)	__ __ adultos
76. Quantas crianças dormem no quarto com o(a) <CRIANÇA>? (99=IGN; 00=não dorme com crianças)	__ __ crianças
77. O(A) <CRIANÇA> dorme na mesma cama com outra pessoa? SE NÃO OU IGN → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
78. Quem dorme na mesma cama com o(a) <CRIANÇA> atualmente?	
a. Mãe?	não 0 sim 1 IGN 9
b. Pai?	não 0 sim 1 IGN 9
c. Outro adulto?	não 0 sim 1 IGN 9

d. Criança menor de 5 anos?	não 0 sim 1 IGN 9
e. Criança de 5 anos ou mais?	não 0 sim 1 IGN 9
79. O(A) <CRIANÇA> dorme a noite inteira ou parte da noite com essa(s) pessoa(s)?	a noite inteira 0 parte da noite 1 IGN 9
80. Quanto tempo o(a) <CRIANÇA> passa dormindo durante a NOITE (entre 7 da noite e 7 da manhã)? 99 = IGN	__ __ horas __ __ min
81. Quanto tempo o(a) <CRIANÇA> passa dormindo durante o DIA (entre 7 da manhã e 7 da noite)? 99 = IGN	__ __ horas __ __ min
82. Quantas vezes em média o(a) <CRIANÇA> acorda por noite? 77= <i>Se trocou o dia pela noite</i> ; 99 = IGN	__ __ vezes
83. Durante a noite (entre 10 da noite e 6 da manhã) quanto tempo o(a) <CRIANÇA> permanece acordado(a)? 99 = IGN	__ horas __ __ min
84. Quanto tempo leva para fazer o(a) <CRIANÇA> adormecer à noite? 99=IGN	__ horas __ __ min
85. Como o(a) <CRIANÇA> normalmente adormece? (<i>Ler as alternativas</i>)	Comendo/mamando 1 Sendo embalado 2 No colo 3 Sozinho na sua cama 4 Na cama com os pais 5 outro 6 IGN 9
86. A que horas normalmente o(a) <CRIANÇA> adormece à noite? 99=IGN	__ __ horas __ __ min
87. A Sra. considera o sono do(a) <CRIANÇA> um problema? (<i>Ler as alternativas</i>)	um problema muito grave 1 um problema pouco grave 2 não considera um problema 3 IGN 9
88. A Sra. acha que o sono do(a) <CRIANÇA> atrapalha o bem-estar da Sra.?	não 0 sim 1 IGN 9
89. O(A) <CRIANÇA> aperta ou range os dentes enquanto dorme? (<i>Ler as alternativas</i>)	nunca 0 às vezes 1 todas as noites 2 IGN 9
90. O(A) <CRIANÇA> faz sons com os dentes enquanto dorme? (<i>Ler as alternativas</i>)	nunca 0 às vezes 1 todas as noites 2 IGN 9
Agora vou fazer algumas perguntas sobre o comportamento e a saúde do(a) <CRIANÇA>:	
91. Em geral, a Sra. considera a saúde do(a) <CRIANÇA>: <i>As opções devem ser lidas</i>	excelente 1 muito boa 2 boa 3 regular 4 ruim 5 IGN 9

92. Pensando na atividade física do(a) <CRIANÇA> a Sra. diria que, em comparação com outras crianças da mesma idade, ele(a) é: <i>As opções devem ser lidas</i>	tão ativo(a) quanto as outras crianças 1 mais ativo(a) do que as outras crianças 2 menos ativo(a) do que as outras crianças 3 IGN 9
93. O(A) <CRIANÇA> prefere brincadeiras mais agitadas como correr e saltar ou prefere passatempos como desenhar, livros, TV, celular ou <i>tablet</i> ? <i>(Ler as alternativas)</i>	Prefere correr, saltar 1 Prefere livros, <i>tablet</i> 2 IGN 9
94. Desde que nasceu, <CRIANÇA> teve chiado no peito? SE NÃO OU IGN → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
95. Com que idade teve a primeira crise de chiado no peito?	antes dos 6 meses 1 6 a 12 meses 2 mais de 12 meses 3 IGN 9
96. Desde que completou 2 anos, alguma vez quando <CRIANÇA> teve chiado, precisou fazer nebulização ou usar bombinha?	não 0 nebulização 1 bombinha 2 ambos 3 IGN 9
97. O que a Sra. faz ou fazia quando a <CRIANÇA> começa(va) a chiar o peito <i>Outro: _____</i> SE 1, 2, 5 OU 9 → Erro! Fonte de referência não encontrada.	já começa a medicar em casa 1 não medica, espera melhorar sozinha 2 leva para consultar 3 começa a medicar e leva para consultar 4 outro 5 IGN 9
98. Onde leva(va)? <i>Outro: _____</i>	posto de saúde 1 médico particular 2 pronto socorro 3 ambulatório de hospital ou faculdade 4 outro 5 IGN 9
99. A Sra. leva(va) <CRIANÇA> para fazer consultas de revisão por causa do chiado quando ela não está em crise? Não ou IGN → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
100. Onde leva(va) <CRIANÇA> para consultas de rotina? <i>Outro: _____</i>	posto de saúde 1 médico particular 2 pronto socorro 3 ambulatório de hospital ou faculdade 4 outro 5 IGN 9
101. Nos últimos 12 meses, isto é, desde <mês da entrevista> do ano passado, <CRIANÇA> teve chiado no peito? SE SIM → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
102. Quando <CRIANÇA> parou de ter crises de chiado no peito? (99/99 = IGN)	__ __ anos __ __ meses

SE PAROU ANTES <MÊS> ANO PASSADO →Erro! Fonte de referência não encontrada.	
103. Desde <mês da entrevista> do ano passado, quantas crises de chiado no peito <CRIANÇA> teve? (99=IGN)	__ __ vezes
104. Tinha falta de ar ou cansaça junto com o chiado?	não 0 sim 1 IGN 9
105. Desde <mês da entrevista> do ano passado, <CRIANÇA> teve seu sono perturbado por chiado no peito? SE NÃO →Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
106. Quantas noites por semana?	menos de uma 1 uma noite ou mais 2 IGN 9
107. Desde <mês da entrevista> do ano passado, o chiado foi tão forte que <CRIANÇA> não conseguia dizer mais de /duas palavras entre cada respiração?	não 0 sim 1 IGN 9
108. Desde <mês da entrevista> do ano passado, <CRIANÇA> teve chiado no peito depois de correr?	não 0 sim 1 IGN 9
109. Desde <mês da entrevista> do ano passado, <CRIANÇA> foi ao médico, devido ao chiado? SE NÃO →Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
110. Quantas vezes? (99=IGN)	__ __ vezes
111. Desde <mês da entrevista> do ano passado, <CRIANÇA> foi ao pronto socorro ou UPA, devido ao chiado? SE NÃO →Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
112. Quantas vezes? (99=IGN)	__ __ vezes
113. Desde <mês da entrevista> do ano passado <CRIANÇA> teve tosse seca à noite, sem estar gripado?	não 0 sim 1 IGN 9
114. Alguma vez o médico disse que <CRIANÇA> tinha asma?	não 0 sim 1 IGN 9
115. Alguma vez o médico disse que <CRIANÇA> tinha bronquite?	não 0 sim 1 IGN 9
116. Nos últimos 12 meses, <CRIANÇA> teve asma?	não 0 sim 1 IGN 9
117. Nos últimos 12 meses, <CRIANÇA> teve bronquite?	não 0 sim 1 IGN 9
118. <CRIANÇA> internou por causa de chiado no peito ou tosse seca ou asma ou bronquite? SE NÃO OU IGN →Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9

119. Quantas vezes? (99=IGN)	__ __ vezes
120. <CRIANÇA> teve pontada ou pneumonia dos 2 anos até agora? SE NÃO OU IGN → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
121. Quantas vezes <CRIANÇA> teve pontada ou pneumonia dos 2 anos até agora? (99=IGN)	__ __ vezes
122. Quem disse para a Sra. que era pontada ou pneumonia? (1= médico, 2= outro, 8=NSA, 9= IGN) 1ª vez outro: _____ 2ª vez outro: _____ 3ª vez outro: _____ 4ª vez outro: _____	1ª vez __ 2ª vez __ 3ª vez __ 4ª vez __
123. <CRIANÇA> tem ou já teve alguma vez na vida crises de espirros ou nariz escorrendo quando não estava gripado ou resfriado?	não 0 sim 1 IGN 9
124. <CRIANÇA> tem ou já teve alguma vez na vida coceira nos olhos e água/lágrima escorrendo quando não estava gripado ou resfriado?	não 0 sim 1 IGN 9
125. Alguma vez na vida <CRIANÇA> teve manchas com coceira? SE NÃO OU IGN → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
126. Estas manchas apareciam e desapareciam durante vários meses?	não 0 sim 1 IGN 9
127. As manchas eram nas dobras dos cotovelos, atrás dos joelhos, nos tornozelos, abaixo das nádegas ou no pescoço, orelhas e olhos?	não 0 sim 1 IGN 9
128. <CRIANÇA> teve alergia de pele no primeiro ano de vida?	não 0 sim 1 IGN 9
129. Desde que completou 2 anos, <CRIANÇA> já foi ao médico ou posto de saúde ou hospital para consultar por doença? SE NÃO OU IGN → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
130. Quantas vezes depois que fez 2 anos? (“muitas vezes”= 77, IGN= 99)	__ __ vezes
131. Quantas vezes nos últimos 3 meses? (“muitas vezes”= 77, IGN= 99)	__ __ vezes
132. Motivo da última consulta? _____ _____	__ __ __ __
133. Desde que completou 2 anos, a Sra. já levou <CRIANÇA> para consultar no Pronto Socorro Municipal ou em algum Pronto Atendimento? SE NÃO OU IGN → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 pronto socorro municipal 1 pronto atendimento 2 ambos 3 IGN 9

134. Quantas vezes? (“ <i>muitas vezes</i> ” = 77, <i>IGN</i> =99)	__ __ vezes
135. Motivo da última consulta? _____ _____	__ __ __
136. Desde que completou 2 anos, a Sra. tentou levar <CRIANÇA> para consultar, hospitalizar ou vacinar e não conseguiu? SE NÃO OU IGN → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
137. Por quê? _____ _____	__ __ __ __
138. Desde que <CRIANÇA> completou 2 anos, alguma vez nos atendimentos nos postos de saúde ou serviços do SUS lhe pediram para pagar alguma coisa? SE “0”, “2” ou IGN → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 nunca utilizou o SUS 2 IGN 9
139. Para pagar o quê? _____ _____	__ __ __ __
140. <CRIANÇA> já consultou alguma vez com psicólogo/psiquiatra? SE NÃO OU IGN → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
141. Motivo da consulta: _____ _____	__ __ __ __
142. CRIANÇA> tem algum dos problemas de saúde abaixo? a) Síndrome de Down b) Autismo c) Epilepsia ou convulsão d) Paralisia cerebral ou retardo mental e) Deficiência visual (problemas para enxergar) f) Deficiência auditiva (problemas para ouvir) g) Dificuldade para compreender o que lhe foi dito ou explicado h) Dificuldade para falar i) Dificuldade para andar j) Outro problema _____	down (0) não (1) sim (9) IGN auti (0) não (1) sim (9) IGN epil (0) não (1) sim (9) IGN pc (0) não (1) sim (9) IGN cego (0) não (1) sim (9) IGN surd (0) não (1) sim (9) IGN comp (0) não (1) sim (9) IGN fala (0) não (1) sim (9) IGN anda (0) não (1) sim (9) IGN outr (0) não (1) sim (9) IGN
143. <CRIANÇA> baixou em hospital dos 2 anos até agora? SE NÃO OU IGN → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
144. Quantas vezes? (9999=IGN)	__ __ __ __

IDADE Que idade tinha? (meses)	CAUSA DE HOSPITALIZAÇÃO Por que baixou?	HOSPITAL Onde baixou? Beneficência Portuguesa = 1 Santa Casa = 2 Clínicas (HUSFP) = 3 Fau (HE-UFPEL) = 4 Miguel Piltcher = 5 Outro = 6
__ __	_____	__
__ __	_____	__
__ __	_____	__
__ __	_____	__
__ __	_____	__
__ __	_____	__
145. O(A) <Criança > recebeu algum remédio nos últimos 15 dias, incluindo vitamina ou remédio para febre? SE NÃO OU IGN → Erro! Fonte de referência não encontrada.		não 0 sim 1 IGN 9
146. Quais os nomes dos remédios que o(a) <criança> recebeu nos últimos 15 dias? <i>Se usou, mas não sabe o nome, perguntar: “Lembra para o que foi usado o remédio?” Anotar: “Remédio para XXX”</i> 146r1a. Remédio 1: _____ 146r2a. Remédio 2: _____ 146r3a. Remédio 3: _____ 146r4a. Remédio 4: _____ 146r5a. Remédio 5: _____ 146r6a. Remédio 6: _____ 146r7a. Remédio 7: _____ 146r8a. Remédio 8: _____ 146r9a. Remédio 9: _____ 146r10a. Remédio 10: _____ 146a. Número total de remédios usados = __ __ Agora, a Sra. poderia mostrar as caixas e receitas de todos os remédios que o(a) <criança> usou nos últimos 15 dias?		
146r1a. Agora vamos falar sobre o <nome Remédio 1>		
146r1ab. Apresentação de caixa, embalagem ou receita? Essa questão não deve ser lida para a mãe.		não 0 sim 1
146r1b. Quem indicou este remédio?		médico (atual) 1 médico (anterior) 2

	outro profissional de saúde 3 mãe ou pai da criança 4 familiar/ amigo 5 outro 6 IGN 9
146r1c. Este remédio foi usado para tratar o quê? _____	
146r1d. Usou todos os dias por um mês ou mais?	não 0 sim 1 IGN 9
146r1e. Como conseguiu este remédio na última vez?	No posto de saúde, outro local do SUS 1 De graça na Farmácia Popular 2 Comprou na Farmácia 3 Amostra grátis 4 Ganhou de amigos, parentes ou vizinhos 5 _____ Outro 6 IGN 9
146r2a. Agora vamos falar sobre o <nome Remédio 2>	
146r2ab. Apresentação de caixa, embalagem ou receita? <i>Essa questão não deve ser lida para a mãe.</i>	não 0 sim 1
146r2b. Quem indicou este remédio?	médico (atual) 1 médico (anterior) 2 outro profissional de saúde 3 mãe ou pai da criança 4 familiar/ amigo 5 outro 6 IGN 9
146r2c. Este remédio foi usado para tratar o quê? _____	
146r2d. Usou todos os dias por um mês ou mais?	não 0 sim 1 IGN 9
146r2e. Como conseguiu este remédio na última vez?	No posto de saúde, outro local do SUS 1 De graça na Farmácia Popular 2 Comprou na Farmácia 3 Amostra grátis 4 Ganhou de amigos, parentes ou vizinhos 5 _____ Outro 6 IGN 9
146r3a. Agora vamos falar sobre o <nome Remédio 3>	
146r3ab. Apresentação de caixa, embalagem ou receita? <i>Essa questão não deve ser lida para a mãe.</i>	não 0 sim 1
146r3b. Quem indicou este remédio?	médico (atual) 1 médico (anterior) 2 outro profissional de saúde 3 mãe ou pai da criança 4 familiar/ amigo 5 outro 6 IGN 9

160. Quantas doses da vacina tríplice viral (SRC)? (9=IGN)	__ doses
161. Quantas doses da vacina para varicela? (9=IGN)	__ doses
162. Quantas doses da vacina tetra viral? (9=IGN)	__ doses
163. Quantas doses da vacina para meningite (meningocócica)? (9=IGN)	__ doses
164. Quantas doses da Meningo ACWY? (9=IGN)	__ doses
165. Quantas doses da vacina para gripe (Influenza)?(9=IGN)	__ doses
166. Quantas doses da vacina para o rotavírus? (9=IGN)	__ doses
167. Quantas doses da vacina para febre amarela? (9=IGN)	__ doses
<i>A próxima questão deverá ser feita tendo sido apresentado o cartão ou não:</i>	
168. Onde o(a) <CRIANÇA > foi vacinado(a)? (ler as opções)	
a. Posto de saúde	não 0 sim 1 IGN 9
b. Consultório ou clínica particular	não 0 sim 1 IGN 9
c. Outro: _____	não 0 sim 1 IGN 9
Agora vou lhe fazer algumas perguntas sobre acidentes que <CRIANÇA> tenha tido desde que fez 2 anos:	
169. Desde que fez 2 anos, <CRIANÇA> já caiu e se machucou? SE NÃO ou IGN →Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
170. Quantas vezes? (“muitas vezes”= 77, IGN= 99)	__ __ vezes
171. Desde que fez 2 anos, <CRIANÇA> já se cortou? SE NÃO ou IGN →Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
172. Quantas vezes? (“muitas vezes”= 77, IGN= 99)	__ __ vezes
173. Desde que fez 2 anos, <CRIANÇA> já se queimou? SE NÃO ou IGN →Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
174. Quantas vezes? (“muitas vezes” = 77, IGN= 99)	__ __ vezes
175. Desde que fez 2 anos, <CRIANÇA> já se intoxicou por tomar algum medicamento ou produto de limpeza guardado na casa? SE NÃO ou IGN →Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim, medicamento 1 sim, produto de limpeza 2 sim, ambos 3 IGN 9

176. Quantas vezes? (“muitas vezes” = 77, IGN= 99)	__ __ vezes
177. Desde que fez 2 anos, <CRIANÇA> teve outro tipo de acidente? SE NÃO ou IGN → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
178. Qual? _____	__ __
179. Alguma vez na vida <CRIANÇA> bateu com a cabeça muito forte ou alguém bateu na cabeça dele(a)? SE NÃO ou IGN → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
180. Alguma vez <CRIANÇA> chegou a perder consciência ou desmaiar com a batida?	não 0 sim 1 IGN 9
181. Alguma vez foi preciso procurar algum serviço médico ou posto de saúde por causa dessa batida?	não 0 sim 1 IGN 9
182. Que idade <CRIANÇA> tinha quando isso aconteceu?	__ anos __ __ meses
183. A Sra. toma algum cuidado para evitar que <CRIANÇA> sofra algum acidente? SE NÃO ou IGN → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
184. Qual(is)? _____ _____	cuidado 1 __ __ cuidado 2 __ __
Agora vamos falar sobre a retirada de fraldas da<CRIANÇA> durante o dia:	
185. <CRIANÇA> usa fraldas de dia? SE SIM → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
186. Com que idade <CRIANÇA> deixou de usar fraldas de dia? (99= IGN)	__ __ meses
187. Com que idade <CRIANÇA> parou de fazer xixi nas roupas de dia? (99= IGN; 77= ainda faz)	__ __ meses
188. Com que idade <CRIANÇA> parou de fazer cocô nas roupas de dia? (99= IGN; 77= ainda faz)	__ __ meses
189. <CRIANÇA> usa fralda de noite? SE SIM → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
190. Com que idade <CRIANÇA> deixou de usar fralda de noite? (99=IGN)	__ __ meses

BLOCO D – CARACTERÍSTICAS DA MÃE, DA FAMÍLIA E DO DOMICÍLIO

Agora gostaria que me contasse sobre a Sra. , sua casa e sua família:	
191. Contando com a Sra. e <CRIANÇA>, quantas pessoas moram na casa em que a criança vive?	__ __ pessoas
192. O pai da <CRIANÇA> mora nesta mesma casa? (SE SIM → leia as alternativas)	não 0 biológico 1

	social 2 adotivo 3 IGN 9
193. A mãe da <CRIANÇA> mora nesta mesma casa? (SE SIM → leia as alternativas)	não 0 biológica 1 social 2 adotiva 3 IGN 9
194. Irmãos? (nenhum = 00) __ __ mais novos que <CRIANÇA> __ __ com idade de 4 – 9 anos __ __ com 10 anos ou mais	__ __ mais novos __ __ 4 – 9 anos __ __ 10 + anos
195. Outras crianças menores de 10 anos? Quantas? (nenhum = 00)	__ __ crianças
196. Outras pessoas? Quantas? (nenhum = 00)	__ __ pessoas
197. A Sra. trabalhou fora ou para fora desde que <CRIANÇA> completou 2 anos? SE NÃO ou IGN → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
198. Quantos dias por semana? (9 = IGN)	__ dias/ semana
199. Quantas horas por dia? (99 = IGN)	__ __ horas/ dia
200. Que tipo de trabalho a Sra. faz(ez)? _____	__ __
201. Por quanto tempo trabalhou desde que <CRIANÇA> completou 2 anos? (77 = continua trabalhando; 00 meses = <1 mês; 99/99 = IGN)	__ __ meses __ __ dias
202. A Sra. tem marido ou companheiro? SE NÃO ou IGN → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
203. Há quanto tempo a Sra. e seu companheiro estão juntos?	__ __ anos __ __ meses
204. Seu marido ou companheiro é o pai biológico de <CRIANÇA>? SE SIM → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
205. Até que série o pai (social) da <CRIANÇA> completou na escola? (88/8= NSA; 99/9= IGN) SE NÃO CURSOU NÍVEL SUPERIOR → Erro! Fonte de referência não encontrada.	
Grau:	Fundamental/primeiro grau 1 Ensino médio/segundo grau 2 não estudou 8 IGN 9
Ano:	1º ano 2º ano

	3º ano 4º ano 5º ano 6º ano 7º ano 8º ano 9º ano IGN 99
206. O pai (<i>social</i>) da <CRIANÇA> completou a faculdade?	não 0 sim 1 IGN 9
207. Qual é a cor da pele do pai (<i>social</i>)? Outra: _____	branca 1 preta 2 parda, morena 3 outra 4 NSA 8
208. Até que ano a Sra. completou na escola? SE 3º ANO ENSINO MÉDIO OU MAIS → Erro! Fonte de referência não encontrada. DEMAIS RESPOSTAS → Erro! Fonte de referência não encontrada.	
Grau:	Fundamental/primeiro grau 1 Ensino médio/segundo grau 2 não estudou 8 IGN 9
Ano:	1º ano 2º ano 3º ano 4º ano 5º ano 6º ano 7º ano 8º ano 9º ano IGN 99
209. A Sra. fez faculdade? SE NÃO OU IGN → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
210. A Sra. completou a faculdade? SE NÃO OU IGN → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
211. A Sra. fez pós-graduação? SE NÃO OU IGN → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
212. Qual o último nível de pós-graduação que a Sra. completou? Ler opções de resposta	Especialização finalizada 1 Mestrado finalizado 2 Doutorado finalizado 3 Nenhum nível completo 4 IGN 9

CLASSIFICAÇÃO ANEP/ IEN							
Agora vou fazer algumas perguntas a respeito de aparelhos que a Sra. tem em casa. Na sua casa a Sra. tem:							
Aspirador de pó?	0	1	2	3	4+	9	IGN
Máquina de lavar roupa? (<i>não considerar tanquinho</i>)	0	1	2	3	4+	9	IGN
Máquina de lavar louças?	0	1	2	3	4+	9	IGN
Máquina de secar roupa? (<i>considerando a lava e seca</i>)	0	1	2	3	4+	9	IGN
DVD (<i>qualquer aparelho leitor de DVD, menos o do carro</i>)?	0	1	2	3	4+	9	IGN
Geladeira?	0	1	2	3	4+	9	IGN
Freezer ou geladeira duplex?	0	1	2	3	4+	9	IGN
Forno de microondas?	0	1	2	3	4+	9	IGN
Notebook ou computador de mesa?	0	1	2	3	4+	9	IGN
Telefone fixo? (<i>convencional</i>)	0	1	2	3	4+	9	IGN
TV a cabo ou por assinatura? (<i>não considere antena parabólica</i>)	0	1	2	3	4+	9	IGN
Acesso à internet? (<i>não considere internet do celular</i>)	0	1	2	3	4+	9	IGN

Na sua casa, a Sra. tem? Quantos?							
Rádio	0	1	2	3	4+	9	IGN
Televisão preto e branco	0	1	2	3	4+	9	IGN
Televisão colorida	0	1	2	3	4+	9	IGN
Motocicleta (somente de uso particular)	0	1	2	3	4+	9	IGN
Automóvel (somente de uso particular)	0	1	2	3	4+	9	IGN
Aparelho de ar condicionado (se ar condicionado central, marque o nº de cômodos servidos)	0	1	2	3	4+	9	IGN

Na sua casa trabalha empregada(o) doméstica(o) ou mensalista? Se sim, quantos?	não 0 um 1 dois ou mais 2 IGN 9
Quantas peças são usadas para dormir? (99 = IGN)	___ ___ peças
A água na sua casa é encanada ou vem de poço/nascente?	encanada 0 poço/nascente 1 outra fonte 2 IGN 9
A rua onde a Sra. mora é de terra/cascalho ou é pavimentada/asfaltada?	terra/cascalho 1 pavimentada/asfaltada 2 IGN 9
Quantos banheiros existem na casa? (banheiro = banheiro com vaso e chuveiro e/ou banheira) (00 = nenhum; 99 = IGN)	___ ___ banheiros

Agora gostaria de lhe fazer algumas perguntas a respeito da renda da família:	
236. Quem é a pessoa de maior renda na sua casa? Outro: _____	pai da criança 1 mãe da criança 2 outro 3 IGN 9
237. No mês passado, quanto receberam as pessoas da casa? (SE HOUVER MAIS PESSOAS RECEBENDO, ACRESCENTAR O SALÁRIO DESTAS AO DA PESSOA 4) (Não anotar centavos. 9-----9 = IGN)	Pessoa 1 R\$ _____ por mês Pessoa 2 R\$ _____ por mês Pessoa 3 R\$ _____ por mês Pessoa 4 R\$ _____ por mês
238. A família tem outra fonte de renda?	Pessoa 1 R\$ _____ por mês Pessoa 2 R\$ _____ por mês
239. Quem é o chefe da família? Outro: _____	pai da criança 1 mãe da criança 2 outro 3 IGN 9
Marcar a seguinte pergunta SEM perguntar à mãe: 240. A pessoa de maior renda é também o chefe da família? Se o chefe da família é a MÃE OU o PAI →Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
241. Até que ano o(a) chefe da família completou na escola? SE 3º ANO ENSINO MÉDIO OU MAIS →Erro! Fonte de referência não encontrada. DEMAIS RESPOSTAS →Erro! Fonte de referência não encontrada.	_____
241a. Grau:	Fundamental/primeiro grau 1 Ensino médio/segundo grau 2 não estudou 8 IGN 9
241b. Ano:	1º ano 2º ano 3º ano 4º ano 5º ano 6º ano 7º ano 8º ano 9º ano IGN 99
242. O(a) chefe da família fez faculdade? SE NÃO OU IGN →Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
243. O(a) chefe da família completou a faculdade? SE NÃO OU IGN →Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
244. O(a) chefe da família fez pós-graduação? SE NÃO OU IGN →Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
245. Qual o último nível de pós-graduação que o(a) chefe da família completou?	Especialização finalizada 1 Mestrado finalizado 2

<i>Ler opções de resposta</i>	Doutorado finalizado 3 Nenhum nível completo 4 IGN 9
BLOCO E – SAÚDE DA MÃE E CONTRACEPÇÃO	
Agora vou fazer algumas perguntas sobre a saúde da Sra. <i>(Neste momento, se houver mais alguém presente, pedir para ficar um pouco só com a mãe por que vai fazer algumas perguntas mais pessoais)</i>	
Gostaria de lhe fazer 2 perguntas sobre o convívio com o seu companheiro atual PULAR AS 2 ABAIXO DEPENDENDO SE TEM OU NÃO TEM COMPANHEIRO	
246. Em uma escala de 1 a 10, sendo 1 MUITO POUCO e 10 MUITO FREQUENTEMENTE - O quanto o seu companheiro lhe critica? IGN=99	— —
247. Em uma escala de 1 a 10, sendo 1 MUITO POUCO E 10 MUITO FREQUENTEMENTE - O quanto a Sra. critica o seu companheiro? IGN=99	— —
248. Em geral, como a Sra. considera sua saúde? <i>(as opções devem ser lidas para a mãe)</i>	excelente 1 muito boa 2 boa 3 regular 4 ruim 5 IGN 9
249. A Sra. fuma?	Não 0 Sim 1 Ex-fumante 2 IGN 9
250.A Sra. tem ou teve Tumor no fígado	não 0 sim 1 IGN 9
251.A Sra. tem Hepatite aguda	não 0 sim 1 IGN 9
252.A Sra. teve Trombose venosa profunda	não 0 sim 1 IGN 9
253.A Sra. tem Trombose venosa aguda	não 0 sim 1 IGN 9
254.A Sra. teve Derrame	não 0 sim 1 IGN 9
255.A Sra. tem ou teve infarto ou angina	não 0 sim 1 IGN 9
256.A Sra. tem Hipertensão controlada	não 0 sim 1 IGN 9
257.A Sra. tem Hipertensão descompensada	não 0 sim 1 IGN 9
258.A Sra. tem Diabetes	não 0 sim 1 IGN 9

259. A Sra. tem dor de cabeça tipo enxaqueca	não 0 sim 1 IGN 9
260. A Sra. tem ou teve dor de cabeça tipo enxaqueca com aura	não 0 sim 1 IGN 9
261. A Sra. tem ou teve Mioma ou fibroma uterino	não 0 sim 1 IGN 9
262. A Sra. tem Neoplasia cervical uterina (NIC)	não 0 sim 1 IGN 9
263. A Sra. tem Câncer de colo de útero	não 0 sim 1 IGN 9
264. A Sra. tem ou teve Câncer de mama	não 0 sim 1 IGN 9
265. A Sra. tem Câncer de útero	não 0 sim 1 IGN 9
266. A Sra. engravidou depois que o(a) <CRIANÇA> nasceu? SE NÃO ou IGN → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
267. Quantas vezes a Sra. engravidou depois do nascimento da <CRIANÇA>?	_____ gestações
268. Quantos filhos nasceram vivos?	_____ vivos
269. A Sra. teve algum que nasceu morto? Quantos? (00 = não)	_____ mortos
270. A Sra. teve algum aborto? Quantos? (00 = não)	_____ abortos
271. Todos os seus filhos são do mesmo pai?	não 0 sim 1 IGN 9
272. Depois da gravidez da <CRIANÇA>, a (primeira) gravidez foi desejada/planejada? SE SIM ou IGN → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
273. Estava fazendo alguma coisa para não engravidar no período em que engravidou? SE SIM OU IGN → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
274. Por que não?	não queria usar nenhum método 0 não sabia como 1 não precisava, porque estava amamentando (dar peito protege) 2 não tinha dinheiro para comprar anticoncepcional 3 anticoncepcional estava em falta no posto 4 não tinha parceiro ou não estava tendo

	relações 5 fez laqueadura/ligadura 6 parceiro fez vasectomia 7 ainda não havia menstruado 8 outro 9
275. Depois da gravidez de <CRIANÇA>, a segunda gravidez foi desejada/ planejada? Ignorar se apenas uma gravidez SE SIM ou IGN ➔Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
276. Estava fazendo alguma coisa para não engravidar no período em que engravidou? SE SIM OU IGN ➔Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
277. Por que não?	não queria usar nenhum método 0 não sabia como 1 não precisava, porque estava amamentando (dar peito protege) 2 não tinha dinheiro para comprar anticoncepcional 3 anticoncepcional estava em falta no posto 4 não tinha parceiro ou não estava tendo relações 5 fez laqueadura/ligadura 6 parceiro fez vasectomia 7 ainda não havia menstruado 8 outro 9
278. Depois da gravidez de <CRIANÇA>, a terceira gravidez foi desejada planejada? Ignorar se apenas duas gravidezes SE SIM ou IGN ➔Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
279. Estava fazendo alguma coisa para não engravidar no período em que engravidou? SE SIM OU IGN ➔Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
280. Por que não?	não queria usar nenhum método 0 não sabia como 1 não precisava, porque estava amamentando (dar peito protege) 2 não tinha dinheiro para comprar anticoncepcional 3 anticoncepcional estava em falta no posto 4 não tinha parceiro ou não estava tendo relações 5 fez laqueadura/ligadura 6 parceiro fez vasectomia 7 ainda não havia menstruado 8 outro 9

281. A Sra. está grávida no momento? SE NÃO ou IGN → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
282. Esta gravidez atual foi desejada/ planejada? SE SIM → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
283. Estava fazendo alguma coisa para não engravidar no período em que engravidou? SE SIM OU IGN → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
284. Por que não? PULO INCONDICIONAL → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não queria usar nenhum método 0 não sabia como 1 não precisava, porque estava amamentando (dar peito protege) 2 não tinha dinheiro para comprar anticoncepcional 3 anticoncepcional estava em falta no posto 4 não tinha parceiro ou não estava tendo relações 5 fez laqueadura/ligadura 6 parceiro fez vasectomia 7 ainda não havia menstruado 8 outro 9
285. A Sra. deseja engravidar em seguida? Outro: _____	não 0 sim 1 não sabe/ não pensou nisso 2 outro 3 IGN 9
286. A Sra. está fazendo alguma coisa para não engravidar no momento? SE SIM OU IGN → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
287. Por que não? <i>Qualquer repostagem, com exceção da opção 3 → Erro! Fonte de referência não encontrada.</i>	não quer usar nenhum método 0 não sabe como 1 não precisa, porque está amamentando (dar peito protege) 2 não tem dinheiro para comprar anticoncepcional 3 anticoncepcional está em falta no posto 4 não tem parceiro ou não voltou a ter relações 5 fez laqueadura/ligadura 6 parceiro fez vasectomia 7 ainda não menstruou 8 outro 9
288. A Sra. tentou conseguir no posto? PULO INCONDICIONAL PARA → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9

289. O que a Sra. está fazendo para não engravidar? Outro: _____	pílula somente com progesterona 01 pílula com 2 hormônios (estrogênio e progesterona) 02 coito interrompido 03 preservativo masculino 04 preservativo feminino 05 injeção mensal 06 injeção a cada 3 meses 07 implantes 08 pílula do dia seguinte 09 DIU 10 Mirena 11 laqueadura/ligadura 12 tabelinha 13 ele fez vasectomia 14 algum outro método 15
290. Quem indicou o método em uso?	Amiga/parente 01 Ginecologista 02 Clínico geral/UBS 03 Pesquisa em internet 04 Outro 05
291. Onde a senhora conseguiu este método? (SE 289=13, NSA)	Posto de Saúde 01 Convênio 02 Doação em Universidade 03 Compra em farmácia 04 Outro 05 NSA 88
292. Qual foi o motivo da escolha?	Custo/acessibilidade 01 Gratuidade 02 Facilidade de uso 03 Eficácia 04 Indicação de confiança 05 Outro 06
293. Sente-se segura e adaptada ao método?	não 0 sim 1 IGN 9
Diga a opção (número) que melhor reflete como a Sra. tem se sentido nos últimos 7 dias: <i>(mostrar cartão)</i>	
294. Eu tenho sido capaz de rir e achar graça das coisas	como eu sempre fiz 1 não tanto quanto antes 2 sem dúvida, menos que antes 3 de jeito nenhum 4
295. Eu tenho pensado no futuro com alegria	sim, como de costume 1 um pouco menos que de costume 2 muito menos que de costume 3 praticamente não 4
296. Eu tenho me culpado sem razão quando as coisas dão errado	não, de jeito nenhum 1 raramente 2 sim, às vezes 3 sim, muito frequentemente 4
297. Eu tenho ficado ansiosa ou preocupada sem uma boa razão	sim, muito seguido 1 sim, às vezes 2

	de vez em quando 3 não, de jeito nenhum 4
298. Eu tenho me sentido assustada ou em pânico sem um bom motivo	sim, muito seguido 1 sim, às vezes 2 raramente 3 não, de jeito nenhum 4
299. Eu tenho me sentido sobrecarregada pelas tarefas e acontecimentos do meu dia-a-dia	Sim, na maioria das vezes eu não consigo lidar bem com eles 1 Sim, algumas vezes não consigo lidar bem como antes 2 Não, na maioria das vezes consigo lidar bem com eles 3 Não, eu consigo lidar com eles tão bem quanto antes 4
300. Eu tenho me sentido tão infeliz que eu tenho tido dificuldade de dormir	sim, na maioria das vezes 1 sim, algumas vezes 2 raramente 3 não, nenhuma vez 4
301. Eu tenho me sentido triste ou muito mal	sim, na maioria das vezes 1 sim, muitas vezes 2 raramente 3 não, de jeito nenhum 4
302. Eu tenho me sentido tão triste que tenho chorado	sim, a maior parte do tempo 1 sim, muitas vezes 2 só de vez em quando 3 não, nunca 4
303. Eu tenho pensado em fazer alguma coisa contra mim mesma	sim, muitas vezes 1 às vezes 2 raramente 3 nunca 4

BLOCO F – ATIVIDADE FÍSICA

(Aplicar somente para mães biológicas ou adotivas) – PULO NO SISTEMA

Agora vamos falar um pouco sobre suas atividades físicas e atividades feitas em casa como lazer ou passatempo. Por favor, pense nos dias da semana, sem contar o sábado e domingo.

304. A Sra. assiste televisão todos ou quase todos os dias?	não 0 sim 1 IGN 9
305. Em um dia de semana normal, quanto tempo por dia a Sra. assiste televisão? (99:99 = IGN)	__ __ horas __ __ min/dia
306. A Sra. usa computador, notebook ou tablet em casa? SE NÃO OU IGN → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
307. Em um dia de semana normal, quanto tempo por dia a Sra. usa computador, notebook ou tablet em casa? (99:99 = IGN)	__ __ horas __ __ min/dia
308. A Sra. usa o celular para jogar, acessar internet ou aplicativos, como Facebook, Instagram ou WhatsApp? SE mãe não tem celular → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9

309. Seria difícil para a Sra. ficar um dia inteiro sem usar o celular?	não 0 sim 1 IGN 9
310. A Sra. usa o celular durante as refeições?	não 0 sim 1 IGN 9
311. Alguém já lhe disse que a Sra. fica muito tempo no celular?	não 0 sim 1 IGN 9
312. A Sra. tem o hábito de usar o celular na cama, antes de dormir?	não 0 sim 1 IGN 9
313. A Sra. trabalha fora de casa? SE NÃO OU IGN → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
314. Em um dia de semana normal, quanto tempo por dia a Sra. fica sentada no seu trabalho? (99:99 = IGN)	__ __ horas __ __ min/dia
315. A Sra. anda de carro, ônibus ou moto todos ou quase todos os dias? SE NÃO OU IGN → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
316. Em um dia de semana normal, quanto tempo por dia a Sra. fica sentada no carro, ônibus ou moto? (99:99 = IGN)	__ __ horas __ __ min/dia
317. Na última semana, mesmo contando com o fim de semana, a Sra. fez alguma atividade física de lazer, como caminhadas, dança, praticou algum esporte, fez ginástica ou foi à academia, por exemplo? SE NÃO OU IGN → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
Agora eu vou listar algumas atividades físicas e gostaria de saber se a Sra. praticou ou não nos últimos <u>SETE DIAS</u>	
318. Alongamento? SE NÃO OU IGN → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
319. Quantas vezes? (99 = IGN)	__ __ vezes
320. Quanto tempo (em média) em cada vez? (99:99 = IGN)	__ __ horas __ __ min
321. Artes marciais / Capoeira / Lutas? SE NÃO OU IGN → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
322. Quantas vezes? (99 = IGN)	__ __ vezes
323. Quanto tempo (em média) em cada vez? (99:99 = IGN)	__ __ horas __ __ min
324. Caminhada? SE NÃO OU IGN → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9

325. Quantas vezes? (99 = IGN)	__ __ vezes
326. Quanto tempo (em média) em cada vez? (99:99 = IGN)	__ __ horas __ __ min
327. Ciclismo / RPM / <i>Spinning</i> ? SE NÃO OU IGN ➔ Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
328. Quantas vezes? (99 = IGN)	__ __ vezes
329. Quanto tempo (em média) em cada vez? (99:99 = IGN)	__ __ horas __ __ min
330. Corrida? SE NÃO OU IGN ➔ Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
331. Quantas vezes? (99 = IGN)	__ __ vezes
332. Quanto tempo (em média) em cada vez? (99:99 = IGN)	__ __ horas __ __ min
333. Danças (salão, <i>ballet</i>)? SE NÃO OU IGN ➔ Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
334. Quantas vezes? (99 = IGN)	__ __ vezes
335. Quanto tempo (em média) em cada vez? (99:99 = IGN)	__ __ horas __ __ min
336. Esportes coletivos (futebol, basquete, vôlei, handebol)? SE NÃO OU IGN ➔ Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
337. Quantas vezes? (99 = IGN)	__ __ vezes
338. Quanto tempo (em média) em cada vez? (99:99 = IGN)	__ __ horas __ __ min
339. Esportes de raquete (padel, tênis, <i>squash</i>)? SE NÃO OU IGN ➔ Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
340. Quantas vezes? (99 = IGN)	__ __ vezes
341. Quanto tempo (em média) em cada vez? (99:99 = IGN)	__ __ horas __ __ min
342. Ginástica (de solo, localizada)? SE NÃO OU IGN ➔ Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
343. Quantas vezes? (99 = IGN)	__ __ vezes

344. Quanto tempo (em média) em cada vez? (99:99 = IGN)	__ __ horas __ __ min
345. Hidroginástica? SE NÃO OU IGN ➔Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
346. Quantas vezes? (99 = IGN)	__ __ vezes
347. Quanto tempo (em média) em cada vez? (99:99 = IGN)	__ __ horas __ __ min
348. Musculação? SE NÃO OU IGN ➔Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
349. Quantas vezes? (99 = IGN)	__ __ vezes
350. Quanto tempo (em média) em cada vez? (99:99 = IGN)	__ __ horas __ __ min
351. Natação? SE NÃO OU IGN ➔Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
352. Quantas vezes? (99 = IGN)	__ __ vezes
353. Quanto tempo (em média) em cada vez? (99:99 = IGN)	__ __ horas __ __ min
354. Outras modalidades de academia (aeróbica, <i>step</i> , zumba, franquias)? SE NÃO OU IGN ➔Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
355. Quantas vezes? (99 = IGN)	__ __ vezes
356. Quanto tempo (em média) em cada vez? (99:99 = IGN)	__ __ horas __ __ min
357. Yoga / Pilates? SE NÃO OU IGN ➔Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
358. Quantas vezes? (99 = IGN)	__ __ vezes
359. Quanto tempo (em média) em cada vez? (99:99 = IGN)	__ __ horas __ __ min
360. Outros: Qual? _____ SE NÃO OU IGN ➔Erro! Fonte de r eferência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
361. Quantas vezes? (99 = IGN)	__ __ vezes

362. Quanto tempo (em média) em cada vez? (99:99 = IGN)	__ __ horas __ __ min
363. Outros: Qual? _____ SE NÃO OU IGN → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
364. Quantas vezes? (99 = IGN)	__ __ vezes
365. Quanto tempo (em média) em cada vez? (99:99 = IGN)	__ __ horas __ __ min
366. Outros: Qual? _____ SE NÃO OU IGN → Erro! Fonte de referência não encontrada.	não 0 sim 1 IGN 9
367. Quantas vezes? (99 = IGN)	__ __ vezes
368. Quanto tempo (em média) em cada vez? (99:99 = IGN)	__ __ horas __ __ min
As próximas perguntas se referem somente a caminhar ou pedalar para ir de um lugar a outro, como forma de deslocamento para locais como seu trabalho, escola, cinema, lojas e outros. Pense somente naquelas atividades físicas que a Sra. fez por pelo menos 10 minutos contínuos nos últimos <u>SETE DIAS</u> .	
369. Em quantos dias da última semana a Sra. andou de bicicleta por pelo menos 10 minutos contínuos para ir de um lugar a outro? (não inclua o pedalar por lazer ou exercício) (0=nenhum; 9 IGN) SE 0 (NENHUM) OU 9 (IGN) → Erro! Fonte de referência não encontrada.	__ __ dias
370. Nos dias em que a Sra. pedalou para ir de um lugar a outro, NO TOTAL , quanto tempo gastou por dia pedalando? (99:99 IGN)	__ __ horas __ __ min
371. Em quantos dias da última semana a Sra. caminhou por pelo menos 10 minutos contínuos para ir de um lugar a outro? (não inclua caminhada por lazer ou exercício físico) (0=nenhum; 9 IGN) SE 0 (NENHUM) OU 9 (IGN) → Erro! Fonte de referência não encontrada.	__ dias
372. Nos dias em que a Sra. caminhou para ir de um lugar a outro, NO TOTAL , quanto tempo gastou por dia caminhando? (99:99 IGN)	__ __ horas __ __ min

BLOCO G – ANTROPOMETRIA – COLETA SALIVA e altura materna (ver N)	
Por favor, eu necessito pesar e medir a Sra. (se for a mãe biológica). A Sra. poderia retirar os sapatos e o máximo de roupa possível?	
373. Peso da mãe biológica:	__ __ __, __ kg

374. Roupas da mãe: (anotar toda a roupa que a mãe vestia ao ser pesada) _____ _____	_____ g
Por favor, eu necessito pesar e medir a <CRIANÇA>. A Sra. poderia retirar os sapatos e o máximo de roupa possível dele(a)?	
375. Peso da <CRIANÇA>:	_____, ____ kg
376. Roupas da <CRIANÇA>: (anotar toda a roupa que a criança vestia ao ser pesada) _____ _____	_____ g
377. Circunferência abdominal da <CRIANÇA>:	_____, ____
378. Perímetro cefálico da <CRIANÇA>:	_____, ____
379. Altura da <CRIANÇA>:	_____, ____ cm
380. Altura da <CRIANÇA> sentada:	_____, ____ cm
381. (OBSERVAR) Cor da <CRIANÇA>: Outra: _____	branca 1 preta 2 parda, morena 3 outra 4

BLOCO H – CORTISOL

Perguntas sobre a criança	
382. Qual é a cor natural do cabelo da criança?	Castanho 1 Preto 2 Loiro 3 Grisalho 4 Ruivo 5
383. Você pintou o cabelo, fez reflexos/luzes ou outros tratamentos na raiz do cabelo da criança nos últimos 3 meses? <i>Não ➔ Erro! Fonte de referência não encontrada.</i>	Não 0 Sim 1
385. Qual o tipo de tratamento foi feito? 385b. Outro _____	Pintura 1 Reflexo 2 Luzes 3 Progressiva 4 Coloração 5 Botox 6 Semi-definitiva 7 Definitiva 8

	Shampoo tonalizante 9 Relaxamento 10 Hidratação 11 Alisamento 12 Mechas 13 Aplique 14 Matizador 15 Química 16 Ombre hair 17 Spray provisório 18 Outro 19
386. Qual o tipo de cabelo de seu/sua filho/a?	Liso 1 Ondulado 2 Cacheado 3 Crespo 4
387. Em média, quantas vezes por semana você lava o cabelo da criança?	___ __ vezes
388. Quando foi a última vez que você lavou o cabelo da criança?	___ __ dias atrás
389. Quando foi a última vez que você cortou o cabelo da criança?	No último mês 0 Entre 1 a 2 meses atrás 1 Entre 2 a 3 meses atrás 2 Há mais de 3 meses 3 Nunca cortou 4
Perguntas sobre o respondente	
390. Qual é a cor natural do seu cabelo?	Castanho 1 Preto 2 Loiro 3 Grisalho 4 Ruivo 5
391. Você pintou o cabelo, fez reflexos/luzes ou outros tratamentos na raiz do cabelo nos últimos 3 meses? <i>Não ➔ Erro! Fonte de referência não encontrada.</i>	Não 0 Sim 1
393. Qual o tipo de tratamento foi feito? 394. Outro _____	Pintura 1 Reflexo 2 Luzes 3 Progressiva 4 Coloração 5 Botox 6 Semi-definitiva 7 Definitiva 8 Shampoo tonalizante 9 Relaxamento 10 Hidratação 11 Alisamento 12 Mechas 13 Aplique 14 Matizador 15 Química 16 Ombre hair 17 Spray provisório 18 Outro 19
395. Qual é o seu tipo de cabelo?	Liso 1

	Ondulado 2 Cacheado 3 Crespo 4
396. Em média, quantas vezes por semana você lava o seu cabelo?	___ ___ vezes
397. Quando foi a última vez que você lavou o seu cabelo?	___ ___ dias atrás
398. Quando foi a última vez que você cortou o seu cabelo?	No último mês 0 Entre 1 a 2 meses atrás 1 Entre 2 a 3 meses atrás 2 Há mais de 3 meses 3 Nunca cortou 4
Fumo passivo – perguntas para o respondente	
399. Alguém na sua casa fuma?	Não 0 Sim 1
400. Alguém fumou em algum momento nos últimos três meses na sua casa? <i>Não → Erro! Fonte de referência não encontrada.</i>	Não 0 Sim 1
401. Considerando os últimos três meses, com que frequência essa pessoa fumou na sua casa?	todos os dias nos últimos 3 meses 1 1-3 x por semana nos últimos 3 meses 2 poucos dias nos últimos 3 meses 3
Medicamentos – perguntas para o respondente	
402. Nos últimos 15 dias, você usou algum remédio (pode ser vitaminas, anticoncepcionais, pomadas, outros)? <i>Não → Erro! Fonte de referência não encontrada.</i>	Não 0 Sim 1
403. Nome dos remédios	10 campos baseados em listagem
404. Usa quase todos os dias há pelo menos um mês ou mais?	Não 0 Sim 1 IGN 9
405. Você usou algum desses remédios (corticoides - mostrar cartela) nos últimos 3 meses? <i>Não → Erro! Fonte de referência não encontrada.</i>	Não 0 Sim 1 IGN 9
406. Qual ? Outro _____	Campos de 1 a 11 podendo marcar mais de um campo
407. Usa quase todos os dias há pelo menos um mês ou mais? Esta pergunta deve ser aberta para cada corticoide relatado pela mãe	Não 0 Sim 1
408. Seu filho usou algum desses remédios (corticoides - mostrar cartela) nos últimos 3 meses? <i>Não → Erro! Fonte de referência não encontrada.</i>	Não 0 Sim 1 IGN 9
409. Qual ? Outro _____	Campos de 1 a 11 podendo marcar mais de um campo
410. Usa quase todos os dias há pelo menos um mês ou mais? Esta pergunta deve ser aberta para cada corticoide relatado pela mãe	Não 0 Sim 1

ANEXO B - AVALIAÇÃO DE ESTRESSE MATERNO PERCEBIDO

Perceived Stress Scale

As questões nesta escala perguntam sobre seus sentimentos e pensamentos durante o último mês. Em cada caso, será pedido para você indicar o quão frequentemente você tem se sentido de uma determinada maneira. Embora algumas das perguntas sejam similares, há diferenças entre elas e você deve analisar cada uma como uma pergunta separada. A melhor abordagem é responder a cada pergunta razoavelmente rápido. Isto é, não tente contar o número de vezes que você se sentiu de uma maneira particular, mas indique a alternativa que lhe pareça como uma estimativa razoável. Neste último mês, com que frequência...		Nunca	Quase nunca	Às vezes	Quase sempre	Sempre
1	Você tem ficado triste por causa de algo que aconteceu inesperadamente?	0	1	2	3	4
2	Você tem se sentido incapaz de controlar as coisas importantes em sua vida?	0	1	2	3	4
3	Você tem se sentido nervoso e “estressado”?	0	1	2	3	4
4	Você tem se sentido confiante na tua habilidade de resolver problemas pessoais?	0	1	2	3	4
5	Você tem sentido que as coisas estão acontecendo de acordo com a sua vontade?	0	1	2	3	4
6	Você tem achado que não conseguiria lidar com todas as coisas que tem que fazer?	0	1	2	3	4
7	Você tem conseguido controlar as irritações em sua vida?	0	1	2	3	4

8	Você tem sentido que as coisas estão sob o seu controle?	0	1	2	3	4
9	Você tem ficado irritado porque as coisas que acontecem estão fora do seu controle?	0	1	2	3	4
10	Você tem sentido que as dificuldades se acumulam a ponto de acreditar que não pode superá-las?	0	1	2	3	4

ANEXO D – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
PELOTAS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: As condições de saúde bucal das mães durante a gravidez podem afetar negativamente os desfechos perinatais? Um estudo em uma coorte de base populacional no Sul do Brasil.

Pesquisador: Flávio Fernando Demarco

Área Temática:

Versão:

CAAE: 31296614.1.0000.5317

Instituição Proponente: Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pelotas

Patrocinador Principal: CNPQ

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 717.271

Data da Relatoria: 29/05/2014

Apresentação do Projeto:

Os estudos com delineamento de coorte prospectiva de nascimentos são atualmente o desenho epidemiológico mais poderoso para investigar as associações entre exposições precoces na vida e desfechos futuros em saúde. Estes estudos suportam a perspectiva do ciclo vital, parte do pressuposto de que o estado de saúde em qualquer idade é o resultado não só de condições atuais, mas também de um acúmulo de condições ao longo da vida. Além disso, a influência de características maternas na saúde do filho vem sendo estabelecida, bem como a relação entre a saúde bucal da mãe e a saúde geral e bucal da criança durante a vida perinatal. Agravos de saúde bucal durante a gravidez podem levar a desfechos de saúde geral adversos, tais como nascimento prematuro e baixo peso ao nascer.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

O objetivo geral do presente estudo será avaliar as condições de saúde bucal de todas as gestantes da cidade de Pelotas, parturientes no ano de 2015, cujos filhos serão participantes da Coorte de nascimentos de 2015, a fim de avaliar o impacto das condições de saúde das mães nas condições de saúde das crianças ao nascimento e na infância precoce.

Objetivo Secundário:

Endereço: Rua Prof Araujo, 465 sala 301

Bairro: Centro

CEP: 96.020-360

UF: RS

Município: PELOTAS

Telefone: (53)3284-4960

Fax: (53)3221-3554

E-mail: cep.famed@gmail.com

FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
PELOTAS



Continuação do Parecer: 717.271

- Avaliar a prevalência e severidade das doenças cárie e periodontal em todas as gestantes que darão a filhos no ano de 2015;
- Avaliar o impacto das condições de saúde bucal da mãe sobre os resultados adversos da gravidez;
- Avaliar a ocorrência de lesões de mucosa bucal nas gestantes;
- Avaliar o uso de serviços de saúde bucal e as informações recebidas em relação à prevenção da saúde bucal durante a gravidez;

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

O trabalho oferece riscos mínimos.

Benefícios:

Considerando a avaliação bucal na sua integralidade, as lesões bucais que necessitem de exames complementares (ex.: biópsia) ou não e, consequentemente, de respectivo tratamento deverão ser encaminhadas para o serviço especializado (CDDB/FOP/UFPel). Assim como, portadora de condição sistêmica, com diagnóstico oriundo do exame bucal, que represente risco para o par (mãe-filho) deverá ser encaminhada para o serviço público de saúde referência.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa é de relevância clínica e epidemiológica.

O estudo proposto será aninhado em um estudo prospectivo investigando as condições gerais e bucais de saúde de indivíduos a longo prazo. Cerca de 4.000 nascimentos são esperados em Pelotas no ano de 2015 e todas as mulheres grávidas da cidade que terão bebês em 2015 serão convidadas a participar do estudo. Serão coletados dados sobre estado geral de saúde, como informações referentes ao atendimento pré-natal, história reprodutiva, utilização dos serviços de saúde, morbidades durante a gravidez e consumo de medicamentos, hábitos de vida, incluindo fumo, álcool, drogas e cafeína e sobre a prática de atividade física e informações sociodemográficas, através de um questionário previamente estruturado, que também incluirá uma seção de saúde bucal, com questões sobre a utilização de serviços de saúde bucal, a história de medo dental, autopercepção da necessidade de tratamento odontológico e hábitos de higiene bucal. Também, variáveis antropométricas (peso e altura) serão coletadas na forma de autorrelato pelas gestantes. Exames clínicos de saúde bucal serão realizados entre a 16a e 24asemanas de gravidez por examinadores treinados e calibrados ($Kappa > 0,60$). Os exames serão realizados nos

Endereço: Rua Prof Araujo, 465 sala 301

Bairro: Centro

CEP: 96.020-360

UF: RS

Município: PELOTAS

Telefone: (53)3284-4960

Fax: (53)3221-3554

E-mail: cep.famed@gmail.com

FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
PELOTAS



Continuação do Parecer: 717.271

domicílios dos participantes, com uso de luz artificial (fotóforos acoplados à cabeça), material de exame (espelho plano, sondas periodontais, espátulas de madeira e gaze) devidamente esterilizado. Todos os examinadores, cirurgiões dentistas, pós-graduandos em Odontologia ou Epidemiologia, estarão devidamente paramentados respeitando as normas de biossegurança preconizadas pela Organização Mundial da Saúde.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

OK

Recomendações:

OK

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

OK

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

PELOTAS, 14 de Julho de 2014

Assinado por:
Patricia Abrantes Duval
(Coordenador)

Endereço: Rua Prof Araujo, 465 sala 301

Bairro: Centro

CEP: 96.020-360

UF: RS

Município: PELOTAS

Telefone: (53)3284-4960

Fax: (53)3221-3554

E-mail: cep.famed@gmail.com

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



Tese

**Scaffolds bioativos: avaliação do efeito antimicrobiano e ou/ anti-inflamatório
sobre hDPSCs**

Marindia de Almeida Borba

Pelotas, 2022

Marindia de Almeida Borba

**Scaffolds bioativos: avaliação do efeito antimicrobiano e ou/anti-Inflamatório
sobre hDPSCs**

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 Biomaterias e Biologia Oral - ênfase em inovação tecnológica.

Orientadora: Adriana Fernandes da Silva

Coorientador: Wellington Luiz de Oliveira da Rosa

Pelotas, 2022

Marindia de Almeida Borba

Scaffolds bioativos: avaliação do efeito antimicrobiano e ou/anti-inflamatório sobre a hDPSCs

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutora em Biomaterias e Biologia Oral - ênfase em inovação tecnológica, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 29/04/2022

Banca examinadora:

Profa. Dr^a. Adriana Fernandes da Silva (Orientador)
Doutora em Odontologia - ênfase Biologia Buco Dental / Histologia e embriologia pela Universidade de Campinas.

Profa. Dr^a. Ezilmara Leonor Rolim de Sousa
Doutora em Odontologia - Endodontia pela Universidade Federal de Campinas (UNICAMP)

Prof. Dr^a. Luciane Geanini Pena Dos Santos
Doutora em Odontologia –Doutora em Odontologia – Endodontia pela Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)

Profa. Dr^a. Máisa Casarin
Doutora em Odontologia – Periodontia pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)

Profa. Dr^a. Alexandra Rubin Cocco (Suplente)
Doutora em Odontologia – Clínica Odontológica - ênfase em Dentística e Cariologia pela Universidade Federal de Pelotas.

Profa. Dr^a. Natalia Marcumini Pola (Suplente)
Doutora em Odontologia – Periodontia pela Universidade de São Paulo (USP).

A minha mãe,
de quem trago muito,
de quem és meu espelho.

Agradecimentos

Em especial a minha mãe **Vera Lúcia A. de Almeida**, que na maioria das vezes se doou e renunciou aos seus sonhos, para que eu pudesse realizar os meus. E principalmente por ela me oferecer a oportunidade de estudar, sempre esteve presente em todo esse tempo me apoiando, se dedicando e sou muito feliz e grata por isso. Quero dizer que essa conquista não é só minha, mas nossa.

Aos meus irmãos **Pedro Henrique** e **Maurison**, pela amizade, carinho e companheirismo de sempre, por estarem sempre torcendo pelas minhas conquistas. Por todo o apoio e incentivo incondicional. Obrigada!

Não posso deixar de agradecer também a uma grande incentivadora, que mesmo longe, marca importante presença em minha vida, minha grande amiga **Vivian Ulrich**. Obrigada por me acompanhar nessa trajetória, sempre me fazendo acreditar que chegaria ao final desta difícil, porém gratificante etapa. Obrigada pela paciência e amizade, você é como uma irmã.

Agradeço aos **amigos** e **colegas** que estiveram presentes nessa caminhada, por terem tornado o dia a dia na pós-graduação tão prazeroso. Meu sincero agradecimento pelas risadas, apoio, conversas, almoços, e por dividir esse momento tão importante. Foi extremamente enriquecedor conhecer e conviver com cada um de vocês.

Agradecimento a minha orientadora **Adriana Fernandes da Silva** e ao coorientador **Wellington Luiz de Oliveira da Rosa**, por aceitarem e pela oportunidade de tê-los me orientando no doutorado. Agradeço pela confiança, amizade, conselhos e paciência. Ainda, pelos ensinamentos, que não foram poucos, pela dedicação, por me apresentarem um “novo mundo” dentro da pesquisa, por trabalhar em grupo, respeitar o próximo e, principalmente, que é muito mais fácil multiplicar quando sabemos dividir!

Agradeço ainda ao meu pai **Maurício Borba**, e aos outros entes queridos que não estão mais nesse plano, mas que sinto estarem próximo a mim. Agradeço a Deus por poder citar todas estas pessoas neste momento tão importante. Obrigado por coloca-las tão caprichosamente em minha vida.

Meus sinceros agradecimentos à **Universidade Federal de Pelotas**, e ao **Programa de Pós-Graduação em Odontologia, DAI – Doutorado em inovação e tecnologia**, seu corpo docente e a todos os professores que estiveram próximos, que proporcionaram meu aprendizado. A direção e administração e funcionários que sempre estiveram dispostos a ajudar.

O **Conselho Nacional de Pesquisa – CNPq**- que me concedeu a bolsa, durante a realização desse doutorado, o que contribui pela viabilização desta tese.

À empresa **Angelus**, pelo auxílio financeiro concedido para a realização deste trabalho.

Às **demais pessoas** que contribuíram direta ou indiretamente na elaboração deste trabalho ou participaram da minha vida, e que por ventura, eu tenha me esquecido de agradecer.

***“O que os outros pensam não muda quem você é. Então
siga sendo isso tudo que assusta alguns e encanta outros.
Não negue sua intensidade e seja, com luz, amor e
verdade”***

W. L.

Resumo

BORBA, Marindia de Almeida. **Scaffolds bioativos: avaliação do efeito antimicrobiano e ou/anti-inflamatório sobre hDPSCs**; 2022. 93 p. - Tese (Doutorado em Biomateriais e Biologia Oral com ênfase em Inovação Tecnológica) Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

O objetivo desta revisão de escopo foi reunir e mapear as evidências disponíveis sobre o uso de *scaffolds* antimicrobianos e ou anti-inflamatórios sobre as células-tronco da polpa para fins de regeneração pulpar. Dois revisores independentes realizaram uma pesquisa abrangente em quatro bancos de dados eletrônicos até 10 de abril de 2021: MEDLINE, Embase, Scopus e Web of Science. Os critérios de seleção foram: 1) estudos que avaliassem as propriedades biológicas (por exemplo, antimicrobiana, antibacteriana e anti-inflamatória) de scaffolds/hidrogéis carregados ou não com drogas/moléculas bioativas; 2) estudos que verificaram os efeitos dos scaffolds nas células-tronco da polpa dental humana; e 3) estudos que testaram os scaffolds tendo como alvo a endodontia regenerativa. Inicialmente foram identificados 1.804 artigos potencialmente relevantes e, após a exclusão de 364 duplicatas, 1.399 foram considerados inelegíveis com base nos critérios de inclusão. Após a triagem, 41 artigos permaneceram e foram pré-selecionados para análise do texto completo pelos revisores. Por fim, apenas 13 artigos foram selecionados para esta revisão. No geral, os estudos consistiram principalmente em andaimes híbridos carregados com drogas. Seis estudos testaram os efeitos de drogas como metronidazol e ciprofloxacina, e apenas um estudo verificou a propriedade anti-inflamatória do scaffold. A maioria dos estudos verificou as propriedades antimicrobianas contra a bactéria *Enterococcus faecalis*. Em geral, os estudos verificaram a citotoxicidade dos scaffolds em células-tronco da polpa humana, com resultados positivos para viabilidade celular. Os scaffolds que não utilizaram medicamentos em sua composição também podem apresentar propriedades antimicrobianas, criando um ambiente favorável para as células-tronco. Os scaffolds com fármacos resultaram em propriedades antimicrobianas derivadas de sua composição. Em conclusão, o uso de fármacos e moléculas com propriedades antimicrobianas podem reduzir o crescimento bacteriano de acordo com o efeito da dosagem. No entanto, para preservar os resultados de viabilidade celular, são indicadas doses mínimas desses medicamentos. Estruturas naturais como fibrina e colágeno sem o uso de fármacos podem resultar em efeitos antimicrobianos, portanto esses compostos são importantes candidatos para a redução de eventos de inflamação pulpar no futuro.

Palavras-chave: Células-tronco da polpa dentária; engenharia tecidual andaimes; revisão de escopo; regeneração endodôntica.

Abstract

BORBA, Marindia de Almeida. **Bioactive scaffolds: evaluation of the antimicrobial and/or anti-inflammatory effect on hDPSCs; 2022.** 93 p. Thesis – Graduate Program in Dentistry- Faculty the Dentistry. Federal University of Pelotas, Pelotas, 2022.

The objective of this scoping review was to gather and map the available evidence on the use of antimicrobial and/or anti-inflammatory scaffolds on pulp stem cells for pulp regeneration purposes. Two independent reviewers performed a comprehensive search of four electronic databases as of April 10, 2021: MEDLINE, Embase, Scopus, and Web of Science. The selection criteria were: 1) studies that evaluated the biological properties (eg antimicrobial, antibacterial and anti-inflammatory) of scaffolds/hydrogels loaded or not with drugs/bioactive molecules; 2) studies that verified the effects of scaffolds on human dental pulp stem cells; and 3) studies that tested scaffolds targeting regenerative endodontics. Initially, 1,804 potentially relevant articles were identified and, after excluding 364 duplicates, 1,399 were considered ineligible based on the inclusion criteria. After screening, 41 articles remained and were pre-selected for full-text analysis by the reviewers. Finally, only 13 articles were selected for this review. Overall, the studies consisted primarily of drug-laden hybrid scaffolding. Six studies tested the effects of drugs such as metronidazole and ciprofloxacin, and only one study verified the anti-inflammatory property of the scaffold. Most studies have verified the antimicrobial properties against the bacterium *Enterococcus faecalis*. In general, the studies verified the cytotoxicity of scaffolds in human pulp stem cells, with positive results for cell viability. Scaffolds that did not use drugs in their composition may also have antimicrobial properties, creating a favorable environment for stem cells. The scaffolds with drugs resulted in antimicrobial properties derived from their composition. In conclusion, the use of drugs and molecules with antimicrobial properties can reduce bacterial growth according to the effect of the dosage. However, to preserve cell viability results, minimal doses of these drugs are indicated. Natural structures such as fibrin and collagen without the use of drugs can result in antimicrobial effects, so these compounds are important candidates for reducing pulp inflammation events in the future.

Keywords: Dental pulp stem cells; tissue engineering scaffolding; scope review; endodontic regeneration.

Lista de Figuras

Figura 1	Chemical composition, types, and forms of biomaterials used in scaffold composition.....	65
Figura 2	Search flowchart according to the PRISMA statement.....	66
Figura 3	Review authors' judgments about each risk of bias item for each included study.....	67

Lista de Tabelas

Table 1	Antimicrobial/antibacterial and anti-inflammatory effects of evaluated scaffolds.....	62
Table 2	Cytotoxicity and cell viability/proliferation effects of the tested scaffolds allocated by type.....	64
Table supplementary 1	Search terms using a combination of controlled vocabulary and keywords.....	68

Sumário

Introdução.....	13
1 Objetivos.....	17
1.1 Objetivo Geral.....	17
1.1.1 Objetivo Específicos.....	17
2 Projeto de Pesquisa.....	18
3 Relatório do Trabalho de Campo.....	37
4 Artigo.....	38
5 Considerações Finais.....	74
Referências.....	75

Introdução

Nos últimos anos, avanços foram feitos na engenharia de tecidos orais e odontologia regenerativa, devido a crescente busca por pesquisas em áreas como biologia de células-tronco, genética, engenharia molecular e patologias que afetam o órgão dentário e seus tecidos de suporte (MIRAN *et al.*, 2016). Entretanto, a regeneração ainda é guiada pela necessidade da compreensão de três elementos que tem como objetivo restaurar funções de tecidos de órgãos afetados: matriz extracelular (ECM), que serve como um scaffold; uso de moléculas bioativas que regulam o crescimento e a diferenciação celular; e células mesenquimais, necessárias para a formação de novos tecidos (FUKUSHIMA *et al.*, 2019; LEE *et al.*, 2014). Assim, na engenharia tecidual, a regeneração será alcançada se for fornecido um scaffold estrutural, conferindo além de propriedades mecânicas, a capacidade de induzir a migração de populações celulares (GOKER *et al.*, 2019), além de outras características, como degradabilidade do biomaterial em um intervalo de tempo comparável ao crescimento do novo tecido (COLOMBO *et al.*, 2014).

O tratamento endodôntico regenerativo (RET) é definido como um procedimento de base biológica, que visa substituir tecidos danificados do complexo polpa-dentina (DP). Esse método atualmente possui duas estratégias principais: revascularização pulpar ou regeneração tecidual (CASTELLAN *et al.*, 2011). A primeira estratégia visa a regeneração pulpar, através da indução do sangramento da área periapical, enriquecendo o espaço intracanal com um coágulo de estrutura e vascularização natural de fibrina, bem como numerosos componentes celulares e moleculares essenciais para a formação de novos tecidos (DUCRET *et al.*, 2019; SAOUD *et al.*, 2016). A regeneração tecidual, é uma estratégia baseada na engenharia de tecidos, que consiste na combinação de três elementos básicos principais: células-tronco, scaffolds e mediadores com propriedades bioativas. (FERRONI *et al.*, 2015; NAKASHIMA; AKAMINE, 2005).

A polpa dentária é um dos tecidos mais difíceis de regenerar, devido a sua complexa natureza. É um tecido conjuntivo dinâmico, que possui uma capacidade bem característica de responder a infecções ou lesões (MOROTOMI *et al.*, 2019). As pesquisas sobre regeneração aumentam constantemente na literatura, aplicando princípios biológicos para proteger a polpa (AYALA-HAM *et al.*, 2021). As investigações têm se concentrado no uso de scaffolds ou hidrogéis,

estudos com células do tecido pulpar, *in vitro* e *in vivo*, estratégias como essas terapêuticas estão recebendo grande atenção (COLOMBO; JIA; D'SOUZA, 2020a), podendo ser aplicadas em tratamentos clínicos como: capeamento pulpar direto e indireto, pulpotomias e revascularização pulpar, com ênfase em formação de dentina, nervos sensoriais e desenvolvimento de vasos sanguíneos (MOUSSA; APARICIO, 2019).

Os materiais bioativos são componentes inevitáveis da odontologia modernas. Isso se tornou evidente a partir do corpo de evidências que apoiam a regeneração do tecido dentário como uma modalidade de tratamento (MESCHI; PATEL; RUPAREL, 2020). Ainda segundo os autores, devido a gama de aplicações regenerativas o objetivo de muitas empresas e pesquisadores tem sido gerar um material biocompatível, osteoindutor, que não induz coloração do dente, e que seja de fácil manipulação e com o objetivo final de devolver forma e função aos tecidos orais (COLOMBO; JIA; D'SOUZA, 2020b). Nesse sentido, os scaffolds e hidrogéis vêm ganhando interesse.

Um scaffold é uma estrutura bioativa com base estrutural que suporta a adesão celular, regula sua proliferação e diferenciação e facilita a formação de tecidos (O'BRIEN, 2011). Para a regeneração endodôntica, um scaffold ideal deve-se assemelhar à matriz extracelular do complexo polpa dentina em termos de propriedades biológicas e mecânicas (RADDALL *et al.*, 2019). Deve estabelecer um microambiente tridimensional que permita que as células-tronco/progenitoras se liguem, migrem e proliferem, além de se organizarem espacialmente, para se diferenciarem em linhagens odontogênicas, vasculogênicas e neurogênicas, além de facilitar a angiogênese e neurogênese (LAKMAL; BDS; DDS, 2020; RADDALL *et al.*, 2019).

Os hidrogéis são rede poliméricas hidrofílicas em 3D que podem absorver grandes quantidades de água ou fluidos teciduais. Devido à sua compatibilidade termodinâmica, esses polímeros são macios e elásticos e têm sido usados em muitas aplicações biomédicas (AYALA-HAM *et al.*, 2021). São altamente ajustáveis e biocompatíveis, não são apenas projetados para se assemelhar à estrutura da ECM, mas também podem ser modificados para facilitar a liberação sustentada de agentes quimiotáticos e angiogênicos. Hidrogéis que são preparados por auto-montagem de peptídeos podem ser usados como matrizes para aumentar a adesão e proliferação celular (FUKUSHIMA *et al.*, 2019; LIU *et al.*, 2022).

De modo geral, em aplicações na engenharia tecidual, a conexão biológica entre o biomaterial e as células é controlada pelas propriedades dos materiais e pelas características finais do biomaterial. Por isso, materiais utilizados para a fabricação de scaffolds ou hidrogéis devem ter a capacidade de induzir propriedades antimicrobianas e funcionalidade específica, além de propriedade química adequada para estimular o bio-reconhecimento molecular das células. Aspectos importantes como, fácil manuseio, rápida implantação, baixa viscosidade devem ser considerados, e mais importante, os scaffolds devem ter excelentes propriedades antibacterianas e antimicrobianas para evitar o crescimento de bactérias endodônticas residuais, bem como propriedades de degradação fisiológica visando uma substituição controlada por uma ECM (AYALA-HAM *et al.*, 2021; MEDINA-FERNANDEZ; CELIZ, 2019). E ainda, mas não menos importante, esses biomateriais quando aplicados para endodontia regenerativa devem apresentar o máximo de capacidade anti-inflamatória possível (COLOMBO; JIA; D'SOUZA, 2020b).

Os biomateriais como scaffolds e hidrogéis podem apresentar a seguinte forma: naturais, sintéticos e híbridos. Com design dependente da aplicação, podendo ser: géis, injetáveis, esponjosos, fibrosos, nanoparticulados, com microesferas, macro e micro e nanoporosos, impressos em 3D (AYALA-HAM *et al.*, 2021). Além de promover e induzir de forma sustentável a regeneração e o reparo dos tecidos, os scaffolds podem estar na forma de nanotransportadores para a entrega de fármacos ou moléculas bioativas, com uma liberação controlada em locais de interesse para avaliação da eficiência do tratamento (CAO *et al.*, 2021). Scaffolds e hidrogéis naturais podem ser formados principalmente de agarose, alginato, quitosana, hialurônico, fibrina e colágeno (MOUSSA; APARICIO, 2019).

Scaffolds naturais como quitosana, são amplamente aplicados, compostos de aminoácidos polissacarídeos, seus produtos residuais não são tóxicos nem imunogênicos, podendo facilmente ser modificada ou acoplada a várias moléculas ou proteínas que potencializam o efeito de reparo (TAMURA *et al.*, 2011). Quando combinada com fibrina, a quitosana mostrou excelente capacidade de manter a viabilidade de células tronco da polpa (DPSCs), com efeito antibacteriano importante contra *Enterococcus faecalis* (DUCRET *et al.*, 2019). O colágeno é uma grande família de proteínas de matrix extracelular e amplamente distribuídos na natureza (WAN *et al.*, 2021). Apresenta estrutura

biológica altamente organizada, têm sido usados na forma de scaffolds de colágeno puro ou combinados com outros materiais naturais ou sintéticos, promovem a proliferação e diferenciação de células-tronco dentárias (JIANG *et al.*, 2017; WAN *et al.*, 2021). Os sintéticos são um grupo de materiais que possuem termoestabilidade e durabilidade em comparação com os naturais. Compostos como ácido polilático (PLA), ácido poliglicólico (PGA), ácido poli-l-lático (PLLA) e polilático-glicólico (PLGA), permitem manipulação precisa de suas propriedades, são do tipo biocompatível e biodegradável (LIU *et al.*, 2022; YELICK, 2017). O PLA pode ser conjugado com polietilenoglicol (PEG) que é muito utilizado em estruturas devido sua hidrofilicidade, ou seja, apresenta interação de estruturas polares e a água, baixo teor de adesão de proteínas. O álcool polivinílico (PVA), apresenta alto índice de polidispersidade são biocompatíveis e sensíveis a mudança de PH. O peptídeo multidomínio (MDPh), mostra compatibilidade com a polpa dentária e estimula os odontoblastos a serem esteticamente ativos (COLOMBO *et al.*, 2014).

Devido à alta diversidade da microflora endodôntica, scaffolds com elevadas propriedades antimicrobianos ou anti-inflamatória são requeridos. Identificar a fonte de bactérias pode auxiliar nas estratégias de prevenção dos tecidos em desenvolvimento após os procedimentos regenerativos (FOUAD, 2020). Nesse contexto, táxons bacterianos que podem interferir no crescimento do tecido e causar falha no tratamento, pode-se incluir os anaeróbios gram-negativos, como *Fusobacterium* spp., *Treponema* spp., *Prevotella* spp., *Porphyromonas* spp., bem como organismos gram-positivos *Streptococcus* spp., *Parvimonas* spp., *Propionibacterium* spp., *Actinomyces* spp., e *Eubacterium* spp (CHÁVEZ DE PAZ VILLANUEVA, 2002; FOUAD, 2020; LEITE *et al.*, 2015). Além disso, *Enterococcus faecalis* não foi identificado apenas como uma espécie bacteriana prevalente em casos de doença persistente (ZHANG *et al.*, 2015), mas também por promover a sobrevivência de outras bactérias no ambiente endodôntico e sua resistência ao tratamento (FOUAD, 2020; MÖLLER *et al.*, 2004). Ao grande espectro de bactérias que pode influenciar nos tratamentos endodônticos, a prevenção contra o esse crescimento pode estar associada com o uso de fármacos ou composições bioativas, aliadas ao tipo de material utilizado nas estruturas e devem ser amplamente investigadas.

Em síntese, uma variedade de tipos de biomateriais já tem sido extensivamente investigado e aplicado no desenvolvimento de scaffolds ou

hidrogéis, para aplicação em procedimentos da regeneração endodôntica (AYALA-HAM *et al.*, 2021; CAO *et al.*, 2021; MOUSSA; APARICIO, 2019). No entanto, um candidato que possua todas as propriedades favoráveis e necessárias para a fabricação e, que possa suportar e guiar com sucesso a regeneração do complexo polpa-dentina (DP) ainda precisa ser identificado. Devido ao imenso potencial e aos avanços na rápida evolução dos biomateriais utilizados em scaffolds para regeneração endodôntica, além da ampla variedade de biomateriais sendo investigados, a presente revisão teve como objetivo fornecer uma visão geral dos biomateriais que vem sendo utilizados na regeneração, e se esses scaffolds quando carregados com fármacos aumentam os efeitos antimicrobianos/anti-inflamatórios sobre as células tronco pulpares, verificando assim se podem ser usados como um sistema alternativo para a regeneração da polpa.

1 Objetivo

1.1 Objetivo geral

Assim, o objetivo geral desta revisão de escopo foi avaliar se scaffolds bioativos carregados com fármacos potencializam os efeitos antimicrobianos e ou/anti-inflamatórios sobre as células-tronco pulpares e, verificar se podem ser usados como um sistema alternativo para a regeneração pulpar.

1.1.1 Objetivos específicos

- Mapear os principais estudos que caracterizem efeitos antimicrobianos e ou/anti-inflamatórios de *scaffolds* naturais, sintéticos e híbridos para hDPSCs, carregados ou não com fármacos ou compostos bioativos sobre as células-tronco da polpa.
- Examinar a extensão, alcance e natureza desta evidência;

- Sumarizar e divulgar os dados da investigação e identificar as lacunas da pesquisa existentes sobre este tema.

2 Projeto de pesquisa

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



Projeto de Tese

Bioatividade de novos materiais odontológicos biocerâmicos

Marindia de Almeida Borba

Pelotas, 2020

Marindia de Almeida Borba

Bioatividade de novos materiais odontológicos biocerâmicos

Projeto de 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 Biomateriais e Biologia Oral com ênfase em Inovação Tecnológica (área de concentração: Biomateriais e Biologia Oral).

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª Adriana Fernandes da Silva.

Coorientador: Prof^º. Dr. Wellington Luiz Oliveira da Rosa

Pelotas, 2020

Marindia de Almeida Borba

Bioatividade de novos materiais odontológicos biocerâmicos.

Qualificação de Tese _____, como requisito parcial, para obtenção do grau de Doutora em Biomateriais e Biologia Oral com ênfase em Inovação Tecnológica, Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal de Pelotas.

Área de Concentração: Biomateriais

Data da qualificação: 29/07/2020

Banca Examinadora:

Prof^a. Dr^a. Adriana Fernandes da Silva (Orientadora)
Doutora em Biologia Buco-Dental pela Universidade de Campinas (Unicamp)

Prof. Dr. Eliseu Aldright Münchow
Doutor em Odontologia pela Universidade Federal de Pelotas (UFPel)

Prof. Dr. Wellington Luiz de Oliveira da Rosa
Doutor em Odontologia pela Universidade Federal de Pelotas (UFPel)

Prof. Dr. Rafael Guerra Lund (Suplente)
Doutor em Odontologia pela Universidade Federal de Pelotas (UFPel)

Dr^a. Andreza Maria Fabio Aranha (Suplente)
Doutora em Odontologia (Unesp)

Resumo

BORBA, Marindia de Almeida. **Bioatividade de novos materiais odontológicos biocerâmicos; 2020 f.** Projeto de Tese. Qualificação (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2020.

Biocerâmicos são amplamente aplicados na área biomédica e odontológica. No início dos anos 90 os biocerâmicos foram inseridos como um novo grupo de materiais dentários, onde as principais indicações para uso são como cimentos, obturadores e seladores. A química desses materiais é baseada no cimento Portland, o maior exemplo é o agregado trióxido mineral (MTA), o primeiro a ser introduzido com sucesso no mercado. Desde então diversas formulações de e produtos similares foram incluídos no mercado, como os com base em silicato de cálcio, que são exemplos de novos cimentos, foram criados com o propósito de melhoria de suas propriedades físico-químicas e biológicas e mecânicas, preparo e tempo de manuseio. Com isso, o uso de estratégias que utilizem princípios biológicos em odontologia é de importância fundamental para que novas opções de tratamentos clínicos possam ser futuramente explorados. O entendimento dos mecanismos moleculares e celulares estimulado por biocerâmicos odontológicos pode ajudar a elucidar os eventos de reparo tecidual, o que pode implicar na melhora dos desfechos clínicos, desde uma perfuração radicular, cirurgia para-endodôntica, lesão de furca, ou mesmo exposição pulpar acidental. Desta forma, o objetivo desse projeto é avaliar o papel bioativo de 2 (dois) novos materiais biocerâmicos quanto a citotoxicidade desses materiais através da viabilidade celular, a capacidade deles de inibir as metaloproteínases 2 e 9 pelo ensaio de zimografia, capacidade deles de estimular a proliferação de novas células endoteliais com ensaio de *sprouting* e também a capacidade antimicrobiana destes, pela técnica de acúmulo de biofilme e microcosmos. Os materiais a serem analisados são provenientes da empresa Angelus Indústria de Produtos Odontológicos S/A, localizada em Londrina Paraná. Os dois novos biocerâmicos já foram patenteados para comercialização nos Estados Unidos, são eles: *Bio-C Sealer Ion+* e o *Bio-C Repair Ion+*.

