



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de Araçatuba

ALANNA RAMALHO MATEUS

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DO TRATAMENTO
RESTAURADOR ATRAUMÁTICO DAS LESÕES DE CÁRIE
SOBRE A CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNAS TOTAIS E A
CONCENTRAÇÃO DE ÓXIDO NÍTRICO SALIVAR.**

Araçatuba - SP
2025

ALANNA RAMALHO MATEUS

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DO TRATAMENTO
RESTAURADOR ATRAUMÁTICO DAS LESÕES DE CÁRIE
SOBRE A CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNAS TOTAIS E A
CONCENTRAÇÃO DE ÓXIDO NÍTRICO SALIVAR.**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia de Araçatuba, para obtenção do título de Mestre em Ciências.
Área de Concentração: Saúde Bucal da Criança.

Orientador(a): Prof^a. Titular. Dr^a. Cristina Antoniali Silva

Coorientador(a): Prof. Dr. Prof. Dr. Antonio Hernandes Chaves-Neto

Araçatuba - SP
2025

Catálogo-na-Publicação (CIP)

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

M425a Mateus, Alanna Ramalho.
Avaliação do efeito do tratamento restaurador atraumático das lesões de cárie sobre a concentração de proteínas totais e concentração de óxido nítrico salivar / Alanna Ramalho Mateus. -
Araçatuba, 2025
47 f.; graf.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia, Araçatuba
Orientadora: Profa. Cristina Antoniali Silva

1. Saliva 2. Cárie dentária 3. Biomarcadores 4. Proteínas e peptídeos salivares
4. Óxido nítrico 5. Tratamento dentário restaurador sem trauma
I. T.

Black D27
CDD 617.645

Dedico este trabalho à Deus, sem sua
benção nada disso seria possível!

AGRADECIMENTOS

Dedico este trabalho, em primeiro lugar, a Deus, por me permitir viver este momento, por me conceder discernimento e paciência, e por me proteger em todas as minhas viagens.

Agradeço imensamente à minha família, especialmente ao meu marido, Sérgio, pelo apoio incondicional e incentivo para que eu seguisse minha paixão. Mesmo com a distância, soube segurar as pontas, lidar com a saudade e, ainda assim, me alegrar e fortalecer. Obrigada por todo amor e apoio, eu o amo muito.

Aos meus pais, irmãos e tios, Werther e Elminho e minha avó Geny sou grata pelas palavras de incentivo, parceria e apoio inestimáveis. Em todos os momentos, independentemente dos desafios, vocês estiveram ao meu lado, me ajudando e apoiando. Muito do que sou hoje devo a vocês, e sou imensamente grata por todo amor e cuidado.

Aos meus sogros e à Lola, meu sincero agradecimento pela hospitalidade e por abrirem as portas de casa para me acolherem com carinho e paciência. O apoio de vocês foi fundamental para que eu pudesse seguir com esse projeto.

À vó Marina e ao vô Sérgio, minha gratidão pelo acolhimento, suporte e carinho que tornaram esse percurso mais leve.

À minha orientadora, que foi uma verdadeira mãe para mim, sou extremamente grata. Desde minha chegada a um ambiente completamente novo, sem conhecimento laboratorial e de pós-graduação, sempre demonstrou paciência e parceria, me ensinando com dedicação e carinho. Sua orientação foi essencial para que este trabalho se concretizasse. Levo comigo não apenas o conhecimento adquirido, mas também sua inspiração como profissional e pessoa. Deus foi generoso ao colocá-la em minha vida.

Aos alunos do Departamento de Ciências Básicas, que tive o privilégio de conhecer e com quem compartilhei tantas manhãs, cafés e risadas, mesmo nos momentos desafiadores, sou profundamente grata pelo apoio mútuo e pela amizade.

Ao professor Antônio, agradeço a orientação, paciência e atenção às nossas necessidades, além dos momentos de descontração que tornaram a jornada mais leve.

