

MARIA CLARA RIBEIRO BRAZ

Quantificação de *Actinomyces naeslundii* e *Fusobacterium nucleatum* no fluido gengival crevicular de dentes sem término cervical e restaurados com lentes de contato dental. Estudo clínico, prospectivo e longitudinal usando PCR em tempo real.

Araçatuba

2022

Maria Clara Ribeiro Braz

Quantificação de *Actinomyces naeslundii* e *Fusobacterium nucleatum* no fluido gengival crevicular de dentes sem término cervical e restaurados com lentes de contato dental. Estudo clínico, prospectivo e longitudinal usando PCR em tempo real.

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, como parte dos requisitos para a obtenção do título de cirurgiã-dentista.

Orientador: Prof. Assoc. Eduardo Passos Rocha

Araçatuba

2022

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha *amada família* que deu o apoio necessário para que este sonho fosse realizado. Uma ênfase aos meus pais, *Walmir e Dirceia*, pois em *todas* as oportunidades que tiveram, tornaram esses anos mais leves e alegres.

Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

Agradeço à **Erika**, por estar presente nas diversas etapas da vida, o verdadeiro exemplo de “I’ll be there for you”. Sou muito grata por isto.

Agradeço à **Ana Carolina**, amiga desde o primeiro dia de aula, da bancada de anatomia para a vida. Muito feliz pela sua presença na minha vida no decorrer desses anos. Obrigada por tudo!

Agradeço à **Fernanda**, pela amizade que construímos de forma inesperada. Agradeço também pela sua enorme disposição em ajudar, para mim, é um dos pilares importantes da amizade.

Agradeço à **Gabriela**, pelos dias de consolo, de alegria e também por tudo que pudemos compartilhar juntas. Acredito que com tantas coisas em comum seria praticamente impossível não sermos amigas.

Agradeço à **Danila**, pelo conhecimento que me forneceu e também pela sua prontidão em ajudar. É uma pessoa que admiro!

Agradeço ao **Prof. Eduardo Passos Rocha**, por ser meu orientador e me receber de braços abertos na equipe. Meu tempo de iniciação científica me trouxe riqueza de conhecimentos.

Agradeço à **Profa. Cristiane Duque** por disponibilizar seu laboratório e por contribuir na execução da pesquisa.

Agradeço ao **Dr. Fernando Isquierdo**, por me receber em seu consultório e ensinar muito sobre a odontologia e até mesmo sobre a vida.

Agradeço à **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)** por permitir que a pesquisa acontecesse e pela bolsa de iniciação científica (processo nº 2019/06975-0).

E por fim mas não menos importante, agradeço à **Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP**, por me fornecer todo aprendizado de qualidade que pretendo levar para a vida toda.

“Todos os nossos sonhos podem se tornar realidade, se nós tivermos a
coragem para persegui-los.”

Walt Disney

RESUMO

Braz, MCR. Quantificação de *Actinomyces naeslundii* e *Fusobacterium nucleatum* no fluido gengival crevicular de dentes sem término cervical e restaurados com lentes de contato dental. Estudo clínico, prospectivo e longitudinal usando PCR em tempo real [Trabalho de conclusão de curso]. Araçatuba: Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, 2022.

Objetivo: detectar e quantificar bactérias colonizadoras do sulco gengival, em paralelo à verificação de parâmetros clínicos periodontais de dentes naturais submetidos a tratamento estético com lentes de contato dental, sem término cervical e com margem cervical posicionada no interior do sulco gengival. Materiais e Métodos: 72 lentes de contato, em dissilicato de lítio por injeção, com 0,2 mm de espessura na borda cervical, foram cimentados sobre dentes anteriores maxilares não preparados. Para todos os elementos tratados e controles coletou-se o fluido gengival crevicular (FGC) previamente à cimentação da restauração (baseline) e nos tempos (t) após a cimentação: t15 - 15 dias e t180 - 180 dias, nos quais foram quantificados a presença das bactérias *A. naeslundii* e *F. nucleatum*, por meio de PCR em tempo real (qPCR). Resultados: nas análises clínicas, como índice de placa visível, sangramento à sondagem, profundidade de sondagem, perda de inserção clínica e recessão gengival, não houve diferença estatisticamente significativa em nenhum dos períodos analisados (Anova, $p>0,05$). Nas análises subclínicas, *A. naeslundii* antes e após o tratamento permaneceu dentro do esperado para sítios saudáveis (Anova, $p>0,05$). Não foram encontrados níveis detectáveis de *F. nucleatum*. Conclusão: o sobrecontorno, de no máximo 0,2 mm, causado pela lente de contato dental com extensão subgengival não foi suficiente para resultar em alterações consideráveis da microbiota oral e causar danos ao tecido periodontal em até 180 dias de acompanhamento.

Palavras-chave: Ensaio clínico. Facetas dentárias. Líquido do sulco gengival. Bactérias.

ABSTRACT

Braz, MCR. Quantification of *Actinomyces naeslundii* and *Fusobacterium nucleatum* in the crevicular gingival fluid of teeth without finish line with restorative dental veneers. Clinical, prospective and longitudinal study using real-time PCR [End of course paper]. Araçatuba: São Paulo State University, 2022.

Purpose: to detect and to quantify colonizing bacteria of the gingival sulcus in the teeth restored with thin ceramic veneers, with 0.2mm thickness at the cervical border and cemented on teeth without finish line and cervical border of restoration placed within the gingival sulcus. Materials and Methods: 72 ceramic veneers in lithium disilicate with 0.2mm thick at the cervical area, will be cemented onto maxillary anterior teeth without finish line. For all treated and controls teeth, crevicular gingival fluid (GCF) will be collected prior to restoration cementation (baseline) and at future times (t): t15 - 15 days and t180 - 180 days, in which the bacteria *A. naeslundii*, *F. nucleatum* will be detected and quantified through real-time qPCR. Results: in clinical analyses, such as plaque index, bleeding on probing, probing depth, clinical attachment level and gingival recession, there were no statistically significant differences in any of the analyzed periods (ANOVA, $p>0.05$). In the subclinical analyses, *A. naeslundii* before and after treatment remained within the expected range for healthy sites (ANOVA, $p>0.05$). No detectable levels of *F. nucleatum* were found. Conclusion: veneers with subgingival extension was not enough to result in considerable changes in the oral microbiota and cause damage to the periodontal tissue in up to 180 days of follow-up.

Keywords: Clinical trial. Dental veneers. Gingival crevicular fluid. Bacteria.