Palavras-chave: cimento dentário; silicato de cálcio; materiais biocompatíveis; materiais dentários; biocerâmicas.

Abstract

BORBA, Marindia de Almeida.; **Bioactivity of new bioceramic dental materials; 2020 f.** Thesis Project (Post Degree in Dentistry) – Graduate Program in Dentistry, Faculty in Dentistry, Federal University of Pelotas, 2020.

Bioceramics are widely available in the biomedical and dental fields. In the early 90s, bioceramics were introduced as a new group of dental materials, where the main indications for use are as cements, obturators and selectors. The chemistry of these materials is based on Portland cement, the greatest example being mineral trioxide aggregate (MTA), or the first is successfully introduced to the market. Since then, several formulations and similar products have not been included in the market, such as those based on calcium silicon, which are examples of new cements, were created with the aim of improving their physical, chemical and chemical and chemical and mechanical characteristics, preparation and handling progress. Thus, the use of strategies that use biological methods in dentistry is of fundamental importance for new options of use that can be explored in the future. Understanding the molecular and cellular mechanisms estimated by dental bioceramics can help to clarify technical repair events, or what may imply improvements in clinical outcomes, from root perforation, surgery for endodontics, skin injury or the same accidental pulp exposure. Thus, the objective of this project is to evaluate the bioactive role of 2 (two) new bioceramic materials on the cytotoxicity of these materials through cell viability, a capacity of which is inhibited as metalloproteinases 2 and 9 by the zymography test, proliferation of new endothelial cells with sprout test and also with antimicrobial capacity in them, by the biofilm and microcosm accumulation technique. The materials to be analyzed are from the company Angelus Indústria de Produtos Odontológicas S / A, located in Londrina, Paraná. The two new bioceramics have already been patented for commercialization in the United States, they are: Bio-C Sealer Ion + and Bio-C Repair Ion +.

Key-words: dental cement; tricalcium silicate; biocompatible materials; dental materials; bioceramics.

Lista de tabelas

Tabela 1 Classificação morfológica qualitativa de citotoxicidade dos extratos.....	17
Tabela 2 Cronograma das atividades do projeto de tese.....	27
Tabela 3 Orçamento para o desenvolvimento do projeto de tese.....	27

Lista de abreviaturas e siglas

BHI	Infusão de cérebro coração
CEM	Cimento de mistura enriquecida com cálcio
CO ₂	Dióxido de carbon
DAI	Doutorado para inovação
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DMSO	Dimetilsufóxido
EBA	Cimento de óxido de zinco e eugenol
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
ERRM	Endosequence Root Repair material
EUA	Estados Unidos da América
h	Horas
ICT'S	Instituições de Ciência e Tecnologia
IRM	Material restaurador temporário
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
min	Minutos
MMPs	Metalloproteinasas
MTA	Agregado de trióxido mineral
MTT	3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5 difenil tetrazólio
NEM	N-etil—maleimida
NTcels	Número total de células
PBS	Solução tampão fosfato
RPM	Rotações por minute
UFC	Unidades formadoras de colônias

Sumário

Introdução	9
1 Projeto DAI	14
2 Objetivos	15
2.1 Objetivo geral.....	15
2.2 Objetivos específicos.....	16
3 Hipótese	16
4 Materiais e métodos	16
4.1 Materiais.....	16
4.2 Metodologia.....	17
4.2.1 Ensaio de biocompatibilidade.....	17
4.2.1.1 Ensaio de viabilidade celular	17
4.2.2 Ensaio de inibição de metaloproteínases.....	20
4.2.2.1 Potencial de inibir MMP-2 e 9 através da técnica de zimografia.....	20
4.2.3 Ensaio angiogênico.....	21
4.2.4 Ensaio microbiológicos.....	22
4.2.4.1 Ensaio de monocultura – Acúmulo de biofilme de <i>Streptococcus mutans</i> sobre os biocerâmicos.....	22
4.2.4.2 Modelo de microcosmos – Efeito antimicrobiano dos biocerâmicos..	24
4.2.4.3 Verificação do acúmulo de biofilme por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	25
4.2.5 Análise estatística.....	26
5 Cronograma de Execução	27
6 Orçamento do projeto	27
Referências	28

Introdução

Os materiais cerâmicos são compostos formados entre elementos metálicos e não metálicos. Geralmente são óxidos, nitretos e carbetos, podendo ser divididos em dois grandes grupos: as cerâmicas tradicionais que são as porcelanas, vidros, tijolos, abrasivos; e o grupo das cerâmicas avançadas que são as eletrônicas, refratários avançados, biocerâmicas (ABC, 2011a, CALLISTER, 2012). O autor ainda descreve que as cerâmicas são materiais inorgânicos e de natureza cristalina, possuindo uma estrutura pouco simétrica quando comparado à estrutura dos metais por exemplo. Estruturas cristalinas são formadas a partir de ligações covalentes, ligações iônicas e interações de ambas.

Dentro do universo das cerâmicas, as com ligação covalente são as que manifestam melhores propriedades mecânicas. Nessa classe das propriedades mecânicas, têm-se as biocerâmicas, uma cerâmica que exige alto grau de resistência à tração, à compressão e elevada dureza. As biocerâmicas vêm sendo estudadas desde o século XVIII com o uso de porcelanas para coroas dentárias, já na década de 20 houve o incremento do gesso na ortopedia como preenchimento ósseo, mas devido sua fragilidade e baixa resistência ao desgaste não obteve sucesso clínico (CHEVALIER; GREMILLARD, 2009).

No sentido de obter sucesso clínico almejado, criou-se um material que apresentasse simultaneamente uma interface estável com tecido conjuntivo e um bom comportamento mecânico do implante com o tecido (HENCH, 1998). Conforme relatos de Oréfice e Park (2008), a primeira biocerâmica implantada e patenteada data do ano de 1965, sua aplicação foi como próteses totais de quadris, mas esta prótese ainda não satisfazia as necessidades, se fazia necessário um biomaterial mais estável. Na década de 70 surgiu um novo conceito que tinha como propósito uma nova maneira de se estabelecer a definição de biocompatibilidade dando origem a uma nova classe de biomateriais: os materiais bioativos. Este conceito foi baseado na procura de materiais idealmente dominados inertes, não apresentando respostas inflamatórias ou infecciosas no local do implante (ORÉFICE et al., 2008; PARK, 2008).

Esse novo conceito foi apresentado por Larry Hench, os biomateriais foram produzidos propondo uma nova compreensão de biocompatibilidade, gerando melhores próteses e a interface desejada, esses biomateriais foram classificados em: materiais bioinertes, que são ignorados pelos tecidos vizinhos diminuindo assim a

probabilidade inflamatória; e bioativa, que apresentam a função de provocar resposta biológica específica na interface com o tecido (HENCH, 1998; CHEVALIER et al., 2009).

Atualmente materiais biocerâmicos são amplamente aplicados na área biomédica e odontológica. Biocerâmica é uma terminologia que se refere a cerâmica projetada para interagir com o sistema biológico e aplicada para usos biomédicos, seja para usos terapêuticos como implantes, reparos, aprimoramentos, veículos de administração de medicamentos, adjuvantes de vacinas ou diagnósticos (ANA et al., 2018). Conforme os autores, além de ser considerada entre os materiais mais antigos utilizados pelo homem, a biocerâmica também representa a cerâmica funcional. Isso ocorre porque muitas cerâmicas são conhecidas e foram desenvolvidas para obter propriedades biocompatíveis, e extensivamente utilizadas para diversos fins como citado anteriormente.

Apesar dos materiais biocerâmicos serem estudados desde o século XVIII (CHEVALIER et al., 2009), apenas no início dos anos 90 foram inseridos como um novo grupo de materiais dentários materiais à base de biocerâmicos, as principais indicações para uso são como cimentos, obturadores e seladores. Esses materiais apresentam-se com uma ampla gama de versões no mercado, sua química é baseada no cimento Portland. Um dos grandes exemplos é o agregado de trióxido mineral (MTA), foi o primeiro a ser introduzido com sucesso no mercado, membro da família do silicato de cálcio (DUTTA; SAUNDERS, 2014; SURYA RAGHAVENDRA et al., 2017). O pó de MTA consiste em partículas finas hidrofílicas que se fixam na presença de água. A patente original traz os seguintes constituintes: silicato tricálcico, silicato dicálcico, aluminato tricálcico e aluminoferrato de tetracálcio com pó de óxido de bismuto adicionado como agente radiopacificante (TORABINEJAD; WHITE, 1993, 1995). O material então introduzido pelo Dr. Torabinejad em 1993, era osteocondutor, indutivo e biocompatível (SURYA RAGHAVENDRA et al., 2017).

O primeiro material biocerâmico produto de MTA a ser comercializado foi “ProRoot MTA”, tornou-se disponível nos Estados Unidos em 1999. Posteriormente foram introduzidos vários produtos similares de diversas marcas comerciais. Devido a variabilidade desses biocerâmicos ou híbridos no mercado após o surgimento do MTA e, também as indicações variadas para o uso desses biocerâmicos, os materiais apresentaram diferenças que afetaram em especial suas propriedades. Com isso exigiu-se o desenvolvimento de novas formulações para facilitar melhorias de suas

propriedades. Outro ponto crucial a modificar-se, foram os riscos percebidos e associados à presença de alumínio, arsênio e metais pesados, componentes do cimento Portland, exigindo assim o desenvolvimento de uma nova família de cimentos à base de cálcio mais puro (CAMILLERI, 2015).

Essas novas formulações não são baseadas em minerais naturais ou processos industriais. Com isso, o silicato de tricálcio substituiu a formulação original do cimento Portland, eliminando o alumínio e oligoelementos. Os novos materiais que foram então desenvolvidos possuem alicerce na química de radiopacificadores e silicato tricálcio (CAMILLERI, 2015), que são reconhecidos pela sua bioatividade e biocompatibilidade (DUTTA; SAUNDERS, 2014). Como exemplo dos novos cimentos de silicato de cálcio, pode-se citar: BioAggregate, Biodentine, cimento de mistura enriquecida com cálcio (CEM), massa de reparação de raiz EndoSequence e material de reparo radicular iRoot BP Plus (BP-RRM). Esses novos biocerâmicos são indicados como cimento selador e cimento reparador, e precisam ser de fácil manipulação e aplicação. Entre as aplicações clínicas pode-se destacar: como cimento obturador em ortograda e retrograda, uso no retratamento endodôntico, na reparação de perfuração radicular, em cirurgia periapical e no capeamento pulpar em terapia pulpar vital (PARIROKH; TORABINEJAD; DUMMER, 2018; SHAMSY *et al.*, 2019) e também regeneração e cicatrização óssea como barreiras apicais, apexificação, apicogênese.

A odontologia está mudando constantemente, devido a introdução a novas técnicas e tecnologias. Avanços na ciência dos materiais proporcionaram nos últimos 20 anos, índices extensos de estudos *in vivo* e *in vitro* envolvendo o MTA. Tem sido demonstrado que o MTA, quando comparado aos tradicionais materiais de preenchimento retrógrado, apresenta propriedades superiores em termos de capacidade de selamento, biocompatibilidade e regeneração tecidual perirradicular. Pesquisas com cultura celular e citotoxicidade apresentaram sua superioridade ao amálgama de prata (OSORIO, 1998; ZHU *et al.*, 2000), IRM (ZHU *et al.*, 2000), cimento Super EBA (OSORIO, 1998; SOUZA *et al.*, 2006), cimento de ionômero de vidro (OSORIO, 1998; SOUZA *et al.*, 2006) e guta-percha (SOUZA *et al.*, 2006). E também, muitos estudos de vazamento de corante e infiltração bacteriana mostraram que o MTA exibiu menos vazamentos que o amálgama, Super EBA e IRM (FISCHER; ARENS; MILLER, 1998; TORABINEJAD *et al.*, 1995b). Entretanto, o longo tempo de preparação relatado da formulação original de MTA (2 h e 45 min) (SURYA RAGHAVENDRA *et al.*, 2017; TORABINEJAD *et al.*, 1995a) se torna uma

preocupação clínica, pois pode desaparecer antes de se estabelecer (KOGAN *et al.*, 2006). Quando em comparação com outros materiais que foram sugeridos como preenchimentos de raiz, como os cimentos IRM e Super EBA, o MTA tem um tempo significativamente maior (TORABINEJAD *et al.*, 1995a).

Outro ponto a ser levado em consideração, em relação ao MTA, são as suas propriedades de manipulação. Por exemplo, ao misturar o MTA com água estéril resulta em uma mistura arenosa e granulada, tornando difícil para entregar ao local da operação e também para condensar adequadamente (KOGAN *et al.*, 2006). Das biocerâmicas atuais, Biodentine é reivindicada por ter propriedades e comportamento mecânico semelhantes à dentina humana, possuindo excelentes propriedades de vedação sem a preparação do dente, não requer procedimento de restauração em duas etapas (SURYA RAGHAVENDRA *et al.*, 2017). Embora este material seja encapsulado e tenha um mix consistente, ainda é um material difícil de usar. Quanto ao tempo, a Biodentine apresenta configuração mais rápida de endurecimento de 9 min, há um risco menor de contaminação bacteriana do que com o MTA (SINGH *et al.*, 2014; SURYA RAGHAVENDRA *et al.*, 2017), ainda assim, é longo quando comparado a outros materiais restauradores. Outros materiais de silicato de cálcio foram desenvolvidos para tentar superar alguns dos problemas observados. Um grupo de materiais de pasta tornou-se disponível recentemente. O *Endosequence Root Repair Material* (ERRM) está disponível em pasta ou em bisnaga pronto para uso. Apresenta propriedades físicas semelhantes ao MTA uma vez definido (SURYA RAGHAVENDRA *et al.*, 2017; WALSH *et al.*, 2014), entretanto, propriedades de manuseio muito melhores. Ainda, estudos *in vitro* mostram a capacidade de selamento comparável ao MTA e Biodentine (Bolhari *et al.*, 2015; SARASWATHI *et al.*, 2015), Endosequence tradicional (ANTUNES *et al.*, 2016; NAIR *et al.*, 2011), BioAggregate (Bolhari *et al.*, 2015), CEM (MORADI; LOMEE; GHARECHAH, 2015) e iRoot BP Plus (LEAL *et al.*, 2013). E também, todos os materiais biocerâmicos são biocompatíveis e induzem a regeneração tecidual perirradicular em animais (ASGARY; EGHBAL; EHSANI, 2010; CHEN *et al.*, 2015; EDREES *et al.*, 2019; KOHOUT *et al.*, 2015; TABARI *et al.*, 2020) e diferenciação de células humanas (A. SABERI *et al.*, 2016; DE-DEUS *et al.*, 2012; ESCOBAR-GARCÍA *et al.*, 2016; KÜÇÜKKAYA *et al.*, 2016). Cabe citar, nenhum desses materiais exibiu um perfil citotóxico crítico. Dessa forma, materiais dentários que apresentem melhoria em propriedades de manipulação e, mais biocompatíveis podem ser desenvolvidos, o que poderia desempenhar uma

função desejável sem provocar efeitos locais ou sistêmicos indesejáveis e gerar resposta tecidual mais apropriada, otimizando o desempenho clinicamente relevante da terapia.

Foi observado em estudos recentes, uma tendência em pesquisas com MTA e seus derivados e, materiais bioativos (DA ROSA *et al.*, 2018), os autores apresentaram que os países com elevado pedidos de patentes para esses materiais foram os Estados Unidos e Japão, refletindo mercado relevante para esta tecnologia. Através desses resultados, os autores sugerem a necessidade de uma estreita relação entre a universidade e a indústria para melhorar a integração entre o conhecimento científico e tecnológico.

Sendo assim, esse estudo apresenta como objetivo principal analisar o perfil de biotividade *in vitro* de dois novos biocerâmicos prontos para uso nos Estados Unidos, oriundos da empresa brasileira: Angelus Industria de Produtos Odontológicos S/A (Londrina, Paraná-Brasil), quanto ao seu perfil Bioativo. E ainda, auxiliar a empresa a determinar com mérito científico para justificar novas investigações e aplicabilidade para esses produtos.

1 Projeto DAI

O Programa Doutorado para Inovação (DAI – UFPEL) consiste em contribuir na formação de recursos humanos em nível de pós-graduação para pesquisa aplicada, desenvolvimento tecnológico e inovação. Além de fomentar projetos inovadores que apresentem risco tecnológico, por meio da pesquisa acadêmica, tem como principal objetivo auxiliar as empresas no desenvolvimento ou na melhoria de produtos, processos e serviços que favoreçam avanço de setores econômicos e estratégicos. O programa baseia-se no fortalecimento a pesquisa, empreendedorismo e a inovação nas ICTs por meio do envolvimento de estudantes em projetos de interesse do setor empresarial, mediante parceria Universidade-Empresa. O programa busca criar uma rede de profissionais e alunos de diversas áreas, como Odontologia, Engenharias, Biotecnologia, Farmácia, Química, entre outras, para dessa forma contribuir com as empresas que fazem parte do programa.

O Projeto “*Bioatividade de novos materiais odontológicos biocerâmicos*” – COCEPE 9902, é em conjunto com a empresa Angelus Indústria de Produtos Odontológicos S/A situada na cidade de Londrina no estado do Paraná - Brasil, e tem

como principal objetivo caracterizar quanto a bioatividade dois novos biocerâmicos produzidos pela empresa e aprovados para consumo nos Estados Unidos (EUA). O projeto visa o uso de estratégias que utilizem princípios biológicos em odontologia e, é de importância fundamental para que novas opções de tratamentos clínicos possam ser futuramente exploradas. O estudo dos mecanismos moleculares e celulares estimulados por biocerâmicos odontológicos pode ajudar a elucidar os eventos de reparo tecidual, o que pode vir a implicar em uma melhora dos desfechos clínicos, desde uma perfuração radicular, cirurgia paraendodôntica, lesão de furca, ou mesmo exposição pulpar accidental. Com isso, além de avaliar o papel biotivo de dois novos materiais biocerâmicos quanto a capacidade deles de estimular a proliferação de novas células endoteliais, potencial de inibir metaloproteinases, propriedades antimicrobianas, consiste também em investigar novas aplicabilidades auxiliando e traçando objetivos juntamente com a empresa.

2 Objetivos

2.1 Objetivo Geral

Esse projeto tem o objetivo de investigar o perfil bioativo de dois novos biocerâmicos prontos para uso, oriundos da empresa de materiais dentários Angelus S/A.

2.2 Objetivos Específicos

Analisar:

- 1) a biocompatibilidade dos biocerâmicos através de ensaio de citotoxicidade
- 2) o desfecho de inibição de metaloproteinases 2 e 9 através do método de zimografia;
- 3) a capacidade dos novos materiais de induzirem a angiogênese através de células endoteliais *in vitro* pela técnica de *sprouting*;
- 4) a capacidade antimicrobiana desses produtos pela técnica de acumulação de biofilme e microcosmos.

3 Hipótese

A hipótese a ser testada é a de que os novos biocerâmicos produzidos pela empresa serão biocompatíveis e terão efeito antimicrobiano quando testados.

4 Materiais e Métodos

4.1 Materiais

Os materiais a serem analisados serão dois novos biocerâmicos da empresa Angelus Indústria de Produtos Odontológicos S/A, são eles: *Bio-C Sealer Ion +* e o *Bio-C Repair Ion +*.

4.2 Metodologia

Este trabalho verificará a bioatividade dos materiais em duas partes, ensaios de biocompatibilidade e ensaios microbiológicos.

4.2.1 Ensaios de biocompatibilidade

Os ensaios de biocompatibilidade serão realizados no LNTC-Bio (Laboratório do núcleo de Biologia tecidual e celular no Laboratório de microbiologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas (UFPel)).

4.2.1.1 Ensaio de citotoxicidade

Os ensaios de citotoxicidade dos biocerâmicos, serão realizados de acordo com ISO 10993 (ISO 10993, 2009). Serão selecionados fibroblastos de camundongos de uma linhagem imortalizada L929, bem como com células tronco de origem da polpa humana (STPH). Os efeitos citotóxicos serão avaliados por meio qualitativos e quantitativos. Na análise qualitativa serão avaliadas as alterações, por exemplo, morfologia geral, descolamento, integridade da membrana. A mudança de morfologia

normal deve ser registrada conforme a tabela 1, de acordo com a ISO 10993 ponto 8.5 (2009) para determinação de citotoxicidade.

Tabela 1 – Classificação morfológica qualitativa de citotoxicidade dos extratos.

Grau	Reatividade	Condições de todas as culturas
0	Nenhuma	Grânulos intracitoplasmáticos discretos, sem lise celular, sem redução do crescimento celular.
1	Fraco	Não mais de 20% das células são redondas, fixadas frouxamente e sem grânulos intracitoplasmáticos, ou mostram alterações na morfologia; células lisadas ocasionais estão presentes; apenas uma ligeira inibição do crescimento observável.
2	Leve	Não mais de 50% das células são redondas, isentas de grânulos intracitoplasmáticos, sem lise celular extensa; não superior a 50% de inibição do crescimento observável.
3	Moderado	Não mais de 70% das camadas celulares contêm células arredondadas ou são lisadas; as camadas celulares não estão completamente destruídas; mais de 50% de inibição do crescimento observável.
4	Forte	Destruição quase completa ou completa das camadas celulares.

Para o cultivo celular

Inicialmente o tubo de criogenia graduado de 4,5 ml contendo a respectiva linhagem será levado à temperatura de 37°C em parcial imersão em banho-Maria (Biopar, Mod BM 03, Brasil) por ± 5 min e a seguir, dentro da capela de fluxo laminar, o conteúdo será adicionado a uma garrafa de cultivo celular de área de superfície 25 cm², a garrafa já deve conter 5 ml de meio *Eagle* modificado por Dulbecco (DMEM) completo à temperatura de 37°C. A garrafa de cultivo será colocada em estufa de 5% CO₂ à 37°C, permanecendo por um período de 3h com a finalidade de promover a adesão celular no fundo da mesma. Ao passar esse período, o meio de cultura contendo DMSO que serve como protetor criogênico, deverá ser removido da garrafa utilizando uma pipeta Pauster estéril acoplada à uma bomba de vácuo (AspiraMax Indústria de Aparelhos Médicos Ltda. Brasil), deverá ser sugado o meio. Com isso, um novo meio de cultura (DMEM, completo) será adicionado à linhagem celular que

permanecera em atmosfera úmida, à 37°C, para obter-se a confluência de aproximadamente 70% da superfície cultivável da garrafa.

Contagem celular

A contagem celular deverá ser realizada antes da realização dos experimentos, para determinar o número de células existentes nos frascos cultivados. O propósito da contagem é identificar o número de células para uma divisão igualitária de células por grupo. O número de células semeadas em cada poço, será de 2×10^4 para a citotoxicidade. Para determinar a contagem celular, as células inicialmente serão lavadas duas vezes em PBS e ressuspensas do seu substrato, deve-se utilizar 3 ml de solução de tripsina-EDTA (Gibco/Invitrogen) para garrafas de cultivo de 75 cm², por 5 minutos. Deve-se neutralizar a ação da tripsina com a adição de no mínimo a mesma quantidade de meio (DMEM) suplementado com 10% de soro fetal bovino e 1% de antibiótico.

O conteúdo total da garrafa será removido e colocado em um Falcon de 15 ml. O volume celular será ressuspenso com uma pipeta volumétrica de 10 ml, para dessa forma homogeneizar as células no sobrenadante. De cada suspensão celular, 20 µl serão dispensados em um tubo de criogenia. Uma gota dessa mistura será colocada em um hematocítmetro (Labor Optik, Friedchsdorf, Germany), e levado ao microscópio de fase invertido para a realização da contagem. Células com aspecto brilhante e de formato arredondado serão consideradas viáveis, células escurecidas de formato distorcido serão consideradas mortas. O cálculo será realizado com base na fórmula onde o número total de células viáveis contadas nos 4 quadrantes externos será multiplicado por 10^4 (fator de correção do hematocítmetro). Esse valor será dividido pelo número de quadrados contados (nesse caso 4) e multiplicado pelo fator de diluição que é a quantia do meio de cultura adicionado. Com isso, obtém-se quantidade aproximada de células presentes em cada garrafa. O número total de células (NT) presentes no frasco será obtido através da equação abaixo, onde FD é o fator de diluição:

$$NT_{\text{cels}} = \frac{N^{\circ} \text{ total células viáveis} \times FD \times 10^4}{4 (N^{\circ} \text{ quadrados contados})}$$

Em concordância com a quantidade de células viáveis existentes, será calculado o número de células necessárias para o plaqueamento celular, para a realização dos ensaios de citotoxicidade.

Viabilidade celular

Os eludatos dos materiais testados serão utilizados em diferentes concentrações não definidas ainda, todos os procedimentos serão realizados em capela de fluxo laminar. A suspensão das células será plaqueada em uma concentração de 2×10^4 células por poço e distribuídas em placas de cultivo celular (ELISA, Techno Plastic Products) de 96 poços. Cada poço receberá 200 µl de DMEM suplementado com 10% SFB e 1% antibiótico. As placas serão incubadas à 37°C com 5% CO₂ por 24 h, para promover a adesão celular. Após as 24 h, serão retirados 200 µl do meio de cultura de cada poço e adicionados 200 µl/poço das diferentes concentrações testadas de cada material (FERNANDEZ et al., 2010). Nos poços definidos como controles, serão adicionados 200 µl de DMEM com a mesma quantidade de células e seu meio de cultura, será trocado após as primeiras 24 h. Poços preenchidos com DMEM serão usados como “brancos”. Após essas 24 h, será realizada a remoção do meio com os materiais-testes e adicionados 20 µl de MTT (sal tetrazolium [3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5]- difeniltetrazolium brometo) (Sigma/Aldrich) diluídos em 180 µl de DMEM em cada poço (5 mg/ml MTT). As placas serão incubadas em ambiente sem luminosidade por 4 h à 37°C com 5% CO₂. Após, a solução contendo MTT diluído em DMEM será aspirada e solubilizada em 200 µl de Dimetilsulfóxido (DMSO, Synth, São Paulo, Brasil) adicionados a cada poço.

As placas serão levadas a uma mesa agitadora (Biomixer, TS-2000A UDRL Shaker) a uma velocidade de 150 rpm por 10 minutos para a solubilização dos cristais de formazan produzidos pela redução do MTT. Com isso poderá se obter a absorbância, que será medida usando um espectrofotômetro (Thermoplate, TP-Reader) em um comprimento de onda de 540 nm.

4.2.2 Ensaio inibidor de metaloproteinases (MMPs)

4.2.2.1 Potencial de inibir MMP-2 e 9 através da técnica de zimografia

A atividade proteolítica de cada material será examinada em gel de poliacrilamida a 10% contendo 0,05% de gelatina. O meio condicionado pelas MMPs será obtido através da saliva humana conforme estudo prévio (MAKELA et al., 1994), a saliva será misturada ao tampão de amostra (2% SDS; 125mM Tris-HCl (pH 6,8); 10% de glicerol e 0,001% de azul de bromofenol) e então a eletroforese será realizada. O gel será incubado em tampão de revelação que conterá os materiais utilizados no estudo. Será utilizado como controle positivo 0,5% de N-etil-maleimida (NEM) que não inibe a atividade das MMPs, e como controle negativo será utilizado 0,5% de EDTA que é um conhecido inibidor das MMPs, bem como um controle contendo apenas a solução tampão (Tris-CaCl₂) sem nenhum grupo teste.

Após a eletroforese, o gel será lavado duas vezes em Triton X-100 (2%) por 60min a temperatura ambiente e então incubado a 37°C por 24h em tampão 50mM Tris-HCl (a incubação, os géis serão corados com Azul de Coomassie G-250 a 0,05% (Bio Rad, Richmond, CA). A atividade gelatinolítica será detectada como bandas não coradas no gel que ficará corado em azul. Após será feita a análise semiquantitativa das bandas para quantificar a inibição das MMPs pelas diferentes concentrações dos diferentes monômeros utilizados, as bandas serão escaneadas e os valores de transmitância obtidos serão analisados usando o software ImageJ (NIH, Bethesda, MD, EUA). Se for demonstrado algum grau de inibição de alguma das substâncias testes, os dados serão plotados e submetidos à regressão linear.

4.2.3 Ensaio Angiogênico

Serão utilizadas para os ensaios células endoteliais microvasculares da derme humana (HDMEC, Cambrex Corp., East Rutherford, NJ, USA, passagens 7-10) que serão cultivadas em meio de cultura EGM-2MV (500mL) (Cambrex, San Diego, CA, USA), suplementado com soro fetal bovino (SFB) 5%, hidrocortisona 0,04%, ácido ascórbico 0,1%, proteína recombinante do fator de crescimento semelhante a insulina 1 (R3-IGF-1) 0,1%, sulfato de gentamicina e anfotericina B (GA-1000) 0,1%, proteína recombinante do fator de crescimento fibroblástico (rhFGF-B) 0,4%, proteína recombinante do fator de crescimento vascular endotelial (rhVEGF) 0,1%. Em

normóxia, as células pulpares humanas serão cultivadas em estufa a 37°C com 100% de umidade, 5% de CO₂, 21% O₂ 74% N₂.

Testes de proliferação e formação de tubos capilares in vitro

O efeito in vitro será analisado sobre a proliferação e a formação de estruturas semelhantes a capilares (*sprouts*), pelas células endoteliais (HDMEC). Para a avaliação da angiogênese *in vitro* (*sprouting assay* colágeno tipo I (Vitrogen 100; Cohesion Technologies, Palo Alto, CA, USA)) a 4°C será tamponado com PBS 10X gelado e 0,1M NaOH (concentração de 8:1:1), mantido em gelo. Quando necessário, o pH da solução de colágeno será ajustado para 7,4, adicionando 0,1M de NaOH ou HCl. Em placas de 6 compartimentos, 1,5 mL do colágeno preparado foi colocado em cada compartimento e incubado a 37°C *overnight* para geleificação. Serão implantadas HDMEC (5x10⁴ células) sobre o gel de colágeno em meio de cultura EGM- 2MV já em *overnight*.

O meio condicionado dos dois produtos biocerâmicos serão incorporados no meio celular e será analisado a influência de cada um em estimular ou não o número de capilares em relação ao grupo controle. O número de tubos capilares será contado diariamente em aumento de 100X (Microscópio de contraste de fase, Modelo IMT-2, Olympus Optical Company Co. LTD, Tokyo, Japan), acoplado a uma câmera (Evolution MP Color, Media Cypernectics, US) durante 5 dias. Para a contagem, seis campos de cada compartimento serão selecionados aleatoriamente e os dados serão obtidos de dois compartimentos por tratamento (n = 12). O meio de cultura EGM-2MV será utilizado como controle negativo, sendo que este mesmo meio de cultura suplementado com 50ng da proteína recombinante do VEGF165 (rhVEGF165, BD Transduction Laboratories, San Jose, CA, USA), como controle positivo. Para a avaliação da proliferação e viabilidade das células endoteliais será realizada a análise colorimétrica do WST-1 (Roche Applied Science, Penzberg, Germany). HDMEC (1x10³ células) serão implantadas em 6 compartimentos por condição em placas de 96 compartimentos e cultivadas a 37°C *overnight* para adesão das células no fundo dos compartimentos.

A taxa de proliferação celular será avaliada em três períodos (24h, 48h e 72h). Após os determinados períodos de tempo, o corante WST-1 (1:10) será adicionado meio de cultura sobre as células e mantido 1 hora a 37°C. Em seguida, as placas

serão analisadas por espectrofotometria com comprimento de onda de 450 nm (Microplate Reader, Tecan, Genios, Austria). As análises da proliferação e formação de tubos capilares pelas células endoteliais serão analisadas e caso, seja obtida uma distribuição que seja considerada fora da normalidade, testes não paramétricos serão utilizados. Os testes estatísticos serão avaliados ao nível de significância de 5%.

4.2.4 Ensaios microbiológicos

Ensaios microbiológicos serão desenvolvidos no Laboratório de Microbiologia Oral da Faculdade de Odontologia da UFPel.

4.2.4.1 Ensaio de monocultura - Acúmulo de biofilme de *Streptococcus mutans* sobre os biocerâmicos

Reativação de cepas de *Streptococcus. mutans* UA 159

As Cepas de *Streptococcus. Mutans* UA 159 armazenadas a -80°C serão reativadas, e transferidos 100 µl para um tubo estéril contendo 9 ml de LMW mais 1 ml de glicose, e incubados por 18 horas em estufa de CO₂. Após este período, 10 µl da mistura serão transferidos para uma placa de ágar sangue onde se realizará um *streak* do caldo no ágar. A placa será incubada por 24 h em estufa de CO₂ e a partir do crescimento registrado na placa, serão coletadas colônias isoladas. As mesmas serão transferidas para um tubo estéril com 9 ml de LMW mais 1 ml de glicose (*starter*) e incubadas por 18 horas em estufa de CO₂.

Teste de acúmulo de biofilme

Antes de suspender os blocos nas placas será preparado o meio de cultura, onde 100 uL de *starter* será transferido para um tubo contendo 40,5 ml de meio LMW e 4,5 ml de glicose. A mistura será homogeneizada e 2 ml serão transferidos para cada poço da placa. Imediatamente após o procedimento a placa com os discos será incubada em estufa de CO₂ por 24 horas, para permitir a aderência inicial dos microrganismos.

Passado as 24 horas, os blocos serão lavados com solução salina e será trocado o meio. Deve-se então verificar o pH do LMW, e 1 ml do meio será armazenado na geladeira para posterior análise de Ca^{+2} . O mesmo procedimento será realizado após 48 h.

Para a coleta do biofilme, após 72 horas, os blocos serão lavados com solução salina, e será coletado cuidadosamente o biofilme formado nos blocos. Para posterior análise de peso seco de cada diluição realizada, serão coletados 100 μL e repicados em placas de petri contendo meio Agar BHI para análise de UFC (LI, et al., 2009).

Determinação da viabilidade bacteriana de *Streptococcus mutans* nos biofilmes

O bloco com biofilme formado em 72 horas, exposto a solução de sacarose 1% in vitro; será transferido para um eppendorf com 1 mL de solução NaCl 0,9% (salina). Será realizada a sonicação por 30 s a 7 watts para dispensar todo o biofilme na solução salina, serão realizadas diluições seriadas, obtendo assim as diluições de 10x (1), 100x (2), 1000x (3), 10000x (4), 100000x (5) e 1000000x (6). As amostras passaram por plaqueamento em meio ágar BHI, dividindo-as em 6 partes, onde serão colocadas 3 alíquotas (de 20 μL) de cada diluição. A numeração da placa corresponderá à diluição. As placas serão incubadas a 37°C, 10% pCO_2 por 24 h, simulando as condições orais de temperatura e pCO_2 . Após o período de incubação, será realizado a contagem das Unidades Formadoras de Colônias (UFC). Para estimar as UFC será aplicada a seguinte fórmula:

$$[UFC \times 1000/20] \times \text{diluição}$$

Peso seco do biofilme

No mesmo eppendorf com biofilme e solução salina sonicado, serão retirados 300 μL para outro eppendorf já previamente pesado e codificado. A solução será centrifugada por 5 min, 10000 g a 4°C. O sobrenadante será descartado e o tubo com o precipitado será levado ao dessecador por 24-48 h com P_2O_5 . Será pesado novamente o eppendorf, o peso seco do biofilme em 1 mL será:

$$P_{\text{secofinal}} = (P_{\text{seco eppendorf}} \times 1000) / 300.$$

4.2.4.2 Modelo de microcosmos - Efeito antimicrobiano dos biocerâmicos

Coleta da saliva

A coleta de saliva será realizada através da estimulação por filme de parafina (Parafilm "M"®, American National Can™, Chicago, Illinois, EUA) de um voluntário adulto e saudável (M.S.A.), que não este sob terapia antibiótica por 1 ano. O doador suspenderá a higiene oral por 24h previamente às coletas, que serão realizados no período matutino (em jejum). A saliva será depositada em um coletor graduado estéril e transportada em gelo ao Laboratório de Microbiologia (FO-UFPEL). Uma alíquota de saliva (0,5mL) será separada para quantificação microbiana (UFC/mL). O restante será homogeneizado em agitador de tubos tipo Vortex e imediatamente utilizado como inóculo. Para cada experimento, a coleta de saliva será realizada no momento de sua utilização.

Protocolo de obtenção e crescimento dos biofilmes

A saliva será inoculada sobre os discos do cimento em placas de 24 micro poços, em um volume de 400 µl por poço. Após 1 h em repouso a 37°C, a saliva será delicadamente aspirada da base dos poços, e 1,8 ml de meio DMM (com ou sem sacarose) serão adicionados em cada micro poço. O modelo usado será de regime semi-dinâmico, a adição de DMM com sacarose será efetuada em tempos (6 h) e concentrações (1%) as placas serão incubadas. Após o período de desafio cariogênico os discos serão enxaguados através de imersão em 2 ml de solução salina estéril, inseridos em uma nova placa contendo DMM, e novamente incubados. Os biofilmes serão formados independentemente sobre os discos do cimento suspensos em dispositivos de fio ortodôntico, em cada micro poço. As placas serão incubadas em condição atmosférica de anaerobiose (5-10% CO₂ e menos que 1% O₂) em jarras (Probac do Brasil produtos Bacteriológicos Ltda., Santa Cecília, SP) com geradores de anaerobiose (Anaerobac- Probac) sob temperatura controlada (37°C), e mantida em repouso na incubadora. Os meios, DMM com e sem adição de sacarose, serão renovados diariamente. Após cada renovação, será realizada a leitura de pH (pHmetro – Quimis Aparelhos Científicos Ltda, Diadema, SP; eletrodo V621 – Analion, Ribeirão Preto, SP) do sobrenadante, individualmente em cada micro poço (FILOCHE; SOMA; SISSONS, 2007). Passado 72 h, os discos de esmalte serão removidos dos poços com pinça estéril, e as bactérias não aderidas serão removidas gentilmente por

lavagem em 2 ml de solução salina estéril (THURNHEER et al., 2003). Os biofilmes serão removidos da superfície do disco com ajuda do sonificador.

4.2.4.3 Verificação do acúmulo de biofilme por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Serão preparados discos dos biocerâmicos, os espécimes serão esterilizados com óxido de etileno, após isso será realizado o condicionamento dos blocos com saliva, descrita no ensaio anterior. Após, 4, 8, 12 e 24h os blocos de cimento de cada grupo serão analisados no MEV (LI et al., 2009).

Preparo de amostras biológicas para Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Uma vez retirados do meio de cultura, os discos de biocerâmicos serão enxaguados com Tampão fosfato-salino (PBS) duas vezes por um período de 5 minutos cada. Para a fixação das proteínas, será utilizado glutaraldeído 2,5% em PBS (solução 0,1 M em PBS, pH 7,4) durante 10 minutos. Após a fixação serão enxaguados novamente em PBS duas vezes por 5 minutos cada um. Para fixação de lipídeos será utilizado o tetróxido de ósmio a 1% em tampão cacodilato 0,05M (pH 6,8) por 60 minutos à temperatura ambiente, em uma capela de biossegurança. Depois da fixação, os espécimes serão lavados com PBS, duas vezes por 5 minutos cada um. Para desidratação das amostras, estes serão lavados duas vezes em concentrações crescentes de etanol (50%, 70%, 80% e 100%) durante 5 minutos. Em seguida as amostras permanecerão durante uma hora em ambiente limpo sobre papel-filtro em temperatura ambiente para secagem. A secagem final será realizada em secador de ponto crítico ou dessecador. Finalmente as amostras serão fixadas em *stubs* para sua posterior metalização (LI et al., 2009).

4.2.5 Análise estatística

O número de repetições em cada avaliação terá como base o cálculo amostral executado previamente a partir de um estudo piloto, adotando-se o poder de teste próximo ou superior a 80%, sendo empregado o programa SigmaStat® (Versão 3.01,

Systat Software Inc., Port Richmond, CA, USA). A partir dos resultados, o método estatístico será escolhido com base na aderência ao modelo de distribuição normal e igualdade de variância. Para todos os testes será considerado estatisticamente significativo o valor $p < 0,05$.

5 Cronograma de execução

Tabela 2- Cronograma das atividades do projeto de tese.

Atividades/Semestre	2019	2020	2021	2024
<i>Cumprimento dos créditos</i>	X	X	X	
<i>Especificação dos objetivos, revisão de metodologia</i>	X	X		
<i>Treinamento para utilização das metodologias</i>	X	X	X	
<i>Revisão de Literatura</i>		X	X	
<i>Cultivo das células endoteliais</i>		X	X	X
<i>Realização das metodologias propostas</i>		X	X	X
<i>Análise dos resultados e testes estatísticos</i>			X	X
<i>Redação de artigos</i>			X	X
<i>Envio para congressos</i>			X	X
<i>Preparo do relatório final</i>				X
<i>Envio para publicação de artigos científicos</i>			X	X
<i>Redação da tese</i>			X	X
<i>Defesa da tese</i>				X

6 Orçamento

Tabela 2 – Orçamento para o desenvolvimento do projeto de tese.

Descrição dos produtos a serem adquiridos*	Quantidade	Custo (unidade)	Custo (total)
Acrilamida Vetec	1 frasco	R\$ 103,73	R\$ 103,73
Marcador de peso molecular	1	R\$ 984,50	R\$ 984,50
Soro Fetal Bovino (Cell biologics Incorporation)	3	R\$ 321,52	R\$ 964,56
Meio Especial para células endoteliais (Lonza)	6	R\$ 674,84	R\$ 4044,20
Meio Ágar BHI	1	R\$ 318,17	R\$ 318,17
NCTC clone 929 [L cell, L-929, derivative of Strain L]	1	R\$ 2154,00	R\$ 2154,00
HaCat – células imortalizadas humana	1	R\$ 4706,00	R\$ 4706,00
Reagentes		R\$ 5700,00	R\$ 5700,00
Luvras para procedimento	4 caixa	R\$ 22,00	R\$ 88,00
Máscara descartável	2 caixa	R\$ 12,00	R\$ 24,00
Inibidores de proteases	1	R\$ 500,00	R\$ 500,00
Microtubo para centrífuga tipo Eppendorf, Cral	1 pacote	R\$ 18,15	R\$ 18,15
Ponteiras de 200µl Axygen	1 pacote	R\$ 35,86	R\$ 35,86
Ponteiras de 1000µl, Axygen	1 pacote	R\$ 38,60	R\$ 38,60
Tubo tipo Falcon 50 ml, Cral	3 pacotes	R\$ 14,08	R\$ 42,24
Tubo tipo Falcon 15 ml, Cral	3 pacotes	R\$ 26,07	R\$ 78,21
Placas de Petri 6cm	caixa	R\$ 150,00	R\$ 150,00
+Os custos serão oriundos da equipe executora		Custo total: R\$ 19.950,00	

Referências

- A. SABERI, Eshagh *et al.* Cytotoxic effects of mineral trioxide aggregate, calcium enriched mixture cement, Biodentine and octacalcium phosphate on human gingival fibroblasts. **Journal of Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects**, [S. l.], v. 10, n. 2, p. 75–80, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.15171/joddd.2016.012>
- AFAMI, Marina E. *et al.* Multicomponent Peptide Hydrogels as an Innovative Platform for Cell-Based Tissue Engineering in the Dental Pulp. [S. l.], 2021 a.
- AFAMI, Marina E. *et al.* Ultrashort peptide hydrogels display antimicrobial activity and enhance angiogenic growth factor release by dental pulp stem/stromal cells. **Materials**, [S. l.], v. 14, n. 9, 2021 b. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ma14092237>
- AKSEL, H. *et al.* Antimicrobial Activity and Biocompatibility of Antibiotic-loaded Chitosan Hydrogels as a Potential Scaffold in Regenerative Endodontic Treatment. **Journal of endodontics**, [S. l.], 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2020.09.007>
- ALBUQUERQUE, M. T. P. *et al.* Tissue-engineering-based Strategies for Regenerative Endodontics. **Journal of Dental Research**, [S. l.], v. 1, n. 10, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/0022034514549809>
- ALIPOUR, Mahdiah *et al.* The Antimicrobial, Antioxidative, and Anti-Inflammatory Effects of Polycaprolactone/Gelatin Scaffolds Containing Chrysin for Regenerative Endodontic Purposes. **Stem Cells International**, [S. l.], v. 2021, 2021 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2021/3828777>
- ALIPOUR, Mahdiah *et al.* Synthesis, characterization, and evaluation of curcumin-loaded endodontic reparative material. **Journal of Biochemical and Molecular Toxicology**, Z. Aghazadeh, Stem Cell Research Center and Department of Oral Medicine, Faculty of Dentistry, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran, v. 35, n. 9, 2021 b. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jbt.22854>
- ANA, Ika Dewi *et al.* Bioceramics for Clinical Application in Regenerative Dentistry. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, [S. l.], v. 1077, p. 309–316, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-981-13-0947-2_16
- ANTUNES, H. S. *et al.* Sealing ability of two root-end filling materials in a bacterial nutrient leakage model. **International endodontic journal**, [S. l.], v. 49, n. 10, p. 960–965, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/iej.12543>
- ASGARY, Saeed; EGHBAL, Mohammad Jafar; EHSANI, Sara. Periradicular Regeneration after Endodontic Surgery with Calcium-enriched Mixture Cement in Dogs. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 36, n. 5, p. 837–841, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2010.03.005>
- AYALA-HAM, Alfredo *et al.* Hydrogel-Based Scaffolds in Oral Tissue Engineering. **Frontiers in Materials**, [S. l.], v. 8, n. July, p. 1–26, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmats.2021.708945>
- BAKOTA, Erica L. *et al.* Self-Assembling Multidomain Peptide Fibers with Aromatic Cores. **Biomacromolecules**, [S. l.], 2013.
- BANCHS, Francisco; TROPE, Martin. Revascularization of immature permanent teeth with apical periodontitis: New treatment protocol? **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 30, n. 4, p. 196–200, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/00004770-200404000-00003>
- BECERRA, Patricia *et al.* Histologic study of a human immature permanent premolar with chronic apical abscess after revascularization/revitalization. **Journal of**

Endodontics, [S. l.], v. 40, n. 1, p. 133–139, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2013.07.017>

BEKHOUCHE, M. *et al.* Development of an antibacterial nanocomposite hydrogel for human dental pulp engineering. **Journal of materials chemistry. B**, England, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/d0tb00989j>

BOTTINO, M. C. *et al.* Bioactive nanofibrous scaffolds for regenerative endodontics. **Journal of dental research**, [S. l.], v. 92, n. 11, p. 963–969, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/0022034513505770>

CAMILLERI, Josette. Mineral trioxide aggregate: present and future developments. **Endodontic Topics**, [S. l.], v. 32, n. 1, p. 31–46, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/etp.12073>

CAO, Huan *et al.* Current hydrogel advances in physicochemical and biological response-driven biomedical application diversity. [S. l.], n. November, p. 1–31, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00830-x>

CASTELLAN, Carina S. *et al.* Long-term stability of dentin matrix following treatment with various natural collagen cross-linkers. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, [S. l.], v. 4, n. 7, p. 1343–1350, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2011.05.003>

CHÁVEZ DE PAZ VILLANUEVA, Luis Eduardo. Fusobacterium nucleatum in endodontic flare-ups. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics**, [S. l.], v. 93, n. 2, p. 179–183, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1067/moe.2002.120803>

CHEN, Ian *et al.* Healing after root-end microsurgery by using mineral trioxide aggregate and a new calcium silicate-based bioceramic material as root-end filling materials in dogs. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 41, n. 3, p. 389–399, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2014.11.005>

CHEVALIER, J.; GREMILLARD, L. Ceramics for medical applications: A picture for the next 20 years. **Journal of the European Ceramic Society**, [S. l.], v. 29, n. 7, p. 1245–1255, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jeurceramsoc.2008.08.025>

COLOMBO, John S. *et al.* Dental Pulp Regeneration. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 40, n. 4, p. S6–S12, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2014.01.019>

COLOMBO, John S.; JIA, Shihai; D'SOUZA, Rena N. Modeling Hypoxia Induced Factors to Treat Pulpal Inflammation and Drive Regeneration. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 46, n. 9, p. S19–S25, 2020 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2020.06.039>

COLOMBO, John S.; JIA, Shihai; D'SOUZA, Rena N. Modeling Hypoxia Induced Factors to Treat Pulpal Inflammation and Drive Regeneration. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 46, n. 9, p. S19–S25, 2020 b. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2020.06.039>

CUEVAS-SUÁREZ, Carlos Enrique *et al.* Bonding Strength of Universal Adhesives to Indirect Substrates: A Meta-Analysis of in Vitro Studies. **Journal of Prosthodontics**, [S. l.], v. 29, n. 4, p. 298–308, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jopr.13147>

DA ROSA, Wellington L. O. *et al.* Current trends and future perspectives of dental pulp capping materials: A systematic review. **Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials**, [S. l.], v. 106, n. 3, p. 1358–1368, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jbm.b.33934>

DARBY, Ian A.; HEWITSON, Tim D. Hypoxia in tissue repair and fibrosis. **Cell and**

Tissue Research, [S. l.], 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00441-016-2461-3>

DE-DEUS, G. *et al.* Cytocompatibility of the ready-to-use bioceramic putty repair cement iRoot BP Plus with primary human osteoblasts. **International Endodontic Journal**, [S. l.], v. 45, n. 6, p. 508–513, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2011.02003.x>

DIANAT, Omid *et al.* Endodontic repair in immature dogs' teeth with apical periodontitis: blood clot vs plasma rich in growth factors scaffold. **Dental Traumatology**, [S. l.], v. 33, n. 2, p. 84–90, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/edt.12306>

DUCRET, Maxime *et al.* Current challenges in human tooth revitalization. [S. l.], v. 28, p. 159–168, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3233/BME-171637>

DUCRET, Maxime *et al.* Design and characterization of a chitosan-enriched fibrin hydrogel for human dental pulp regeneration. **Dental Materials**, England, v. 35, n. 4, p. 523–533, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.dental.2019.01.018>

DUCRET, Maxime; FABRE, Hugo; FARGES, Jean-christophe. Production of Human Dental Pulp Cells with a Medicinal. [S. l.], p. 1–8, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2015.05.017>

DUTTA, Arindam; SAUNDERS, William P. Calcium silicate materials in endodontics. **Dental Update**, [S. l.], v. 41, n. 8, p. 708–722, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.12968/denu.2014.41.8.708>

EDREES, Hadeel Y. *et al.* Induction of Osteogenic Differentiation of. **Materials**, [S. l.], v. 12, p. 2311, 2019.

ERAMO, S. *et al.* Dental pulp regeneration via cell homing. **International Endodontic Journal**, [S. l.], v. 51, p. 405–419, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/iej.12868>

ESCOBAR-GARCÍA, Diana María *et al.* Cytotoxicity and Initial Biocompatibility of Endodontic Biomaterials (MTA and Biodentine™) Used as Root-End Filling Materials. **BioMed Research International**, [S. l.], v. 2016, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2016/7926961>

EZELDEEN, Mostafa *et al.* Chlorite oxidized oxyamylose differentially influences the microstructure of fibrin and self assembling peptide hydrogels as well as dental pulp stem cell behavior. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 11, n. 1, p. 1–12, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84405-4>

FARGES, Jean-christophe *et al.* Human odontoblast-like cells produce nitric oxide with antibacterial activity upon TLR2 activation. **Frontiers in Physiology**, [S. l.], v. 6, n. June, p. 1–9, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fphys.2015.00185>

FERRONI, Letizia *et al.* A Hyaluronan-Based Scaffold for the in Vitro Construction of Dental Pulp-Like Tissue. **International Journal of Molecular Sciences**, [S. l.], v. 16, p. 4666–4681, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms16034666>

FISCHER, E. J.; ARENS, D. E.; MILLER, C. H. Bacterial leakage of mineral trioxide aggregate as compared with zinc-free amalgam, intermediate restorative material, and Super-EBA as a root-end filling material. **Journal of endodontics**, [S. l.], v. 24, n. 3, p. 176–179, 1998. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0099-2399\(98\)80178-7](https://doi.org/10.1016/S0099-2399(98)80178-7)

FOUAD, Ashraf F. Contemporary Microbial and Antimicrobial Considerations in Regenerative Endodontic Therapy. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 46, n. 9, p. S105–S114, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2020.06.030>

FUKUSHIMA, K. A. *et al.* Screening of hydrogel-based scaffolds for dental pulp regeneration—A systematic review. **Archives of Oral Biology**, [S. l.], v. 98, p. 182–

194, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2018.11.023>

GALLER, K. M. *et al.* A Customized Self-Assembling Peptide Hydrogel for dental pulp tissue engineering. **TISSUE ENGINEERING PART A**, [S. l.], v. 18, p. 176–184, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2011.0222>

GOKER, Funda *et al.* Gene Delivery Therapeutics in the Treatment of Periodontitis and Peri-Implantitis: A State of the Art Review. **International Journal of Molecular Sciences**, [S. l.], v. 20, n. 14, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms20143551>

JIANG, X.; LIU, H.; PENG, C. Clinical and Radiographic Assessment of the Efficacy of a Collagen Membrane in Regenerative Clinical Trial. **Regenerative endodontics**, [S. l.], p. 1–7, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2017.04.011>

KAMOCKI, K.; NÖR, J. E.; BOTTINO, M. C. Dental pulp stem cell responses to novel antibiotic-containing scaffolds for regenerative endodontics. **International Endodontic Journal**, [S. l.], v. 48, n. 12, p. 1147–1156, 2015 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/iej.12414>

KAMOCKI, Krzysztof; NÖR, Jacques E.; BOTTINO, Marco C. Effects of ciprofloxacin-containing antimicrobial scaffolds on dental pulp stem cell viability-In vitro studies. **Archives of oral biology**, [S. l.], v. 60, n. 8, p. 1131–1137, 2015 b. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2015.05.002>

KLIMCZAK, Aleksandra; KOZLOWSKA, Urszula. Mesenchymal Stromal Cells and Tissue-Specific Progenitor Cells : Their Role in Tissue Homeostasis. **Stem cells international**, [S. l.], v. 2016, 2016.

KOGAN, Paul *et al.* The Effects of Various Additives on Setting Properties of MTA. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 32, n. 6, p. 569–572, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2005.08.006>

KOHOUT, George D. *et al.* Comparison of quick-set and mineral trioxide aggregate root-end fillings for the regeneration of apical tissues in dogs. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 41, n. 2, p. 248–252, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2014.10.005>

KÜÇÜKKAYA, Selen *et al.* In Vitro Cytotoxicity of Calcium Silicate-Based Endodontic Cement as Root-End Filling Materials. **Scientifica**, [S. l.], v. 2016, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2016/9203932>

KWON, Y.; LIM, E.; MIN, K. Effects of Epigallocatechin-gallate, an Antimicrobial Crosslinking Agent, on Proliferation and Differentiation of Human Dental Pulp Cells Cultured in Collagen Scaffold. **TISSUE ENGINEERING PART A**, [S. l.], v. 21, n. 1, p. S193, 2015.

KWON, Young-Sun *et al.* Effects of Epigallocatechin Gallate, an Antibacterial Cross-linking Agent, on Proliferation and Differentiation of Human Dental Pulp Cells Cultured in Collagen Scaffolds. **Journal of endodontics**, United States, v. 43, n. 2, p. 289–296, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2016.10.017>

LAKMAL, Waruna; BDS, Dissanayaka; DDS, Chengfei Zhang. Scaffold-based and Scaffold-free Strategies in Dental Pulp Regeneration. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 46, n. 9, p. S81–S89, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2020.06.022>

LEAL, Fernanda *et al.* Similar sealability between bioceramic putty ready-to-use repair cement and white MTA. **Brazilian Dental Journal**, [S. l.], v. 24, n. 4, p. 362–366, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0103-6440201302051>

LEE, ESTHER J.; KASPER, F. KURTIS; MIKOS, A. G. Biomaterials for Tissue Engineering. **Annals of Biomedical Engineering**, [S. l.], v. 42, n. 2, p. 323–337, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10439-013-0859-6>

LEITE, Fábio R. M. *et al.* Prevalence of Treponema Species Detected in Endodontic Infections: Systematic Review and Meta-regression Analysis. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 41, n. 5, p. 579–587, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2015.01.020>

LI, Sandra *et al.* Virus entry inhibition by chlorite-oxidized oxyamylose versus induction of antiviral interferon by poly (I : C). **Biochemical pharmacology**, [S. l.], v. 76, p. 831–840, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2008.07.022>

LI, Yuting *et al.* Fibrin Gel as an Injectable Biodegradable Scaffold and Cell Carrier for Tissue Engineering. **The Scientific World Journal**, [S. l.], v. 2015, p. 1–10, 2015.

LIU, He *et al.* Bioactive Materials Biomaterial scaffolds for clinical procedures in endodontic regeneration. **Bioactive Materials**, [S. l.], v. 12, n. July 2021, p. 257–277, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2021.10.008>

MA, Lie *et al.* Enhanced biological stability of collagen porous scaffolds by using amino acids as novel cross-linking bridges. **Biomaterials**, [S. l.], v. 25, p. 2997–3004, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2003.09.092>

MCINTYRE, Patrick W. *et al.* The antimicrobial properties, cytotoxicity, and differentiation potential of double antibiotic intracanal medicaments loaded into hydrogel system. **Clinical oral investigations**, Germany, v. 23, n. 3, p. 1051–1059, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00784-018-2542-7>

MEDINA-FERNANDEZ, Ignacio; CELIZ, Adam D. Acellular biomaterial strategies for endodontic regeneration. **Biomaterials Science**, [S. l.], v. 7, n. 2, p. 506–509, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/c8bm01296b>

MESCHI, Nastaran; PATEL, Biraj; RUPAREL, Nikita B. Material Pulp Cells and Tissue Interactions. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 46, n. 9, p. S150–S160, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2020.06.031>

MIRAN, Shayee; MITSIDIS, Thimios A.; PAGELLA, Pierfrancesco. Innovative Dental Stem Cell-Based Research Approaches: The Future of Dentistry. **Stem Cells International**, [S. l.], v. 2016, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2016/7231038>

MÖLLER, Åke J. R. *et al.* Apical periodontitis development and bacterial response to endodontic treatment. Experimental root canal infections in monkeys with selected bacterial strains. **European Journal of Oral Sciences**, [S. l.], v. 112, n. 3, p. 207–215, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0722.2004.00135.x>

MORADI, Saeed; LOMEE, Mahdi; GHARECHAH, Maryam. Comparison of fluid filtration and bacterial leakage techniques for evaluation of microleakage in endodontics. **Dental Research Journal**, [S. l.], v. 12, n. 2, p. 109–114, 2015.

MOROTOMI, Takahiko; WASHIO, Ayako; KITAMURA, Chiaki. Current and future options for dental pulp therapy. **Japanese Dental Science Review**, [S. l.], v. 55, n. 1, p. 5–11, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jdsr.2018.09.001>

MOUSSA, Dina G.; APARICIO, Conrado. Present and future of tissue engineering scaffolds for dentin - pulp complex regeneration. [S. l.], n. July 2018, p. 58–75, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/term.2769>

NAIR, Uma *et al.* A comparative evaluation of the sealing ability of 2 root-end filling materials: An in vitro leakage study using Enterococcus faecalis. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology**, [S. l.], v. 112, n. 2, p. e74–e77, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2011.01.030>

NAKASHIMA, Misako; AKAMINE, Akifumi. The Application of Tissue Engineering to Regeneration of Pulp and Dentin in Endodontics. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 31, n. 10, p. 711–718, 2005.

NAUTA, Tessa D.; HINSBERGH, Victor W. M. Van; KOOLWIJK, Pieter. Hypoxic

Signaling During Tissue Repair and Regenerative Medicine. **International Journal of Molecular Sciences**, [S. l.], p. 19791–19815, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms151119791>

O'BRIEN, Fergal J. Biomaterials & scaffolds for tissue engineering. **Materials Today**, [S. l.], v. 14, n. 3, p. 88–95, 2011. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S1369-7021\(11\)70058-X](https://doi.org/10.1016/S1369-7021(11)70058-X)

OSORIO, Rosa Maria. Cytotoxicity of endodontic materials. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 24, n. 2, p. 91–96, 1998. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0099-2399\(98\)80084-8](https://doi.org/10.1016/S0099-2399(98)80084-8)

OUZZANI, Mourad *et al.* Rayyan-a web and mobile app for systematic reviews. **Systematic Reviews**, [S. l.], v. 5, n. 1, p. 1–10, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13643-016-0384-4>

PAGE, Matthew J. *et al.* The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews. **The BMJ**, [S. l.], v. 372, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1136/bmj.n71>

PALASUK, Jadesada *et al.* Bimix antimicrobial scaffolds for regenerative endodontics. **Journal of endodontics**, [S. l.], v. 40, n. 11, p. 1879–1884, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2014.07.017>

PARIROKH, M.; TORABINEJAD, M.; DUMMER, P. M. H. Mineral trioxide aggregate and other bioactive endodontic cements: an updated overview – part I: vital pulp therapy. **International Endodontic Journal**, [S. l.], v. 51, n. 2, p. 177–205, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/iej.12841>

PETRINO, Joseph A. *et al.* Challenges in Regenerative Endodontics : A Case Series. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 36, n. 3, p. 536–541, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2009.10.006>

POLAT, Günseli Güven; YILDIRIM, Ceren. The use of platelet rich plasma in the treatment of immature tooth with periapical lesion : a case report. **Restorative dentistry & endodontics**, [S. l.], v. 7658, p. 230–234, 2014.

RADDALL, Gavin; MELLO, Isabel; LEUNG, Brendan M. Biomaterials and Scaffold Design Strategies for Regenerative Endodontic Therapy. [S. l.], v. 7, n. November, p. 1–13, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00317>

REDL, H. *et al.* In vitro properties of mixtures of fibrin seal and antibiotics. **Biomaterials**, [S. l.], v. 4, p. 29–32, 1983.

ROSA, V. *et al.* Dental Pulp Tissue Engineering in. **Journal of dental research**, [S. l.], v. 92, n. 11, p. 970–975, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/0022034513505772>

SAOUD, Tarek Mohamed A. *et al.* Regeneration and repair in endodontics-a special issue of the regenerative endodontics-a new era in clinical endodontics. **Dentistry Journal**, [S. l.], v. 4, n. 1, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/dj4010003>

SARASWATHI, Devabhaktuni Disha *et al.* A Comparative Evaluation of Sealing Ability of Three Recent Root-End Filling Materials: An In Vitro Study. **Journal of Advanced Oral Research**, [S. l.], v. 6, n. 2, p. 33–39, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/2229411220150206>

SHAMSY, Enass *et al.* Evaluation of the apical seal of mineral trioxide aggregate in the absence and presence of Smear Layer. **Journal of Contemporary Dental Practice**, [S. l.], v. 20, n. 3, p. 298–303, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10024-2513>

SINGH, Harpreet *et al.* JBR Journal of Interdisciplinary Biodentine : A Promising Dentin substitute. [S. l.], v. 2, n. 5, p. 1–5, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.4172/2376-032X>

SOUZA, N. J. A. *et al.* Cytotoxicity of materials used in perforation repair tested using the V79 fibroblast cell line and the granulocyte-macrophage progenitor cells. **International Endodontic Journal**, [S. l.], v. 39, n. 1, p. 40–47, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2005.01045.x>

STASHENKO, P.; TELES, R.; D'SOUZA, R. PERIAPICAL INFLAMMATORY RESPONSES. **Crit. Rev. Oral Biol. Med.**, [S. l.], v. 9, n. 4, p. 498–521, 1998.

SURYA RAGHAVENDRA, Srinidhi *et al.* Bioceramics in Endodontics – a Review. **Journal of Istanbul University Faculty of Dentistry**, [S. l.], v. 51, n. 0, p. 128–137, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.17096/jiufd.63659>

TABARI, Mitra *et al.* Biocompatibility of Mineral Trioxide Aggregate Mixed with Different Accelerators: an Animal Study. **Journal of dentistry (Shiraz, Iran)**, [S. l.], v. 21, n. 1, p. 48–55, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.30476/DENTJODS.2019.77826.0>

TAMURA, H. *et al.* Biomedical applications of chitin hydrogel membranes and scaffolds. [S. l.], v. 84, p. 820–824, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.06.001>

TORABINEJAD, Mahmoud *et al.* Physical and chemical properties of a new root-end filling material. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 21, n. 7, p. 349–353, 1995 a. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0099-2399\(06\)80967-2](https://doi.org/10.1016/S0099-2399(06)80967-2)

TORABINEJAD, Mahmoud; TURMAN, Michael. Revitalization of Tooth with Necrotic Pulp and Open Apex by Using Platelet-rich Plasma : A Case Report. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 37, n. 2, p. 265–268, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2010.11.004>

TORABINEJAD, Mahmoud *et al.* Bacterial leakage of mineral trioxide aggregate as a root-end filling material. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 21, n. 3, p. 109–112, 1995 b. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0099-2399\(06\)80433-4](https://doi.org/10.1016/S0099-2399(06)80433-4)

TRICCO, Andrea C. *et al.* PRISMA extension for scoping reviews (PRISMA-ScR): Checklist and explanation. **Annals of Internal Medicine**, [S. l.], v. 169, n. 7, p. 467–473, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.7326/M18-0850>

ULUSOY, A. T. *et al.* Evaluation of Blood Clot , Platelet-rich Plasma , Platelet-rich Fibrin , and Platelet Pellet as Scaffolds in Regenerative Endodontic Treatment : **Journal of Endodontics**, [S. l.], p. 1–7, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2019.02.002>

VERMA, P. *et al.* Effect of Residual Bacteria on the Outcome of Pulp Regeneration in Vivo. **Journal of Dental Research**, [S. l.], v. 96, n. 1, p. 100–106, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/0022034516671499>

VISHWANAT, Lakshmi *et al.* Effect of Bacterial Biofilm on the Osteogenic Differentiation of Stem Cells of Apical Papilla. **Journal of Endodontics**, [S. l.], p. 1–7, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2017.01.023>

WALSH, Ryan M. *et al.* Evaluation of Compressive Strength of Hydraulic Silicate-based Root-end Filling Materials. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 40, n. 7, p. 969–972, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2013.11.018>

WAN, Mei-chen *et al.* Bioactive Materials Biomaterials from the sea : Future building blocks for biomedical applications. **Bioactive Materials**, [S. l.], v. 6, n. 12, p. 4255–4285, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2021.04.028>

WIGLER, Ronald *et al.* Revascularization : A Treatment for Permanent Teeth with Necrotic Pulp and Incomplete Root Development. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 39, n. 3, p. 319–326, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2012.11.014>

WILLYARD, C. The secrets of healing without scars. **Nature**, [S. l.], v. 563, 2018.

XU, Yuan *et al.* Scaffold for Tendon Tissue Engineering. **Tissue Engineering PART**

C, [S. l.], v. 19, n. 12, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1089/ten.tec.2012.0328>

YELICK, P. C. GelMA-Encapsulated hDPSCs and HUVECs for Dental Pulp Regeneration. [S. l.], 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/0022034516682005>

ZHANG, Jun *et al.* Effects of bioactive cements incorporating zinc-bioglass nanoparticles on odontogenic and angiogenic potential of human dental pulp cells. **Journal of Biomaterials Applications**, [S. l.], v. 29, n. 7, p. 954–964, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/0885328214550896>

ZHU, Qiang *et al.* Adhesion of human osteoblasts on root-end filling materials. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 26, n. 7, p. 404–406, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/00004770-200007000-00006>

3 Relatório de campo

A tese 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 em artigos descrita no referido manual, disponível em <https://wp.ufpel.edu.br/sisbi/normas-da-ufpel-para-trabalhos-academicos/>.

O projeto de pesquisa inicial intitulado “Bioatividade de novos materiais odontológicos biocerâmicos” foi apresentado da data de 29 de junho de 2020 e aprovado pela Banca Examinadora composta pelos Professores Doutores Adriana Fernandes da Silva (orientadora), Prof. Dr. Eliseu Aldright Münchow, Prof. Dr. Wellington Luiz de Oliveira da Rosa, Prof. Dr. Rafael Guerra Lund (Suplente), Dr^a. Andreza Maria Fabio Aranha (Suplente), porém, devido a pandemia causada pela disseminação do vírus SARS-CoV-2, causador da doença COVID-19, em março de 2020 as aulas teóricas e práticas foram suspensas, sem previsão de retorno, impossibilitando o uso normal do laboratório e a aplicação do projeto. Uma nova trajetória de pesquisa então se iniciou, agora de forma online, uma scoping review sobre agentes bioativos sobre as células-tronco da polpa.

Essa scoping review intitulada “Anti-inflammatory and antimicrobial scaffolds for dental pulp tissue: A Scoping Review”, é apresentada e redigida na forma de artigo, seguindo os critérios estabelecidos pela revista *Journal of endodontics*, disponíveis em: <https://www.elsevier.com/journals/journal-of-endodontics/0099-2399/guide-forauthors>.

4 Artigo

Anti-inflammatory and antimicrobial scaffolds for dental pulp tissue: A Scoping Review

Marindia de Almeida Borba, Eliseu A. Münchow, Wellington Luiz Oliveira da Rosa, Heloysa Talia Schwengber, Adriana Fernandes da Silva, Cesar Bellinati

Será submetido à revista *Journal endodontics*

Anti-inflammatory and antimicrobial scaffolds for dental pulp tissue: A Scoping Review

Marindia de Almeida Borba MSc¹, Eliseu A. Münchow DDS, MSc, PhD², Wellington Luiz Oliveira da Rosa DDS, MSc, PhD¹, Heloysa Talia Schwengber DDS¹, Adriana Fernandes da Silva DDS, MSc, PhD^{1*}, Cesar Bellinati^{3*}

¹ Graduate Program in Dentistry, School of Dentistry, Federal University of Pelotas, Pelotas, RS, Brazil

² Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry, Federal University of Rio Grande do Sul, POA, RS, Brazil

³ Director of the Research Sector of the Company Angelus S/A, Londrina, PR, Brazil

*Corresponding author:

Adriana Fernandes da Silva, Graduate Program in Dentistry, Dental School, Federal University of Pelotas

Gonçalves Chaves St., 457/503, Centro

Zip Code: 96015-560

Pelotas, Brazil

E-mail: adrisilvapiva@gmail.com

Abstract

The aim of this scoping review was to gather and map the available evidence regarding the use of antimicrobial scaffolds for pulp regeneration purposes. Two independent and blinded reviewers carried out a comprehensive search in four electronic databases up to April 10th 2021: MEDLINE, Embase, Scopus, and Web of Science. The selection criteria were: 1) studies that evaluated the biological properties (e.g., antimicrobial, antibacterial, and anti-inflammatory) of scaffolds/hydrogels loaded or not with drugs/bioactive molecules; 2) studies that verified the scaffolds effects on human dental pulp stem cells (hDPSCs); and 3) studies that tested the scaffolds having a target to be used for regenerative endodontics. After screening, ten articles met the eligibility criteria and were selected to be part of the study. Overall, the studies consisted mostly of drug-loaded hybrid scaffolds. Six studies tested the effects of drugs such as metronidazole and ciprofloxacin, and only one study verified the scaffold anti-inflammatory property. Most studies verified the antimicrobial properties against *Enterococcus faecalis* bacteria. In general, the studies verified the scaffolds cytotoxicity in hDPSCs, with positive results for cell viability. Scaffolds that did not use medication in their composition may also demonstrate antimicrobial properties, creating a favorable environment for stem cells. The drug-laden scaffolds resulted in antimicrobial properties derived from their composition. In conclusion, it may be understood that the use of drugs and molecules with antimicrobial properties may reduce bacterial growth according to a dosage effect. However, in order to preserve cell viability outcomes, minimal doses of these drugs are indicated. Natural structures such as fibrin and collagen without the use of drugs may result in antimicrobial effects, so these compounds are important candidates for the reduction of pulp inflammation events in the future.

Keywords: Stem cells; dental pulp; tissue engineering; scaffolds; scoping review.

1 Introduction

Regenerative endodontic treatment (RET) is defined as a biologically based procedure designed to replace damaged tissues from the dentin-pulp (DP) complex (CASTELLAN *et al.*, 2011). Currently, this regenerative method has two main strategies: pulp revascularization or tissue regeneration. The former strategy targets pulp regeneration by inducing bleeding from the periapical area with the aid of endodontic files, enriching the intracanal space with a blood clot full of natural fibrin structure and vasculature, as well as numerous cellular and molecular components essential for new tissue formation (KWON; LIM; MIN, 2015) (BANCHS; TROPE, 2004; DUCRET *et al.*, 2019)(SAOUD *et al.*, 2016). Due to using an innate mechanism, pulp revascularization has the benefit of preventing a foreign body immune response, since all the participants in the regeneration process are derived from the patient (DIANAT *et al.*, 2017), and clinical reports have shown a successful scenario for this approach (PETRINO *et al.*, 2010; POLAT; YILDIRIM, 2014; TORABINEJAD; TURMAN, 2011). Despite these positive results, there are still limitations related to this technique, including but not limited to the uncertainty regarding the nature of the regenerated tissues and the lack of long-term evidence in terms of root maturation and dentin walls strengthening (ALBUQUERQUE *et al.*, 2014; BECERRA *et al.*, 2014). In addition, a risk of tooth color change has been reported after pulp revascularization due to the associated antimicrobial therapy needed to combat intracanal infection, i.e., the well accepted triple antibiotic paste (TAP) (PETRINO *et al.*, 2010; POLAT; YILDIRIM, 2014; TORABINEJAD; TURMAN, 2011).

Conversely, tissue engineering is a strategy based on the combination of three main basic elements: stem cells, scaffolds, and cell mediators with bioactive properties. Over the years, several attempts have been made to establish a new method for tissue engineering (FERRONI *et al.*, 2015; KWON; LIM; MIN, 2015; NAKASHIMA; AKAMINE, 2005), and therapeutic strategies are receiving great attention for the DP complex regeneration (COLOMBO; JIA; D'SOUZA, 2020a). Among the tested techniques, the cell-based strategies show promising results (DARBY; HEWITSON, 2016), in which a cellular product consisting of

stem cells is injected into the intracanal space (NAUTA; HINSBERGH; KOOLWIJK, 2014). In tissue engineering applications, the biological connection between scaffold and cells is controlled by the properties of the materials and final scaffold characteristics. Thus, the materials used for the scaffolds production must have the ability of inducing antimicrobial properties and appropriate intrinsic and chemical functionality to stimulate cells molecular bio-recognition, targeting cell proliferation, adhesion, and activation events. Moreover, important aspects such as the easy handling, rapid implantation by the professional, and low viscosity should be considered, and more importantly, the scaffolds must have excellent antibacterial properties to prevent the growth of residual endodontic bacteria as well as physiological degradation properties aiming a controlled replacement by an extracellular matrix (ECM) (BAKOTA *et al.*, 2013; KLIMCZAK; KOZLOWSKA, 2016; MEDINA-FERNANDEZ; CELIZ, 2019). Last but not least, scaffolds used in regenerative endodontics must present anti-inflammatory capacity as much as possible (COLOMBO; JIA; D'SOUZA, 2020a).

Various types of scaffolds have been tested, including natural and synthetic polymers/copolymers, hydroxyapatite/tricalcium phosphate powders, self-assembly peptide systems, and platelet-rich plasma (BAKOTA *et al.*, 2013; GALLER *et al.*, 2012; KLIMCZAK; KOZLOWSKA, 2016; MEDINA-FERNANDEZ; CELIZ, 2019) (**Figure 1**). Of note, none of these scaffolds were found to possess the structural and functional properties of an ideal biomaterial for DP regeneration, warranting the design and development of innovative formulations (KLIMCZAK; KOZLOWSKA, 2016; NAUTA; HINSBERGH; KOOLWIJK, 2014; PAGE *et al.*, 2021). Hence, the purpose of this scoping review was to elucidate if drug-laden scaffolds enhance the antimicrobial/anti-inflammatory effects over pulp stem cells, and to verify whether they can be used as an alternative scaffolding system for pulp regeneration.

2. Methods

2.1. Registration information and research scope

The current scoping review is reported following the *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis extension for Scoping Review* (PRISMA ScR) (PAGE

et al., 2021; TRICCO *et al.*, 2018). The protocol was registered in the Open Science Framework and can be accessed through the following link: <https://osf.io/ykvmz>. The research question was as follows: Do drug-loaded scaffolds enhance the antimicrobial/anti-inflammatory effects over pulp stem cells?

2.2. *Eligibility criteria*

Eligible studies were: (i) studies that evaluated the biological properties (e.g., antimicrobial, antibacterial, anti-inflammatory) induced by scaffolds or hydrogels loaded with drugs or absent from any drug; (ii) studies that verified the foregoing properties on human dental pulp stem cells (hDPSCs); and (iii) studies that tested the scaffolds for application in dental pulp regeneration. The exclusion criteria were: (i) studies that did not use hDPSCs (e.g., studies testing other stem cells lineages); (ii) studies that did not test scaffolds based on natural, synthetic or hybrid composition; (iii) studies that did not show the use of scaffolding or hydrogels for pulp regeneration; (iv) studies that did not evaluate the scaffold antimicrobial or antibacterial or anti-inflammatory properties; and (v) studies with the following design: review, protocol, book chapter, and clinical trial.

2.3. *Primary outcome*

This review aimed to describe the antimicrobial and anti-inflammatory effects of natural, synthetic and hybrid scaffolds to hDPSCs, loaded or not with drugs or bioactive compounds, for pulp regeneration. To that end, the review considered the following main outcomes: for antimicrobial scaffolds, to verify the decrease in the count of bacteria in order to reduce the quantity of residual bacteria in clinical procedures; for the anti-inflammatory property, the target was to verify if the hypoxia-induced cell products can be captured within the hydrogel system and thus become useful in the resolution of pulp inflammation. In this sense, it is essential to resolve pulp inflammation in a timely manner, as the secretion of inflammatory cytokines by damaged cells can cause significant pain and discomfort to the patient.

2.4. *Information sources and search strategy*

A literature search was conducted to identify the available literature evaluating the use of scaffolds in the pulp regeneration until March 15th 2022. Relevant articles were searched and obtained from library sources and the following online databases: MEDLINE (PubMed), SciVerse Scopus, Elsevier's Embase and Web of Science. The research question was adapted from the PECO framework, as follows: (P) Population: dental pulp regeneration; (E) Exposure: scaffolds loaded with drugs/bioactive molecules; (C) Comparison: neat scaffolds without incorporation of any drugs/bioactive molecules; (O) Outcome: biological properties such as antibacterial activity or anti-inflammatory response). The search strategy consisted of the following terms (Supplementary 1 – osf.io/ykvmz). The Mendeley Desktop 1.19.4 Reference Manager (England) was used to group and manage the references and they were exported to Rayyan – a web and mobile app for systematic reviews (OUZZANI *et al.*, 2016) for the articles selection and reading. The references of the selected studies were searched manually for other possible relevant information from studies that could meet the inclusion criteria.

2.5. Selection process

All the articles initially found by the search strategy were screened (titles and abstracts) by two blinded and independent reviewers (MAB and HTS) utilizing the web application Rayyan (Qatar Computing Research Institute, Doha, QA) (OUZZANI *et al.*, 2016). Furthermore, a search for a manual study was carried out, observing the references cited in the included studies. The articles that clearly met the eligibility criteria and those that were uncertain were selected for full-text analysis. The initial inter observer agreement between the two examiners was calculated by Cohen's kappa coefficient ($k = 0.89$). The papers assessed that fulfilled all the eligibility criteria were included in this review, and those that had any disagreement between the two reviewers were clarified through discussion with a third reviewer (AFS).

2.6. Data collection process

Data of interest from the included studies were tabulated and interpreted by two independent reviewers (MAB and HTS) in an Excel spreadsheet (Microsoft Corporation,

Redmond, WA, USA). The other reviewers (AFS and WLOR) crosschecked all the recovered information. For each included study, the following general data were systematically recorded: publication details (authors and year); methodological details (scaffold material, exposure [drug delivery] and trial type [in vitro/ in vivo]); and outcome assessment effect (antimicrobial, antibacterial and anti-inflammatory) over hDPSCs. If it was not possible to find any information regarding these parameters, the corresponding author of the included study was contacted via email to retrieve the missing data. If the authors did not receive any answer in two weeks, then a second email was sent, and only after a month since the first contact, if no response was received, the decision to exclude the study was made.

2.7. Risk of bias assessment

The methodological quality of each included study was assessed by two reviewers according to the parameters published elsewhere (CUEVAS-SUÁREZ *et al.*, 2020). Studies included in the present review were independently assessed for inner methodological risk of bias using Review Manager Software version 5.4.1 (The Nordic Cochrane Center, The Cochrane Collaboration; Copenhagen, Denmark). The risk of the article bias was evaluated according to the description given of the following parameters: blinding of outcome assessment; incomplete outcome data; the use of reference standards; information on the cell medium; information on the cell passage; and other biases. The studies were finally scored as having low risk of bias when attending to at least five items; moderate risk of bias when attending from three to four items; and high risk of bias when attending two or less items.

3. Results

3.1. Search strategy

Figure 2 shows the PRISMA flowchart criteria summarizing the study selection process and the reasons for exclusions. A total of 1,804 potentially relevant articles were initially identified, and after exclusion of 364 duplicates, 1,399 were considered ineligible based on the inclusion criteria. After screening, 41 articles remained and were pre-selected for the full-text analysis by two independent reviewers ($\kappa = 0.89$). The reasons for exclusion are described in

Figure 2. Finally, only 13 articles were selected for this review ($\kappa = 0.90$). The included articles were all published in English and they were published from 2013 to 2021.

3.2. Study selection

The characteristics of the 13 included studies are summarized in **Tables 1** and **2**. They were categorized as per the type of scaffold as natural (AFAMI *et al.*, 2021a; AKSEL *et al.*, 2020; DUCRET *et al.*, 2019; MCINTYRE *et al.*, 2019), synthetic (AFAMI *et al.*, 2021a; BOTTINO *et al.*, 2013; KAMOCKI; NÖR; BOTTINO, 2015a; PALASUK *et al.*, 2014) and hybrid (ALIPOUR *et al.*, 2021a, 2021b; BEKHOUCHE *et al.*, 2020; COLOMBO; JIA; D'SOUZA, 2020a; EZELDEEN *et al.*, 2021; KWON *et al.*, 2017). Eleven studies evaluated the scaffolds antimicrobial effect (AFAMI *et al.*, 2021b; AKSEL *et al.*, 2020; ALIPOUR *et al.*, 2021b, 2021a; BEKHOUCHE *et al.*, 2020; BOTTINO *et al.*, 2013; DUCRET; FABRE; FARGES, 2015; EZELDEEN *et al.*, 2021; KAMOCKI; NÖR; BOTTINO, 2015a; MCINTYRE *et al.*, 2019), whereas only three investigated the anti-inflammatory effect (ALIPOUR *et al.*, 2021b, 2021a; COLOMBO; JIA; D'SOUZA, 2020a). Concerning the microorganisms tested in the studies, the most frequently reported was *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) (Aksel *et al.*, 2020; Bekhouche *et al.*, 2020; Bottino *et al.*, 2013; Ducret *et al.*, 2019; Kamocki *et al.*, 2015; Kwon *et al.*, 2017; McIntyre *et al.*, 2019; Palasuk *et al.*, 2014), followed by *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) and *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*) (BOTTINO *et al.*, 2013; PALASUK *et al.*, 2014), *Prevotella intermedia* (*P. intermedia*) (MCINTYRE *et al.*, 2019) and *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) (KWON *et al.*, 2017). Six studies incorporated drugs in the scaffolds (AKSEL *et al.*, 2020; BEKHOUCHE *et al.*, 2020; BOTTINO *et al.*, 2013; KAMOCKI; NÖR; BOTTINO, 2015b; MCINTYRE *et al.*, 2019; PALASUK *et al.*, 2014), one article used hydrogen peroxide (H_2O_2) to simulate hypoxia (COLOMBO; JIA; D'SOUZA, 2020a), and one article used chlorite-oxidized oxyamylose (COAM) macromolecule cross-linking agent (EZELDEEN *et al.*, 2021), and two articles verified the anti-inflammatory effect through the production of $TNF\alpha$ with the use of lipopolysaccharides of *Escherichia coli* as an inflammation-inducing agent (ALIPOUR *et al.*, 2021b, 2021a).