À Brenda, Mariana, João e Haylla, minha imensa gratidão pela parceria diária, seja nas visitas às creches, no Projeto Sorriso Feliz ou nos atendimentos, nos dias de laboratório (sendo feriado ou não). A amizade que construímos vai muito além da Universidade. Aprendi com vocês sobre cuidado, amizade e vida, e sou muito feliz por tê-los tido ao meu lado nessa jornada. Vocês tornaram Araçatuba um lugar mais acolhedor e sempre me ajudaram a me sentir em casa. Obrigada por tudo.

À Laura, Patrícia, Georgia, Tamires e a todos que conheci na Odontopediatria, agradeço a parceria, pelos momentos de aprendizado e pelas risadas compartilhadas. Vocês são luz!

Aos colegas e preceptores do Projeto Sorriso Feliz, minha mais profunda gratidão. Participar desse projeto de extensão tão significativo impactou profundamente minha formação. A dedicação e o conhecimento de cada um de vocês foram fundamentais para essa iniciativa, que transforma a vida de tantas crianças.

Agradeço ao Curso de Pós-graduação em Ciências da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, na pessoa do coordenador Prof. Associado Juliano Pelin Pessan.

Agradeço à CAPES e à FUNDUNESP pelo financiamento da minha pesquisa. Este trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, além da bolsa de Desenvolvimento Tecnológico da Coordenadoria de Convênios e Projetos da FUNDUNESP.

Também agradeço à Pró-Reitoria de Extensão Universitária e Cultura da UNESP pelo financiamento do Projeto Sorriso Feliz – Fortalecimento da Atenção Primária à Saúde Bucal na Primeiríssima e Primeira Infância na Educação Infantil do Estado de São Paulo – DRSII (PEU-EDITAL-VTM-2023 - Alínea A - Edital “Vamos Transformar o Mundo” - Proposta 2023/1502).

*“O ato da conquista de um grande sonho reflete
o sucesso nas lutas diárias para alcançá-lo.”*

Kléber Novartes

MATEUS, A. R. **Avaliação do efeito do tratamento restaurador atraumático das lesões de cárie sobre a concentração de proteínas totais e a concentração de óxido nítrico salivar.** 2025. Dissertação Mestrado – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araçatuba, 2025.

RESUMO GERAL

A saliva contém biomarcadores de estresse oxidativo, cuja expressão pode ser alterada pela presença de cárie. Este estudo avaliou se o tratamento restaurador atraumático (ART) altera a concentração de proteínas totais e de óxido nítrico na saliva de crianças com cárie em diferentes estágios. Foram selecionadas 45 crianças, entre 4 e 6 anos, atendidas nas EMEB de Araçatuba, SP, divididas em três grupos: sem cárie, cárie em esmalte, cárie em dentina. Amostras de saliva foram coletadas antes, imediatamente após e 21 dias após o tratamento clínico, pelo qual as lesões de cárie foram restauradas com Cimento Ionômero de Vidro. As coletas seguiram um protocolo que restringia o uso de produtos fluoretados. Foram conduzidos experimentos bioquímicos previamente padronizados para avaliar a concentração de proteínas totais e de nitrito (NO_2^-) salivar. O ART não alterou a concentração de nitrito (NO_2^-) salivar em crianças com cárie, mas aumentou a concentração de proteínas totais, com efeitos perceptíveis 21 dias após a intervenção, especialmente em crianças com cárie em dentina. Esses resultados indicam que o ART modifica o ambiente oral, destacando a importância de integrar pesquisa, educação e estratégias clínicas para otimizar a prevenção e controle da cárie dentária.

Palavras-Chave: saliva; cárie dentária; biomarcadores; proteína salivar; óxido nítrico; tratamento dentário restaurador sem trauma

MATEUS, A. R. **Evaluation of the effect of atraumatic restorative treatment of carious lesions on total protein concentration and salivary nitric oxide concentration.** 2025. Master's Dissertation – Faculty of Dentistry, São Paulo State University (UNESP), Araçatuba, 2025.