LISTA DE FIGURA

Figura 1 - Quantificação de <i>A. naeslundii</i> (ng/uL) obtido pelo qPCR em baseline, 15 e 180 dias	28
--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Avaliação clínica nos grupos controle e restaurado em baseline, 15 e 180 dias após a cimentação das restaurações; média \pm desvio padrão.....	27
Tabela 2 - Quantidade de microrganismos (ng/uL) obtido pelo qPCR, média \pm desvio padrão (Anova One-Way $p>0,05$)	28

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Dados clínicos dos grupos experimentais.....	18
Quadro 2 - Tempos de estudo e análises realizadas em cada tempo através de qPCR	19
Quadro 3 - Critérios de avaliação clínica da adaptação marginal da restauração cerâmica (USPHS modificado)	22
Quadro 4 - Iniciadores específicos e condições térmicas	25

LISTA DE SIGLAS

CONEP - Comissão Nacional de Ética em Pesquisa

FGC - Fluido Gengival Crevicular

FOA - Faculdade de Odontologia de Araçatuba

IPV - Índice de placa visível

mm - milímetros

mW/cm² - miliwatts por centímetro quadrado

n - número

ng/uL - nanograma por microlitro

nm - nanômetro

PIC - Perda de inserção clínica

PS - Profundidade de sondagem

qPCR - PCR em tempo real

RG - Recessão gengival

SS - Sangramento à sondagem

UNESP - Universidade Estadual Paulista

USPHS - United States Public Health Service

°C - Graus celsius

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	17
2.1 Critério de inclusão e exclusão	17
2.2 Seleção dos pacientes	17
2.3 Grupos e tempos de estudo:.....	18
2.4 Procedimentos clínicos para a execução do estudo	19
2.4.1 Consulta inicial	19
2.4.2 Preparo dental	20
2.4.3 Prova e ajuste da restauração cerâmica	21
2.4.4 Condicionamento da superfície cerâmica.....	21
2.4.5 Condicionamento dental.....	21
2.4.6 Cimentação das restaurações cerâmicas.....	22
2.5 Avaliação clínica	22
2.6 Avaliação microbiológica através de qPCR	23
2.6.1 Coleta do fluido gengival crevicular.....	23
2.6.2 Extração do DNA	24
2.6.3 qPCR	24
2.7 Análise estatística.....	25
3. RESULTADOS	26
3.1 Dados demográficos.....	26
3.2 Avaliação clínica	26
3.3 qPCR	26

4. DISCUSSÃO	29
5. CONCLUSÃO.....	32
REFERÊNCIAS	33
ANEXOS.....	36
ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética e pesquisa.....	36
ANEXO B – Termo de consentimento livre e esclarecido	40

1. INTRODUÇÃO

As restaurações cerâmicas possuem excelentes propriedades ópticas, biocompatibilidade, ampla versatilidade de uso e altas taxas de longevidade (1), sendo consideradas padrão ouro em reabilitações dentárias (2,3). Essas propriedades das cerâmicas permitem restabelecer a função e melhorar a estética do sorriso, bem como contribuir para a autoestima do paciente (4).

Dentre as restaurações cerâmicas, as lentes de contato dental, são indicadas para finalidades estéticas como, por exemplo: fechamento de diastemas, pequenas alterações de cor, desalinhamentos dentais, fraturas coronárias de pequena extensão, correção de espaços negros interdentais e desgastes por abrasão (5,6). Apesar da sua baixa espessura, quando são cimentadas sobre o esmalte dentário, isto é, sobre dentes com mínimo ou nenhum desgaste, possuem alta previsibilidade de sucesso mecânico (5). A melhoria das características microestruturais das cerâmicas vítreas utilizadas para sua confecção, bem como dos sistemas adesivos e cimentos resinosos utilizados na etapa de cimentação, também contribuem para o baixo índice de solturas, trincas e fraturas dessas restaurações (7-11).

Considerando as vantagens da preservação da estrutura dentária, quando uma lente de contato dental maquiada ultrafina é cimentada sobre um dente sem término cervical, ela produz um sobrecontorno de aproximadamente 0,2 mm que é inerente à sua técnica de confecção (5,6). Por sua vez, é questionável se este sobrecontorno pode ser considerado um fator causal para o acúmulo de placa bacteriana na região cervical e para alteração da microbiota presente no fluido gengival crevicular com consequente resposta inflamatória e problemas periodontais a longo prazo (12-14). Na literatura científica atual, encontra-se relatos de casos clínicos que sugerem boa resposta do tecido marginal periodontal em dentes com pouco ou nenhum desgaste e restaurados com lentes de contato (5) no entanto, pesquisas clínicas sobre o tema ainda são escassas.

Danos às estruturas periodontais são normalmente identificados através de alterações dos parâmetros clínicos periodontais como, por exemplo, aumento da profundidade e do sangramento à sondagem, perda de inserção do dente, ou, ainda, através de exames radiográficos para verificar o nível de reabsorção óssea (15). No entanto, esses parâmetros não fornecem dados iniciais ou subclínicos que poderiam evitar o progresso da doença periodontal (14,16,17). Para esta finalidade, a técnica de PCR em tempo real (qPCR) é a mais indicada, pois permite identificar e quantificar o

DNA de bactérias presentes no fluido gengival crevicular da região do término cervical da restauração (18), permitindo, assim, comparar o perfil de micro-organismos presentes antes e após o tratamento, analisar a resposta subclínica frente ao tratamento realizado e, caso necessário, realizar ajustes nos protocolos de trabalho para evitar danos estruturais ao periodonto (19,20,21).

Dentre as bactérias colonizadoras do biofilme, *Actinomyces naeslundii* pertence ao complexo azul de Socransky, considerada colonizadora inicial da superfície do dente e relacionada com a manutenção da saúde periodontal (22, 23). Já a *Fusobacterium nucleatum* pertence ao complexo laranja de Socransky e é uma colonizadora secundária que pode ser encontrada mais comumente em sítios com gengivite (24).

Tendo em vista que a literatura atual é inconclusiva se o sobrecontorno de lentes de contato dental ultrafinas pode causar alterações na microbiota local e, a longo prazo, contribuir para o desenvolvimento de doença periodontal, considera-se importante avaliar o comportamento clínico e a quantificação de bactérias colonizadoras do sulco gengival em dentes sem término cervical e restaurados com lentes de contato dental. Assim, o objetivo deste estudo foi quantificar através de qPCR as bactérias *Actinomyces naeslundii* e *Fusobacterium nucleatum* em paralelo ao acompanhamento de parâmetros clínicos periodontais, de dentes sem término cervical e restaurados com lentes de contato dental.

As hipóteses nulas do estudo foram:

- 1– Os parâmetros clínicos periodontais não serão alterados após a cimentação das lentes de contato dental.
- 2– A quantificação de *Actinomyces naeslundii* e *Fusobacterium nucleatum* no fluido gengival crevicular não será alterada após a cimentação das lentes de contato dental.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Critério de inclusão e exclusão

Foram selecionados pacientes que necessitavam de restaurações do tipo das lentes de contato dental na região compreendida entre os dentes 15 a 25. O estudo contou com voluntários de ambos os sexos e idades variadas, com dentes íntegros e em boa condição de saúde periodontal atestada por exame clínico e radiográfico. Os aspectos clínicos mais relevantes para a seleção dos pacientes foram a necessidade de fechamento de diastemas, eliminação de espaços mortos ou correções de forma e contorno dental com justificativa estética e/ou funcional atestada por enceramento diagnóstico.

A verificação durante o exame clínico de um ou mais aspectos descritos abaixo constituiu os critérios de exclusão:

1 - Pacientes que não apresentavam saúde clínica em um periodonto íntegro, e clinicamente identificados pela presença de pelo menos um dos aspectos a seguir: perda de inserção, profundidade de sondagem superior a 3 mm, sangramento à sondagem em mais de 10% dos sítios avaliados e com perda óssea radiográfica (25).

2 - Gravidez, diabetes mellitus, doenças autoimunes e demais alterações sistêmicas não controladas com efeito lesivo aos tecidos periodontais (25).

3 - Usuários de medicamentos controlados, presença de deficiência hormonal ou vitamínica atestada na anamnese.

4 - Pacientes com histórico de uso recente (inferior a 3 meses) de anti-inflamatórios ou antibióticos.