Most studies verified if the scaffolds were cytotoxic against pulp stem cells, with the exception of one study (COLOMBO; JIA; D'SOUZA, 2020a). In general, scaffolds did not show cytotoxicity to the cells evaluated, resulting in cell viability within the range from 77 to 90% (BEKHOUCHE *et al.*, 2020; BOTTINO *et al.*, 2013; DUCRET *et al.*, 2019; EZELDEEN *et al.*, 2021; KAMOCKI; NÖR; BOTTINO, 2015b; KWON *et al.*, 2017; MCINTYRE *et al.*, 2019; PALASUK *et al.*, 2014), as shown in **Table 2**. Two articles presented the results of cytotoxicity in absorbance values, and none were cytotoxic to the cells (AKSEL *et al.*, 2020; KWON *et al.*, 2017).

3.3. *Risk of bias of included studies*

The results for the risk of bias for each included study are shown in Figure 3. Information on cell passage and cell environment were the items most reported by the studies (92.3%). Most studies did not use reference standards (~54%). Regarding incomplete reporting of outcome data, most studies had dubious scores (53.9%) and information about blinding of outcome assessment was not clearly identified in all thirteen studies. The studies scored ideally in terms of other biases (84.6%). Overall, most studies scored as having moderate risk of bias (46.2%), followed by high (23.1%) and low (30.7%) risk of bias.

4. Discussion

Endodontic therapeutic processes linked to tissue engineering and designed for dental pulp regeneration are increasingly under investigation, so materials with biocompatible and antimicrobial properties are necessary to improve the predictability of regenerative endodontic treatment (KWON; LIM; MIN, 2015; KWON *et al.*, 2017; WIGLER *et al.*, 2013). The present scope review gathered information on a small number of possible materials options that could be used as scaffolds, thus representing an alternative to conventional treatment. Amongst the different types of scaffolds identified in the article herein, while some demonstrated a natural composition, the others were composed of synthetic or hybrid origins, and the latter derived from the union of natural and synthetic products. No less important, some of the gathered types of scaffolds were added with a variety of drugs and/or bioactive molecules.

One of the key elements in dental pulp tissue engineering is the development and application of scaffolds with biocompatible properties that do not induce any cytotoxic effect to the pulp stem cells. Several review studies have already given a list of scaffolding materials for tissue regeneration, although without attempting for the optimal structural and functional characteristics of the DP complex, thereby highlighting the need for a straightforward investigation on the field towards the best match between scaffold material and cellular response (ERAMO *et al.*, 2018; RADDALL; MELLO; LEUNG, 2019; ULUSOY *et al.*, 2019). Notably, cellular activation of a scaffold leads to the stimulation of specific intracellular signaling pathways that may drive blood clot formation and extracellular matrix remodeling, suggesting that cell adhesion to a scaffold matrix is a key step in triggering tissue regeneration (DUCRET *et al.*, 2017).

Regenerative endodontic methods face several challenges (DUCRET *et al.*, 2017; MOUSSA; APARICIO, 2019). For instance, the induction of dentin secretion by odontoblasts is a difficult task, as well as the preparation of scaffolds with important antibacterial activity without unbalancing biocompatibility (FARGES *et al.*, 2015; MOUSSA; APARICIO, 2019). This is commonly considered an important obstacle to the clinical use of scaffolds during endodontic regenerative treatment. Worth mentioning, studies using an animal model show that persistent microorganisms remaining into the root canal system can hinder the DP regeneration (VERMA *et al.*, 2017). Also, other relevant challenges that must be considered in the future are the scaffolds biological properties, their easiness of handling and storage, and last but not least, their effective costs (DUCRET *et al.*, 2017; DUCRET; FABRE; FARGES, 2015).

Concerning the antimicrobial properties of irrigating solutions typically used during root canal disinfection in conventional endodontics, the use of chlorhexidine or sodium hypochlorite may be tricking for the complete intracanal bacteria elimination. This is firstly due to the complex anatomy of the endodontic intracanal space and due to the deep bacteria penetration into dentinal tubules and bacterial organization in the form of biofilms. Furthermore, studies carried out in animal models have shown that residual bacteria prevent DP regeneration (REDL

et al., 1983; VISHWANAT *et al.*, 2017). Therefore, other strategies should be advocated in order to improve the decontamination of infected root canals. According to the findings herein, this obstacle could be overcome with the loading of antimicrobials drugs or molecules with antibacterial/antimicrobial properties during scaffold projection. In this review the following ingredients added into varying scaffolds were identified with the foregoing target: metronidazole and ciprofloxacin (AKSEL *et al.*, 2020; BOTTINO *et al.*, 2013; KAMOCKI; NÖR; BOTTINO, 2015b; MCINTYRE *et al.*, 2019; PALASUK *et al.*, 2014), and minocycline (AKSEL *et al.*, 2020) or clindamycin (AKSEL *et al.*, 2020; BEKHOUCHE *et al.*, 2020). Some scaffolds were also based on fibrin/chitosan (AKSEL *et al.*, 2020) or fibrin/poly-(DL)-lactic acid (PLA) nanoparticles (NPs) (BEKHOUCHE *et al.*, 2020), which may demonstrate antimicrobial activity even under the absence of specific drugs. Last, other scaffolds were prepared using polydioxanone (PDSII) (BOTTINO *et al.*, 2013; KAMOCKI; NÖR; BOTTINO, 2015b; PALASUK *et al.*, 2014) or methylcellulose (MCINTYRE *et al.*, 2019).

Overall, a considerable bacterial reduction was demonstrated within the fibrin/chitosan hydrogel prepared in the study by (AKSEL *et al.*, 2020), regardless of the antibiotic content. In particular, the scaffold loaded with clindamycin nanoparticles resulted in highly drug-dependent dosages against *E. faecalis* (BEKHOUCHE *et al.*, 2020). Another study also inhibited the growth of *E. faecalis* for up to 3 weeks with the use of ciprofloxacin on scaffolding (BOTTINO *et al.*, 2013). Antibiotic paste concentrations based on ciprofloxacin and metronidazole (1, 5 and 10 mg/mL) demonstrated significant antibiofilm effects when compared to the control (drug-free scaffold). However, dentin infected by two species and treated with the scaffolds containing 5 and 10 mg/mL of the drugs had better results than the specimens treated with the less concentrated scaffold (1 mg/mL) (MCINTYRE *et al.*, 2019). Scaffolds containing only metronidazole did not inhibit the growth of *E. faecalis*, *P. gingivalis*, and *F. nucleatum*, although those containing ciprofloxacin resulted in greater inhibition zones, with those created against *E. faecalis* being considerably smaller than the counterparts in *P. gingivalis* and *F. nucleatum* bacteria (PALASUK *et al.*, 2014).

Despite the use of drugs to induce antimicrobial properties, they may affect cell viability and proliferation events. Thus, it would be important to verify the use of these biomaterials without drug loading to investigate their effects on dental pulp stem cells. Amidst the biomaterials without modification with drugs, i.e., the control groups as considered in this review, the fibrin-chitosan framework strongly inhibited the growth of *E. faecalis* without affecting the hDPSCs viability (AKSEL *et al.*, 2020; DUCRET *et al.*, 2019). Moreover, synthetic scaffolds based on polydioxanone (KAMOOCKI; NÖR; BOTTINO, 2015b) resulted in antimicrobial effects (e.g., the growth of *E. faecalis* was inhibited) without affecting the cell viability, which values ranged from 82 to 100% (KAMOOCKI; NÖR; BOTTINO, 2015b; PALASUK *et al.*, 2014). Another biomaterial that brought positive results was based on methylcellulose (MCINTYRE *et al.*, 2019), reducing the growth of *E. faecalis* and *P. intermedia* and concomitantly showing cell viability results.

From the studies that did not incorporate antimicrobial drugs into the scaffolds, the study by (EZELDEEN *et al.*, 2021) evaluated a specific type of macromolecule, namely chlorite-oxidized oxyamylose (COAM), which is a polyanionic polysaccharide-derived that acts as a broad-spectrum antibacterial, antiviral, and immunomodulator agent (LI *et al.*, 2008). The previous study found a significant effect of COAM in the hDPSCs viability (EZELDEEN *et al.*, 2021). Of note, the use of these macromolecules did not affect neither the fibrin microstructures nor the cell morphology, probably because fibrin is a natural hydrogel, promoting natural adhesion outcomes (LI *et al.*, 2015). The study by (KWON *et al.*, 2017) evaluated the efficacy of epigallocatechin gallate (EGCG) on the hDPSCs viability and proliferation. EGCC is an antibacterial crosslinking agent, especially with collagen structures. Its effects were derived from concentration levels as minimum as 0.1 and 10 $\mu\text{mol/L}$. In addition, those minimum concentrations did not reduce the biomaterial antibacterial capacity, and it also allowed adequate proliferation events of hDPSCs within the scaffold. In turn, collagen is one of the most popular materials due to its favorable biocompatibility and biodegradability properties (MA *et al.*, 2004; XU *et al.*, 2013), and it can be used in the form of a hydrogel, which is suitable

for application in the complex structure of the root canal delimited by rigid dentin tissue (ROSA *et al.*, 2013).

Another limitation that may occur with the current scaffolds used for endodontic regeneration is their undefined ability to resolve pulp inflammation, representing a challenge for researchers. Even though the DP complex naturally reacts to injury, forming the so-called restorative dentin bridge that protects the pulp from further damage, this process can be harmful if inflammation persists over time (COLOMBO *et al.*, 2014; COLOMBO; JIA; D'SOUZA, 2020a; FARGES *et al.*, 2015). In addition, inflammation can also cause tissue damage at the host material-tissue interface (WILLYARD, 2018). Thus, a timely reduction of pulp inflammation becomes an essential task, as the secretion of inflammatory cytokines by damaged cells can cause significant pain and discomfort to the patient, creating an unfavorable microenvironment for pulp healing and reparative dentin (STASHENKO; TELES; D'SOUZA, 1998).

The emerging field of regenerative endodontics has encouraged the development and application of targeted therapies that take advantage of the intrinsic healing capabilities of host cells within the dental pulp and the periapical complexes (ALBUQUERQUE *et al.*, 2014; STASHENKO; TELES; D'SOUZA, 1998). The use of hypoxia may be an alternative vehicle, since it is a powerful inducer of repair cues in all types of tissues, including the dental pulp. Remarkably, a trauma- or inflammation-derived injury caused by bacteria incursion may usually cause damage to the tissue vasculature and a reduction in the level of oxygen (NAUTA; HINSBERGH; KOOLWIJK, 2014). This event may specifically induce some populations like the mesenchymal progenitor cells to respond to the hypoxic condition, which could initiate directly the repair process by differentiating into various repair effectors as well as indirectly by promoting resolution through their secretariat modulation of the inflammatory response (COLOMBO; JIA; D'SOUZA, 2020a; NAUTA; HINSBERGH; KOOLWIJK, 2014).

An *in vitro* study evaluated the use of Multidomain Peptides (MDPs) cultivated with human exfoliated deciduous tooth stem cells (SHEDs) with the addition of hydrogen peroxide

(H₂O₂) to induce the hypoxia environment and to verify an anti-inflammatory response (COLOMBO; JIA; D'SOUZA, 2020a). Their results showed that SHEDs formed in three-dimensional low-density MDP constructs were able to respond to simulated hypoxia and to secrete bioactive molecules in their surrounding matrix. The SHEDs formed within the encapsulated constructs showed the ability to modulate inflammation through factors deposited in their encapsulation matrix, even with those that were not exposed to simulated hypoxia conditions. The results demonstrated the ability to convert the phenotype of lipopolysaccharide-stimulated macrophages from a pro-inflammatory to a pro-resolution state, thereby reducing pro-inflammatory markers.

The development of different types of scaffolds is fundamental in tissue engineering procedures, as they provide a three-dimensional environment in which cells can adhere, proliferate, migrate and differentiate (NAKASHIMA; AKAMINE, 2005). The findings gathered from this scope review reveals that the currently used biomaterials, such as fibrin hydrogels and the natural-, synthetic- and hybrid-based scaffolds, incorporated with macromolecules or not, can be used as alternative strategies for endodontic regeneration, promoting the DP complex regeneration. Nevertheless, it is still important to better elucidate the mechanisms by which the hDPSCs regulate hydrogel/scaffold degradation, as well as the events necessary for the replacement of biomaterials with a well-differentiated DP complex, providing structural and functional properties similar to the tissue of origin. Further studies are warranted to investigate the efficiency of such antimicrobial and anti-inflammatory scaffolds, especially against endodontic bacteria housed in the dentinal tubules shelter.

Concerning the quality analysis of the included studies, three items presented a high risk of bias: blinding of outcome assessment, incomplete outcome data, and absence of using reference standards. This high risk of bias results is probably due to the high heterogeneity of the included studies and because they have all an in vitro experimental design. In this review the use of reference standards was considered as an important risk of bias item, which means whether the articles refer to technical standards or other works; of note, this item may be

related to the methodological quality of the included studies. Therefore, this result in question may lead to the non-replicability of studies, showing that it is important to verify their methodological quality. Another important factor was the scarcity of studies that present or verify anti-inflammatory scaffolds, which need to be further investigated in the future.

5. Conclusion

The use of drugs or bioactive molecules with antimicrobial properties during scaffolding reduces bacterial growth according to the dosage. However, to preserve the cellular viability of human dental pulp stem cells, minimal doses of these drugs are necessary, which in some studies ended up in keeping adequate the antibacterial effect. Natural structures based on fibrin and collagen as well as hybrid scaffolds without drug loading can work as antimicrobial structures, preventing the growth of endodontic bacteria; moreover, these biomaterials can induce even an anti-inflammatory response, reducing pulp inflammation. Lastly, the verified scaffolds are not toxic to pulpal cells, contributing to a favorable environment for tissue regeneration of the dentin pulp complex.

References

- A. SABERI, Eshagh *et al.* Cytotoxic effects of mineral trioxide aggregate, calcium enriched mixture cement, Biodentine and octacalcium phosphate on human gingival fibroblasts. **Journal of Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects**, [S. l.], v. 10, n. 2, p. 75–80, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.15171/joddd.2016.012>
- AFAMI, Marina E. *et al.* Multicomponent Peptide Hydrogels as an Innovative Platform for Cell-Based Tissue Engineering in the Dental Pulp. [S. l.], 2021 a.
- AFAMI, Marina E. *et al.* Ultrashort peptide hydrogels display antimicrobial activity and enhance angiogenic growth factor release by dental pulp stem/stromal cells. **Materials**, [S. l.], v. 14, n. 9, 2021 b. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ma14092237>
- AKSEL, H. *et al.* Antimicrobial Activity and Biocompatibility of Antibiotic-loaded Chitosan Hydrogels as a Potential Scaffold in Regenerative Endodontic Treatment. **Journal of endodontics**, [S. l.], 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2020.09.007>
- ALBUQUERQUE, M. T. P. *et al.* Tissue-engineering-based Strategies for Regenerative Endodontics. **Journal of Dental Reserach**, [S. l.], v. 1, n. 10, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/0022034514549809>
- ALIPOUR, Mahdiah *et al.* The Antimicrobial, Antioxidative, and Anti-Inflammatory Effects of Polycaprolactone/Gelatin Scaffolds Containing Chrysin for Regenerative Endodontic Purposes. **Stem Cells International**, [S. l.], v. 2021, 2021 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2021/3828777>
- ALIPOUR, Mahdiah *et al.* Synthesis, characterization, and evaluation of curcumin-loaded endodontic reparative material. **Journal of Biochemical and Molecular Toxicology**, Z. Aghazadeh, Stem Cell Research Center and Department of Oral Medicine, Faculty of Dentistry, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran, v. 35, n. 9, 2021 b. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jbt.22854>
- ANA, Ika Dewi *et al.* Bioceramics for Clinical Application in Regenerative Dentistry. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, [S. l.], v. 1077, p. 309–316, 2018.

Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-981-13-0947-2_16

ANTUNES, H. S. *et al.* Sealing ability of two root-end filling materials in a bacterial nutrient leakage model. **International endodontic journal**, [S. l.], v. 49, n. 10, p. 960–965, 2016.

Disponível em: <https://doi.org/10.1111/iej.12543>

ASGARY, Saeed; EGHBAL, Mohammad Jafar; EHSANI, Sara. Periradicular Regeneration after Endodontic Surgery with Calcium-enriched Mixture Cement in Dogs. **Journal of**

Endodontics, [S. l.], v. 36, n. 5, p. 837–841, 2010. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.joen.2010.03.005>

AYALA-HAM, Alfredo *et al.* Hydrogel-Based Scaffolds in Oral Tissue Engineering. **Frontiers in Materials**, [S. l.], v. 8, n. July, p. 1–26, 2021. Disponível em:

<https://doi.org/10.3389/fmats.2021.708945>

BAKOTA, Erica L. *et al.* Self-Assembling Multidomain Peptide Fibers with Aromatic Cores.

Biomacromolecules, [S. l.], 2013.

BANCHS, Francisco; TROPE, Martin. Revascularization of immature permanent teeth with apical periodontitis: New treatment protocol? **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 30, n. 4, p.

196–200, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/00004770-200404000-00003>

BECERRA, Patricia *et al.* Histologic study of a human immature permanent premolar with chronic apical abscess after revascularization/revitalization. **Journal of Endodontics**, [S. l.],

v. 40, n. 1, p. 133–139, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2013.07.017>

BEKHOUCHE, M. *et al.* Development of an antibacterial nanocomposite hydrogel for human dental pulp engineering. **Journal of materials chemistry. B**, England, 2020. Disponível em:

<https://doi.org/10.1039/d0tb00989j>

BOTTINO, M. C. *et al.* Bioactive nanofibrous scaffolds for regenerative endodontics. **Journal of dental research**, [S. l.], v. 92, n. 11, p. 963–969, 2013. Disponível em:

<https://doi.org/10.1177/0022034513505770>

CAMILLERI, Josette. Mineral trioxide aggregate: present and future developments.

Endodontic Topics, [S. l.], v. 32, n. 1, p. 31–46, 2015. Disponível em:

<https://doi.org/10.1111/etp.12073>

CAO, Huan *et al.* Current hydrogel advances in physicochemical and biological response-driven biomedical application diversity. [*S. I.*], n. November, p. 1–31, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00830-x>

CASTELLAN, Carina S. *et al.* Long-term stability of dentin matrix following treatment with various natural collagen cross-linkers. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, [*S. I.*], v. 4, n. 7, p. 1343–1350, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2011.05.003>

CHÁVEZ DE PAZ VILLANUEVA, Luis Eduardo. Fusobacterium nucleatum in endodontic flare-ups. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics**, [*S. I.*], v. 93, n. 2, p. 179–183, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1067/moe.2002.120803>

CHEN, Ian *et al.* Healing after root-end microsurgery by using mineral trioxide aggregate and a new calcium silicate-based bioceramic material as root-end filling materials in dogs. **Journal of Endodontics**, [*S. I.*], v. 41, n. 3, p. 389–399, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2014.11.005>

CHEVALIER, J.; GREMILLARD, L. Ceramics for medical applications: A picture for the next 20 years. **Journal of the European Ceramic Society**, [*S. I.*], v. 29, n. 7, p. 1245–1255, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jeurceramsoc.2008.08.025>

COLOMBO, John S. *et al.* Dental Pulp Regeneration. **Journal of Endodontics**, [*S. I.*], v. 40, n. 4, p. S6–S12, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2014.01.019>

COLOMBO, John S.; JIA, Shihai; D'SOUZA, Rena N. Modeling Hypoxia Induced Factors to Treat Pulpal Inflammation and Drive Regeneration. **Journal of Endodontics**, [*S. I.*], v. 46, n. 9, p. S19–S25, 2020 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2020.06.039>

COLOMBO, John S.; JIA, Shihai; D'SOUZA, Rena N. Modeling Hypoxia Induced Factors to Treat Pulpal Inflammation and Drive Regeneration. **Journal of Endodontics**, [*S. I.*], v. 46, n. 9, p. S19–S25, 2020 b. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2020.06.039>

CUEVAS-SUÁREZ, Carlos Enrique *et al.* Bonding Strength of Universal Adhesives to Indirect Substrates: A Meta-Analysis of in Vitro Studies. **Journal of Prosthodontics**, [*S. I.*],

v. 29, n. 4, p. 298–308, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jopr.13147>

DA ROSA, Wellington L. O. *et al.* Current trends and future perspectives of dental pulp capping materials: A systematic review. **Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials**, [S. l.], v. 106, n. 3, p. 1358–1368, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jbm.b.33934>

DARBY, Ian A.; HEWITSON, Tim D. Hypoxia in tissue repair and fibrosis. **Cell and Tissue Research**, [S. l.], 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00441-016-2461-3>

DE-DEUS, G. *et al.* Cytocompatibility of the ready-to-use bioceramic putty repair cement iRoot BP Plus with primary human osteoblasts. **International Endodontic Journal**, [S. l.], v. 45, n. 6, p. 508–513, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2011.02003.x>

DIANAT, Omid *et al.* Endodontic repair in immature dogs' teeth with apical periodontitis: blood clot vs plasma rich in growth factors scaffold. **Dental Traumatology**, [S. l.], v. 33, n. 2, p. 84–90, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/edt.12306>

DUCRET, Maxime *et al.* Current challenges in human tooth revitalization. [S. l.], v. 28, p. 159–168, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3233/BME-171637>

DUCRET, Maxime *et al.* Design and characterization of a chitosan-enriched fibrin hydrogel for human dental pulp regeneration. **Dental Materials**, England, v. 35, n. 4, p. 523–533, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.dental.2019.01.018>

DUCRET, Maxime; FABRE, Hugo; FARGES, Jean-christophe. Production of Human Dental Pulp Cells with a Medicinal. [S. l.], p. 1–8, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2015.05.017>

DUTTA, Arindam; SAUNDERS, William P. Calcium silicate materials in endodontics. **Dental Update**, [S. l.], v. 41, n. 8, p. 708–722, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.12968/denu.2014.41.8.708>

EDREES, Hadeel Y. *et al.* Induction of Osteogenic Differentiation of. **Materials**, [S. l.], v. 12, p. 2311, 2019.

ERAMO, S. *et al.* Dental pulp regeneration via cell homing. **International Endodontic Journal**, [S. l.], v. 51, p. 405–419, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/iej.12868>

- ESCOBAR-GARCÍA, Diana María *et al.* Cytotoxicity and Initial Biocompatibility of Endodontic Biomaterials (MTA and Biodentine™) Used as Root-End Filling Materials. **BioMed Research International**, [S. l.], v. 2016, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2016/7926961>
- EZELDEEN, Mostafa *et al.* Chlorite oxidized oxyamylose differentially influences the microstructure of fibrin and self assembling peptide hydrogels as well as dental pulp stem cell behavior. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 11, n. 1, p. 1–12, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84405-4>
- FARGES, Jean-christophe *et al.* Human odontoblast-like cells produce nitric oxide with antibacterial activity upon TLR2 activation. **Frontiers in Physiology**, [S. l.], v. 6, n. June, p. 1–9, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fphys.2015.00185>
- FERRONI, Letizia *et al.* A Hyaluronan-Based Scaffold for the in Vitro Construction of Dental Pulp-Like Tissue. **International Journal of Molecular Sciences**, [S. l.], v. 16, p. 4666–4681, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms16034666>
- FISCHER, E. J.; ARENS, D. E.; MILLER, C. H. Bacterial leakage of mineral trioxide aggregate as compared with zinc-free amalgam, intermediate restorative material, and Super-EBA as a root-end filling material. **Journal of endodontics**, [S. l.], v. 24, n. 3, p. 176–179, 1998. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0099-2399\(98\)80178-7](https://doi.org/10.1016/S0099-2399(98)80178-7)
- FOUAD, Ashraf F. Contemporary Microbial and Antimicrobial Considerations in Regenerative Endodontic Therapy. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 46, n. 9, p. S105–S114, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2020.06.030>
- FUKUSHIMA, K. A. *et al.* Screening of hydrogel-based scaffolds for dental pulp regeneration—A systematic review. **Archives of Oral Biology**, [S. l.], v. 98, p. 182–194, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2018.11.023>
- GALLER, K. M. *et al.* A Customized Self-Assembling Peptide Hydrogel for dental pulp tissue engineering. **TISSUE ENGINEERING PART A**, [S. l.], v. 18, p. 176–184, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2011.0222>
- GOKER, Funda *et al.* Gene Delivery Therapeutics in the Treatment of Periodontitis and Peri-

- Implantitis: A State of the Art Review. **International Journal of Molecular Sciences**, [S. l.], v. 20, n. 14, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms20143551>
- JIANG, X.; LIU, H.; PENG, C. Clinical and Radiographic Assessment of the Efficacy of a Collagen Membrane in Regenerative Clinical Trial. **Regenerative endodontics**, [S. l.], p. 1–7, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2017.04.011>
- KAMOCKI, K.; NÖR, J. E.; BOTTINO, M. C. Dental pulp stem cell responses to novel antibiotic-containing scaffolds for regenerative endodontics. **International Endodontic Journal**, [S. l.], v. 48, n. 12, p. 1147–1156, 2015 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/iej.12414>
- KAMOCKI, Krzysztof; NÖR, Jacques E.; BOTTINO, Marco C. Effects of ciprofloxacin-containing antimicrobial scaffolds on dental pulp stem cell viability-In vitro studies. **Archives of oral biology**, [S. l.], v. 60, n. 8, p. 1131–1137, 2015 b. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2015.05.002>
- KLIMCZAK, Aleksandra; KOZLOWSKA, Urszula. Mesenchymal Stromal Cells and Tissue-Specific Progenitor Cells : Their Role in Tissue Homeostasis. **Stem cells international**, [S. l.], v. 2016, 2016.
- KOGAN, Paul *et al.* The Effects of Various Additives on Setting Properties of MTA. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 32, n. 6, p. 569–572, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2005.08.006>
- KOHOUT, George D. *et al.* Comparison of quick-set and mineral trioxide aggregate root-end fillings for the regeneration of apical tissues in dogs. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 41, n. 2, p. 248–252, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2014.10.005>
- KÜÇÜKKAYA, Selen *et al.* In Vitro Cytotoxicity of Calcium Silicate-Based Endodontic Cement as Root-End Filling Materials. **Scientifica**, [S. l.], v. 2016, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2016/9203932>
- KWON, Y.; LIM, E.; MIN, K. Effects of Epigallocatechin-gallate, an Antimicrobial Crosslinking Agent, on Proliferation and Differentiation of Human Dental Pulp Cells Cultured in Collagen Scaffold. **TISSUE ENGINEERING PART A**, [S. l.], v. 21, n. 1, p. S193, 2015.

KWON, Young-Sun *et al.* Effects of Epigallocatechin Gallate, an Antibacterial Cross-linking Agent, on Proliferation and Differentiation of Human Dental Pulp Cells Cultured in Collagen Scaffolds. **Journal of endodontics**, United States, v. 43, n. 2, p. 289–296, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2016.10.017>

LAKMAL, Waruna; BDS, Dissanayaka; DDS, Chengfei Zhang. Scaffold-based and Scaffold-free Strategies in Dental Pulp Regeneration. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 46, n. 9, p. S81–S89, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2020.06.022>

LEAL, Fernanda *et al.* Similar sealability between bioceramic putty ready-to-use repair cement and white MTA. **Brazilian Dental Journal**, [S. l.], v. 24, n. 4, p. 362–366, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0103-6440201302051>

LEE, ESTHER J.; KASPER, F. KURTIS; MIKOS, A. G. Biomaterials for Tissue Engineering. **Annals of Biomedical Engineering**, [S. l.], v. 42, n. 2, p. 323–337, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10439-013-0859-6>

LEITE, Fábio R. M. *et al.* Prevalence of Treponema Species Detected in Endodontic Infections: Systematic Review and Meta-regression Analysis. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 41, n. 5, p. 579–587, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2015.01.020>

LI, Sandra *et al.* Virus entry inhibition by chlorite-oxidized oxyamylose versus induction of antiviral interferon by poly (I : C). **Biochemical pharmacology**, [S. l.], v. 76, p. 831–840, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2008.07.022>

LI, Yuting *et al.* Fibrin Gel as an Injectable Biodegradable Scaffold and Cell Carrier for Tissue Engineering. **The Scientific World Journal**, [S. l.], v. 2015, p. 1–10, 2015.

LIU, He *et al.* Bioactive Materials Biomaterial scaffolds for clinical procedures in endodontic regeneration. **Bioactive Materials**, [S. l.], v. 12, n. July 2021, p. 257–277, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2021.10.008>

MA, Lie *et al.* Enhanced biological stability of collagen porous scaffolds by using amino acids as novel cross-linking bridges. **Biomaterials**, [S. l.], v. 25, p. 2997–3004, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2003.09.092>

MCINTYRE, Patrick W. *et al.* The antimicrobial properties, cytotoxicity, and differentiation

- potential of double antibiotic intracanal medicaments loaded into hydrogel system. **Clinical oral investigations**, Germany, v. 23, n. 3, p. 1051–1059, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00784-018-2542-7>
- MEDINA-FERNANDEZ, Ignacio; CELIZ, Adam D. Acellular biomaterial strategies for endodontic regeneration. **Biomaterials Science**, [S. l.], v. 7, n. 2, p. 506–509, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/c8bm01296b>
- MESCHI, Nastaran; PATEL, Biraj; RUPAREL, Nikita B. Material Pulp Cells and Tissue Interactions. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 46, n. 9, p. S150–S160, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2020.06.031>
- MIRAN, Shayee; MITSIADIS, Thimios A.; PAGELLA, Pierfrancesco. Innovative Dental Stem Cell-Based Research Approaches: The Future of Dentistry. **Stem Cells International**, [S. l.], v. 2016, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2016/7231038>
- MÖLLER, Åke J. R. *et al.* Apical periodontitis development and bacterial response to endodontic treatment. Experimental root canal infections in monkeys with selected bacterial strains. **European Journal of Oral Sciences**, [S. l.], v. 112, n. 3, p. 207–215, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0722.2004.00135.x>
- MORADI, Saeed; LOMEE, Mahdi; GHARECHAH, Maryam. Comparison of fluid filtration and bacterial leakage techniques for evaluation of microleakage in endodontics. **Dental Research Journal**, [S. l.], v. 12, n. 2, p. 109–114, 2015.
- MOROTOMI, Takahiko; WASHIO, Ayako; KITAMURA, Chiaki. Current and future options for dental pulp therapy. **Japanese Dental Science Review**, [S. l.], v. 55, n. 1, p. 5–11, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jdsr.2018.09.001>
- MOUSSA, Dina G.; APARICIO, Conrado. Present and future of tissue engineering scaffolds for dentin - pulp complex regeneration. [S. l.], n. July 2018, p. 58–75, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/term.2769>
- NAIR, Uma *et al.* A comparative evaluation of the sealing ability of 2 root-end filling materials: An in vitro leakage study using *Enterococcus faecalis*. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology**, [S. l.], v. 112, n. 2, p. e74–e77, 2011.

Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2011.01.030>

NAKASHIMA, Misako; AKAMINE, Akifumi. The Application of Tissue Engineering to Regeneration of Pulp and Dentin in Endodontics. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 31, n. 10, p. 711–718, 2005.

NAUTA, Tessa D.; HINSBERGH, Victor W. M. Van; KOOLWIJK, Pieter. Hypoxic Signaling During Tissue Repair and Regenerative Medicine. **International Journal of Molecular Sciences**, [S. l.], p. 19791–19815, 2014. Disponível em:

<https://doi.org/10.3390/ijms151119791>

O'BRIEN, Fergal J. Biomaterials & scaffolds for tissue engineering. **Materials Today**, [S. l.], v. 14, n. 3, p. 88–95, 2011. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S1369-7021\(11\)70058-X](https://doi.org/10.1016/S1369-7021(11)70058-X)
 OSORIO, Rosa Maria. Cytotoxicity of endodontic materials. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 24, n. 2, p. 91–96, 1998. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0099-2399\(98\)80084-8](https://doi.org/10.1016/S0099-2399(98)80084-8)

OUZZANI, Mourad *et al.* Rayyan-a web and mobile app for systematic reviews. **Systematic Reviews**, [S. l.], v. 5, n. 1, p. 1–10, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13643-016-0384-4>

PAGE, Matthew J. *et al.* The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews. **The BMJ**, [S. l.], v. 372, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1136/bmj.n71>

PALASUK, Jadesada *et al.* Bimix antimicrobial scaffolds for regenerative endodontics. **Journal of endodontics**, [S. l.], v. 40, n. 11, p. 1879–1884, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2014.07.017>

PARIROKH, M.; TORABINEJAD, M.; DUMMER, P. M. H. Mineral trioxide aggregate and other bioactive endodontic cements: an updated overview – part I: vital pulp therapy. **International Endodontic Journal**, [S. l.], v. 51, n. 2, p. 177–205, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/iej.12841>

PETRINO, Joseph A. *et al.* Challenges in Regenerative Endodontics : A Case Series. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 36, n. 3, p. 536–541, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2009.10.006>

POLAT, Günseli Güven; YILDIRIM, Ceren. The use of platelet rich plasma in the treatment of immature tooth with periapical lesion : a case report. **Restorative dentistry & endodontics**, [S. l.], v. 7658, p. 230–234, 2014.

RADDALL, Gavin; MELLO, Isabel; LEUNG, Brendan M. Biomaterials and Scaffold Design Strategies for Regenerative Endodontic Therapy. [S. l.], v. 7, n. November, p. 1–13, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00317>

REDL, H. *et al.* In vitro properties of mixtures of fibrin seal and antibiotics. **Biomaterials**, [S. l.], v. 4, p. 29–32, 1983.

ROSA, V. *et al.* Dental Pulp Tissue Engineering in. **Journal of dental research**, [S. l.], v. 92, n. 11, p. 970–975, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/0022034513505772>

SAOUD, Tarek Mohamed A. *et al.* Regeneration and repair in endodontics-a special issue of the regenerative endodontics-a new era in clinical endodontics. **Dentistry Journal**, [S. l.], v. 4, n. 1, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/dj4010003>

SARASWATHI, Devabhaktuni Disha *et al.* A Comparative Evaluation of Sealing Ability of Three Recent Root-End Filling Materials: An In Vitro Study. **Journal of Advanced Oral Research**, [S. l.], v. 6, n. 2, p. 33–39, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/2229411220150206>

SHAMSY, Enass *et al.* Evaluation of the apical seal of mineral trioxide aggregate in the absence and presence of Smear Layer. **Journal of Contemporary Dental Practice**, [S. l.], v. 20, n. 3, p. 298–303, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10024-2513>

SINGH, Harpreet *et al.* JBR Journal of Interdisciplinary Biodentine : A Promising Dentin substitute. [S. l.], v. 2, n. 5, p. 1–5, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.4172/2376-032X>

SOUZA, N. J. A. *et al.* Cytotoxicity of materials used in perforation repair tested using the V79 fibroblast cell line and the granulocyte-macrophage progenitor cells. **International Endodontic Journal**, [S. l.], v. 39, n. 1, p. 40–47, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2005.01045.x>

STASHENKO, P.; TELES, R.; D'SOUZA, R. PERIAPICAL INFLAMMATORY RESPONSES. **Crit. Rev. Oral Biol. Med.**, [S. l.], v. 9, n. 4, p. 498–521, 1998.

SURYA RAGHAVENDRA, Srinidhi *et al.* Bioceramics in Endodontics – a Review. **Journal of Istanbul University Faculty of Dentistry**, [S. l.], v. 51, n. 0, p. 128–137, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.17096/jiufd.63659>

TABARI, Mitra *et al.* Biocompatibility of Mineral Trioxide Aggregate Mixed with Different Accelerators: an Animal Study. **Journal of dentistry (Shiraz, Iran)**, [S. l.], v. 21, n. 1, p. 48–55, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.30476/DENTJODS.2019.77826.0>

TAMURA, H. *et al.* Biomedical applications of chitin hydrogel membranes and scaffolds. [S. l.], v. 84, p. 820–824, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.06.001>

TORABINEJAD, Mahmoud *et al.* Physical and chemical properties of a new root-end filling material. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 21, n. 7, p. 349–353, 1995 a. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0099-2399\(06\)80967-2](https://doi.org/10.1016/S0099-2399(06)80967-2)

TORABINEJAD, Mahmoud; TURMAN, Michael. Revitalization of Tooth with Necrotic Pulp and Open Apex by Using Platelet-rich Plasma : A Case Report. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 37, n. 2, p. 265–268, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2010.11.004>

TORABINEJAD, Mahmoud *et al.* Bacterial leakage of mineral trioxide aggregate as a root-end filling material. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 21, n. 3, p. 109–112, 1995 b. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0099-2399\(06\)80433-4](https://doi.org/10.1016/S0099-2399(06)80433-4)

TRICCO, Andrea C. *et al.* PRISMA extension for scoping reviews (PRISMA-ScR): Checklist and explanation. **Annals of Internal Medicine**, [S. l.], v. 169, n. 7, p. 467–473, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.7326/M18-0850>

ULUSOY, A. T. *et al.* Evaluation of Blood Clot , Platelet-rich Plasma , Platelet-rich Fibrin , and Platelet Pellet as Scaffolds in Regenerative Endodontic Treatment : **Journal of Endodontics**, [S. l.], p. 1–7, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2019.02.002>

VERMA, P. *et al.* Effect of Residual Bacteria on the Outcome of Pulp Regeneration in Vivo. **Journal of Dental Research**, [S. l.], v. 96, n. 1, p. 100–106, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/0022034516671499>

VISHWANAT, Lakshmi *et al.* Effect of Bacterial Biofilm on the Osteogenic Differentiation of Stem Cells of Apical Papilla. **Journal of Endodontics**, [S. l.], p. 1–7, 2017. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.joen.2017.01.023>

WALSH, Ryan M. *et al.* Evaluation of Compressive Strength of Hydraulic Silicate-based Root-end Filling Materials. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 40, n. 7, p. 969–972, 2014.

Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2013.11.018>

WAN, Mei-chen *et al.* Bioactive Materials Biomaterials from the sea : Future building blocks for biomedical applications. **Bioactive Materials**, [S. l.], v. 6, n. 12, p. 4255–4285, 2021.

Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2021.04.028>

WIGLER, Ronald *et al.* Revascularization : A Treatment for Permanent Teeth with Necrotic Pulp and Incomplete Root Development. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 39, n. 3, p. 319–326, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2012.11.014>

WILLYARD, C. The secrets of healing without scars. **Nature**, [S. l.], v. 563, 2018.

XU, Yuan *et al.* Scaffold for Tendon Tissue Engineering. **Tissue Engineering PART C**, [S. l.], v. 19, n. 12, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1089/ten.tec.2012.0328>

YELICK, P. C. GelMA-Encapsulated hDPSCs and HUVECs for Dental Pulp Regeneration. [S. l.], 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/0022034516682005>

ZHANG, Jun *et al.* Effects of bioactive cements incorporating zinc-bioglass nanoparticles on odontogenic and angiogenic potential of human dental pulp cells. **Journal of Biomaterials Applications**, [S. l.], v. 29, n. 7, p. 954–964, 2015. Disponível em:

<https://doi.org/10.1177/0885328214550896>

ZHU, Qiang *et al.* Adhesion of human osteoblasts on root-end filling materials. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 26, n. 7, p. 404–406, 2000. Disponível em:

<https://doi.org/10.1097/00004770-200007000-00006>

Captions for the Figures

Figure 1 – Chemical composition, types, and forms of biomaterials used in scaffold composition.

Figure 2 – Search flowchart according to the PRISMA statement.

Figure 3 – Review authors' judgments about each risk of bias item for each included study. If the study reported the information requested, it was scored a "+"; if the information was not reported, the study was scored with a "-"; lastly, if the information was not clearly informed, the study was scored a "?".

Declaration of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Table 1. Antimicrobial/antibacterial and anti-inflammatory effects of evaluated scaffolds

Author/year	Country	Type of scaffold	Control (biomaterial)	Concentration off the drug	Microorganism	Test type of specimens	Effect	
							Antimicrobial	Anti-inflammatory
Afami et al., 2021	UK	Synthetic	Biogelx™-S/RGD	Yes	<i>E. faecalis</i> <i>S. aureus</i> <i>F. nucleatum</i>	Biofilm and agar diffusion assays/CFU	+	/
Alipour et al., 2021	Iran	Hybrid	Poli-ε-caprolactone/chrysin	—	<i>E. faecalis</i> <i>S. aureus</i> <i>A. baumannii</i> <i>P. aeruginosa</i>	Agar diffusion assay	+	+
Alipour et al., 2021	Iran	Hybrid	Poli-ε-caprolactone/curcumin	—	<i>E. faecalis</i> <i>S. aureus</i> <i>A. baumannii</i> <i>P. aeruginosa</i>	Agar diffusion assay	+	+
Aksel et al., 2020	USA	Natural	Fibrin/chitosan	Yes	<i>E. faecalis</i>	CFU/biofilm-infected dentin (BHI)	+	/
Bekhouche et al., 2020	France	Hybrid	Fibrin/PLA	Yes	<i>E. faecalis</i>	Agar diffusion assay/BHI agar plates	—	/
Bottino et al., 2013	USA	Synthetic	Polydioxanone	Yes	<i>P. gingivalis</i> <i>E. faecalis</i>	Biofilm and agar diffusion assays	—	/
Colombo et al., 2020	USA	Hybrid	Multi-domain peptides	—	—	Treated with H ₂ O ₂ to simulate hypoxia	/	+
Ducret et al., 2019	France	Natural	Fibrin/chitosan	—	<i>E. faecalis</i>	BHI agar plates/ CFU	+	/
EzEldeen M et al., 2021	Belgium	Hybrid	Fibrin	Yes	—	—	+	/
Kamocki et al., 2015	USA	Synthetic	Polydioxanone	Yes	<i>E. faecalis</i>	Agar diffusion assay/ BHI agar plates	+	/
Kwon et al., 2017	Korea	Hybrid	Collagen	Yes	<i>S. mutans</i> <i>F. nucleatum</i> <i>E. faecalis</i>	Disc diffusion / BHI	+	/
McIntyre et al., 2018	USA	Natural	Methylcellulose	Yes	<i>E. faecalis</i>	BHI/Biofilm infected dentin	+	/

Palasuk et al., 2014	USA	Synthetic	Polydioxanone	Yes	<i>P. intermedia</i>	Agar diffusion/ BHI agar plates	–	/
					<i>E. faecalis</i>			
					<i>P. gingivalis</i>			
					<i>F. nucleatum</i>			
Wu et al., 2021	China	Hybrid	Calcium Phosphate cement/chitosan /graphene oxide	Yes	<i>E.faecalis</i>	Agar diffusion assay/BHI agar plates/ Biofilm infected dentin/CFU	+	/

+ = scaffold showed antimicrobial or anti-inflammatory activity; – = scaffold had no antimicrobial or anti-inflammatory activity; / = not verified; PLA = poly-lactic acid; CFU= colony forming unit; BHI = brain heart infusion agar; H₂O₂: hydrogen peroxide.

Table 2. Cytotoxicity and cell viability/proliferation effects of the tested scaffolds allocated by type.

Author, Year	Country	Type of scaffold	Type of cells	Control	Biological analyses	Effect (%)
Afami et al., 2021	UK	Synthetic	DPSCs		Cell viability	40-60
Alipour et al. 2021	Iran	Hybrid	DPSCs	DPSCs	Cell viability	60-80
Alipour et al., 2021	Iran	Hybrid	hDPSC	hDPSC	Cell viability	40-60
Aksel et al., 2020	USA	Natural	hDPSC	DPSCs on monolayer	Cell viability	0-20
Bekhouche et al., 2020	France	Hybrid	hDPSC	Hydrogel fibrin	Cell viability	60-80
Bottino et al., 2013	USA	Synthetic	hDPSC	UHMWPE	Cell viability	80-100
Ducret et al., 2019	France	Natural	hDPSC	DP-MSCs/fibrina	Cell viability	60-80
EzEldeen M et al., 2021	Belgium	Hybrid	hDPSC		Cell viability	80-100
Kamocki et al., 2015	USA	Synthetic	hDPSC	Hydrogel fibrin, hydrogel SAP	Cell viability	60-80
Kwon et al., 2017	Korea	Hybrid	hDPSC	UHMWPE	Cell viability	60-80
McIntyre et al., 2018	USA	Natural	hDPSC	hDPSCs;GA	Cell viability	60-80
Palasuk et al., 2014	USA	Synthetic	hDPSC	DAP-Free Hydrogel, Ca(OH) ₂ past.	Cell viability	60-80
Wu et al., 2021	China	Hybrid	hDPSC	Phenol solution	Cell viability	80-100

hDPSC = human dental pulp stem cells; DPSCs = dental pulp stem cells; UHMWPE = Extracts of sterile ultra high molecular; GA = glutaraldehyde;

Values for cell viability:

+ = up to 20%

++ = from 20 to 40%

+++ = from 40 to 60%

++++ = from 60 to 80%

+++++ = from 80 to 100%

APPENDICES

LIST OF FIGURES

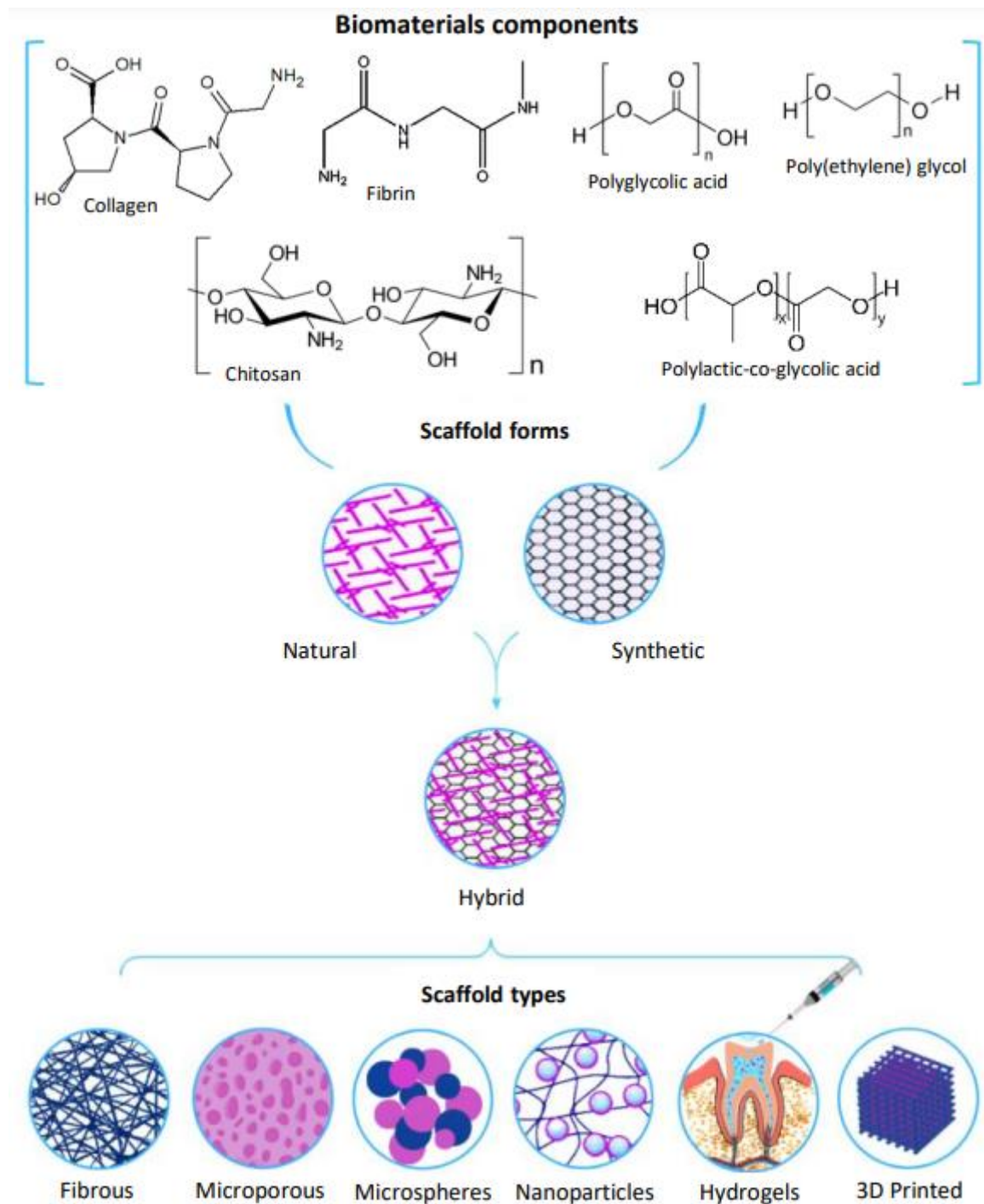
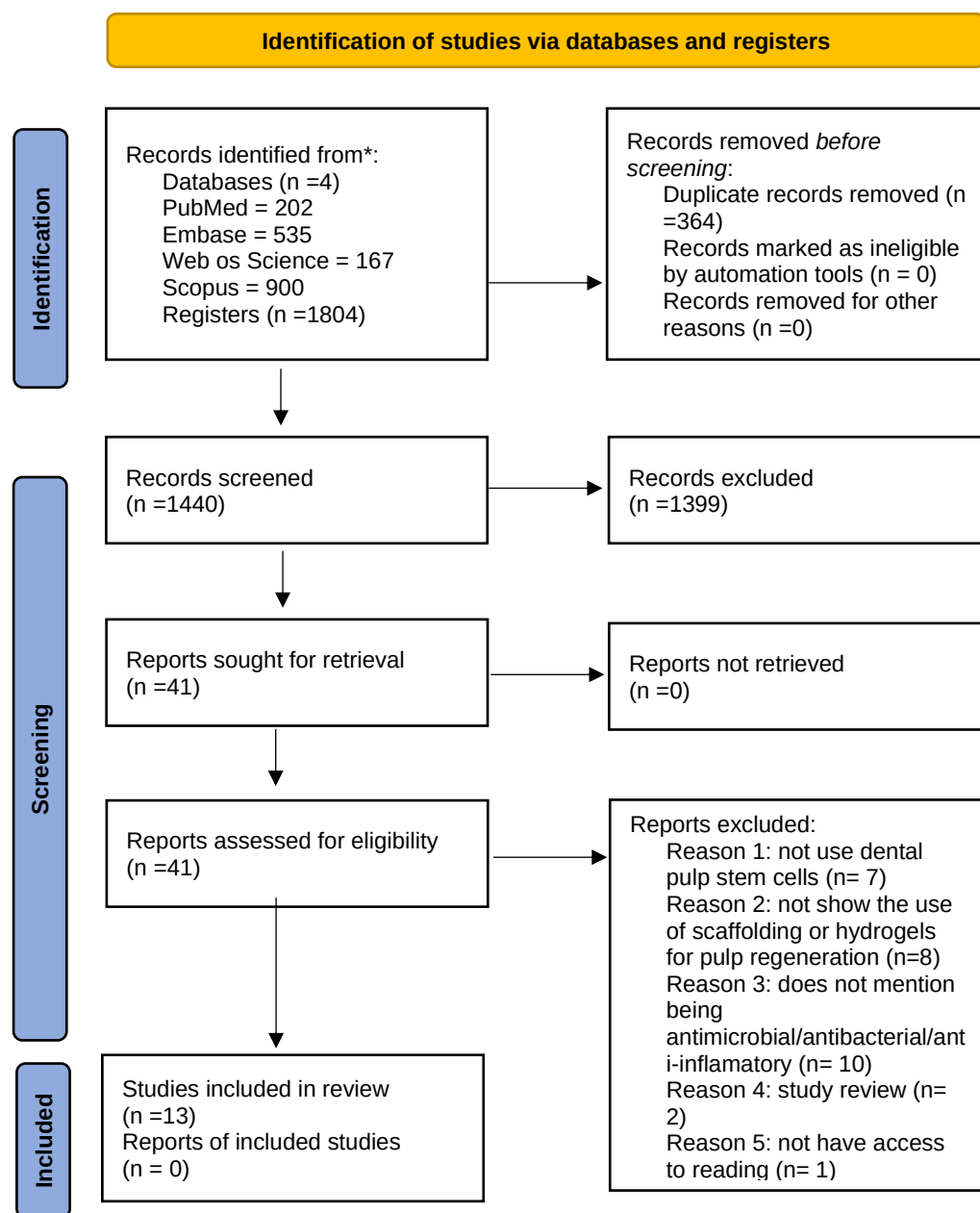


Figure 1 – Chemical composition, types, and forms of biomaterials used in scaffold composition.



*Consider, if feasible to do so, reporting the number of records identified from each database or register searched (rather than the total number across all databases/registers).

**If automation tools were used, indicate how many records were excluded by a human and how many were excluded by automation tools

Figure 2. Selection of studies for systematic review. PRISMA Flow Diagram 2020 [1].

	Blinding of outcome assessment	Incomplete outcome data	Use of reference standards	Information on the cell medium	Information on the cell passage	Other bias	OVERALL RISK OF BIAS
Afami et al., 2021	?	+	+	+	+	+	L
Aksel et al., 2020	?	-	?	+	+	?	H
Alipour(1) et al., 2021	?	+	+	+	+	+	L
Alipour(2) et al., 2021	?	+	+	+	+	+	L
Bekhouche et al., 2020	?	+	-	+	+	+	M
Bottino et al., 2013	?	+	+	+	+	+	L
Colombo et al., 2020	?	?	-	+	+	+	M
Ducret et al., 2019	?	?	-	-	+	?	H
EzEldeen et al., 2021	?	?	-	+	+	+	M
Kamocki et al., 2015	?	?	+	+	+	+	M
Kwon et al., 2017	?	?	-	+	+	+	M
McIntyre et al., 2018	?	?	-	+	-	+	H
Palasuk et al., 2014	?	?	+	+	+	+	M

Figure 3. Risk of bias graph: review authors judgements about each risk of bias item presented as percentages across all included studies.

Lista of tables

Tabela suplementar 1. Tabela suplementar de vocabulário controlado e palavras-chave da busca em cada base de dados

Database	Search terms
	# 5 Search #1 AND #2 AND #3 AND #4
	#4 Search “endodontic, regenerative” OR “endodontics, regenerative” OR “regenerative endodontic” OR “pulp dentin regeneration” OR “pulp vitality” OR “pulpa dental vitality” OR “tooth pulp vitality” OR “dental pulp regeneration” OR “endodontic regeneration” OR “dental tissue regeneration” OR “root canal regenerative” OR “endodontic revascularization” OR “regenerative endodontic treatment” OR “revascularization, endodontic” OR “revitalization, endodontic” OR “endodontic revitalization” OR “pulp capping, dental” OR “pulp capping” OR “capping, pulp” OR “cappings, pulp” OR “pulp cappings” OR “capping, dental pulp” OR “cappings, dental pulp” OR “dental pulp cappings” OR “pulp cappings, dental” OR “pulpitis” OR “inflammation, endodontic” OR “endodontic inflammation” OR “endodontic inflammations” OR “inflammations, endodontic” OR “dental pulp” OR “pulp-dentine complex” OR “acute dental pulpitis” OR “dental pulp inflammation” OR “endodontal infections” OR “endodontal inflammation” OR “endodontic infection” OR “pulp infection” OR “pulpal infection” OR “pulpal inflammation” OR “tooth pulp infection” OR “tooth pulp inflammation” OR “tooth pulpitis” OR “pulp, tooth” OR “dental pulpa” OR “tooth pulp” OR “tooth, pulp” OR “pulpal tissue” OR “tooth pulp” OR “pulp necrosis” OR “root canal infection”
PubMed	#3 Search “scaffold” OR “scaffolds” OR “scaffold, tissue” OR “scaffolds, tissue” OR “tissue scaffold” OR “tissue scaffolding” OR “scaffolding, tissue” OR “scaffoldings, tissue” OR “tissue scaffoldings” OR “natural scaffold” OR “natural scaffolds” OR “polymeric scaffolds” OR “bioceramic scaffolds” OR “nanoadhesive scaffolds” OR “adhesive scaffold” OR “scaffold biomimetic” OR “nanocomposite scaffold” OR “nanocellulose-based scaffolds” OR “nc-based scaffolds” OR “scaffolding approach” OR “based-scaffold” OR “based scaffold” OR “based scaffolds” OR “tissue scaffolds” OR “scaffold blood clot” OR “polysaccharides” OR “polysaccharide” OR “xanthan” OR “alginate” OR “dextran” OR “chitosan” OR “celulose” OR “extracellular matrix” OR “hyaluronic acid” OR “hyaluronan” OR “hyaluronate” OR “proteoglycans” OR “peptides” OR “proteins” OR “silk protein” OR “rhcollagen” OR “collagen” OR “gelatina” OR “fibrina” OR “polymer” OR “polymers natural” OR “biopolymers” OR “biopolymer” OR “polymers synthetic” OR “polylactic acid” OR “pla” OR “pla-peo-pla” OR “pla-peg-pla” OR “polyglycolic acid” OR “pga” OR “polylactide-co-glycolide” OR “plga “ OR “poly-3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate” OR “poly-dto carbonate” OR “poly-1,8-octanediol-co-citrate” OR “peo-phb-peo” OR “gamma-pga” OR “gamma-polyglutamate” OR OR “polymethacrylic acids” OR “methacrylate” OR “calcium phosphates” OR ‘tricalcium phosphate” OR “biphasic calcium phosphate” OR ”poly-aspartamide” OR “poly-ethylene-glycol-glycolic-acid” OR “polymer-cyclodextrin” OR “poly-glycerol-dodecanoate” OR “polystyrenes” OR “polyurethanes” OR “interpenetrating polymer” OR “mineral trioxide aggregate” OR “mta” OR “mta,pcl” OR “mta cement” OR “theracal” OR “mta aggregate” OR “aggregate proroot” OR “proroot aggregate” OR “tricalcium silicate” OR “slow-release artificial tears” OR “fibrin sealant system” OR “sealant system, fibrina” OR “autologous fibrin tissue” OR “fibrin sealant” OR “sealant fibrina” OR “fibrin seal” OR “seal, fibrina” OR “polymeric electrospun nanofibers” OR “electrospun” OR “nanofibers” OR “biomineralization” OR “cell therapy” OR “therapy, cell” OR “biofilms” OR “active biomolecules” OR “cellulose pharmacology” OR “nanostructures chemistry” OR “nanofibrillated celulose” OR “nanocrystalline celulose” OR “biomimetic materials” OR “hydroxyapatite composite” OR “hydroxyapatite” OR “dental regeneration membranes” OR “dental tissue regeneration membrane” OR “hydrogel dental regeneration membrane” OR “puramatrix” OR “chitosan-enriched” OR “collagen synthesis” OR “tissue engineering” OR “fibrin hydrogel”
	#2 Search “anti-infection” OR “anti-infective” OR “anti-infective agentes” OR “agents, anti-infective” OR “anti infective agentes” OR “antiinfective agentes” OR “agents, antiinfective” OR “antiinfective agente” OR “antiinfective agente” OR “microbicides” OR “antimicrobial” OR “antimicrobial ability” OR “antimicrobial cationic peptides” OR “antimicrobial agentes” OR “agents, antimicrobial” OR “anti-microbial agentes” OR “agents, anti-microbial” OR “anti microbial agentes” OR “antimicrobial agente” OR “antimicrobial agente” OR “antimicrobial compound” OR “anti-bacterial agentes” OR “agents, anti-bacterial” OR “anti bacterial agentes”

	OR “anti bacterial agentes” OR 'anti bacterial agente' OR 'antibacterial agents' OR 'antibacterial agente’ OR “antibacterial agente” OR “antibacterial activity” OR “antibiotic” OR “microbicidal agente” OR 'microbicidal agent' OR “microbicidal substance” OR “microbicide” OR “microbiological agent” OR “antibacterial effect” #1 Search “stem cell, mesenchymal” OR “stem cell, mesenchymal” OR “stem cells, mesenchymal” OR “mesenchymal stem cell” OR “mesenchymal stem cell” OR “mesenchymal stromal cells” OR “mesenchymal stromal cell” OR “stromal cell, mesenchymal” OR “stromal cells, mesenchymal” OR “multipotent mesenchymal stromal cells” OR “mesenchymal stromal cells, multipotente” OR “mesenchymal progenitor cells” OR “progenitor cell, mesenchymal” OR “shed” OR “sheds” OR “dpscs” OR “mscs” OR “dental pulp stem cells” OR “dental pulp stem cell” OR “dpSC” OR “stem cells from human exfoliated deciduous teeth” OR “stem cells from human exfoliated deciduous teeth” OR “dental pulp mesenchymal”
Embase	#5 Search #1 AND #2 AND #3 AND #4 #4 Search 'endodontic, regenerative' OR 'endodontics, regenerative' OR 'regenerative endodontic' OR 'pulp dentin regeneration' OR 'pulp vitality/exp OR 'pulp vitality' OR 'pulpa dental vitality' OR 'tooth pulp vitality/exp OR 'tooth pulp vitality' OR 'dental pulp regeneration' OR 'endodontic regeneration' OR 'dental tissue regeneration' OR 'root canal regenerative' OR 'endodontic revascularization' OR 'regenerative endodontic treatment' OR 'revascularization, endodontic' OR 'revitalization, endodontic' OR 'endodontic revitalization' OR 'pulp capping, dental' OR 'pulp capping/exp OR 'pulp capping' OR 'capping, pulp' OR 'cappings, pulp' OR 'pulp cappings' OR 'capping, dental pulp' OR 'cappings, dental pulp' OR 'dental pulp cappings' OR 'pulp cappings, dental' OR 'pulpitis/exp OR pulpitis OR 'inflammation, endodontic' OR 'endodontic inflammation/exp OR 'endodontic inflammation' OR 'endodontic inflammations' OR 'inflammations, endodontic' OR 'dental pulp/exp OR 'dental pulp' OR 'pulp-dentine complex' OR 'acute dental pulpitis/exp OR 'acute dental pulpitis' OR 'dental pulp inflammation/exp OR 'dental pulp inflammation' OR 'endodontal infections/exp OR 'endodontal infections' OR 'endodontal inflammation/exp OR 'endodontal inflammation' OR 'endodontic infection/exp OR 'endodontic infection' OR 'pulp infection/exp OR 'pulp infection' OR 'pulpal infection/exp OR 'pulpal infection' OR 'pulpal inflammation/exp OR 'pulpal inflammation' OR 'tooth pulp infection/exp OR 'tooth pulp infection' OR 'tooth pulp inflammation/exp OR 'tooth pulp inflammation' OR 'tooth pulpitis/exp OR 'tooth pulpitis' OR 'pulp, tooth/exp OR 'pulp, tooth' OR 'dental pulpa/exp OR 'dental pulpa' OR 'tooth pulpa/exp OR 'tooth pulp' OR 'tooth, pulp/exp OR 'tooth, pulp' OR 'pulpal tissue/exp OR 'pulpal tissue' OR 'tooth pulp/exp OR 'tooth pulp' OR 'pulp necrosis' OR 'root canal infection/exp OR 'root canal infection' #3 Search 'scaffold/exp OR scaffold OR scaffolds OR 'scaffold, tissue/exp OR 'scaffold, tissue' OR 'scaffolds, tissue' OR 'tissue scaffold/exp OR 'tissue scaffold' OR 'tissue scaffolding/exp OR 'tissue scaffolding' OR 'scaffolding, tissue' OR 'scaffoldings, tissue' OR 'tissue scaffoldings' OR 'natural scaffold' OR 'natural scaffolds' OR 'polymeric scaffolds' OR 'bioceramic scaffolds' OR 'nanoadhesive scaffolds' OR 'adhesive scaffold' OR 'scaffold biomimetic' OR 'nanocomposite scaffold' OR 'nanocellulose-based scaffolds' OR 'nc-based scaffolds' OR 'scaffolding approach' OR 'based-scaffold' OR 'based scaffold' OR 'based-scaffolds' OR 'based scaffolds' OR 'tissue scaffolds/exp OR 'tissue scaffolds' OR 'scaffold blood clot' OR 'polysaccharides/exp OR polysaccharides OR 'polysaccharide/exp OR polysaccharide OR 'xanthan/exp OR xanthan OR 'alginate/exp OR alginate OR 'dextran/exp OR dextran OR 'chitosan/exp OR chitosan OR 'cellulose/exp OR cellulose OR 'extracellular matrix/exp OR 'extracellular matrix' OR 'hyaluronic acid/exp OR 'hyaluronic acid' OR 'hyaluronan/exp OR hyaluronan OR 'hyaluronate/exp OR hyaluronate OR 'proteoglycans/exp OR proteoglycans OR 'peptides/exp OR peptides OR 'proteins/exp OR proteins OR 'silk protein/exp OR 'silk protein' OR rhcollagen OR 'collagen/exp OR collagen OR 'gelatin/exp OR gelatin OR 'fibrin/exp OR fibrin OR 'polymer/exp OR polymer OR 'polymers natural' OR 'biopolymers/exp OR biopolymers OR 'biopolymer/exp OR biopolymer OR 'polymers synthetic' OR 'polylactic acid/exp OR 'polylactic acid' OR pla OR 'pla-peo-pla' OR 'pla-peg-pla' OR 'polyglycolic acid/exp OR 'polyglycolic acid' OR 'pga/exp OR pga OR 'polylactide-co-glycolide/exp OR 'polylactide-co-glycolide' OR 'plga/exp OR plga OR 'poly-3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate' OR 'poly-dto carbonate' OR 'poly-1,8-octanediol-co-citrate' OR 'peo-phb-peo' OR 'gamma-pga' OR 'gamma-polyglutamate' OR 'polymethacrylic acids/exp OR 'polymethacrylic acids' OR 'methacrylate/exp OR methacrylate OR 'calcium phosphates/exp OR 'calcium phosphates' OR 'tricalcium phosphate/exp OR 'tricalcium phosphate' OR 'biphasic calcium phosphate/exp OR 'biphasic calcium phosphate' OR 'poly-aspartamide' OR 'poly-ethylene-glycol-co-glycolic-acid' OR 'polymer-cyclodextrin' OR 'poly-

	glycerol-dodecanoate' OR 'polystyrenes'/exp OR polystyrenes OR 'polyurethanes'/exp OR polyurethanes OR 'interpenetrating polymer' OR 'mineral trioxide aggregate'/exp OR 'mineral trioxide aggregate' OR mta OR 'mta,pcl' OR 'mta cement' OR theracal OR 'mta aggregate' OR 'aggregate proroot' OR 'proroot aggregate' OR 'tricalcium silicate'/exp OR 'tricalcium silicate' OR 'slow-release artificial tears' OR 'fibrin sealant system' OR 'sealant system, fibrin' OR 'autologous fibrin tissue' OR 'fibrin sealant'/exp OR 'fibrin sealant' OR 'sealant fibrin' OR 'fibrin seal'/exp OR 'fibrin seal' OR 'seal, fibrin' OR 'polymeric electrospun nanofibers' OR electrospun OR 'nanofibers'/exp OR nanofibers OR 'biomineralization'/exp OR biomineralization OR 'cell therapy'/exp OR 'cell therapy' OR 'therapy, cell'/exp OR 'therapy, cell' dressings' OR 'biofilms'/exp OR biofilms OR 'active biomolecules' OR 'cellulose pharmacology' OR 'nanostructures chemistry' OR 'nanofibrillated cellulose'/exp OR 'nanofibrillated cellulose' OR 'nanocrystalline cellulose'/exp OR 'nanocrystalline cellulose' OR 'biomimetic materials'/exp OR 'biomimetic materials' OR 'hydroxyapatite composite' OR 'hydroxyapatite'/exp OR hydroxyapatite OR 'dental regeneration membranes'/exp OR 'dental regeneration membranes' OR 'dental tissue regeneration membrane'/exp OR 'dental tissue regeneration membrane' OR 'hydrogel dental regeneration membrane'/exp OR 'hydrogel dental regeneration membrane' OR 'puramatrix'/exp OR puramatrix OR 'chitosan-enriched' OR 'collagen synthesis'/exp OR 'collagen synthesis' OR 'tissue engineering'/exp OR 'tissue engineering' OR 'fibrin hydrogel'
	#2 Search 'anti-infection' OR 'anti-infective' OR 'anti-infective agents'/exp OR 'anti-infective agents' OR 'agents, anti-infective' OR 'anti infective agents'/exp OR 'anti infective agents' OR 'antiinfective agents' OR 'agents, antiinfective' OR 'antiinfective agent'/exp OR 'antiinfective agent' OR microbicides OR 'antimicrobial'/exp OR antimicrobial OR 'antimicrobial ability'/exp OR 'antimicrobial ability' OR 'antimicrobial cationic peptides'/exp OR 'antimicrobial cationic peptides' OR 'antimicrobial agents' OR 'agents, antimicrobial' OR 'anti-microbial agents' OR 'agents, anti-microbial' OR 'anti microbial agents' OR 'antimicrobial agent'/exp OR 'antimicrobial agent' OR 'antimicrobial compound'/exp OR 'antimicrobial compound' OR 'anti-bacterial agents'/exp OR 'anti-bacterial agents' OR 'agents, anti-bacterial' OR 'anti bacterial agents'/exp OR 'anti bacterial agents' OR 'anti bacterial agente' OR 'antibacterial agents' OR 'antibacterial agent'/exp OR 'antibacterial agent' OR 'antibacterial activity'/exp OR 'antibacterial activity' OR 'antibiotic'/exp OR antibiotic OR 'microbicidal agent'/exp OR 'microbicidal agent' OR 'microbicidal substance'/exp OR 'microbicidal substance' OR 'microbicide'/exp OR microbicide OR 'microbiological agent'/exp OR 'microbiological agent' OR 'antibacterial effect'/exp OR 'antibacterial effect'
	#1 Search 'stem cell, mesenchymal'/exp OR 'stem cell, mesenchymal' OR 'stem cells, mesenchymal' OR 'mesenchymal stem cell'/exp OR 'mesenchymal stem cell' OR 'mesenchymal stromal cells'/exp OR 'mesenchymal stromal cells' OR 'mesenchymal stromal cell'/exp OR 'mesenchymal stromal cell' OR 'stromal cell, mesenchymal' OR 'stromal cells, mesenchymal' OR 'multipotent mesenchymal stromal cells' OR 'mesenchymal stromal cells, multipotent' OR 'mesenchymal progenitor cells' OR 'progenitor cell, mesenchymal' OR shed OR sheds OR dpSCs OR MSCs OR 'dental pulp stem cells'/exp OR 'dental pulp stem cells' OR 'dental pulp stem cell'/exp OR 'dental pulp stem cell' OR dpSC OR 'stem cells from human exfoliated deciduous teeth'/exp OR 'stem cells from human exfoliated deciduous teeth' OR 'dental pulp mesenchymal'
Scopus	#5 Search #1 AND #2 AND #3 AND #4
	#4 Search 'endodontic, regenerative' OR 'endodontics, regenerative' OR 'regenerative endodontic' OR 'pulp dentin regeneration' OR 'pulp vitality'/exp OR 'pulp vitality' OR 'pulpa dental vitality' OR 'tooth pulp vitality'/exp OR 'tooth pulp vitality' OR 'dental pulp regeneration' OR 'endodontic regeneration' OR 'dental tissue regeneration' OR 'root canal regenerative' OR 'endodontic revascularization' OR 'regenerative endodontic treatment' OR 'revascularization, endodontic' OR 'revitalization, endodontic' OR 'endodontic revitalization' OR 'pulp capping, dental' OR 'pulp capping'/exp OR 'pulp capping' OR 'capping, pulp' OR 'cappings, pulp' OR 'pulp cappings' OR 'capping, dental pulp' OR 'cappings, dental pulp' OR 'dental pulp cappings' OR 'pulp cappings, dental' OR 'pulpitis'/exp OR pulpitis OR 'inflammation, endodontic' OR 'endodontic inflammation'/exp OR 'endodontic inflammation' OR 'endodontic inflammations' OR 'inflammations, endodontic' OR 'dental pulp'/exp OR 'dental pulp' OR 'pulp-dentine complex' OR 'acute dental pulpitis'/exp OR 'acute dental pulpitis' OR 'dental pulp inflammation'/exp OR 'dental pulp inflammation' OR 'endodontal infections'/exp OR 'endodontal infections' OR 'endodontal inflammation'/exp OR 'endodontal inflammation' OR 'endodontic infection'/exp OR 'endodontic infection' OR 'pulp infection'/exp OR 'pulp infection' OR 'pulpal infection'/exp OR 'pulpal

	infection' OR 'pulpal inflammation'/exp OR 'pulpal inflammation' OR 'tooth pulp infection'/exp OR 'tooth pulp infection' OR 'tooth pulp inflammation'/exp OR 'tooth pulp inflammation' OR 'tooth pulpitis'/exp OR 'tooth pulpitis' OR 'pulp, tooth'/exp OR 'pulp, tooth' OR 'dental pulpa'/exp OR 'dental pulpa' OR 'tooth pulpa'/exp OR 'tooth pulp' OR 'tooth, pulp'/exp OR 'tooth, pulp' OR 'pulpal tissue'/exp OR 'pulpal tissue' OR 'tooth pulp'/exp OR 'tooth pulp' OR 'pulp necrosis' OR 'root canal infection'/exp OR 'root canal infection'
	#3 Search 'scaffold'/exp OR scaffold OR scaffolds OR 'scaffold, tissue'/exp OR 'scaffold, tissue' OR 'scaffolds, tissue' OR 'tissue scaffold'/exp OR 'tissue scaffold' OR 'tissue scaffolding'/exp OR 'tissue scaffolding' OR 'scaffolding, tissue' OR 'scaffoldings, tissue' OR 'tissue scaffoldings' OR 'natural scaffold' OR 'natural scaffolds' OR 'polymeric scaffolds' OR 'bioceramic scaffolds' OR 'nanoadhesive scaffolds' OR 'adhesive scaffold' OR 'scaffold biomimetic' OR 'nanocomposite scaffold' OR 'nanocellulose-based scaffolds' OR 'nc-based scaffolds' OR 'scaffolding approach' OR 'based-scaffold' OR 'based scaffold' OR 'based-scaffolds' OR 'based scaffolds' OR 'tissue scaffolds'/exp OR 'tissue scaffolds' OR 'scaffold blood clot' OR 'polysaccharides'/exp OR polysaccharides OR 'polysaccharide'/exp OR polysaccharide OR 'xanthan'/exp OR xanthan OR 'alginate'/exp OR alginate OR 'dextran'/exp OR dextran OR 'chitosan'/exp OR chitosan OR 'cellulose'/exp OR cellulose OR 'extracellular matrix'/exp OR 'extracellular matrix' OR 'hyaluronic acid'/exp OR 'hyaluronic acid' OR 'hyaluronan'/exp OR hyaluronan OR 'hyaluronate'/exp OR hyaluronate OR 'proteoglycans'/exp OR proteoglycans OR 'peptides'/exp OR peptides OR 'proteins'/exp OR proteins OR 'silk protein'/exp OR 'silk protein' OR rhcollagen OR 'collagen'/exp OR collagen OR 'gelatin'/exp OR gelatin OR 'fibrin'/exp OR fibrin OR 'polymer'/exp OR polymer OR 'polymers natural' OR 'biopolymers'/exp OR biopolymers OR 'biopolymer'/exp OR biopolymer OR 'polymers synthetic' OR 'polylactic acid'/exp OR 'polylactic acid' OR pla OR 'plapeo-pla' OR 'pla-peg-pla' OR 'polyglycolic acid'/exp OR 'polyglycolic acid' OR 'pga'/exp OR pga OR 'polylactide-co-glycolide'/exp OR 'polylactide-co-glycolide' OR 'plga'/exp OR plga OR 'poly-3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate' OR 'poly-dto carbonate' OR 'poly-1,8-octanediol-citrate' OR 'peo-phb-peo' OR 'gamma-pga' OR 'gamma-polyglutamate' OR 'polymethacrylic acids'/exp OR 'polymethacrylic acids' OR 'methacrylate'/exp OR methacrylate OR 'calcium phosphates'/exp OR 'calcium phosphates' OR 'tricalcium phosphate'/exp OR 'tricalcium phosphate' OR 'biphasic calcium phosphate'/exp OR 'biphasic calcium phosphate' OR 'poly-aspartamide' OR 'poly-ethylene-glycol-co-glycolic-acid' OR 'polymer-cyclodextrin' OR 'poly-glycerol-dodecanoate' OR 'polystyrenes'/exp OR polystyrenes OR 'polyurethanes'/exp OR polyurethanes OR 'interpenetrating polymer' OR 'mineral trioxide aggregate'/exp OR 'mineral trioxide aggregate' OR mta OR 'mta,pcl' OR 'mta cement' OR theracal OR 'mta aggregate' OR 'aggregate proroot' OR 'proroot aggregate' OR 'tricalcium silicate'/exp OR 'tricalcium silicate' OR 'slow-release artificial tears' OR 'fibrin sealant system' OR 'sealant system, fibrin' OR 'autologous fibrin tissue' OR 'fibrin sealant'/exp OR 'fibrin sealant' OR 'sealant fibrin' OR 'fibrin seal'/exp OR 'fibrin seal' OR 'seal, fibrin' OR 'polymeric electrospun nanofibers' OR electrospun OR 'nanofibers'/exp OR nanofibers OR 'biomineralization'/exp OR biomineralization OR 'cell therapy'/exp OR 'cell therapy' OR 'therapy, cell'/exp OR 'therapy, cell' dressings' OR 'biofilms'/exp OR biofilms OR 'active biomolecules' OR 'cellulose pharmacology' OR 'nanostructures chemistry' OR 'nanofibrillated cellulose'/exp OR 'nanofibrillated cellulose' OR 'nanocrystalline cellulose'/exp OR 'nanocrystalline cellulose' OR 'biomimetic materials'/exp OR 'biomimetic materials' OR 'hydroxyapatite composite' OR 'hydroxyapatite'/exp OR hydroxyapatite OR 'dental regeneration membranes'/exp OR 'dental regeneration membranes' OR 'dental tissue regeneration membrane'/exp OR 'dental tissue regeneration membrane' OR 'hydrogel dental regeneration membrane'/exp OR 'hydrogel dental regeneration membrane' OR 'puramatrix'/exp OR puramatrix OR 'chitosan-enriched' OR 'collagen synthesis'/exp OR 'collagen synthesis' OR 'tissue engineering'/exp OR 'tissue engineering' OR 'fibrin hydrogel'
	#2 Search 'anti-infection' OR 'anti-infective' OR 'anti-infective agents'/exp OR 'anti-infective agents' OR 'agents, anti-infective' OR 'anti infective agents'/exp OR 'anti infective agents' OR 'antiinfective agents' OR 'agents, antiinfective' OR 'antiinfective agent'/exp OR 'antiinfective agent' OR microbicides OR 'antimicrobial'/exp OR antimicrobial OR 'antimicrobial ability'/exp OR 'antimicrobial ability' OR 'antimicrobial cationic peptides'/exp OR 'antimicrobial cationic peptides' OR 'antimicrobial agents' OR 'agents, antimicrobial' OR 'anti-microbial agents' OR 'agents, anti-microbial' OR 'anti microbial agents' OR 'antimicrobial agent'/exp OR 'antimicrobial agent' OR 'antimicrobial compound'/exp OR 'antimicrobial compound' OR 'anti-bacterial agents'/exp OR 'anti-bacterial agents' OR 'agents, anti-bacterial' OR 'anti bacterial agents'/exp OR 'anti bacterial agents' OR 'anti bacterial agente' OR 'antibacterial agents' OR

	'antibacterial agent'/exp OR 'antibacterial agent' OR 'antibacterial activity'/exp OR 'antibacterial activity' OR 'antibiotic'/exp OR antibiotic OR 'microbicidal agent'/exp OR 'microbicidal agent' OR 'microbicidal substance'/exp OR 'microbicidal substance' OR 'microbicide'/exp OR microbicide OR 'microbiological agent'/exp OR 'microbiological agent' OR 'antibacterial effect'/exp OR 'antibacterial effect' #1 Search stem cell, mesenchymal'/exp OR 'stem cell, mesenchymal' OR 'stem cells, mesenchymal' OR 'mesenchymal stem cell'/exp OR 'mesenchymal stem cell' OR 'mesenchymal stromal cells'/exp OR 'mesenchymal stromal cells' OR 'mesenchymal stromal cell'/exp OR 'mesenchymal stromal cell' OR 'stromal cell, mesenchymal' OR 'stromal cells, mesenchymal' OR 'multipotent mesenchymal stromal cells' OR 'mesenchymal stromal cells, multipotent' 'mesenchymal progenitor cells' OR 'progenitor cell, mesenchymal' OR shed OR sheds OR dpscs OR mscs OR 'dental pulp stem cells'/exp OR 'dental pulp stem cells' OR 'dental pulp stem cell'/exp OR 'dental pulp stem cell' OR dpssc OR 'stem cells from human exfoliated deciduous teeth'/exp OR 'stem cells from human exfoliated deciduous teeth' OR 'dental pulp mesenchymal'
Web of Science	#5 Search #1 AND #2 AND #3 AND #4 #4 Search TS= ((endodontic, regenerative) OR (endodontics, regenerative) OR (regenerative endodontic) OR (pulp dentin regeneration) OR (pulp vitality) OR (pulpa dental vitality) OR (tooth pulp vitality) OR (dental pulp regeneration) OR (endodontic regeneration) OR (dental tissue regeneration) OR (root canal regenerative) OR (endodontic revascularization) OR (regenerative endodontic treatment) OR (revascularization, endodontic) OR (revitalization, endodontic) OR (endodontic revitalization) OR (pulp capping, dental) OR (pulp capping) OR (capping, pulp) OR (cappings, pulp) OR (pulp cappings) OR (capping, dental pulp) OR (cappings, dental pulp) OR (dental pulp cappings) OR (pulp cappings, dental) OR (pulpitis) OR (inflammation, endodontic) OR (endodontic inflammation) OR (endodontic inflammations) OR (inflammations, endodontic) OR (dental pulp) OR (pulp-dentine complex) OR (acute dental pulpitis) OR (dental pulp inflammation) OR (endodontal infections) OR (endodontal inflammation) OR (endodontic infection) OR (pulp infection) OR (pulpal infection) OR (pulpal inflammation) OR (tooth pulp infection) OR (tooth pulp inflammation) OR (tooth pulpitis) OR (pulp, tooth) OR (dental pulpa) OR (tooth pulp) OR (tooth, pulp) OR (pulpal tissue) OR (tooth pulp) OR (pulp necrosis) OR (root canal infection)) #3 Search TS= ((scaffold) OR (scaffolds) OR (scaffold, tissue) OR (scaffolds, tissue) OR (tissue scaffold) OR (tissue scaffolding) OR (scaffolding, tissue) OR (scaffoldings, tissue) OR (tissue scaffoldings) OR (natural scaffold) OR (natural scaffolds) OR (polymeric scaffolds) OR (bioceramic scaffolds) OR (nanoadhesive scaffolds) OR (adhesive scaffold) OR (scaffold biomimetic) OR (nanocomposite scaffold) OR (nanocellulose-based scaffolds) OR (nc-based scaffolds) OR (scaffolding approach) OR (based-scaffold) OR (based scaffold) OR (based scaffolds) OR (tissue scaffolds) OR (scaffold blood clot) OR (polysaccharides) OR (polysaccharide) OR (xanthan) OR (alginate) OR (dextran) OR (chitosan) OR (celulose) OR (extracellular matrix) OR (hyaluronic acid) OR (hyaluronan) OR (hyaluronate) OR (proteoglycans) OR (peptides) OR (proteins) OR (silk protein) OR (rhcollagen) OR (collagen) OR (gelatina) OR (fibrina) OR (polymer) OR (polymers natural) OR (biopolymers) OR (biopolymer) OR (polymers synthetic) OR (polylactic acid) OR (pla) OR (pla-peo-pla) OR (pla-peg-pla) OR (polyglycolic acid) OR (pga) OR (polylactide-co-glycolide) OR (plga) OR (poly-3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) OR (poly-dto carbonate) OR (poly-1,8-octanediol-co-citrate) OR (peo-phb-peo) OR (gamma-pga) OR (gamma-polyglutamate) OR (polymethacrylic acids) OR (methacrylate) OR (calcium phosphates) OR (tricalcium phosphate) OR (biphasic calcium phosphate) OR (poly-aspartamide) OR (poly-ethylene-glycol-co-glycolic-acid) OR (polymer-cyclodextrin) OR (poly-glycerol-dodecanoate) OR (polystyrenes) OR (polyurethanes) OR (interpenetrating polymer) OR (mineral trioxide aggregate) OR (mta) OR (mta,pcl) OR (mta cement) OR (theracal) OR (mta aggregate) OR (aggregate proroot) OR (proroot aggregate) OR (tricalcium silicate) OR (slow-release artificial tears) OR (fibrin sealant system) OR (sealant system, fibrina) OR (autologous fibrin tissue) OR (fibrin sealant) OR (sealant fibrina) OR (fibrin seal) OR (seal, fibrina) OR (polymeric electrospun nanofibers) OR (electrospun) OR (nanofibers) OR (biomineralization) OR (cell therapy) OR (therapy, cell) OR (biofilms) OR (active biomolecules) OR (cellulose pharmacology) OR (nanostructures chemistry) OR (nanofibrillated cellulose) OR (nanocrystalline cellulose) OR (biomimetic materials) OR (hydroxyapatite composite) OR (hydroxyapatite) OR (dental regeneration membranes) OR (dental tissue regeneration membrane) OR (hydrogel dental regeneration membrane) OR (puramatrix) OR (chitosan-enriched) OR (collagen synthesis) OR (tissue engineering) OR (fibrin hydrogel))

	#2 Search TS= ((anti-infection) OR (anti-infective) OR (anti-infective agentes) OR (agents, anti-infective) OR (anti infective agentes) OR (antiinfective agentes) OR (agents, antiifective) OR (antiinfective agente) OR (antiinfective agente) OR (microbicides) OR (antimicrobial) OR (antimicrobial ability) OR (antimicrobial cationic peptides) OR (antimicrobial agentes) OR (agents, antimicrobial) OR (anti-microbial agentes) OR (agents, anti-microbial) OR (anti microbial agentes) OR (antimicrobial agente) OR (antimicrobial agente) OR (antimicrobial compound) OR (anti-bacterial agentes) OR (agents, anti-bacterial) OR (anti bacterial agentes) OR (anti bacterial agentes) OR (anti bacterial agente) OR (antibacterial agentes) OR (antibacterial agente) OR (antibacterial agente) OR (antibacterial activity) OR (antibiotic) OR (microbicidal agente) OR (microbicidal agente) OR (microbicidal substance) OR (microbicide) OR (microbiological agente) OR (antibacterial effect))
	#1 Search TS= ((stem cell, mesenchymal) OR (stem cell, mesenchymal) OR (stem cells, mesenchymal) OR (mesenchymal stem cell) OR (mesenchymal stem cell) OR (mesenchymal stromal cells) OR (mesenchymal stromal cell) OR (stromal cell, mesenchymal) OR (stromal cells, mesenchymal) OR (multipotent mesenchymal stromal cells) OR (mesenchymal stromal cells, multipotente) OR (mesenchymal progenitor cells) OR (progenitor cell, mesenchymal) OR (shed) OR (sheds) OR (dpSCs) OR (MSCs) OR (dental pulp stem cells) OR (dental pulp stem cell) OR (dpSC) OR (stem cells from human exfoliated deciduous teeth) OR (stem cells from human exfoliated deciduous teeth) OR (dental pulp mesenchymal))

5 Considerações Finais

Considerando a escassez de estudos sobre o tema, que utilizem o desenho de inclusão do presente trabalho para avaliar desfechos em relação aos *scaffolds* carregados com fármacos ou moléculas bioativas e, seus possíveis efeitos antimicrobianos/anti-inflamatórios sobre as células-tronco pulpares não foi possível estabelecer um grupo como padrão de testes entre eles, o que impossibilitou uma meta-análise.