2.2 Seleção dos pacientes

A pesquisa foi cadastrada na Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), por meio da Plataforma Brasil e submetido ao comitê de ética em pesquisa local com deliberação favorável (Anexo A). Pacientes catalogados no banco de dados da seção de triagem da Faculdade de Odontologia de Araçatuba

com perfil para o estudo, foram convocados. Também foram seguidas as normas do CONSORT-STATEMENT (26).

Cada paciente passou previamente por triagem constituída por exame físico, radiográfico e anamnese, para que fosse confirmada a necessidade do procedimento em questão. Os indivíduos selecionados foram informados detalhadamente sobre a realização da pesquisa e sobre os possíveis riscos e benefícios a serem obtidos. Os que aceitaram, assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (anexo B).

2.3 Grupos e tempos de estudo:

Nove pacientes (6 mulheres e 3 homens), com faixa etária entre 20 e 57 anos, foram selecionados para o estudo (quadro 1) e divididos em 2 grupos apresentados a seguir:

Quadro 1 - Dados clínicos dos grupos experimentais

Descrição	No.
Total de pacientes	9
Mulheres	6
Homens	3
Faixa Etária (anos)	20-57
Número total de dentes nos grupos controle e restaurado	73
Incisivos centrais	15
Incisivos laterais	18
Caninos	16
Primeiro pré-molares	14
Segundo pré-molares	10

Fonte: Elaborado pelo autor a partir dos dados de pesquisa

Grupo restaurado: 73 dentes restaurados com lentes de contato dental, confeccionadas em dissilicato de lítio maquiado, com aproximadamente 0,2 mm de espessura na borda cervical, com extensão subgengival de aproximadamente 0,5

mm e necessidade de novo perfil anatômico na região, cimentados sobre dentes sem término cervical. Ressalta-se que a inexistência de terminos cervicais convencionais faz com que a restauração cerâmica estabeleça contato com a superfície do dente de forma semelhante ao obtido com terminos em forma de lâmina de faca.

Grupo controle: os mesmos dentes do grupo restaurado, previamente ao tratamento restaurador.

Os tempos de estudo e análises realizadas em cada tempo podem ser observados no quadro 2.

Quadro Tempos estudo análises	Tempos de estudo	2 - de e
	Baseline (t0) - antes dos procedimentos restauradores	
	15 dias (t15) - 15 dias após a cimentação das restaurações	
	180 dias (t180) - 180 dias após a cimentação das restaurações	

realizadas em cada tempo através de qPCR

Fonte: Elaborado pelo autor a partir dos dados de pesquisa.

2.4 Procedimentos clínicos para a execução do estudo

2.4.1 Consulta inicial

Após a triagem e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido, o paciente foi submetido a uma profilaxia, além da eliminação dos fatores retentores de biofilme com auxílio de curetas de *Gracey* e posterior polimento com taças de borracha. Foram obtidas fotografias extra e intrabucais para contribuir com o planejamento do caso e para registrar os aspectos anatômicos e ópticos influentes para a resolução clínica. Na sequência, foi realizada a moldagem diagnóstica com silicone por adição (*Express XT*, 3M ESPE, St. Paul, MN, USA) e obtenção de dois modelos de estudo com gesso tipo IV (*Elite Rock*, Zhermack, Roma, Itália) montados em articulador semi-ajustável (*Bio-Art*, São Carlos, SP, Brasil), os quais, juntamente com as fotografias, foram encaminhados ao laboratório de prótese para a confecção do enceramento diagnóstico.

Previamente ao tratamento e durante todos os controles, os pacientes receberam instruções detalhadas para o controle diário do biofilme, através de orientações supervisionadas sobre higiene bucal, com demonstração do uso correto do fio dental, das técnicas de escovação e do uso de dentífrícios, além de explicações sobre a formação do biofilme, suas consequências e a importância da sua remoção para o sucesso do caso.

2.4.2 Preparo dental

Duas máscaras de silicone por condensação (*Zetaplus/OranWash*, Zhermack, Roma, Italia), com a cópia do enceramento diagnóstico, foram obtidas para guiar a quantidade e a orientação do desgaste dental a ser realizado, quando necessário, sendo uma para orientação no plano vertical e outra no plano horizontal (27). O preparo dental parcial foi realizado sob abundante irrigação, utilizando-se pontas diamantadas de granulação grossa, para caneta de alta rotação, sem desgaste da região cervical, e finalizado com pontas de mesmo diâmetro e formato, de média e fina granulometria, para contra-ângulo multiplicador (*Komcept 1:5*, KaVo, Joinville, SC, Brasil).

Para o procedimento de moldagem, foi inserido no sulco gengival um fio afastador não impregnado, n. 000 e em seguida um segundo fio afastador de calibre

compatível com o biotipo gengival do paciente (Ultrapack, Ultradent Products, South Jordan, Utah, USA), para a realização da moldagem pela técnica simultânea com duplo fio, com silicone por adição (27). Em seguida, foi realizada a montagem do modelo de trabalho maxilar no articulador semi-ajustável, o registro maxilo-mandibular realizado pela técnica de justaposição manual dos modelos de trabalho, e o encaminhamento ao laboratório para a confecção das restaurações cerâmicas em dissilicato de lítio maquiado (IPS e.max Press; Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein), sem que este conhecesse os objetivos da pesquisa. Para o processo de seleção de cor, foi utilizada a escala Vita Classical (VITA Zahnfabrik GmbH, Bad Säckingen, Germany), na sequência de luminosidade.

Em alguns casos, restaurações provisórias foram confeccionadas em resina bis-acrílica (Protemp 4, 3M ESPE, St. Paul, MN, USA), obtidas a partir da máscara de silicone por adição preenchida com a resina bis-acrílica e vertida sobre os dentes. Quando houve necessidade de cimentação, foi utilizado cimento provisório livre de eugenol (Rely X Temp NE, 3M ESPE, St. Paul, MN, USA), ou resina composta fluida (Filtek Z350 XT Flow, 3M ESPE, St. Paul, MN, USA) sem tratamento prévio da superfície dental.

2.4.3 Prova e ajuste da restauração cerâmica

Primeiramente, foi realizada a "prova seca" das restaurações para que fosse visualizada a adaptação de cada peça ao dente com o auxílio de sonda exploradora (Hu-Friedy Manufacturing, Chicago, IL, USA) e a precisão dos contatos proximais. Depois dessa fase, realizou-se a "prova úmida" com o uso das pastas de prova (Variolink Esthetic Try-in, Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein), para a verificação da luminosidade e do melhor matiz do cimento resinoso a ser utilizado.

2.4.4 Condicionamento da superfície cerâmica

O condicionamento da superfície interna da cerâmica obedeceu a seguinte sequência: ácido fluorídrico à 10% aplicado na superfície interna de cada elemento durante 10 segundos, lavagem com água e secagem, aplicação do ácido fosfórico à 37% por 60 segundos, lavagem com água e secagem, aplicação de agente de união

silano (Monobond-N, Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein), aguardando a evaporação do solvente conforme instrução do fabricante (28).

2.4.5 Condicionamento dental

Os dentes restaurados passaram previamente por profilaxia com pedra pomes e água. Na sequência, foi realizado o condicionamento ácido total do esmalte, com ácido fosfórico a 37% por, no mínimo, 15 segundos, lavado com água, seco com jato de ar, e aplicação do sistema adesivo (Tetric N-Bond Universal, Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein), de acordo com as instruções de uso (29,30).

2.4.6 Cimentação das restaurações cerâmicas

Segundo o matiz e a luminosidade da pasta selecionada durante a prova úmida, foi utilizado cimento resinoso essencialmente fotopolimerizável (Variolink Esthetic LC, Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein) de acordo com as recomendações do fabricante e polimerizado com o uso de aparelho luz emitida por diodo (LED) de espectro entre 395 e 480nm e potência de 1000mW/cm² (VALO, Ultradent Products Inc, South Jordan, UT, USA), com exposição de luz de 40 segundos em cada face da restauração.

2.5 Avaliação clínica

Em todos os tempos do estudo foram realizadas avaliações clínicas da adaptação marginal da restauração cerâmica e da condição periodontal por um profissional experiente, calibrado na técnica e não envolvido na execução clínica do estudo. Para a adaptação marginal das restaurações foram utilizados os critérios modificados do USPHS (*United States Public Health Service*) (30) adaptados a este estudo.

Quadro 3 - Critérios de avaliação clínica da adaptação marginal da restauração cerâmica (USPHS modificado)

Critério	Descrição
Alfa	Margem ideal: a borda da restauração é contínua ao substrato dental, sem a presença de degrau
Beta	Desadaptação marginal: há degrau perceptível entre o laminado e o substrato dental, porém sem deficiências na integridade da linha de cimentação
Charlie	Desadaptação marginal: há degrau perceptível, com a presença de deficiências na integridade da linha de cimentação
Delta	Fratura da borda cervical da restauração

Fonte: Elaborado pelo autor a partir dos dados de pesquisa.

Para a condição gengival foram considerados os parâmetros: índice de placa visível (IPV), de acordo com a presença ou ausência de placa na região cervical do dente/ restauração (31); profundidade de sondagem (PS) em milímetros; sangramento à sondagem (SS) ocorrido em até vinte segundos após a inserção da sonda periodontal e classificado em presente ou ausente (32); perda de inserção clínica (PIC) (33); e recessão gengival (RG) em milímetros (32). Para os dados de PS, PIC e RG foram obtidos médias e desvio-padrão das medidas dos sítios analisados em cada tempo do estudo. Os dados de IPV e SS foram transformados em porcentagens.

2.6 Avaliação microbiológica através de qPCR

2.6.1 Coleta do fluido gengival crevicular

O fluido gengival crevicular foi coletado com o uso de uma fita de metilcelulose (Periopaper, Oraflow, Plainview, NY, USA) inserida no sulco até a sensação de ligeira resistência (34), e deixada no local por 60 segundos (35). O ponto de coleta foi na região méso-vestibular dos dentes avaliados, sempre utilizando do mesmo sítio para todos os tempos do estudo.

Previamente ao procedimento de coleta, a placa supra-gengival, quando presente, foi cuidadosamente removida com o auxílio de uma cureta estéril (Hu-Friedy Manufacturing, Chicago, IL, USA), e o local foi previamente isolado com o uso de roletes de algodão e gentilmente seco com jato de ar da seringa tríplice. Amostras contaminadas com sangue ou saliva foram descartadas e novamente recolhidas após 90 segundos (18).

Foram coletadas 4 fitas por sítio em cada tempo de estudo, as quais foram armazenadas a seco em tubos de microcentrifugação livres de RNase (Eppendorf Manufacturing Corp., New York, EUA) e posteriormente congelados a -80°C até o momento da extração do DNA.

2.6.2 Extração do DNA

O DNA total de cada amostra foi extraído usando kit comercialmente disponível (MagBeads Swabs DNA Preparation Kit, Jena Bioscience, Jena, GER).

2.6.3 qPCR

A concentração de ácido nucleico em cada amostra foi analisada utilizando um nanodrop (Hercuvan Lab Systems, Cambridge, UK) a 260 nm e padronizada a concentração de 12,5 ng/uL. As espécies bacterianas, sequência dos *primers*, tamanho do amplicon e condições térmicas estão descritas no quadro 4.

A mistura da reação (10 uL) foi composta por 5 uL de Fast EvaGreen qPCR Master Mix (Biotium, Fremont, CA, USA), 3,4 uL de água ultrapura, 0,3 uL de cada primer (Thermo Fisher Scientific, Wilmington, DE, USA) e 1 uL da amostra. A quantidade de DNA (ng/uL) foi calculada usando controles de DNA de curvas padrão (300 a 0,003 ng/uL) para cada espécie bacteriana. Todas as amostras foram analisadas em duplicata. O primer 16S foi utilizado como padrão e as análises dos dados foram realizadas no programa EcoStudy 5.0 (Illumina, San Diego, CA, USA) (36).

Quadro 4 - Iniciadores específicos e condições térmicas

Espécie	Primer	Sequência 5'-3'	Tamanho do amplicon (bp)	Condições térmicas				
				Pré-aquecimento	Desnaturação	Anelamento	Extensão	Ciclos
16S rRNA	Forward Reverse	GATTAGATACCCTGGTAGTCCACCCC GGGAACGTATTCACCG	786-1,387 (602)	95°C, 3 min	94°C, 15s	54°C, 15s	72°C, 30s	40
<i>A. naeslundii</i>	Forward Reverse	CCTCTGGCTTAAGTGGGG CATTCCACCGCTACACCA	88	95°C, 3 min	94°C, 15s	58°C, 30s	68°C, 15s	35
<i>F. nucleatum</i>	Forward Reverse	CGCAGAAGGTGAAAGTCCTGTAT TGGTCCTCACTGATTACACAGA	23	95 ° C, 5 min	95 ° C, 15s	60°C, 20s	72°C, 20s	45
<i>T. forsythia</i>	Forward Reverse	GCGTATGTAACCTGCCCGCA TGCTTCAGTGTCAAGTTATACCT	120	95 ° C, 5 min	95°C, 15s	60°C, 20s	72°C, 20s	45

2.7 Análise estatística

Para a análise estatística foi utilizado o programa GraphPad Prism 8.1 (GraphPad Software, La Jolla, USA). A análise da homocedasticidade foi realizada pelo teste Kolmogorov-Smirnov, para distinção dos dados paramétricos e não paramétricos. Para os dados clínicos foi utilizado o teste Anova One-Way e para o qPCR foi utilizado o teste de Friedman e pós-teste de Dunn. Adotou-se o nível de significância de $p < 0,05$ para todas as análises.

3. RESULTADOS

3.1 Dados demográficos

Nove pacientes, com um total de 73 laminados cerâmicos, completaram 180 dias de acompanhamento, sem ocorrência de trincas, fraturas, solturas ou qualquer tipo de intercorrência que justificasse a substituição de qualquer uma das 73 restaurações. Os dados clínicos dos participantes da pesquisa estão apresentados no quadro 1.

3.2 Avaliação clínica

No início do tratamento (baseline) 11 dentes apresentavam placa visível na região cervical (15,06%) do grupo restaurado. Em 15 e 180 dias as porcentagens encontradas foram: 5,47 e 8,21 respectivamente. A média para a profundidade de sondagem foi de 1,7 mm em todos os tempos analisados, com desvio padrão variando de 0,58 a 0,60 e sem diferença estatisticamente significativa entre os grupos experimentais em até 180 dias de acompanhamento (Anova, $p > 0,05$). Foram registrados casos de sangramento à sondagem em alguns dentes após o tratamento, no entanto, sem diferença estatisticamente significativa entre os

diferentes tempos do estudo (Anova, $p>0,05$). Não houve registro de perda de inserção clínica e presença de recessão gengival em nenhum dos dentes analisados nos diferentes tempos de acompanhamento. Os dados da avaliação clínica estão apresentados na tabela 1.