Entretanto, levando em conta essa limitação, e apesar do uso de drogas ou moléculas bioativas com propriedades antimicrobianas incorporados ao *scaffold* estruturas naturais à base de fibrina e colágeno, bem como *scaffolds* híbridos sem carregamento de fármacos mostraram-se ser os biomateriais mais eficazes e assim, demonstraram reduzir o crescimento bacteriano de acordo com a dosagem quando usada, e preservaram a viabilidade celular das células-tronco da polpa dentária humana em doses mínimas. Específicos *scaffolds* demonstram um grande potencial para continuarem a ser estudados.

A introdução de biomateriais que têm sido usados com sucesso na engenharia tecidual para endodontia regenerativa pode ser promissora, enquanto a combinação de biomateriais complexos também pode pavimentar o caminho para fornecer uma fonte potencial de *scaffolds*. E com o rápido desenvolvimento da tecnologia 3D, bioimpressão e nanotecnologia, a fabricação precisa desses biomateriais com estrutura e propriedades desejadas, pode se tornar cada vez mais frequente, estimulando assim o progresso e desenvolvimento de estratégias que facilitem a transição das pesquisas endodônticas regenerativas dos laboratórios para as clínicas.

Referências

- A. Saberi, Eshagh et al. Cytotoxic effects of mineral trioxide aggregate, calcium enriched mixture cement, Biodentine and octacalcium phosphate on human gingival fibroblasts. *Journal of Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects*, v. 10, n. 2, p. 75–80, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.15171/joddd.2016.012>
- Aksel, H., Mahjour, F., Bosaid, F., Calamak, S., & Azim, A. A. (2020). Antimicrobial Activity and Biocompatibility of Antibiotic-loaded Chitosan Hydrogels as a Potential Scaffold in Regenerative Endodontic Treatment. *Journal of Endodontics*. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2020.09.007>
- Albuquerque, M. T. P., Valera, M. C., Nakashima, M., & Bottino, M. C. (2014). Tissue-engineering-based Strategies for Regenerative Endodontics. *Journal of Dental Research*, 1(10). <https://doi.org/10.1177/0022034514549809>
- Alipour, M., Fadakar, S., Aghazadeh, M., Salehi, R., Samadi Kafil, H., Roshangar, L., Mousavi, E., & Aghazadeh, Z. (2021). Synthesis, characterization, and evaluation of curcumin-loaded endodontic reparative material. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 35(9). <https://doi.org/10.1002/jbt.22854>
- Alipour, M., Pouya, B., Aghazadeh, Z., Samadikafil, H., Ghorbani, M., Alizadeh, S., Aghazadeh, M., & Dalir Abdolahinia, E. (2021). The Antimicrobial, Antioxidative, and Anti-Inflammatory Effects of Polycaprolactone/Gelatin Scaffolds Containing Chrysin for Regenerative Endodontic Purposes. *Stem Cells International*, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/3828777>
- Ana, Ika Dewi et al. Bioceramics for Clinical Application in Regenerative Dentistry. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, v. 1077, p. 309–316, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-981-13-0947-2_16
- Antunes, H. S. et al. Sealing ability of two root-end filling materials in a bacterial nutrient leakage model. *International endodontic journal*, [S. l.], v. 49, n. 10, p. 960–965, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/iej.12543>
- ASGARY, Saeed; EGHBAL, Mohammad Jafar; EHSANI, Sara. Periradicular Regeneration after Endodontic Surgery with Calcium-enriched Mixture Cement in Dogs. *Journal of Endodontics*, [S. l.], v. 36, n. 5, p. 837–841, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2010.03.005>
- Bakota, E. L., Sensoy, O., Ozgur, B., & Sayar, M. (2013). Self-Assembling Multidomain Peptide Fibers with Aromatic Cores. *Biomacromolecules*.
- Banchs, F., & Trope, M. (2004). Revascularization of immature permanent teeth with apical periodontitis: New treatment protocol? *Journal of Endodontics*, 30(4), 196–200. <https://doi.org/10.1097/00004770-200404000-00003>

Becerra, P., Ricucci, D., Loghin, S., Gibbs, J. L., & Lin, L. M. (2014). Histologic study of a human immature permanent premolar with chronic apical abscess after revascularization/revitalization. *Journal of Endodontics*, 40(1), 133–139. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2013.07.017>

Bekhouche, M., Bolon, M., Charriaud, F., Lamrayah, M., Da Costa, D., Primard, C., Costantini, A., Pasdeloup, M., Gobert, S., Mallein-Gerin, F., Verrier, B., Ducret, M., & Farges, J.-C. (2020). Development of an antibacterial nanocomposite hydrogel for human dental pulp engineering. *Journal of Materials Chemistry. B*. <https://doi.org/10.1039/d0tb00989j>

Bottino, M. C., Kamocki, K., Yassen, G. H., Platt, J. A., Vail, M. M., Ehrlich, Y., Spolnik, K. J., & Gregory, R. L. (2013). Bioactive nanofibrous scaffolds for regenerative endodontics. *Journal of Dental Research*, 92(11), 963–969. <https://doi.org/10.1177/0022034513505770>

CAMILLERI, Josette. Mineral trioxide aggregate: present and future developments. *Endodontic Topics*, [S. l.], v. 32, n. 1, p. 31–46, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/etp.12073>

Castellan, C. S., Bedran-russo, A. K., Karol, S., & Pereira, P. N. R. (2011). Long-term stability of dentin matrix following treatment with various natural collagen cross-linkers. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 4(7), 1343–1350. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2011.05.003>

CHEN, Ian et al. Healing after root-end microsurgery by using mineral trioxide aggregate and a new calcium silicate-based bioceramic material as root-end filling materials in dogs. *Journal of Endodontics*, v. 41, n. 3, p. 389–399, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2014.11.005>

CHEVALIER, J.; GREMILLARD, L. Ceramics for medical applications: A picture for the next 20 years. *Journal of the European Ceramic Society*, [S. l.], v. 29, n. 7, p. 1245–1255, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jeurceramsoc.2008.08.025>

Colombo, J. S., Jia, S., & D'Souza, R. N. (2020). Modeling Hypoxia Induced Factors to Treat Pulpal Inflammation and Drive Regeneration. *Journal of Endodontics*, 46(9), S19–S25. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2020.06.039>

Colombo, J. S., Moore, A. N., Hartgerink, J. D., & Souza, R. N. D. (2014). Dental Pulp Regeneration. *Journal of Endodontics*, 40(4), S6–S12. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2014.01.019>

Cuevas-Suárez, C. E., de Oliveira da Rosa, W. L., Vitti, R. P., da Silva, A. F., & Piva, E. (2020). Bonding Strength of Universal Adhesives to Indirect Substrates: A Meta-Analysis of in Vitro Studies. *Journal of Prosthodontics*, 29(4), 298–308. <https://doi.org/10.1111/jopr.13147>

DA ROSA, Wellington L. O. et al. Current trends and future perspectives of dental pulp capping materials: A systematic review. *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*, v. 106, n. 3, p. 1358–1368, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jbm.b.33934>

Darby, I. A., & Hewitson, T. D. (2016). Hypoxia in tissue repair and fibrosis. *Cell and Tissue Research*. <https://doi.org/10.1007/s00441-016-2461-3>

DE-DEUS, G. et al. Cytocompatibility of the ready-to-use bioceramic putty repair cement iRoot BP Plus with primary human osteoblasts. *International Endodontic Journal*, v. 45, n. 6, p. 508–513, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2011.02003.x>

Dianat, O., Mashhadi Abas, F., Paymanpour, P., Eghbal, M. J., Haddadpour, S., & Bahrololumi, N. (2017). Endodontic repair in immature dogs' teeth with apical periodontitis: blood clot vs plasma rich in growth factors scaffold. *Dental Traumatology*, 33(2), 84–90. <https://doi.org/10.1111/edt.12306>

Ducret, M., Fabre, H., & Farges, J. (2015). Production of Human Dental Pulp Cells with a Medicinal. 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2015.05.017>

Ducret, M., Fabre, H., Celle, A., & Mallein-gerin, F. (2017). Current challenges in human tooth revitalization. 28, 159–168. <https://doi.org/10.3233/BME-171637>

Ducret, M., Montembault, A., Josse, J., Padeloup, M., Celle, A., Benchrih, R., Mallein-Gerin, F., Alliot-Licht, B., David, L., & Farges, J. C. (2019). Design and characterization of a chitosan-enriched fibrin hydrogel for human dental pulp regeneration. *Dental Materials*, 35(4), 523–533. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2019.01.018>

DUTTA, Arindam; SAUNDERS, William P. Calcium silicate materials in endodontics. *Dental Update*, v. 41, n. 8, p. 708–722, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.12968/denu.2014.41.8.708>

EDREES, Hadeel Y. et al. Induction of Osteogenic Differentiation of. *Materials*, v. 12, p. 2311, 2019.

Eramo, S., Natali, A., Pinna, R., & Milia, E. (2018). Dental pulp regeneration via cell homing. *International Endodontic Journal*, 51, 405–419. <https://doi.org/10.1111/iej.12868>

ESCOBAR-GARCÍA, Diana María et al. Cytotoxicity and Initial Biocompatibility of Endodontic Biomaterials (MTA and Biodentine TM) Used as Root-End Filling Materials. *BioMed Research International*, v. 2016, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2016/7926961>

EzEldeen, M., Toprakhisar, B., Murgia, D., Smisdorn, N., Deschaume, O., Bartic, C., Van Oosterwyck, H., Pereira, R. V. S., Opdenakker, G., Lambrechts, I.,

Bronckaers, A., Jacobs, R., & Patterson, J. (2021). Chlorite oxidized oxyamylose differentially influences the microstructure of fibrin and self assembling peptide hydrogels as well as dental pulp stem cell behavior. *Scientific Reports*, 11(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84405-4>

Farges, J., Bellanger, A., Ducret, M., Bleicher, F., & Carrouel, F. (2015). Human odontoblast-like cells produce nitric oxide with antibacterial activity upon TLR2 activation. *Frontiers in Physiology*, 6(June), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fphys.2015.00185>

Ferroni, L., Gardin, C., Sivoilella, S., Brunello, G., & Berengo, M. (2015). A Hyaluronan-Based Scaffold for the in Vitro Construction of Dental Pulp-Like Tissue. *International Journal of Molecular Sciences*, 16, 4666–4681. <https://doi.org/10.3390/ijms16034666>

FISCHER, E. J.; ARENS, D. E.; MILLER, C. H. Bacterial leakage of mineral trioxide aggregate as compared with zinc-free amalgam, intermediate restorative material, and Super-EBA as a root-end filling material. *Journal of endodontics*, v. 24, n. 3, p. 176–179, 1998. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0099-2399\(98\)80178-7](https://doi.org/10.1016/S0099-2399(98)80178-7)

Galler, K. M., Hartgerink, J. D., Cavender, A. C., Schmalz, G., & Souza, R. N. D. (2012). A Customized Self-Assembling Peptide Hydrogel for dental pulp tissue engineering. *TISSUE ENGINEERING PART A*, 18, 176–184. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2011.0222>

Kamocki, K., Nör, J. E., & Bottino, M. C. (2015). Dental pulp stem cell responses to novel antibiotic-containing scaffolds for regenerative endodontics. *International Endodontic Journal*, 48(12), 1147–1156. <https://doi.org/10.1111/iej.12414>

Kamocki, Krzysztof, Nör, J. E., & Bottino, M. C. (2015). Effects of ciprofloxacin-containing antimicrobial scaffolds on dental pulp stem cell viability-In vitro studies. *Archives of Oral Biology*, 60(8), 1131–1137. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2015.05.002>

Klimczak, A., & Kozłowska, U. (2016). Mesenchymal Stromal Cells and Tissue-Specific Progenitor Cells: Their Role in Tissue Homeostasis. *Stem Cells International*, 2016.

KOGAN, Paul et al. The Effects of Various Additives on Setting Properties of MTA. *Journal of Endodontics*, v. 32, n. 6, p. 569–572, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2005.08.006>

KOHOUT, George D. et al. Comparison of quick-set and mineral trioxide aggregate root-end fillings for the regeneration of apical tissues in dogs. *Journal of Endodontics*, v. 41, n. 2, p. 248–252, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2014.10.005>

KÜÇÜKKAYA, Selen et al. In Vitro Cytotoxicity of Calcium Silicate-Based Endodontic Cement as Root-End Filling Materials. Scientifica , v. 2016, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2016/9203932>

Kwon, Y., Lim, E., & Min, K. (2015). Effects of Epigallocatechin-gallate, an Antimicrobial Crosslinking Agent, on Proliferation and Differentiation of Human Dental Pulp Cells Cultured in Collagen Scaffold. TISSUE ENGINEERING PART A, 21(1), S193.

Kwon, Y.-S., Kim, H.-J., Hwang, Y.-C., Rosa, V., Yu, M.-K., & Min, K.-S. (2017). Effects of Epigallocatechin Gallate, an Antibacterial Cross-linking Agent, on Proliferation and Differentiation of Human Dental Pulp Cells Cultured in Collagen Scaffolds. Journal of Endodontics, 43(2), 289–296. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2016.10.017>

LEAL, Fernanda et al. Similar sealability between bioceramic putty ready-to-use repair cement and white MTA. Brazilian Dental Journal, v. 24, n. 4, p. 362–366, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0103-6440201302051>

Li, S., Martens, E., Dillen, C., Steen, P. E. Van Den, & Opdenakker, G. (2008). Virus entry inhibition by chlorite-oxidized oxyamylose versus induction of antiviral interferon by poly (I: C). Biochemical Pharmacology, 76, 831–840. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2008.07.022>

Li, Y., Meng, H., Liu, Y., & Lee, B. P. (2015). Fibrin Gel as an Injectable Biodegradable Scaffold and Cell Carrier for Tissue Engineering. The Scientific World Journal, 2015, 1–10.

Ma, L., Gao, C., Mao, Z., Zhou, J., & Shen, J. (2004). Enhanced biological stability of collagen porous scaffolds by using amino acids as novel cross-linking bridges. Biomaterials, 25, 2997–3004. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2003.09.092>

McIntyre, P. W., Wu, J. L., Kolte, R., Zhang, R., Gregory, R. L., Bruzzaniti, A., & Yassen, G. H. (2019). The antimicrobial properties, cytotoxicity, and differentiation potential of double antibiotic intracanal medicaments loaded into hydrogel system. Clinical Oral Investigations, 23(3), 1051–1059. <https://doi.org/10.1007/s00784-018-2542-7>

Medina-Fernandez, I., & Celiz, A. D. (2019). Acellular biomaterial strategies for endodontic regeneration. Biomaterials Science, 7(2), 506–509. <https://doi.org/10.1039/c8bm01296b>

MORADI, Saeed; LOMEE, Mahdi; GHARECHAH, Maryam. Comparison of fluid filtration and bacterial leakage techniques for evaluation of microleakage in endodontics. Dental Research Journal, v. 12, n. 2, p. 109–114, 2015.

Moussa, D. G., & Aparicio, C. (2019). Present and future of tissue engineering scaffolds for dentin - pulp complex regeneration. July 2018, 58–75. <https://doi.org/10.1002/term.2769>

NAIR, Uma et al. A comparative evaluation of the sealing ability of 2 root-end filling materials: An in vitro leakage study using *Enterococcus faecalis*. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology, v. 112, n. 2, p. e74–e77, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2011.01.030>

Nakashima, M., & Akamine, A. (2005). The Application of Tissue Engineering to Regeneration of Pulp and Dentin in Endodontics. Journal of Endodontics, 31(10), 711–718.

Nauta, T. D., Hinsbergh, V. W. M. Van, & Koolwijk, P. (2014). Hypoxic Signaling During Tissue Repair and Regenerative Medicine. International Journal of Molecular Sciences, 19791–19815. <https://doi.org/10.3390/ijms151119791>

OSORIO, Rosa Maria. Cytotoxicity of endodontic materials. Journal of Endodontics, v. 24, n. 2, p. 91–96, 1998. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0099-2399\(98\)80084-8](https://doi.org/10.1016/S0099-2399(98)80084-8)

Ouzzani, M., Hammady, H., Fedorowicz, Z., & Elmagarmid, A. (2016). Rayyan-a web and mobile app for systematic reviews. Systematic Reviews, 5(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s13643-016-0384-4>

Page, M. J., McKenzie, J. E., Bossuyt, P. M., Boutron, I., Hoffmann, T. C., Mulrow, C. D., Shamseer, L., Tetzlaff, J. M., Akl, E. A., Brennan, S. E., Chou, R., Glanville, J., Grimshaw, J. M., Hróbjartsson, A., Lalu, M. M., Li, T., Loder, E. W., Mayo-Wilson, E., McDonald, S., ... Moher, D. (2021). The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews. The BMJ, 372. <https://doi.org/10.1136/bmj.n71>

Palasuk, J., Kamocki, K., Hippenmeyer, L., Platt, J. A., Spolnik, K. J., Gregory, R. L., & Bottino, M. C. (2014). Bimix antimicrobial scaffolds for regenerative endodontics. Journal of Endodontics, 40(11), 1879–1884. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2014.07.017>

PARIROKH, M.; TORABINEJAD, M.; DUMMER, P. M. H. Mineral trioxide aggregate and other bioactive endodontic cements: an updated overview – part I: vital pulp therapy. International Endodontic Journal, v. 51, n. 2, p. 177–205, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/iej.12841>

Petrino, J. A., Boda, K. K., Shambarger, S., Bowles, W. R., & Mcclanahan, S. B. (2010). Challenges in Regenerative Endodontics: A Case Series. Journal of Endodontics, 36(3), 536–541. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2009.10.006>

Polat, G. G., & Yildirim, C. (2014). The use of platelet rich plasma in the treatment of immature tooth with periapical lesion : a case report. *Restorative Dentistry & Endodontics*, 7658, 230–234.

Raddall, G., Mello, I., & Leung, B. M. (2019). Biomaterials and Scaffold Design Strategies for Regenerative Endodontic Therapy. 7(November), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00317>

Redl, H., Schlag, G., Stanek, G., & Hirschl, A. (1983). In vitro properties of mixtures of fibrin seal and antibiotics. *Biomaterials*, 4, 29–32.

Rosa, V., Zhang, Z., Grande, R. H. M., & Nor, J. E. (2013). Dental Pulp Tissue Engineering in. *Journal of Dental Research*, 92(11), 970–975. <https://doi.org/10.1177/0022034513505772>

Saoud, T. M. A., Ricucci, D., Lin, L. M., & Gaengler, P. (2016). Regeneration and repair in endodontics-a special issue of the regenerative endodontics-a new era in clinical endodontics. *Dentistry Journal*, 4(1). <https://doi.org/10.3390/dj4010003>

SARASWATHI, Devabhaktuni Disha et al. A Comparative Evaluation of Sealing Ability of Three Recent Root-End Filling Materials: An In Vitro Study. *Journal of Advanced Oral Research*, v. 6, n. 2, p. 33–39, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/2229411220150206>

SHAMSY, Enass et al. Evaluation of the apical seal of mineral trioxide aggregate in the absence and presence of Smear Layer. *Journal of Contemporary Dental Practice*, v. 20, n. 3, p. 298–303, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10024-2513>

SINGH, Harpreet et al. JBR Journal of Interdisciplinary Biodentine : A Promising Dentin substitute. v. 2, n. 5, p. 1–5, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.4172/2376-032X>

SOUZA, N. J. A. et al. Cytotoxicity of materials used in perforation repair tested using the V79 fibroblast cell line and the granulocyte-macrophage progenitor cells. *International Endodontic Journal*, v. 39, n. 1, p. 40–47, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2005.01045.x>

Stashenko, P., Teles, R., & D'Souza, R. (1998). PERIAPICAL INFLAMMATORY RESPONSES. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.*, 9(4), 498–521.

SURYA RAGHAVENDRA, Srinidhi et al. Bioceramics in Endodontics – a Review. *Journal of Istanbul University Faculty of Dentistry*, v. 51, n. 0, p. 128–137, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.17096/jiufd.63659>

TABARI, Mitra et al. Biocompatibility of Mineral Trioxide Aggregate Mixed with Different Accelerators: an Animal Study. *Journal of dentistry (Shiraz, Iran)*, v. 21,

n. 1, p. 48–55, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.30476/DENTJODS.2019.77826.0>

Torabinejad, M., & Turman, M. (2011). Revitalization of Tooth with Necrotic Pulp and Open Apex by Using Platelet-rich Plasma: A Case Report. *Journal of Endodontics*, 37(2), 265–268. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2010.11.004>

TORABINEJAD, Mahmoud et al. Physical and chemical properties of a new root-end filling material. *Journal of Endodontics* v. 21, n. 7, p. 349–353, 1995 a. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0099-2399\(06\)80967-2](https://doi.org/10.1016/S0099-2399(06)80967-2)

TORABINEJAD, Mahmoud et al. Bacterial leakage of mineral trioxide aggregate as a root-end filling material. *Journal of Endodontics*, v. 21, n. 3, p. 109–112, 1995 b. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0099-2399\(06\)80433-4](https://doi.org/10.1016/S0099-2399(06)80433-4)

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., Hempel, S., Akl, E. A., Chang, C., McGowan, J., Stewart, L., Hartling, L., Aldcroft, A., Wilson, M. G., Garritty, C., ... Straus, S. E. (2018). PRISMA extension for scoping reviews (PRISMA-ScR): Checklist and explanation. *Annals of Internal Medicine*, 169(7), 467–473. <https://doi.org/10.7326/M18-0850>

Ulusoy, A. T., Turedi, I., Cimen, M., & Zafer, C. C. (2019). Evaluation of Blood Clot , Platelet-rich Plasma , Platelet-rich Fibrin , and Platelet Pellet as Scaffolds in Regenerative Endodontic Treatment: *Journal of Endodontics*, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2019.02.002>

Verma, P., Nosrat, A., Kim, J. R., Price, J. B., Wang, P., Bair, E., Xu, H. H., & Fouad, A. F. (2017). Effect of Residual Bacteria on the Outcome of Pulp Regeneration in Vivo. *Journal of Dental Research*, 96(1), 100–106. <https://doi.org/10.1177/0022034516671499>

Vishwanat, L., Duong, R., Takimoto, K., Phillips, L., Espitia, C. O., Diogenes, A., Ruparel, S. B., Kolodrubetz, D., & Ruparel, N. B. (2017). Effect of Bacterial Biofilm on the Osteogenic Differentiation of Stem Cells of Apical Papilla. *Journal of Endodontics*, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2017.01.023>

WALSH, Ryan M. et al. Evaluation of Compressive Strength of Hydraulic Silicate-based Root-end Filling Materials. *Journal of Endodontics*, v. 40, n. 7, p. 969–972, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2013.11.018>

Wigler, R., Kaufman, A. Y., Lin, S., Steinbock, N., Hazan-molina, H., & Torneck, C. D. (2013). Revascularization : A Treatment for Permanent Teeth with Necrotic Pulp and Incomplete Root Development. *Journal of Endodontics*, 39(3), 319–326. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2012.11.014>

Willyard, C. (2018). The secrets of healing without scars. *Nature*, 563.

Xu, Y., Wu, J., Wang, H., Li, H., Di, N., & Song, L. (2013). Scaffold for Tendon Tissue Engineering. *Tissue Engineering PART C*, 19(12).
<https://doi.org/10.1089/ten.tec.2012.0328>

ZHU, Qiang et al. Adhesion of human osteoblasts on root-end filling materials. *Journal of Endodontics*, v. 26, n. 7, p. 404–406, 2000. Disponível em:
<https://doi.org/10.1097/00004770-200007000-00006>

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



Tese

Perspectivas atuais sobre o uso terapêutico da própolis em odontologia

Andressa da Silva Barboza

Pelotas, 2022

Andressa da Silva Barboza

Perspectivas atuais sobre o uso terapêutico da própolis em odontologia

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 Biomateriais e Biologia Oral, com Ênfase em Materiais Odontológicos.

Orientador: Rafael Guerra Lund

Coorientador: André Ricardo Fajardo

Coorientadora: Juliana Silva Ribeiro de Andrade

Pelotas, 2022

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

B239p Barboza, Andressa da Silva

Perspectivas atuais sobre o uso terapêutico da própolis em odontologia / Andressa da Silva Barboza ; Rafael Guerra Lund, orientador ; Juliana Silva Ribeiro de Andrade, André Ricardo Fajardo, coorientadores. — Pelotas, 2022.

133 f. : il.

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

1. Propolis. 2. Fitoterapia. 3. Odontologia. 4. Agentes antimicrobianos. 5. Sistemas de liberação de fármacos. I. Lund, Rafael Guerra, orient. II. Andrade, Juliana Silva Ribeiro de, coorient. III. Fajardo, André Ricardo, coorient. IV. Título.

Black : D151

Andressa da Silva Barboza

Perspectivas atuais sobre o uso terapêutico da própolis em odontologia

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: 18/02/2022

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Rafael Guerra Lund (Orientador)

Doutor em Odontologia com área de concentração em Dentística pela Universidade Federal de Pelotas – RS, Brasil.

Prof. Dr. Eliseu Aldrighi Münchow

Doutor em Odontologia com área de concentração em Dentística pela Universidade Federal de Pelotas – RS, Brasil.

Prof. Dr. Evandro Piva

Doutor em Odontologia com área de concentração em Biomateriais e Biologia Oral pela Universidade Federal de Pelotas – RS, Brasil.

Prof. Dr. Carlos Enrique Cuevas Suárez

Doutor em Odontologia com área de concentração em Biomateriais e Biologia Oral pela Universidade Federal de Pelotas – RS, Brasil.

Dra. Andressa Goicocchea Moreira (Suplente)

Doutora em Odontologia com área de concentração em Biomateriais e Biologia Oral pela Universidade Federal de Pelotas – RS, Brasil.

Dra. Samantha Rodrigues Xavier (Suplente)

Doutora em Odontologia com área de concentração em Endodontia pela Universidade Federal de Pelotas – RS, Brasil.

Agradecimentos

À Deus pelo dom da vida, por toda a força e amparo nesta jornada.

À Universidade Federal de Pelotas, nas pessoas de seus Reitores Isabela Fernandes Andrade e Paulo Ferreira Júnior.

À Faculdade de Odontologia, na pessoa do Diretor Prof. Dr. Evandro Piva.

Ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, na pessoa da Coordenadora atual Prof. Dra. Giana Lima. Aos ex-coordenadores, aos alunos e aos colegas que confiaram em mim e me aceitaram como representante discente durante um ano.

À banca, Prof. Dr. Evandro Piva, Prof. Dr. Carlos Enrique Cuevás-Suarez e Prof. Dr. Eliseu Aldrighi Münchow. Aos amigos e suplentes da banca, Prof. Dra. Andressa Goicocchea Moreira e Prof. Dra. Samantha Rodrigues Xavier.

Aos mestres, em especial, ao Prof. Dr. Rafael Guerra Lund pela orientação durante minha trajetória acadêmica. Obrigada por todo crescimento profissional e pessoal, pelo acolhimento, ensinamentos, conselhos, oportunidades e por acreditar em meu potencial. Não foi apenas meu orientador, mas um grande amigo.

Aos coorientadores Prof. Dr. André Fajardo e Prof. Dra. Juliana Silva Ribeiro de Andrade. Ao André por todo acolhimento e aprendizado e a Ju por ser uma grande parceira e amiga que me proporcionou grandes ensinamentos, na pesquisa e para a vida. Sou extremamente grata por todo o incentivo e ser uma das maiores inspirações em toda sua trajetória, durante todos esses anos de convívio.

Agradeço, também, os laboratórios: Centro de Desenvolvimento e Controle de Biomateriais (CDC-Bio), Laboratório de Tecnologia e Desenvolvimento de Compósitos e Materiais Poliméricos (LaCoPol) e Microbiologia Oral (LAMICRO). As alunas Jaqueline, Andressa e Juliê (LaCoPol) por todo o apoio e ajuda no processo de síntese do material experimental, que segue em desenvolvimento. As técnicas laboratoristas Josiane Kuhn, Tatiana Ramos, Alessandra Garcez e em especial, a minha amiga Lizangela Ferreira. A Liz foi uma pessoa ímpar e única nessa minha trajetória, todo meu carinho e agradecimento a ti.

Ao apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – B (CAPES) – Código de Financiamento 001, assim agradeço a CAPES pela concessão de bolsa o que permitiu a realização desta conquista durante minha trajetória no doutorado.

Agradecimento especial a todos os professores aos quais tive o privilégio e a honra de aprender sobre a Odontologia, desde a graduação até o doutorado. Todos eles, sem exceção ensinaram com maestria. Ressalto os professores Prof. Dra. Giana Lima e o Prof. Dr. Rafael Moraes, em que agradeço por todo o aprendizado e inspiração durante meus estágios de docência. Bem como os professores, Prof. Dr. Evandro Piva, Prof. Dr. Carlos Enrique Cuevás-Suarez, Prof. Dr. Wellington Luiz de Oliveira da Rosa, Prof. Dra. Noéli Boscato, Prof. Dra. Cristina Isolan, Prof. Dra. Adriana Fernandes, Prof. Dra. Tatiana Cenci, Prof. Dr. Marcos

Torriani, Prof. Dra. Juliana Silva Ribeiro de Andrade, além do meu orientador em especial, por me inspirarem em suas trajetórias e atuação como docentes.

Agradeço aos meus amigos de trajetória acadêmica em especial Carla David, Daniela Coelho, Gabriela Cardoso, Eduardo Trota, Fernanda Lauer, Júlia Facenda, Huana Aires, Kayane Cuba, Laura Fang, Lucas Peixoto e Monika Lamas. Agradeço pelos conselhos, parcerias de trabalhos e principalmente por se tornarem meus verdadeiros amigos, vocês são de pessoas ímpares que quero levar comigo para toda a vida. Obrigada por me escutarem e me ajudarem a me tornar uma profissional e pessoa melhor.

Aos meus amigos que a vida me trouxe Letícia Moraes, Tainã Coelho, Michel Ribeiro da Rosa, Tassiane Mattos, Daniela Coelho, Carianne Almeida, Luiza Caminha, Andreza Garibaldi e Michel Diogo.

Agradeço ao meu amor Dionatham de David, por ter sido meu porto seguro e me encorajar nessa trajetória. Obrigada por ser meu melhor amigo e por formar minha família ao lado da Cacau.

Por fim, agradeço à minha família. Diante de todas as dificuldades encontradas, sempre renunciaram a esforços para tornar tudo isso possível. Obrigada por serem minha base e me fortalecerem para o mundo.

Dedico esse trabalho ao meu pai (in memoriam) que me amou incondicionalmente, meu avô (in memoriam) que sempre afirmava que eu me tornaria doutora e a minha mãe que fez tornar isso possível.

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/files/2019/06/Manual.pdf>> Acesso em: <08 de setembro de 2021>.

O projeto de pesquisa foi qualificado em 26 de fevereiro de 2019 e aprovado pela Banca Examinadora composta pelos Professores Doutores Rafael Guerra Lund, Wellington Luiz de Oliveira da Rosa, Cristina Isolan e Carlos Enrique Cuevas Suárez.

Resumo

BARBOZA, Andressa da Silva. **Perspectivas atuais sobre o uso terapêutico da própolis em odontologia**. 2022. 133f. Tese (Doutorado em Odontologia). Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal de Pelotas, 2022.

Diversos estudos vêm sendo realizados com a própolis devido à sua ampla propriedade biológica, como por exemplo, sua atividade antimicrobiana, antifúngica, antioxidante, antiviral, cicatrizante e imunomoduladora. Dentro desse contexto, estes desfechos têm sido estudados frente a diversas condições bucais. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho, dividido em dois estudos, foi sintetizar o conhecimento acerca do uso terapêutico da própolis na odontologia. **Materiais e Métodos:** No estudo 1 foi avaliado, através de uma revisão de escopo e mapeamento tecnológico, o potencial antimicrobiano da própolis. O estudo 2 avaliou, através de uma revisão sistemática, a incorporação de própolis em sistemas de liberação controlada para aplicações odontológicas. No estudo 1 foi realizado uma busca na literatura em cinco bases de dados: PubMed, Web of Science, Scopus, SciFinder e Scielo. Além disso, os seguintes bancos de dados de patentes foram selecionados: Google Patents, WIPO, INPI, Espacenet e Questel Orbit. Os dados foram tabulados e analisados no Microsoft Office Excel 2013 e no Questel Orbit. No estudo 2, foi seguido a declaração Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA). Dois revisores independentes realizaram uma pesquisa bibliográfica em cinco bases de dados: PubMed/Medline, Web of Science, Cochrane Library, Scopus e Embase, para identificar os estudos elegíveis. Estudos clínicos, *in vitro*, *in vivo* e *in situ* que investigaram a incorporação da própolis como principal agente em sistemas de liberação controlada para aplicações em odontologia foram selecionados. **Resultados:** Para o estudo 1, foram incluídos na revisão 174 artigos científicos e 276 patentes. O maior número de patentes (n=144) foi produzido pela China. Além disso, os estudos mais prevalentes foram realizados em caráter experimental (126), seguido de estudos clínicos (n=27) e artigos de revisão (n=21). O efeito do uso da própolis tem sido amplamente observado em produtos de higiene bucal, periodontia, patologia e cariologia, entre outras especialidades odontológicas. Em relação ao estudo 2, foram selecionados 13 estudos, sendo 12 *in vitro* e 1 estudo *in vivo* e também *in vitro*. **Conclusão:** De acordo com os resultados obtidos, a própolis mostrou propriedades não citotóxicas, osteoindutoras, antimicrobianas e anti-inflamatórias. Com base nos estudos, pode-se concluir que a própolis tem demonstrado ser um agente terapêutico potencialmente seguro em diversas áreas de aplicação na odontologia. As propriedades biodegradáveis, bioativas e sua liberação prolongada tornam a própolis uma substância muito promissora na odontologia, especialmente na liberação controlada de fármacos. Além disso, as aplicações recentes da própolis nos estudos e patentes avaliadas destacam como principal característica da própolis a sua atividade antimicrobiana, destacando suas vantagens econômicas e eficácia das terapias complementares. No entanto, a escolha de própolis com propriedades adequadas como fonte de origem é fundamental para o desenvolvimento de biomateriais com potencial aplicação em odontologia.

Palavras-chave: Propolis. Fitoterapia. Odontologia. Agentes Antimicrobianos. Sistemas de Liberação de Fármacos.

Abstract

BARBOZA, Andressa da Silva. **Updated perspectives about the therapeutic use of propolis in dentistry**. 2022. 133f. Thesis (Ph.D. in Dentistry). Graduate Program in Dentistry, Federal University of Pelotas, 2022.

Several studies have been carried out with propolis due to its wide biological property, such as its antimicrobial, antifungal, antioxidant, antiviral, healing and immunomodulatory activity. Within this context, these outcomes have been studied in different oral conditions. In this sense, the objective of this work, divided into two studies, was to synthesize the knowledge about the therapeutic use of propolis in dentistry. Materials and Methods: In study 1, the antimicrobial potential of propolis was assessed through a scoping review and technological mapping. Study 2 evaluated, through a systematic review, the incorporation of propolis in controlled release systems in dental applications. In study 1, a literature search was performed in five databases: PubMed, Web of Science, Scopus, SciFinder and Scielo. In addition, the following patent databases were selected: Google Patents, WIPO, INPI, Espacenet and Questel Orbit. Data were tabulated and analyzed using Microsoft Office Excel 2013 and Questel Orbit. In study 2, the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) statement was followed. Two independent reviewers performed a literature search in five databases: PubMed/Medline, Web of Science, Cochrane Library, Scopus and Embase, to identify eligible studies. Clinical, *in vitro*, *in vivo* and *in situ* studies that investigated the incorporation of propolis as the main agent in controlled release systems for dental applications were selected. Results: For study 1, 174 scientific articles and 276 patents were included in the review. The largest number of patents (n=144) were produced by China. In addition, the most prevalent studies were carried out on an experimental basis (126), followed by clinical studies (n=27) and review articles (n=21). The effect of using propolis has been widely observed in oral hygiene, periodontics, pathology and cariology products, among other dental specialties. Regarding study 2, 13 studies were selected, being 12 *in vitro* and 1, both *in vitro* and *in vivo* studies. Conclusion: According to the results obtained, propolis showed non-cytotoxic, osteoinductive, antimicrobial and anti-inflammatory properties. Based on the studies, it can be concluded that propolis has been shown to be a potentially safe therapeutic agent in several areas of application in dentistry. The biodegradable and bioactive properties and its prolonged release make propolis a very promising substance in dentistry, especially in the controlled release of drugs. In addition, recent applications of propolis in the studies and patents evaluated highlight its antimicrobial activity as the main characteristic of propolis, highlighting its economic advantages and the effectiveness of complementary therapies. However, the choice of propolis with adequate properties as a source of origin is fundamental for the development of a biomaterials with potential application in dentistry.

Keywords: Propolis. Phytotherapy Dentistry. Antimicrobial Agents. Drug Delivery Systems.

Sumário

1. INTRODUÇÃO	122
1.1 Objetivos.....	155
1.1.1 Geral	15
1.1.2 Específicos.....	155
2. PROJETO DE PESQUISA	166
3. RELATÓRIO DE TRABALHO DE CAMPO	37
ARTIGO 1	399
ARTIGO 2	988
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	120
REFERENCIAS.....	121

1. INTRODUÇÃO

Os biofilmes orais são ricos em microrganismos, incluindo bactérias e fungos, que em condições de desequilíbrio da microbiota podem ser prejudiciais à saúde e favorecer o desenvolvimento de doenças. A fim de combater estes problemas de saúde oral, existem vários antibióticos, antifúngicos e drogas sintéticas ou naturais (BROWN et al., 2016). No entanto, o uso indiscriminado e prolongado de antimicrobianos sintéticos tem levado à seleção de microrganismos patogênicos mutantes resistentes a esses compostos. Nesse sentido, o número de estudos com produtos naturais está aumentando pela possibilidade de obter elementos bioativos que podem ser tanto para fins terapêuticos quanto para o desenvolvimento de medicamentos que não induzam resistência (CHOUDHARY et al., 2017; AHANGARI et al., 2018).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que 80% da população mundial utiliza produtos naturais nos cuidados com a saúde, sendo o Brasil um dos dez maiores usuários do mundo. Além disso, essa organização defende a importância da incorporação da medicina dita moderna com a medicina tradicional a fim de se implementar sistemas de saúde mais próximos dos usuários e melhorar a saúde da população. Devido a este interesse em extratos naturais e medicamentos tradicionais, a OMS considera que é de suma importância prestar assistência aos países em sua promoção de programas de saúde que melhor se adaptem as situações socioeconômicas locais (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019).

Os produtos naturais são potencialmente úteis como agentes antimicrobianos e seu uso como medicamentos tem sido reconhecido (BODEKER; GRAZ, 2020). O uso de produtos fitoterápicos como agentes antimicrobianos apresenta duas vantagens principais: a primeira, devido a sua origem natural o que confere mais segurança para os usuários e ao meio ambiente; a segunda, há baixo risco de aumento da resistência microbiana a sua atividade, porque estes são uma combinação de inúmeros compostos que, aparentemente, apresentam diferentes ações antimicrobianas tornando mais difícil a adaptabilidade microbiana (ENIOUTINA et al., 2017).

Na área odontológica, há uma procura muito grande por novos produtos com potencial antimicrobiano e de baixa toxicidade, já que a maioria das patologias orais é causada por microrganismos. Um dos desafios clínicos de interesse odontológico e

de desenvolvimento são materiais capazes de obturar o canal radicular conferindo ao mesmo vedamento adequado (DOS SANTOS et al., 2021). A importância da presença de características antimicrobianas nos biomateriais empregados em odontologia se deve principalmente pela incidência de infecções endodônticas, periodontais e cariológicas recorrentes e resistentes. Os efeitos adversos de alguns agentes químicos antibacterianos atualmente utilizados em odontologia e considerações financeiras dos países em desenvolvimento, além da necessidade de prevenção e opções de tratamento alternativas que sejam seguras, eficazes e econômicas (JIAO et al., 2019; BARBOZA et al., 2021). Embora exista diferentes agentes antimicrobianos disponíveis comercialmente, há a preocupação em relação à biocompatibilidade destas substâncias e os seus efeitos tóxicos, alérgicos e mutagênicos (RAMBURRUN et al., 2021).

Deste modo fitoquímicos naturais isolados de produtos naturais são considerados como potenciais agentes alternativos na busca pelo desenvolvimento de biomateriais seguros e eficazes (KEPEKÇI et al., 2021). Visto isso, na tentativa de proporcionar um maior conjunto de características positivas e favoráveis para terapias odontológicas de sucesso pesquisas vêm sendo realizadas visando o desenvolvimento de biomateriais antimicrobianos, anti-inflamatórios e com capacidade regenerativa (PAMEIJER; ZMENER, 2010; CHADA et al., 2012). Embora existam evidências científicas que comprovem a eficácia e inúmeras vantagens da fitoterapia, como menor toxicidade, melhor biocompatibilidade, e custo potencialmente mais acessível para a população (ALMEIDA et al., 2016), ainda é discriminada pelos profissionais de saúde. Uma solução poderia ser o desenvolvimento de patentes para validar seu uso na população.

Nesse contexto, a própolis é uma substância natural não tóxica com múltiplas propriedades farmacológicas, incluindo anticancerígena, antioxidante, fungicida, antibacteriana, antiviral, anti-inflamatória, entre outras (AGARWAL et al., 2012; BARRIENTOS et al., 2013; BROWN et al., 2016; ANDRADE et al., 2017). Vários estudos relatam o uso desta substância nas áreas farmacêutica, medicinal, veterinária e odontológica, e os resultados comprovaram suas atividades farmacológicas (BRUSCHI et al., 2017; DE LUCA et al., 2017). A própolis demonstrou efeitos como redução da resposta inflamatória, melhora do sistema imunológico (BADEA et al., 2013; ASAWAHAME et al., 2015), e um importante efeito antimicrobiano (BROWN et al., 2016; ABBASI et al., 2018; ARAFA et al., 2018; KIM et al., 2019; VELOZ et al.,

2019) que amplia ainda mais o potencial de uso da própolis em odontologia e sua comercialização (FURTADO JR. et al., 2018).

A própolis é relatada na odontologia na prevenção de cárie dentária como agente anticariogênico na formulação de vernizes odontológicos (DE LUCA et al., 2014; FRANCA et al., 2014; KIM et al., 2019; NETO et al., 2019), na endodontia em solução para canais radiculares, medicação intracanal e cimentos endodônticos (CHUA et al., 2014; ALMEIDA et al., 2016; ABBASI et al., 2018), em periodontia nos enxaguatórios bucais para remoção de placas e tratamento da periodontite (BADEA et al., 2013; DEHGHANI et al., 2019; PEYCHEVA et al., 2019), na patologia em tratamentos para cicatrização de feridas, ulcerações aftosas recorrentes, terapia para herpes labial (ALMEIDA et al., 2016; ARAFA et al., 2018; JAUTOVA et al., 2019). Estudos clínicos indicam que o uso da própolis em odontologia não demonstrou efeitos adversos, mostrando bons resultados em vários pacientes com diferentes condições (ALMEIDA et al., 2016; EL-SOHAIFY E MASRY, 2014; DEHGHANI et al., 2019; NETO et al., 2019). Apesar de sua toxicidade ser pouco investigada, estudos demonstraram boa biocompatibilidade quando exposta a fibroblastos (DE LUCA et al., 2014; DE LUCA et al., 2017).

A aplicação estratégica da informação científica e tecnológica sobre o uso e formulação de extratos de própolis podem oferecer oportunidades para tecnologias de base científica alinhadas com políticas públicas para estimular a inovação. Há uma tendência para a aplicação de fitoquímicos com atividade farmacológica na odontologia, mas a eficácia não foi completamente elucidada. Portanto, o objetivo deste trabalho foi revisar sistematicamente e realizar um mapeamento das patentes sobre a eficácia da própolis na odontologia como agente antimicrobiano e o potencial em sistemas de liberação controlada. A hipótese nula é que a própolis não apresenta ação antimicrobiana e não é eficaz em sistemas de liberação controlada em aplicações na odontologia.

1.1 Objetivos

1.1.1 Geral

O objetivo da presente tese foi avaliar a literatura científica existente quanto ao potencial farmacológico da própolis na odontologia.

1.1.2 Específicos

Desenvolver uma revisão de escopo avaliando o potencial farmacológico da própolis na odontologia.

Realizar um mapeamento tecnológico da própolis como agente antimicrobiano na odontologia.

Avaliar as perspectivas futuras da própolis como agente antimicrobiano.

Desenvolver uma revisão sistemática avaliando o potencial da própolis em sistemas de liberação controlada.

2. PROJETO DE PESQUISA

Introdução

A periodontite é uma doença progressiva inflamatória crônica desencadeada por uma interação entre o biofilme bacteriano e a resposta do hospedeiro, levando a sangramento gengival e perda dentária, resultante destruição dos tecidos conjuntivos e ósseos (SUNANDHAKUMARI et al., 2018; ZAHID et al., 2018). A tendência atual de procedimentos reabilitadores funcionais e estéticos como implantes dentários para substituição de dentes perdidos têm despertado interesse de pacientes que desejam melhor função mastigatória e qualidade de vida. No entanto, em uma alta parcela da população, o volume insuficiente de osso saudável no local do implante devido a trauma, tumores e doenças periodontais, se torna insatisfatório impossibilitando o sucesso de terapias reabilitadoras, como implantes e próteses dentárias (RAD et al., 2017).

Dentre os diversos tratamentos para o problema disponíveis na literatura, a introdução da técnica de Regeneração Tecidual Guiada (RTG) foi exposta sob o objetivo de induzir a regeneração completa do tecido periodontal (VIEIRA et al., 2018). A RTG designa-se por uma técnica que envolve a utilização de barreiras físicas, e modo a evitar o contato de células epiteliais e conjuntivas na superfície radicular, de maneira que, impeça que o tecido conjuntivo de rápido crescimento migre para o defeito e que exista tempo para a regeneração do ligamento periodontal, cemento e osso (SUNANDHAKUMARI et al., 2018; VIEIRA et al., 2018).

No entanto, o sucesso da regeneração periodontal pode se tornar limitado através da colocação de enxertos ósseos e membranas em locais infectados, ou seja, com a presença de biofilme (REDDY et al., 2003). Um possível problema remanescente é que o sítio cirúrgico em si pode estar infectado no momento do procedimento de regeneração. Existem evidências consideráveis de associação entre biofilme bacteriano e membranas regenerativas usadas para RTG. Estudos sugerem que a entrega local, controlada e sob liberação de fármacos antimicrobianos pode ser benéfica adjunto à cirurgia de regeneração (DEEPAK, GOYAL e RATH, 2018; KARCZEWSKI et al., 2018; REDDY et al., 2003; XUE et al., 2014).

Além disso, a eliminação do nicho biológico para patógenos periodontais com cirurgia óssea leva a uma diminuição da detecção de patógenos nas membranas e

para maiores ganhos na inserção clínica. O desenvolvimento de nanofibras depositadas por plasma para liberação de antibióticos afim de prevenir a adesão bacteriana e formação de biofilme tem sido investigada em outras aplicações médicas (REDDY et al., 2003).

A clorexidina (CHX), uma solução antisséptica que tem sido usada no mundo todo desde 1954, é um produto seguro e altamente eficaz com ampla atividade antimicrobiana (WEINSTEIN et al., 2008). Dentre os antissépticos de uso oral, a clorexidina é um dos agentes antimicrobianos mais potentes estudados, é em geral utilizada como padrão em relação à potência de outros agentes (HORTENSE, 2010). É conhecida por ser contra uma ampla variedade de microrganismos Gram-positivos e Gram-negativos, incluindo a *Phorphyromonas Gingivalis* (BARBOSA et al., 2016; KARPINSKI & SZKARADKIEWICZ, 2015; SASSONE et al., 2003; XU et al., 2008).

CHX é uma molécula catiônica, 1,1'-hexametileno bis (5- [4-clorofenilo] biguanida) tendo a fórmula química $C_{22}H_{30}Cl_2N_{10}$ (KARPIŃSKI & SZKARADKIEWICZ, 2015). Nos materiais que incluem CLX como agente bactericida, ela é entrelaçada e de maneira gradual ocorre sua lixiviação para matar os microorganismos. O mecanismo comumente citado de ação da CHX, é explicado pela sua estrutura, na qual contém dois anéis clorofenólicos e dois grupos bis-biguanida, ligados simetricamente por cadeias de hexametilenica (HORTENSE, 2010), logo, as partes da molécula de CHX carregadas positivamente reagem com o grupos fosfato de lipopolissacarídeos na parede celular bacteriana e rompem a membrana, de modo irreversível, atuando como bactericida (BARBOSA et al., 2016). Em baixas concentrações, a CLX, apenas afeta a integridade da membrana, mas em concentrações citoplasmáticas precipitam, resultando em morte celular (CHEN et al., 2008; HORTENSE, 2010; SASSONE et al., 2008).

Para a técnica RTG é necessário que as membranas tenham propriedades mecânicas, físico-químicas e bioativas adequadas, boa resistência, além de serem flexíveis para proteger o defeito e fornecer a difusão da nutrição, oxigênio e substâncias bioativas que são vitais para a regeneração de ossos e tecidos moles. Para que uma segunda cirurgia seja evitada, a taxa de biodegradabilidade é um parâmetro de extrema importância determinada pelo no máximo 6 meses o tempo de biodegradação da membrana. Um dos principais requisitos para um biomaterial é sua biocompatibilidade em um ambiente específico, juntamente com a não-

citotoxicidade de seus produtos de degradação (MASOUD RAD et al., 2017; SUNANDHAKUMARI et al., 2018).

As pesquisas no campo da engenharia tecidual têm voltado sua atenção aos polímeros biodegradáveis no desenvolvimento de novos produtos que provoquem menor impacto ambiental. Os produtos produzidos com os polímeros sintéticos não biodegradáveis convencionais são considerados inertes em contato imediato com microorganismos, no entanto essa propriedade permite com que esses materiais apresentem um tempo longo de vida útil, levando a decomposição completa do seu descarte, em torno de aproximadamente 100 anos (FARIAS et al., 2016).

As nanofibras tornam-se interessantes para a engenharia de tecidos devido a sua capacidade de estrutura fibrosa imitar a matriz extracelular nativa (ECM) com alta área superficial, relação de volume e alta estrutura porosa com poros interconectados (MASOUDI RAD et al., 2017). Em especial, a polidioxanona (PDS) apresenta características únicas interessantes em comparação com outros poliésteres, suas propriedades mecânicas são semelhantes aos dois principais componentes estruturais em tecidos corporais, em especial a elastina e o colágeno (BOLAND et al., 2005; GOONOO et al., 2015).

A polidioxanona (PDS) é um polímero biodegradável, incolor, cristalino, que possui memória de forma, foi desenvolvido especificamente para suturas de fechamento de ferida, no entanto, desperta enorme interesse na concepção de scaffolds para a engenharia tecidual (BOLAND et al., 2005). O PDS se torna interessante na RTG principalmente para regeneração óssea pois ele, usualmente ele tende a perder 50% da sua força de ruptura inicial após 3 semanas e é completamente absorvido dentro de 6 meses.

O PDS tem sido usado em ortopedia, cirurgia plástica, administração de medicamentos e aplicações cardiovasculares. Ele é derivado do monômero paradióxanona através de um anel de abertura polimerização com calor e um catalisador organometálico como acetilacetona de zircônio, dietilzinco ou zinco L-lactato resultando em um poli (éter-éster) com uma estrutura molecular de $(-O - CH_2 - CH_2 - O - CH_2 - C = O)$. Exibindo uma fração cristalina de 55% e uma temperatura de transição vítrea entre $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $0\text{ }^{\circ}\text{C}$, possui baixo atrito superficial, permitindo que ele deslize tecidos facilmente. A falta de atrito juntamente com a sua memória dificulta a retenção de nós, por isso, é indicado sua fabricação em condutos vasculares, resistência de rebotes e torções (BOLAND et al., 2005; GOONOO et al., 2015).

Em geral, as membranas disponíveis comercialmente são feitas de polímeros, incluindo politetrafluoroetileno não biodegradável, ácido polilático (PLA) biodegradável, ácido poliglicólico (PGA), policaprolactona (PCL), policarbonato, gelatina, quitosana e colágeno (DING et al., 2015; HUANG et al., 2006; JIANG et al., 2015; LI & ZHANG, 2018; MASOUDI RAD et al., 2017; NIE & WANG, 2007). Embora produtos poliméricos presentes apresentem resultados positivos em estudos clínicos, suas baixas propriedades mecânicas, alta e rápida taxa de degradação e capacidade de regeneração óssea são ainda maiores desafios (SUNANDHAKUMARI et al., 2018).

Deste modo, outros polímeros e incorporações de cargas nos polímeros já existentes têm sido relatados na literatura em busca de resultados melhores aos atuais. Minerais como a hidroxiapatita (HA) sintética são comumente usados para tratar sítios de defeitos ósseos, visto que a sua composição cristalina e química está intimamente ligada aos componentes minerais do osso (LAL & DIXIT, 2012; YANG et al., 2019). Ela possui alta bioatividade, dureza ideal e excelente osteocondutividade, tendo uma abordagem promissora para preparar estruturas de tecido duro com melhores propriedades mecânicas e excelente osteocondutividade (FANG et al., 2010). A HA pode ser incorporada ao poli (ácido lático) (PLA) misturando homogeneamente esses dois componentes em uma solução à base de éter, usando sonicação e liofilização a fim de manter sua nanoestrutura. Além de possuir uma alta porosidade (> 90%) que pode aumentar o crescimento e sobrevivência de células, pode melhorar as propriedades mecânicas do suporte híbrido. A incorporação de nanocristais de HA também promove um aumento na adsorção de proteínas, como o fibrinogênio ou a albumina sérica bovina, o que pode promover a diferenciação osteogênica das CTMs (SUNANDHAKUMARI et al., 2018; YANG et al., 2019). Além disso, ela pode neutralizar os produtos ácidos da degradação do polímero, o que está levantando as preocupações de problemas inflamatórios in vivo (FANG et al., 2010).

Em um estudo recente (GOONOO et al., 2019), a utilização de nanofibras obtidas de PDS não demonstrou perturbar as funções fagocíticas dos monócitos e neutrófilos. Ele afirma que em comparação com fibras PDS puras, a incorporação de hidroxiapatita resultou em uma fibra individual mais uniforme e uma mineralização mais densa quando imersa em um fluido corporal simulado, local desenvolvido para nucleação, logo, a mineralização de nanofibras de PDS pode ser melhorada através da incorporação de um componente bioativo menor dentro do scaffold.

Além disso, a incorporação de hidroxiapatita em uma nanofibra de PDS mostrou recentemente induzir melhor mineralização em comparação com o poli (ácido láctico-co-ácido glicólico) (PLGA) / HA, este trabalho observou que a degradação ácida produtos inibiram o crescimento mineral (GOONOO et al., 2019). Partindo deste princípio, apesar de existirem estudos na literatura que mostram a utilização do PDS em scaffolds de maneira promissora, nosso estudo busca investigar pela primeira vez o uso de PDS/HA associado a CLX. Além disso, visa avaliar a reação tecidual óssea desse novo material experimental em um estudo *in vivo*.

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

Desenvolvimento, caracterização e avaliação *in vivo* de nanofibras biodegradáveis, osteocondutoras e sob liberação de fármaco para Terapia Regenerativa Guiada.

2.2. Objetivos específicos

- ✓ Obtenção de nanopartículas de hidroxiapatita via método de precipitação química por via úmida;
- ✓ Recobrimento de nanopartículas de hidroxiapatita via SHM;
- ✓ Adição das nanopartículas em diferentes concentrações e da clorexidina 2% nas soluções a base de PDS;
- ✓ Obtenção de nanofibras via *electrospinning*;
- ✓ Caracterização das nanofibras quanto a morfologia, análise química, citotoxicidade e atividade antimicrobiana;
- ✓ Ensaio *in vivo* em modelo animal com ratos;
- ✓ Análise histomorfológica das respostas ósseas.

A hipótese a ser testada é que a incorporação de PDS/HA + CLX nas nanofibras irá melhorar as propriedades mecânico-biológicas das nanofibras com base de PDS, inibir a formação de biofilme e induzir o reparo ósseo na calvaria dos ratos utilizados no estudo *in vivo*.

3. Materiais e métodos

3.1. Materiais

Na obtenção das nanofibras serão utilizados polidioxanona (PDS), diclorometano (DMC), hidroxiapatita (HA) e clorexidina (CLX).

3.2. Métodos

Este trabalho será dividido em dois tipos de ensaios: *in vitro* e *in vivo* (modelo animal). As seguintes etapas ocorrerão: obtenção de soluções com duas concentrações de nanopartículas; obtenção e caracterização das nanofibras via *electrospinning*; encapsulamento de fármacos nas nanofibras; avaliação das membranas quanto ao carregamento e a liberação medicamentosa e por fim, um ensaio em modelo animal utilizando ratos.

3.3. Caracterização das nanopartículas

A seguir estão listadas as caracterizações que serão realizadas neste trabalho.

3.3.1. Preparação e Caracterização de Nanopartículas de Hidroxifosfato de Cálcio

A metodologia será baseada no estudo de Deepak, 2018. As nanopartículas de hidroxiapatita (Sigma Aldrich - Merck KGaA, Darmstadt, Germany) suspensas serão preparadas através do método de precipitação química por via úmida. Logo, serão pesados 2,67 g de hidróxido de cálcio (Labsynth Produtos para Laboratórios Ltda, Diadema, SP – Brasil) e após dissolvê-los em 100 ml de água destilada. Será adicionado gota a gota 0,59 mL de ácido fosfórico (Labsynth Produtos para Laboratórios Ltda, Diadema, SP – Brasil) sob agitação contínua e vigorosa durante 1 h. A temperatura da reação deve ser mantida abaixo de 60 °C, para isso utilizaremos um termômetro digital. O precipitado filtrado será seco e sinterizado a 700 °C por 6 h em um forno de mufla. As partículas de hidroxiapatita preparadas em nanopartículas serão caracterizadas por zeta sizer, determinação do potencial zeta e FTIR.

3.3.2. Análise gravimétrica

É um método analítico quantitativo cujo processo envolve a separação e pesagem de um elemento. As nanopartículas serão mensuradas a seco para controlar o rendimento de cada tratamento após a hidrólise, utilizando a seguinte equação:

$$Y = \frac{MC \times MT}{MS \times MO} \quad (1)$$

onde MC é a massa de nanocristais de hidroxiapatita secos (10-15 min em forno a 105°C); MT é a massa da suspensão total, MS é a massa da suspensão antes de secar e MO é a massa de hidroxiapatita antes da hidrólise (BARBOSA et al., 2016).

3.3.3. Difração de Raios X

Esta técnica será empregada para identificar a estrutura do material, sua composição de fases, tamanho dos cristais. Será baseada no estudo de (ZHANG et al., 2008). Este tipo de análise é utilizada para determinar a estrutura de materiais cristalinos. A difração de raios será realizada para comparar a cristalinidade obtida após cada hidrólise. Os padrões serão coletados com um difractômetro multifuncional Panalytical Philips X'Pert PRO (Almelo, Países Baixos), com amostras montadas em uma bolacha de silício fixada em um suporte de amostra, usando radiação $\text{CuK}\alpha$ monocromática ($\lambda=1,5418 \text{ \AA}$), ângulo 2θ Bragg entre 5 e 50°, tamanho do passo de 0,026° e tempo por passo de 80 s à temperatura ambiente. As contribuições cristalinas para o sinal principal serão determinadas com a intensidade observada nos picos cristalinos tradicionais: -110, 110, 200 e 004, enquanto a contribuição amorfa que é atribuída ao sinal amplo observado a $2\theta \approx 18^\circ$. A equação de Debye-Scherrer será utilizada para estimar a cristalinidade:

$$L_{(100)} = k\lambda / (\beta \cos\theta)$$

Em que: $L_{(100)}$ é o tamanho do cristalito (nm), β é a largura total no meio máximo (FWHM), k é a constante de Scherrer (1,84), λ é o comprimento de onda do raio X (0,154 nm) e θ é o valor da metade do ângulo de difração.

3.3.5. Determinação de tamanho de partícula e Potencial zeta

O tamanho de partícula e o potencial zeta serão medidos no Equipamento Nanosizer Malvern Z (Worcestershire, Reino Unido), o índice de refração para hidroxiapatita irá ser considerado em 1,47 e as medidas serão realizadas a 25°C. Para análise de tamanho, será colocado 0,1 gL⁻¹ de suspensão de nanocristais de hidroxiapatita dentro de uma cubeta de plástico descartável, realizando 13 varreduras, repetido três vezes para cada amostra. Para o potencial zeta, as suspensões de nanocristais serão colocadas dentro das células capilares da Malvern e medidas usando o modelo de Smoluchowsky ($\kappa \cdot a = 1,50$). Serão realizadas dez varreduras e medidos três espécimes de cada amostra (BARBOSA et al., 2016).

3.3.6. Espectrometria no Infravermelho

Esta técnica permite uma seletividade espectral capaz de possibilitar determinações de diversos compostos simultaneamente. Os espectros infravermelhos serão registrados em Espectrômetro Spectrum Two FT-IR fabricado pela Perkin Elmer, Inc. (Londres, Reino Unido). O intervalo definido será de 500 a 4000cm⁻¹ e a resolução 2cm⁻¹. Para cada amostra, 10 varreduras serão realizadas (FANG et al., 2010).

3.3.7. Ressonância Magnética Nuclear

Essa técnica de caracterização, não convencional, permite a investigação da relação estrutura - propriedade com maior precisão. Nos nanocompósitos poliméricos o estudo da relação morfologia - propriedade é de grande interesse, pois a busca por respostas com relação à homogeneidade, dispersão de fases e interação entre os componentes. A espectrometria RMN 13C CP/MAS será realizada utilizando um espectrômetro Bruker de 500 MHz (Karlsruhe, Alemanha) a uma frequência de 250 MHz com um tempo de aquisição de 0,011s à temperatura ambiente. O espectro será registrado em 32 varreduras e será utilizada como solvente água (BARBOSA et al., 2016).

3.3.8. Microscopia de Força Atômica (AFM)

As imagens de microscopia de força atômica serão obtidas operando em modo *tapping* com um NanoScope IIIa, Multimode TM-AFM do microscópio de

medição Digital Instruments-Veeco (Plainview, NY, EUA), equipado com uma ponta de silício, com uma frequência de 300 kHz. Para obter resultados representativos, diferentes regiões das amostras serão digitalizadas (n=10) (BARBOSA et al., 2016).

3.3.9. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

O MEV será utilizado para a análise da morfologia e micro-estrutura das amostras visto que esta ferramenta de análise revela características da superfície da amostra. As membranas de nanocristais de hidroxiapatita terão sua morfologia analisada em Microscópio Eletrônico de Varredura marca SHIMADZU e modelo SSX-550. A corrente do feixe utilizado será de 1PA e a potência do feixe de 15kv (YU et al., 2014).

3.3.10. Morfologia, tamanho de partícula e área superficial

As nanopartículas serão analisadas por um microscópio eletrônico de transmissão (MET, FEI Titan 80-300) a fim de avaliar a morfologia e o tamanho de partícula. Para esta análise, serão preparadas suspensões coloidais através da dispersão das diferentes amostras em álcool etílico absoluto e banho de ultrassom durante 15 min. As amostras serão depositadas sobre um *grid* de cobre contendo um filme de carbono (400 mesh Cu, Ted Pella). A área superficial será obtida através do método Brunauer-Emmett-Teller. As amostras foram aquecidas a 110 °C por 2 h em vácuo antes do teste para remover vapor e ar absorvidos (YU et al., 2014).

3.4. Obtenção das nanofibras

A formulação será baseada no estudo de (KARCZEWSKI et al., 2018), as nanofibras serão obtidas via eletrospinação. Filamentos de sutura de polidioxanona (PDS) (PDS II; Ethicon, Somerville, NJ) serão cortados em pedaços e embebidos em diclorometano (DCM) (Sigma-Aldrich, St Louis, MO) à 4 °C por 48 h afim de remover a cor púrpura das suturas. Os filamentos de sutura PDS não tingidos serão dissolvidos em 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol (Sigma-Aldrich) de 10 % em peso sob condições de agitação. A fase de reforço serão as nanopartículas de hidroxiapatita recobertas com clorexidina e para critérios de comparação serão preparadas soluções somente com nanopartículas de hidroxiapatita e

somente com clorexidina, as quais serão adicionadas em concentrações de 0 % e 2 % (em peso) em relação a massa do polímero. Nanofibras contendo PDS sem antimicrobiano serão utilizadas como controle. A tabela 2 mostra os diferentes grupos que serão obtidos.

Tabela 1. Descrição das amostras.

Amostras	Nanopartículas	Porcentagem
PDS Puro	-	0%
PDS + 2% CLX	-	2%
PDS 2% HÁ	$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$	2%
PDS 3% HÁ	$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$	3%
PDS 2% HA + 2% CLX	$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH}) + \text{CLX}$	4%
PDS 3% HA + 2% CLX	$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH}) + \text{CLX}$	5%

As soluções de polímero contendo CLX 0 % e 2 % (PDS) serão sintetizadas separadamente dissolvendo 12 mg (isto é, 2 % em peso relativo ao peso total de PDS, 600 mg) de clorexidina, seguido por 48 h de agitação vigorosa. As diferentes nanopartículas serão homogeneizadas no DCM e levadas ao banho de ultrassom durante 15min a fim obter uma boa dispersão. Em seguida, o polímero será adicionado à esta solução e a solução resultante será submetida a agitação magnética durante 48 h a temperatura ambiente. A solução polimérica de colocada em uma seringa de 5 mL com uma agulha de 22 Gauge. A seringa será adaptada a uma bomba de infusão de seringa que controla a taxa de fluxo da solução polimérica e irão ser aplicadas sobre a agulha através de uma fonte de alta tensão, e um jato da solução será projetado e depositado sobre uma folha de alumínio em um coletor rotatório (90 rpm) com os parâmetros a serem definidos.

3.4.1. Caracterização das nanofibras

3.4.2. Estrutura cristalina

As nanofibras serão caracterizadas quanto a estrutura cristalina empregando-se um difratômetro de raios-X (X'Pert Pro) a 40 kV e 50 mA utilizando $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda=1.54$ nm) como fonte de radiação. Em cada amostra será

cortado um filete com comprimentos de fibra menores que 1 mm (LIU et al., 2015) e a orientação cristalográfica será calculada através da equação de Scherrer, citada anteriormente.

3.4.3. Composição química

As nanofibras serão avaliadas quanto à composição química através da técnica de espectroscopia Raman. Os espectros (n=3) serão obtidos usando uma grade de 1800 ranhuras/mm fornecendo uma resolução de 2 cm^{-1} . O espectro Raman será ajustado a linha de laser de 514 nm de um laser de argônio observando a radiação espalhada a 180° da radiação incidente ("back scattering") (Sen, Strosio e Dutta, 2011).

3.4.4. Morfologia e tamanho das nanofibras

A morfologia das nanofibras será avaliada por um microscópio eletrônico de varredura de alta resolução à 15 keV (MEV-FEG, Zeiss, Supra 35). As amostras serão montadas em stubs de Al e revestidas por pulverização catódica usando Au-Pd antes da imagem (BOTTINO et al., 2014). O diâmetro médio da fibra será calculado a partir de 25 fibras por imagem (4 imagens/grupo) usando o software ImageJ (National Institutes of Health, Bethesda, MD).

3.4.5. Topografia e rugosidade superficial

A metodologia será adaptada dos estudos de (ARDILA et al., 2019; JIANG et al., 2018). A topografia de superfície das nanofibras será observada em um microscópio de força atômica (AFM) utilizando modo não contato à temperatura ambiente (n=10) e a rugosidade superficial será obtida com o auxílio do software disponível. Antes da análise de AFM, as amostras serão secas durante a noite numa estufa de vácuo. Para cada grupo, 3 amostras foram visualizadas em 4 áreas aleatórias de $25\text{ }\mu\text{m}^2$ ao longo da malha de fibras, e os valores de rugosidade (R_a) serão calculados após a aplicação de uma primeira ordem em todas as superfícies usando o software Asylum Research versão 14.13.134.

3.4.6. Ensaio de viabilidade celular

O ensaio de viabilidade celular será realizado de acordo com a ISO 10993: 2018 e adaptada do estudo de (GOONOO et al., 2019). Serão selecionados

fibroblastos de camundongo L929 (2×10^4 / poço) e mantidos em meio de *Eagle* modificado por Dulbecco (DMEM) em placas de 96 poços durante 24 h. As amostras de nanofibras com o fármaco clorexidina, com a dimensão padronizada (5×1 mm) e esterelizadas, serão previamente incubadas em 1 mL de DMEM a 37°C e pH 7,2 durante 24 h, em condições estáticas para obter os eludatos ($n = 6$). O controle positivo utilizado será o grupo não tratado (apenas células de fibroblasto em DMEM, sem adição de eludato). Os eludatos dos espécimes serão aplicados em cada poço de placas de 96 poços previamente preparadas com fibroblastos de camundongo. A citotoxicidade produzida por cada grupo diferente será avaliada com tempo de exposição celular de 24 h. Após a remoção dos eludatos, será adicionado 180 µL de DMEM a 20 µL de solução de brometo de dimetiazol difeniltetrazólio (MTT) em cada poço. Após 4 h de incubação a 37 °C à 5 % de CO₂ no escuro, o precipitado de azul de formazan será extraído das mitocôndrias usando 200 µL/poço de DMSO. Através de um espectrofotômetro a um comprimento de onda de 540 nm, será obtida a absorção.

3.4.7. Ensaio de mineralização

Neste ensaio será utilizada a Alizarina (ARS) que é um corante vermelho e seletivo que faz ligação aos sais de cálcio. A coloração ARS será utilizada afim de quantificar a mineralização. As nanofibras serão fixadas em 1 mL de formaldeído por 10 minutos e depois coradas com 1 mL de alizarina 40 mM sob ajuste do pH por 30 min. Todas as nanofibras serão lavadas repetidamente nas placas de 6 poços com água destilada até que todo o corante não ligado seja lavado (solução de lavagem ficará clara e perderá o vermelho/rosa). As amostras serão transferidas para eppendorfs de 2 mL contendo 1,5 mL de ácido acético a 50 %. As nanofibras serão deixadas em ácido acético por 18 h à temperatura ambiente para garantir que todo o corante seja dissolvido. Após 18 horas, 500 µL da coloração solubilizada, será pipetada para um tubo de 1,5 mL 600 µL de NaOH 1 M para ajustar o pH a 4,1. Logo, 200 µL desta solução irá ser transferida para uma placa de 96 poços e absorbância medida a 550 nm usando um SpectraMax Plus 384 Espectrofotômetro de Microplacas (Molecular Devices) (RODRIGUEZ et al., 2012).

3.4.8. Perfil de Liberação

Esta análise permite a determinação da quantidade de fármaco liberada ao longo do tempo, revelando uma curva. O perfil de liberação será monitorado por espectrofotometria no Ultravioleta-Visível. A absorvância do meio será medida usando um espectrofotômetro UV-Vis V-630 (Jasco Inc. (Tóquio, Japão)). Em primeiro lugar, uma varredura será realizada nas nanofibras para determinar o comprimento de onda em que as leituras serão realizadas e o comprimento de onda utilizado de 360 nm. Em seguida, realizarão várias diluições obtendo várias concentrações diferentes. Essas soluções de diferentes concentrações irão ser levadas ao espectrofotômetro UV-Vis no comprimento de onda de 360 nm, a absorvância das soluções em várias concentrações será determinada, e então a curva de calibração irá se desenvolver. As membranas com fármaco serão pesadas (0,0030 g para cada amostra) e colocadas em frasco de vidro contendo 10 mL de solução tampão de fosfato (PBS) (pH 7) e a análise será realizada a cada 30 min. durante 4 h e, posteriormente, as leituras serão realizadas em 24 e 48 h. Os experimentos irão ser realizados em duplicata (BARBOSA et al., 2016).

Para determinação da porcentagem de liberação do fármaco serão utilizadas as seguintes fórmulas:

$$\text{Concentração de fármaco} \left(\frac{\text{mg}}{\text{ml}} \right) = (\text{inclinação} \times \text{absorvância}) \pm \text{interceptação} \quad (4)$$

$$\text{Quantidade de fármaco liberada} \left(\frac{\text{mg}}{\text{ml}} \right) = \frac{\text{concentração} \times \text{volume de dissolução banho} \times \text{fator diluição}}{1000} \quad (5)$$

$$\text{Porcentagem cumulativa liberada de fármaco} (\%) = \frac{\text{volume da amostra retirada (ml)}}{\text{Volume do banho (v)}} \times P(t - 1) + P_t \quad (6)$$

Onde: P_t é a porcentagem liberada no tempo t e $P(t - 1)$ a porcentagem liberada antes de ' t '.

3.4.9. Atividade antimicrobiana

3.4.9.1. Teste de difusão em ágar

P. gingivalis e *Fusobacterium nucleatum* será cultivada em condições anaeróbicas a 37 °C em de infusão de cérebro-coração agar (BHI), durante 24 h. As colônias de microorganismos ficarão então suspensas em BHI caldo suplementadas com 10 % de sacarose, a fim de fazer uma suspensão de 3×10^8

UFC mL⁻¹. A quantidade de células microbianas será ajustada através de espectrofotometria (espectrofotômetro, Quimis, Brasil) a 405 nm. Os microorganismos replicados 48 h antes serão suspensos em 5 ml de soro fisiológico estéril de acordo com a escala 0,5 de McFarland ($1,6 \times 10^8$ mo/ml), e depois o valor de microorganismos será ajustado para 10^7 microorganismos/ml, 25 microlitos da alíquota será dispensada nas placas de ágar sangue. Quatro amostras estéreis de 6 mm em forma de disco de cada um dos 5 grupos experimentais serão colocadas em placas de ágar-sangue cultivadas contendo os microorganismos. Após 5 dias de incubação, as zonas de inibição (em mm) serão determinadas através de um paquímetro digital (BOTTINO et al., 2013).

3.4.9.2 Teste de biofilme modificado

A metodologia será adaptada de Bottino (2013), as propriedades antimicrobianas das nanofibras serão avaliadas quantitativamente contra *P. gingivalis* e *F. nucleatum*. Amostras das nanofibras serão seccionadas medindo (15×15 mm²) e colocadas no dispositivo plástico CellCrown™ (Scaffdex, Tampere, Finlândia) e colocadas em placas de 24 poços.

As amostras testadas incluirão 6 grupos experimentais [PDS Puro, PDS + 2% CLX, PDS 2% HA, PDS 3% HA, PDS 2% HA + 2% CLX, PDS 3% HA + 2% CLX] e o controle (PCL/PU puro). *P. gingivalis* (ATCC 33277) serão cultivados durante 48 h anaerobicamente a 37 °C de infusão de cérebro-coração em caldo (BHI) contendo 5 g/l de extrato de levedura (BHI-YE) (Difco Laboratories, Detroit, MI, EUA) com solução de vitamina K/hemina a 5% v/v (Thermo Scientific, Pittsburgh, PA, EUA) em um frasco GasPak anaeróbio. Uma quantidade de 50 µL das suspensões bacterianas (ca. 10^6 bactérias) será inoculada em cada poço em quadruplicado com 2 mL de meio de crescimento apropriado.

Após condições anaeróbicas (24 h) para *P. gingivalis* e *F. nucleatum*, as amostras serão cuidadosamente removidas dos poços com uma pinça estéril, lavadas suavemente duas vezes com 1 mL de solução salina a 0,9% e suspensas em 2 mL de 0,9% soro fisiológico, seguido por sornicação para 3 vezes 10 seg (30 W) e vortex por 30 seg. Para cada amostra, 2 diluições serão plaqueadas, uma não diluída e outra diluída ($100 \times$). As bactérias desalojadas de biofilme serão plaqueadas em placas de ágar sangue anaeróbio (Fisher Scientific, Pittsburgh, PA, EUA). As placas contendo os microorganismos serão

incubadas em condições anaeróbicas durante 48 h. Logo, as unidades formadoras de colônias (UFC / mL) serão quantificadas e comparadas com o controle PDS. Dois biofilmes adicionais por grupo serão incluídos para avaliação qualitativa da inibição do biofilme via SEM.

Logo, as nanofibras serão lavadas com PBS para remover bactérias não ligadas e fixadas em formaldeído tamponado a 4% (Sigma–Aldrich, Steinheim, Germany). Após a desidratação, serão imersas em gradientes ascendentes de etanol e etanol/hexametildisilazano (Sigma–Aldrich, Steinheim, Germany), amostras serão montadas em stubs de Al, sputtercoated com ouro e imagens por SEM (BOTTINO et al., 2013).

3.4.10. Ensaio de biodegradação *in vitro* das nanofibras

Baseada no estudo de (XUE et al., 2014) as amostras (n=10) serão confeccionadas em formato circular de 2cm de diâmetro, pesadas em balança analítica de precisão, e inseridas em placas de 12 poços com solução de 5% de PBS, com pH de aproximadamente de 7,5 em estufa à 37°. O peso das amostras será utilizado para comparação em relação ao tempo para obter a degradação do perfil das membranas. A morfologia e as propriedades elásticas durante a degradação serão mensuradas pelo SEM e teste de elasticidade, respectivamente.