Para a adaptação marginal da restauração cerâmica, os 73 elementos analisados obtiveram conceito “alfa” segundo os critérios do USPHS em todos os tempos do estudo, isto é, margem ideal da restauração com a borda contínua ao substrato dental, sem a presença de degrau.

3.3 qPCR

Os resultados do qPCR são apresentados na tabela 2.

A quantificação de *A. naeslundii* variou de 0,0037 ng/uL no tempo baseline a 8,64 ng/uL em 180 dias de acompanhamento. Não houve diferença estatisticamente significativa na comparação entre todos os períodos analisados, ou seja, baseline (antes do tratamento) e 15 e 180 dias após a cimentação das lentes de contato, (Anova, $p>0,05$), figura 1.

Não houve registro de *F. nucleatum* em nenhum dos tempos analisados.

Tabela 1 - Avaliação clínica no grupo restaurado em baseline, 15 e 180 dias após a cimentação das restaurações; média \pm desvio padrão.

Análises clínicas	Baseline	15 dias	180 dias
Índice de placa visível (%) – grupo restaurado	15,06	5,47	8,21
Profundidade de sondagem (mm) – grupo restaurado	1,78 \pm 0,60	1,79 \pm 0,58	1,79 \pm 0,60
Sangramento à sondagem (%) – grupo restaurado	0,00 \pm 0,00	0,45 \pm 0,19	0,00 \pm 0,00
Perda de inserção clínica (mm) – grupo restaurado	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00

Recessão gengival (mm) – grupo restaurado	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
--	-----------	-----------	-----------

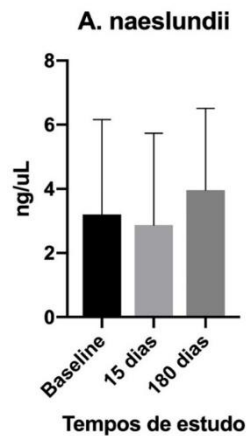
Fonte: Elaborado pelo autor a partir dos dados de pesquisa.

Tabela 2 - Quantidade de microrganismos de microrganismos (ng/uL) obtido pelo qPCR, média +/- desvio padrão (Anova One-Way p>0,05)

	Baseline	15 dias	180 dias
<i>A. naeslundii</i>	3.206 +/- 2.956	2.867 +/- 2.866	3.963 +/- 2.544
<i>F. nucleatum</i>	0.00 +/-0.00	0.00 +/- 0.00	0.00 +/- 0.00

Fonte: Elaborado pelo autor a partir dos dados de pesquisa

Figura 1 - Quantificação de *A. naeslundii* (ng/uL) obtido pelo qPCR em baseline, 15 e 180 dias



Fonte: Elaborado pelo autor a partir dos dados de pesquisa

4. DISCUSSÃO

O presente estudo comparou através de análises clínicas e da detecção e quantificação de uma bactéria colonizadora inicial, *A. naeslundii*, e uma bactéria periodontopatogênica, *F. nucleatum*, (22-24), o comportamento periodontal de dentes naturais hígidos antes e após o tratamento estético com lentes de contato dental cimentadas sobre dentes sem término cervical.

Apesar da ausência de desgaste do esmalte dentário ser considerada a melhor opção do ponto de vista de preservação das estruturas dentárias, melhor adesão da peça ao dente e aumento da previsibilidade mecânica, a literatura é inconclusiva sobre a manutenção da saúde periodontal nesses tratamentos, uma vez que o sobrecontorno da peça cerâmica, mesmo que mínimo, poderia contribuir para o acúmulo de placa bacteriana no local e causar danos estruturais ao periodonto a longo prazo (9,11-14).

Neste sentido, a análise clínica através dos parâmetros de índice de placa visível, profundidade de sondagem, sangramento à sondagem, recessão gengival e perda de inserção clínica é a forma mais convencional para acompanhamento do

comportamento das estruturas periodontais frente ao tratamento realizado (15), no entanto, não traz informações sobre a resposta subclínica, isto é, alterações na microbiota presente no fluido gengival crevicular e que poderiam levar ao desenvolvimento de doença periodontal (13,15). Levando isso em consideração, justificou-se a realização do estudo comparando os dados periodontais obtidos clinicamente *versus* os dados microbiológicos obtidos laboratorialmente pela técnica de qPCR.

Clinicamente, os resultados (PS, SS, IPV) não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre os períodos analisados, ou seja, antes do tratamento e em até 180 dias de acompanhamento ($p > 0,05$). Casos isolados de sangramento à sondagem em regiões interproximais foram observados em pacientes que possuíam diastemas antes do tratamento e, devido a isto, não possuíam o hábito do uso contínuo de fio dental. Para esses e todos os demais pacientes, instruções de higiene oral foram reforçadas em todos os controles, destacando a importância do controle do biofilme para a manutenção e longevidade do tratamento realizado. Não houve registro de recessão gengival e perda de inserção clínica em nenhum dos dentes analisados. Vale ressaltar que na seleção dos pacientes do estudo, todos passaram pelos critérios de elegibilidade que incluía a condição de saúde periodontal e boa condição de higiene oral, o que contribuiu para os resultados obtidos. Na literatura científica, os resultados são semelhantes em relatos de caso e pesquisas que fizeram o acompanhamento de pacientes submetidos ao tratamento estético com lentes, independentemente do tipo de preparo dentário realizado (5,37,38).

Desta forma, a primeira hipótese nula foi aceita, isto é, não houve alteração dos parâmetros clínicos periodontais após a cimentação das lentes de contato dental.

Iniciando com a análise subclínica da condição de saúde periodontal, a bactéria *A. naeslundii* é considerado um colonizador inicial das superfícies dentárias (22,23) e que, em níveis aumentados, pode desempenhar um papel significativo no início de uma série de doenças orais, incluindo periodontite, cárie dentária e lesão periapical (23). A quantificação dessa espécie para os dentes antes (baseline) e após o tratamento (15 e 180 dias) permaneceram dentro do esperado para sítios saudáveis, sem diferença estatisticamente significativa entre os períodos analisados

($p > 0,05$). Apesar de um pequeno aumento da quantificação dessa bactéria em 180 dias, não houve diferença estatisticamente significativa em comparação com o baseline e, clinicamente, não houve sinais de inflamação tecidual. Com relação à bactéria periodontopatogênica *F. nucleatum*, característica de sítios com gengivite (24), na presente pesquisa não foram encontrados níveis detectáveis, isto é, entre 0,003 a 300 ng/uL, dessa bactéria. Com os resultados obtidos, a segunda hipótese nula do estudo também foi aceita, uma vez que não houve alteração na quantificação de *A. naeslundii* e *F. nucleatum* após a cimentação das lentes de contato dental.

Os resultados encontrados complementam os resultados da dissertação de mestrado (Fapesp #2017/27188-0), uma vez que neste estudo foram quantificadas as bactérias *Streptococcus mitis*, *Prevotella intermedia* e *Porphyromonas gingivalis*, e as quantificações apresentaram o mesmo padrão, ou seja, manutenção dos níveis de *S. mitis*, colonizadora inicial, durante todo o acompanhamento e ausência das bactérias *P. intermedia* e *P. gingivalis*, relacionadas à gengivite e periodontite, respectivamente. Há a similaridade de que ambas as bactérias *A. naeslundii* e *S. mitis*, que fazem parte do processo de colonização inicial do biofilme (22,23) foram as únicas a serem quantificadas e apresentaram valores dentro da normalidade, além de serem bactérias comumente encontradas em microbiotas orais saudáveis.

Com os dados obtidos através do qPCR e analisados em conjunto com os dados clínicos, pode-se perceber que o sobrecontorno, de no máximo 0,2 mm, causado pela lente de contato dental com extensão subgengival não foi suficiente para resultar em alterações consideráveis da microbiota oral e causar danos ao tecido periodontal em até 180 dias de acompanhamento. Vale enfatizar que apesar dos resultados obtidos serem promissores, algumas limitações da pesquisa merecem ser pontuadas e que serão sanadas em próximos estudos do grupo de pesquisa, sendo elas: reduzido tamanho da amostra, ausência de um grupo com término cervical para comparação inter-grupos, quantificação de outras espécies bacterianas e maior tempo de acompanhamento para consolidação dos dados obtidos.

5. CONCLUSÃO

Com os resultados obtidos em 180 dias de acompanhamento é possível concluir que:

- O periodonto dos dentes sem término cervical e restaurados com lentes de contato dental ultrafinas não apresentou alterações estruturais quando comparado ao periodonto dos mesmos dentes antes do tratamento;

- O sobrecontorno de até 0,2 mm das lentes de contato dental não contribuiu para o acúmulo de biofilme na região cervical e para alterações na microbiota oral.

REFERÊNCIAS

1. Friedman MJ. A 15-year review of porcelain veneer failure--a clinician's observations. *Compend Contin Educ Dent*. 1998;19(6):625-638.
2. Peumans M, De Munck J, Fieuws S, Lambrechts P, Vanherle G, Van Meerbeek B. A prospective ten-year clinical trial of porcelain veneers. *J Adhes Dent*. 2004;6(1):65-76.
3. Beier US, Kapferer I, Burtscher D, Dumfahrt H. Clinical performance of porcelain laminate veneers for up to 20 years. *The International journal of prosthodontics*. 2012;25(1):79-85.
4. Pini NP, Aguiar FH, Lima DA, Lovadino JR, Terada RS, Pascotto RC. Advances in dental veneers: materials, applications, and techniques. *Clin Cosmet Investig Dent*. 2012;4:9-16. doi: 10.2147/CCIDEN.S7837
5. Cortellini D, Canale A. Bonding lithium disilicate ceramic to feather-edge tooth preparations: a minimally invasive treatment concept. *J Adhes Dent*. 2012;14(1):7-10. doi:10.3290/j.jad.a22708
6. Miranda ME, Olivieri KA, Rigolin FJ, Basting RT. Ceramic fragments and metal-free full crowns: a conservative esthetic option for closing diastemas and rehabilitating smiles. *Oper Dent*. 2013;38(6):567-571. doi:10.2341/12-225-T
7. Aykor A, Ozel E. Five-year clinical evaluation of 300 teeth restored with porcelain laminate veneers using total-etch and a modified self-etch adhesive system. *Oper Dent*. 2009;34(5):516-523. doi:10.2341/08-038-C
8. Benetti P, Della Bona A, Kelly JR. Evaluation of thermal compatibility between core and veneer dental ceramics using shear bond strength test and contact angle measurement. *Dent Mater*. 2010;26(8):743-750. doi:10.1016/j.dental.2010.03.019.
9. Kelly JR, Benetti P. Ceramic materials in dentistry: historical evolution and current practice. *Aust Dent J*. 2011;56 Suppl 1:84-96. doi:10.1111/j.1834-7819.2010.01299.
10. Edelhoff D, Brix O. All-ceramic restorations in different indications: a case series. *J Am Dent Assoc*. 2011;142 Suppl 2:14S-9S. doi:10.14219/jada.archive.2011.0338
11. Oztürk E, Hickel R, Bolay S, Ilie N. Micromechanical properties of veneer luting resins after curing through ceramics. *Clin Oral Investig*. 2012;16(1):139-146. doi:10.1007/s00784-010-0482-y
12. Schätzle M, Land NP, Anerud A, Boysen H, Bürgin W, Loe H. The influence of margins of restorations of the periodontal tissues over 26 years. *J Clin Periodontol*. 2001;28(1):57-64. doi:10.1034/j.1600-051x.2001.280109.x
13. Puri K, Puri N, Dodwad V, Masamatti SS. Restorative aspects of periodontal disease: an update part 1. *Dent Update*. 2014;41(6):545-552. doi:10.12968/denu.2014.41.6.545
14. Castro CE, Koss MA, Lopez ME. Biochemical markers of the periodontal ligament. *Medicina oral: organo oficial de la Sociedad Espanola de Medicina Oral y de la Academia Iberoamericana de Patologia y Medicina Bucal*. 2003;8(5):322-8.
15. Gilmore N, Sheiham A. Overhanging dental restorations and periodontal disease. *J Periodontol*. 1971;42(1):8-12. doi:10.1902/jop.1971.42.1.8.
16. Gupta G. Gingival crevicular fluid as a periodontal diagnostic indicator--I: Host derived enzymes and tissue breakdown products. *Journal of medicine and life*. 2012;5(4):390-7.

17. Lindhe J, Haffajee AD, Socransky SS. Progression of periodontal disease in adult subjects in the absence of periodontal therapy. *J Clin Periodontol.* 1983;10(4):433-442. doi:10.1111/j.1600-051x.1983.tb01292.x
18. Kinney JS, Morelli T, Oh M, et al. Crevicular fluid biomarkers and periodontal disease progression. *J Clin Periodontol.* 2014;41(2):113-120. doi:10.1111/jcpe.12194
19. Nonnenmacher C, Dalpke A, Rochon J, Flores-de-Jacoby L, Mutters R, Heeg K. Real-time polymerase chain reaction for detection and quantification of bacteria in periodontal patients. *J Periodontol.* 2005;76(9):1542-1549. doi:10.1902/jop.2005.76.9.1542
20. Loesche WJ, Lopatin DE, Stoll J, van Poperin N, Hujjoel PP. Comparison of various detection methods for periodontopathic bacteria: can culture be considered the primary reference standard?. *J Clin Microbiol.* 1992;30(2):418-426. doi:10.1128/jcm.30.2.418-426.1992
21. Lyons SR, Griffen AL, Leys EJ. Quantitative real-time PCR for *Porphyromonas gingivalis* and total bacteria. *J Clin Microbiol.* 2000;38(6):2362-2365. doi:10.1128/JCM.38.6.2362-2365.2000
22. Slots J. Subgingival microflora and periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1979;6(5):351-382. doi:10.1111/j.1600-051x.1979.tb01935.x actinomyces saudavel periodonto
23. Xiao J, Klein MI, Falsetta ML, Lu B, Delahunty CM, Yates JR. The exopolysaccharide matrix modulates the interaction between 3D architecture and virulence of a mixed-species oral biofilm. *PLoS pathogens.* 2012;8(4):e1002623. doi:10.1371/journal.ppat.1002623.
24. Tanner A, Kent R, Maiden MF, Taubman MA. Clinical, microbiological and immunological profile of healthy, gingivitis and putative active periodontal subjects. *J Periodontal Res.* 1996;31(3):195-204. doi:10.1111/j.1600-0765.1996.tb00484.x
25. Caton JG, Armitage G, Berglundh T, Chapple ILC, Jepsen S, Kornman KS, et al. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions - Introduction and key changes from the 1999 classification. *Journal of periodontology.* 2018;89 Suppl 1:S1-s8.
26. Moher D, Hopewell S, Schulz KF, Montori V, Gotzsche PC, Devereaux PJ, et al. CONSORT 2010 Explanation and Elaboration: Updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. *Journal of clinical epidemiology.* 2010;63(8):e1-37.
- 27 Chiche, GJ. Double-string technique for final impressions - practical applications, *Dental economics - oral hygiene* 1995;85(1):72-3.
28. Murillo-Gomez F, Palma-Dibb RG, De Goes MF .Effect of acid etching on tridimensional microstructure of etchable CAD/CAM materials, *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials* 34(6) (2018) 944-955.
29. Perdigao J. Predictable cementation of esthetic restorations: part I-principles of adhesion, *Practical procedures & aesthetic dentistry: PPAD* 2007;19(9):1-6.
30. Gresnigt MM, Kalk W, Özcan M. Clinical longevity of ceramic laminate veneers bonded to teeth with and without existing composite restorations up to 40 months. *Clin Oral Investig.* 2013;17(3):823-832. doi:10.1007/s00784-012-0790-5
31. Silness J, Loe H. Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation hygiene and periodontal condition, *Acta odontologica Scandinavica* 1964;22:121-35. doi:10.3109/00016356408993968.