3.3. Ensaio *in vivo*: Modelo Animal com Ratos

O projeto está sendo submetido ao Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEAA) da Universidade Federal de Pelotas (UFPel). Os procedimentos a serem executados estarão de acordo com as exigências da diretriz brasileira para o cuidado e a utilização de animais para fins científicos e didáticos (CONCEA, 2013) e com as diretrizes para experimentação animal do ARRIVE (KILKENNY et al., 2013). As reações teciduais ósseas dos diferentes grupos experimentais serão avaliadas em 105 animais, após 3 períodos experimentais (7, 14 e 28 dias; n=5 por período).

Ratos Wistar machos (n=5) serão selecionados com idade aproximada de 3 meses e peso variando entre 350g e 400g e permanecerão em gaiolas plásticas (dois por gaiola) localizados em racks ventilados a 22°C com ciclo de luz de 12 h (luzes acesas das 7:00 até às 19:00 h). Para identificação, será

marcada individualmente a cauda dos animais. Durante a realização dos experimentos, serão fornecidos água filtrada *ad libitum* e dieta padrão de alimentação (gavagem).

Eles serão distribuídos aleatoriamente em um dos sete grupos experimentais: Grupo C (controle), Grupo 1 (PDS puro), Grupo 2 (PDS + 2% CLX), Grupo 3 (PDS + 2% HA), Grupo 4 (PDS + 3% HA), Grupo 5 (PDS + 2% HA + 2% CLX), Grupo 6 (PDS + 3% HA + 2% CLX).

3.3.1. Cálculo amostral

Para cada uma das sete condições experimentais descritas, nós demandaremos de 5 animais em cada grupo e condição de tratamento para identificar diferenças estatisticamente significantes e biologicamente relevantes entre o desempenho basal e os efeitos do tratamento. Esse tamanho amostral baseia-se no cálculo do poder de análise. O nosso objetivo será de coletar todos os dados em, ao menos, 80% dos ratos. Nós estimamos a perda de dois ratos em cada grupo experimental, dado à idade dos animais e a duração de três meses dos experimentos. Iniciando com 5 animais por grupo etário e condição de tratamento, nós devemos ter dados provenientes de, pelo menos, 5 ratos. Baseado nesses números, se o tratamento causar a variação da média amostral em, ao menos, 0.82 desvio padrão, esperamos ter 80% de chance de identificar uma significância estatística. Na maioria dos casos, uma variação de 0.82 desvio padrão é bastante pequena, logo nosso delineamento deve ser eficiente na detecção de efeitos cientificamente relevantes.

3.3.2. Intervenção

A metodologia será adaptada de Furlaneto et al., (2010). Os animais serão anestesiados com 70 mg/kg de quetamina (Virbac do Brasil Indústria e Comércio Ltda, São Paulo, SP, Brasil) 6 mg/kg de xilazina. O uso de quetamina se justifica por ser uma droga de neurofarmacologia complexa, uma vez que a mesma interage com vários tipos de receptores em diversos locais de ligação, possui uma ação antidepressiva e apresenta efeitos neuroprotetores em estudos animais (SILVA et al., 2010) e a xilazina é principalmente usada por suas

propriedades sedativas e analgésicas, ambas são eliminadas pela urina (VEILLEUX-LEMIEUX et al., 2013).

Será realizada tricotomia na região da calota craniana dos animais e a área será desinfetada com solução de álcool iodado. Após o preparo asséptico, uma incisão semilunar será feita no couro cabeludo na região anterior do calvário, permitindo a reflexão de um retalho de espessura total em direção posterior. Um DSC de 5 mm de diâmetro será feito com uma peça de mão de baixa velocidade e uma broca de aço redonda número 6 (KG Sorensen, São Paulo, São Paulo, Brasil) sob irrigação constante com solução salina estéril e aspiração. O defeito inclui uma porção da sutura sagital. Uma marca em forma de L será feita com 2 mm de comprimento e 2 mm posterior às margens do defeito cirúrgico, utilizando uma pequena broca de carboneto cônico e um stent cirúrgico. Os longos eixos das marcas em L localizam-se no eixo longitudinal que bissecta o defeito cirúrgico. As marcas serão preenchidas com resina composta (Figura 1). Seu objetivo será permitir a identificação da linha central do defeito original durante o processamento laboratorial e também ser usado como referência para localizar as margens ósseas originais do defeito cirúrgico durante a análise histométrica. No Grupo C, o defeito cirúrgico será preenchido com uma apenas coágulo de sangue. Os tecidos moles serão então reposicionados e suturados para obtenção do fechamento primário (4,0 Vicryl) (Vicryl Ethicon, Johnson & Johnson, São José dos Campos, SP, Brasil).

Após procedimentos experimentais, os animais serão colocados em gaiolas individuais até sua recuperação da anestesia. Será injetado intramuscularmente um analgésico opióide (50mg/kg) (Tramal 50, Pfizer Indústria Farmacêutica, Guarulhos, Brasil).

3.3.3. Eutanásia

Cada grupo de animais será dividido em 3 subgrupos e para a sacrifcação em 7, 14 e 28 dias após a intervenção (n=5/grupo em cada ponto de tempo). Eles serão eutanasiados com sobredose de anestésico Isoflurano (Virbac do Brasil Indústria e Comércio LTDA, Brasil), por via inalatória. O corpo será desarticulado e dissecado para isolar a cabeça. Em seguida, com um disco de

diamante de baixa velocidade (KG Sorensen, São Paulo, Brasil), o osso será seccionado transversalmente para separar a região com as cavidades cirúrgicas.

3.3.4. Processamento histológico

Cada fragmento será armazenado individualmente em formalina com tampão neutro a 10% durante 48 h, após esse período, serão enxaguados com água e depois descalcificados em solução de EDTA a 16%. Após a descalcificação inicial, cada espécime irá ser dividido longitudinalmente em dois blocos, exatamente ao longo da linha central do defeito cirúrgico original, usando o longo eixo de ambas as marcas L como referência. Cortes transversais serão então feitos usando o eixo curto de cada marca L como referências. Cada espécime medirá 9 mm de comprimento ao longo do eixo longitudinal que atravessa o centro do defeito, permitindo a identificação das margens originais do defeito cirúrgico durante as avaliações histológica e histométrica. Após a completa descalcificação, eles serão processados e incluídos em parafina. Secções em série, com 6 mm de espessura, serão cortadas em uma direção longitudinal começando no centro do defeito cirúrgico original. As secções serão coradas com hematoxilina e eosina ou Tricromo de Masson para análise por microscopia de luz.

3.3.5. Análise histomorfológica

Os critérios a seguir serão estabelecidos com o objetivo de produzir uma avaliação objetiva dos infiltrados inflamatórios agudos (neutrófilos) e crônicos (linfócitos, plasmócitos, histiócitos). Os infiltrados inflamatórios tanto agudos como crônicos serão graduados em uma escala de 1-4, com 1 representando uma quantidade mínima de células e 4 representando uma quantidade muito grande de células. Se nenhuma célula for observada, uma nota de 0 será dada. Uma nota média para cada grupo irá ser determinada. Quatro cortes histológicos, representando o centro do defeito cirúrgico original, serão selecionados para as análises histológica e histométrica, a fim de aumentar a confiabilidade dos dados utilizados na análise estatística. As imagens das seções histológicas serão capturadas por uma câmera digital conectada a um microscópio de luz com uma ampliação original de 10x 10. As imagens digitais irão salvar em um computador

e depois copiado para o software "Image-Pro Plus versão 4.5" (Media Cybernetics, Silver Springs, Maryland, EUA), que irá ser usado para análise histomorfométrica. Os critérios utilizados por Nagata *et al.* 2010 serão realizados para padronizar a análise histomorfométrica das imagens digitais:

1. A Área Total (AT) a ser analisada corresponda a toda a área do defeito cirúrgico original. Essa área será determinada identificando-se primeiro as superfícies externa e interna do calvário original nas margens direita e esquerda do defeito cirúrgico e, em seguida, ligando-as às linhas desenhadas seguindo suas respectivas curvaturas. Considerando o comprimento total da amostra histológica, 2 mm serão medidos a partir das bordas direita e esquerda da amostra em direção ao centro, a fim de determinar as margens do defeito cirúrgico original. A área óssea recém-formada (NFBA) e as áreas dos remanescentes dos materiais implantados, denominadas Nova Área Bioativa de Vidro (NBGA) e Área de Sulfato de Cálcio (CSA), irão ser delineadas dentro dos limites do TA. 2. O TA irá ser medido em mm² e será considerado como sendo 100% da área a ser analisada. Os grupos experimentais também serão medidos em mm² e calculados como porcentagem do TA.

3.4. Análise Estatística

A análise estatística dos dados de viabilidade celular, através da absorvância, será realizada utilizando o programa SigmaPlot 12 (Systat Inc, San Jose, CA, EUA) através da análise de variâncias ANOVA e seguida pelo teste de Tukey. Para o teste antimicrobiano as comparações para os halos de inibição serão realizadas por testes de soma by Wilcoxon rank-sum tests. Um nível de significância de 5% será utilizado para as análises nos testes *in vitro*.

Os dados histológicos serão analisados estatisticamente e as diferenças de grupo calculadas utilizando software estatístico SPSS (versão 20.0, SPSS, Inc., Chicago, EUA). Os testes não-paramétricos irão comparar as diferenças entre os grupos. Múltiplos grupos serão comparados utilizando os testes de Kruskal Wallis e Mann-Whitney U com correção de Bonferroni em p=0,05.

ORÇAMENTO

Descrição	Custo unitário (R\$)	Custo total (R\$)
PDS	298,00	298,00
CellCrownTM	298,53	298,53
Placas de 24 poços	12,71	127,10
EDTA pa	80,50	80,50
BHI caldo	395,43	395,43
Hidroxiapatita	941,00	941,00
Meio ágar sangue	416,59	416,59
Anaerobac	336,00	672,00
Tampão fosfato	28,62	28,62
Placas de petri descartáveis	21,95	109,75
Broca de aço nº6	10,56	105,60
Disco de diamante	80,91	404,55
Fio de sutura Vicryl	329,00	1645,00
Seringas de insulina	35,85	71,70
Anestésicos	136,00	1360,00
Paraformaldeído tamponado 4%	85,87	85,87
Formalina	6,39	6,39
Ácido nítrico	45,00	45,00
Parafina	29,99	29,99
Lâmina de bisturi	42,00	42,00
Álcool iodado	15,25	30,50
Soro fisiológico	3,33	33,30
Meio Ágar BHI	318,17	318,17
Tramal 50	52,42	524,10
Lixas para desgaste	1,50	9,00
Luvras para procedimento	19,99	39,98
Máscaras	6,49	6,49
Gorro	6,99	6,99
Papel alumínio	6,00	6,00
Despesas com impressão	420,00	420,00
Gastos com apresentação em congressos	2800,00	2800,00
TOTAL	7481,04	10417,15

* O financiamento pelos recursos próprios dos pesquisadores.

5 CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO

Tabela 3 - Cronograma das atividades do projeto de tese.

	2018		2019		2020		2021	
Atividades	1º Sem.	2º Sem.	1º Sem.	2º Sem.	1º Sem.	2º Sem.	1º Sem.	2º Sem.
Cumprimento dos créditos	X	X	X	X	X	X		
Levantamento bibliográfico	X	X	X	X	X	X	X	X
Elaboração do projeto de tese		X	X					
Defesa da qualificação			X					
Obtenção das nanopartículas			X					
Aprovação pelo Comitê de Ética (CEEAA)			X					
Caracterização das nanopartículas			X					
Encapsulamento de fármacos			X					
Avaliação do carregamento e liberação de fármacos				X				
Obtenção das nanofibras por electrospinning				X				
Caracterização das nanofibras				X				
Testes microbiológicos				X	X			
Aquisição e marcação dos ratos						X		
Intervenção nos ratos						X		
Eutanásia						X		
Processamento histológico						X		
Análise e interpretação						X		
Elaboração de artigos científicos						X	X	
Submissão de artigos científicos							X	
Participação em congressos e eventos científicos							X	
Redação da Tese						X	X	X
Defesa da Tese								X

3. RELATÓRIO DE TRABALHO DE CAMPO

Durante o desenvolvimento do projeto, encontramos na literatura um polímero promissor devido ao baixo custo e principalmente pela sua ampla variedade de aplicações desde a indústria alimentícia à saúde. Esse polímero foi sintetizado junto ao laboratório Lacopol da Faculdade de Química - UFPel e apresentou resultados satisfatórios comparado aos resultados encontrados na literatura. Logo após, foi realizada a obtenção das nanofibras que foram espinadas e caracterizadas. No entanto, durante o processo de espinar, o equipamento do eletrospinning da Faculdade de Agronomia – UFPel apresentou sinais de problemas, a eletrofiação estava sendo depositada na porção posterior e ao redor da caixa acrílica acoplada. Por conseguinte, devido a situação mundial originada a partir da pandemia COVID-19, o projeto inicialmente proposto em 2019 não pôde ser finalizado, dando origem a um novo de projeto de um hidrogel que se encontra em fase de desenvolvimento.

Ao longo do período de doutorado, tive a oportunidade de desenvolver vários projetos secundários ao projeto de tese inicial. Dentre estes, um projeto muito especial foi o intitulado: “*Are propolis extracts potential pharmacological agents in human oral health? - A scoping review and technology prospecting*”. Pode-se dizer que este projeto compreende uma síntese sobre o assunto que mais tive o privilégio de trabalhar no laboratório, que foram os fitoterápicos. Em minha trajetória como pesquisadora, tive a honra de trabalhar com os seguintes extratos naturais: *Tagetes minuta*, *Bixa orellana*, *Mentha piperita*, *Butia capitata*, *Copaifera sp.* e própolis (artigo 1 da tese já publicado), além dos compostos naturais de bromelina, ficina e papaína. Artigos científicos foram publicados resultantes das investigações desses fitocompostos e extratos de plantas medicinais, bem como uma patente foi depositada de agentes clareadores contendo derivados de produtos naturais.

Em razão da pandemia que atrasou significativamente o acesso e o tempo previsto para execução dos ensaios, bem como a escassez de recursos para compra de parte dos insumos necessários para o desenvolvimento da pesquisa original, decidi-se que a revisão sistematizada do estágio atual da própolis como agente terapêutico e incorporado a sistemas de entrega controlada de fármacos em aplicações odontológicas, bem como da prospecção tecnológica desse produto natural seriam os objetivos da presente tese. O objetivo do primeiro artigo consistiu na realização de uma revisão de escopo e uma busca em bases de dados de patentes de depósitos de propriedade intelectual foi realizada abordando o estado da arte da aplicação de própolis na odontologia. O segundo artigo foi uma revisão sistemática da literatura resgatando

um pouco do antigo projeto, visando a aplicação da própolis em sistemas de entrega controlada de fármacos para odontologia.

A própolis foi escolhida como tópico desta tese por ser um composto natural não tóxico que contém múltiplas propriedades farmacológicas comprovadas cientificamente e por demonstrar efeitos na redução da resposta inflamatória e melhoria do sistema imunológico além da sua importante ação antimicrobiana, com a qual demonstra ser um potencial agente que pode auxiliar na reparação e regeneração tecidual.

Conforme mencionado anteriormente, em virtude do cenário de pandemia que ainda vivemos e o prazo do doutorado estipulado, foi optado para esta defesa, a utilização destes projetos secundários desenvolvidos durante o período de doutoramento.

ARTIGO 1

O presente artigo foi publicado em 2021 no periódico Journal of Ethnopharmacology - *Fator de impacto: 4.360 (2020) Qualis A2* e desenvolvido sob a orientação do professor Rafael Guerra Lund.

Are propolis extracts potential pharmacological agents in human oral health? - A scoping review and technology prospecting

Andressa da Silva Barboza¹, Juan Pablo Aitken-Saavedra^{1,2}, Monika Lamas Ferreira¹, Andreza Maria Fábio Aranha³, Rafael Guerra Lund^{1,4*}

¹ Post-graduate Program in Dentistry, Laboratory of Oral Microbiology, School of Dentistry, Federal University of Pelotas, RS, Brazil,

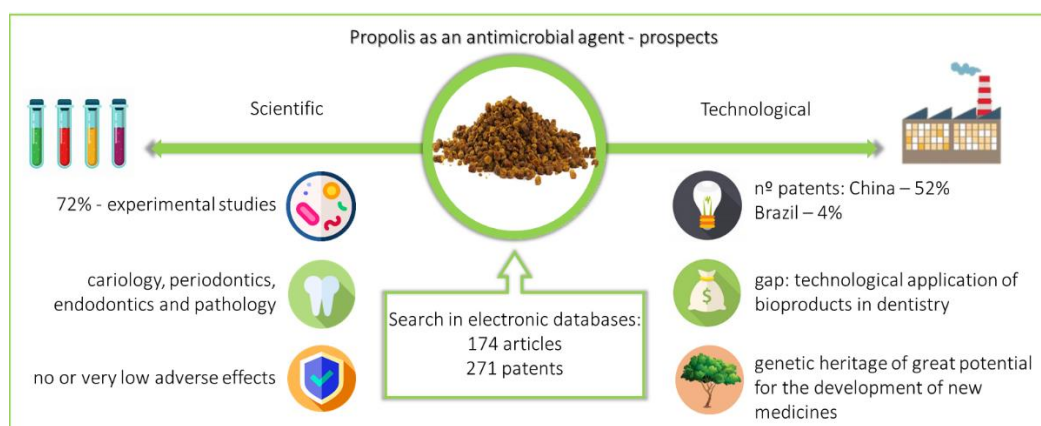
² Department of Oral Pathology and Medicine, Faculty of Dentistry, University of Chile, Santiago, Chile,

³ Post-graduate Program in Integrated Dental Sciences, School of Dentistry, University of Cuiabá, Cuiabá, MT, Brazil,

⁴ Post-graduate Program in Biochemistry and Bioprospection, Federal University of Pelotas, Pelotas, RS, Brazil

* Corresponding author: Prof. Rafael Lund, Postgraduate Program in Biochemistry and Laboratory of Oral Microbiology, School of Dentistry, Federal University of Pelotas (UFPe) – Gonçalves Chaves Street, 457/ Rm 503, Zip code: 96015-000, Pelotas, RS, Brazil, Tel/Fax: + 00 55 53 3222-6690; E-mail: rafael.lund@gmail.com.

Graphical Abstract



Keywords: Anti-Infective Agents; Anti-Bacterial Agents; Propolis; Intellectual Property; Patents; Scoping Review.

ABSTRACT

Ethnopharmacological relevance: The antimicrobial potential of propolis - a honey bee product - was correlated with its traditional use as a natural medicine, mainly known for antimicrobial and antioxidant properties. Moreover, research on natural products in dentistry has increased in recent years in the search for products with greater therapeutic activity, lower toxicity, better biocompatibility, and more affordable cost to the population.

Objective: Considering that the beneficial effect of propolis is acknowledged for several oral conditions, this study aimed to synthesize the research and technological forecasts of existing evidence on the use of propolis extract as a potential antimicrobial agent in dentistry.

Methods: Studies were identified through an investigation in the PubMed, Web of Science, Scopus, SciFinder, and Scielo electronic databases. Additionally, the following patent databases were screened: Google Patents, WIPO, INPI, Espacenet, and Questel Orbit. The data were tabulated and analyzed using Microsoft Office Excel 2013 and Questel Orbit.

Results: A total of 174 scientific articles and 276 patents fulfilled all the criteria and were included in the investigation. The highest number of patents ($n = 144$) was produced by China. Additionally, the most prevalent studies were performed on an experimental basis (72%), followed by clinical studies ($n = 27$) and review articles ($n = 21$). The effect of using propolis has been extensively observed in

oral care products, periodontics, pathology, and cariology, among other dental specialties.

Conclusion: It was possible to identify the current scientific and technological scenario of the application of propolis in dentistry, with the number of patents increasing in recent years. However, all studies related to the use of propolis in dentistry have shown a potentially safe antimicrobial agent in an extensive field of application.

Introduction

The oral biofilm is rich in microorganisms, including bacteria and fungi, which under favorable conditions may be harmful to health. For combating these oral health problems, there are various antibiotics and antifungals and synthetic or natural drugs (Bezerra et al., 2015; Brown et al., 2016). The number of studies with natural products is increasing because of the possibility to obtain bioactive elements that may be used for both therapeutic purposes and the development of medicines with applications in dentistry (Ahangari et al., 2018; Ishida et al., 2011). Although there is scientific evidence proving the effectiveness and obvious advantages of phytotherapy, such as lower toxicity, better biocompatibility, and potentially more affordable cost to the population (Almeida et al., 2016), it is still discriminated against by health professionals. One solution could be the development of evidence-based patents to validate its use in the population.

Propolis is a non-toxic natural substance with multiple pharmacological properties, including anti-cancer, antioxidant, fungicide, antibacterial, antiviral, and anti-inflammatory, among others (Andrade et al., 2017; Agarwal et al., 2012; Barrientos et al., 2013; Brown et al., 2016; Peycheva et al., 2018). Several studies report the use of this substance in pharmaceutical, medicinal, veterinary, and dental fields, and the results have proven its pharmacological activities (Bruschi et al., 2017; de Luca et al., 2017; de Rezende et al., 2008). Propolis has shown effects such as reduced inflammatory response, improved immune system (Asawahame et al., 2014; Badea et al., 2013; de Rezende et al., 2008), and an important antimicrobial effect (Abbasi et al., 2018; Arafa et al., 2018; Brown et al., 2016; de Rezende et al., 2008; Kim et al., 2019; Veloz et al., 2019) that further

extends the potential use of propolis in dentistry and its commercialization (Furtado Jr. et al., 2018).

The strategic application of scientific and technological information on the use and formulation of propolis extracts may provide opportunities for science-based technologies aligned with public policies to stimulate innovation. There is a trend towards the application of phytochemicals with pharmacological activity in dentistry, but the effectiveness has not been completely elucidated. Therefore, this scoping review proposed to identify and compile the scientific and technological evidences regarding the antimicrobial activity of propolis extracts, as well as advances in research and prospects for the development of herbal medicines for dental use.

2. Methods

This scoping review was performed according to the guidelines of The Joanna Briggs Institute (Peters et al., 2015), following the four-phase flow diagram of the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) statement (Moher et al., 2015).

2.1. Search strategy and study selection

Two independent reviewers (A.S.B. and J.P.A.) searched the literature until January 1, 2020. The following databases were screened: MedLine (PubMed), SciFinder, Web of Science, Scopus, and Scielo. Moreover, a hand search was performed on four patent databases: Google Patents, Espacenet, World Intellectual Property Organization (WIPO), and National Institute of Industrial Property (INPI). The Questel Orbit online system (Paris, France) was accessed to retrieve patent documents related to propolis extracts in pharmaceutical preparations. This system allows searching and analyzing patents over 90 authorities. Table S1 describes the search strategy and the guiding question was as follows: What is the antimicrobial potential of propolis in the treatment of human oral diseases?

Furthermore, a patent search was also performed using the International Patent Classification (IPC) with the following codes: A61K-6/00 (preparations for dentistry), A61K 35/644 (beeswax; propolis; royal), A61C (dentistry; apparatus or methods for oral or dental hygiene), and A61K 8/00 (preparations for cleaning the

teeth or mouth). As with most applications, each patent may have more than one IPC. These codes were identified to create a specific patent search and retrieval. The references cited in the articles included in this study were also verified. After identifying the articles in all databases, they were imported to the Endnote X7 software (Thompson Reuters, Philadelphia, PA, USA) to remove duplicates.

2.2. Eligibility criteria

The inclusion criteria comprised studies and patents that investigated the antimicrobial potential of propolis for the treatment of oral diseases. This application is related to different areas of science and technology. All titles and abstracts of the studies and patents were analyzed and selected according to the eligibility criteria. There were no restrictions for language and year of publication.

2.3. Data collection

Study characteristics, demographic information, enrollment criteria, microorganisms investigated, antimicrobial assays, concentration and time of propolis application, results, control and experimental groups, and sample size (Supplementary Table S2 and S3) were extracted independently by two reviewers (A.S.B. and J.P.A.). The missing information was sought from authors and/or inventors. The reviewers assessed the complete articles and patents independently and in duplicate. Any disagreement on the eligibility of the studies included was resolved through discussion and consensus and, in case of disagreement, a third reviewer (M.L.F.) decided whether the article should be included. All titles and abstracts of the articles and patents found were analyzed and selected according to the eligibility criteria. The reference lists of the studies included were hand-searched for additional articles. Full copies of all potentially relevant studies were identified. Studies that met the inclusion criteria or had insufficient data available in the title or abstract were selected for a full analysis. The authors of the studies were contacted in case of missing data (e.g., data provided in graphs) and these studies were only included if the authors provided the missing information. The data were extracted by consensus between the two researchers who conducted the collection.

2.4. Data analysis

Items of scientific and technological information were tabulated and demographically analyzed in the Microsoft Office Excel 2013 software (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA). Additionally, the search and analysis of patent applications were conducted in the Questel Orbit online system (Paris, France). Two reviewers (A.S.B. and J.P.A.) trained to use the software conducted the analyses independently. When information was missing, the authors of the studies were contacted by e-mail to retrieve the missing data. If there was no response within two weeks of sending the first e-mail, a second e-mail was forwarded. If the authors did not respond within one month after the first contact, the missing information was not included. The data of interest were tabulated, as well as demographic data (year, country), names of applicants or authors, names of inventors, pharmacology application, priority countries, and type of study. The data referring to the microorganisms investigated, chemical characterization and toxicity used and the main findings of the studies included were also extracted (Table 1). Due to the high degree of heterogeneity in terms of different studies and methodologies, performing a meta-analysis was considered inappropriate.

3. Results

3.1. Study selection

The search initially retrieved 2415 scientific articles and, after removing the duplicates, 2092 studies were selected. After reading the titles and abstracts, 1915 studies were excluded (Figure 1). Out of 177 studies selected, three were excluded for not meeting the eligibility criteria, as they were not related to antimicrobial application. After carefully analyzing the full texts, 174 studies were selected. Moreover, the patent database search initially identified 3975 patents. After removing duplicates, this number was reduced to 2620. A total of 2318 patents were excluded after reading the titles and abstracts as they were not related to the use of propolis in the oral cavity, resulting in 276 patents included in the analysis. The last electronic search was conducted on January 1, 2020. Figure 1 shows a flowchart summarizing the selection process of articles and patents.

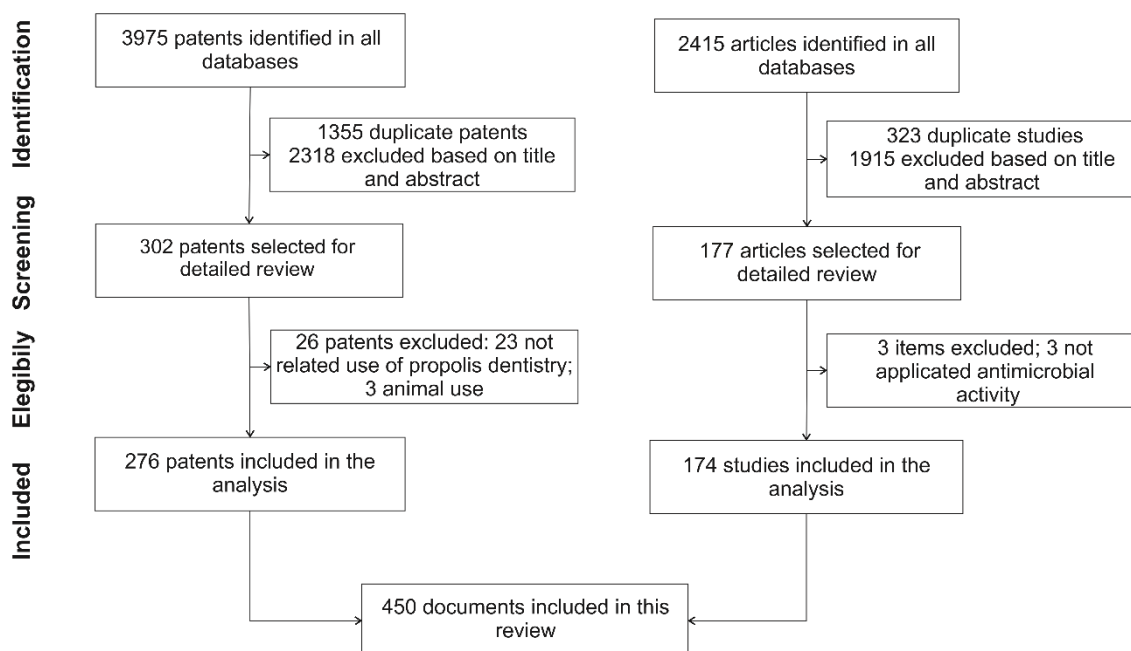


Figure 1. Flowchart of the selection process of patents and articles according to the Prisma Statement (Moher et al., 2015).

3.2. Characteristics of the articles included

From the articles included, 72% were experimental studies (Supplementary Table S2) and the agar diffusion test was the most used methodology, found in 41 *in vitro* studies, followed by the determination of minimum inhibitory concentration (MIC) (15). The main microorganisms tested were *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, and *Enterococcus faecalis*, respectively.

Supplementary Table S3 shows the demographic data from the articles included in this study. When the scientific evidence produced was analyzed, 21% of articles published were from Brazil and 17% from the United States (Figure 2c). All clinical studies showed that conventional antimicrobial therapies combined with propolis in the composition have no or very low adverse effects and the evidence showed significant improvement in these treatments. In general terms, our research showed extensive use of propolis in cariology, periodontics, endodontics, and pathology, among other dental specialties, according to the reviews in Table 1 and Supplementary Table S4.

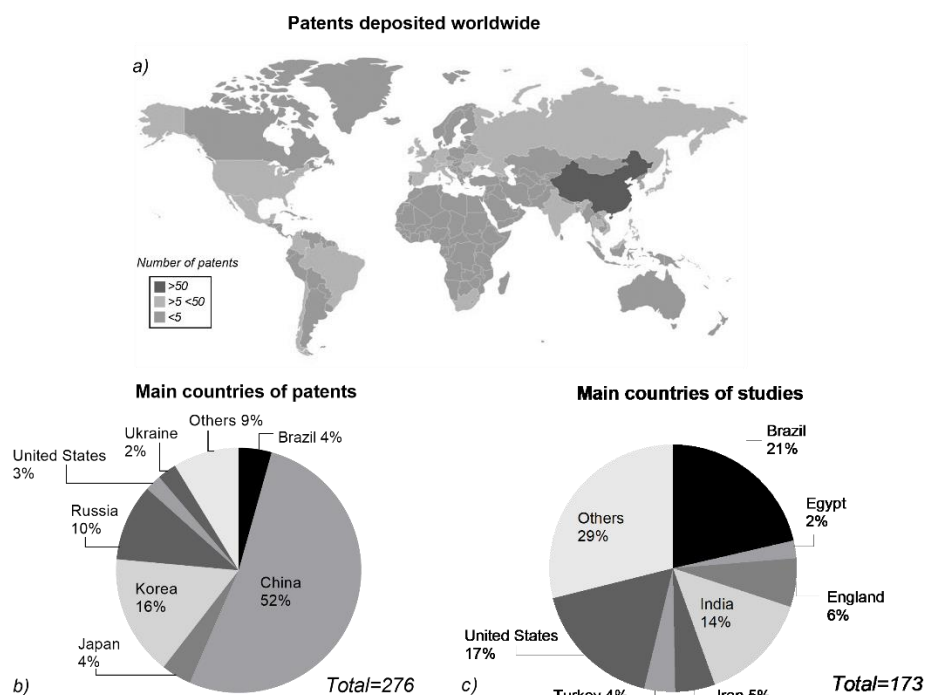


Figure 2. Scientific and technological production of dental products with propolis in the world: (a) patents produced worldwide; (b) main countries of patents produced, and (c) studies published on the use of propolis in dentistry with antimicrobial action (1987-2019).

3.3. Characteristics of the patents included

Propolis patents presented several applications in dentistry with applicability for potential commercial purposes (Figure 3 and Supplementary Table S5). The country that most produced propolis patents was China (52%), followed by Korea (16%) and Russia (10%) (Figures 2a and 2b). Moreover, there was an increase in the number of patents between 2014 and 2018 (Figure 4) and the same pattern was found for the number of studies. To identify the main companies that work with compositions involving propolis as an antimicrobial agent, a preliminary analysis was performed to map the market of this sector worldwide. Figure 5 describes the main companies operating in this sector by country and the main areas of activity. From the multinational companies, Nippon Zettoc (Shinjuku-ku, Japan) stands out, which is a global leader with five patents produced by China.

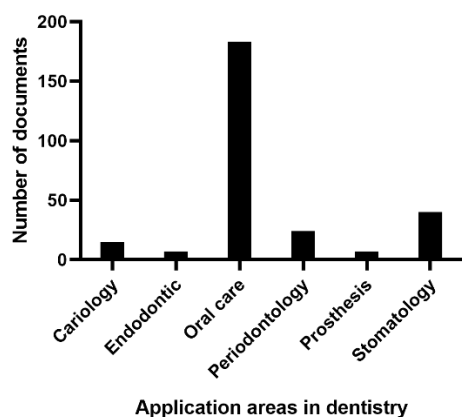


Figure 3. Areas of application tested according to the articles selected.

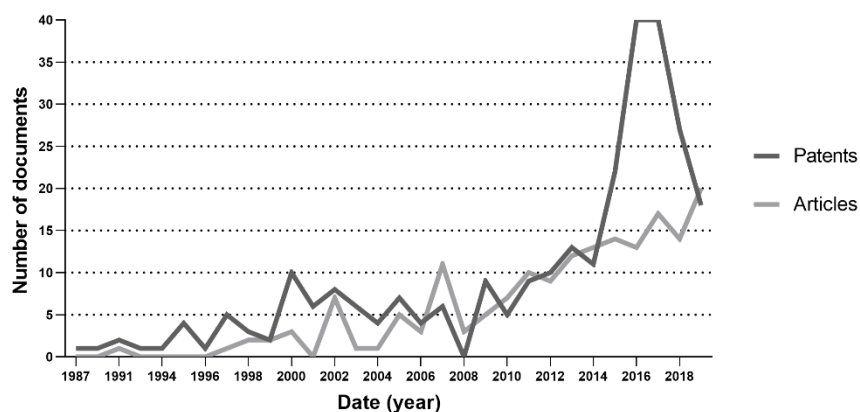


Figure 4. Number of patent applications produced and studies published on the use of propolis in dentistry with antimicrobial action (1987-2019).

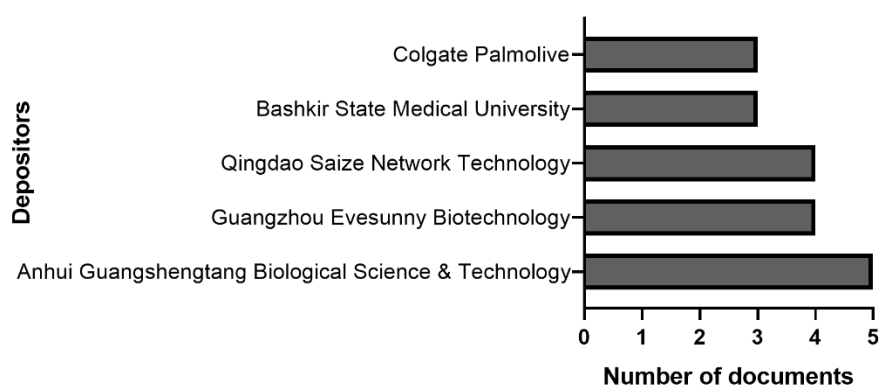


Figure 5. Main institutions and companies with patents produced for the use of propolis in dentistry with antimicrobial action (1987-2019).

4. Discussion

This scoping review showed scientific and technological evidence for propolis use in several dental areas. Cariology is the area mostly investigated, but there are important evidences in periodontology, endodontics, prosthesis, and stomatology, investigating the main pathogenic microorganisms of oral diseases. This substance has already displayed many roles in health investigations, such as antimicrobial, anti-inflammatory, anti-cancer, anti-oxidant, anti-diabetes and enzymes inhibition (Andrade et al., 2017; Baltas et al., 2016; Barrientos et al., 2013; Brown et al., 2016; Peycheva et al., 2018; Taleb et al., 2020), which are associated to its rich composition of various polyphenols (phenolic acids, flavonoids, stilbenes, lignins, coumarins, coumarins' derivatives, alkaloids, and iridoids) and volatile components (terpenes and terpenoids) (El-Guendouz et al., 2016; Huang et al., 2014; Pobiega et al., 2019).

Its chemical composition is dependent of the vegetation, so there is a wide variety of propolis types according to location. Compared to the main components of terpenoids and prenylated derivatives of coumaric acid, propolis in Europe and China is mainly composed of flavonoids and phenolic acid esters, (Farooqui and Farooqui, 2010). Some types of propolis from Chile (Barrientos et al., 2013; Veloz et al., 2019), Brazil (Andrade et al., 2017; Bueno-Silva et al., 2013; Cardoso et al., 2016; 2013; Ishida et al., 2011), China and Egypt (El Sohaimy and Masry, 2014) were the main sorts investigated, elucidating their different compositions and discussing their mechanisms. Even though not all substances in propolis were elucidated yet, some components are common to several studies worldwide investigating its therapeutic properties, such as phenols, flavonoids and esters (Anhangari et al., 2018; Bueno-Silva et al., 2013).

4.1 Effectiveness of antimicrobial activity

The pharmacological properties of propolis make it a promising therapeutic agent for use in dentistry. Although there is little information on the mechanism of the antimicrobial action of propolis, different authors have suggested that some propolis components are responsible for it. Propolis' biological activities are attributed to its wide variety of chemical composition, but flavonoids are a component common to all types and recognized as one of the responsables for the antimicrobial activity (Huang et al., 2014). Koo et al. (2002) indicated that propolis might act on the enzymatic activity of *S. mutans* and

Streptococcus sanguis, through the action of flavonoids, specially apigenin, as an inhibitor of GTF's (glucosyltransferase) enzymes, which is an important factor in the formation of dental plaque, although the exact mechanism of this inhibition remains unknown. Other polyphenols compounds have been also investigated, as pinocembrin, that combined with apigenin enable their MIC values to be similar to chlorhexidine (Veloz et al., 2019). While for phenylates flavonoids, their antimicrobial activity was due to damages on the cell membrane, caused by lipophilic prenyl group (Raghukumar et al., 2010), and quercetin and kaempferol to the increase of pH in *S. mutans* (Huang et al., 2014). Another study demonstrated that ethanolic propolis extract inhibits protein synthesis (Takaisi-Kikuni and Schilcher, 1994), and some propolis cinnamic and flavonoid components were found to inhibit bacterial motility by affecting the ion permeability of the membrane and reducing ATP synthesis, necessary for its motility and thus, viability (Mirzoeva et al., 1997). Other bioactive propolis compounds showed antimicrobial effects, mainly against *S. mutans* and *Staphylococcus aureus*. Hexane fraction and one of its sub-fractions (sub-fraction 1) belonged to the benzophenone class, presented as the compound responsible for such antimicrobial activity, at the same time that the fatty acid showed no antimicrobial activity (Castro et al., 2009). Furthermore, a scoping review was performed and proved that propolis was beneficial in preventing tooth decay, decreasing the plaque attachment potential (Kim et al., 2019; Neto et al., 2019).

The evaluation of propolis activity in caries prevention showed that it works by inhibiting the activity of glucosyltransferase (Abbasi et al., 2018; Bezerra et al., 2015; Koo et al., 2002) and the growth of *S. mutans*. The bacterial inhibitory activity has a direct relationship with the concentration of polyphenols in propolis due to changes in the biofilm architecture (Barrientos et al., 2013; Veloz et al., 2019). Other studies also indicate that propolis extract has antimicrobial activity *in vivo* against *S. mutans* in the oral cavity and it may be used as an alternative measure to prevent tooth decay (Cardoso et al., 2016; De Luca et al., 2017; Duailibe et al., 2007; Koo et al., 2002). One study established that propolis extract combined with polyvinylpyrrolidone (PVP) K90, forming electrospun fibers, were able to dissolve and release propolis in water, reducing *S. mutans* adhesion (Asawahame et al., 2015). The cariostatic effect of propolis may be due to several factors such as reduced acid production and reduced microbial load throughout

the human oral cavity, representing a potent inhibitor of *S. mutans* biofilm. However, the ability to inhibit the demineralization process of dental enamel has not sufficiently presented (Cardoso et al., 2016; Neto et al., 2019).

Propolis has also shown promising results for periodontal therapies. It presents high antimicrobial potential and an ability to reduce inflammatory response and inhibit lipoxigenase and cyclooxygenase enzymes, preventing the conversion of arachidonic acid into prostaglandins and leukotrienes and improving the prognosis and therapies for periodontitis (Andrade et al., 2017). The salivary level of oxidative stress produced by bacterial species involving chronic periodontitis has significantly decreased with the use of propolis-based supplemental herbal medicines (Badea et al., 2013) and, when used as adjuvant therapy, it was very effective in reducing periodontal depth. Irrigation with a 20% (w/v) hydroalcoholic propolis extract solution as an aid to periodontal treatment may be more effective than mechanical saline treatment in terms of reducing drilling depth for up to 90 days, from the beginning of treatment (Andrade et al., 2017). An ethanol blend of propolis and royal jelly used in the treatment of periodontitis showed a significant effect on the remission of this disease, suggesting that this complex may be used to assist the periodontal treatment (Badea et al., 2013).

Nevertheless, experimental studies have proven the antimicrobial effect of propolis on *C. albicans* and other oral disease-related microorganisms, which further extends the potential use of propolis in other areas of dentistry. Regarding its action against *C. albicans*, even propolis may be less effective than triple antibiotic paste, whereas 2% chlorhexidine gel and propylene glycol calcium hydroxide against *C. albicans* at day one and 400- μ m depth inside the dentinal tubules can be equally effective after seven days at both depths (Chua et al., 2014). Additionally, propolis is a potential irrigant in endodontics for eliminating *Enterococcus faecalis*, an intracanal medication in root canal treatment, and a storage medium to maintain the vitality of PDL cells due to its ability to inhibit osteoclastic activity and induce high-quality tubular dentin (Ahangari et al., 2018; Simões et al., 2018). A recent clinical study showed clinical efficacy and safety of application using a topical medication with propolis as an active pharmaceutical ingredient for the antiviral effect of herpes labialis, in the early and late start of

therapy (Jautova et al., 2019), further showing effective size reduction during the treatment of recurrent oral aphthous ulcer (Arafa et al., 2018).

4.2 Other scientific evidences for propolis use

Clinical studies indicate that the use of propolis in dentistry was not associated with adverse effects, showing good results in several patients with different conditions (Almeida et al., 2016; Dehghani et al., 2019; El Sohaimy and Masry, 2014; Neto et al., 2019), usually combined with conventional therapies. Although, it was strongly demonstrated the antimicrobial potential of propolis, its toxicity is still poorly investigated, studies showed no toxicity in an experimental propolis vanish against fibroblasts (de Luca et al, 2014; de Luca et al., 2017). But when propolis itself or its components were tested, it was showed that it had cytotoxicity against pulp and periodontal ligament cells and cancer cell lines (Al-Shaher et al, 2004; Li et al, 2009). This may be related to the release profile of the compounds and the site where the propolis product is going to act. Given the results, it becomes increasingly evident the need for standardization procedures, combining both botanical determination and chemical characterization of extracts. It is noteworthy that the structure and composition of propolis may vary depending on the geographical origin and even seasons (Brown et al., 2016; Dehghani et al., 2019). The number of studies with natural products is increasing and this is reflected in the patents produced for different functions in the dental practice. This study provided an overview of the phytotherapy sector through the search for propolis-related patents, which shows good technological appropriation by the phytomedicine pharmaceutical industry. Although there is scientific evidence proving the effectiveness and obvious advantages of phytotherapy, such as lower toxicity, better biocompatibility, and potentially more affordable cost to the population (Almeida et al., 2016), it is still discriminated against by health professionals. One solution might be to provide evidence-based patent development to stimulate its use in the population.

4.3 Technological prospecting for Propolis as an antimicrobial agent in dentistry

Regarding the technological prospects and the search for propolis-related patents, our results show good but still scarce technological appropriation of this natural product, considering the benefits associated with its use in dentistry

(Furtado Jr. et al., 2018). Most patents found were based on the antibacterial and anti-inflammatory activities. It was possible to observe that the majority of the patents filed were for oral cleaning products including toothpastes followed by mouthwashes, which concerns dental care in general. Meanwhile, within the specialties we could see the development of propolis products as endodontic sealers, periodontal compositions, as solutions, and some adhesives and varnishes in prosthesis and cariology, respectively. However, when we see the variety of substrate that the dentistry could provide for the phytotherapy development, it is clear that it is still an underexplored area. The research showed that China is responsible for 52% of patents associated with the use of propolis in dentistry, followed by Korea (16%) and Russia (10%). Five countries were responsible for 86% of patents registered for this purpose. In terms of territoriality and proximity to fertile cultivated areas, China shares characteristics with Brazil and it is interesting to make a comparison in terms of encouraging technology development in different countries (Wang and Chan, 2010). Brazil, for example, is responsible for 4% of propolis patents, it is a privileged country regarding the use of herbal medicines, and it has 25% of the world's flora and genetic heritage with high potential for developing new medicines. Although Brazil is the 40th country with more patents on the properties of propolis in dentistry, they are still scarce considering the country's potential in this area (Ryan, 2010). The research and technological application of bioproducts in dentistry is still a gap to be filled. This is possibly due to the complex process of archiving intellectual property (a process that can last more than 18 months) (Choi and Park, 2009). Another hypothesis would be the lack of incentive to transform natural products for human health applications. Therefore, more incentives for research and technological development are required, focusing on natural products to improve existing processes, creating new ones, and addressing a growth-prone area that contributes to technological development (Furtado Jr. et al., 2018; Wang and Chan, 2010). In developing countries, at least in the field of herbal medicine, it is suggested that, in addition to promoting the use of complementary forms in the dental field, public policies are required to promote the patenting of inventions as a source of intellectual property and competitive advantage. Only through scientific and technological innovation can Brazil and other developing countries

gain a competitive advantage similar to that of developed countries (Choi and Park, 2009; Park et al., 2013; Ryan, 2010).

The research on natural products in the dental field has increased in recent years due to the search for new products with greater therapeutic activity, lower toxicity, and better biocompatibility, besides presenting more affordable cost to the population (Almadi and Almohaimede, 2018; Chinsebu, 2016). The popular acceptance of herbal medicine leads to good prospects in the market of dental products containing natural substances, which may be introduced if specific laboratory and clinical studies prove their effectiveness. In the dental field and with the acknowledged beneficial effect of propolis on various oral conditions, there are still few patents providing its use commercially. Evidence indicates that in addition to having virtually no adverse effects, many clinical conditions show improvement in patients using propolis, usually combined with conventional therapies (Arafa et al., 2018; Neto et al., 2019; Peycheva et al., 2019).

5. Future perspectives for propolis as an antimicrobial agent

In this age of antimicrobial resistance, the demand for functionally diverse and unique antimicrobials has never been higher (Choudhary et al., 2017), so natural products are even more important, hence the importance to encourage the policies for technological appropriation of scientific evidences presented. Scientists from different fields of knowledge are investigating plants in a new way, aiming at their antimicrobial usefulness. A sense of urgency accompanies this search as the rate of species extinction continues. Laboratories around the world find thousands of phytochemicals that have inhibitory effects on various types of microorganisms *in vitro*. However, most of these compounds must be subjected to studies in animals and humans to determine their effectiveness in systems of whole organisms, including particular toxicity studies, as well as an examination of their effects on the beneficial normal microbiota. The challenge of standardizing the constituents of propolis extracts is known, due to the variation in the environmental conditions of the collection site, the origin and type of plant pollen and the species of bees that produce it (Khurshid et al., 2017). It would be of substantial importance to standardize the methods of extraction and *in vitro* tests so the search was more systematic and the interpretation of results easier, besides that to obtain greater technological appropriation. Attention to these

issues can start a new and extremely necessary era of chemotherapeutic treatment of infections using plant-derived principles (Cowan, 1999).

Additionally, the scientific and technological evidence for the use of propolis as an antimicrobial agent showed potential areas to be explored for its use in dentistry, which may have important implications for future dental treatments. Although there is still little incentive for its industrial exploration for dental use, the consolidation of public policies to stimulate projects between university-industry-government relations in the scientific and technological fields in underexplored frontier areas, forming a “triple helix” for innovation and entrepreneurship, is the key to knowledge-based economic growth and social development.

Moreover, the consolidation of public policies to stimulate the research on herbal medicine in scientific and technological institutions, especially propolis, is still little explored and a strategic alternative for an effective presence on the market.

6. Conclusions

In conclusion, according to our search, all studies related to the use of propolis in dentistry have presented it as a potentially safe antimicrobial agent in several areas of applications. Moreover, the recent applications have been mainly associated with propolis, with additional effects proved in the literature regarding its use in dentistry, as well as economic advantages and effectiveness of complementary therapies in dentistry. The number of patents for the use of propolis tends to grow over the next few years, improving the quality of life of patients affected by oral diseases to which propolis was effective.

Supplementary Material

Table S1 | Search strategy

Table S2 | Demographic data and main results of experimental studies.

Table S3 | Demographic data and main results of clinical studies.

Table S4 | Demographic data and main results of reviews.

Table S5 | Demographic data and main results of patents.

Author contributions

A.S.B. and J.P.A. collated documents and wrote the manuscript; M.L.F. contributed significantly to analysis and manuscript preparation; A.M.A. assistance to the revision of the manuscript; R.G.L. provided financial supports, valuable discussion and revised the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Conflict of Interest

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgements

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Finance Code 001. The authors would like to thank CAPES for granting a scholarship to the first author. They are also grateful to CNPq (National Council for Scientific and Technological Development) for the [grant number 309848/2017-2] and scholarships provided to the last author.

References

- Abbasi, A.J., Mohammadi, F., Bayat, M., Gema, S.M., Ghadirian, H., Seifi, H., Bayat, H., Bahrami, N., 2018. Applications of propolis in dentistry: a review. *Ethiop. J. Health Sci.* 28, 505–512. <https://doi.org/10.4314/ejhs.v28i4.16>
- Agarwal, G., Vemanaradhya, G.G., Mehta, D.S., 2012. Evaluation of chemical composition and efficacy of Chinese propolis extract on *Porphyromonas gingivalis* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*: An *in vitro* study. *Contemp. Clin. Dent.* 3:256–61. <https://doi.org/10.4103/0976-237X.103614>.
- Ahangari, Z., Naseri, M., Vatandoost, F., 2018. Propolis: chemical composition and its applications in endodontics. *Iran. Endod. J.* 13, 285–292. <https://doi.org/10.22037/iej.v13i3.20994>

- Almadi, E.M., Almohaimede, A.A., 2018. Natural products in endodontics. Saudi Med. J. 39, 124–130. <https://doi.org/10.15537/smj.2018.2.21038>
- Almeida, D.C., Alves, D.C.B., Jardim Júnior, I.J., de Mendonça, S.M.S., 2016. Propolis in dentistry: an approach of their various clinical applications. Int. J. Sci. Dent. 46, 1–12.
- Al-Shaher, A., Wallace, J., Agarwal, S., Bretz, W., Baugh, D., 2004. Effect of propolis on human fibroblasts from the pulp and periodontal ligament. J. Endod. 30, 359–361. <https://doi.org/10.1097/00004770-200405000-00012>
- Andrade, J.K.S., Denadai, M., de Oliveira, C.S., Nunes, M.L., Narain, N., 2017. Evaluation of bioactive compounds potential and antioxidant activity of brown, green and red propolis from Brazilian northeast region. Food Res. Int. 101, 129–138. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.08.066>
- Arafa, M.G., Ghalwash, D., El-Kersh, D.M., Elmazar, M.M., 2018. Propolis-based niosomes as oromuco-adhesive films: A randomized clinical trial of a therapeutic drug delivery platform for the treatment of oral recurrent aphthous ulcers. Sci. Rep. 8, 18056. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37157-7>
- Asawahame, C., Sutjarittangtham, K., Eitssayeam, S., Tragoolpua, Y., Sirithunyalug, B., Sirithunyalug, J., 2015. Antibacterial activity and inhibition of adherence of *Streptococcus mutans* by propolis electrospun fibers. AAPS PharmSciTech 16, 182–191. <https://doi.org/10.1208/s12249-014-0209-5>
- Badea, V., Nuca, C., Amariei, C., Zaharia, A., Adriana Bucur, L., Grigorian, M., 2013. Researches regarding the monitoring complementary treatment in periodontitis by using salivary 8-OHdG biomarker. Farmacia 61, 685–693.
- Baltas, N., Yildiz, O., Kolayli, S., 2016. Inhibition properties of propolis extracts to some clinically important enzymes. J. Enzyme Inhib. Med. Chem. 31, 52–55. <http://dx.doi.org/10.3109/14756366.2016.1167049>

- Barrientos, L., Herrera, C.L., Montenegro, G., Ortega, X., Veloz, J., Alvear, M., Cuevas, A., Saavedra, N., Salazar, L.A., 2013. Chemical and botanical characterization of chilean propolis and biological activity on cariogenic bacteria *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus*. Brazilian J. Microbiol. 44, 577–585. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822013000200038>
- Bezerra, A.M.F., de Farias, M. do C.A.D., Bezerra, K.K.S., Filho, A.F., Casimiro, G.S., Pereira, R.S.M., Nunes, E.M., da Silva, E.M.L., Cavalcante, J.C.B., Brasilino, I.M.V., de Abrantes, K.S.M., de Abreu, L.C., Maracajá, P.B., Araújo, A. dos S., da Silva, R.A., 2015. Action of propolis on microorganisms of the oral cavity: an integrative review. Int. Arch. Med. 8, 1–13. <https://doi.org/10.3823/1717>
- Brown, H.L., Roberts, A.E.L., Cooper, R., Jenkins, R., 2016. A review of selected bee products as potential anti-bacterial, anti-fungal, and anti-viral agents. Med. Res. Arch. 4, 1–29. <https://doi.org/10.18103/mra.v4i8.887>
- Bruschi, M.L., Rosseto, H.C., de Francisco, L.M.B., de Toledo, L. de A.S., Raphaela, R.R., 2017. Nanostructured propolis as therapeutic systems with antimicrobial activity, in: nano- and microscale drug delivery systems: design and fabrication. pp. 377–391. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-52727-9.00020-0>
- Cardoso, J.G., Iorio, N.L.P., Rodrigues, L.F., Couri, M.L.B., Farah, A., Maia, L.C., Antonio, A.G., 2016. Influence of a Brazilian wild green propolis on the enamel mineral loss and *Streptococcus mutans*' count in dental biofilm. Arch. Oral Biol. 65, 77–81. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2016.02.001>
- Castro, M.L., Vilela, W.R., Zauli, R.C., Ikegaki, M., Rehder, V.L.G., Foglio, M.A., Alencar, S.M., Rosalen, P.L., 2009. Bioassay guided purification of the antimicrobial fraction of a Brazilian propolis from Bahia state. BMC Complement Alter. Med. 91, 1-6. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-9-25>

- Chinsembu, K.C., 2016. Plants and other natural products used in the management of oral infections and improvement of oral health. *Acta Trop.* 154, 6–18. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.10.019>
- Choi, C., Park, Y., 2009. Monitoring the organic structure of technology based on the patent development paths. *Technol. Forecast. Soc. Change* 76, 754–768. <https://doi.org/10.1016/j.techfore.2008.10.007>
- Choudhary, A., Naughton, L.M., Montánchez, I., Dobson, A.D., Rai, D.K., 2017. Current status and future prospects of marine natural products (MNPs) as antimicrobials. *Mar. Drugs*. 15, 272. <https://doi.org/10.3390/md15090272>
- Chua, E.G., Parolia, A., Ahlawat, P., Pau, A., Amalraj, F.D., 2014. Antifungal effectiveness of various intracanal medicaments against *Candida albicans*: An ex-vivo study. *BMC Oral Health*. 13;14-53. <https://doi.org/10.1186/1472-6831-14-53>
- Cowan, M.M., 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.* 12, 564-82. <https://doi.org/10.1128/CMR.12.4.564>
- de Luca, M.P., Franca, J.R., Macedo, F.A.F., Grenho, L., Cortes, M.E., Faraco, A.A.G., Moreira, A.N., Santos, V.R., 2014. Propolis varnish: antimicrobial properties against cariogenic bacteria, cytotoxicity, and sustained-release profile. *BioMed Res. Int.* 1–6. <https://doi.org/10.1155/2014/348647>
- de Luca, M.P., Freires, I.A., Gala-García, A., Santos, V.R., Vale, M.P., Alencar, S.M. de, Rosalen, P.L., 2017. The anti-caries activity and toxicity of an experimental propolis-containing varnish. *Braz. Oral Res.* 31, e45. <https://doi.org/10.1590/1807-3107bor-2017.vol31.0045>
- de Rezende, G.P. da S.R., da Costa, L.R. de R.S., Pimenta, F.C., Baroni, D.A., 2008. *In vitro* antimicrobial activity of endodontic pastes with propolis extracts and calcium hydroxide: A preliminary study. *Braz. Dent. J.* 19, 301–305. <https://doi.org/10.1590/S0103-64402008000400003>

- Dehghani, M., Abtahi, M., Hasanzadeh, N., Farahzad, Z., Noori, M., Noori, M., 2019. Effect of Propolis mouthwash on plaque and gingival indices over fixed orthodontic patients. *J. Clin. Exp. Dent.* 11, e244–e249. <https://doi.org/10.4317/jced.55026>
- Duailibe, S.A. de C., Gonçalves, A.G., Ahid, F.J.M., 2007. Effect of a propolis extract on *Streptococcus mutans* counts *in vivo*. *J. Appl. Oral Sci.* 15, 420–423. <https://doi.org/10.1590/S1678-77572007000500009>
- El-Guendouz, S., Aazza, S., Lyoussi, B., Antunes, M. D., Faleiro, M. L., Miguel, M. G., 2016. Anti-acetylcholinesterase, antidiabetic, anti-inflammatory, antityrosinase and antixanthine oxidase activities of Moroccan propolis. *Int. J. Food. Sci.* 51, 1762–1773. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13133>
- El Sohaimy, S.A., Masry, S.H.D., 2014. Phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of Egyptian and Chinese propolis. *Am-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.* 14, 1116–1124. <https://doi.org/10.5829/idosi.aejaes.2014.14.10.8648>
- Farooqui, T., Farooqui, A.A., 2010. Molecular mechanism underlying the therapeutic activities of propolis: a critical review. *Curr. Nutr. Food. Sci.* 6, 186–199. <https://doi.org/10.2174/157340110792389136>
- Furtado Jr., J.H. de C., Rocha Valadas, L.A., Mendonça, K.S., de Oliveira Filho, R.D., Gadelha, L.M.U., de Mello Fiallos, N., Neto, E.M.R., de Mello Fiallos, A.C., de França Fonteles, M.M., 2018. Propolis and its dental applications: a technological prospection. *Recent Pat Biotechnol* 12, 288–296. <https://doi.org/10.2174/2211550107666180815114855>
- Huang, S., Zhang, C.P., Wang, K., Li, G.Q., Hu, F.L. 2014. Recent advances in the chemical composition of propolis. *Molecules.* 19, 19610–19632. <https://doi.org/10.3390/molecules191219610>
- Ishida, V.F.C., Negri, G., Salatino, A., Bandeira, M.F.C.L., 2011. A new type of Brazilian propolis: Prenylated benzophenones in propolis from Amazon and

effects against cariogenic bacteria. Food. Chem. 125, 966–972.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.09.089>

Jautova, J., Zelenkova, H., Drotarova, K., Nejdkova, A., Grunwaldova, B., Hladikova, M., 2019. Lip creams with propolis special extract GH 2002 0.5% versus aciclovir 5.0% for herpes labialis (vesicular stage): Randomized, controlled double-blind study. Wien. Med. Wochenschr. 169, 193–201.
<https://doi.org/10.1007/s10354-018-0667-6>

Kim, Y.J., Yong, Y.K., Aslam, M.S., Kim, Y.J., Kong, Y., Aslam, S., 2019. A Narrative and Meta - Analytic study of *in vivo* efficiency of the bioactive compounds of propolis in tooth decay. Pharmacogn. Rev. 13, 28–36.
<https://doi.org/10.5530/phrev.2019.2.1>

Koo, H., Rosalen, P.L., Cury, J.A., Park, Y.K., Bowen, W.H., 2002. Effects of compounds found in propolis on *Streptococcus mutans* growth and on glucosyltransferase activity. Antimicrob. Agents. Chemother. 46, 1302–1309. <https://doi.org/10.1128/aac.46.5.1302-1309.2002>

Khurshid, Z., Naseem, M., Zafar, M.S., Najeeb, S., Zohaib, S., 2017. Propolis: A natural biomaterial for dental and oral healthcare. J. Dent. Res. Dent. Clin. Dent. Prospects. 11(4), 265–274. <https://doi.org/10.15171/joddd.2017.046>

Li, F., Awale, S., Tezuka, Y., Kadota, S., 2009. Cytotoxic constituents of propolis from Myanmar and their structure–activity relationship. Biol. Pharm. Bull. 32, 2075–2078. <https://doi.org/10.1248/bpb.32.2075>

Mirzoeva, O.K., Grishanin, R.N., Calder, P.C., 1997. Antimicrobial action of propolis and some of its components: The effects on growth, membrane potential and motility of bacteria. Microbiol. Res. 152, 239–246.
[https://doi.org/10.1016/S0944-5013\(97\)80034-1](https://doi.org/10.1016/S0944-5013(97)80034-1)

Moher, D., Shamseer, L., Clarke, M., Gherzi, D., Liberati, A., Petticrew, M., Shekelle, P., Stewart, L.A., Group, P.-P., 2015. Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. Syst. Rev. 4, 1. <https://doi.org/10.1186/2046-4053-4-1>

- Neto, E.M.R., Valadas, L.A.R., Lobo, P.L.D., Fernandes, A.M.B., da Cruz Fonseca, S.G., Fachine, F.V., Júnior, F.J.G., Bandeira, M.A.M., de França Fonteles, M.M., 2019. Dose-response evaluation of propolis dental varnish in children: A randomized study. *Recent Pat. Biotechnol.* 14, 41–48. <https://doi.org/10.2174/1872208313666190826145453>
- Park, H., Kim, K., Choi, S., Yoon, J., 2013. A patent intelligence system for strategic technology planning. *Expert Syst. Appl.* 40, 2373–2390. <https://doi.org/10.1016/j.eswa.2012.10.073>
- Peters, M.D.J., Godfrey, C.M., Khalil, H., McInerney, P., Parker, D., Soares, C.B., 2015. Guidance for conducting systematic scoping reviews. *Int. J. Evid. Based. Healthc.* 13, 141–146. <https://doi.org/10.1097/XEB.0000000000000050>
- Peycheva, S., Apostolova, E., Gardjeva, P., Peychev, Z., Kokova, V., Angelov, A., Slavov, A., Murdjeva, M., 2019. Effect of Bulgarian propolis on the oral microflora in adolescents with plaque-induced gingivitis. *Brazilian J. Pharmacogn.* 29, 271–277. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2018.11.001>
- Pobiega, K., Kraśniewska, K., Gniewosz, M., 2019. Application of propolis in antimicrobial and antioxidative protection of food quality—A review. *Trends Food Sci. Tech.* 83, 53–62. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.11.007>
- Raghukumar, R., Vali, L., Watson, D., Fearnley, J., Seidel V., 2010. Antimethicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) activity of 'pacific propolis' and isolated prenylflavanones. *Phytoter. Res.* 24, 1181–1187. <https://doi.org/10.1002/ptr.3096>
- Ryan, M.P., 2010. Patent incentives, technology markets, and public-private biomedical innovation networks in Brazil. *World Dev.* 38, 1082–1093. <https://doi.org/10.1016/j.worlddev.2009.12.013>
- Simões, T.M.S., Silva, M. da G.B. da, Fernandes Neto, J. de A., Batista, A.L.A., Catão, M.H.C. de V., 2018. Aplicabilidade da terapia fotodinâmica

antimicrobiana na eliminação do *Enterococcus faecalis*. Arch. Heal. Investig. 492–496. <https://doi.org/10.21270/archi.v7i11.3053>

Taleb, R. A. E., Djebli, N., Chenini, H., Sahin, H., Kolayli, S., 2020. *In vivo* and *in vitro* anti-diabetic activity of ethanolic propolis extract. J. Food Biochem. 2020, 1–12. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13267>

Takaisi-Kikuni, N.B., Schilcher, H., 1994. Electron microscopic and microcalorimetric investigations of the possible mechanism of the antibacterial action of a defined propolis provenance. Planta Med. 60, 222–227. <https://doi.org/10.1055/s-2006-959463>

Veloz, J.J., Alvear, M., Salazar, L.A., 2019. Antimicrobial and antibiofilm activity against *Streptococcus mutans* of individual and mixtures of the main polyphenolic compounds found in Chilean propolis. Biomed. Res. Int. 1–7. <https://doi.org/10.1155/2019/7602343>

Wang, X., Chan, A.W., 2010. Challenges and patenting strategies for Chinese herbal medicine. Chin. Med. 5, 24. <https://doi.org/10.1186/1749-8546-5-24>

Table 1. Main results of studies.

References	Study area	focus	Microorganisms investigated	Chemical characterization	Toxicity	Findings	Country of study
(Koo et al., 2002)	Cariology		<i>S. milleri</i> , <i>S. mutans</i> and <i>S. sobrinus</i>	Activity of GTF enzymes in solution and on the surface of saliva-coated hydroxyapatite (SHA) beads	Not available	Flavanones and some dihydroflavonols inhibited the growth of <i>S. mutans</i> and <i>S. sobrinus</i> , <i>tt</i> -Farnesol produced a 3-log-fold reduction in the bacterial population after 4 h of incubation.	United States
(Duailibe et al., 2007)	Cariology		<i>S. mutans</i> (from oral cavity)	Not available	Not available	Reduction in the concentration of <i>S. mutans</i> in 49% of all samples collected after use of the extract.	Brazil
(de Rezende et al., 2008)	Endodontics		Polymicrobial cultures collected from 16 necrotic and fistulae root canals	Not available	Not available	The association between propolis and calcium hydroxide was effective in controlling dental infections <i>in vitro</i> .	Brazil
(Ishida et al., 2011)	Cariology		<i>S. mitis</i> , <i>S. mutans</i> and <i>S. salivarius</i>	Characterisation of compounds by HPLC/DAD/ESI-MS/MS and GC/EIMS	Not available	The extracts E2 and E4 were highly active against the cariogenic bacteria <i>Streptococcus mitis</i> , <i>Streptococcus mutans</i> and <i>Streptococcus salivarius</i> .	Brazil
(Agarwal et al., 2012)	Periodontology		<i>Porphyromonas gingivalis</i> and <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	Folin-Ciocalteu method, modified aluminum chloride colorimetric method, and 2,4-dinitrophenylhydrazine (2,4-DNP) method	Not available	Chinese propolis has potent antimicrobial activity against the two periodontopathogens, suggesting its possible use as a natural alternative to the widely used synthetic antibiotics for periodontal therapy.	India
(Barrientos et al., 2013)	Cariology		<i>S. mutans</i> and <i>S. sobrinus</i> were clinical samples obtained from children	Determination of total polyphenol content by colorimetric assays, characterisation of compounds by reverse phase HPLC and HPLC-MS	Not available	All propolis samples inhibited the <i>S. mutans</i> growth, it was observed a wide spectrum of action (MIC 0.90 to 8.22 µg mL ⁻¹)	Chile
(Chua et al., 2014)	Endodontics		<i>C. albicans</i>	Not available	Not available	The reduction in number of colony forming units was statistically significant in all groups compared to the control group (sterile saline), except propolis at day 1 (400 µm depth).	Malaysia

(De Luca et al., 2014)	Cariology	<i>S. mutans</i> , <i>Streptococcus sanguinis</i> , <i>S. salivarius</i> , and <i>Lactobacillus casei</i> (LC) (ATCC 393)	Not available	MTT assay	Varnish formulations had satisfactory antimicrobial activity against cariogenic bacteria and have a low cytotoxicity (<50%).	Brazil
(Asawahame et al., 2015)	Cariology	<i>S. mutans</i>	Not available	Not available	Propolis-PVP electrospun fibers showed better antibacterial activity by reduction of bacteria adhesion on a smooth glass surface when compared to some commercial mouthwash products.	Thailand
(Cardoso et al., 2016)	Cariology	<i>S. mutans</i> dental biofilm	Determination of total polyphenol content by colorimetric assays using the FolinCiocalteu method and hydroxycinnamic acids and derivatives by HPLC-DAD-reverse-phase system	Not available	The propolis ethanolic extract (EEP) seems to be a potent antibacterial substance against <i>S. mutans</i> dental biofilm, but presented no inhibitory action on the de-remineralization of caries process.	Brazil
(De Luca et al., 2017)	Cariology	<i>S. mutans</i> in vivo (animal model)	Not available	MTT assay	Varnish formulations had satisfactory antimicrobial activity against cariogenic bacteria and have a low cytotoxicity (<50%).	Brazil
(Peycheva et al., 2018)	Periodontology and cariology	<i>Streptococcus mutans</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Fusobacterium varium</i> , <i>Gram-negative cocci</i> , <i>Gram-positive rods</i> , <i>Porphyromonas asaccharolyticus</i> , <i>Prevotella bivia</i> , <i>Prevotella intermedia</i> , <i>Prevotella melani</i> and <i>Streptococcus intermedius</i> .	Determination of total phenolic content by Agilent 1220 HPLC system, polar non-volatile compounds by gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS) and volatile aroma substances were analyzed by GC–MS on an Agilent GC 7890 with mass-selective detector Agilent MD 5975 and column HP-5ms	Not available	The addition of Bulgarian propolis to the toothpaste improved the gingival health in adolescents with moderate plaque-induced gingivitis and resulted in increased activity against potential periodontal and cariogenic pathogens.	Brazil

(Jautova et al., 2019)	Stomatology	Virus type 1 (HSV-1) and virus type 2 (HSV-2)	Not available	Not available	The predefined clinical situation was reached after a (median) 3 days with propolis and 4 days with aciclovir ($p < 0.0001$). Significant differences in favor of propolis were also found for all secondary parameters.	Slovakia
(Neto et al., 2019)	Cariology	<i>S. mutans</i>	Analytical technique of Nuclear Magnetic Resonance by hydrogen spectra	Not available	There was microbiological reduction of <i>S. mutans</i> in the oral cavity of the children in all the tested concentrations. The highest percentage reduction of <i>S. mutans</i> was observed at the concentration of 2.5% ($P = 0.0443$).	Brazil
(Veloz et al., 2019)	Cariology	Bacteria (<i>S. mutans</i>) were obtained from clinical isolates from children with tooth decay.	Determination of total phenolic content by by Folin Ciocalteu and by HPLC-MS	Not available	The polyphenols have strong antimicrobial and antibiofilm potential at low concentrations. The effect of polyphenols on <i>S. mutans</i> is produced by a combination of mechanisms to decrease bacterial growth and affect biofilm proliferation due to changes in their architecture.	Chile

Figure legends

Figure 1. Flowchart of the selection process of patents and articles according to the Prisma Statement (Moher et al., 2015).

Figure 2. Scientific and technological production of denture adhesives in the world: (a) patents produced worldwide; (b) main countries of patents produced, and (c) studies published on the use of propolis in dentistry with antimicrobial action (1987-2019).

Figure 3. Areas of application tested according to the articles selected.

Figure 4. Number of patent applications produced and studies published on the use of propolis in dentistry with antimicrobial action (1987-2019).

Figure 5. Main institutions and companies with patents produced for the use of propolis in dentistry with antimicrobial action (1987-2019).

Appendix A. Supplementary data

Supplementary Table S1 Demographic data and main results of experimental studies.