32. Armitage GC. The complete periodontal examination. *Periodontol 2000*. 2004;34:22-33. doi:10.1046/j.0906-6713.2002.003422.x
33. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol*. 1999;4(1):1-6. doi:10.1902/annals.1999.4.1.1
34. Ozgoren O, Develioglu H, Guncu G, Akman A, Berker E. The adjunctive effect of tenoxicam during non-surgical periodontal treatment on clinical parameters and gingival crevicular fluid levels of MMP-8 and TNF-alpha in patients with chronic periodontitis - randomized, double-blind clinical trial. *Advances in clinical and experimental medicine : official organ Wroclaw Medical University*. 2014;23(4):559-65.
35. Bakri I, Douglas CW, Rawlinson A. The effects of stress on periodontal treatment: a longitudinal investigation using clinical and biological markers. *J Clin Periodontol*. 2013;40(10):955-961. doi:10.1111/jcpe.12142
36. Nadkarni MA, Martin FE, Jacques NA, Hunter N. Determination of bacterial load by real-time PCR using a broad-range (universal) probe and primers set. *Microbiology (Reading)*. 2002;148(Pt 1):257-266. doi:10.1099/00221287-148-1-25
37. D'Arcangelo C, De Angelis F, Vadini M, D'Amario M. Clinical evaluation on porcelain laminate veneers bonded with light-cured composite: results up to 7 years. *Clin Oral Investig*. 2012;16(4):1071-1079. doi:10.1007/s00784-011-0593-0
38. Arif R, Dennison JB, Garcia D, Yaman P. Gingival Health of Porcelain Laminate Veneered Teeth: A Retrospective Assessment. *Oper Dent*. 2019;44(5):452-458. doi:10.2341/18-088-C

ANEXOS

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética e pesquisa

UNESP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA-CAMPUS DE
ARAÇATUBA/ UNIVERSIDADE



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: "Laminados cerâmicos cimentados sobre dentes não preparados. Estudo clínico, prospectivo e longitudinal sobre a adaptação marginal e avaliação do comportamento periodontal pelo uso de biomarcadores do Fluido Gengival Crevicular"

Pesquisador: Eduardo Passos Rocha

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 47896715.1.0000.5420

Instituição Proponente: Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba - UNESP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.745.032

Apresentação do Projeto:

Resumo:

Introdução: Os avanços tecnológicos na microestrutura dos materiais cerâmicos juntamente com o aperfeiçoamento dos sistemas adesivos e cimentos resinosos utilizados para a instalação dos laminados cerâmicos possibilitaram a utilização de restaurações delgadas sobre superfícies de esmalte com mínimo ou nenhum preparo, cujo comportamento funcional sobre as estruturas periodontais é ainda desconhecido. Objetivo: avaliar o comportamento do tecido periodontal pela quantificação de biomarcadores e do volume do Fluido Gengival Crevicular (GCF), com adicional verificação da adaptação e comportamento marginal da restauração, no uso de laminados cerâmicos delgados cimentados sobre dentes não preparados e apresentando borda cervical posicionada no interior do sulco gengival. Materiais e Métodos: 72 laminados cerâmicos, em dissilicato de lítio, com 0,2mm de espessura na borda cervical, serão cimentados sobre dentes anteriores maxilares não preparados. Para todos os elementos tratados será feita a coleta GCF previamente a restauração (baseline) e nos tempos do estudo (t0-

Endereço: JOSE BONIFACIO 1193

Bairro: VILA MENDONCA

CEP: 16.015-050

UF: SP

Município: ARACATUBA

Telefone: (18)3636-3200

Fax: (18)3636-3332

E-mail: andrebertoz@foa.unesp.br

UNESP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA-CAMPUS DE
ARAÇATUBA/ UNIVERSIDADE



Continuação do Parecer: 2.745.032

7 dias, t1 -15 dias, t2 – 30 dias, t3 – 60 dias, t4 – 180 dias e t5 365 dias após a restauração), onde será calculado o volume do GCF e quantificado os biomarcadores: TNF- (fator de necrose tumoral alfa), IL-1 (interleucina 1-beta), MMP-8 (colagenase) e MMP-9 (gelatinase) pelo teste ELISA. Dentes vizinhos homólogos ou antagonistas serão utilizados como controle. Nos mesmos tempos, será quantificada a presença das bactérias Streptococcus sanguis, Streptococcus mitis, Actinomyces naeslundii, Fusobacterium nucleatum, Prevotella intermedia, Veillonella parvula, Porphyromonas gingivalis, Tannerella forsythia e Treponema denticola por meio de PCR em tempo real. Adicionalmente serão feitas réplicas com 7, 30, 180 e 365 dias após a instalação para verificação da adaptação marginal e do sobrecontorno da restauração no microscópio eletrônico de varredura. Será realizada avaliação clínica pelos critérios modificados do USPHS (United States Public Health Service) em todos os tempos do estudo. Resultados: Após a análise descritiva dos dados serão verificadas as pressuposições de normalidade e homogeneidade, considerando a aplicação da ANOVA. Caso as pressuposições não sejam atendidas, prevê-se o uso do teste de Kruskal-Wallis. O nível de significância considerado para diferença entre as médias será 5%

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

A proposta deste estudo será avaliar o comportamento do tecido periodontal pela análise da quantidade de biomarcadores e do volume do Fluido Gingival Crevicular, no uso de laminados cerâmicos delgados com 0,2mm de espessura na borda cervical, quando cimentadas sobre dentes não preparados e apresentando borda cervical posicionada no interior do sulco gengival.

Objetivo Secundário:

Verificação da adaptação e comportamento marginal da restauração, no uso de laminados cerâmicos delgados com 0,2mm de espessura na borda cervical, quando cimentadas sobre dentes não preparados e apresentando borda cervical posicionada no interior do sulco gengival.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Endereço: JOSE BONIFACIO 1193
Bairro: VILA MENDONCA **CEP:** 16.015-050
UF: SP **Município:** ARACATUBA
Telefone: (18)3636-3200 **Fax:** (18)3636-3332 **E-mail:** andrebertoz@foa.unesp.br

UNESP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA-CAMPUS DE
ARAÇATUBA/ UNIVERSIDADE



Continuação do Parecer: 2.745.032

Toda pesquisa com seres humanos envolve riscos em tipos e gradações variados. Esta pesquisa envolve intervenções em pacientes a nível ambulatorial, logo, haverá uma exposição destes a procedimentos com risco moderado. A participação nesta pesquisa não infringe as normas legais e éticas. Uma vez esclarecido o método proposto para a realização das restaurações e o desenvolvimento da pesquisa, os participantes estarão sujeitos aos seguintes riscos e desconfortos: Exposição à radiação (raios-X) pela aquisição de radiografias intrabucais.

apesar do risco moderado, este será amenizado pelo uso de avental plumbífero para proteção do tronco/tireóide e redução do tempo de exposição. Possibilidade de leve desconforto durante as moldagens. Para tanto, todas as medidas preventivas serão tomadas durante os procedimentos de modo a minimizar qualquer risco ou incômodo. Vale salientar que o procedimento restaurador proposto na pesquisa é reversível, uma vez que não há desgaste de estrutura dentária.