References	Microorganisms tested	Laboratory studies	Sample type (solution/product containing propolis)	Chemical characterization (Yes/No)	Geographic origin	Vegetable species or synthetic origin	Extract, fraction or isolated compounds from Propolis	Publication Country
(Ikeno et al., 1991)	<i>Streptococcus sobrinus</i> 6715, <i>Streptococcus mutans</i> PS14 and <i>Streptococcus cricetus</i> OMZ61	Agar diffusion, inhibition of IG formation, inhibition of GTase activity, biochemical examination	Hard and dark-brown lumps	Yes	Bee hives located in Liaoning-Sheng, Jiangsu-Sheng (China) and Koriyama (Japan).	Synthetic (Bee-farm honey, Japan)	Extract	Japan
(Bretz et al., 1998)	Animal model (Wistar, Kalamazoo, Michigan, USA)	Histological evaluation	Crude propolis	No	Volta Redonda, Rio de Janeiro, Brazil	Eucalyptus	Solution	United States
(Park et al., 1998)	<i>S. mutans</i> Ingbritt 1600, <i>Streptococcus sanguis</i> (ATCC 10556), <i>Streptococcus sp.</i> , <i>Actinomyces naeslundii</i> (ATCC 12104), <i>S. sanguis</i> ATCC 10556, <i>A. naeslundii</i> ATCC 12104, <i>S. mutans</i> Ingbritt 1600	Glucosyltransferase activity, Inhibition of glucosyltransferase activity, Agar diffusion, Production of glucosyltransferase	Crude propolis	Yes	Minas Gerais, São Paulo, Goiás, Mato Grosso do Sul, Paraná, and Rio Grande do Sul	<i>Apis mellifera</i>	Ethanollic extract of propolis	Brazil
(Koo et al., 1999)	<i>S. sobrinus</i> 6715	Microbial assessment in agar of suspension sonicated from the rats jaws.	Crude propolis	Yes	Minas Gerais (Santa Luzia) and Rio Grande do Sul (Porto Alegre), Brazil	<i>A. mellifera</i>	Extract	United States

(Koo et al., 2000)	<i>S. mutans</i> Ingbritt 1600, <i>S. sobrinus</i> 6715, and <i>S. cricetus</i> HS-6	Determination of minimum inhibitory concentration (MIC) and MBC (minimum bactericidal concentration)	Crude propolis	Yes	Bahia, Minas Gerais and Rio Grande do Sul, Brazil	<i>Apis mellifera</i>	Ethanolic extract of propolis	United States
(Koo, Gomes et al., 2000)	<i>C. albicans</i> Ø NTCC 3736, F72; <i>Staphylococcus aureus</i> Ø (ATCC 25923; <i>E. faecalis</i> Ø (ATCC 29212; <i>S. sobrinus</i> 6715; <i>S. sanguis</i> Ø (ATCC 10556; <i>S. cricetus</i> Ø HS-6; <i>S. mutans</i> Ø Ingbritt 1600; <i>S. mutans</i> Ø OMZ 175; <i>A. naeslundii</i> Ø (ATCC 12104, W 1053; <i>Act. viscosus</i> OMZ 105; <i>Porphyromonas gingivalis</i> ; <i>P. endodontalis</i> and <i>Prevotella denticola</i> (the last three were clinical isolates).	Agar diffusion method	Solution	No	Minas Gerais, Brazil	<i>Arnica Montana</i>	Ethanolic extract of propolis	United States
(Koo, Smith et al., 2000)	<i>Streptococcus milleri</i> KSB8, <i>S. milleri</i> NH5), <i>S. mutans</i> WHB 410, <i>S. sanguis</i> 10904	Purification of Gtf Enzymes, Gtf Activity in Solution and Adsorbed onto sHA Surface Assays	Solution	No	Cities of Santa Luzia, Minas Gerais and Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil	<i>A. mellifera</i>	Ethanol-soluble fraction of propolis	United States
(Duarte et al., 2002)	<i>S. milleri</i> KSB8, <i>S. mutans</i> GS-5, <i>S. mutans</i> WHB 410, <i>S. mutans</i> Ingbritt 1600, <i>S. mutans</i> 1 (clinical isolate), <i>S. mutans</i> 2 (clinical	Assays of Activity of GTFs in Solution; Agar diffusion test, MIC, and MBC	Crude propolis	No	Atlantic forest, Bahia, Brazil	<i>A. mellifera</i>	Ethanolic extract fractionated	Brazil

	isolate), <i>S. sobrinus</i> 6715, <i>S. sobrinus</i> 1 (clinical isolate), and <i>S. sobrinus</i> 2 (clinical isolate)							
(Koo et al., 2002)	<i>S. milleri</i> KSB8, <i>S. milleri</i> NH5, <i>S. mutans</i> WHB410, <i>S. mutans</i> UA159 and <i>S. sobrinus</i> 6715	Glucosyltransferase assay, time-kill studies, planktonic growth biofilm assay	Apigenin	Yes	Genay-Sedex, France	Extrasynthese Co. (Genay-Sedex, France)	Solution	United States
(Martins et al., 2002)	<i>C. albicans</i> strains	Agar diffusion test	Solution	No	Belo Borizonte, Minas Gerais, Brazil	Nectar Farmaceutica, Belo Horizonte, MG, Brazil	20% propolis ethanolic extract	Brazil
(Ota et al., 2002)	<i>C. albicans</i> , <i>Candida tropicalis</i> , <i>Candida krusei</i> and 15 strains of <i>Candida guilliermondii</i> . These strains were isolated from patients attending the Dental School UNESP, S. J. Campos, Brazil.	MIC and in vivo evaluation of number of <i>Candida</i> yeast was expressed in CFU/ml ⁻¹	Crude propolis	No	Vale do Paraíba region, São Paulo, Brazil	Not mentioned	Alcoholic extract	Brazil
(Santos et al., 2002)	<i>P. intermedia</i> / <i>P. nigrescens</i> and <i>P. gingivalis</i> (ATCC 33277), <i>P. intermedia</i> (TCC 25611) and <i>P. nigrescens</i> (ATCC 33563)	MIC, MBC and time-kill assay	Crude propolis (bee glue)	No	Minas Gerais, Brazil	<i>A. mellifera</i>	Ethanolic extract of propolis	Brazil
(Gebara et al., 2003)	<i>Prevotella intermedia</i> 33563, <i>Prevotella melaninogenica</i> 25845, <i>P. gingivalis</i> 33277,	Activity against periodontopathic (ATCC) bacteria	Solution	No	UNESP - Botucatu - Department of Animal Production-Brazil	Not mentioned	70% ethanolic extract	Brazil

	A. <i>actinomycetemcomitans</i> 29523 and 29522, <i>Capnocytophaga gingivalis</i> 33624, <i>Fusobacterium nucleatum</i> 10953 and <i>C. albicans</i> 10231. Isolates of <i>P. aeruginosa</i> , <i>E. coli</i> and <i>S. aureus</i> from our own culture collection were also tested.							
(Leitão et al., 2004)	<i>S. mutans</i> (ATCC 25175)	Effect on acid production by <i>S. mutans</i> ; Effect on Growth of <i>S. mutans</i> by the development of turbidity; GTFs activity assay	Crude green propolis	Yes	Cajuru, São Paulo, Brazil	<i>A. mellifera</i>	Ethanollic extract	Brazil
(Hayacibara et al., 2005)	<i>S. mutans</i> Ingbritt (1600) and <i>S. sobrinus</i> (6715)	MIC, MBC, GTFs activity determination, Caries study (animal experiment)	Crude propolis	No	Southern and southeastern regions of Brazil	<i>Apis mellifera</i>	Ethanollic extract of propolis (EEP) at 20%	Brazil
(Kim et al., 2005)	<i>S. aureus</i> (ATCC 35556), <i>Salmonella enteritidis</i> (ATCC 12021), <i>E. coli</i> (O157:H7), and <i>C. parapsilosis</i> (KCCM 35428)	Diffusion assay	Water-extract or alcoholic-extract Brazilian propolis	Yes	Hebron J Company, South Korea	Not informed	Water-extract or alcoholic-extract	Korea
(Kosalec et al., 2005)	<i>Bacillus subtilis</i> NCTC 8236, <i>S. aureus</i> (ATCC 25923), <i>Streptococcus pyogenes</i> (ATCC	Agar-diffusion method	Not informed	Yes	Available on the Croatian market	Not informed	Ethanollic solutions (10)	Croatia

	12204), <i>E. faecalis</i> (ATCC 29212), <i>Escherichia coli</i> (ATCC 10536), <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853), and <i>C. albicans</i> (ATCC 10231).							
(Sonmez et al., 2005)	<i>Prevotella intermedia</i> NCTC 13070-02, <i>Campylobacter rectus</i> NCTC 11489-05 and <i>F. nucleatum</i> NCTC 11326-04, <i>y</i> , <i>C. albicans</i> ATCC 90028, <i>Candida parapsilosis</i> ATCC 90018 and <i>Candida krusei</i> ATCC 6258	MIC, cellular viability assay (MTT assay).	Propolis solution	No	Kemalpasa district of Izmir province (west of Anatolia, Turkey); Sigma, Germany; Narellean, Australia); Oregon, USA	<i>Pinus spp.</i> ; <i>Apis mellifera</i>	Propolis solutions, alcoholic and non-alcoholic	Turkey
(Bruschi et al., 2006)	<i>E. faecalis</i> , <i>S. salivarius</i> , <i>S. sanguinis</i> , <i>S. mitis</i> , <i>S. mutans</i> , <i>S. sobrinus</i> , <i>C. albicans</i> , and <i>Lactobacillus casei</i>	MIC and agar diffusion	Two samples of crude propolis	Yes	Maringá State University (Paraná State, Brazil)	Natural from experimental apiary	Propolis ethanolic extractive solution	Brazil
(da Silva et al., 2006)	<i>S. aureus</i>	MIC	49 ethanolic commercial Brazilian propolis extracts	Yes	Rio de Janeiro, São Paulo, Minas Gerais, Parana, Bahia, Ceara and Piaui states, Brazil.	The propolis extracts were bought in natural products stores or directly from beekeepers.	Ethanolic extracts	Brazil

(Duarte et al. 2006)	<i>S. mutans</i> UA159 and <i>S. sobrinus</i> 6715	Mono-organism biofilms assay, killing assay, Glycolytic pH drop assay, ATPase assay, caries study in rats.	Crude propolis	Yes	Bahia, Brazil	<i>A. mellifera</i>	Ethanollic extract of propolis type 6 (EEP) and its hexane fraction (EEH)	United States
(Auricchio et al., 2007)	<i>S. aureus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>C. albicans</i> , <i>E. faecalis</i> and <i>S. mutans</i>	Agar diffusion method, Inhibition halo	Nine different propolis preparations, sold in pharmacies	No	São Paulo city, SP, Brazil	Not informed	Aqueous solution, alcoholic solution at 11, 12, 15, 20 and 30%, and spray	Brazil
(Durán et al., 2007)	<i>S. mutans</i>	Agar diffusion method	Propolis microparticles	Yes	MN Propolis Indústria Comercio e Exportação Ltda., from Mogi das Cruzes, SP, Brazil	Natural (Propolis Ouro, Lot 273)	Cereal alcohol, propolis extract >25% (w/v)	Brazil
(Duailibe et al., 2007)	<i>S. mutans</i> (from oral cavity)	Semiquantitative analysis of the microorganism	Not mentioned	No	Not mentioned	<i>Melipona compressipes fasciculata</i> bees	Mouthrinse	Brazil
(Gardjeva et al., 2007)	<i>S. β-haemolyticus</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>C. albicans</i> and <i>E. coli</i> .	Minimum bactericidal/fungicidal concentration (MBCC) and minimal bacteriostatic/fungicidal concentration (MBSC) were determined by agar method	Solution	Yes	Bulgarian propolis Propolin® and Propolstom® (Peytch-LP, Bulgaria)	Synthetic, commercial product	Propolin® (ethanolic extract) and Propolstom® (water extract)	Bulgaria

(Gomes et al., 2007)	<i>C. albicans</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>S. mutans</i> , <i>S. aureus</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>Actinomyces israeli</i> , and <i>A. actinomycetemcomitans</i>	MIC and agar diffusion test	Solution	No	Area of mixed native and introduced vegetation near the city of Belo Horizonte, MG, Brazil.	Synthetic - Pharnanectar (Belo Horizonte, Brazil)	Propolis extract solutions of 5, 10, 15, 20%, and 70%	Brazil
(Juliano et al., 2007)	<i>C. albicans</i> (ATCC 10231), <i>E. coli</i> (ATCC 25922) and <i>S. aureus</i> (ATCC 25923)	MIC, MBC and minimum candidicidal (MCC) concentrations	Crude propolis	Yes	Cruciani (Rome, Italy)	Natural	Fluid extract of propolis	France
(Koru et al. 2007)	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> (ATCC 27337), <i>Peptostreptococcus micros</i> (ATCC 33270), <i>Prevotella oralis</i> (ATCC 33269), <i>P. melaninogenica</i> (ATCC 25845), <i>P. gingivalis</i> (ATCC 33277), <i>F. nucleatum</i> (ATCC 10953) <i>Veillonella parvula</i> (ATCC 10790), <i>Lactobacillus acidophilus</i> (ATCC 4356), <i>A. naeslundii</i> (ATCC 12104)	MIC, MBC and time-kill assay	Crude propolis	Yes	Anatolian and one Brazilian	Irano-turanian, European-Siberian, Mediterranean	Ethanollic extracts	Turkey
(Mohammadzadeh et al., 2007)	<i>S. aureus</i> (ATCC 6538p), <i>S. epidermidis</i> (ATCC 12228), <i>B. subtilis</i> (ATCC 6633), <i>E. coli</i> (ATCC 8739), <i>P. aeruginosa</i> (ATCC 9027), <i>C. albicans</i> (ATCC 10231) and <i>A.</i>	MIC	Crude propolis	Yes	Animal Science Research Institute of Iran (ASRI), Tehran-Khojir, Iran	Natural obtained from colonies of honeybees	Hydroalcoholic solution	Netherlands

	<i>niger</i> (ATCC 16404)							
(Yang et al., 2007)	<i>S. mutans</i> (BCRC 15256)	Susceptibility of <i>S. mutans</i> and pH effect	Crude propolis	No	Nantou County, Taiwan	Natural collected from beehives	Ethanollic extract	Taiwan
(de Rezende et al., 2008)	Polymicrobial cultures collected from 16 necrotic and fistulae root canals	Agar-well diffusion technique	Commercial propolis	No	Ribeirão Preto, SP, Brazil	Brazilian commercial propolis - 11.0% Apis Flora and 11.0% Propomax® extract of propolis without ethanol	Ethanollic extract of propolis	Brazil
(Awawdeh et al., 2009)	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	Scanning electron microscope (SEM), agar plate assay	Commercial propolis	No	Amman, Jordan	Solution 30% propolis, Nature Home, Amman, Jordan	Solution	Jordan
(Awawdeh et al., 2009)	<i>E. faecalis</i> (ATCC 29212, CULTI-LOOPS®, OXOID Ltd., Hampshire, England)	The disc immersion method, the mean of CFU mL-1 and scanning electron microscope (SEM)	Solution	No	Jordanian propolis, Nature Home, Amman, Jordan	Not informed	Solution with 30% propolis	Jordan
(Farnesi et al., 2009)	<i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , and <i>P. aeruginosa</i>	Agar diffusion test	Crude propolis	Yes	States of Minas Gerais, Maranhão and São Paulo, Brazil	<i>Apis mellifera</i> , <i>Scaptotrigona</i> sp, and <i>Melipona quadrifasciata</i>	Ethanollic solution	Brazil
(Victorino et al., 2009)	<i>S. mutans</i> (ATCC 25175), <i>S. aureus</i> (ATCC 6538), <i>S. aureus</i> (ATCC 25923), <i>Kocuria rhizophila</i> (ATCC 9341), <i>E. coli</i> (ATCC 10538), <i>P. aeruginosa</i> (ATCC 27853), <i>Enterococcus hirae</i> (ATCC	Diffusion on double-layer Agar	Brown extract	No	Northeastern state of Paraná, Brazil	Natural	Toothpaste	Brazil

	10541), <i>S. mutans</i> (ATCC 25175), <i>Staphylococcus</i> spp. and <i>S. epidermidis</i> (6epi).							
(Gumgumjee, 2010)	<i>Bacillus subtilis</i> , MRSA, <i>Micrococcus</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , and <i>Proteus vulgaris</i>	Chemical composition and antibacterial activity	Four crude propolis samples	No	China, Egypt, Iran and Saudi Arabia	Vegetable species	Ethanolic extracts	Egypt
(Kouidhi et al., 2010)	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 and <i>Enterococcus faecium</i> , <i>S. mutans</i> , <i>Streptococcus mitis</i> , <i>Streptococcus oralis</i> , <i>Streptococcus salivarius</i> , <i>Streptococcus constellatus</i> , <i>Streptococcus anginosus</i> , <i>S. pyogenes</i> , <i>Streptococcus sanguis</i> , <i>Gemella morbillorum</i> and <i>Gemella haemolysans</i>	MIC, Reduction of biofilms growth and development, Assessment of biofilms biomass (crystal violet staining assay), Assessment of biofilms reduction assay	Crude propolis sample	No	Monastir (Tunisia)	<i>A. mellifera</i>	Ethanolic extract	Tunisia
(Nara et al., 2010)	<i>E. faecalis</i> (ATCC 4082)	Antimicrobial efficacy (turbidity) extract of propolis (EEP)	Solution	No	Not mentioned	Not mentioned	Ethanolic extract	India
(Ophori et al., 2010)	<i>S. mutans</i> isolated from dental caries	MIC	Crude propolis	Yes	Oghara, Delta State, Nigeria	Natural	Ethanolic extract	Nigeria

(Ozen et al., 2010)	<i>Peptostreptococcus magnus</i> (ATCC 29328), <i>Eubacterium lentum</i> (ATCC 43055), <i>L. acidophilus</i> (ATCC 4356), <i>A. odontolyticus</i> (ATCC 17929), <i>P. intermedia</i> (ATCC 25611), <i>P. oralis</i> (ATCC 33269), <i>P. melaninogenica</i> (ATCC 25845), <i>P. gingivalis</i> (ATCC 33277), <i>F. nucleatum</i> (ATCC 10953), <i>Bilophila wardsworthia</i> (ATCC 51581), and <i>V. parvula</i> (ATCC 10790)	Agar dilution method, MIC and MBC	Crude propolis	No	Two phytogeographical regions of Turkey (Euro-Siberia, Irano-Turanian).	Natural collected from apiaries	Ethanol extract	Turkey
(Valera et al., 2010)	<i>E. coli</i>	Kinetic chromogenic Limulus amebocyte lysate assay and serial dilution on agar plates	Commercial sample	No	Ribeirão Preto, Brazil	Apis Flora, Ribeirão Preto, Brazil	Propolis glycolic extract	Brazil
(Arslan et al., 2011)	<i>E. faecalis</i> (ATCC 29212) and <i>C. albicans</i> (ATCC 90028)	MIC, MBC, and susceptibility test	Hand-collected propolis sample	No	Kayseri (Central Anatolia) in Turkey	Not mentioned	Ethanol extract of propolis (EEP)	Turkey
(Ishida et al., 2011)	<i>S. mitis</i> , <i>S. mutans</i> and <i>S. salivarius</i>	Disc diffusion method	Four samples	Yes	Manaus, Amazon state in north Brazil	Africanised <i>Apis mellifera</i>	Ethanol extract	Brazil
(Kashi et al., 2011)	<i>S. mutans</i> (ATCC 35668), <i>Streptococcus salivarius</i> (ATCC 9222), <i>S. aureus</i> (ATCC 25923), <i>E. faecalis</i> (ATCC	Agar diffusion method, Effects on viability of suspension cells (macro-dilution tube methods),	Propolis samples from colonies of honeybees	No	North-east area of Tehran in Iran	Colonies of honeybees located in the north-east area of Tehran in Iran	Ethanol extract solution, water extract of propolis	Iran

	9854) and <i>Lactobacillus casei</i> (ATCC 39392)	determination of MIC, MBC						
(Kayaoglu et al., 2011)	<i>E. faecalis</i> (ATCC 29212)	Histological evaluation and CFU	Crude sample and mixed sample	Yes	Tekirdag: Malkara, Hayrabolu, and Muratlı districts and central Tekirdag, northwest Turkey	Not mentioned	Ethanolic extracts of propolis	Turkey
(Liberio et al., 2011)	<i>S. mutans</i> (ATCC 25175), <i>L. acidophilus</i> (ATCC 4356) and <i>C. albicans</i> (ATCC 18804)	Agar diffusion method, MIC, MBC and inhibition of biofilm viability	Samples of geopropolis	Yes	Palmeirândia and São Bento, Western Lowland of Maranhão, Brazil	<i>M. fasciculata</i>	Fractions obtained, HAE-2-HF (hexane fraction) and HAE-2-CF (chloroform fraction), geopropolis-based gel	Brazil
(Madhubala et al., 2011)	<i>E. faecalis</i> (ATCC 29212)	Antibacterial effectiveness by assessment of percentage of reduction in colonies counts	Not mentioned	No	Calgary, Canada)	Calgary Gold Bee Products	Not mentioned	India
(Malhotra et al., 2011)	<i>S. mutans</i> , <i>lactobacilli</i> and <i>C. albicans</i> (collected from oral cavity)	Inhibition zone in agar plates	Finely ground powder	No	Drapers SuperBee Apiaries; Millerton, PA, USA	Not mentioned	Propolis mouthrinse	India
(Agarwal et al., 2012)	<i>P. gingivalis</i> (ATCC 33277) and <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> (ATCC 43718)	Agar well diffusion assay and MIC	Propolis powder	Yes	Ecuadorian Rainforest, New Jersey, USA	Honey bees (<i>A. mellifera</i>)	Ethanolic extract	India
(Bertolini et al., 2012)	<i>S. mutans</i> (ATCC 25175)	Efficiency of Aloe vera and propolis dentifrice on reducing the contamination of toothbrush bristles - number of colony forming units (cfu)	Dentifrice containing <i>Aloe vera</i> and propolis	No	Scottsdale, AZ, USA	Forever Bright with <i>Aloe vera</i> and bee propolis, Forever Living Products	Not mentioned	Brazil

(Coutinho, 2012)	Subgingival plaque samples	Anaerobic culturing	Crude propolis	No	Institute of Agricultural Sciences, Bangalore, Karnataka, India	Africanized honeybees (<i>A. mellifera</i>)	20% propolis hydroalcoholic solution (extract)	India
(Elbaz and Elsayad, 2012)	<i>S. mutans</i> and lactobacilli were isolated from 12 patients	MIC and MBC	Egyptian crude samples	No	Beekeeping Department, Plant Protection Research Institute, Dokki, Giza, Egypt and New Zealand	Carniolan honeybee (<i>A. mellifera</i>) and commercial New Zealand bee propolis lozenges (International Medical Guide, Egypt)	Ethanol extract of propolis	Egypt
(Jahromi et al., 2012)	<i>E. faecalis</i> (ATCC 51299)	MIC and agar dilution assay	Crude propolis	No	Najaf Abad, Esfahan	From the beehives	Extraction of propolis	Iran
(Mattigatti et al., 2012)	<i>C. albicans</i> (ATCC 27853), <i>E. faecalis</i> (ATCC 29212), and <i>S. aureus</i> (ATCC 25923)	Agar diffusion assay	Not informed	No	Not informed	Not informed	Solution	United States
(Moncla et al. 2012)	Human isolates of Enterococcus species and <i>S. aureus</i> (ATCC 29213), <i>E. coli</i> (ATCC 25922), and <i>E. faecalis</i> (ATCC 29212).	Susceptibility test in agar plates, MIC and MBC	Crude propolis	No	Piracicaba, São Paulo, Brazil.	Alecrim (<i>Baccharis dracunculifolia</i>)	Propolis syrup solution in ethanol and DMSO	United States
(Barrientos et al., 2013)	<i>S. mutans</i> and <i>S. sobrinus</i> were clinical samples obtained from children	Prevention of caries and other diseases of the oral cavity	Crude propolis	Yes	Valparaíso, Metropolitana, Libertador Bernardo O'Higgins and La Araucanía Regions, Chile	Beekeeping producers	Ethanol and methanol extracts	Chile

(Bhardwaj et al., 2013)	<i>E. faecalis</i> biofilm (ATCC 29212)	Scanning electron microscope (SEM), assessed semi-quantitatively	Not mentioned	No	Not mentioned	Not mentioned	Not mentioned	India
(da Cunha et al., 2013)	<i>S. mutans</i> (UA 159), <i>S. aureus</i> (ATCC 25923), <i>S. aureus</i> (ATCC 33592), <i>E. faecalis</i> (ATCC 29212), <i>A. naeslundii</i> (m104), and <i>P. aeruginosa</i> (ATCC 25619)	MIC and MBC	Crude propolis	No	Entre Rios, Bahia, Brazil.	<i>M. scutellaris</i> geopropolis.	Ethanollic extract	England
(Dziedzic et al., 2013)	CRT bacteria chair side test was used to isolate the mutans streptococci and lactobacilli from saliva, by means of selective culture media.	Bacteria growth by semiquantitative method, commercial screening CRT bacteria medium, MIC, MBC and AlamarBlue Susceptibility Colorimetric Assay.	Crude propolis	Yes	Kamianna (Nowy Sacz Voivodeship, south of Poland)	Honeybees (<i>Apis mellifera</i>)	Ethanollic extract	India
(Hegde et al., 2013)	<i>S. mutans</i> MTCC 890	MIC and semiquantitative analysis of the microorganism in salivary samples	Five percent propolis	No	(India) Pvt Ltd Chennai	K-Link Healthcare (India) Pvt Ltd Chennai	Propolis platinum extract [K-Link Healthcare (India) Pvt Ltd Chennai]	India
(Maekawa et al., 2013)	<i>C. albicans</i> (ATCC 18804), <i>E. faecalis</i> (ATCC 29212) and <i>E. coli</i> (ATCC 25922)	Antimicrobial activity in plates and kinetic chromogenic Limulus amebocyte lysate (LAL) assay	Not mentioned	No	Ribeirão Preto, SP, Brazil	Apis Flora, Ribeirão Preto, SP, Brazil	12% glycolic propolis extract	Brazil
(Simsec et al., 2013)	<i>E. faecalis</i>	Bacterial leakage experiment	Crude propolis	No	Trabzon Agricultural Development Cooperative, Turkey	Natural	Solution with dimethyl sulfoxide (DMSO)	Turkey

(Tyagi et al., 2013)	<i>C. albicans</i> (ATCC 10231)	Agar tes and digital colony counter	Propolis solution	No	Delhi, India	Commercial Propolis (Herbal Biosolutions, Delhi)	11% alcoholic extract	India
(Bazvand et al., 2014)	<i>E. faecalis</i> (ATCC 20212)	Colony morphology and biochemical tests	Not informed	No	Canada	Propolis (Bill Beauty and Health Product Ltd, Canada)	Solution	Iran
(Bhandari et al., 2014)	<i>E. faecalis</i> (ATCC 35550)	Antimicrobial assessment in agar plates dilution	Not informed	No	Mumbai, India	(RK's Aroma Products, Mumba	Solution	India
(Carbajal Mejía, 2014)	<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212) and <i>C. albicans</i> (ATCC 10231)	Sample culturing and colony-forming unit per millilitre estimating	Solution	No	Oxapampa Valley, Pasco, Peru.	(Natural Bee Health Industry, Lima, Peru)	Not mentioned	Australia
(Chua et al., 2014)	<i>C. albicans</i>	Antimicrobial assessment by dilution in plates and colony counting	Solution	No	Michigan, USA.	Stakich, Royal Oak	95% propolis paste like	Malaysia
(De Luca et al., 2014)	<i>S. mutans</i> (ATCC 70069), <i>S. sanguinis</i> (ATCC 10557), <i>S. salivarius</i> (INCQS 00457), and <i>Lactobacillus casei</i> (LC) (ATCC 393)	Disk diffusion assay, MIC, MBC	Propolis sample	No	Caete, Minas Gerais, Brazil.	<i>Apis mellifera</i>	Brazilian green propolis ´ extrac	United States
(Franca et al., 2014)	<i>S. mutans</i> (ATCC 25175), <i>S. sanguinis</i> (ATCC 10557), <i>S. salivarius</i> (INCQS 00457), <i>L. casei</i> (ATCC 393), <i>Aggregatibacter actinomycetemco mitans</i> (ATCC 33384), <i>P. gingivalis</i> (ATCC	Agar diffusion method	Crude propolis	Yes	Minas Gerais State, Brazil.	Natural by Pharmanéctar®	Ethanollic propolis extract	Brazil

	33277), <i>P. intermedia</i> (ATCC 25611), and <i>F. nucleatum</i> (ATCC 23726)							
(Hatunoğlu et al., 2014)	<i>S. mutans</i> (ATCC 25175)	MIC, broth dilution method	Pure propolis	No	Bingo'l, Turkey	<i>A. mellifera</i>	Ethanolic extract of propolis	United States
(Marickar et al., 2014)	<i>E. faecalis</i> (ATCC 29212)	MIC, MBC and Agar diffusion test	Not informed	No	Not informed	Not informed	Propolis (30% in methyl cellulose)	United States
(Tulsani et al., 2014)	<i>S. mutans</i> in saliva was evaluated using a selective media (MSAB)	<i>S. mutans</i> count after chewing anticariogenic agent	Not informed	No	France	Propolis chewing gum (Propolia, Apimab Laboratories, France, containing 6.4% Propolis)	Not informed	India
(Asawahame et al., 2015)	<i>S. mutans</i> (ATCC 25175)	MIC, MBC, agar diffusion method, inhibition of adherence of <i>S. mutans</i> to a glass surface, morphology of adherent bacteria and biofilm structure	Crude propolis	YES	Chiangmai, Thailand	Chiangmai Healthy Product Co., Ltd.	Propolis extract	Thailand
(Borges and De Carvalho 2015)	<i>S. aureus</i>	Disk diffusion technique and stability assay	12-type resin	Yes	Not informed	Star Rigel Raffard, São Paulo, Brazil	Ethanolic extract	United States

(Grenho et al., 2015)	<i>S. aureus</i> (ATCC 25923)	Quantifying the planktonic bacteria held in contact, Biofilm formation on propolis containing nanoHA	Red and green propolis	Yes	Belo Horizonte, Brazil	Pharma Néctar®	Ethanollic extracts of red and green propolis (25%)	Brazil
(Joy Sinha et al., 2015)	<i>C. albicans</i> (ATCC 10231)	Disinfection of dentinal tubules, broth solution on SDA plates	Gel	No	Delhi, India	Herbal Biosolutions	11% alcoholic extract of propolis	United arab Emirates
(Morawiec et al., 2015)	28 samples collected from the oral cavity (<i>S. mitis</i> , <i>S. oralis</i> , <i>S. sanguinis</i> , <i>S. salivarius</i> , <i>Streptococcus vestibularis</i> , <i>Streptococcus acidominimus</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>Ruminococcus productus</i> , <i>Sarcina</i> sp.; <i>Neisseria</i> spp., <i>V. parvula</i> ; <i>K. pneumoniae</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Enterobacter amnigenus</i> , <i>Enterobacter kobei</i> , <i>Burkholderia cepacia</i> , <i>Capnocytophaga ochracea</i> , <i>Campylobacter gracilis</i> , <i>Prevotella disiens</i> , <i>Bifidobacterium adolescentis</i> , <i>Bifidobacterium dentium</i> , <i>Bifidobacterium breve</i> ,	Antimicrobial assessment in agar plates	Raw green propolis	No	Minas Gerais State, southeast Brazil	<i>A. mellifera</i>	Ethanollic extract of Brazilian green propolis	United States

	<i>Bifidobacterium longum</i> , L. <i>acidophilus</i> , <i>Aeromonas caviae</i> , <i>Actinomyces viscosus</i> , A. <i>israelii</i> , and C. <i>albicans</i> .							
(Pimenta et al., 2015)	<i>E. faecalis</i> (ATCC 29212)	MIC, bacterial growth was analyzed by spectrophotometry	Brown crude propolis	No	Cerrado region of the state of Mato Grosso, Brazil	Not mentioned	Ethanollic extract of propolis	Brazil
(Saha et al., 2015)	<i>E. faecalis</i>	Turbidity assay using colorimeter	Not mentioned	No	India	Hitech Natural products India Ltd	Not mentioned	India
(Saxena et al., 2015)	<i>E. faecalis</i> (ATCC 21292)	Disc diffusion method/Kirby-Bauer method	Crude propolis	No	Not informed	Not informed	Extract	India
(Siqueira et al., 2015)	<i>C. albicans</i> , C. <i>tropicalis</i> , C. <i>glabrata</i> and C. <i>parapsilosis</i> (ATCC 6258)	Minimum inhibition concentration (MIC), minimum fungicidal concentration (MFC), growth inhibition	Commercial preparation	No	Belo Horizonte, Brazil	(lot code PRDE0906 – Pharmanéctar®, Belo Horizonte, Brazil)	red propolis alcoholic extract	Brazil
(Shrivastava et al., 2015)	<i>E. faecalis</i> (ATCC 29212)	Zone of inhibition measurement	Not mentioned	No	India	(Hi-Tech Natural product India Ltd.)	Propolis	India
(Smolarek et al., 2015)	<i>S. mutans</i> (ATCC 25175), <i>P. aeruginosa</i> (ATCC 27853), and <i>E. faecalis</i> (ATCC 29212)	Disk diffusion method	Not informed	No	11 toothpastes with natural compounds were acquired in drugstores and supermarkets in Ponta Grossa, Paraná, Brazil.	Comvita, New Zealand	Natural propolis toothpaste	Germany

(Sutjarittangtham et al., 2015)	<i>S. mutans</i> (ATCC 25175)	MIC, MBC, agar disk diffusion method, inhibition of adherence of <i>S. mutans</i> , morphology of adherent bacteria and biofilm structure	Crude propolis	No	Chiangmai, Thailand	Chiangmai Healthy Product Co., Ltd.	Extract	Thailand
(Vanni et al., 2015)	<i>A. naeslundii</i> OMZ 745, <i>Veillonella dispar</i> OMZ 493, <i>F. nucleatum</i> OMZ 598, <i>S. mutans</i> OMZ 918, <i>S. oralis</i> OMZ 607 and <i>C. albicans</i> OMX 110	Harvesting and determination of colony forming units (CFU)	Toothpaste and mouthrinse	No	Switzerland and Germany	(Propodent, Bio Cumnatura; Rütli, Switzerland) and (Mundwasser, Bio Cumnatura)	Toothpaste with propolis 0.9% and mouthrinse solution with propolis 10%, no alcohol	Switzerland
(Akca et al., 2016)	<i>S. mutans</i> (ATCC 25175), <i>S. sobrinus</i> (ATCC 33478), <i>L. acidophilus</i> (ATCC 4356), <i>Lactobacillus salivarius</i> subsp. <i>Salivarius</i> (ATCC 11741), <i>E. faecalis</i> (ATCC 29212), <i>S. aureus</i> (ATCC 25923), <i>A. actinomycetemcomitans</i> (ATCC 29523), <i>A. israelii</i> (ATCC 12102), <i>P. gingivalis</i> (ATCC 33277), <i>P. intermedia</i> (ATCC 25611), and <i>C. albicans</i> (ATCC 10231).	MIC, MBC, and MFC	Unrefined propolis	Yes	Kazan, Ankara, Turkey	Natural (<i>Apis mellifera</i>)	Ethanolic extract	United States

(Cardoso et al., 2016)	<i>S. mutans</i> dental biofilm	MIC, MBC, and biofilm formation on bovine tooth	Wild propolis green	Yes	São José do Barreiro, São Paulo, Brazil	Natural (<i>Apis mellifera</i>)	Ethanol extract	Brazil
(de Lima et al., 2016)	<i>S. aureus</i> (ATCC 25923), <i>E. coli</i> (ATCC 25922), <i>Salmonella typhimurium</i> IMD 121, or <i>Pseudomonas putida</i> IMD 135	MIC, MBC and bacteria growth curve	Raw propolis	No	Quitandinha, Parana, Brazil	<i>Apis mellifera</i> hives	Ethanol extract	United States
(Karakis et al., 2016)	<i>C. albicans</i> strain (ATCC 1023)	Adhesion assay	Crude	No	Ordu, Turkey	Natural (<i>Apis mellifera</i> bees)	Ethanol extract	Turkey
(Mazia et al., 2016)	-	Anti-HSV-1 Activity of PEs, Postinfection Treatment Assay, Virucidal Assay, Drug Release Study, Therapeutic Efficacy, Drug Release Study	Green propolis, type BRP8,15	Yes	Parana state, Brazil	<i>Apis mellifera</i> L., <i>Baccharis dracunculifolia</i> (Asteracea)	Ethanol extract	United States
(Shabbir et al., 2016)	<i>P. gingivalis</i> (ATCC 33277) and <i>Bacteroides fragilis</i> (ATCC 25285)	Agar well diffusion and MIC	Crude propolis	No	National Agricultural Research Council, Islamabad	Natural (<i>Apis mellifera</i> bees)	Ethanol extract	United States
(Veloz et al., 2016)	<i>S. mutans</i> (from salivary samples)	MIC and biofilm formation	Crude	Yes	La Araucania, Chile	Not mentioned	Polyphenol-rich extract from Propolis	Chile
(Ariamanesh et al., 2017)	<i>S. mutans</i> (ATCC35668), <i>S. aureus</i> (ATCC 33591), <i>S. aureus</i> (ATCC 29213), <i>S. epidermidis</i> , <i>E. faecalis</i> (ATCC	Anti-biofilm synergistic effect, MIC and MBC	Crude propolis	No	Shabestar, East-Azarbayjan, Iran	Natural	Iranian ethanol extract of propolis	Iran

	29212), and <i>E. coli</i> (ATCC 25922)							
(Camacho-Alonso et al., 2017)	<i>E. faecalis</i> (ATCC 29212)	Blood agar plates, evaluated (CFU)/mL, SEM analysis.	Not mentioned	No	Burgos, Spain	Liproline®, Novadiet S.A	Alcoholic extract 11 %	Japan
(De Luca et al., 2017)	<i>S. mutans</i> UA159 in vivo (animal)	Cariogenic challenge	Type 12 crude propolis	No	Southeastern Brazil	Natural	Ethanolic extract	Brazil
(Del Carpio-Perochena et al., 2017)	<i>E. faecalis</i> (ATCC 29212)	Colonies counting in BHI agar and bacterial viability	Ethanolic propolis extract powder	No	Montevideo, Uruguay	Apiter Laboratories (Montevideo, Uruguay)	Ethanolic propolis extract	Canada
(Dezmirean et al., 2017)	<i>S. aureus</i> (ATCC 6538P, <i>Bacillus cereus</i> (ATCC 14579, <i>E. coli</i> (ATCC 10536 and <i>P. aeruginosa</i> (ATCC 27853	Agar disc diffusion method	Fine poder (Thirty-six samples of pure própolis)	Yes	Transylvania, Romania	Natural (various regions with different landforms and vegetation)	Ethanolic extract	Romania
(Harfouch et al., 2017)	<i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>E. coli</i> and <i>Acinetobacter baumannii</i>	Method on Muller Hinton Agar	Fine powder	No	The first sample Latakia, Syria and the second was from Tartous, Syria.	Natural	Ethanolic extract	Syria
(Jaiswal et al., 2017)	<i>E. faecalis</i> (ATCC 29212)	Biofilm formation	Not mentioned	No	New Delhi, India	HiTech natural products	Alcoholic extract 11%	Spain
(Lisa et al., 2017)	<i>Bacillus</i> sp., <i>Saccharomyces</i> sp., <i>Rhodotorula</i> sp., <i>Penicillium</i> sp., <i>Fusarium</i> sp. and, <i>Aspergillus</i> sp.	The growth inhibition halo	Propolis tincture	No	Not informed	Synthetic	Toothpaste	Romania

(Sahlan et al., 2017)	<i>S. mutans</i>	Total plate colony (TPC) and spectrophotometer UV-Vis analysis	Oil phase	No	Indonesia	Synthetic	Microemulsion	United States
(Vasudeva et al., 2017)	<i>E. faecalis</i> (ATCC 29212) (Himedia, Mumbai)	Colonies counting in agar plates diffusion	Alcoholic extract	No	Delhi, India	Natural (Herbal Biosolutions, Delhi)	Propolis gel of 11% alcoholic extract	India
(Wassel and Khattab, 2017)	<i>S. mutans</i> (ATCC 25175)	Disk diffusion method, Inhibition of bacterial induced enamel demineralization assay	Crude	No	Not mentioned	Natural (<i>Apis mellifera carnica</i> L.)	Ethanolic extract	Egypt
(Airen et al., 2018)	<i>S. mutans</i> (Microbial Type Culture Collection [MTCC] 890) and <i>L. acidophilus</i> (MTC C 447)	Agar well-diffusion method	Crude	No	Jhabua, Madhya Pradesh, India	Natural (Beehive)	Hydro-alcoholic extract	India
(Elgamily et al., 2018)	<i>S. mutans</i> (ATCC 25175)	Well diffusion, bacterial adherence, and fluoride release (from 2 to 72 hours) assessments.	Powder	No	Emtenan health shop, Cairo, Egypt	Natural (honey bee Egyptian)	Ethanolic solution	Spain

(Habluetzel et al., 2018)	<i>S. gordonii</i> (ATCC 10558), <i>S. sanguinis</i> (ATCC 10556), <i>S. mutans</i> (ATCC 25175), <i>S. sobrinus</i> (ATCC 12104), <i>Lactobacillus acidophilus</i> (ATCC 11975) and <i>A. naeslundii</i> (ATCC 12104).	MIC and bacterial adhesion assay	Tincture	No	Apinatura, Naters, Switzerland.	Natural	Solution	England
(Martins et al., 2018)	<i>S. mutans</i> (ATCC 25175).	MIC, MBC, and biofilm formation assay	Raw	Yes	Apiário Edimel, João Pessoa - Paraíba, Brazil.	Natural (<i>Apis mellifera</i>)	Hydro-alcoholic extract	Brazil
(Porto et al., 2018)	<i>S. mutans</i> CCT 3440, <i>Lactobacillus acidophilus</i> (ATCC 4356, and <i>C. albicans</i> (ATCC 36801 and 36802	Ethyl acetate extract of Brazilian red propolis as a cavity cleaning agent and its influence on the color and microtensile bond strength (μ TBS) of the dentin/resin interface.	Raw (Brazilian red propolis – BRP)	No	Marechal Deodoro, Alagoas, Brazil. Propolis was collected from the Ilha do Porto in July/2013.	Natural (Beehive which was procured freshly from Jhabua tribal regions)	Hydro-alcoholic extract	Brazil
(Ristivojevic et al., 2018)	<i>S. mutans</i> , <i>S. pyogenes</i> and <i>S. sanguinis</i> and against <i>C. albicans</i> ATCC 10231	Diffusion assay, MIC, MBC, and MFC	Sixty crude propolis samples	Yes	Different regions of Turkey and Serbia	Natural	Solution	United States
(Roh and Kim, 2018)	<i>S. mutans</i> (KCTC 5365), <i>S. aureus</i> (KCTC 1916), <i>E. faecalis</i> (KCTC 5290), and <i>C.</i>	Measurement of microbial growth curve and agar diffusion test	Crude	No	Various regions of Korea	Natural (Korean propolis samples) were provided by	Ethanol solution	Korea

	<i>albicans</i> (KCTC 17712)					Dong-A University		
(Vlachojannis et al., 2018)	<i>S. mutans</i> DSM20523, <i>E. faecalis</i> T9, <i>E. faecalis</i> (ATCC29212), <i>E. faecalis</i> 12030, <i>E. faecalis</i> 137, <i>S. oralis</i> A12-1, <i>S. sanguis</i> DSM20068, <i>S. sanguis</i> A22-2, <i>S. sobrinus</i> DSM 203815, <i>Lactobacillus paracasei</i> DSM20020, <i>L. paracasei</i> DSM20021, <i>Lactobacillus rhamnosus</i> DSM20021, <i>Eikenella corrodens</i> FB69/36-2b, <i>S. aureus</i> (ATCC25923), <i>S. aureus</i> NCTC8325, methicillin-resistant <i>S. aureus</i> (MRSA) (ATCC43300), <i>S. epidermidis</i> DSM1794, and <i>C. albicans</i> (ATCC90028)	MIC, MBC, MFC and inhibition effects against total human salivary bacteria	Tincture	No	Henan 461507, China	Alpinamed AG, Lot # 23161 originating from Changge, China	Stock solution	England
(Yoshimasu et al., 2018)	<i>P. gingivalis</i> (ATCC 33277), W83, W50, YH522, <i>Prevotella nigrescens</i> (ATCC	Broth microdilution and agar dilution assays and MIC	Solution	Yes	Brazilian green propolis	Not informed	Ethanol-extracted propolis	United States

	33563), <i>F. nucleatum</i> 20, (ATCC 23726), <i>A. actinomycetemcomitans</i> Y4, (ATCC 29522), <i>Prevotella loescheii</i> (ATCC 15930), <i>S. anginosus</i> (ATCC 33397), <i>Streptococcus cristatus</i> , <i>Streptococcus gordonii</i> (ATCC 10558), <i>S. mitis</i> (ATCC 6245), <i>S. mutans</i> UA159, <i>S. oralis</i> No. 10, <i>S. salivarius</i> (ATCC 9759), <i>S. sanguinis</i> (ATCC 10556), <i>S. sobrinus</i> (ATCC 6715), <i>E. coli</i> BW25113							
(Abdel Raheem et al., 2019)	<i>E. faecalis</i> (ATCC 19434, <i>S. mutans</i> (ATCC25175 were and <i>C. albicans</i> Sc5314	Direct Contact Test (DCT)	Crude	Yes	Egyptian propolis (ProE) (Dakhahlia Province, Egypt).	Natural	Ethanol solution	New Zealand
(Buzia et al., 2019)	<i>E. coli</i> , <i>E. hormaechei</i> , <i>P. aeruginosa</i> ; <i>S. aureus</i> , <i>S. pneumoniae</i> , <i>S. pyogenes</i> , <i>Enterococcus casseliflavus</i> , <i>C. albicans</i>	Diffusimetric (Kirby-Bauer) method	Crude propolis	No	Faculty of Pharmacy in Galati, Romania	Natural	Propolis tincture, ethanolic extract	Romania

(Djais et al., 2019)	<i>S. mutans</i> (ATCC 25175T) and <i>S. sanguinis</i> (ATCC 10566T), and <i>C. albicans</i> (ATCC 10231T)	Biofilm formation	Propolis dentifrice	No	Chemical Engineering Laboratory, Universitas Indonesia.	Synthetic	Fraction propolis 5%	Saudi Arabia
(El-Tayeb et al., 2019)	Animal model (dogs)	Qualitative and quantitative histologic analysis	Egyptian propolis	No	El Monofia province	Natural	Propolis extract	England
(Godbole et al., 2019)	<i>S. mutans</i> (MTCC 497)	MIC and confocal laser scanning microscopy	Crude liquorice and propolis powder	No	Not informed	Not informed	Gel	India
(Jayakkodi et al., 2019)	<i>E. faecalis</i> (ATCC 29312) and <i>C. albicans</i> (ATCC 90042)	Zone of inhibition and turbidity	Solution	No	Propolis (Stakich, Royal Oak, Michigan, USA)	Synthetic	Solution	India
(Martins et al., 2019)	<i>S. mutans</i> (ATCC 25175), <i>S. sanguinis</i> (ATCC 10556), <i>S. salivarius</i> (ATCC 7073) and <i>L. casei</i> (ATCC 393)	MIC, MBC, and biofilm formation	Crude red propolis	Yes	Magé, Rio de Janeiro, Brazil	Natural	Red propolis ethanolic extract	England
(Nazeri et al., 2019)	<i>S. aureus</i> (ATCC 29213), <i>E. faecalis</i> (ATCC 29212), <i>S. mutans</i> (ATCC 35668),	MIC and examined by real-time polymerase chain reaction (RT-PCR)	Crude	No	Propolis was obtained from the western region of	Natural	Solution	Iran

	and <i>L. acidophilus</i> (ATCC 314)				Isfahan province, Iran, in Spring 2017.			
(Pereira et al., 2019)	<i>E. faecalis</i> (ATCC 29212)	Confocal laser scanning microscopy (CLSM) and microbiological culture	Solid green propolis	No	Paraná, Brazil	Natural	Ethanol solution	Germany
(Singh et al., 2019)	<i>E. faecalis</i> (ATCC 29212) and <i>C. albicans</i> (ATCC 90028)	Antibacterial activity in propolis juice	Solution	No	Not informed	Not informed	Solution (Dimethyl Sulfoxide extract of Propolis)	United States
(Sodagar et al., 2019)	<i>S. mutans</i> (ATCC 35668), <i>S. sanguinis</i> (ATCC 10556) and <i>L. acidophilus</i> (ATCC 314)	Biofilm formation, Disc agar diffusion (DAD) test, Eluted component test	Pure propolis	No	Not mentioned	Not mentioned	Ethanol solution	Iran
(Sowmya et al., 2019)	<i>S. aureus</i> (ATCC 12598), <i>S. mutans</i> (ATCC 25175), <i>A. actinomycetemcomitans</i> (ATCC 43718), <i>C. albicans</i> (ATCC 2091)	Agar disc diffusion method	Crude propolis	Yes	The region of Sullia, Dhakshina Kannada district, Karnataka state, India.	Natural	Solution	India
(Veloz et al., 2019)	Bacteria (<i>S. mutans</i>) were obtained from clinical isolates from children with tooth decay.	MIC by the serial dilution method, Crystal violet staining assay, confocal microscopy,	Crude propolis sample	No	La Araucania region, Chile	Not mentioned	Polyphenol-rich extract of propolis	United States
(Yuanita et al., 2019)	<i>Animal model</i> – Wistar rats <i>E. faecalis</i> (ATCC 29212)	Immunohistochemical examination to measure the expression of RANKL and NFATc1.	East Java Propolis extract	No	Not mentioned	East Java propolis – not informed	Extract	Indonesia

Supplementary Table S2 Demographic data and main results of clinical studies.

References	Country	Title	Area	Application
(Eley, 1999)	England	Review	Peridontology	The antibacterial agents in mouthwashes and other vehicles to inhibit the growth of supragingival plaque
(Więckiewicz et al., 2013)	Egypt	Review	General Dentistry	Use of propolis in treatment of various diseases of oral cavity in their dental aspect
(Grosso et al., 2008)	United States	Review	General Dentistry	Use of phytotherapy in dentistry
(Premoli et al., 2009)	Venezuela	Review	General Dentistry	Dentistry biological activity
(Casaroto and Lara, 2010)	Netherlands	Review	Oral Medicine	Phytomedicines for Candida-associated denture stomatitis.
(Jeon et al., 2011)	Switzerland	Review	Operative Dentistry	Natural products in Caries Research
(Taheri et al., 2011)	England	Review	Operative Dentsitry	The herbal extracts use in operative dentistry
(Yueh-Juen and Feng-Yu, 2014)	China	Systematic review with meta-analysis	General Dentistry	The effects of propolis use on oral health, including oral infection, dental plaque, and stomatitis.
(Makowiecki et al., 2014)	Poland	Review	Endodontic	The vital pulp therapy in permanent teeth
(Bin-Shuwaish, 2016)	India	Literature review	Operative Dentistry	Naturally based cavity disinfectants in operative dentistry
(Freires et al., 2016)	France	Review	Oral Medicine	A pharmacological perspective on the use of Brazilian Red Propolis and its isolated compounds against human diseases
(Chinsembu, 2016)	Netherlands	Review	General Dentistry	Plants and other natural products used in the management of oral infections and improvement of oral health
(Bruschi et al., 2017)	Brazil	Review	General Dentistry	The use of propolis in micro/nanostructured pharmaceutical formulations in dentistry and other areas
(Khurshid et al., 2017)	Iran	Review	General Dentistry	The properties and chemistry of propolis concerning biomedical and dental applications
(Skoskiewicz-Malinowska et al., 2017)	Netherlands	Review	Endodontics	Applications in endodontic treatment
(Agrawal et al., 2017)	India	Critical review	Endodontics	The herbal endodontic irrigants evaluated for their effectiveness in the disinfection of a root canal system

(Abbasi et al., 2018)	Ethiopia	Review	General Dentistry	The role of propolis in improving dental and oral health
(Ahangari, et al. 2018)	Iran	Review	Endodontic	Chemical composition of propolis and its application in endodontics
(Freires et al., 2018)	England	Sistematic review	Periodontology	Preventing bone loss in a ligature-induced periodontitis model
(Aslam, 2019)	Malaysia	Systematic review and meta-analysis	Operative dentistry	The efficacy bioactive compounds of propolis in tooth decay with in vivo studies
(Münstedt, 2019)	Germany	Systematic review	Stomatology	The value of bee products with respect to antiviral efficacy against herpes viruses

Supplementary Table S3 Demographic data and main results of review articles.

References	Country	Title	Area	Application
(Eley, 1999)	England	Review	Peridontology	The antibacterial agents in mouthwashes and other vehicles to inhibit the growth of supragingival plaque
(Więckiewicz et al., 2013)	Egypt	Review	General Dentistry	Use of propolis in treatment of various diseases of oral cavity in their dental aspect
(Grosso et al., 2008)	United States	Review	General Dentistry	Use of phytotherapy in dentistry
(Premoli et al., 2009)	Venezuela	Review	General Dentistry	Dentistry biological activity
(Casaroto and Lara, 2010)	Netherlands	Review	Oral Medicine	Phytomedicines for Candida-associated denture stomatitis.
(Jeon et al., 2011)	Switzerland	Review	Operative Dentistry	Natural products in Caries Research
(Taheri et al., 2011)	England	Review	Operative Dentsitry	The herbal extracts use in operative dentistry
(Yueh-Juen and Feng-Yu, 2014)	China	Systematic review with meta-analysis	General Dentistry	The effects of propolis use on oral health, including oral infection, dental plaque, and stomatitis.
(Makowiecki et al., 2014)	Poland	Review	Endodontic	The vital pulp therapy in permanent teeth
(Bin-Shuwaish, 2016)	India	Literature review	Operative Dentistry	Naturally based cavity disinfectants in operative dentistry
(Freires et al., 2016)	France	Review	Oral Medicine	A pharmacological perspective on the use of Brazilian Red Propolis and its isolated compounds against human diseases
(Chinsembu, 2016)	Netherlands	Review	General Dentistry	Plants and other natural products used in the management of oral infections and improvement of oral health
(Bruschi et al., 2017)	Brazil	Review	General Dentistry	The use of propolis in micro/nanostructured pharmaceutical formulations in dentistry and other areas
(Khurshid et al., 2017)	Iran	Review	General Dentistry	The properties and chemistry of propolis concerning biomedical and dental applications
(Skoskiewicz-Malinowska et al., 2017)	Netherlands	Review	Endodontics	Applications in endodontic treatment
(Agrawal et al., 2017)	India	Critical review	Endodontics	The herbal endodontic irrigants evaluated for their effectiveness in the disinfection of a root canal system

(Abbasi et al., 2018)	Ethiopia	Review	General Dentistry	The role of propolis in improving dental and oral health
(Ahangari, et al. 2018)	Iran	Review	Endodontic	Chemical composition of propolis and its application in endodontics
(Freires et al., 2018)	England	Sistematic review	Periodontology	Preventing bone loss in a ligature-induced periodontitis model
(Aslam, 2019)	Malaysia	Systematic review and meta-analysis	Operative dentistry	The efficacy bioactive compounds of propolis in tooth decay with in vivo studies
(Münstedt, 2019)	Germany	Systematic review	Stomatology	The value of bee products with respect to antiviral efficacy against herpes viruses

ARTIGO 2

O seguinte artigo foi formatado e será submetido à apreciação do periódico *Phytotherapy Research* is 5.307 (2021--2022) Qualis A1. Assim como o estudo anterior, ele foi desenvolvido sob a orientação do professor Rafael Guerra Lund.

Propolis controlled delivery systems for oral therapeutics in dental medicine: A Systematic Review

Andressa da Silva Barboza¹, Juliana Silva Ribeiro¹, Monika Lamas Ferreira¹,
Andre Ricardo Fajardo², Rafael Guerra Lund^{1*}

¹Post-Graduate Program in Dentistry, Pelotas Dental School, Federal University of Pelotas, Pelotas, RS, Brazil;

²Laboratory of Technology and Development of Composites and Polymeric Materials (LaCoPol), Center for Chemical, Pharmaceutical and Food Sciences, Federal University of Pelotas, UFPel, Campus Capão do Leão, Pelotas, RS, Brazil;

***Corresponding Author**

Prof. Rafael Guerra Lund

Pelotas Dental School, Federal University of Pelotas

Gonçalves Chaves Street, 457 / Rm 702-3

Downtown Pelotas

Zipcode: 96015-560

Propolis controlled delivery systems for oral therapeutics in dental medicine: A Systematic Review

ABSTRACT

This systematic review aimed to synthesize the existing evidence in the literature regarding the addition of propolis in controlled delivery systems and its potential therapeutic action in dental medicine. This review followed the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) statement. Two independent reviewers performed a literature search up to 15th January 2022 in five databases: PubMed/Medline, Web of Science, Cochrane Library, Scopus, and Embase, to identify the eligible studies. Clinical, *in situ* and *in vitro* studies that investigated the incorporation of propolis as the main agent in controlled delivery systems for dental medicine were included in this study. The following were excluded: review articles, clinical cases, theses, dissertations, abstracts at congresses, and studies that had no application in dentistry. After examining carefully 55 full-text articles, 11 *in vitro* studies, 1 animal model, and 1 *in vivo* (and *in vitro*) studies were included (n=13). Relevant data were extracted from the included studies and analyzed qualitatively. The use of propolis has been observed in cariology, endodontics periodontics, and implantology. Propolis has shown non-cytotoxic, osteoinductive, antimicrobial, and anti-inflammatory properties. The evidence in the literature suggested that propolis can easily be released from drug delivery systems for prolonged periods, having potential biocompatibility, safety, and potential advantage for applications in dental medicine.

Keywords: Propolis; Oral Bone Regeneration; Drug Delivery; Guided Tissue Regeneration; Tissue Engineering; Systematic Review

1. Introduction

Odontogenic infections, such as dental caries, periodontal diseases, endodontic infections, and dental abscesses are very common problems in dental medicine, being caries the most common infectious dental disease in the world. They mainly involve an interaction between the microbial biofilm and tooth structure or oral tissues (Pitts et al., 2017). When not properly treated, this infection can promote inflammation and consequently irreversible damage to oral tissues.

In general, conventional treatments involve removing affected tissue and replacing it with filling materials and surgical approaches (Ahmed et al., 2020). Despite these treatments being useful, they may not be ideal once they do not replace biologically the loss. In this sense, the development of new alternative methods aiming to provide antimicrobial, anti-inflammatory, and biological activities during the treatment of buccal lesions is considered promising in dental research (Ahmed et al., 2020). However, these methods also include oral administration of drugs or local administration of huge doses of drugs leading to antibiotic resistance, patient sensitivity, and possible side effects (Nguyen & Hiorth, 2015). Within this scenario, targeting to reduce these drawbacks, the field of drug delivery systems (DDS) has arisen.

DDS is an approach where an optimal amount of a drug is delivered and acts on the exact site of the lesion (Jain et al., 2014). They are formulated by combining drugs with biomaterials of lipidic, inorganic and polymeric nature to provide a more effective way of delivering the compounds to target tissues (Costa et al., 2021). Its efficiency and safety are enhanced by controlling the rate, time, and location of drug release in the organism (Devi et al., 2010; Jain, 2014). This system is based on an adequate drug administration in a control treatment period in which the active drug compound will act at the desired site of action (Devi et al., 2010; Sarangi & Padhi, 2018).

The development of DDS has many advantages not only for synthetic drugs but also for herbal medicines, which include improving solubility and bioavailability, increasing pharmacological activity, reducing toxicity, increasing stability, improving tissue macrophage distribution, sustained delivery, and protection from physical damage and chemical degradation (Sarangi & Padhi, 2018). In addition, the use of phytotherapy in DDS is of great interest due to its low cost, availability, low or no adverse effects, and complex composition in bioavailable nutrients (Simu et al., 2018).

In this sense, propolis is a natural product produced by bees from trees (Fabri et al., 2011; Kim et al., 2019). It is a non-toxic natural resin and has numerous pharmacological properties including antimicrobial, anti-inflammatory, anticancer, antioxidant, improved immune system effects (Bonadies et al., 2019; Abdelsalam et al.,

2020; Barboza et al., 2021). Several studies report the use of this substance in the most varied dental formulations and the results have proven its pharmacological activities (Chua et al., 2014; Franca et al., 2014; Kurshid et al., 2017; Jautova et al., 2019; Barboza et al., 2021). Furthermore, according to previous studies, propolis may induce the repair and regeneration of bone (Meimandi-Parizi et al., 2018; Kresnadi et al., 2020), cartilaginous (Cardile et al., 2003; Simu et al., 2018), and pulp tissue (Balata et al., 2018; Abdelsalam et al., 2020). Thus, this research aims to systematically review the literature to obtain an updated overview of the use and effectiveness of DDS containing propolis for oral applications.

2. Materials and Methods

2.1. Protocol and Registration

This systematic review was carried out following the specific protocol provided by the PRISMA statement (Moher et al., 2015).

2.2. Clinical Question (PICO)

The research question was: *“Is there an influence on the incorporation of propolis in drug delivery systems comparable to drug delivery systems with other substances or without propolis?”*

- P: DDS propolis extracts-based
- I: utilization and efficacy of propolis in drug delivery systems, assessing, in particular, its contribution to dental medicine
- C: comparison between drug delivery systems with propolis extracts free and propolis in drug delivery systems
- O: effectiveness DDS-based propolis for dentistry

2.3. Search strategy and study selection

Studies were searched in five databases: Medline (PubMed), Web of Science, Scopus, Embase, and Cochrane. The last search was carried out on January 15th, 2022 without the restriction of time or language. The search strategy used was appropriately adapted for each database and is listed in Table 1. The titles of all identified studies were screened by two independent reviewers, blind to each other (A.B. and J.R.) using the online system Rayyan QCRI (Hamad Bin Khalifa University, Doha, Qatar).

Abstracts were carefully appraised; studies that met the inclusion criteria or had insufficient data available in the title or abstract were selected for a complete analysis. Disagreements reported on the eligibility of the included articles were resolved through

consensus and by a third reviewer (M.F.) through a group. References lists of all included studies were also hand-searched for additional studies.

Investigations concerning dental medicine using propolis in drug delivery systems or combined with other biomaterials, molecules, or stem cells were selected. The inclusion criteria were as follows: papers evaluating DDS-based propolis for biomaterials. The following reasons for exclusion were considered: literature reviews, clinical cases, case reports, dissertations, thesis, abstracts at congresses, and studies that evaluated the actions of DDS propolis-based in areas other than dentistry.

2.3. Data collection

The study characteristics, demographic information, enrollment criteria, the design of the study (*in vivo* or *in vitro* analysis), aims of the study, application in dentistry, type of biomaterials that were used for the oral tissues, type of propolis, characterization, and origin, toxicity assessment, drug release, main results, presence of controls, and sample size were extracted by the reviewers (A.B. and M.F.).

2.4. Quality Assessment

Quality assessment of the included studies was evaluated by the two reviewers and adapted according to a previous study (Ribeiro et al., 2020). The risk of bias was assessed from the detailed description of the methodology of the studies regarding the items: generation of random sequence, allocation concealment, sample size calculation, positive control, negative control and, characterization of natural components. When these items were reported by the writer, it was classified as low risk. If the information was not clear, the item was classified as unclear, therefore, high risk. Articles that reported two or three items were classified as high risk of bias, four or five items as medium risk of bias, and six or seven items as low risk of bias. The methodological quality and risk of bias in included articles were provided using Review Manager (RevMan) 5.3.5.

3. Results

3.1. Study selection

A flowchart illustrating this review's search and selection is presented in Figure 1. The search resulted in the retrieval of 1120 articles. After the database screening and removal of duplicates, 1052 studies were identified. Then, 55 titles were screened, a careful examination of the full-texts was performed and assessed to check if they were eligible for this systematic review. As a result, four studies were excluded because they did not fit the inclusion criteria and, 13 studies were selected.

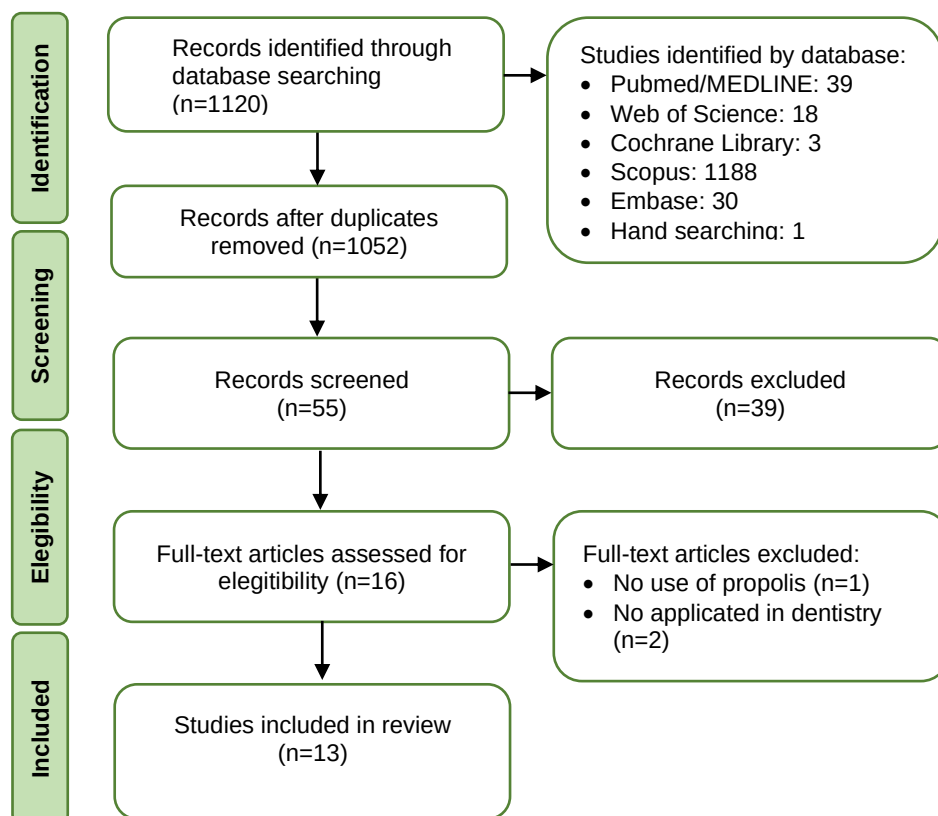


Figure 1. Flow diagram of the systematic review.

2.2. Characteristics of the articles included

The characteristics of the included studies are described in Table 2. The studies were published between 2007 and 2021. Brazil was the country with the highest number of studies on DDS propolis-based in dental medicine. All studies were *in vitro*, however, only one study evaluated both *in vitro* and *in vivo* (animal model).

Regarding the application in dentistry, five studies had application in periodontics (periodontal pockets and guided tissue regeneration) followed by two in endodontics (pulp protection), cariology (anti-cariogenic agent) (2), implantodontics (1), regenerative dentistry (hard tissue) (1), control oral infection (1), oral medicine (oral lesions) (1). Nine studies use the ethanolic extract of propolis, followed by aqueous extract (2), ethyl alcoholic (1), and hydroalcoholic solution (1). All studies reported the origin of the propolis used, except the study by Ahi et al., 2019.

Of the 13 selected studies, only three studies evaluated the toxicity of the materials. All studies had a control group during the tests performed. Chlorhexidine was the most commonly found substance in three studies. Only the study by Son et al., 2021 did not report the sample size, all the others detailed this information. The study about

animal model did not report the sample size calculation, despite reporting that they followed international protocol for studies in animal models.

Concerning the drug release, propolis can be released from systems for long periods according to the results, up to 7 days (Bruschi et al., 2007). The main results report the use of propolis in infected periodontal pockets, as it results in the production of higher quality secondary dentin with a lower inflammatory pulp response (Balata et al., 2018), revealing a role in tissue regeneration as in the study by Simu et al., 2018 which demonstrated an essential osteoinductive effect for mineralized tissue reparation process.

In studies involving periodontal (Bruschi et al., 2007; Al-Bayaty et al., 2017; de Toledo et al., 2018) and endodontic (Fabri et al., 2011; Balata et al., 2018) diseases, formulations containing it indicate a potential beneficial anti-inflammatory and antimicrobial effect. Some studies show the antimicrobial activity of propolis against Gram positive (Ahi et al., 2019; Al-Bayaty et al., 2017) and Gram negative bacteria (Al-Bayaty et al., 2017), especially *Streptococcus mutans* (Asawahame et al., 2014; Franca et al., 2014; Son et al., 2021), in addition to its antifungal potential against *Candida albicans* (Son et al., 2021). Some bacteria, such as *Streptococcus pyogenes* and *S. mutans*, showed greater susceptibility to propolis compared to metronidazole (Ferreira et al., 2013). Also, studies by Franca et al (2014) and Asawahame et al. (2014) have evaluated the ability to prevent cariogenic biofilm compared to gold standard antibacterial chlorhexidine and antifungal (nystatin). In addition, it was reported that propolis, reduced the inflammatory response and side effects (Bonadies et al., 2019). Also, Borges et al. (2015) reported that its incorporation revealed a greater strength of the film matrix and increased mucoadhesiveness.

3.3. Assessment of the risk of bias

The authors' judgments on each risk of bias item for the included articles are presented in Figure 2. All studies presented a low risk of bias for the presence of sample size, except the study by Son et al. (2021). Also, all studies had a low risk of bias to items "presence of control group" and "concentration of propolis". Seven studies reported the characterization of the compounds found in propolis. Meanwhile, six studies informed the presence of negative control, and this item was scored as low risk of bias.

	Random sequence generation (selection bias)	Allocation concealment (selection bias)	Sample size	Presence of control group	Presence of negative group	Characterization of the natural components	Concentration of propolis
Ahi et al., 2019	-	-	+	+	+	-	+
Al-Bayat et al., 2017	-	-	+	+	+	-	+
Asawahame et al., 2014	-	-	+	+	-	-	+
Balata et al., 2018	-	-	+	+	-	+	+
Bonadies et al., 2019	-	-	+	+	+	-	+
Borges et al., 2015	-	-	+	+	-	+	+
Bruschi et al., 2013	-	-	+	+	-	-	+
de Toledo et al., 2018	-	-	+	+	+	+	+
Fabri et al., 2011	-	-	+	+	-	+	+
Ferreira et al., 2013	-	-	+	+	+	+	+
Franca et al., 2014	-	-	+	+	+	+	+
Simu et al., 2018	-	-	+	+	+	+	+
Son et al., 2021	-	-	-	+	-	+	+

Figure 2. Authors' judgments about each risk of bias criterion for the included studies.

4. Discussion

Numerous drug delivery systems (DDS) have been developed for the local treatment and prevention of several diseases in the oral cavity (Nguyen & Hiorth, 2015; Senel et al., 2019). These systems are a safe option as they drastically reduce the adverse reactions due to low doses administered directly at the site of action (Bonadies et al., 2019). In addition, DDS increases stability and solubility, making it interesting for the use of natural extracts (Rahman et al., 2020). Among natural compounds, propolis

is an advantageous alternative to be used in DDS due to its biodegradable nature, high tissue compatibility, and long-term release (Balata et al., 2018). Therefore, the present study presents the scientific evidence for the incorporation of propolis in controlled delivery systems as a therapeutic agent in dental medicine.

Propolis is widely recognized for its antimicrobial and anti-inflammatory properties. Although few studies were found using propolis in controlled drug systems in dentistry, it is possible to observe the multiplicity of areas in dentistry that propolis can be applied for therapeutic purposes. It is worth mentioning that the propolis composition can vary according to geographic and environmental conditions in which it is collected, as well as the solvents and parameters used during its extraction (Asawahame et al., 2014; Borges et al., 2015). Therefore, spectrophotometric methods are important to standardize compounds present in propolis (Balata et al., 2018).

Propolis has three main compounds: flavonoids, cinnamic acid derivatives, and terpenoids. The cinnamic acid derivatives are also known as, phenolic compounds of propolis include caffeic acid, rutin, quercetin, apigenin, chrysin, ferulic acid, cinnamic acid, and galangin (Balata et al., 2018). Flavonoids are a very important class of polyphenols, as they are plant compounds that have antimicrobial and anti-inflammatory, antioxidant, and anti-inflammatory properties (Ferreira et al., 2013). Their anti-inflammatory prostaglandin property stimulates the synthesis of phagocytic activity and cellular immunity. In addition, propolis contains zinc and iron metal cations which are essential during collagen synthesis. Propolis has flavonoids and coffees that are effective in reducing the inflammatory response by inhibiting the arachidonic acid lipoxygenase pathway. In addition to its significant effect on the immune system, they promote cellular phagocytic activities (Balata et al., 2018). The caffeic acid phenethyl ester (CAPE) also has a cytoprotective function and protects against the oxidative effects of inflammatory DNA pathologies (Simu et al., 2018). One of the discussed possible mechanisms of the antimicrobial activity of propolis is due to cinnamic acid and flavonoid components of propolis that make changes in the ion permeability of the inner bacterial membrane causing membrane potential dissipation and inhibition of bacterial motility (Ahi et al., 2019).

One of the main characteristics attributed to propolis in the literature is its antimicrobial action (Ferreira et al., 2013; Asawahame et al., 2014; Franca et al., 2014; Son et al., 2021; Barboza et al., 2021). The oral environment is populated by a multi-species ecosystem. The main pathogens in the oral cavity are *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sobrinus* and, *Candida albicans*. These microorganisms are involved in most infectious diseases of the mouth. Further, it is well known that prevention plays an important role in caries management. The literature

demonstrated anticaries activity of propolis (Franca et al., 2014; Asawahame et al., 2014). Asawahame et al. (2014) proposed a DDS based on the electrospinning process. This DDS is biodegradable in wet environments thus when in contact with the saliva it easily degrades. This system showed better antibacterial activity against *Streptococcus mutans* when compared to some commercial mouthwashes and lower when compared to chlorhexidine. Additionally, in another study (Franca et al., 2014), the incorporation of propolis increased the antimicrobial activity against *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus salivarius*, *Lactobacillus casei*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, and *Fusobacterium nucleatum* compared to chlorhexidine 0.12 %, chitosan-based varnish, and nystatin. In this study, sustained-release chitosan-based propolis varnishes showed to be a promising alternative to be used in biomaterials formulations for dental caries prevention.

Another important application of DDS-based propolis is in regenerative endodontics. The material of choice for the treatment of infectious endodontics must have an antimicrobial without impairing the regenerative process (Simu et al., 2018). Studies report that propolis extract as an intracanal medication was more effective against *Enterococcus faecalis* compared to a mixture of tri-antibiotics (Madhubala et al., 2011; de Rezende et al., 2011), as well as it showed greater antimicrobial activity associated with calcium hydroxide (de Rezende et al., 2011). The action was equally effective to the triple antibiotic mass, 2% chlorhexidine gel, and calcium hydroxide with propylene glycol against *Candida albicans* after 7 days at both depths (Chua et al., 2014).

The lasting antimicrobial effect of propolis is justified by its low solubility and this aspect is important if the biomaterial is introduced into an area of low vascularization where systemically administered antibiotics can hardly work (Simu et al., 2006). Bruschi (2008) demonstrated that an ethanolic extract of propolis was continuously being released after 7 days. In another similar study, release profile studies demonstrated that propolis can be released from systems for an extended period (more than 20 days) (Andrade et al., 2006). The heterogeneity of the results on drug release becomes a limitation of the study. These results are due not only to the origin of propolis, as well as the lack of standardization of methodologies and biomaterials (DDS) tested, according to the purpose of the application. However, there is a clear consensus that propolis can be used for long periods in DDS.

In the study by Balata et al. (2018), biodegradable chitosan chips loaded with Saudi propolis extract were developed as a controlled delivery system for pulpotomy. In this study, propolis leads to a total or partial reduction of inflammation, absence of

necrosis, and greater formation of hard tissue compared to the use of formocresol. This result is consistent with other studies (Parólia et al., 2010; Ozório et al., 2012) that relate propolis induced complete hard tissue barrier formation in pulpotomies. This can be elucidated by the anti-inflammatory activity of propolis, which promotes collagen synthesis by dentine pulp cells and stimulates the production of transforming growth factor (TGF)-1 as well as by the free radical and superoxide neutralizing components released by propolis (Balata et al., 2018).

The literature also related the application of DDS-based-propolis in periodontics. Periodontal disease is a chronic infection resulting from a response to a complex biofilm and affects the supporting structures of the teeth (periodontium) (Al-Bayaty et al., 2017; Ahi et al., 2019). One of the treatments for this condition is the systemic administration of medications and mouthwash solutions. However, in this therapy high concentrations are used for prolonged periods, containing the risk of side effects and the emergence of resistant strains (Bruschi et al., 2008; de Toledo et al., 2008). This condition also arouses interest in dentistry in the development of drug delivery systems. Propolis becomes an excellent option due to its prolonged release in these systems and especially, antimicrobial activity. Ferreira et al., 2013 investigated mixed propolis and metronidazole microparticles, which demonstrated in vitro antimicrobial activity against all tested strains, namely: *E. faecalis* ATCC 51299, *E. faecalis* ATCC 29212, *S. pyogenes* ATCC 19615, *S. mutans* ATCC 25175, *S. aureus* ATCC 25923, *K. pneumoniae* ATCC 700608 and *E. coli* ATCC 25922. These microparticles have the advantages of low cost and the variety of dosage forms that can be incorporated, as semi-solid systems, and to be administered in periodontal pockets more easily and safely. In one study (Ahi et al., 2019), biodegradable polymeric PLLA/PCL films with propolis were developed for the application of guided tissue engineering and showed antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*. The porosity of the substrate is essential to promote an environment of cell proliferation, improve vascular invasion, and the formation of new tissue (Loh & Choong, 2013). The incorporation of propolis modified the surface topography of the films, increasing the porosity, which may be beneficial for the adhesion (Ahi et al., 2019). It was also demonstrated that the addition of propolis increased the surface area associated with a fiber morphology arrangement allowing the encapsulation and fixation of cells, and this also allows prolonged the release of propolis in periods longer than 48 hours, being a promising material in the engineering of mineralized dental tissues (Simu et al. al., 2018; Bonadies et al., 2019).

Among the engineering of mineralized dental tissues, the prolonged release of propolis over a month indicated that it can long-term inhibition of these dental pathogens in implants according to Son et al., 2021. One of the compounds responsible for the

antimicrobial action of propolis, cinnamic acid derivatives showed good stability in orally disintegrating films over twelve weeks. Thus, proving to be an ideal substance for release in the oral mucosa and to control infections (Borges et al., 2015). The use of natural actives in nanofibers has been validated for the manufacture of adhesives for oral mucosa abrasions and to fight inflammation. Propolis reduced the size of the fibers and, when released, activates hydroxyl groups that tend to form deprotonated species at alkaline pH, present in the oral mucosa, providing negative charges with the ability to increase drug solubility and bioaccessibility (Bonadies et al., 2019).

According to the main characteristics needed to succeed in DDS, nanosized particles are advantageous due to their size and therefore easier to penetrate and overcome barriers at the cellular level. To provide a more efficient pharmacological therapy of oral pathologies, they can also provide bioadhesive properties that respond to stimuli through intelligent systems, as long as the particles are biocompatible and biodegradable (Ferreira et al., 2013). Incorporation of new drug delivery technologies for natural products actives reduces drug degradation, minimizes side effects from cytotoxic products in non-target regions, and facilitates administration in pediatric and geriatric patients (Sarangi & Padhi, 2018).

Regarding the methodological quality of the selected studies, the vast majority of studies were *in vitro* and only one study using animal model was analyzed. Thus, the findings of this systematic review should be interpreted with caution. According to the risk assessment judgment used in this review, most studies were classified as at medium risk of bias. One of the main limitations of the included studies was the lack of randomization and operator blinding. Although most were *in vitro* studies, ignoring parameters such as these can potentiate the presence of bias. In addition, the absence of chemical characterization of the propolis used compromises the reproducibility of the study results.

It is expected that shortly, the use of controlled delivery systems for the treatment of odontogenic and non-odontogenic diseases, in particular, the use of nanoparticulate formulations will become routine in clinical practice. It is irrefutable that there are some complexities involved in translating the laboratory-developed biomaterials to industry. For this to occur, more methodologies evaluating these materials are needed as well as more government efforts to make the legislation more efficient in approving biomaterials aiming amplifying the development and commercialization of advanced drug delivery platforms.

5. Conclusions

It can be concluded that there is a beneficial impact on the incorporation of propolis in drug delivery systems. Although there is evidence of antimicrobial, anti-inflammatory, and regenerative activities in preclinical studies, more-in-depth studies including toxicity of this substance, a detailed physicochemical characterization and genotoxicity assessment of biomaterials containing propolis as DDS to ensure safe use in humans are necessary. Moreover, clinical studies must be performed to confirm the effectiveness of propolis-containing delivery systems.

Author Contributions: A.S.B.: writing—original draft, writing—review, and editing. J.S.R.: writing—review, and editing. M.L.F.: writing—review, and editing. A.R.F.: supervision, writing—review, and editing. R.G.L.: project administration, resources, supervision, writing—review, and editing. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: Partial of this research was funded the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Finance Code 001 and, CNPq (National Council for Scientific and Technological Development) for the [grant number 309848/2017-2].

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: The data presented in this study are available on request from the corresponding author.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

- Abdelsalam, N., Abu-Seida, A. M., Fayyad, D., & Tawfik, H. (2020). Radiographic and histopathologic outcomes of immature dog teeth with apical periodontitis after revascularization using propolis. An in vivo study. *Saudi Endodontic Journal*, **10**(3), 199.
- Ahi, Z. B., Renkler, N. Z., Gul Seker, M., & Tuzlakoglu, K. (2019). Biodegradable polymer films with a natural antibacterial extract as novel periodontal barrier membranes. *International Journal of Biomaterials*, **2019**.
- Ahmed, G. M., Abouauf, E. A., AbuBakr, N., Dörfer, C. E., & El-Sayed, K. F. (2020). Tissue engineering approaches for enamel, dentin, and pulp regeneration: an update. *Stem Cells International*, **2020**.
- Al-Bayat, F. H., bin Ismail, I. H., binti Nasruddin, N. A., & binti Suradi, N. F. (2017). Formulation and Evaluation of new biodegradable periodontal chips from Malaysian

propolis in chitosan base. *Journal of International Dental and Medical Research*, **10**(2), 292.

Andrade, Â. L., Manzi, D., & Domingues, R. Z. (2006). Tetracycline and propolis incorporation and release by bioactive glassy compounds. *Journal of Non-crystalline Solids*, **352**(32-35), 3502-3507.

Asawahame, C., Sutjarittangtham, K., Eitssayeam, S., Tragoolpua, Y., Sirithunyalug, B., & Sirithunyalug, J. (2015). Antibacterial activity and inhibition of adherence of *Streptococcus mutans* by propolis electrospun fibers. *Aaps Pharmscitech*, **16**(1), 182-191.

Balata, G. F., Abdelhady, M. I., Mahmoud, G. M., Matar, M. A., & Abd El-Latif, A. N. (2018). Formulation of saudi propolis into biodegradable chitosan chips for vital pulpotomy. *Current drug delivery*, **15**(1), 97-109.

Bonadies, I., Cimino, F., & Guarino, V. (2019). In vitro degradation of zein nanofibres for propolis release in oral treatments. *Materials Research Express*, **6**(7), 075407.

Cardile, V., Panico, A., Gentile, B., Borrelli, F., & Russo, A. (2003). Effect of propolis on human cartilage and chondrocytes. *Life Sciences*, **73**(8), 1027-1035.

Chieruzzi, M., Pagano, S., Moretti, S., Pinna, R., Milia, E., Torre, L., & Eramo, S. (2016). Nanomaterials for tissue engineering in dentistry. *Nanomaterials*, **6**(7), 134.

Chua, E. G., Parolia, A., Ahlawat, P., Pau, A., & Amalraj, F. D. (2014). Antifungal effectiveness of various intracanal medicaments against *Candida albicans*: an ex-vivo study. *BMC Oral Health*, **14**(1), 1-8.

Costa, J. V., Portugal, J., Neves, C. B., & Bettencourt, A. F. (2021). Should local drug delivery systems be used in dentistry? *Drug Delivery and Translational Research*, 1-13.

De Rezende, G. P. D. S. R., Costa, L. R. D. R. S. D., Pimenta, F. C., & Baroni, D. A. (2008). In vitro antimicrobial activity of endodontic pastes with propolis extracts and calcium hydroxide: a preliminary study. *Brazilian Dental Journal*, **19**, 301-305.

Devi, V. K., Jain, N., & Valli, K. S. (2010). Importance of novel drug delivery systems in herbal medicines. *Pharmacognosy Reviews*, **4**(7), 27.

Franca, J. R., De Luca, M. P., Ribeiro, T. G., Castilho, R. O., Moreira, A. N., Santos, V. R., & Faraco, A. A. (2014). Propolis-based chitosan varnish: drug delivery, controlled release and antimicrobial activity against oral pathogen bacteria. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, **14**(1), 1-11.

Giraud, T., Rufas, P., Chmielewsky, F., Rombouts, C., Dejou, J., Jeanneau, C., & About, I. (2017). Complement activation by pulp capping materials plays a significant role in both inflammatory and pulp stem cells' recruitment. *Journal of Endodontics*, **43**(7), 1104-1110.

González-Masís, J., Cubero-Sesin, J. M., Corrales-Ureña, Y. R., González-Camacho, S., Mora-Ugalde, N., Baizán-Rojas, M., ... & Gonzalez-Paz, R. J. (2020). Increased fibroblast metabolic activity of collagen scaffolds via the addition of propolis nanoparticles. *Materials*, **13**(14), 3118.

Jain, K. K. (2014). Current status and future prospects of drug delivery systems. *Drug Delivery System*, 1-56.

Jautová, J., Zelenková, H., Drotarová, K., Nejdková, A., Grünwaldová, B., & Hladíková, M. (2019). Lip creams with propolis special extract GH 2002 0.5% versus aciclovir 5.0% for herpes labialis (vesicular stage). *Wiener Medizinische Wochenschrift*, **169**(7), 193-201.

Khurshid, Z., Naseem, M., Zafar, M. S., Najeeb, S., & Zohaib, S. (2017). Propolis: A natural biomaterial for dental and oral healthcare. *Journal of Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects*, **11**(4), 265.

Kim, J. H., Kim, S. Y., Woo, S. M., Jeong, H. N., Jung, J. Y., Kim, S. M., & Lim, H. S. (2019). Combination of mineral trioxide aggregate and propolis promotes odontoblastic differentiation of human dental pulp stem cells through ERK signaling pathway. *Food Science and Biotechnology*, **28**(6), 1801-1809.

Koru, O., Toksoy, F., Acikel, C. H., Tunca, Y. M., Baysallar, M., Guclu, A. U., ... & Salih, B. (2007). In vitro antimicrobial activity of propolis samples from different geographical origins against certain oral pathogens. *Anaerobe*, **13**(3-4), 140-145.

Kresnadi, U., Rahayu, R. P., Ariani, M. D., & Soesanto, S. (2020). The potential of natural propolis extract combined with bovine bone graft in increasing heat shock protein 70 and osteocalcin on socket preservation. *European Journal of Dentistry*, **14**(01), 031-037.

Loh, Q. L., & Choong, C. (2013). Three-dimensional scaffolds for tissue engineering applications: role of porosity and pore size. *Tissue Engineering Part B: Reviews*, **19**(6), 485-502.

Madhubala, M. M., Srinivasan, N., & Ahamed, S. (2011). Comparative evaluation of propolis and triantibiotic mixture as an intracanal medicament against *Enterococcus faecalis*. *Journal of Endodontics*, **37**(9), 1287-1289.

Meimandi-Parizi, A., Oryan, A., Sayahi, E., & Bigham-Sadegh, A. (2018). Propolis extract a new reinforcement material in improving bone healing: An in vivo study. *International Journal of Surgery*, **56**, 94-101.

Moher, D., Shamseer, L., Clarke, M., Gherzi, D., Liberati, A., Petticrew, M., ... & Stewart, L. A. (2015). Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. *Systematic reviews*, **4**(1), 1-9.

Nguyen, S., & Hiorth, M. (2015). Advanced drug delivery systems for local treatment of the oral cavity. *Therapeutic Delivery*, **6**(5), 595-608.

Ozório, J. E. V., de Oliveira, D. A., de Sousa-Neto, M. D., & Perez, D. E. D. C. (2012). Standardized propolis extract and calcium hydroxide as pulpotomy agents in primary pig teeth. *Journal of Dentistry for Children*, **79**(2), 53-58.

Page, M. J., McKenzie, J. E., Bossuyt, P. M., Boutron, I., Hoffmann, T. C., Mulrow, C. D., ... & Moher, D. (2021). The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *International Journal of Surgery*, **88**, 105906.

Parolia, A., Kundabala, M., Rao, N. N., Acharya, S. R., Agrawal, P., Mohan, M., & Thomas, M. (2010). A comparative histological analysis of human pulp following direct pulp capping with Propolis, mineral trioxide aggregate and Dycal. *Australian Dental Journal*, **55**(1), 59-64.

- Pitts, N. B., Zero, D. T., Marsh, P. D., Ekstrand, K., Weintraub, J. A., Ramos-Gomez, F., ... & Ismail, A. (2017). Dental caries. *Nature Reviews Disease Primers*, **3**(1), 1-16.
- Rahman, H. S., Othman, H. H., Hammadi, N. I., Yeap, S. K., Amin, K. M., Samad, N. A., & Alitheen, N. B. (2020). Novel drug delivery systems for loading of natural plant extracts and their biomedical applications. *International Journal of Nanomedicine*, **15**, 2439.
- Ribeiro, J. S., de Oliveira da Rosa, W. L., da Silva, A. F., Piva, E., & Lund, R. G. (2020). Efficacy of natural, peroxide-free tooth-bleaching agents: A systematic review, meta-analysis, and technological prospecting. *Phytotherapy Research*, **34**(5), 1060-1070.
- Sarangi, M. K., & Padhi, S. (2018). Novel herbal drug delivery system: An overview. *Archives of Medicine and Health Sciences*, **6**(1), 171.
- Şenel, S., Aksoy, E. A., & Akca, G. (2019). Application of chitosan based scaffolds for drug delivery and tissue engineering in dentistry. In *Marine-Derived Biomaterials for Tissue Engineering Applications* (pp. 157-178). Springer, Singapore.
- Simu, M. R., Pall, E., Radu, T., Miclaus, M., Culic, B., Mesaros, A. S., ... & Filip, G. A. (2018). Development of a novel biomaterial with an important osteoinductive capacity for hard tissue engineering. *Tissue and Cell*, **52**, 101-107.
- Zafar, M. S., Khurshid, Z., & Almas, K. (2015). Oral tissue engineering progress and challenges. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, **12**(6), 387-397.

Tables

Table 1. Terms used in the search strategy

Electronic database
Search and Terms
PubMed (MEDLINE)
#1 Propolis [MeSH] OR Bee Glue OR Glue, Bee OR Bee Bread OR Bread, Bee
#2 Tissue Scaffolds [MeSH] OR Scaffold, Tissue OR Scaffolds, Tissue OR Tissue Scaffold OR Tissue Scaffolding OR Scaffolding, Tissue OR Scaffoldings, Tissue OR Tissue Scaffoldings OR Scaffold OR Drug Delivery Systems [MeSH] OR Delivery System, Drug OR Delivery Systems, Drug OR Drug Delivery System OR System, Drug Delivery OR Systems, Drug Delivery OR Drug Targeting OR Drug Targetings OR Targeting, Drug OR Targetings, Drug OR Nanofibers [MeSH] OR Nanofiber OR Nanospheres [MeSH] OR Nanosphere OR Hydrogels [MeSH] OR Hydrogel OR Injectable
#3 Guided Tissue Regeneration [MeSH] OR Tissue Regeneration, Guided OR Regeneration, Guided Tissue OR Dentistry OR Dental OR Regenerative Dentistry OR Dental, Regenerative OR Periodontics [MeSH] OR Periodontic OR Periodontal Medicine OR Medicine, Periodontal OR Medicines, Periodontal OR Periodontal Medicines OR Periodontal OR Periodontal Regeneration OR Periodontal Engineering OR Oral Bone Regeneration OR Periapical Tissue OR Regenerative Endodontics [MeSH] OR Endodontic, Regenerative OR Endodontics, Regenerative OR Regenerative Endodontic
#1 AND #2 AND #3
Scopus
#1 ALL("Propolis" OR "Bee Glue" OR "Glue, Bee" OR "Bee Bread" OR "Bread, Bee")
#2 ALL("Tissue Scaffolds" OR "Scaffold, Tissue" OR "Scaffolds, Tissue" OR "Tissue Scaffold" OR "Tissue Scaffolding" OR "Scaffolding, Tissue" OR "Scaffoldings, Tissue" OR "Tissue Scaffoldings" OR "Scaffold" OR "Drug Delivery Systems" OR "Delivery System, Drug" OR "Delivery Systems, Drug" OR "Drug Delivery System" OR "System, Drug Delivery" OR "Systems, Drug Delivery" OR "Drug Targeting" OR "Drug Targetings" OR "Targeting, Drug" OR "Targetings, Drug" OR "Nanofibers" OR "Nanofiber" OR "Nanospheres" OR "Nanosphere" OR "Hydrogels" OR "Hydrogel" OR "Injectable")
#3 ALL("Guided Tissue Regeneration" OR "Tissue Regeneration, Guided" OR "Regeneration, Guided Tissue" OR "Dentistry" OR "Dental" OR "Regenerative Dentistry" OR "Dental, Regenerative" OR "Periodontics" OR "Periodontic" OR "Periodontal Medicine" OR "Medicine, Periodontal" OR "Medicines, Periodontal" OR "Periodontal Medicines" OR "Periodontal" OR "Periodontal Regeneration" OR "Periodontal Engineering" OR "Oral Bone Regeneration" OR "Periapical Tissue" OR "Regenerative Endodontics" OR "Endodontic, Regenerative" OR "Endodontics, Regenerative" OR "Regenerative Endodontic")
#1 AND #2 AND #3
Embase
#1 'Propolis' OR 'Bee Glue' OR 'Glue, Bee' OR 'Bee Bread' OR 'Bread, Bee'
#2 'Tissue Scaffolds' OR 'Scaffold, Tissue' OR 'Scaffolds, Tissue' OR 'Tissue Scaffold' OR 'Tissue Scaffolding' OR 'Scaffolding, Tissue' OR 'Scaffoldings, Tissue' OR 'Tissue Scaffoldings' OR 'Scaffold' OR 'Drug Delivery Systems' OR 'Delivery System, Drug' OR 'Delivery Systems, Drug' OR 'Drug Delivery System' OR 'System, Drug Delivery' OR 'Systems, Drug Delivery' OR 'Drug Targeting' OR 'Drug Targetings' OR 'Targeting, Drug' OR 'Targetings, Drug' OR 'Nanofibers' OR 'Nanofiber' OR 'Nanospheres' OR 'Nanosphere' OR 'Hydrogels' OR 'Hydrogel' OR 'Injectable'
#3 'Guided Tissue Regeneration' OR 'Tissue Regeneration, Guided' OR 'Regeneration, Guided Tissue' OR 'Dentistry' OR 'Dental' OR 'Regenerative Dentistry' OR 'Dental, Regenerative' OR 'Periodontics' OR 'Periodontic' OR 'Periodontal Medicine' OR 'Medicine, Periodontal' OR 'Medicines, Periodontal' OR 'Periodontal Medicines' OR 'Periodontal' OR 'Periodontal Regeneration' OR 'Periodontal Engineering' OR 'Oral Bone Regeneration' OR 'Periapical Tissue' OR 'Regenerative Endodontics' OR 'Endodontic, Regenerative' OR 'Endodontics, Regenerative' OR 'Regenerative Endodontic'
#1 AND #2 AND #3
Web of Science
TS=(Propolis OR Bee Glue OR Glue, Bee OR Bee Bread OR Bread, Bee)
TS=(Tissue Scaffolds OR Scaffold, Tissue OR Scaffolds, Tissue OR Tissue Scaffold OR Tissue Scaffolding OR Scaffolding, Tissue OR Scaffoldings, Tissue OR Tissue Scaffoldings OR Scaffold OR Drug Delivery Systems OR Delivery System, Drug OR Delivery Systems, Drug OR Drug Delivery System OR System, Drug Delivery OR Systems, Drug Delivery OR Drug Targeting OR Drug Targetings OR Targeting, Drug OR Targetings, Drug OR Nanofibers OR Nanofiber OR Nanospheres OR Nanosphere OR Hydrogels OR Hydrogel OR Injectable)
TS=(Guided Tissue Regeneration OR Tissue Regeneration, Guided OR Regeneration, Guided Tissue OR Dentistry OR Dental OR Regenerative Dentistry OR Dental, Regenerative OR Periodontics OR Periodontic OR Periodontal Medicine OR Medicine, Periodontal OR Medicines, Periodontal OR Periodontal Medicines OR Periodontal OR Periodontal Regeneration OR Periodontal Engineering OR Oral Bone Regeneration OR Periapical Tissue OR Regenerative Endodontics OR Endodontic, Regenerative OR Endodontics, Regenerative OR Regenerative Endodontic)
#1 AND #2 AND #3
Cochrane

#1 Propolis OR Bee Glue OR Glue, Bee OR Bee Bread OR Bread, Bee

#2 Tissue Scaffolds OR Scaffold, Tissue OR Scaffolds, Tissue OR Tissue Scaffold OR Tissue Scaffolding OR Scaffolding, Tissue OR Scaffoldings, Tissue OR Tissue Scaffoldings OR Scaffold OR Drug Delivery Systems OR Delivery System, Drug OR Delivery Systems, Drug OR Drug Delivery System OR System, Drug Delivery OR Systems, Drug Delivery OR Drug Targeting OR Drug Targetings OR Targeting, Drug OR Targetings, Drug OR Nanofibers OR Nanofiber OR Nanospheres OR Nanosphere OR Hydrogels OR Hydrogel OR Injectable

#3 Guided Tissue Regeneration OR Tissue Regeneration, Guided OR Regeneration, Guided Tissue OR Dentistry OR Dental OR Regenerative Dentistry OR Dental, Regenerative OR Periodontics OR Periodontic OR Periodontal Medicine OR Medicine, Periodontal OR Medicines, Periodontal OR Periodontal Medicines OR Periodontal OR Periodontal Regeneration OR Periodontal Engineering OR Oral Bone Regeneration OR Periapical Tissue OR Regenerative Endodontics OR Endodontic, Regenerative OR Endodontics, Regenerative OR Regenerative Endodontic

#1 AND #2 AND #3

Table 2. Demographic data and main results of studies.

Study	Country of study	Study design	Objective	Application	Biomaterial	Type of propolis	Propolis origin	Characterization of propolis	Drug release	Toxicity	Controls	Simple size	Main findings
Bruschi et al., 2007	Brazil	<i>in vitro</i> study	Development and characterization of semisolid systems containing propolis prepared from carbomer 934P and poloxamer 407 (P407)	Periodontal pocket for the treatment of periodontitis	Semisolid Systems	Ethanollic extract	Propolis was collected from an experimental apiary in the farm of the State University of Maringa (Parana State, Brazil)	Not available	80% in 168h	Not available	Formulations without propolis microparticles	n=5	The release profile studies showed that propolis could be released from the systems for an extended period (more than 7 days). The properties of the candidate formulations indicate a potential advantageous role in the treatment of periodontal diseases.
Fabri et al., 2011	Brazil	<i>in vitro</i> study	Development and characterization of semisolid systems containing propolis or sildenafil prepared from Carbopol 934P and poloxamer 407	Endodontics in pulp protection	Binary polymeric systems containing poloxamer 407 (P407) and Carbopol 934P (C934P) were designed to deliver propolis extract (PE)	Ethanollic extract	Propolis was collected from an experimental apiary in the farm of the State University of Maringa (Parana State, Brazil).	Rheological analysis by ViscoStar- Plus R controlled shear rate rotating viscometer	50% in 500min	Not available	Sildenafil citrate was purchased from Pfizer (Dongcheng District, Beijing, China)	n=3 for all tests, except bioadhesive strength (n=5)	The data obtained in these formulations indicated a potentially useful role in pulp protection, however, clinical evaluation is necessary.
Ferreira et al., 2013	Brazil	<i>in vitro</i> study	The antimicrobial activity of microparticles was evaluated against some microorganisms of periodontal importance.	Periodontal pockets	Ethylcellulose microparticles	Ethanollic extract	Three samples of propolis from <i>Apis mellifera</i> L. beehives were collected at apiaries in the Northeast of Paraná state, Brazil.	Determination of total flavonoid content and, determination of total phenol content by Folin-Ciocalteu method	20% in 32h	Not available	Metronidazole	n=3 for all tests, except the determination of total flavonoid content and total phenol content (n=6)	The strains of <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> , and <i>Streptococcus mutans</i> were more susceptible to the propolis and <i>E. faecalis</i> to the metronidazole.
Franca et al., 2014	Brazil	<i>in vitro</i> study	Antimicrobial activity of sustained-release propolis-based chitosan varnish useful on dental cariogenic biofilm prevention	Anti-cariogenic agent	Propolis - based chitosan varnish	Ethanollic extract	Green propolis was collected from commercial beekeeping named Pharamanectar® in Minas Gerais State, Brazil.	Provided by fabricant *PharmaNectar, Brazil, 2007, not described the techniques was used	20% in 24h	Not available	Chlorhexidine 0.12%, chitosan-based varnish and nystatin	n=5	Sustained-release chitosan-based propolis varnishes (5%, 10%, and 15%) inhibited all tested microorganisms, deserving clinical studies to confirm it is <i>in vivo</i> activity.
Asawahame et al., 2014	Thailand	<i>in vitro</i> study	Antibacterial activity against <i>Streptococcus mutans</i> and the inhibition of adhesion on a smooth glass surface during the biofilm formation was tested.	Mouth-dissolving dosage form and as an anti-cariogenic agent	Propolis-PVP electrospun fibers	Ethanollic extract 5% (w/v)	Propolis was obtained from Chiangmai Healthy Product Co., Ltd. (Chiangmai, Thailand).	Not available	Not available	Not available	Chlorhexidine mouthwash solution (0.12%) 1 mg/mL	n=8 (SEM); n=3 (antimicrobial assays)	The results indicated the potential of electrospun fibers to be used as mouth-dissolving fibers for effective antibacterial activity in the oral cavity.
Borges et al., 2015	Brazil	<i>in vitro</i> study	Production and characterization of orally disintegrating films from gelatin and hydrolyzed collagen containing	Control oral infection	Films of gelatin and hydrolyzed collagen	Ethanollic extract	12-type resin (Star Rigel Ráfard, Sao Paulo, Brazil)	Folin-Ciocalteu method, Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and,	80% in 15min	Not available	Films without the ethanol extract of propolis	n=10 for all tests, except SEM (n=16); <i>in vitro</i> release and	The ethanol extract of propolis produced the antimicrobial activity in the film as well as provided a better resistance matrix and increased mucoadhesiveness.

			the ethanol extract of propolis.					scanning electron microscopy				antimicrobial assay (n=3)	
Al-Bayaty et al., 2017	Malaysia	<i>in vitro</i> study	Formulated periodontal chips from Malaysian propolis in chitosan base and to evaluate the physical, biological and antibacterial properties.	Treatment of chronic periodontitis	Biodegradable periodontal chips	Ethanollic extract	Raw propolis purchased from Ayer Keroh, Malacca, Malaysia	Not available	80% in 6 days	Not available	Chlorhexidine (0.2%, w/v) and ethanol (20%, w/v)	n=15 for all tests, except surface morphology and thickness (n=35)	Malaysian propolis can be evaluated into a chip and be used in treating patients with periodontal disease. It was found to be biodegradable have a high release rate, and have antimicrobial activity against gram-positive and gram-negative bacteria.
Balata et al., 2018	Egypt	<i>in vitro</i> study and animal model	The formulation of commercial Saudi propolis into biodegradable chitosan chips and evaluation of its effectiveness as a pulpotomy agent.	Treatment of vital pulpotomy	Saudi Propolis into biodegradable chitosan chips	Ethanollic extract	Propolis (El Akbr)® was obtained from a honey bee market located in Jeddah, Saudi Arabia (El Maher shop, Wadi El Nahil Co., Taeif, Saudi Arabia).	Determination of total phenolic content, determination of total flavonoid content, determination of the antioxidant activity of the extract, quantification of polyphenolic constituents	35% in 7 days	Histopat hological evaluation	Formocresol	n=6 (<i>in vitro</i>); n=18 (animal model)	Formulation of propolis extract as chitosan biodegradable chips can be used effectively for local sustained propolis delivery into the infected periodontal pockets, as it results in the production of higher quality secondary dentin with the less inflammatory response of the pulp.
de Toledo et al., 2018	Brazil	<i>in vitro</i> study	Development of a novel liquid crystalline system containing MNPs and propolis	Periodontal pockets	A liquid crystalline system containing iron oxide magnetic nanoparticles (MNPs)	Ethanollic extract	Propolis was acquired from the Iguatemi Experimental Farm of the State University of Maringa, Parana state, Brazil.	Folin-Ciocalteu method	36% in 120h	Cytotoxicity by micro-crustacean <i>Artemia salina</i> and fibroblasts cell line.	A system without propolis	n=6	The system containing propolis and magnetic nanoparticles displays important <i>in vitro</i> fungicide activity, which was increased when an alternating external magnetic field was applied, indicating a potential alternative therapy for the treatment of periodontal disease.
Simu et al., 2018	Romania	<i>in vitro</i> study	Designed a composite biomaterial based on a high viscosity soft propolis extract (70% propolis) and shell clam, with antiseptic and osteoinductive qualities for hard tissue regeneration.	Mineralized tissue engineering that can be used in dentistry	Bioactive cement with antiseptic and osteoinductive qualities	Aqueous extract 70%	Commercial 70% soft propolis extract, Bioremed, Romania.	Scanning electronic microscopy (SEM), reversed-phase liquid chromatography (HPLC) with diode array detection, proliferation assay, and differentiation assay	Not available	Cell viability and adhesion level with human dental papilla cell line and differentiation assay by Alizarin Red staining.	The cells cultured in normal culture condition (DMEM-F12 (Sigma-Aldrich) supplemented with 10% FCS (Hyclone), 1% Antibiotic-antimycotic (Sigma-Aldrich)	n=3	The shell-propolis-based biomaterial promoted and sustained human stem cells attachment, proliferation, and differentiation, presenting an important osteoinductive effect essential for the mineralized tissue reparation process.

Ahi et al., 2019	Turkey	<i>in vitro</i> study	Produce barrier membranes from biodegradable polymers, namely, PLLA and PCL, with an antibacterial feature promoted by propolis.	Guided tissue regeneration in periodontology	Biodegradable polymer films	Ethyl alcoholic extract	Not informed	Not available	Not available	Not available	Antibiotic disk including 30 µgr chloramphenicol (C30) (HIMEDIA)	n=5	Propolis has a positive influence on the thermal, mechanical, and degradation properties of the blend films to achieve the required values for GTR. Also, films with propolis showed antibacterial activity against Gram (+) bacteria.
Bonadies et al., 2019	Italy	<i>in vitro</i> study	The optimization of the electrospinning process to fabricate zein electrospun nanofibres (ZN) loaded with propolis (PZN).	Tissue inflammation in the presence of oral lesions	Electrospun fibers	Hydroalcoholic solution	Informed only the location Erbaflor, Italy	Not available	70% in 24h	Not available	Pure propolis	n=20	The zein nanofibers can guarantee a sustained release of propolis directly to the target, providing a more efficient solution for treatments based on the administration of 'one shot' of the active ingredient, minimizing side effects.
Son et al., 2021	Korea	<i>in vitro</i> study	The potential of propolis-embedded zeolite nanocomposites for dental implant application.	Dental implants	Propolis-embedded zeolite nanocomposites	Aqueous extract	Propolis extracts were purchased from Rapha Propolis Co., (Jeonju, Korea).	Fourier transform-infrared spectra (FT-IR)	90% in 30 days	MTT cell cytotoxicity assay	PLA/PCL pellets containing propolis-embedded zeolite nanocomposites	Not informed	Eluted propolis solution from PLA/PCL pellets showed significant antibacterial efficacy against <i>C. albicans</i> , <i>S. mutans</i> , and <i>S. sobrinus</i> .

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com esse trabalho, a própolis têm se apresentado como um agente terapêutico potencialmente seguro em diversas áreas de aplicação na odontologia. As propriedades biodegradáveis, bioativas e liberação prolongada, em especial as propriedades antimicrobianas, anti-inflamatórias e osteoindutoras, tornam a própolis um biomaterial muito promissor na odontologia, especialmente na liberação controlada de fármacos. Além disso, as aplicações recentes da própolis nos estudos e patentes avaliadas destacam como principal característica deste produto natural a sua atividade antimicrobiana, destacando suas vantagens econômicas e eficácia em terapias alternativas complementares. Com isso, o número de patentes para uso de própolis tende a crescer nos próximos anos, melhorando a qualidade de vida dos pacientes acometidos por doenças bucais para as quais a própolis tem demonstrado atividade terapêutica. No entanto, é importante considerar questões regulatórias relacionadas à qualidade e segurança do uso de produtos naturais como a própolis para o desenvolvimento desses sistemas de liberação controlada de fármacos. Atualmente, a caracterização e padronização da própolis é um ponto muito importante nas aplicações de biomateriais e deve ser considerada com muita cautela. Assim, a escolha de própolis em aplicações odontológicas com propriedades adequadas e como fonte de origem é crucial para o desenvolvimento de biomateriais com potencial aplicação em odontologia.

REFERENCIAS

- ABBASI, A. J.; MOHAMMADI, F.; BAYAT, M.; GEMA, S. M.; GHADIRIAN, H.; SEIFI, H.; BAYAT, H.; BAHRAMI, N., Applications of propolis in dentistry: a review. **Ethiopian-Journal of Health Sciences**, v. 28, n. 4, p. 505–512, 2018.
- ABDELSALAM, N.; ABU-SEIDA, A. M.; FAYYAD, D.; TAWFIK, H. Radiographic and histopathologic outcomes of immature dog teeth with apical periodontitis after revascularization using propolis. An in vivo study. **Saudi Endodontic Journal**, v. 10, n. 3, p. 199, 2020.
- AGARWAL, G.; VEMANARADHYA, G. G.; MEHTA, D. S. Evaluation of chemical composition and efficacy of Chinese propolis extract on *Porphyromonas gingivalis* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*: An in vitro study. **Contemporary Clinical Dentistry**, v. 3, n. 3, p. 256–61, 2012.
- AHANGARI, Z.; NASERI, M.; VATANDOOST, F., Propolis: chemical composition and its applications in endodontics. **Iranian Endodontic Journal**, v. 13, n. 3, p. 285–292, 2018.
- AHI, Z. B.; RENKLER, N. Z.; GUL SEKER, M.; TUZLAKOGLU, K. Biodegradable polymer films with a natural antibacterial extract as novel periodontal barrier membranes. **International Journal of Biomaterials**, v. 2019, 2019.
- AHMED, G. M.; ABOUAUF, E. A.; ABUBAKR, N.; DÖRFER, C. E.; EL-SAYED, K. F. Tissue engineering approaches for enamel, dentin, and pulp regeneration: an update. **Stem Cells International**, v. 2020, 2020.
- AL-BAYATY, F. H.; BIN ISMAIL, I. H.; BINTI NASRUDDIN, N. A.; BINTI SURADI, N. F. Formulation and Evaluation of new biodegradable periodontal chips from Malaysian propolis in chitosan base. **Journal of International Dental and Medical Research**, v. 10, n. 2, p. 292, 2017.
- ALMADI, E. M.; ALMOHAIMEDE, A. A. Natural products in endodontics. **Saudi Medical Journal**, v. 39, n. 2, p. 124–130, 2018.
- ALMEIDA, D. C.; ALVES, D. C. B.; JARDIM JÚNIOR, I. J.; DE MENDONÇA, S. M. S.; 2016. Propolis in dentistry: an approach of their various clinical applications. **International Journal of Science Dentistry**, n. 46, p. 1–12.
- AL-SHAHER, A.; WALLACE, J.; AGARWAL, S.; BRETZ, W.; BAUGH, D. Effect of propolis on human fibroblasts from the pulp and periodontal ligament. **Journal of Endodontics**, v. 30, n. 5, p. 359-361, 2004.
- ANDRADE, Â. L.; MANZI, D.; DOMINGUES, R. Z. Tetracycline and propolis incorporation and release by bioactive glassy compounds. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 352, n. 32-35, p. 3502-3507, 2006.

ANDRADE, J. K. S.; DENADAI, M.; DE OLIVEIRA, C. S.; NUNES, M. L.; NARAIN, N. Evaluation of bioactive compounds potential and antioxidant activity of brown, green and red propolis from Brazilian northeast region. **Food Research International**, v. 101, p. 129–138, 2017.

ARAFAT, M. G.; GHALWASH, D.; EL-KERSH, D. M.; ELMAZAR, M. M. Propolis-based niosomes as oromuco-adhesive films: A randomized clinical trial of a therapeutic drug delivery platform for the treatment of oral recurrent aphthous ulcers. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 18056, 2018.

ARDILA, D.; LIOU, J.-J.; MAESTAS, D.; SLEPIAN, M.; BADOWSKI, M.; WAGNER, W.; HARRIS, D.; GEEST, J. VANDE. Surface modification of electrospun scaffolds for endothelialization of tissue-engineered vascular grafts using human cord blood-derived endothelial cells. **Journal of Clinical Medicine**, v. 8, n. 2, p. 185, 2019.

ASAWAHAME, C.; SUTJARITTANGTHAM, K.; EITSSAYEAM, S.; TRAGOOLPUA, Y.; SIRITHUNYALUG, B.; SIRITHUNYALUG, J. Antibacterial activity and inhibition of adherence of *Streptococcus mutans* by propolis electrospun fibers. **AAPS PharmSciTech**, v. 16, n. 1, p. 182–191, 2015.

BADEA, V.; NUCA, C.; AMARIEI, C.; ZAHARIA, A.; ADRIANA BUCUR, L.; GRIGORIAN, M. Researches regarding the monitoring complementary treatment in periodontitis by using salivary 8-OHdG biomarker. **Farmacia**, v. 61, p. 685–693, 2013.

BALATA, G. F.; ABDELHADY, M. I.; MAHMOUD, G. M.; MATAR, M. A.; ABD EL-LATIF, A. N. Formulation of Saudi propolis into biodegradable chitosan chips for vital pulpotomy. **Current Drug Delivery**, v. 15, n. 1, p. 97-109, 2018.

BALTAS, N.; YILDIZ, O.; KOLAYLI, S. Inhibition properties of propolis extracts to some clinically important enzymes. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 31, n. sup1, p. 52–55, 2016.

BARBOSA, A. M.; ROBLES, E.; RIBEIRO, J. S.; LUND, R. G.; CARREÑO, N. L. V.; LABIDI, J. Cellulose nanocrystal membranes as excipients for drug delivery systems. **Materials**, v. 9, p. 1002, 2016.

BARRIENTOS, L.; HERRERA, C. L.; MONTENEGRO, G.; ORTEGA, X.; VELOZ, J.; ALVEAR, M.; CUEVAS, A.; SAAVEDRA, N.; SALAZAR, L.A. Chemical and botanical characterization of chilean propolis and biological activity on cariogenic bacteria *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 44, p. 577–585, 2013.

BEZERRA, A. M. F.; DE FARIAS, M. DO C. A. D.; BEZERRA, K. K. S.; FILHO, A. F.; CASIMIRO, G. S.; PEREIRA, R. S. M.; NUNES, E. M.; DA SILVA, E. M. L.; CAVALCANTE, J. C. B.; BRASILINO, I. M. V.; DE ABRANTES, K. S. M.; DE ABREU, L. C.; MARACAJÁ, P. B.; ARAÚJO, A. DOS S.; DA SILVA, R. A. Action of propolis on

microorganisms of the oral cavity: an integrative review. **International Archives of Medicine**, v. 8, p. 1–13, 2015.

BODEKER, G.; GRAZ, B. Traditional medicine. In: **Hunter's tropical medicine and emerging infectious diseases**. Elsevier, 2020. p. 194-199.

BOLAND, E. D.; COLEMAN, B. D.; BARNES, C. P.; SIMPSON, D. G.; WNEK, G. E.; BOWLIN, G. L. Electrospinning polydioxanone for biomedical applications. **Acta Biomaterialia**, v. 1, p. 115-123, 2005.

BONADIES, I.; CIMINO, F.; GUARINO, V. In vitro degradation of zein nanofibres for propolis release in oral treatments. **Materials Research Express**, v. 6, n. 7, p. 075407, 2019.

BOTTINO, M. C.; ARTHUR, R. A.; WAEISS, R. A.; KAMOCKI, K.; GREGSON, K. S.; GREGORY, R. L. Biodegradable nanofibrous drug delivery systems: effects of metronidazole and ciprofloxacin on periodontopathogens and commensal oral bacteria. **Clinical Oral Investigations**, v. 18, n. 9, p. 2151–2158, 2014.

BOTTINO, M. C.; KAMOCKI, K.; YASSEN, G. H.; PLATT, J. A.; VAIL, M. M.; EHRLICH, Y.; SPOLNIK, K. J.; GREGORY, R. L. Bioactive nanofibrous scaffolds for regenerative endodontics. **Biomaterials & Bioengineering**, v. 92, n. 11, p. 963-969, 2013.

BROWN, H. L.; ROBERTS, A. E. L.; COOPER, R.; JENKINS, R. A review of selected bee products as potential anti-bacterial, anti-fungal, and anti-viral agents. **Archives of Medical Research**, v. 4, p. 1–29, 2016.

BRUSCHI, M. L.; ROSSETO, H. C.; DE FRANCISCO, L. M. B.; DE TOLEDO, L. DE A.S.; RAPHAELA, R. R. Nanostructured propolis as therapeutic systems with antimicrobial activity. In: **Nano-and Microscale Drug Delivery Systems**. Elsevier, p. 377-391, 2017.

BUENO-SILVA, B.; KOO, H.; FALSETTA, M. L.; ALENCAR, S. M.; IKEGAKI, M.; ROSALEN, P. L. Effect of neovestitol–vestitol containing Brazilian red propolis on accumulation of biofilm in vitro and development of dental caries in vivo. **Biofouling**, v. 29, n. 10, p. 1233-1242, 2013.

CARDILE, V.; PANICO, A.; GENTILE, B.; BORRELLI, F.; RUSSO, A. Effect of propolis on human cartilage and chondrocytes. **Life Sciences**, v. 73, n. 8, p. 1027-1035, 2003.

CARDOSO, J. G.; IORIO, N. L. P.; RODRIGUES, L. F.; COURI, M. L. B.; FARAH, A.; MAIA, L. C.; ANTONIO, A. G. Influence of a Brazilian wild green propolis on the enamel mineral loss and *Streptococcus mutans* count in dental biofilm. **Archives of Oral Biology**, v. 65, p. 77–81, 2016.

CASTRO, M. L.; VILELA, W. R.; ZAULI, R. C.; IKEGAKI, M.; REHDER, V. L. G.; FOGGIO, M. A.; ALENCAR, S. M.; ROSALEN, P. L. Bioassay guided purification of the

antimicrobial fraction of a Brazilian propolis from Bahia state. **BMC Complementary Medicine and Therapies**, v. 91, n. 1, p. 1–6, 2009.

CHADHA, R.; TANEJA, S.; KUMAR, M.; GUPTA, S. An in vitro comparative evaluation of depth of tubular penetration of three resin-based root canal sealers. **Journal of Conservative Dentistry**, v. 15, n. 1, p. 18, 2012.

CHEN, L.; BROMBERG, L.; HATTON, T. A.; RUTLEDGE, G. C. Electrospun cellulose acetate fibers containing chlorhexidine as a bactericide. **Polymer**, v. 49, p. 1266-1275, 2008.

CHIERUZZI, M.; PAGANO, S.; MORETTI, S.; PINNA, R.; MILIA, E.; TORRE, L.; ERAMO, S. Nanomaterials for Tissue Engineering In Dentistry. **Nanomaterials**, v. 6, n. 7, p. 134, 2016.

CHINSEMBU, K. C. Plants and other natural products used in the management of oral infections and improvement of oral health. **Acta Tropica**, v. 154, p. 6–18, 2016.

CHOI, C.; PARK, Y. Monitoring the organic structure of technology based on the patent development paths. **Technological Forecasting and Social Change**, v. 76, n. 6, p. 754–768, 2009.

CHOUDHARY, A.; NAUGHTON, L. M.; MONTÁNCHEZ, I.; DOBSON, A. D.; RAI, D. K. Current status and future prospects of marine natural products (MNPs) as antimicrobials. **Marine Drugs**, v.15, n. 9, p. 272, 2017.

CHUA, E. G.; PAROLIA, A.; AHLAWAT, P.; PAU, A.; AMALRAJ, F. D. Antifungal effectiveness of various intracanal medicaments against *Candida albicans*: An ex-vivo study. **BMC Oral Health**, v. 13, n. 1, p. 14-53, 2014.

COSTA, J. V.; PORTUGAL, J.; NEVES, C. B.; BETTENCOURT, A. F. Should local drug delivery systems be used in dentistry? **Drug Delivery and Translational Research**, p. 1-13, 2021.

COWAN, M. M. Plant products as antimicrobial agents. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 12, n. 4, p. 564-582, 1999.

DE LUCA, M. P.; FRANCA, J. R.; MACEDO, F. A. F.; GRENO, L.; CORTES, M. E.; FARACO, A. A. G.; MOREIRA, A. N.; SANTOS, V. R. Propolis varnish: antimicrobial properties against cariogenic bacteria, cytotoxicity, and sustained-release profile. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 1–6, 2014.

DE LUCA, M. P.; FREIRES, I. A.; GALA-GARCÍA, A.; SANTOS, V. R.; VALE, M. P.; ALENCAR, S. M.; ROSALEN, P. L. The anti-caries activity and toxicity of an experimental propolis-containing varnish. **Brazilian Oral Research**, v. 31, p. e45, 2017.

DE REZENDE, G. P.; DA COSTA, L. R.; PIMENTA, F. C.; BARONI, D. A. In vitro antimicrobial activity of endodontic pastes with propolis extracts and calcium hydroxide: A preliminary study. **Brazilian Dental Journal**, v. 19, p. 301-305, 2008.

DEEPAK, A.; GOYAL, A. K.; RATH, G. Development and characterization of novel medicated nanofiber for the treatment of periodontitis. **American Association of Pharmaceutical Scientists**, v. 19, n. 8, 2018.

DEHGHANI, M.; ABTAHI, M.; HASANZADEH, N.; FARAHZAD, Z.; NOORI, M.; NOORI, M. Effect of Propolis mouthwash on plaque and gingival indices over fixed orthodontic patients. **Journal of Clinical and Experimental Dentistry**, v. 11, n. 3, p. e244, 2019.

DEVI, V. K.; JAIN, N.; VALLI, K. S. Importance of novel drug delivery systems in herbal medicines. **Pharmacognosy Reviews**, v. 4, n. 7, p. 27, 2010.

DING, G. J.; ZHU, Y. J.; QI, C.; LU, B. Q.; WU, J.; CHEN, F. Porous microspheres of amorphous calcium phosphate: Block copolymer templated microwave-assisted hydrothermal synthesis and application in drug delivery. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 443, p. 72–79, 2015.

DOS SANTOS, D. C.; DA SILVA BARBOZA, A.; SCHNEIDER, L. R.; CUEVAS-SUÁREZ, C. E.; RIBEIRO, J. S.; DAMIAN, M. F.; CAMPOS, A. D.; LUND, R. G. Antimicrobial and physical properties of experimental endodontic sealers containing vegetable extracts. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1-10, 2021.

DUALIBE, S. A. C.; GONÇALVES, A. G.; AHID, F. J. M. Effect of a propolis extract on *Streptococcus mutans* counts in vivo. **Journal of Applied Oral Science**, v. 15, p. 420-423, 2007.

EL SOHAIMY, S. A.; MASRY, S. H. D. Phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of Egyptian and Chinese propolis. **American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, v. 14, p. 1116-1124, 2014.

EL-GUENDOUIZ, S.; AAZZA, S.; LYOUSSE, B.; ANTUNES, M. D.; FALEIRO, M. L.; MIGUEL, M. G. Anti-acetylcholinesterase, antidiabetic, anti-inflammatory, antityrosinase and antixanthine oxidase activities of Moroccan propolis. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 51, n. 8, p. 1762-1773, 2016.

ENIOUTINA, E. Y.; TENG, L.; FATEEVA, T. V.; BROWN, J. C.; JOB, K. M.; BORTNIKOVA, V. V.; KREPKOVA, L. V.; GUBAREV, M. I.; SHERWIN, C. M. Phytotherapy as an alternative to conventional antimicrobials: combating microbial resistance. **Expert Review of Clinical Pharmacology**, v. 10, n. 11, p. 1203-1214, 2017.

FANG, R.; ZHANG, E.; XU, L.; WEI, S. Electrospun PCL / PLA / HA based nanofibers as scaffold for osteoblast-like cells. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 10, n. 11, p. 7747–7751, 2010.

FARIAS, S. S.; SIQUEIRA, S. M. C.; CRISTINO, J. H. S. C.; ROCHA, J. M. Biopolímeros: Uma alternativa para promoção do desenvolvimento sustentável. **Revista Geonorte**, v. 7, n. 26, p. 61–77, 2016.

FAROOQUI, T.; FAROOQUI, A. A. Molecular mechanism underlying the therapeutic activities of propolis: a critical review. **Current Nutrition & Food Science**, v. 6, n. 3, p. 186-199, 2010.

FRANCA, J. R.; DE LUCA, M. P.; RIBEIRO, T. G.; CASTILHO, R. O.; MOREIRA, A. N.; SANTOS, V. R.; FARACO, A. A. Propolis-based chitosan varnish: drug delivery, controlled release and antimicrobial activity against oral pathogen bacteria. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 14, n. 1, p. 1-11, 2014.

FURLANETO, A. C.; MORETTI, A. J.; BOUQUOT, J. E.; AHN, C. W.; NAGATA, M. J. H.; MESSORA, M. R.; FUCINI, S. E.; GARCIA, V. G.; BOSCO, A. F. Bone healing in critical-size defects treated with new bioactive glass / calcium sulfate: A histologic and histometric study in rat calvaria. **Clinical Oral Implants Research**, v. 18, n. 3, p. 311-318, 2010.

FURTADO JR., J. H. C.; ROCHA VALADAS, L. A.; MENDONÇA, K. S.; DE OLIVEIRA FILHO, R. D.; GADELHA, L. M. U.; DE MELLO FIALLOS, N.; NETO, E. M. R.; DE MELLO FIALLOS, A. C.; DE FRANÇA FONTELES, M. M. Propolis and its dental applications: a technological prospection. **Recent Patents on Biotechnology**, v. 12, n. 4, p. 288-296, 2018.

GIRAUD, T.; RUFAS, P. CHMILEWSKY, F.; ROMBOUTS, C.; DEJOU, J.; JEANNEAU, C. Complement activation by pulp capping materials plays a significant role in both inflammatory and pulp stem cells' recruitment. **Journal of Endodontics**, v. 43, n. 7, p. 1104-1111, 2017.

GONZÁLEZ-MASÍS, J.; CUBERO-SESIN, J. M.; CORRALES-UREÑA, Y. R.; GONZÁLEZ-CAMACHO, S.; MORA-UGALDE, N.; BAIZÁN-ROJAS, M.; LOAIZA, R.; VEGA-BAUDRIT, J. R.; GONZALEZ-PAZ, R. J. Increased fibroblast metabolic activity of collagen scaffolds via the addition of propolis nanoparticles. **Materials**, v. 13, n. 14, p. 3118, 2020.

GOONOO, N.; FAHMI, A. W.; JONAS, U.; GIMIÉ, F.; AIT ARSA, I.; BÉNARD, S.; SCHÖNHERR, H.; BHAW-LUXIMON, A. Improved multicellular response, biomimetic mineralization, angiogenesis and reduced foreign body response of modified polydioxanone scaffolds for skeletal tissue regeneration. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 11, n. 6, p. 5834-5850, 2019.

GOONOO, N.; JEETAH, R.; BHAW-LUXIMON, A.; JHURRY, D. Polydioxanone-based bio-materials for tissue engineering and drug/gene delivery applications. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 97, p. 371–391, 2015.

HOLLEY, R. A.; PATEL, D. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. **Food Microbiology**, v. 22, n. 4, p. 273-292, 2005.

HORTENSE, S. R. Uso da clorexidina como agente preventivo e terapêutico na Odontologia. **Revista de Odontologia da Universidade Cidade de São Paulo**, v. 22, n. 2, p. 178-84, 2010.

HUANG, S.; ZHANG, C. P.; WANG, K.; LI, G. Q.; HU, F. L. Recent advances in the chemical composition of propolis. **Molecules**, v. 19, n. 12, p. 19610-19632, 2014.

HUANG, Z. M.; HE, C. L.; YANG, A.; ZHANG, Y.; HAN, X. J.; YIN, J.; WU, Q. Encapsulating drugs in biodegradable ultrafine fibers through co-axial electrospinning. **Journal of Biomedical Materials Research - Part A**, v. 77, n. 1, p. 169–179, 2006.

ISHIDA, V. F. C.; NEGRI, G.; SALATINO, A.; BANDEIRA, M. F. C. A new type of Brazilian propolis: Prenylated benzophenones in propolis from Amazon and effects against cariogenic bacteria. **Food Chemistry**, v. 125, n. 3, p. 966-972, 2011.

JAIN, K. K. Current Status and Future Prospects of Drug Delivery Systems. **Drug Delivery System**, p. 1-56, 2014.

JAUTOVA, J.; ZELENKOVA, H.; DROTAROVA, K.; NEJDKOVA, A.; GRUNWALDOVA, B.; HLADIKOVA, M. Lip creams with propolis special extract GH 2002 0.5% versus aciclovir 5.0% for herpes labialis (vesicular stage): Randomized, controlled double-blind study. **Wiener Medizinische Wochenschrift**, v. 169, n. 7, p. 193-201, 2019.

JIANG, L.; WANG, L.; WANG, N.; GONG, S.; WANG, L.; LI, Q.; SHEN, C.; TURNG, L. S. Fabrication of polycaprolactone electrospun fibers with different hierarchical structures mimicking collagen fibrils for tissue engineering scaffolds. **Applied Surface Science**, v. 427, p. 311-325, 2018.

JIANG, W.; LI, L.; ZHANG, D.; HUANG, S.; JING, Z.; WU, Y.; ZHAO, Z.; ZHAO, L.; ZHOU, S. Incorporation of aligned PCL-PEG nanofibers into porous chitosan scaffolds improved the orientation of collagen fibers in regenerated periodontium. **Acta Biomaterialia**, v. 25, p. 240-252, 2015.

JIAO, Y.; TAY, F. R.; NIU, L. N.; CHEN, J. H. Advancing antimicrobial strategies for managing oral biofilm infections. **International Journal of Oral Science**, v.11, n. 3, p. 1-11, 2019.

KARCZEWSKI, A.; FEITOSA, S. A.; HAMER, E. I.; PANKAJAKSHAN, D.; GREGORY, R. L.; SPOLNIK, K. J.; BOTTINO, M. C. Clindamycin-modified triple antibiotic nanofibers: a stain-free antimicrobial intracanal drug delivery system. **Journal of Endodontics**, v. 44, n. 1, p. 155-162, 2018.

KARPIŃSKI, T. M.; SZKARADKIEWICZ, A. K. Chlorhexidine - Pharmacological activity and application. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v. 19, p. 1321-1326, 2015.

KEPEKÇI, R.; İLÇE, B. Y.; KANMAZALP, S. D. Plant-derived biomaterials for wound healing. In: **Studies in Natural Products Chemistry**. Elsevier, p. 227-264, 2021.

KHURSHID, Z.; NASEEM, M.; ZAFAR, M. S.; NAJEEB, S.; ZOHAIB, S., 2017. Propolis: A natural biomaterial for dental and oral healthcare. **Journal of Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects**, v. 11, n. 4, p. 265, 2017.

KILKENNY, C.; BROWNE, W. J.; CUTHILL, I. C.; EMERSON, M.; ALTMAN, D. G. Improving bioscience research reporting: The arrive guidelines for reporting animal research. **Animals**, v. 4, n. 1, p. 35-44, 2013.

KIM, J. H.; KIM, S. Y.; WOO, S. M.; JEONG, H. N.; JUNG, J. Y.; KIM, S. M.; LIM, H. S. Combination of mineral trioxide aggregate and propolis promotes odontoblastic differentiation of human dental pulp stem cells through ERK signaling pathway. **Food science and biotechnology**, v. 28, n. 6, p. 1801-1809, 2019.

KIM, Y. J.; YONG, Y. K.; ASLAM, M. S.; KIM, Y. J.; KONG, Y.; ASLAM, S. A Narrative and Meta - Analytic study of in vivo efficiency of the bioactive compounds of propolis in tooth decay. **Pharmacognosy Reviews**, v. 13, n. 26, 2019.

KOO, H.; ROSALEN, P. L.; CURY, J. A.; PARK, Y. K.; BOWEN, W. H. Effects of compounds found in propolis on *Streptococcus mutans* growth and on glucosyltransferase activity. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 46, n. 5, p. 1302-1309, 2002.

KORU, O.; TOKSOY, F.; ACIKEL, C. H.; TUNCA, Y.M.; BAYSALLAR, M.; GUCLU, A.U.; AKCA, E.; TUYLU, A. O.; SORKUN, K.; TANYUKSELA, M.; SALIH, B. In vitro antimicrobial activity of propolis samples from different geographical origins against certain oral pathogens. **Anaerobe**, v. 13, n. 3-4, p. 140-145, 2007.

KRESNOADI, U.; RAHAYU, R. P.; ARIANI, M. D.; SOESANTO, S. The potential of natural propolis extract combined with bovine bone graft in increasing heat shock protein 70 and osteocalcin on socket preservation. **European Journal of Dentistry**, v. 14, n. 1, p. 031-037, 2020.

LAL, N.; DIXIT, J. Biomaterials in periodontal osseous defects. **Journal of Oral Biology and Craniofacial Research**, v. 2, n. 1, p. 36–40, 2012.

LI, D.; ZHANG, K. Small molecules modified biomimetic gelatin / hydroxyapatite nanofibers constructing an ideal osteogenic microenvironment with significantly enhanced cranial bone formation. **International Journal of Nanomedicine**, v. 13, p. 7167, 2018.

LI, F.; AWALE, S.; TEZUKA, Y.; KADOTA, S. Cytotoxic constituents of propolis from Myanmar and their structure–activity relationship. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 32, n. 12, p. 2075-2078, 2009.

LIU, J.; HE, L.; MA, S.; LIANG, J.; ZHAO, Y.; FONG, H. Effects of chemical composition and post-spinning stretching process on the morphological, structural, and thermo-chemical properties of electrospun polyacrylonitrile copolymer precursor nanofibers. **Polymer**, v. 61, p. 20-28, 2015.

- LOH, Q.L.; CHOONG, C. Three-Dimensional Scaffolds for Tissue Engineering Applications: Role of Porosity and Pore Size. **Tissue Engineering Part B: Reviews**, v. 19, n. 6, p. 485-502, 2013.
- MADHUBALA, M. M.; SRINIVASAN, N.; AHAMED, S. Comparative evaluation of propolis and triantibiotic mixture as an intracanal medicament against *Enterococcus faecalis*. **Journal of Endodontics**, v. 37, n. 9, p. 1287-1289, 2011.
- MASOUDI RAD, M.; NOURI KHORASANI, S.; GHASEMI-MOBARAKEH, L.; PRABHAKARAN, M. P.; FOROUGHI, M. R.; KHARAZIHA, M.; SAADATKISH, N.; RAMAKRISHNA, S. 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.
- MEIMANDI-PARIZI, A.; ORYAN, A.; SAYAHI, E.; BIGHAM-SADEGH, A. Propolis extract a new reinforcement material in improving bone healing: An in vivo study. **International Journal of Surgery**, v. 56, p. 94-101, 2018.
- MIRZOEVA, O. K.; GRISHANIN, R. N.; CALDER, P. C. Antimicrobial action of propolis and some of its components: The effects on growth, membrane potential and motility of bacteria. **Microbiological Research**, v. 152, n. 3, p. 239-246, 1997.
- MOHER, D.; SHAMSEER, L.; CLARKE, M.; GHERSI, D.; LIBERATI, A.; PETTICREW, M.; SHEKELLE, P.; STEWART, L. A.; GROUP, P.-P. Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. **Systematic Reviews**, v. 4, n. 1, 2015.
- MOZAYENI, M. A.; MILANI, A. S.; MARVASTI, L. A.; ASGARY, S. Cytotoxicity of calcium enriched mixture cement compared with mineral trioxide aggregate and intermediate restorative material. **Australian Endodontic Journal**, v. 38, n. 2, p. 70-75, 2012.
- NETO, E. M. R.; VALADAS, L. A. R.; LOBO, P. L. D.; FERNANDES, A. M. B.; DA CRUZ FONSECA, S. G.; FECHINE, F. V.; JÚNIOR, F. J. G.; BANDEIRA, M. A. M.; DE FRANÇA FONTELES, M. M. Dose-response evaluation of propolis dental varnish in children: A randomized study. **Recent Patents on Biotechnology**, v. 14, n. 1, p. 41-48, 2020.
- NGUYEN, S.; HIORTH, M. Advanced drug delivery systems for local treatment of the oral cavity. **Therapeutic delivery**, v. 6, n. 5, p. 595-608, 2015.
- NIE, H.; WANG, C. H. Fabrication and characterization of PLGA/HAp composite scaffolds for delivery of BMP-2 plasmid DNA. **Journal of Controlled Release**, v. 120, n. 1–2, p. 111–121, 2007.
- OZÓRIO, J. E.; CARVALHO, L. F.; DE OLIVEIRA, D. A.; DE SOUSA-NETO, M. D.; PEREZ, D. E. Standardized propolis extract and calcium hy droxide as pulpotomy

agents in primary pig teeth. **Journal of Dentistry for Children**, v. 79, n. 2, p. 53-58, 2012.

PAGE, M. J.; MCKENZIE, J. E.; BOSSUYT, P. M.; BOUTRON, I.; HOFFMANN, T. C.; MULROW, C. D.; SHAMSEER, L.; TETZLAFF, J. M.; AKL, E. A.; BRENNAN, S. E.; CHOU, R.; GLANVILLE, J.; GRIMSHAW, J. M.; HRÓBJARTSSON, A.; LALU, M. M.; LI, T.; LODER, E. W.; MAYO-WILSON, E.; MCDONALD, S.; MCGUINNESS, L. A.; STEWART, L. A.; THOMAS, J.; TRICCO, A. C.; WELCH, V. A.; WHITING, P. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. **BMJ**, v. 372, 2021.

PAMEIJER, C. H.; ZMENER, O. Resin materials for root canal obturation. **Dental Clinics**, v. 54, n. 2, p. 325-344, 2010.

PARK, H.; KIM, K.; CHOI, S.; YOON, J. A patent intelligence system for strategic technology planning. **Expert Systems with Applications**, v. 40, n. 7, p. 2373-2390, 2013.

PAROLIA, A.; KUNDABALA, M.; RAO, N. N.; ACHARIA, S. R.; AGRAWAL, P. A comparative histological analysis of human pulp following direct pulp capping with propolis, mineral trioxide aggregate and Dycal. **Australian Dental Journal**, v. 55, n. 1, p. 59-64, 2010.

PETERS, M. D. J.; GODFREY, C. M.; KHALIL, H.; MCINERNEY, P.; PARKER, D.; SOARES, C. B. Guidance for conducting systematic scoping reviews. **JBIM Evidence Implementation**, v. 13, n. 3, p. 141-146, 2015.

PEYCHEVA, S.; APOSTOLOVA, E.; GARDJEVA, P.; PEYCHEV, Z.; KOKOVA, V.; ANGELOV, A.; SLAVOV, A.; MURDJEVA, M. Effect of Bulgarian propolis on the oral microflora in adolescents with plaque-induced gingivitis. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 29, p. 271-277, 2019.

PITTS, N. B.; ZERO, D. T.; MARSH, P. D.; EKSTRAND, K.; WEINTRAUB, J. A.; RAMOS-GOMEZ, F.; TAGAMI, J.; TWETMAN, S.; TSAKOS, G.; ISMAIL, A. Dental caries. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 3, n. 1, p. 1-16, 2017.

POBIEGA, K.; KRAŚNIEWSKA, K.; GNIEWOSZ, M. Application of propolis in antimicrobial and antioxidative protection of food quality—A review. **Trends In Food Science & Technology**, v. 83, p. 53-62, 2019.

RAGHUKUMAR, R.; VALI, L.; WATSON, D.; FEARNLEY, J.; SEIDEL V. Antimethicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) activity of 'pacific propolis' and isolated prenylflavanones. **Phytotherapy Research**, v. 24, n. 8, p. 1181-1187, 2010.

RAHMAN, H. S.; OTHMAN, H. H.; HAMMADI, N. I.; YEAP, S. K.; AMIN, K. M.; SAMAD, N. A.; ALITHEEN, N. B. Novel drug delivery systems for loading of natural plant extracts and their biomedical applications. **International Journal of Nanomedicine**, v. 15, p. 2439, 2020.

- RAMBURRUN, P.; PRINGLE, N. A.; DUBE, A.; ADAM, R. Z.; D'SOUZA, S.; AUCAMP, M. Recent advances in the development of antimicrobial and antifouling biocompatible materials for dental applications. **Materials**, v. 14, n. 12, p. 3167, 2021.
- REDDY, M. S.; JEFFCOAT, M. K.; GEURS, N. C.; PALCANIS, K. G.; WEATHERFORD, T. W.; TRAXLER, B. M.; FINKELMAN, R. D. Efficacy of controlled-release subgingival chlorhexidine to enhance periodontal regeneration. **Journal Periodontology**, v. 74, n. 4, p. 411–419, 2003.
- RIBEIRO, J. S.; DA ROSA, W. L. O.; DA SILVA, A. F.; PIVA, E.; LUND, R. G. Efficacy of natural, peroxide-free tooth-bleaching agents: a systematic review, meta-analysis, and technological prospecting. **Phytotherapy Research**, v. 34, n. 5, p. 1060-1070, 2020.
- RODRIGUEZ, I. A.; MADURANTAKAM, P. A.; MCCOOL, J. M.; SELL, S. A.; YANG, H.; MOON, P. C.; BOWLIN, G. L. Mineralization potential of electrospun PDO-hydroxyapatite-fibrinogen blended scaffolds. **International Journal of Biomaterials**, p. 1-12, 2012.
- RYAN, M.P. Patent incentives, technology markets, and public-private bio-medical innovation networks in Brazil. **World Development**, v. 38, n. 8, p. 1082-1093, 2010.
- SARANGI, M. K.; PADHI, S. Novel herbal drug delivery system: An overview. **Archives of Medicine and Health Sciences**, v. 6, n. 1, p. 171, 2018.
- SASSONE, L. M.; FIDEL, R. A. S.; FIDEL, S. R.; DIAS, M.; HIRATA, R. J. Antimicrobial activity of different concentrations of NaOCl and chlorhexidine using a contact test. **Brazilian Dental Journal**, v. 14, n. 2, p. 99–102, 2003.
- SASSONE, L. M.; FIDEL, R. A. S.; MURAD, C. F.; FIDEL, S. R.; HIRATA, R. Antimicrobial activity of sodium hypochlorite and chlorhexidine by two different tests. **Australian Endodontic Journal**, v. 34, n. 1, p. 19-24, 2008.
- SEN, B.; STROSCIO, M.; DUTTA, M. Photoluminescence and Raman spectroscopy of polycrystalline ZnO nanofibers deposited by electrospinning. **Journal of Electronic Materials**, v. 8, n. 2, p.227-237, 2011.
- ŞENEL, S.; AKSOY, E. A.; AKCA, G. Application of chitosan based scaffolds for drug delivery and tissue engineering in dentistry. In: **Marine-Derived Biomaterials for Tissue Engineering Applications**. Springer, Singapore, 2019. p. 157-178.
- SILVA, F. C. C. DA; DANTAS, R. T.; CITÓ, M. D. C. D. O.; SILVA, M. I. G.; VASCONCELOS, S. M. M. DE; FONTELES, M. M. D. F.; VIANA, G. S. D. B.; SOUSA, F. C. F. DE. Ketamina, da anestesia ao uso abusivo: Artigo de revisão. **Revista Neurociencias**, v. 18, n. 2, p.227-237, 2010.
- SIMÕES, T. M. S.; SILVA, M. D.; FERNANDES NETO, J. D.; BATISTA, A. L.; CATÃO, M. H. C. D. V. Aplicabilidade da terapia fotodinâmica antimicrobiana na eliminação do *Enterococcus faecalis*. **Archives of Health Investigation**, p. 492–496, 2018.

SIMU, M. R.; PALL, E.; RADU, T.; MICLAUS, M.; CULIC, B.; MESAROS, A. S.; MUNTEAN, A.; FILIP, G. A. Development of a novel biomaterial with an important osteoinductive capacity for hard tissue engineering. **Tissue and Cell**, v. 52, p. 101-107, 2018.

SUNANDHAKUMARI, V. J.; VIDHYADHARAN, A. K.; ALIM, A. Fabrication and in vitro characterization of bioactive glass / nano hydroxyapatite reinforced electrospun poly (ϵ -caprolactone) composite membranes for guided tissue regeneration. **Bioengineering**, v.5, p.54, 2018.

TAKAISI-KIKUNI, N. B.; SCHILCHER, H., Electron microscopic and microcalorimetric investigations of the possible mechanism of the antibacterial action of a defined propolis provenance. **Planta Medica**, v. 60, n. 3, p. 222-227, 1994.

TALEB, R. A. E.; DJEBLI, N.; CHENINI, H.; SAHIN, H.; KOLAYLI, S., In vivo and in vitro anti-diabetic activity of ethanolic propolis extract. **Journal of Food Biochemistry**, v. 44, n. 7, p. e13267, 2020.

VEILLEUX-LEMIEUX, D.; CASTEL, A.; CARRIER, D.; BEAUDRY, F.; VACHON, P. Pharmacokinetics of ketamine and xylazine in young and old Sprague-Dawley rats. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v. 52, n. 5, p. 567-70, 2013.

VELOZ, J. J.; ALVEAR, M.; SALAZAR, L. A. Antimicrobial and antibiofilm activity against *Streptococcus mutans* of individual and mixtures of the main polyphenolic compounds found in Chilean propolis. **BioMed Research International**, p. 1–7, 2019.

VIEIRA, K. B.; RAYANNE, T.; VELOSO, L.; FONTES, N. M.; ILKA, M.; BATISTA, H. D. M.; ALBUQUERQUE, A.; CARVALHO, T.; RIBEIRO, M. Regeneração tecidual guiada na periodontia: uma revisão da literatura. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, p. 1942–1950, 1942.

WANG, X.; CHAN, A. W. Challenges and patenting strategies for Chinese herbal medicine. **Chinese Medicine**, v. 5, n. 1, p. 24, 2010.

WEINSTEIN, R. A.; MILSTONE, A. M.; PASSARETTI, C. L.; PERL, T. M. Chlorhexidine: Expanding the armamentarium for infection control and prevention. **Clinical Infectious Diseases**, v. 46, n. 2, p. 274-281, 2008.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO global report on traditional and complementary medicine**, 2019. World Health Organization, 2019.

XU, J.; LI, S.; WENG, J.; WANG, X.; ZHOU, Z.; YANG, K.; LIU, M.; CHEN, X.; CUI, Q.; CAO, M.; ZHANG, Q. Hydrothermal syntheses of gold nanocrystals: From icosahedral to its truncated form. **Advanced Functional Materials**, v. 18, n. 2, p. 277–284, 2008.

XUE, J.; HE, M.; NIU, Y.; LIU, H.; CRAWFORD, A.; COATES, P.; CHEN, D.; SHI, R.; ZHANG, L. Preparation and in vivo efficient anti-infection property of GTR/GBR implant

made by metronidazole loaded electrospun polycaprolactone nanofiber membrane. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 475, n. 1–2, p. 566–577, 2014.

YANG, Y.; CHAWLA, A.; ZHANG, J.; ESA, A.; JANG, H. L.; KHADEMHOSEINI, A. Applications of nanotechnology for regenerative medicine ; healing tissues at the nanoscale. **Elsevier**, p. 485-504, 2019.

YU, J.; CHU, X.; CAI, Y.; TONG, P.; YAO, J. Preparation and characterization of antimicrobial nano-hydroxyapatite composites. **Materials Science and Engineering C**, v. 37, n. 1, p. 54-59, 2014.

ZAFAR, M. S.; KHURSHID, Z.; ALMAS, K. Oral tissue engineering progress and challenges. **Tissue Engineering and Regenerative Medicine**, v. 12, n. 6, p. 387-397, 2015.

ZAHID, S.; KHAN, A. S.; CHAUDHRY, A. A.; GHAFOR, S.; AIN, Q. U.; RAZA, A.; RAHIM, M. I.; GOERKE, O. Fabrication, in vitro and in vivo studies of bilayer composite membrane for periodontal guided tissue regeneration. **Journal of Biomaterials and Applications**, v. 0, n. 0, p. 1-12, 2018.

ZHANG, Y.; VENUGOPAL, J. R.; EL-TURKI, A.; RAMAKRISHNA, S.; SU, B.; LIM, C. T. Electrospun biomimetic nanocomposite nanofibers of hydroxyapatite/chitosan for bone tissue engineering. **Biomaterials**, p. 485-504, 2008.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Odontologia
Programa de Pós-Graduação em Odontologia
Área de Concentração em Clínica Odontológica – Ênfase em Dentística e
Cariologia



Tese

**Depressão materna nos primeiros 1.000 dias de vida e cárie na primeira
infância**

Catarina Borges da Fonseca Cumerlato

Pelotas, 2022

Catarina Borges da Fonseca Cumerlato

Depressão materna nos primeiros 1.000 dias de vida e cárie na primeira infância

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 em Clínica Odontológica/ Dentística e Cariologia.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Britto Corrêa

Coorientador(a): Prof. Dra. Mariana Gonzalez Cademartori

Pelotas, 2022

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

C969d Cumerlato, Catarina Borges da Fonseca

Depressão materna nos primeiros 1.000 dias de vida e
cárie na primeira infância / Catarina Borges da Fonseca
Cumerlato ; Marcos Britto Correa, orientador ; Mariana
Gonzalez Cademartori, coorientadora. — Pelotas, 2022.

70 f. : il.

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

1. Epidemiologia. 2. Depressão. 3. Cárie dental. 4.
Estudos de coorte. 5. Coorte de nascimentos. I. Correa,
Marcos Britto, orient. II. Cademartori, Mariana Gonzalez,
coorient. III. Título.

Black : D631

Catarina Borges da Fonseca Cumerlato

Depressão materna nos primeiros 1.000 dias de vida e cárie na primeira infância

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

Data da Defesa: 10/05/22

Banca examinadora:

Prof. Dr. Marcos Britto Corrêa (Orientador).
Doutor em Odontologia (Dentística) pela Universidade Federal de Pelotas (UFPel).

Prof. Dr. Fausto Medeiros Mendes.
Doutor em Ciências Odontológicas (Odontopediatria) pela Universidade de São Paulo (USP).

Prof. Dr. Thiago Machado Ardenghi.
Doutor em Ciências Odontológicas (Odontopediatria) pela Universidade de São Paulo (USP).

Prof. Dra. Marília Leão Goettems.
Doutor em Odontologia (Odontopediatria) pela Universidade Federal de Pelotas (UFPel).

Prof. Dra. Francine dos Santos Costa.
Doutor em Odontologia (Odontopediatria) pela Universidade Federal de Pelotas (UFPel) (Suplente).

Prof. Dra. Françoise Hélène van de Sande Leite.
Doutor em Odontologia (Dentística) pela Universidade Federal de Pelotas (UFPel) (Suplente).

Notas Preliminares

A presente tese 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 em Artigos, descrita no referido manual.
<https://wp.ufpel.edu.br/sisbi/files/2019/06/Manual.pdf>

Agradecimentos

À Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas que possibilitou a realização de toda minha formação acadêmica na cidade de Pelotas.

Ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal de Pelotas e seus professores pela oportunidade de ter cursado o Mestrado e Doutorado em um programa de alta qualidade e excelência.

À CAPES pelo apoio financeiro fornecido durante uma parte do Doutorado.

Ao Marcos Britto Corrêa, meu orientador, mestre e amigo, por toda paciência, dedicação, confiança, acolhimento e carinho. Agradeço pelos inúmeros ensinamentos e por toda orientação durante esta trajetória. Com toda a certeza tive o melhor orientador possível.

À Mariana Gonzalez Cademartori, minha coorientadora e amiga, por toda ajuda, dedicação e amizade. Ela contribuiu muito para este projeto e trabalho.

Ao Celaniro Júnior, secretário do Programa, por estar sempre disposto a ajudar e amparar os alunos quando preciso.

Às minhas amigas e colegas, Caroline Fernandes e Cinthia Studzinski, pela amizade, parceria e apoio. Nossas conversas foram fundamentais nos últimos anos de Doutorado.

Ao meu namorado, Rodrigo Rotta, por todo amor, paciência e compreensão ao longo desta jornada. E por todo o apoio e incentivo nos momentos difíceis.

À minha família, por todo o exemplo de dedicação e força, que me fez ser uma pessoa esforçada e dedicada, sempre tentando fazer o meu melhor nas minhas escolhas. Obrigada por tudo, sem vocês não teria chegado tão longe. Essa conquista é de vocês também.

Aos professores que compõe a banca avaliadora deste trabalho, por disponibilizarem de tempo e dedicação para contribuírem com a minha Tese.

Muito obrigada!

Resumo

CUMERLATO, Catarina Borges da Fonseca. **Depressão materna nos primeiros 1.000 dias de vida e cárie na primeira infância**. Orientador: Marcos Britto Corrêa. 2022. 70f. Tese (Doutorado em Odontologia) – Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2022.

Os primeiros 1.000 dias de vida compreende um período crítico com uma janela de oportunidades para o desenvolvimento infantil e para a melhoria da saúde pessoal, com um enorme impacto na saúde das mães, bebês e crianças. Nesse período, as mulheres estão mais suscetíveis a desenvolver distúrbios depressivos que podem impactar na saúde da prole. A cárie dentária é a doença bucal mais prevalente no mundo e é considerada a doença crônica infantil mais comum, que afeta a economia e a qualidade de vida das pessoas. Nesse sentido, o objetivo do presente estudo foi investigar o efeito da trajetória de depressão materna durante os primeiros 1.000 dias de vida da criança sobre a incidência de cárie dentária aos 48 meses, em uma coorte de nascimentos. Todos os bebês nascidos em Pelotas em 2015 foram identificados e as mães convidadas a participar de uma coorte. Os dados foram coletados por dentistas e entrevistadores (previamente treinados e calibrados), por meio de uma entrevista com o participante e seu responsável legal, onde exames clínicos de saúde bucal foram realizados e questionários aplicados. O desfecho deste estudo foi cárie dental aos 48 meses de idade avaliada de acordo com o Sistema Internacional de Detecção e Avaliação de Cárie. A depressão materna foi coletada usando a Escala de Depressão de Edimburgo no pré-natal, aos 3, 12 e 24 meses de idade. As variáveis das trajetórias de sintomas depressivos maternos foram criadas usando modelos de trajetória baseados em grupos e adotando dois pontos de corte (10 – rastreamento e 13 – diagnóstico). A análise descritiva foi realizada para obter as frequências das variáveis de interesse. As associações entre variáveis foram testadas através do teste qui-quadrado para variáveis dicotômicas e teste qui-quadrado de tendência linear para variáveis ordinais. Modelos de regressão de Poisson com variância robusta foram usados para identificar o efeito total das trajetórias dos sintomas depressivos maternos sobre a cárie dental aos 48 meses de idade, ajustando por fatores de confusão. Foram incluídas no estudo 3.645 crianças. Um total de 29,2% das mães apresentou trajetória alta para rastreamento de depressão e 18,8% apresentaram

trajetória alta de diagnóstico de depressão. A incidência de cárie dental na primeira infância foi de 26,7%. Após análise ajustada, as trajetórias de depressão materna aumentaram o risco de cárie dental aos 48 meses de idade. Filhos de mães com alta trajetória de depressão apresentaram maior risco de cárie dental em comparação com filhos de mães com baixa trajetória de depressão. Esses achados reforçam a necessidade da implementação de uma estratégia de saúde integrada, centrada no paciente e que aborde fatores de risco comuns entre doenças, para assim prevenir a doença cárie e outras condições a nível populacional. A detecção precoce e o tratamento de transtornos mentais maternos devem ser considerados de alta prioridade nos serviços de saúde.

Palavras-chave: Epidemiologia. Depressão. Cárie dental. Estudos de coorte. Coorte de nascimentos.

Abstract

CUMERLATO, Catarina Borges da Fonseca. **Maternal depression on first 1,000 days of life and early childhood caries**. Advisor: Marcos Britto Corrêa. 2022. 70p. Thesis (PhD degree in Dentistry) – Graduate Dentistry Program, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2022.

The first 1,000 days of life comprise a critical period with a window of opportunity for child development and personal health improvement, with a huge impact on the health of mothers, babies, and children. During this period, women are more susceptible to developing depressive disorders that can impact the health of their offspring. Dental caries is the most prevalent oral disease in the world and is considered the most common childhood disease, which affects people's economy and quality of life. In this sense, the aim of this study was to investigate the effect of maternal's depression trajectory in first 1,000 days of the child's life on the incidence of early childhood dental caries, in a birth cohort. All infants born in Pelotas in 2015 were identified and the mothers were invited to participate in the cohort. Data were collected by dentists and interviewers (previously trained and calibrated), through an interview with the participant and his/her legal guardian, where clinical oral health exams were performed, and questionnaires applied. The outcome of this study was dental caries at 48 months of age assessed according to the International Caries Detection and Assessment System. Maternal depression was collected using Edinburgh Postnatal Depression Scale antenatally, at 3-, 12- and 24-months of age. Maternal depressive symptoms trajectories variables were created using Group-based trajectory models and adopting two cutoffs points (10 -screening- and 13 -diagnosis-). Descriptive analysis was performed to evaluate the frequencies of the variables of interest. Associations between variables were tested using the chi-squared test for dichotomous variables and the linear trend chi-squared test for ordinal variables. Poisson regression models with robust variance was used to identify the total effect of maternal depressive symptoms trajectories on dental caries at 48 months of age, adjusting by confounders. A total of 3,645 children were included in the study. A total of 29.2% of the mothers presented a high trajectory for screening of depression and 18.8% presented a high trajectory of depression diagnosis. The incidence of early childhood caries was 26.7%. After adjusted analysis, maternal depression trajectories

from pregnancy to 24 months increased the risk for dental caries at 48 months of age. Children from mothers with high depression trajectory had higher risk of having dental caries compared to children from mothers with low depression trajectory. These findings reinforce the need of implementing an integrated health strategy, patient-centered, and addressing common risk factors among diseases for preventing caries disease and other conditions at a population level. Early detection and treatment of maternal mental disorders should be considered of high priority in health services.

Keywords: Epidemiology. Depression. Dental caries. Cohort studies. Birth cohort.

List of Tables

Article

Table 1	Descriptive analysis of sample of the oral health sub-study and of the Pelotas 2015 birth cohort at 48 months follow up. Pelotas, RS, Brazil.....	49
Table 2	Distribution of early childhood caries according to the adjustment variables and maternal depressive trajectories in Pelotas 2015 birth Cohort at 48 months of age. Pelotas, RS, Brazil.....	50
Table 3	Crude ^c and adjusted ^a relative risk (RR) of ECC at 48 months of age by maternal depressive symptoms trajectories in Pelotas 2015 birth Cohort. Pelotas, RS, Brazil. Poisson regression analysis (n = 3,643 children).....	51
Table 4	Crude ^c and adjusted ^a rate ratios (RR) of severity of ECC at 48 months of age by maternal depressive symptoms trajectories in Pelotas 2015 birth Cohort. Pelotas, RS, Brazil. Poisson regression analysis (n = 3,643 children).....	52

List of Figures

Article

Figure 1	Direct Acyclic Graph illustrating the relationships between exposure, outcome, and confounding factors.....	53
Appendix Figure	Flowchart of 2015 Pelotas Birth Cohort participants.....	54

List of abbreviations and acronyms

UFPeI	Federal University of Pelotas
WHO	World Health Organization
ECC	Early Childhood Caries
NCDs	Non-communicable Diseases
CI	Confidence Interval
ICDAS	International Caries Detection and Assessment System
DMFS	Decayed, Missing and Filled Surface
EPDS	Edinburgh Postnatal Depression Scale
BIC	Bayesian information criterion
BRL	Brazilian real
DAG	Direct Acyclic Graph
RR	Rate Ratio
RR	Relative Risk
Ref	Reference
CPE	Epidemiological Research Center

List of symbols

$\%$	Percent
$>$	Strict inequality (greater than)
$\geq$	Inequality (greater than or equal to)
$<$	Strict inequality (less than)
$\leq$	Inequality (less than or equal to)
$=$	Equals sign
$+$	Plus sign
$-$	Minus sign
$*$	Asterisk
$()$	Parentheses
$[]$	Brackets

Summary

1 Introduction.....	15
2 Literature Review.....	17
2.1 The first 1,000 days of life.....	17
2.2 Maternal depression.....	19
2.3 Dental caries.....	20
2.4 Relationship between the first 1,000 days of life, maternal depression and the occurrence of early childhood caries.....	21
3 Research Project.....	23
3.1 Study design.....	23
3.2 Pelotas cohort study 2015.....	23
3.3 4-year follow up study.....	24
3.4 Outcome – dental caries.....	24
3.5 Exposure variables.....	25
3.6 Covariables.....	26
3.7 Data analysis.....	26
3.8 Ethical issues.....	27
4 Fieldwork Report.....	28
4.1 Introduction.....	28
4.2 Team selection and training.....	28
4.3 Team remuneration.....	30
4.4 Pilot study.....	30
4.5 Logistics.....	30
4.6 Material sterilization.....	31
4.7 Data collection.....	31
4.8 Final numbers.....	32
5 Article.....	33
6 Conclusions.....	57
References.....	58
Attachments.....	67

1 Introduction

The first 1,000 days of life, defined as a golden period, between conception and a child's 2nd birthday, has a window of opportunities for child development and to improve personal health, having a huge impact on the health of unborn babies, infants, and young children (HANSON et al., 2015; KOLETZKO et al., 2017). This period is the most important for the body and brain development and it represents the best time for obesity prevention and its consequences (BRAMBILLA et al., 2016; RUDOLF, 2011; FRASER et al., 2012; BLAKE-LAMB et al., 2016). In addition, the World Health Organization (WHO) Commission on Social Determinants in Health stressed that many challenges for adult society originate in the early years of life, including chronic and major public health problems such as obesity, heart disease and mental disease demonstrating the importance of early life exposures on our health (CSDH, 2008).

Several oral diseases are chronic and highly prevalent throughout the life course having a huge impact on individuals, communities and society (KASSEBAUM et al., 2017; PETERSEN et al., 2005). Dental caries is the most prevalent oral disease worldwide (MARCENES et al., 2013), with 2.3 billion people presenting untreated dental caries in permanent dentition (GBD 2017 ORAL DISORDERS COLLABORATORS et al., 2020), and is considered a global public health problem that impacts the economy and quality of life of those affected (PERES et al., 2019). Although caries can be prevented and treated with non-invasive conducts, the dentist persists in adopt merely interventionist approaches and individualistic preventive methods that is not patient-centered, thus leading to the failure of controlling this disease. There is a need to change this model for an integrated policy action that looks for controlling shared risk factors for dental caries and others non-communicable diseases (NCDs) focusing on health-centered. Thereby, controlling risk factors that are common to NCDs and dental caries will promote not just oral health but also general health (WATT et al., 2019).

Considering that general health has common risk factors with oral health, we can suggest that general health recommendations will affect oral health indicators as well, i.e., healthy habits would lead to oral health. There are currently governmental and non-governmental guidelines on health recommendations based on the best

evidence for each specific period of life (maternal health, newborn, child). The World Health Organization is one of the organizations that develops these guidelines which have several specific recommendations that seek to inform and guide the care that should be taken to maximize the health of mothers and their children, e.g., on the first 1,000 days of life (WHO, 2017a; WHO, 2017b; WHO, 2017c). Many factors are important for the newborn's growth and cognitive development in this period, as sleep time recommendations, physical activity and sedentary time (WHO, 2019), breastfeeding (WHO, 2017a), sugar consumption (MH, 2018), mother's habits (well-balanced diet, physical activity, drugs use, chronic conditions, mental health), among other factors (WHO, 2017b).

Based on the available evidence, the WHO recommends for example that every woman should be evaluated prenatally and within the first two weeks of life for postpartum depression (WHO, 2017b). It is known that around 12% of women experience depression in this period (HOWARD et al., 2014). This psychiatric disorder is not only associated with poor maternal health (FLICK et al., 2006; KURKI et al., 2000), but also with negative effects on children (WEINBERG & TRONICK, 1998) since mothers are the main caregivers during the first thousand days of offspring's life. In this sense, it is likely that mothers with mental disorders may have difficulties in having proper child care, affecting child's general and oral health (SOUZA et al., 2006). Thus, following the recommendations defined by the WHO (WHO, 2017a; WHO, 2017b; WHO, 2017c) during early life, plays an important role for health planning.

The hypothesis of this project is that deleterious health exposures in the first 1000 days of life will be associated with increased caries risk at 48 months of age. Based on this hypothesis and in the absence of studies that have investigated this subject in the literature, the aim of our study was to investigate the effect of the trajectory of maternal depressive disorders in the first thousand days of the child's life on the incidence of early childhood dental caries at 48 months of age in a birth cohort.

2 Literature Review

2.1 The first 1,000 days of life

The first thousand days of life refers to the period between conception and 24 months of life and it is a critical period in which foundations for the healthy development of the child are laid, having a huge impact on the health of unborn babies, infants, and young children (HANSON et al., 2015; KOLETZKO et al., 2017). Some factors as environmental, genetic and epigenetics, nutritional and hormonal regulation can have positive effects on a baby's growth and development, being the challenge maximizing the potential for normal growth without increasing the risk of associated disorders (GLASS et al., 2006; BAIDAL et al., 2016; PIETROBELLI et al., 2017).

There is evidence that epigenetic changes can be inherited. When parents have been exposed to adverse experiences (including environmental toxins, nutrition, abusive behavior, and social stress) that have produced changes to their epigenome, these changes can be passed to their children, with powerful effects on their health and wellbeing (GAPP & BOHACEK, 2018; WANG et al., 2017). These long-term consequences during the first 1,000 days of life may not be limited to one generation, but can lead to health problems in subsequent generations, even if these individuals develop under optimal conditions themselves (ROSEBOOM & WATSON, 2012; WANG et al., 2017).

An example of long-term effect from the first thousand days is obesity that, as diabetes and others non-communicable diseases, is characterized by chronic low-grade inflammation and it is a complex condition with multiple causes (MEDZHITOV, 2008; CAMPBELL, 2016). Some of the key prenatal influences on the development of childhood obesity include the mother's smoking habits (OKEN et al., 2008); the mother's weight gain (OKEN et al., 2007; SEGOVIA et al., 2017); and the mother's blood sugar levels during pregnancy (HILLIER et al., 2007; HSPH, 2016).

Another important determinant in this period of life that has a huge and long-term impact on our health is the nutritional aspect. The recommendations for this period

point to a balanced and healthy diet during pregnancy (WHO, 2017b), to the encouragement of exclusive breastfeeding until six months and continuation at least until 24 months of age (WHO, 2017a), and to the introduction of a healthy complementary diet in the first years of life with nutrient diversity and limited sugar intake (MH, 2018; WHO, 2017a). Healthy eating interventions in early childhood have been shown to be effective in reducing early childhood caries (FELDEN et al., 2010), as well as being important for others non-communicable diseases such as diabetes and obesity.

Breastfeeding has clear short-term and long-term benefits (WHO COLLABORATIVE STUDY TEAM et al., 2000). Some studies demonstrated that subjects who had been breastfed were found to have a lower total cholesterol and mean blood pressure, higher performance in intelligence tests and lower prevalence of overweight/obesity (HORTA et al., 2007). The results of a meta-analysis showed that breastfeeding was associated with an increase of 3.5 points (95% CI 1.9-5.0) on intelligence tests at childhood and in adolescents (HORTA & VICTORA, 2013). Moreover, there is population-based research performed in a birth cohort from Pelotas/Brazil which found that the breastfeeding duration was positively and linearly associated with performance in intelligence tests, educational attainment, and income at age 30 years (VICTORA et al., 2015), showing the significance and the impacts that breastfeeding has on life course.

The WHO also recommends that every woman should be evaluated prenatally and within the first two weeks of life for postpartum depression (WHO, 2017b). This recommendation is made probably because pregnancy and the postpartum period are considered a phase where women have an increased vulnerability to mental disorders (EBERHARD-GRAN et al., 2002; WISNER et al., 2006). In addition, it was found that mental disorders are not only associated with poor maternal health (FLICK et al., 2006; KURKI et al., 2000), but also with negative effects on child's health (WEINBERG & TRONICK, 1998).

In addition, other factors are fundamental for the newborn's growth and cognitive development that should be taken into account in this period, as sleep time recommendations, physical activity and sedentary time (WHO, 2019), sugar consumption (MH, 2018), mother's habits (well-balanced diet, physical activity, drugs use, chronic conditions, mental health), among others factors (WHO, 2017b). Besides that, it's important to consider that individuals exposed to four or more adverse

exposures during early childhood are much more likely to have unfavorable health outcomes compared to individuals not exposed to these events, demonstrating the importance of early life exposures on our health and wellbeing (THE HOUSE OF COMMONS, 2019).

2.2 Maternal Depression

Depressive disorders are characterized by the presence of some symptoms as sadness, emptiness, irritability, nervousness, and cognitive/somatic changes that impact the daily life routine (APA, 2013). This psychiatric disorder affects almost 300 million people in the world (GBD 2019 MENTAL DISORDERS COLLABORATORS, 2022), and it is also related to stress and other chronic diseases (WULSIN, 2004).

According to the available evidence, the prevalence of depressive disorders in women is almost twice as large compared to men (GBD 2019 MENTAL DISORDERS COLLABORATORS, 2022). This difference in prevalence of depression is greatest during the reproductive period, suggesting that the reproductive phase and sex hormones have some impact in the etiology of depression (BRUMMELTE & GALEA, 2010; GUTIERREZ-LOBOS et al., 2002; HAMMARSTROM et al., 2009). During pregnancy and postpartum period, the levels of steroid and peptide hormones (such as estrogens, progesterone, cortisol, and oxytocin) are dramatically altered (BRETT & BAXENDALE, 2001), and this critical phase also provides stressful and worrying events for the mother.

Maternal depression is a serious disorder that is linked with poor maternal health (FLICK et al., 2006; KURKI et al., 2000) and with negative effects on child's health (WEINBERG & TRONICK, 1998). Lower infant cognitive, disruption to the mother-infant attachment relationship and increased risk of behavioral difficulties are some adverse consequences described in the literature (BRENNAN et al., 2000; NETSI et al., 2018; CAMPBELL et al., 2004).

In the last years, some studies have been developed to investigate the relationship between maternal mental disorders and child's health, suggesting that mental disorders during or before pregnancy may alter child caretaking and hygiene (STEIN et al., 2014; MASTERSON et al., 2015). It also has been shown that

depressive mothers display less affectionate contact with their child and are less responsive to the cues of their infant (TOMPSON et al., 2010).

Besides that, one of the most important predictors of infant outcomes are the quality of parenting during the postnatal and early life period (STEIN et al., 2014), reinforcing the importance of the mother having a good mental health in this critical period. In this context, mothers with mental disorders and their child must be monitored in this period.

2.3 Dental Caries

Oral diseases are among the most prevalent in the world, causing significant impacts on the economy and on the quality of life of affected people, being a global public health problem (PERES et al., 2019). According to the Global Burden of Disease Study, dental caries is the most prevalent oral disease worldwide (MARCENES et al., 2013), with 2.3 billion people presenting untreated dental caries in permanent dentition (GBD 2017 ORAL DISORDERS COLLABORATORS et al., 2020). Dental caries is considered to be the most common chronic childhood disease and it is believed that its prevalence has increased recently in children 2–5 years of age worldwide, making this age group a global priority action area (AAPD, 2014; USDHHS, 2000; DYE et al., 2010).

Early childhood caries (ECC) is conceptualized by the presence of at least one deciduous tooth with a carious lesion (cavitated or not), or that has been lost or restored due to caries in children up to 71 months of age (AAPD, 2014). ECC is a major oral health problem especially in socially disadvantaged populations (ISMAIL et al., 2008; VACHIRAROJPISAN et al., 2004) and it is associated with other health problems, as local pain, malnutrition, gastrointestinal disorders, and difficulty in sleeping (FINLAYSON et al., 2007). Furthermore, dental caries in primary dentition was associated to worse masticatory performance (SOARES et al., 2017) and on learning problems (HOLT & KRAFT, 2005), having an impact on child growth (ALKARIMI et al., 2014).

Dental caries is a chronic disease that involves interactions between the tooth structure, the microbial biofilm formed on the tooth surface, and fermentable carbohydrates (sugars, such as glucose, fructose, sucrose, and maltose) present in

the oral cavity. In addition, this process suffers salivary, social (such as low income) and behavioral (such as poor oral hygiene, frequent intake of fermentable carbohydrate, and inadequate fluoride exposure) influences and can occur in both deciduous and permanent dentition. The caries process is dynamic and consists of alternating periods of tooth demineralization and remineralization that can result in the initiation of specific caries lesions, depending on if the demineralization period occurs over sufficient time thus causing an imbalance in this process (PITTS et al., 2017; PITTS & ZERO, 2016).

When enough mineral is lost, the lesion appears clinically as white spots. This initial phase is clinically important in the carious process because it is the time when the lesion can be inactivated or even reversed by modifying causal factors. There are some protective factors, which can promote remineralization and lesion arrest, as the daily use of fluoride toothpaste and normal salivary function (buffer capacity). Meanwhile, important factors contribute to the disease progression. Frequent consumption of dietary sugars, poor oral hygiene and inadequate fluoride are examples of risk factors that should be avoided (PITTS et al., 2017; PITTS & ZERO, 2016).

Although this disease is completely preventable, dentists fail in the control of this disease at the population level, mainly because they do not take into account the chronic nature of the disease, progressing cumulatively throughout the life cycle from childhood to adulthood (BROADBENT et al., 2008). Besides that, dentistry continues to adopt merely curative and interventionist measures for the treatment of this disease, which has not shown results regarding the reduction of the disease burden (WATT et al., 2019).

2.4 Relationship between the first 1,000 days of life, maternal depression, and the occurrence of early childhood caries

The first thousand days of life, besides being a critical period for child development (HANSON et al., 2015; KOLETZKO et al., 2017), it is also the period more likely to mothers develop depressive disorders (BRUMMELTE and GALEA, 2010; GUTIERREZ-LOBOS et al., 2002; HAMMARSTROM et al., 2009). Considering that pregnancy and postpartum period is a critically phase for mothers and children,

the World Health Organization recommends that every woman should be evaluated prenatally and within the first two weeks of life for postpartum depression (WHO, 2017b). Thus, reinforcing the importance of maternal mental health in the first thousand days of child's life.

Depression is also related to other chronic diseases (WULSIN, 2004), such as dental caries which is still considered a public health problem and the most common chronic childhood disease (AAPD, 2014; MARCENES et al. 2013). In addition, evidence suggests that maternal depression is connected to health-related behaviors that impacts child's general (NAIR et al., 2003) and oral health (QUIÑONEZ et al., 2001; WENDT et al., 1995). A recent study found that maternal mental disorders before and during pregnancy are associated with the risk of hospitalization for dental caries in children (AUGER et al., 2020), demonstrating that mothers with mental disorders and their child have to be carefully monitored in this critical period.

Furthermore, it is important to highlight that there are some ways that may explain the relationship between maternal depression and early childhood caries. Considering that mothers play an important role in the development of the child's habits (WEINBERG & TRONICK, 1998), it is expected that depressive mothers, can have difficulties to deal with their child's health habits since the exposure to stressful events negatively affects our behaviors and habits in health. Besides that, it is also plausible that mothers with mental problems may have difficulties in mother-child interaction and in having proper childcare, affecting child's oral health (SOUZA et al., 2006). In this way, mothers that have difficulties in provide proper childcare, probably contribute for a poor child's oral health.

3 Research Project

3.1 Study design

This is a longitudinal prospective study developed from data collected of a population-based birth cohort that initiated in 2015, in the city of Pelotas.

3.2 Pelotas cohort study 2015

Pelotas is a medium-sized city with a current population of 350,000 habitants, located in Southern Brazil. In 2015, has started a population-based birth cohort study that recruited pregnant women during antenatal care, thus allowing for the prospective collection of pregnancy-related variables. The antenatal study obtained a response rate of 73.8% from all mothers ($n = 3,199$) who had their children included in the 2015 birth cohort. The birth cohort of 2015 aims to investigate detailed information on time trends in maternal and child health, behaviors, nutrition, development and related factors. In addition, this cohort allows us to search associations of early-life exposures and long-term effects on child's life.