Benefícios:

A literatura relata, entre outros benefícios, que a instalação das próteses eleva a auto-estima dos pacientes, melhora a mastigação e, conseqüentemente, a alimentação, sendo responsáveis por um aumento na qualidade de vida do paciente de modo geral. Além disso, o estudo resultará em maior previsibilidade no resultado final das restaurações e a influências dos diferentes meios de acompanhamento dos casos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa apresenta-se apta para a sua realização.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos foram apresentados de acordo com a resolução 466/12 do CNS.

Recomendações:

não há

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Pesquisa apresenta-se apta para a sua realização.

Considerações Finais a critério do CEP:

Salientamos que, de acordo com a Resolução 466 CNS, de 12/12/2012 (título X, seção X.1., art. 3,

Endereço: JOSE BONIFACIO 1193
Bairro: VILA MENDONCA **CEP:** 16.015-050
UF: SP **Município:** ARACATUBA
Telefone: (18)3636-3200 **Fax:** (18)3636-3332 **E-mail:** andrebertoz@foa.unesp.br

UNESP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA-CAMPUS DE
ARAÇATUBA/ UNIVERSIDADE



Continuação do Parecer: 2.745.032

item b, e, título XI, seção XI.2., item d), há necessidade de apresentação de relatórios semestrais, devendo o primeiro relatório ser enviado até 01/01/2019.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1148256_E1.pdf	30/05/2018 17:03:22		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto de Pesquisa - Fernando Isquierdo de Souza PPGO.pdf	29/06/2015 15:46:51		Aceito
Folha de Rosto	Folha de rosto.pdf	29/06/2015 15:35:12		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE doutorado.docx	30/04/2015 10:48:35		Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

ARACATUBA, 29 de Junho de 2018

Assinado por:
Aldiéris Alves Pesqueira
(Coordenador)

Endereço: JOSE BONIFACIO 1193
Bairro: VILA MENDONCA **CEP:** 16.015-050
UF: SP **Município:** ARACATUBA
Telefone: (18)3636-3200 **Fax:** (18)3636-3332 **E-mail:** andrebertoz@foa.unesp.br

ANEXO B – Termo de consentimento livre e esclarecido

Anexo 3 – Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE)



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título da Pesquisa: **“Influência de laminados cerâmicos cimentados sobre dentes naturais sem término cervical nos mediadores inflamatórios e microbiota do fluido gengival crevicular. Estudo clínico, prospectivo e longitudinal usando ELISA e PCR em tempo real”**

Nome do Pesquisador: Prof. Adj. Eduardo Passos Rocha

1. Natureza da pesquisa: o(a) sr.(a) está sendo convidado (a) a participar desta pesquisa que tem como finalidade avaliar a condição dos tecidos periodontais de dentes restaurados com laminados cerâmicos delgados instalados sobre dentes sem preparo, através de análises do líquido do sulco gengival e de verificações da adaptação da peça ao dente, em diferentes tempos, durante um ano de acompanhamento.

2. Participantes da pesquisa: Será objeto do estudo cerca de 180 dentes. Diferentes pacientes que necessitem de reabilitação oral com facetas na região de anterior e posterior até 2º pré-molar no arco superior, participarão do estudo.

3. Envolvimento na pesquisa: ao participar deste estudo o(a) sr.(a) permitirá que o (a) pesquisador (a) colete amostras do líquido expelido pelo sulco gengival antes e após os procedimentos restauradores, bem como realizar moldagens nas consultas de controle. O(a) sr.(a) tem liberdade de se recusar a participar e ainda se recusar a continuar participando em qualquer fase da pesquisa, sem qualquer prejuízo para o(a) sr.(a). Sempre que quiser poderá pedir mais informações sobre a pesquisa através do telefone do (a)

Anexo 3 – Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE)

pesquisador (a) do projeto e, se necessário através do telefone do Comitê de Ética em Pesquisa.

4. **Sobre as entrevistas:** As consultas serão agendadas com antecedência, sendo realizadas na Faculdade de Odontologia de Araçatuba e o paciente será convenientemente informado de todos os procedimentos executados em cada sessão.

5. **Riscos e desconforto:** a participação nesta pesquisa não infringe as normas legais e éticas. O risco ao paciente é considerado moderado, pois serão realizados procedimentos de nível ambulatorial e exames radiográficos com finalidade de diagnóstico. Para tanto, todas as medidas preventivas durante os procedimentos serão tomadas para minimizar qualquer risco ou incômodo. Os procedimentos adotados nesta pesquisa obedecem aos Critérios da Ética em Pesquisa com Seres Humanos conforme Resolução nº 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde. Nenhum dos procedimentos usados oferece riscos à sua dignidade.

6. **Confidencialidade:** todas as informações coletadas neste estudo são estritamente confidenciais. Somente o pesquisador e seu orientador (e/ou equipe de pesquisa) terão conhecimento de sua identidade e nos comprometemos a mantê-la em sigilo ao publicar os resultados dessa pesquisa.

7. **Benefícios:** ao participar desta pesquisa o(a) sr.(a) não terá nenhum benefício direto. Entretanto, esperamos que este estudo resulte em informações importantes sobre o comportamento clínico de laminados cerâmicos delgados instalados sobre dente sem preparo, de forma que o conhecimento que será construído a partir desta pesquisa possa ampliar o conhecimento sobre o comportamento do tecido periodontal frente a este tipo de restauração à longo prazo, onde pesquisador se compromete a divulgar os resultados obtidos, respeitando-se o sigilo das informações coletadas, conforme previsto no item anterior.

8. **Pagamento:** o(a) sr.(a) não terá nenhum tipo de despesa para participar desta pesquisa, bem como nada será pago por sua participação.

Anexo 3 – Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE)

Após estes esclarecimentos, solicitamos o seu consentimento de forma livre para participar desta pesquisa. Portanto preencha, por favor, os itens que se seguem: Confiro que recebi cópia deste termo de consentimento, e autorizo a execução do trabalho de pesquisa e a divulgação dos dados obtidos neste estudo.

Obs: Não assine esse termo se ainda tiver dúvida a respeito.

Consentimento Livre e Esclarecido

Tendo em vista os itens acima apresentados, eu, de forma livre e esclarecida, manifesto meu consentimento em participar da pesquisa.

Nome do Participante da Pesquisa

Assinatura do Participante da Pesquisa

Assinatura do Pesquisador

Anexo 3 – Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE)

Assinatura do Orientador

Pesquisador Responsável:

Prof. Adj. Eduardo Passos Rocha (18) 3636 3290

Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa:

Prof. Ass. Dr. André Pinheiro de Magalhães Bertoz

Vice-Coodenador: Prof. Ass. Dr. Aldieris Alves Pesqueira

Telefone do Comitê: (18) 3636-3234

E-mail cep@foa.unesp.br