To identify pregnant women expected to give birth during 2015, were visited between May 2014 and December 2015, 123 health facilities and private clinics providing antenatal care in the city. These women were visited at home or invited to the research clinic between 16 and 24 weeks of gestation to answer a health questionnaire.

During 2015 all infants born in the five hospitals of Pelotas were identified and the mothers were invited to participate of the cohort. A total of 4,275 children were included in the antenatal study, representing a response rate of 98.7% considering the eligible population. After signing the informed consent form, the mothers that accepted to participate of the study were interviewed about their health and behaviors during pregnancy and delivery. Newborn anthropometry was carried out and their weight and

length were measured. This cohort has been followed up five times. The follow-up visits were planned from pregnancy to 48 months of life, and included home visits at 3, 12, 24 months. The 4-year follow up study started in January 2019 and lasted until September 2019. These surveys included several questionnaires as well as specific clinical measures. Further methodological details about the 2015 cohort can be found in the article by Hallal et al., (2018).

3.3 4-year follow up study

The 48-month survey fieldwork was conducted at the clinic from Federal University of Pelotas in Epidemiological Research Center (CPE), where clinical evaluations were performed, and questionnaires applied. In this follow-up, parents or legal guardians were invited to attend the research center with the children to perform the evaluations.

Oral health clinical examination was conducted by dentists, previously trained and calibrated, to investigate dental caries, restorations, oral hygiene and other clinical conditions. During the clinical examination, personal protective equipment and sterile instruments were used. In addition, to illuminate the oral cavity, artificial light coupled to the examiners' head was used.

The intra- and inter-examiner agreement for dental caries (ICDAS) is assessed by weighted kappa, considering the dental surface as the unit of analysis. To participate in the fieldwork the kappa obtained must be equal to or greater than 0.7.

In case the child was unable to go to the research center, parents or guardians were contacted to see if they authorize a home examination. In case of authorization, one of the examiners went to the child's home where the examination was performed.

3.4 Outcome – dental caries

The outcome of this study was early childhood caries, collected at 48 months of age. Early childhood caries is conceptualized by the presence of at least one

deciduous tooth with a carious lesion (cavitated or not), or that has been lost or restored due to caries in children up to 71 months of age (AAPD, 2014).

For caries evaluation in primary dentition was used the merged ICDAS classification (PITTS et al., 2017), which classifies each dental surface in relation to the presence of lesions and restorations. Regarding the lesions, the dental surface can be classified as: 0. No evidence of caries; A. Initial caries; B. Moderate caries; C. Extensive caries. The ICDAS also separately classified tooth surface for the presence of dental restoration. Other three codes were included in both assessments (dental caries and restorations): 97. Missing surface due to tooth decay; 98. Missing surface due to other reasons; 99. Unrupted tooth surface.

For analysis purposes, the decayed, missing and filled surface (dmfs) index variable was created from the ICDAS as follow: Decayed surface (d) included Moderate caries and Extensive caries categories (once initial lesion involve only enamel and it is not considered in dmfs index) (WHO, 2013); Missing surface (m) included Missing surface due to tooth decay category; and Filled surface (f). The dmfs index variable was considered in analysis models in two ways including presence of ECC (no [dmfs =0] and yes [dmfs ≥ 1]) and severity of the ECC (count variable considering number of tooth surfaces decayed, missed, and filled).

3.5 Exposure variables

As exposure variables, the presence of depression was assessed antenatally, 3, 12, and 24 months using the Portuguese version of the Edinburgh Postnatal Depression Scale (EPDS), which assesses the presence and intensity of depressive symptoms in the previous week (SANTOS et al., 2007). Two maternal depressive trajectories were created from the scores obtained in the EPDS. A score greater than or equal to 10 was used as a cutoff point for screening of depression, and a score greater than or equal to 13 is used as a cutoff point to define clinically relevant symptoms of depression (SANTOS et al., 2007).

The trajectories were created using Group-based trajectory models considering the four points of collection (antenatally, 3, 12, and 24 months). Maximum likelihood of the quasi-Newton method were the parameters used to determine the models (Jones and Nagin, 2012). The model selection method considers the estimation of the latent

number of categories and the order of the polynomial for each latent trajectory. The final number of trajectories was established when the sequential comparisons of the Bayesian information criterion (BIC) and the adjusted BIC between the model with k and $k + 1$ trajectories did not result in any more substantial difference in the BIC value. The BIC analysis supported a model of 2 trajectory groups for both cut-off points selected, being mothers classified as low and high depression trajectory from antenatal to 24 mo.

3.6 Covariables

The covariables were collected through questionnaires applied in this cohort at the child's birth. For maternal education was considered the completed schooling years of mothers and categorized into 0-4, 5-8, 9-11, and 12+ (years). Maternal age was collected in years and classified into four categories: < 19, 19-24, 25-34, and 35+ (years). Familiar income was collected in continuous way in Brazilian real (BRL) and categorized in quintiles (1st-lowest quintile and 5th- highest quintile).

3.7 Data analysis

For data analysis was used the statistical software Stata 16.0. Descriptive analysis was performed to evaluate the frequencies of the variables of interest. Associations between variables were tested using the chi-squared test for dichotomous variables and the linear trend chi-squared test for ordinal variables.

Poisson regression models with robust variance was used to identify the total effect of maternal depressive symptoms trajectories on occurrence of the ECC in their children at 48 months of age. A Direct Acyclic Graph (DAG) was developed to illustrate the relationships between exposure, outcome, and confounding factors. All associations were adjusted by covariables (maternal age, maternal education and familiar income), considering the DAG. For all analysis a confidence level of 95% was considered. Two effect measures were obtained depending on the outcome variable: Risk Ratios for ECC experience (dichotomous) and Rate Ratios for ECC severity (discrete).

3.8 Ethical issues

This project was approved by the Research Ethics Committee of the School of Medicine from the Federal University of Pelotas, under protocol number 717.271. To participate in the survey all legal guardians or parents had to sign the informed consent form, where all information about the research is, emphasizing that participation is voluntary, ensuring anonymity and confidentiality.

4 Fieldwork Report

4.1 Introduction

Currently, the city of Pelotas has four birth cohorts: 1982, 1993, 2004 and 2015. The birth cohort of 2015 has been followed up five times. The follow-up visits were planned from pregnancy to 48 months of life, and included home visits at 3, 12, 24 months. The 2015 cohort oral health study that was conducted in 2019, during the 48-month follow-up, was coordinated by the professors: Prof. Flávio Fernando Demarco and Prof. Marcos Britto Corrêa with the collaboration of Prof. Marília Leão Goettems, Prof. Marina Sousa Azevedo, Prof. Vanessa Polina Pereira da Costa, from the Postgraduate Program in Dentistry at the Federal University of Pelotas.

The supervision of the oral health fieldwork was performed by three Postdoctoral students from the Postgraduate Program in Dentistry at the UFPel (Mariana Gonzalez Cademartori, Francine dos Santos Costa and Helena Silveira Schuch).

The fieldwork was carried out by a team of 12 examiners (dental surgeons and postgraduate students) from the Postgraduate Program in Dentistry at the UFPel. It also had a support team composed of a secretary and five UFPel scientific initiation scholars.

This oral health survey was funded by FAPERGS/CNPQ PRONEX 12/2014 (16.0471-4) and CNPQ (454796/2014-5 and 426230/2018-3), granted to the Principal Investigator (FFD).

4.2 Team selection and training

There was no selection process for the examiners. Students from the Postgraduate Program in Dentistry at the UFPel, with an emphasis on Pediatric Dentistry or with experience in caring for children were invited to participate in the data

collection. To participate in the fieldwork, the examiner should have achieved good-inter examiner agreement after theoretical and practical training.

Throughout the fieldwork, the team underwent changes due to the departure and entry of examiners. Initially 8 examiners were trained and calibrated. After three months in the fieldwork, 4 examiners were included in the team. In the end, 12 dentists participated of the fieldwork team. The team was composed by: Giovane Hisse Gomes, Ana Luiza Pires, Thais Mazzetti, Catarina Borges da Fonseca Cumerlato, Laís Pauli, Fernanda Mathias, Sarah Karam, Mariana Echeverria, Giulia Demarco, Paula Corrêa, Deisi Rodrigues, and Rafaela Borges.

The theoretical training was carried out from the 26th to the 28th of November 2018, from 7:00 pm to 9:00 pm. The clinical file and the manual were presented and the oral conditions to be evaluated had their criteria discussed with text and images. Theoretical training was given with the aid of a multimedia device.

On November 29 and 30, 7:00 pm to 9:00 pm, practical training and in lux calibration of the conditions Developmental Defects of Enamel, Erosion, Dental Trauma and Visible Plaque were carried out. The practical training took place on December 6, 2018, at Escola Municipal Nossa Senhora do Carmo, located at Dr. Amarante Street, number 956 (Pelotas). The training occurred from 2:00 pm to 4:30 pm. Eight potential examiners evaluated 15 children for the following oral conditions: dental caries, pulp involvement, and occlusion. As part of the logistics, one week before the training, after authorization from the school principal, information letters to parents and a consent form for the children's participation were delivered to the school. Only children who were authorized by their parents by signing the term participated in the training. After the examination performed by the gold standard of the study, a diagnostic report of the child was made and delivered to the parents.

A second practical and theoretical training was carried out in March 2019, in which four examiners were included in the final team. The same logistics and material were used for the training, which was held from March 18 to 20, 2019, from 7:00 pm to 9:00 pm. The practical training in lux was held on March 21 and 22, from 7:30 pm to 9:00 pm. The practical training took place on March 28 at the Ivanir Dias Municipal School of Early Childhood Education, located at General Manoel Lucas de Lima Street, number 215 in the Cohab Tablada neighborhood (Pelotas), from 2:30 pm to 5:00 pm.

The inter-examiner agreement obtained through the Kappa coefficient ranged from 0.83 à 0.95 to dental caries.

4.3 Team remuneration

The program's fellow examiners received no remuneration for fieldwork. Participation in fieldwork allows access to the database for use in theses and dissertations. The non-scholarship examiners received 100 BRL per shift worked, regardless of the number of clinical exams performed. For home exams, when the dentist traveled with the team of interviewers, only the trip in the amount of the round-trip application car was paid, when necessary. When the examiner and the annotator went to the home only for the oral health exam, the examiner received 25 BRL for each exam performed and the annotator received 15 BRL. For displacement, those who traveled with a personal car received 10 BRL per exam. If it was an exam refusal, both received half the amount.

4.4 Pilot study

Prior to the start of the fieldwork, the oral health team participated in the 48-month follow-up pilot study, carried out on December 20 and 21, 2018, at the Medical Clinic of the Postgraduate Program in Epidemiology at UFPel.

4.5 Logistics

For the 48-month follow-up of the children belonging to the 2015 cohort, interviews were carried out at the clinic located at the Epidemiological Research Center at UFPel. When the mothers could not attend the CPE, the interview was scheduled at home at a time defined by the mother or guardian. Also, it was possible to carry out the interview by phone or over the internet (via Skype, for example) in special cases, such as for those children who were living in another city or even for those mothers who refused to go to the CPE or receive the team at the residence.

The oral health exams were performed in those children whose family went to the CPE or received the team at home in the city of Pelotas. Telephone and/or internet interviews were considered a loss.

The oral health examination was carried out in a room properly equipped for this purpose. The exam was recorded by the child's interviewer on a sheet with the printed form identified by the interviewer's name, child's id and date of examination. The child was seated in a chair and the examination of the oral cavity was carried out under natural light and with the aid of a photophore to improve luminosity. The exam lasted around 10 minutes and may vary according to the aggravation of the child's existing oral conditions. To perform this test, the examiner was dressed in personal protective equipment (glove, cap, and disposable mask), as recommended by the WHO, and an examination kit (comprising a mouth mirror, probe and gauze). After the oral health exam, the clinical record was typed into the digital questionnaire on RedCap. Each examiner had a login for access to the system and permission to fill in the clinical form only. At the end of follow-up, a clinical report was sent to all children examined in the Cohort regarding the presence or absence of dental caries.

4.6 Material sterilization

At the beginning of the follow-up, the material sterilization center was at the Faculty of Dentistry. Therefore, every two days the contaminated material, properly separated, was collected, and taken to the Faculty of Dentistry to be sanitized and sterilized. In the second half of the follow-up, an autoclave was purchased and installed in the CPE. Thus, a shift schedule among the team was developed, and the material was sterilized and packed daily. To this end, the team received training in order to recap the biosafety actions in the handling of contaminated material, since they deal with this content daily in dental clinics. The personal protective equipment was replaced monthly or as needed, as well as the record and control items of the exams performed.

4.7 Data Collection

The exams were performed in a room set up with a chair for the child to be examined, one for the examiner and one for the note taker. A box was available for the disposal of contaminated material, as well as an adequate trash can for the disposal

of contaminated personal protective equipment, and a sink for hand hygiene before and after each exam. In addition, there was a counter with blank forms for registration, exam control book, and folder to store the forms of exams already carried out, as well as the exam manual and card with the criteria codes. It had a table supporting the autoclave when it was installed.

As support material, an examiner's manual, a clinical examination record sheet, and a sheet with the criteria and codes of the clinical conditions evaluated were available. The oral conditions evaluated during the clinical examination were: visible plaque, dental trauma, occlusion, erosion, developmental defects of enamel, dental caries and diseases related to odontogenic infection.

Disposable personal protective equipment was available for the examination: cap, mask and gloves. To assist in the examination, a photophore was used by the examiner. The examination kit consisted of a No.5 mouth mirror and a National Institute of Dental Research standard periodontal probe, stored in a specific envelope. Sterile gauze was available if needed. Liquid detergent and alcohol gel were available for hand hygiene. The examiner wore a white coat.

4.8 Final numbers

Of the 4,293 children belonging to the Cohort, 4,010 children were followed up. Of these, 217 were losses resulting from interviews conducted via telephone and/or Skype, at home (in situations in which it was not possible to follow up with an oral health team) or even in another city. Therefore, 3,792 children were invited to participate in the oral health survey. In the end, 3,654 clinical examinations were performed, in addition to 48 maternal refusals and 91 child refusals. The number of tests performed may vary depending on the clinical condition considered.

5 Article ¹

Maternal depression on first 1000 days of life and early childhood caries

Catarina Borges da Fonseca Cumerlato^a; Mariana Gonzalez Cademartori^a; Fernando Celso Barros^b; Andréa Dâmaso Bertoldi^b; Mariângela Freitas da Silveira^b; Pedro Curi Hallal^b; Flávio Fernando Demarco^b; *Marcos Britto Corrêa^a

^a Federal University of Pelotas, Post Graduate Program in Dentistry, Gonçalves Chaves, 457, 5th floor, Pelotas, RS, 96015560, Brazil

^b Federal University of Pelotas, Post Graduate Program in Epidemiology, Marechal Deodoro, 1160, 3rd floor, Pelotas, RS, 96020220, Brazil

*Corresponding author:

Post Graduate Program in Dentistry, Federal University of Pelotas

Rua Gonçalves Chaves 457,

96015-560, Pelotas-RS, Brazil

Tel./Fax: +55-53-3222.6690

E-mail: marcos.britto@ufpel.edu.br

Abstract word count: 238

Total word count (Abstract to Acknowledgments): 3486

Total number of tables/figures: 5

Number of references: 39

¹ Article formatted according to the journal's rules of *Journal of Dental Research*

Abstract

The aim of this study was to investigate the effect of maternal's depression trajectory in first 1,000 days of the child's life on the incidence of early childhood dental caries (ECC), in a birth cohort. All infants born in Pelotas in 2015 were identified and the mothers were invited to participate in the cohort. A total of 3,645 children were included in the study. The outcome of this study was ECC at 48 months of age assessed according ICDAS. Maternal depression was collected using Edinburgh Postnatal Depression Scale (EPDS) antenatally, at 3-, 12- and 24-months of age. Maternal depressive symptoms trajectories variables were created using Group-based trajectory models and adopting two cutoffs points (10 -screening- and 13 -diagnosis-). Poisson regression models with robust variance was used to identify the total effect of maternal depressive symptoms trajectories on dental caries at 48 months of age, adjusting by confounders. A total of 29.2% of the mothers presented a high trajectory for screening of depression and 18.8% presented a high trajectory of depression diagnosis. The incidence of ECC was 26.7%. After adjusted analysis, maternal depression trajectories from pregnancy to 24 months increased the risk for ECC at 48 months of age. Children from mothers with high depression trajectory had higher risk of having dental caries compared to children from mothers with low depression trajectory. Early detection and treatment of maternal mental disorders should be considered of high priority in health services.

Keywords: epidemiology, depression, dental caries, cohort studies, birth cohort, preschool child

Introduction

The first thousand days of life refers to the period between conception and 24 months of life and it is a critical period in which foundations for the healthy development of the child are laid, having a huge impact on the health of unborn babies, infants, and young children (Moore et al. 2017). Some factors as environmental, genetic and epigenetics, nutritional and hormonal regulation can have positive effects on a baby's growth and development, being the challenge maximizing the potential for normal growth without increasing the risk of associated disorders (Glass and Mcatee 2006; Baidal et al. 2016).

Besides that, it is important to consider that individuals exposed to adverse exposures during early childhood are much more likely to have unfavorable health outcomes compared to individuals not exposed to these events, demonstrating the importance of early life exposures on our health and wellbeing (HSCC 2019). Pregnancy and the postpartum period are considered a phase where women have an increased vulnerability to mental disorders (Eberhard-Gran et al. 2002; Wisner et al. 2006). Around 12% of women experience depression and 13% experience anxiety in this period, with many women presenting both conditions (Howard et al. 2014). These psychiatric disorders are not only associated with poor maternal health (Flick et al. 2006; Kurki et al. 2000), but also with negative effects on children, affecting the cognitive development and behavior (Weinberg and Tronick 1998). In addition, it is known that maternal depression impacts in an increased risk of impaired mental and motor development of children (Goodman and Gotlib 1999).

Depression is also related to stress and other chronic diseases (Wulsin 2004), such as dental caries which is still considered a public health problem and the most common chronic childhood disease, affecting 36% of the world population (Cademartori et al. 2018; Marcenes et al. 2013). In the last years, studies have investigated the effects of maternal mental disorders on child's health, and some have suggested that mental disorders during or before pregnancy may alter child caretaking and hygiene (Stein et al. 2014; Masterson et al. 2015). Moreover, a recent study found that maternal mental disorders before and during pregnancy are associated with the risk of hospitalization for dental caries in children (Auger et al. 2020), demonstrating that mothers with mental disorders and their child have to be carefully monitored in this critical period.

Considering that there is a lack of longitudinal studies investigating the influence of maternal depressive disorders on the occurrence of child's dental caries, the aim of this study was to investigate the effect of the trajectory of maternal depressive disorders in the first

thousand days of the child's life on the incidence of early childhood dental caries at 48 months of age in a birth cohort.

Material and Methods

This study is reported in accordance with the STROBE statements guidelines (Vandenbroucke 2007).

Study design

This is a longitudinal prospective study developed from data collected in a population-based birth cohort initiated in 2015, in the city of Pelotas, Brazil.

Pelotas cohort study 2015

Pelotas is a medium-sized city with a current population of approximately 350,000 inhabitants, located in Southern Brazil. In 2015, a population-based birth cohort study has started with the recruitment of pregnant women during antenatal care, thus allowing for the prospective collection of pregnancy-related variables. To identify pregnant women expected to give birth during 2015, 123 health facilities and private clinics providing antenatal care in the city were visited between May 2014 and December 2015. These women were visited at home or invited to the research clinic between 16 and 24 weeks of gestation to answer a health questionnaire. The antenatal study obtained a response rate of 79.8% ($n = 3,199$) from all mothers who had their children included in the 2015 birth cohort.

During 2015 all infants born in the five hospitals of Pelotas were identified and the mothers were invited to participate in the cohort. Until the present study, this cohort has been followed up five times. The follow-up visits included home visits at 3, 12, 24 months. The 4-year follow up study started in January 2019 and last until September 2019. A total of 4,010 children were followed up. Further methodological details about the 2015 cohort can be visualized in Appendix Figure and found in the article by Hallal et al. 2018.

4-year follow up study – Outcome variable

The 48-month assessment fieldwork was conducted at the clinic from Federal University of Pelotas Epidemiological Research Center, where clinical evaluations were performed, and questionnaires were applied using REDcap software as the instrument for data collection (Harris et al. 2009). Oral health clinical examination was conducted by dentists, previously

trained and calibrated, to investigate dental caries and other clinical conditions. The intra- and inter-examiner agreement for dental caries was assessed by weighted kappa, considering the dental surface as the unit of analysis. To participate in the fieldwork the kappa obtained must be equal to or greater than 0.7. The mean inter-examiner kappa agreement of our study for dental caries was 0.9076 (0.8339-0.9568).

The outcome of this study was early childhood dental caries, assessed using the International Caries Detection and Assessment System (ICDAS) (Pitts et al. 2017). It was considered the merged ICDAS classification (Pitts et al. 2017) which classifies the tooth surface for the presence of dental caries into four categories as follows: 0. No evidence of caries; A. Initial caries; B. Moderate caries; C. Extensive caries. The ICDAS also separately classified tooth surface for the presence of dental restoration. Other three codes were included in both assessments (dental caries and restorations): 97. Missing surface due to tooth decay; 98. Missing surface due to other reasons; 99. Unruptured tooth surface. For analysis purposes, the dmfs index variable was created from the ICDAS as follow: Decayed surface (d) included Moderate caries and Extensive caries categories (once initial lesion involve only enamel and it is not considered in dmfs index) (WHO 2013); Missing surface (m) included Missing surface due to tooth decay category; and Filled surface (f). The dmfs index variable was considered in analysis models in two ways including presence of early childhood caries (ECC) (no [dmfs =0] and yes [dmfs ≥ 1]) and severity of the ECC (count variable considering number of tooth surfaces decayed, missed and filled).

Exposure variables

As exposure variables, two maternal depressive symptoms trajectories were created (Screening and Diagnosis of depression), from the scores obtained in the Portuguese version of the Edinburgh Postnatal Depression Scale (EPDS) applied in four moments of the cohort study (antenatal, 3-, 12- and 24-months follow ups). The EPDS assesses the presence and intensity of depressive symptoms in the previous week. A score greater than or equal to 10 was used as a cutoff point for screening of depression, and a score greater than or equal to 13 was used as a cutoff point to define clinically relevant symptoms of depression (diagnosis) (Santos et al. 2007). The trajectories were created using Group-based trajectory models considering the four points of collection as aforementioned. Maximum likelihood of the quasi-Newton method were the parameters used to determine the models (Jones and Nagin 2012). The model selection method considers the estimation of the latent number of categories and the order of the polynomial for each latent trajectory. The final number of trajectories was established when the

sequential comparisons of the Bayesian information criterion (BIC) and the adjusted BIC between the model with k and $k + 1$ trajectories did not result in any more substantial difference in the BIC value. The BIC analysis supported a model of 2 trajectory groups for both cut-off points selected, being mothers classified as low and high depression trajectory from antenatal to 24 mo.

Covariables

The covariables used in this study included potential confounders on the association between maternal depressive symptoms and early childhood caries. Variables were collected through questionnaires applied in this cohort at the child's birth. For maternal education was considered the completed schooling years of mothers and categorized into 0-4, 5-8, 9-11, and 12+ (years). Maternal age was collected in years and classified into four categories: < 19, 19-24, 25-34, and 35+ (years). Familiar income was collected in continuous way in Brazilian real (BRL) and categorized in quintiles (1st-lowest quintile and; 5th- highest quintile).

Statistical analysis

Data were analyzed with the statistical software Stata 16.0. Descriptive analysis was performed to evaluate the relative and absolute frequencies of the variables of interest. Associations between variables were tested using the chi-squared test for dichotomous variables and the linear trend chi-squared test for ordinal variables. Poisson regression models with robust variance was used to identify the total effect of maternal depressive symptoms trajectories on occurrence of the ECC in their children at 48 months of age. A Direct Acyclic Graph (DAG) was developed to illustrate the relationships between exposure, outcome, and confounding factors (Figure 1). All associations were adjusted by covariables (maternal age, maternal education and familiar income), considering the DAG. For all analysis a confidence level of 95% was considered. Two effect measures were obtained depending on the outcome variable: Risk Ratios for ECC experience (dichotomous) and Rate Ratios for ECC severity (discrete).

Ethics aspects

This project was approved by the Research Ethics Committee of the School of Physical Education from the Federal University of Pelotas, under protocol number 717.271. To participate of the follow ups, all legal guardians or parents had to sign the informed consent form, where all information about the research was available, emphasizing that participation was voluntary, ensuring anonymity and confidentiality of participants.

Results

A total of 3,645 children were included in this study, representing a response rate of 91.1% considering the eligible population at 48 months follow up ($n = 4,010$ children; 217 were losses, 139 refusals and 9 missing data related to the outcome). Table 1 shows the descriptive analysis of the sample according to the variables considered in this study and provides a comparison between the population assessed at 48 months follow-up and those included on Oral Health Sub-study. There were no differences between the samples for the tested variables. For depression variables, considering screening cutoff, almost 30% (29.2%; $n=1,063$) of mothers presented a high trajectory of depression symptoms; and almost one-fifth (18.84%; $n=686$) of mothers presented a high trajectory of depression diagnosis ECC was observed in 26.7% ($n=973$) of children at 48 months.

Table 2 presents the results of bivariate analysis of association between exposures and ECC. It was possible to observe that the incidence of ECC was greater in children from younger mothers, with less completed schooling years, and with lower familiar income ($p < 0.001$). In addition, the mean number of surfaces affected by ECC increased as the mother's age, completed schooling years, and familiar income decreased. Among the maternal depressive symptoms trajectories, children from mothers with high depressive symptoms trajectories (screening and diagnosis) presented both a higher incidence and higher number of surfaces affected by ECC ($p < 0.001$).

The results of crude and adjusted Poisson regression models for presence of ECC and severity of ECC are presented in Table 3 and 4, respectively. Multivariate analysis showed that both ECC and severity of dental caries at 48 months of age were associated with maternal depressive symptoms trajectories. After adjustments, the severity of dental caries lost their association with screening of depression.

Table 3 shows presence of ECC as the outcome. Trajectory for positive screening of depression and for depression diagnosis were associated to presence of ECC. Children whose mothers presented high trajectory for screening and for diagnosis of depression presented 1.14 (RR= 1.14; 95% CI 1.02-1.28) and 1.19 (RR= 1.19; 95% CI 1.05-1.35) higher risk of having at least one surface affected by dental caries at 48 months, respectively, when compared to children whose mothers presented low depression trajectory for both screening and diagnosis of depression.

Table 4 shows severity of ECC as the outcome. Both Trajectories for positive screening of depression and for depression diagnosis were associated to severity of ECC in crude models. After adjustments, the association between screening for depression trajectory and the outcome

was vanished. However, children whose mothers presented high trajectory for diagnosis of depression had mean number of surfaces affected by caries 26% higher (RR= 1.26; 95% CI 1.02-1.54) compared to children whose mothers presented low trajectory for diagnosis of depression.

Discussion

This is the first population-based birth cohort study that investigated longitudinally the effect of the occurrence of maternal depressive disorders in the first thousand days of the child's life, on the incidence of early childhood dental caries at 48 months of age, showing that high depression trajectories in this period was associated with increased risk for early childhood dental caries at 48 months of age. Our findings highlight the importance of maternal mental health in this stage known as "Golden Period" for children's oral health (Howard et al. 2014). These results are in line with another research published in 2020, which found that children with a maternal history of mental disorders had a greater risk of having dental caries requiring treatment in hospital, compared to children with no maternal history of mental disorders, suggesting that mothers with mental disturbs and their child have to be monitored in this period (Auger et al. 2020).

It is important to highlight that there are some hypothetical ways that may explain the relationship between maternal depression and early childhood dental caries. Considering that mothers have a fundamental role in the development of the child's habits (Weinberg and Tronick 1998), it is expected that mothers with depressive disorders, can have difficulties to deal with their child's health habits since the exposure to stressful events negatively affects our behaviors and habits in health. In addition, evidence suggests that maternal stress and depression is connected to health-related behaviors that impacts child's general (Nair et al. 2003) and oral health (Quiñonez et al. 2001; Wendt et al. 1995).

Furthermore, it is important to highlight that the mother plays an important role in the child's development and in the acquisition and maintenance of healthy habits, since mothers are the main caregivers during the first thousand days of offspring's life and it is known that in this period the child's habits will be formed, remaining throughout life (WHO 2007). Taking this in account, it is plausible that mothers with psychological problems may have difficulties in mother-child interaction and in having proper child care, affecting child's oral health (Souza et al. 2006). Earlier studies demonstrated that mothers submitted to stress episodes are more likely to neglect their child's health (Cadzow et al. 1999; Whitbeck et al. 1997). In this way,

mothers that have difficulties in provide proper childcare, probably contribute for a poor child's oral health.

The association between maternal depression trajectories and dental caries reinforces the importance of implementing an integrated strategy that looks for controlling common risk factors among diseases, instead of developing strategies that focus on only one disease, e.g., on dental caries (Watt et al. 2019). Although dental caries can be prevented, it is worthy to mention that currently, Dentistry is not being able to achieve marked population oral health gain. In this way, a broader approach addressing risk factors, for example, prenatal care, is crucial for promoting the mental well-being of pregnant and postpartum women (Alexander and Kotelchuck 2001) and consequently preventing dental caries in their children.

It is also important to reinforce that maternal depression in antenatal and perinatal period is a major public health problem worldwide per se, with consequences on children's development and health (Weinberg and Tronick 1998; Goodman and Gotlib 1999; Tripathy 2020). Early childhood dental caries is just one more of the unwanted outcomes of maternal depression on children. Promotion of maternal mental health during the Golden Period can impact positively in children's life in short and long term. Generally, maternal mental health problems are undiagnosed and untreated because many of the symptoms are considered common or a natural consequence of pregnancy and puerperium or because the stigma of mental disorders in society. To tackle this problem, strategies should include early diagnosis in pregnancy/puerperium, educational programs to mothers and families and treatment of the condition. There are different public health approaches to deal with maternal mental health available elsewhere (Tripathy 2020).

Another important finding was that the ECC was greater in children from younger mothers, with less completed schooling years, and which had lower familiar income. In addition, the mean of ECC increased as the mother's age, completed schooling years, and familiar income decreased. As socioeconomics has a huge influence in most health outcomes (Marmot 2005), it is not surprisingly an association between socioeconomic status and incidence of caries in our study population. Moreover, individuals with low educational levels and familiar income tend to have less access to oral health service and more dental caries (Peres et al. 2007; Camargo et al. 2010).

Furthermore, it is worthy to mention that this study was developed using a robust and well-designed methodology and accompanied a representative sample of mothers in the critical period of the first thousand days of baby's life. Although depression was assessed using a questionnaire, without clinical diagnoses which is the gold standard, Edinburgh Postnatal

Depression Scale (EPDS) is the most used instrument for screening for antenatal and perinatal depression (Bhat et al. 2022; Levis et al. 2020). In addition, the Brazilian version of this instrument was validated in 2004 Pelotas Birth Cohort (Santos et al. 2007), in a population with the same characteristics of our sample, reinforcing internal validity of our findings. Data on depression was collected in four moments of the first thousand days of life, allowing to establish solid trajectories of depression in this period. Two cut-off points were used to increase sensitivity of our findings, both traditionally used for screening of depression and to identification of mothers with higher symptom levels (Bhat et al. 2022; Levis et al. 2020). In addition, the outcome was collected 24 months later, which reinforces that exposure preceded the outcome, allowing to establish causal inference. However, considering the observational design of this study and taking into account the possibility of some variables have not been measured, it is possible that some residual confounding could be present, which is a limitation of our study.

Conclusions

Maternal depression trajectories from pregnancy to 24 months increased the risk for early childhood dental caries at 48 months of age. It was observed that children from mothers with high depression trajectory had higher risk of having early childhood caries compared to children from mothers with low depression trajectory. These findings reinforce the need of implementing an integrated health strategy, patient-centered, and addressing common risk factors among diseases for preventing caries disease and other conditions at a population level. Early detection and treatment of maternal mental disorders should be considered of high priority in health services.

Acknowledgments

This article is based on data from the study "Pelotas Birth Cohort, 2015" conducted by Postgraduate Program in Epidemiology at Universidade Federal de Pelotas, with the collaboration of the Brazilian Public Health Association (ABRASCO). The first phases of the 2015 Pelotas (Brazil) Birth Cohort was funded by the Wellcome Trust (095582). Funding for specific follow-up visits was also received from the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (454796/2014-5 and 426230/2018-3) and Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) (FAPERGS/CNPQ PRONEX 12/2014 (16.0471-4) and Children's Pastorate sponsored follow-up at twenty-four months; and FAPERGS – PPSUS and the Bernard van Leer Foundation (BRA-2018-178) for the 4-year

follow-up. This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Finance Code 001. MB Corrêa, FF Demarco, MF Silveira, PC Hallal AH Dâmaso, FC Barros are supported by the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq), Brazil.

Author contributions

Author 1: Contributed to data acquisition and interpretation, drafted and critically revised the manuscript.

Author 2: Contributed to design, performed all statistical analysis and critically revised the manuscript.

Author 3: Contributed to conception and critically revised the manuscript.

Author 4: Contributed to conception and critically revised the manuscript.

Author 5: Contributed to conception and critically revised the manuscript.

Author 6: Contributed to conception and critically revised the manuscript.

Author 7: Contributed to conception, drafted and critically revised the manuscript.

Author 8: Contributed to conception, design, performed all statistical analysis, data interpretation, drafted and critically revised the manuscript.

All authors gave their final approval and agree to be accountable for all aspects of the work. The authors state that there are no potential conflicts of interest that could have inappropriately influenced their work.

Figure Legends

Figure 1. Direct Acyclic Graph illustrating the relationships between exposure, outcome, and confounding factors.

References

- Alexander GR, Kotelchuck M. 2001. Assessing the role and effectiveness of prenatal care: History, challenges and directions for future research. *Public Health Rep.* 116(4):306–316.
- Auger N, Low N, Lee G, Lo E, Nicolau B. 2020. Maternal Mental Disorders before Delivery and the Risk of Dental Caries in Children. *Caries Res.* 54(3):242-249.
- Baidal JAW, Locks LM, Cheng ER, Blake-Lamb TL, Perkins ME, Taveras EM. 2016. Risk factors for childhood obesity in the first 1,000 days: a systematic review. *Am J Prev Med.* 50(6):761-779.
- Bhat A, Nanda A, Murphy L, Ball AL, Fortney J, Katon J. 2022. A systematic review of screening for perinatal depression and anxiety in community-based settings. *Arch Womens Ment Health.* 25:33-49.
- Cademartori MG, Gastal MT, Nascimento GG, Demarco FF, Correa MB. 2018. Is depression associated with oral health outcomes in adults and elders? A systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Investig.* 22(8):2685-2702.
- Cadzow SP, Armstrong KL, Fraser JA. 1999. Stressed parents with infants: reassessing physical abuse risk factors. *Child Abuse Negl.* 23(9):845-853.
- Camargo MBJ, Dumith SC, Barros AJD. 2010. Regular use of dental care services by adults: patterns of utilization and types of services. *Public Health Rep.* 25(9):1894–1906.
- Eberhard-Gran M, Eskild A, Tambs K, Samuelsen SO, Opjordsmoen S. 2002. Depression in postpartum and non-postpartum women: prevalence and risk factors. *Acta Psychiatr Scand.* 106(6):426–433.
- Flick LH, Cook CA, Homan SM, McSweeney M, Campbell C, Parnell L. 2006. Persistent tobacco use during pregnancy and the likelihood of psychiatric disorders. *Am J Public Health.* 96(10):1799– 1807.

Glass T, Mcatee M. 2006. Behavioral science at the crossroads in public health: extending horizons, envisioning the future. *Soc Sci Med.* 62(7):1650-1671.

Goodman SH, Gotlib IH. 1999. Risk for psychopathology in the children of depressed mothers: a developmental model for understanding mechanisms of transmission. *Psychol Rev.* 106(3):458-490.

Hallal PC, Bertoldi AD, Domingues MR, da Silveira MF, Demarco FF, da Silva I, Barros FC, Victora CG, Bassani DG. 2018. Cohort profile: the 2015 Pelotas (Brazil) birth cohort study. *Int J Epidemiol.* 47(4):1048-1048h.

Harris PA, Taylor R, Thielke R, Payne J, Gonzalez N, Conde JG. 2009. Research electronic data capture (REDCap)—a metadata-driven methodology and workflow process for providing translational research informatics support. *J Biomed Inform.* 42(2):377-381.

Howard LM, Megnin-Viggars O, Symington I, Pilling S. 2014. Antenatal and postnatal mental health: summary of updated NICE guidance. *Bmj.* 349:7394-g7394.

[HSCC] Health and Social Care Comitee. 2019. First 1000 Days of Life: Thirteenth Report of Session 2017-19. London (England): House of Commons.

Jones BL, Nagin DS. 2012. A Stata plugin for estimating group-based trajectory models. Pittsburgh (USA): Heinz College Research.

Kurki T, Hiilesmaa V, Raitasalo R, Mattila H, Ylikorkala O. 2000. Depression and anxiety in early pregnancy and risk for preeclampsia. *Obstet Gynecol.* 95:487–490.

Levis B, Negeri Z, Sun Y, Benedetti A, Thombs BD. 2020. Accuracy of the Edinburgh Postnatal Depression Scale (EPDS) for screening to detect major depression among pregnant and postpartum women: systematic review and meta-analysis of individual participant data. *BMJ.* 371:4022-m4022.

Marcenes W, Kassebaum NJ, Bernabe E, Flaxman A, Naghavi M, Lopez A, Murray CJL. 2013. Global burden of oral conditions in 1990–2010. A systematic review. *J Dent Res.* 92(7): 592–597.

Marmot M. 2005. Social determinants of health inequalities. *The Lancet.* 365(9464):1099–1104.

Masterson EE, Sabbah W. 2015. Maternal allostatic load, caretaking behaviors, and child dental caries experience: a cross-sectional evaluation of linked mother–child data from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Public Health.* 105(11):2306–2311.

Moore TG, Arefadib N, Deery A, West S. 2017. *The First Thousand Days: An Evidence Paper.* Parkville (Australia): Murdoch Children’s Research Institute.

Nair P, Schuler ME, Black MM, Kettinger L, Harrington D. 2003. Cumulative environmental risk in substance abusing women: early intervention, parenting stress, child abuse potential and child development. *Child Abuse Negl.* 27(9):997-1017.

Peres MA, Peres KG, Barros AJD, Victora CG. 2007. The relation between family socioeconomic trajectories from childhood to adolescence and dental caries and associated oral behaviours. *J Epidemiol Community Health.* 61(2):141–145.

Pitts NB, Zero DT, Marsh PD, Ekstrand K, Weintraub JA, Ramos-Gomez F, Tagami J, Twetman S, Tsakos G, Ismail A. 2017. Dental caries. *Nat Rev Dis Primers.* 3(17030):1-16.

Quiñonez RB, Keels MA, Vann WF Jr, McIver FT, Heller K, Whitt JK. 2001. Early childhood caries: analysis of psychosocial and biological factors in a high-risk population. *Caries Res.* 35(5):376-383.

Santos IS, Matijasevich A, Tavares BF, Barros AJ, Botelho IP, Lapolli C, Magalhães PVS, Barbosa APPN, Barros FC. 2007. Validation of the Edinburgh Postnatal Depression Scale (EPDS) in a sample of mothers from the 2004 Pelotas Birth Cohort Study. *Cad Saude Publica.* 23(11):2577-2588.

Souza MAA, Vianna MIP, Cangussu MCT. 2006. Disfunção familiar referida pela presença de depressão materna e/ou alcoolismo na família e ocorrência de cárie dentária em crianças de dois e três anos de idade. *Rev Bras Saude Mater Infantil*. 6(3):309-317.

Stein A, Pearson RM, Goodman SH, Dphil ER, Rahman A, McCallum M, Howard LM, Pariante CM. 2014. Effects of perinatal mental disorders on the fetus and child. *The Lancet*. 384(9956):1800–1819.

Tripathy P. 2020. A public health approach to perinatal mental health: Improving health and wellbeing of mothers and babies. *J Gynecol Obstet Hum Reprod*. 49(6):101747.

Vandenbroucke JP. 2007. STROBE Initiative. Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE): explanation and elaboration. *Ann Intern Med*. 147:163-194.

Watt RG, Daly B, Allison P, Macpherson LM, Venturelli R, Listl S, Weyant RJ, Mathur MR, Guarnizo-Herreno CC, Celeste RK, et al. 2019. Ending the neglect of global oral health: time for radical action. *The Lancet*. 394(10194):261-272.

Weinberg MK, Tronick EZ. 1998. The impact of maternal psychiatric illness on infant development. *J Clin Psychiatry*. 59(Suppl 2):53–61.

Wendt LK, Svedin CG, Hallonsten AL, Larsson IB. 1995. Infants and toddlers with caries. Mental health, family interaction, and life events in infants and toddlers with caries. *Swed Dent J*. 19(1-2):17-27.

Whitbeck LB, Simons RL, Conger RD, Wickrama K, Ackley KA, Elder GH Jr. 1997. The effects of parents' working conditions and family economic hardship on parenting behaviors and children's self-efficacy. *Soc Psychol Q*. 60(4):291-303.

Wisner KL, Chambers C, Sit DK. 2006. Postpartum depression: a major public health problem. *Jama*. 296(21):2616-2618.

[WHO] World Health Organization. **Oral health surveys: basic methods.** World Health Organization, 2013.

[WHO] World Health Organization. 2017. WHO recommendations on maternal health: guidelines approved by the WHO Guidelines Review Committee. Geneva (Switzerland): World Health Organization.

Wulsin LR. 2004. Is depression a major risk factor for coronary disease? A systematic review of the epidemiologic evidence. *Harv Rev Psychiatry* 12(2):79–93.

Table 1. Descriptive analysis of sample of the oral health sub-study and of the Pelotas 2015 birth cohort at 48 months follow up. Pelotas, RS, Brazil.

	Pelotas 2015 birth cohort (n = 4,010)	Oral health sub-study (n = 3,645)	p-value
Variable/Category	n (%)	n (%)	
<i>Maternal age at birth (years)*</i>			0.982
< 19	406 (10.1)	363 (10.0)	
19 – 24	1,129 (28.2)	1,040 (28.5)	
25 – 34	1,886 (47.0)	1,712 (47.0)	
35+	588 (14.7)	530 (14.5)	
<i>Maternal education at birth (years)*</i>			0.968
0 – 4	353 (8.8)	315 (8.6)	
5 – 8	1,044 (26.0)	936 (25.7)	
9 – 11	1,394 (34.8)	1,283 (35.2)	
12+	1,218 (30.4)	1,110 (30.5)	
<i>Familiar income at birth (quintiles)*</i>			0.976
1 (low)	789 (19.7)	710 (19.5)	
2	819 (20.4)	748 (20.5)	
3	808 (20.2)	752 (20.6)	
4	809 (20.2)	738 (20.3)	
5 (high)	783 (19.5)	695 (19.1)	
<i>Maternal depressive symptoms trajectories</i>			
Screening of depression (cut off point: 10)			0.972
Low	2,842 (70.9)	2,582 (70.8)	
High	1,168 (29.1)	1,063 (29.2)	
Diagnosis of depression (cut off point: 13)			0.927
Low	3,252 (81.1)	2,959 (81.2)	
High	758 (18.9)	686 (18.8)	
<i>Early Childhood Caries at 48 months of age</i>			
No	--	2,672 (73.3)	
Yes	--	973 (26.7)	

*Numbers may vary due missing data.

Table 2. Distribution of early childhood caries according to the adjustment variables and maternal depressive trajectories in Pelotas 2015 birth Cohort at 48 months of age. Pelotas, RS, Brazil.

Variable/Category	Early Childhood Caries		P Value	Mean (SD)
	No n (%)	Yes n (%)		
<i>Maternal age at birth (years)*</i>			< 0.001	
< 19	219 (60.3)	144 (39.7)		2.9 (6.2)
19 - 24	712 (68.5)	328 (31.5)		2.1 (5.3)
25 - 34	1,318 (77.0)	394 (23.0)		1.3 (3.8)
35+	423 (79.8)	107 (20.2)		1.3 (4.0)
<i>Maternal education at birth (years)*</i>			< 0.001	
0 – 4	189 (60.0)	126 (40.0)		2.9 (5.8)
5 – 8	593 (63.4)	343 (36.6)		2.9 (6.5)
9 – 11	945 (73.7)	338 (26.3)		1.5 (3.9)
12+	944 (85.1)	166 (14.9)		0.6 (2.1)
<i>Familiar income at birth (quintiles)*</i>			< 0.001	
1 (low)	453 (63.8)	257 (36.2)		2.6 (5.7)
2	505 (67.5)	243 (32.5)		2.2 (5.5)
3	549 (73.0)	203 (27.0)		1.6 (3.9)
4	572 (77.5)	166 (22.5)		1.4 (4.5)
5 (high)	591 (85.0)	104 (15.0)		0.7 (2.3)
<i>Maternal depressive symptoms trajectories</i>				
Screening of depression (cut off point: 10)			< 0.001	
Low	1,958 (75.8)	624 (24.2)		1.5 (4.4)
High	714 (67.2)	349 (32.8)		2.2 (5.1)
Diagnosis of depression (cut off point: 13)			< 0.001	
Low	2,231 (75.4)	728 (24.6)		1.5 (4.4)
High	441 (64.3)	245 (35.7)		2.5 (5.5)

*Linear trend chi-square test.

Table 3. Crude^c and adjusted^a relative risk (RR) of ECC at 48 months of age by maternal depressive symptoms trajectories in Pelotas 2015 birth Cohort. Pelotas, RS, Brazil. Poisson regression analysis (n = 3,643 children).

Variable/Category	Crude analysis RR (95% CI)	P value ^c	Adjusted analysis RR (95% CI)	P value ^a
Maternal depressive symptoms trajectories from pregnancy to 24 mo.				
<i>Screening of depression</i> ¹ (ref = Low)				
High	1.35 (1.21 – 1.51)	<0.001	1.14 (1.02 – 1.28)	0.018
<i>Diagnosis of depression</i> ² (ref = Low)				
High	1.45 (1.28 – 1.63)	<0.001	1.19 (1.05 – 1.35)	0.005

¹(cut off point: 10); ²(cut off point: 13).

* RR: relative risk; CI: confidence interval; Ref: reference.

** Adjusted by maternal age, maternal education, familiar income.

Table 4. Crude^c and adjusted^a rate ratios (RR) of severity of ECC at 48 months of age by maternal depressive symptoms trajectories in Pelotas 2015 birth Cohort. Pelotas, RS, Brazil. Poisson regression analysis (n = 3,643 children).

Variable/Category	Crude analysis RR (95% CI)	P value ^c	Adjusted analysis RR (95% CI)	P value ^a
Maternal depressive symptoms trajectories from pregnancy to 24 mo.				
<i>Screening of depression</i> ¹ (ref = Low)				
High	1.51 (1.26 – 1.81)	<0.001	1.16 (0.96 – 1.39)	0.114
<i>Diagnosis of depression</i> ² (ref = Low)				
High	1.70 (1.40 – 2.07)	<0.001	1.26 (1.02 – 1.54)	0.027

¹ (cut off point: 10); ² (cut off point: 13).

* RR: rate ratio; CI: confidence interval; Ref: reference.

** Adjusted by maternal age, maternal education, familiar income.

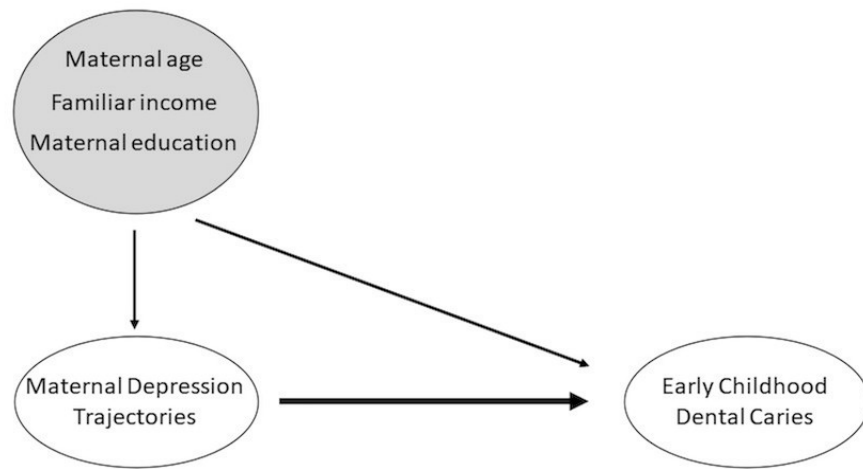
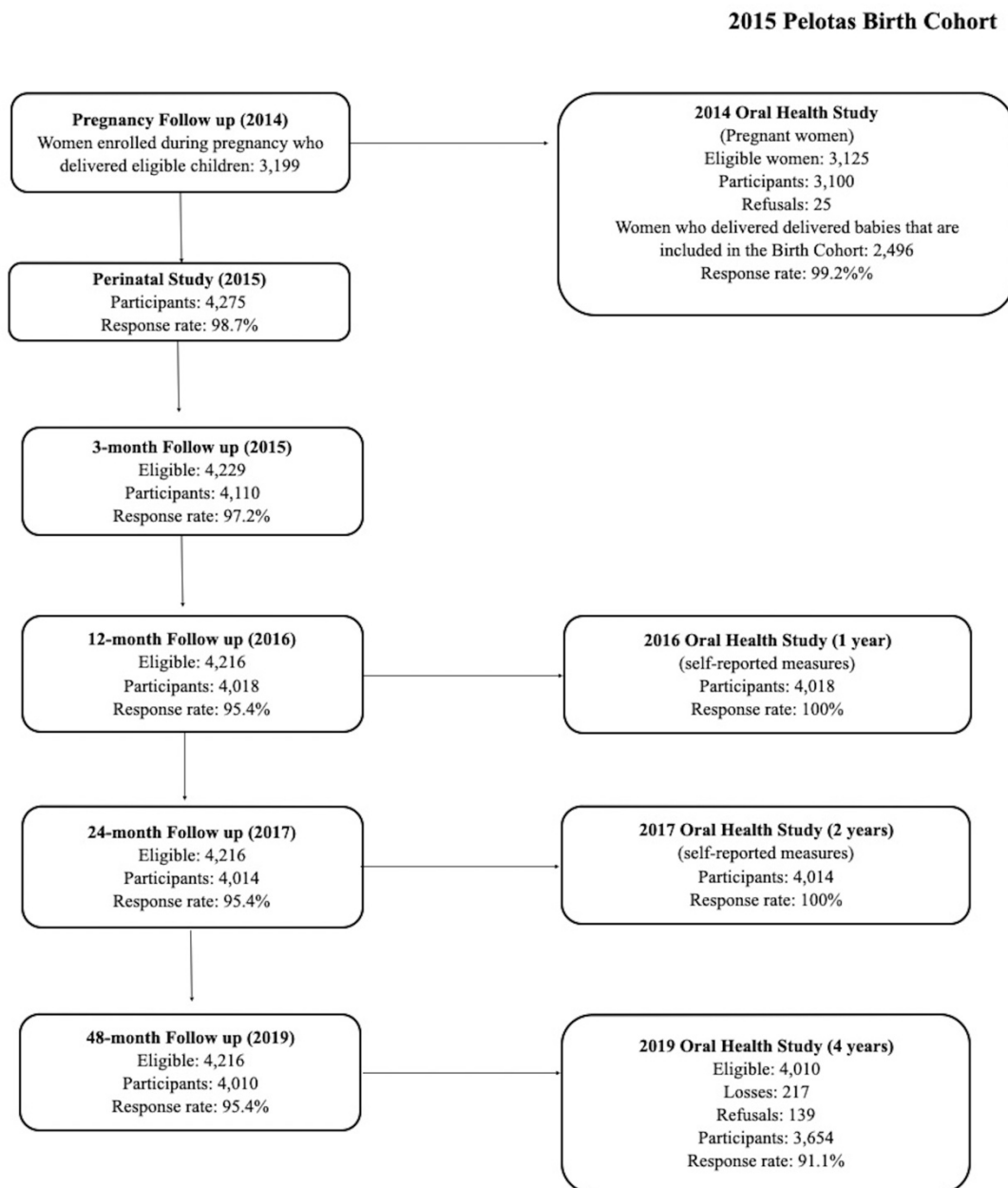


Figure 1. Direct Acyclic Graph illustrating the relationships between exposure, outcome, and confounding factors.

Supplementary Material

Supplementary Figure



Appendix Figure. Flowchart of 2015 Pelotas Birth Cohort participants.

STROBE Statement—Checklist of items that should be included in reports of *cohort studies*

	Item No	Recommendation	Page
Title and abstract	1	(a) Indicate the study’s design with a commonly used term in the title or the abstract	1
		(b) Provide in the abstract an informative and balanced summary of what was done and what was found	1
Introduction			
Background/rationale	2	Explain the scientific background and rationale for the investigation being reported	2
Objectives	3	State specific objectives, including any prespecified hypotheses	2
Methods			
Study design	4	Present key elements of study design early in the paper	3
Setting	5	Describe the setting, locations, and relevant dates, including periods of recruitment, exposure, follow-up, and data collection	3/4
Participants	6	(a) Give the eligibility criteria, and the sources and methods of selection of participants. Describe methods of follow-up	3/4
		(b) For matched studies, give matching criteria and number of exposed and unexposed	-
Variables	7	Clearly define all outcomes, exposures, predictors, potential confounders, and effect modifiers. Give diagnostic criteria, if applicable	3/4/5
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	3/4/5
Bias	9	Describe any efforts to address potential sources of bias	-
Study size	10	Explain how the study size was arrived at	3
Quantitative variables	11	Explain how quantitative variables were handled in the analyses. If applicable, describe which groupings were chosen and why	5
Statistical methods	12	(a) Describe all statistical methods, including those used to control for confounding	5
		(b) Describe any methods used to examine subgroups and interactions	5
		(c) Explain how missing data were addressed	-
		(d) If applicable, explain how loss to follow-up was addressed	-
		(e) Describe any sensitivity analyses	-
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	5
		(b) Give reasons for non-participation at each stage	-
		(c) Consider use of a flow diagram	Fig. 1
Descriptive data	14*	(a) Give characteristics of study participants (eg demographic, clinical, social) and information on exposures and potential confounders	5 and Table 1
		(b) Indicate number of participants with missing data for each variable of interest	6 and Fig. 1
		(c) Summarise follow-up time (eg, average and total amount)	6
Outcome data	15*	Report numbers of outcome events or summary measures over time	5/6
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	5/6 and, Table 3 and 4

		(b) Report category boundaries when continuous variables were categorized	4/5 and Table 1
		(c) If relevant, consider translating estimates of relative risk into absolute risk for a meaningful time period	-
Other analyses	17	Report other analyses done—eg analyses of subgroups and interactions, and sensitivity analyses	5/6
Discussion			
Key results	18	Summarise key results with reference to study objectives	6/7
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	8/9
Interpretation	20	Give a cautious overall interpretation of results considering objectives, limitations, multiplicity of analyses, results from similar studies, and other relevant evidence	7/8/9
Generalisability	21	Discuss the generalisability (external validity) of the study results	8/9
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	10

*Give information separately for exposed and unexposed groups.

Note: An Explanation and Elaboration article discusses each checklist item and gives methodological background and published examples of transparent reporting. The STROBE checklist is best used in conjunction with this article (freely available on the Web sites of PLoS Medicine at <http://www.plosmedicine.org/>, Annals of Internal Medicine at <http://www.annals.org/>, and Epidemiology at <http://www.epidem.com/>). Information on the STROBE Initiative is available at <http://www.strobe-statement.org>.

6 Conclusions

In view of the above, it is possible to conclude that maternal depression trajectories in the first 1,000 days of the child's life affects child's oral health and is associated with increased caries risk at 48 months of age, agreeing with our initial hypothesis. In our study, it was observed that children from mothers with high depression trajectory had higher risk of having early childhood caries compared to children from mothers with low depression trajectory. It was also demonstrated that the mean of early childhood caries increased as the mother's age, completed schooling years, and familiar income decreased.

These findings reinforce the need of implementing an integrated health strategy, patient-centered, and addressing common risk factors among diseases for preventing caries disease and other conditions at a population level. Early detection and treatment of maternal mental disorders should be considered of high priority in health services.

References

- ALEXANDER, Greg R.; KOTELCHUCK, Milton. Assessing the role and effectiveness of prenatal care: history, challenges, and directions for future research. **Public health reports**, v. 116, n. 4, p. 306, 2001.
- ALKARIMI, Heba A. et al. Dental caries and growth in school-age children. **Pediatrics**, v. 133, n. 3, p. e616-e623, 2014.
- AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRIC DENTISTRY. American Academy of Pediatric Dentistry reference manual 2014–2015. **Pediatric Dentistry**, v. 36, n. 6, p. 1-140, 2014.
- AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. Diagnostic and statistical manual of mental disorders (5th ed.; DSM-V). **Arlington**, 2013.
- AUGER, Nathalie et al. Maternal Mental Disorders before Delivery and the Risk of Dental Caries in Children. **Caries Research**, v. 54, n. 3, p. 242-249, 2020.
- BAIDAL, Jennifer A. Woo et al. Risk factors for childhood obesity in the first 1,000 days: a systematic review. **American journal of preventive medicine**, v. 50, n. 6, p. 761-779, 2016.
- BARROS, Aluísio Jardim et al. Child development in a birth cohort: effect of child stimulation is stronger in less educated mothers. **International Journal of Epidemiology**, v. 39, n. 1, p. 285-294, 2009.
- BHAT, Amritha et al. A systematic review of screening for perinatal depression and anxiety in community-based settings. **Archives of Women's Mental Health**, p. 1-17, 2021.
- BLAKE-LAMB, Tiffany et al. Interventions for childhood obesity in the first 1,000 days: a systematic review. **American journal of preventive medicine**, v. 50, n. 6, p. 780-789, 2016.
- BRAMBILLA, Paolo et al. Predictors of blood pressure at 7–13 years: The “new millennium baby” study. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 26, n. 8, p. 706-712, 2016.
- BRENNAN, Patricia A. et al. Chronicity, severity, and timing of maternal depressive symptoms: relationships with child outcomes at age 5. **Developmental psychology**, v. 36, n. 6, p. 759, 2000.
- BRETT, Matthew; BAXENDALE, Sallie. Motherhood and memory: a review. **Psychoneuroendocrinology**, v. 26, n. 4, p. 339-362, 2001.
- BRUMMELTE, S.; GALEA, Liisa AM. Depression during pregnancy and postpartum: contribution of stress and ovarian hormones. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 34, n. 5, p. 766-776, 2010.

BROADBENT, J. M.; THOMSON, W. M.; POULTON, R. Trajectory patterns of dental caries experience in the permanent dentition to the fourth decade of life. **Journal of Dental Research**, v. 87, n. 1, p. 69-72, 2008.

CADEMARTORI, Mariana Gonzalez et al. Is depression associated with oral health outcomes in adults and elders? A systematic review and meta-analysis. **Clinical oral investigations**, v. 22, n. 8, p. 2685-2702, 2018.

CADZOW, Susan P.; ARMSTRONG, Kenneth L.; FRASER, Jennifer A. Stressed parents with infants: reassessing physical abuse risk factors. **Child abuse & neglect**, v. 23, n. 9, p. 845-853, 1999.

CAMARGO, Maria Beatriz J.; DUMITH, Samuel C.; BARROS, Aluísio JD. Regular use of dental care services by adults: patterns of utilization and types of services. **Cadernos de saúde pública**, v. 25, p. 1894-1906, 2009.

CAMPBELL, M. Karen. Biological, environmental, and social influences on childhood obesity. **Pediatric research**, v. 79, n. 1-2, p. 205, 2016.

CAMPBELL, Susan B. et al. The course of maternal depressive symptoms and maternal sensitivity as predictors of attachment security at 36 months. **Development and psychopathology**, v. 16, n. 2, p. 231-252, 2004.

COMMISSION ON SOCIAL DETERMINANTS OF HEALTH. Closing the gap in a generation: health equity through action on the social determinants of health. Final report of the commission on social determinants of health. **Final Report of the Commission on Social Determinants of Health**. Geneva, 2008.

DOS SANTOS COSTA, Francine et al. Parent-child interaction and stimulation in early life can be related to caries in primary dentition? Hypotheses from a life-course approach. **Medical Hypotheses**, v. 130, p. 109291, 2019.

DOS SANTOS PINTO, Gabriela et al. Maternal depression increases childhood dental caries: a cohort study in Brazil. **Caries research**, v. 51, n. 1, p. 17-25, 2017.

DYE, Bruce A.; AREVALO, Oscar; VARGAS, Clemencia M. Trends in paediatric dental caries by poverty status in the United States, 1988–1994 and 1999–2004. **International Journal of Paediatric Dentistry**, v. 20, n. 2, p. 132-143, 2010.

EBERHARD-GRAN, Malin et al. Depression in postpartum and non-postpartum women: prevalence and risk factors. **Acta Psychiatrica Scandinavica**, v. 106, n. 6, p. 426-433, 2002.

FELDENS, Carlos Alberto et al. Long-term effectiveness of a nutritional program in reducing early childhood caries: a randomized trial. **Community Dentistry and Oral Epidemiology**, v. 38, n. 4, p. 324-332, 2010.

FERNANDES, Michelle et al. The INTERGROWTH-21st Project Neurodevelopment Package: a novel method for the multi-dimensional assessment of neurodevelopment in pre-school age children. **PloS one**, v. 9, n. 11, p. e113360, 2014.

FINLAYSON, Tracy L. et al. Psychosocial factors and early childhood caries among low-income African-American children in Detroit. **Community dentistry and oral epidemiology**, v. 35, n. 6, p. 439-448, 2007.

FLICK, Louise H. et al. Persistent tobacco use during pregnancy and the likelihood of psychiatric disorders. **American Journal of Public Health**, v. 96, n. 10, p. 1799-1807, 2006.

FRASER, Abigail et al. Cohort profile: the Avon Longitudinal Study of Parents and Children: ALSPAC mothers cohort. **International journal of epidemiology**, v. 42, n. 1, p. 97-110, 2012.

GAPP, Katharina; BOHACEK, Johannes. Epigenetic germline inheritance in mammals: looking to the past to understand the future. **Genes, Brain and Behavior**, v. 17, n. 3, p. e12407, 2018.

GBD 2017 ORAL DISORDERS COLLABORATORS et al. Global, Regional, and National Levels and Trends in Burden of Oral Conditions from 1990 to 2017: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease 2017 Study. **Journal of Dental Research**, v. 99, n. 4, p. 362-373, 2020.

GBD 2019 MENTAL DISORDERS COLLABORATORS. Global, regional, and national burden of 12 mental disorders in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. **The Lancet Psychiatry**, v. 9, n. 2, p. 137-150, 2022.

GLASS, Thomas; MCATEE, Matthew. Behavioral science at the crossroads in public health: extending horizons, envisioning the future. **Social science & medicine**, v. 62, n. 7, p. 1650-1671, 2006.

GOODMAN, Sherryl H.; GOTLIB, Ian H. Risk for psychopathology in the children of depressed mothers: a developmental model for understanding mechanisms of transmission. **Psychological review**, v. 106, n. 3, p. 458, 1999.

GUTIÉRREZ-LOBOS, Karin et al. The influence of age on the female/male ratio of treated incidence rates in depression. **BMC psychiatry**, v. 2, n. 1, p. 1-8, 2002.

HA, Diep Hong et al. Fluoridated Water Modifies the Effect of Breastfeeding on Dental Caries. **Journal of Dental Research**, v. 98, n.7, p. 755-762, 2019.

HALLAL, Pedro C. et al. Cohort profile: the 2015 Pelotas (Brazil) birth cohort study. **International journal of epidemiology**, v. 47, n. 4, p. 1048-1048h, 2017.

HAMMARSTRÖM, Anne et al. Gender-related explanatory models of depression: A critical evaluation of medical articles. **Public health**, v. 123, n. 10, p. 689-693, 2009.

HANSON, Mark et al. The International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) recommendations on adolescent, preconception, and maternal nutrition: "Think Nutrition First". **International Journal of Gynecology & Obstetrics**, v. 131, p. S213-S253, 2015.

HARRIS, Paul A. et al. Research electronic data capture (REDCap)—a metadata-driven methodology and workflow process for providing translational research informatics support. **Journal of biomedical informatics**, v. 42, n. 2, p. 377-381, 2009.

HARVARD SCHOOL OF PUBLIC HEALTH. Childhood obesity prevention strategies: Assessing cost-effectiveness. Boston: **Harvard School of Public Health**, 2016.

HAYDEN, Ceara et al. Obesity and dental caries in children: a systematic review and meta-analysis. **Community Dentistry and Oral Epidemiology**, v. 41, n. 4, p. 289-308, 2013.

HEALTH AND SOCIAL CARE COMITEE. First 1000 Days of Life: Thirteenth Report of Session 2017-19. London (England): **House of Commons**, 2019.

HILLIER, Teresa A. et al. Childhood obesity and metabolic imprinting: the ongoing effects of maternal hyperglycemia. **Diabetes care**, v. 30, n. 9, p. 2287-2292, 2007.

HOLT, Katrina; KRAFT, Karen. Oral health and learning: when children's oral health suffers, so does their ability to learn. **Journal-Oklahoma Dental Association**, v. 97, n. 1, p. 24-25, 2005.

HOWARD, Louise M et al. Antenatal and postnatal mental health: summary of updated NICE guidance. **Bmj**, v. 349, p.7394-g7394, 2014.

HORTA, Bernardo L. et al. Evidence on the long-term effects of breastfeeding: systematic review and meta-analyses. **World Health Organization**, 2007.

HORTA, Bernardo L.; VICTORA, Cesar G. Long-term effects of breastfeeding. **Geneva: World Health Organization**, v. 74, 2013.

ISMAIL, Amid I. et al. Determinants of early childhood caries in low-income African American young children. **Pediatric dentistry**, v. 30, n. 4, p. 289-296, 2008.

JANZ, Kathleen F.; BURNS, Trudy L.; LEVY, Steven M. Tracking of activity and sedentary behaviors in childhood: the Iowa Bone Development Study. **American journal of preventive medicine**, v. 29, n. 3, p. 171-178, 2005.

JONES, B. L.; NAGIN, D. S. A STATA plugin for estimating group-based trajectory models. **Heinz College Research**, 2012.

KASSEBAUM, Nicholas 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.

KOLETZKO, Berthold et al. Long-term health impact of early nutrition: the power of programming. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 70, n. 3, p. 161-169, 2017.

- KUMAR, Santos et al. Parenting practices and children's dental caries experience: a structural equation modelling approach. **Community Dentistry and Oral Epidemiology**, v. 45, n. 6, p. 552-558, 2017.
- KURKI, Tapio et al. Depression and anxiety in early pregnancy and risk for preeclampsia. **Obstetrics & Gynecology**, v. 95, n. 4, p. 487-490, 2000.
- LEONG, Pamela Margaret et al. A systematic review of risk factors during first year of life for early childhood caries. **International Journal of Paediatric Dentistry**, v. 23, n. 4, p. 235-250, 2013.
- LEVIS, Brooke et al. Accuracy of the Edinburgh Postnatal Depression Scale (EPDS) for screening to detect major depression among pregnant and postpartum women: systematic review and meta-analysis of individual participant data. **bmj**, v. 371, 2020.
- MARCENES, Wagner et al. Global burden of oral conditions in 1990-2010: a systematic analysis. **Journal of dental research**, v. 92, n. 7, p. 592-597, 2013.
- MARMOT, Michael. Social determinants of health inequalities. **The lancet**, v. 365, n. 9464, p. 1099-1104, 2005.
- MASTERSON, Erin E.; SABBAH, Wael. Maternal allostatic load, caretaking behaviors, and child dental caries experience: a cross-sectional evaluation of linked mother–child data from the third National Health and nutrition examination survey. **American Journal of Public Health**, v. 105, n. 11, p. 2306-2311, 2015.
- MEDZHITOV, Ruslan. Origin and physiological roles of inflammation. **Nature**, v. 454, n. 7203, p. 428, 2008.
- MINISTRY OF HEALTH. Department of Primary Care. General Coordination of Food and Nutrition. Food Guide for children under 2 years. Version for public consultation. Brasília: **Ministry of Health**, 2018.
- MINISTRY OF HEALTH. Department of Primary Care. Obesity / Ministry of Health, Department of Health Care, Department of Primary Care. Brasília: **Ministry of Health**, 2006. (Notebooks of Primary Care, n. 12) (Series A. Standards and Technical Manuals).
- MOORE, Tim et al. The First Thousand Days: An Evidence Paper. Parkville, Victoria: **Centre for Community Child Health**, 2017.
- NAIR, Prasanna et al. Cumulative environmental risk in substance abusing women: early intervention, parenting stress, child abuse potential and child development. **Child abuse & neglect**, v. 27, n. 9, p. 997-1017, 2003.
- NETSI, Elena et al. Association of persistent and severe postnatal depression with child outcomes. **JAMA psychiatry**, v. 75, n. 3, p. 247-253, 2018.

OKEN, Emily et al. Gestational weight gain and child adiposity at age 3 years. **American journal of obstetrics and gynecology**, v. 196, n. 4, p. 322-322, 2007.

OKEN, Emily; LEVITAN, E. B.; GILLMAN, M. W. Maternal smoking during pregnancy and child overweight: systematic review and meta-analysis. **International journal of obesity**, v. 32, n. 2, p. 201, 2008.

OWENS, Judith et al. Insufficient sleep in adolescents and young adults: an update on causes and consequences. **Pediatrics**, v. 134, n. 3, p. e921-e932, 2014.

PERES, Karen Glazer et al. Impact of prolonged breastfeeding on dental caries: a population-based birth cohort study. **Pediatrics**, v. 140, n. 1, p. e20162943, 2017.

PERES, Marco A. et al. Oral diseases: a global public health challenge. **The Lancet**, v. 394, n. 10194, p. 249-260, 2019.

PETERSEN, Poul Erik et al. The global burden of oral diseases and risks to oral health. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 83, p. 661-669, 2005.

PIETROBELLI, Angelo et al. Nutrition in the first 1000 days: Ten practices to minimize obesity emerging from published science. **International journal of environmental research and public health**, v. 14, n. 12, p. 1491, 2017.

PITTS, Nigel B. et al. Dental caries. **Nature reviews Disease primers**, v. 3, p. 17030, 2017.

PITTS, Nigel B.; ZERO, Domenick T. White paper on dental caries prevention and management. **FDI World Dental Federation**, 2016.

QUINONEZ, Rocio Beatriz et al. Early Childhood Caries: analysis of psychosocial and biological factors in a high-risk population. **Caries research**, v. 35, n. 5, p. 376-383, 2001.

RIBEIRO, Nilza M.E.; RIBEIRO, Manoel A.S. Breastfeeding and early childhood caries: a critical review. **Jornal de pediatria**, v. 80, n. 5, p. s199-s210, 2004.

ROSEBOOM, Tessa. J.; WATSON, Erica D. The next generation of disease risk: are the effects of prenatal nutrition transmitted across generations? Evidence from animal and human studies. **Placenta**, v. 33, p. e40-e44, 2012.

RUDOLF, Mary. Predicting babies' risk of obesity. **Archives of disease in childhood**, v. 96, n. 11, p. 995-997, 2011.

SALONE, Lindsey Rennick; VANN JR, William F.; DEE, Deborah L. Breastfeeding: an overview of oral and general health benefits. **The Journal of the American Dental Association**, v. 144, n. 2, p. 143-151, 2013.

SANTOS, Iná S. et al. Validation of the Edinburgh Postnatal Depression Scale (EPDS) in a sample of mothers from the 2004 Pelotas Birth Cohort Study. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 23, p. 2577-2588, 2007.

SEGOVIA, Stephanie A.; VICKERS, M. H.; REYNOLDS, C. M. The impact of maternal obesity on inflammatory processes and consequences for later offspring health outcomes. **Journal of developmental origins of health and disease**, v. 8, n. 5, p. 529-540, 2017.

SEOW, W. Kim. Environmental, maternal, and child factors which contribute to early childhood caries: a unifying conceptual model. **International Journal of Paediatric Dentistry**, v. 22, n. 3, p. 157-168, 2012.

SHEIHAM, Aubrey; WATT, Richard Geddie. The common risk factor approach: a rational basis for promoting oral health. **Community Dentistry and Oral Epidemiology: Commentary**, v. 28, n. 6, p. 399-406, 2000.

SOARES, Maria Eliza et al. Influence of masticatory function, dental caries and socioeconomic status on the body mass index of preschool children. **Archives of oral biology**, v. 81, p. 69-73, 2017.

SOUZA, Marcos Augusto de Andrade; VIANNA, Maria Isabel Pereira; CANGUSSU, Maria Cristina Teixeira. Disfunção familiar referida pela presença de depressão materna e/ou alcoolismo na família e ocorrência de cárie dentária em crianças de dois e três anos de idade. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, v. 6, n. 3, p. 309-317, 2006.

STEIN, Alan et al. Effects of perinatal mental disorders on the fetus and child. **The Lancet**, v. 384, n. 9956, p. 1800-1819, 2014.

THAM, Rachel et al. Breastfeeding and the risk of dental caries: a systematic review and meta-analysis. **Acta Paediatrica**, v. 104, p. 62-84, 2015.

THE HOUSE OF COMMONS (UK). First 1000 days of life. Thirteenth Report of Session 2017-2019. **Health and Social Care Committee**, 2019.

TOMPSON, Martha C. et al. Maternal depression, maternal expressed emotion, and youth psychopathology. **Journal of abnormal child psychology**, v. 38, n. 1, p. 105-117, 2010.

TRIPATHY, Priyadarshini. A public health approach to perinatal mental health: Improving health and wellbeing of mothers and babies. **Journal of Gynecology Obstetrics and Human Reproduction**, v. 49, n. 6, p. 101747, 2020.

US DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES. Oral health in America: a report of the Surgeon General. **National Institute of Dental and Craniofacial Research**, 2000.

ÜSTÜN, T. Bedirhan et al. Global burden of depressive disorders in the year 2000. **The British journal of psychiatry**, v. 184, n. 5, p. 386-392, 2004.

VACHIRAROJPISAN, Thongchai et al. Early childhood caries in children aged 6–19 months. **Community dentistry and oral epidemiology**, v. 32, n. 2, p. 133-142, 2004.

VALAITIS, Ruta et al. A systematic review of the relationship between breastfeeding and early childhood caries. **Canadian Journal of Public Health**, v. 91, n. 6, p. 411-417, 2000.

VANDENBROUCKE, Jan P. et al. Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE): explanation and elaboration. **PLoS medicine**, v. 4, n. 10, p. e297, 2007.

VAN DER TAS, Justin T. et al. Social inequalities and dental caries in six-year-old children from the Netherlands. **Journal of dentistry**, v. 62, p. 18-24, 2017.

VICTORA, Cesar G. et al. Association between breastfeeding and intelligence, educational attainment, and income at 30 years of age: a prospective birth cohort study from Brazil. **The Lancet Global Health**, v. 3, n. 4, p. e199-e205, 2015.

WANG, Yan; LIU, Huijie; SUN, Zhongsheng. Lamarck rises from his grave: parental environment-induced epigenetic inheritance in model organisms and humans. **Biological Reviews**, v. 92, n. 4, p. 2084-2111, 2017.

WATT, Richard G. et al. Ending the neglect of global oral health: time for radical action. **The Lancet**, v. 394, n. 10194, p. 261-272, 2019.

WATT, Richard G.; SHEIHAM, Aubrey. Integrating the common risk factor approach into a social determinants framework. **Community Dentistry and Oral epidemiology**, v. 40, n. 4, p. 289-296, 2012.

WEINBERG, M. Katherine; TRONICK, Edward Z. The impact of maternal psychiatric illness on infant development. **Journal of clinical psychiatry**, v. 59, n. 2, p. 53-61, 1998.

WENDT, Lill-Kari et al. Infants and toddlers with caries. Mental health, family interaction, and life events in infants and toddlers with caries. **Swedish dental journal**, v. 19, n. 1-2, p. 17-27, 1995.

WHITBECK, Les B. et al. The effects of parents' working conditions and family economic hardship on parenting behaviors and children's self-efficacy. **Social psychology quarterly**, p. 291-303, 1997.

WHITE, Valerie. Breastfeeding and the risk of early childhood caries. **Evidence-based dentistry**, v. 9, n. 3, p. 86, 2008.

WHO COLLABORATIVE STUDY TEAM et al. On the role of breastfeeding on the prevention of infant mortality, effect of breastfeeding on infant and child mortality due to infection diseases in less developed countries: a pooled analysis. **Lancet**, v. 355, p. 451-55, 2000.

WISNER, Katherine L.; CHAMBERS, Christina; SIT, Dorothy KY. Postpartum depression: a major public health problem. **Jama**, v. 296, n. 21, p. 2616-2618, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Guidelines on physical activity, sedentary behaviour and sleep for children under 5 years of age. Geneva: **World Health Organization**, 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Oral health surveys: basic methods. **World Health Organization**, 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO recommendations on child health: guidelines approved by the WHO Guidelines Review Committee. Geneva: **World Health Organization**, 2017 (WHO/MCA/17.08). Licence: CCBY-NC-SA 3.0 IGO. (a)

WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO recommendations on maternal health: guidelines approved by the WHO Guidelines Review Committee. Geneva: **World Health Organization**, 2017 (WHO/MCA/17.10). Licence: CCBY-NC-SA 3.0 IGO. (b)

WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO recommendations on newborn health: guidelines approved by the WHO Guidelines Review Committee. Geneva: **World Health Organization**, 2017 (WHO/MCA/17.07). Licence: CCBY-NC-SA 3.0 IGO. (c)

WULSIN, Lawson R. Is depression a major risk factor for coronary disease? A systematic review of the epidemiologic evidence. **Harvard review of psychiatry**, v. 12, n. 2, p. 79-93, 2004.

Attachments

Attachment A – Letter of Approval from the Research Ethics Committee

FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS	

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: As condições de saúde bucal das mães durante a gravidez podem afetar negativamente os desfechos perinatais? Um estudo em uma coorte de base populacional no Sul do Brasil.

Pesquisador: Flávio Fernando Demarco

Área Temática:

Versão:

CAAE: 31296614.1.0000.5317

Instituição Proponente: Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pelotas

Patrocinador Principal: CNPQ

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 717.271

Data da Relatoria: 29/05/2014

Apresentação do Projeto:

Os estudos com delineamento de coorte prospectiva de nascimentos são atualmente o desenho epidemiológico mais poderoso para investigar as associações entre exposições precoces na vida e desfechos futuros em saúde. Estes estudos suportam a perspectiva do ciclo vital e parte do pressuposto de que o estado de saúde em qualquer idade é o resultado não só de condições atuais, mas também de um acúmulo de condições ao longo da vida. Além disso, a influência de características maternas na saúde do filho vem sendo estabelecida, bem como a relação entre a saúde bucal da mãe e a saúde geral e bucal da criança durante a vida perinatal. Agravos de saúde bucal durante a gravidez podem levar a desfechos de saúde geral adversos, tais como nascimento prematuro e baixo peso ao nascer.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

O objetivo geral do presente estudo será avaliar as condições de saúde bucal de todas as gestantes da cidade de Pelotas, parturientes no ano de 2015, cujos filhos serão participantes da Coorte de nascimentos de 2015, a fim de avaliar o impacto das condições de saúde das mães nas condições de saúde das crianças ao nascimento e na infância precoce.

Objetivo Secundário:

Endereço: Rua Prof Araújo, 455 sala 301			
Bairro: Centro	Município: PELOTAS	CEP: 96.020-360	
UF: RS			
Telefone: (53)3284-4960	Fax: (53)3221-3554	E-mail: cep.famed@gmail.com	

**FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
PELOTAS**



Continuação do Parecer: 717.271

- Avaliar a prevalência e severidade das doenças cárie e periodontal em todas as gestantes que darão a filhos no ano de 2015;
- Avaliar o impacto das condições de saúde bucal da mãe sobre os resultados adversos da gravidez;
- Avaliar a ocorrência de lesões de mucosa bucal nas gestantes;
- Avaliar o uso de serviços de saúde bucal e as informações recebidas em relação à prevenção da saúde bucal durante a gravidez;

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

O trabalho oferece riscos mínimos.

Benefícios:

Considerando a avaliação bucal na sua integralidade, as lesões bucais que necessitem de exames complementares (ex.: biópsia) ou não e, consequentemente, de respectivo tratamento deverão ser encaminhadas para o serviço especializado (CDDB/FOP/UFPel). Assim como, portadora de condição sistêmica, com diagnóstico oriundo do exame bucal, que represente risco para o par (mãe-filho) deverá ser encaminhada para o serviço público de saúde referência.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa é de relevância clínica e epidemiológica.

O estudo proposto será aninhado em um estudo prospectivo investigando as condições gerais e bucais de saúde de indivíduos a longo prazo. Cerca de 4.000 nascimentos são esperados em Pelotas no ano de 2015 e todas as mulheres grávidas da cidade que terão bebês em 2015 serão convidadas a participar do estudo. Serão coletados dados sobre estado geral de saúde, como informações referentes ao atendimento pré-natal, história reprodutiva, utilização dos serviços de saúde, morbidades durante a gravidez e consumo de medicamentos, hábitos de vida, incluindo fumo, álcool, drogas e cafeína e sobre a prática de atividade física e informações sociodemográficas, através de um questionário previamente estruturado, que também incluirá uma seção de saúde bucal, com questões sobre a utilização de serviços de saúde bucal, a história de medo dental, autopercepção da necessidade de tratamento odontológico e hábitos de higiene bucal. Também, variáveis antropométricas (peso e altura) serão coletadas na forma de autorrelato pelas gestantes. Exames clínicos de saúde bucal serão realizados entre a 18ª e 24ª semanas de gravidez por examinadores treinados e calibrados ($Kappa > 0,60$). Os exames serão realizados nos

Endereço: Rua Prof Araújo, 455 sala 301			
Bairro: Centro			CEP: 96.020-360
UF: RS	Município: PELOTAS		
Telefone: (53)3284-4960	Fax: (53)3221-3554	E-mail: cep.famed@gmail.com	

FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
PELOTAS



Continuação do Parecer: 717.271

domicílios dos participantes, com uso de luz artificial (fotóforos acoplados à cabeça), material de exame (espelho plano, sondas periodontais, espátulas de madeira e gaze) devidamente esterilizado. Todos os examinadores, cirurgiões dentistas, pós-graduandos em Odontologia ou Epidemiologia, estarão devidamente paramentados respeitando as normas de biossegurança preconizadas pela Organização Mundial da Saúde.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

OK

Recomendações:

OK

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

OK

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

PELOTAS, 14 de Julho de 2014

Assinado por:
Patricia Abrantes Duval
(Coordenador)

Endereço: Rua Prof. Araújo, 465 sala 301
Bairro: Centro CEP: 96.020-360
UF: RS Município: PELOTAS
Telefone: (53)3284-4960 Fax: (53)3221-3554 E-mail: cep.famed@gmail.com