GENERAL ABSTRACT

Saliva contains oxidative stress biomarkers, whose expression may be altered by the presence of caries. This study evaluated whether atraumatic restorative treatment (art) alters the concentration of total proteins and nitric oxide in the saliva of children with caries at different stages. A total of 45 children, aged 4 to 6 years, attending EMEB schools in Araçatuba, SP, were selected and divided into three groups: caries-free, enamel caries, and dentin caries. Unstimulated saliva samples were collected before, immediately after, and 21 days after clinical treatment, in which carious lesions were restored with glass ionomer cement. The collection protocol restricted the use of fluoridated products. Pre-standardized biochemical experiments were conducted to assess the concentration of total proteins and salivary nitrite (NO_2^-). Art did not alter salivary nitrite (NO_2^-) concentration in children with caries, but increased total protein concentration, with noticeable effects 21 days after the intervention, particularly in children with dentin caries. These findings indicate that art modifies the oral environment, emphasizing the importance of integrating research, education, and clinical strategies to optimize caries prevention and control.

Keywords: saliva; dental caries; biomarkers; salivary protein; nitric oxide; atraumatic restorative treatment

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Boxplots para a variável Proteína total salivar (mg/mL) entre o grupo controle (sem cárie) e grupos esmalte e dentina (com cárie) no tempo zero (ART₀), comparação pelo Teste de Kruskal-Wallis. 25
- Figura 2.** Em A, Bloxpots para a variável NO₂⁻ salivar entre crianças sem e com cárie. Em B, Boxplots para a variável NO₂⁻ salivar entre os grupos experimentais no tempo zero (ART₀) (Teste de Kruskal-Wallis, *p=0,001). 26
- Figura 3.** Em A, trajetória individual da proteína total salivar (mg/mL) em três tempos. Em B, Boxplots para a variável proteína total salivar comparada entre os tempos entre as crianças com cárie. 26
- Figura 4.** Em A, trajetória individual da concentração de NO₂⁻ (μmol/L) em três tempos. Em B, Boxplots para a variável NO₂⁻ salivar comparada entre os tempos. 27
- Figura 5.** Em A, Boxplots para a variável proteína total salivar, e em B, Boxplots para a variável NO₂⁻ salivar comparadas antes e após o ART, no grupo esmalte. 28
- Figura 6.** Em A, Boxplots para a variável proteína total salivar, e em B, Boxplots para a variável NO₂⁻ salivar comparadas antes e após o ART no grupo dentina (*p=0,04; **p=0,016). 28
- Figura 7.** Boxplots para os níveis de proteína total salivar (A) e NO₂⁻ salivar (B) comparados entre os grupos de crianças com experiência de cárie em esmalte e em dentina, após 21 dias de tratamento, em relação às crianças sem cárie. As análises foram realizadas utilizando o Teste de Duncan para proteína total e o teste de Kruskal-Wallis para NO₂⁻. Os valores de significância foram indicados por *p<0,05, **p<0,01 e ***p<0,001. 29

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ART	Tratamento Restaurador Atraumático
AU	Ácido Úrico
EMEB	Escolas Municipais de Ensino Básico
NO	Óxido Nítrico
NO ₃ ⁻	Nitrato
NO ₂ ⁻	Nitrito
SOD	Superóxido Dismutase
TAC	Capacidade Antioxidante Total
TBARS	Ácido Tiobarbitúrico
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

SUMÁRIO

Resumo Geral	08
Introdução Geral	13
Folha de Rosto	17
Resumo	18
1. Introdução	18
2. Materiais e Metodos	20
3. Resultados	24
4. Discussão	30
5. Conclusão	35
6. Referencias Bibliográficas	36
ANEXOS	43

1. INTRODUÇÃO GERAL

A cárie precoce da infância é definida pela Academia Americana de Odontologia Pediátrica como a presença de superfícies dentárias afetadas (cavitadas ou não), ausentes ou restauradas em dentes primários de crianças com menos de seis anos (AAOP, 2024-2025). Se não tratada, pode comprometer a saúde bucal, sistêmica e social da criança (Pitts et al., 2019; Dülgergil et al., 2013).

O ART (Técnica Restauradora Atraumática) é reconhecido como uma técnica eficaz no tratamento e controle da cárie dentária, sendo uma alternativa de baixo custo que pode ser realizada fora do consultório odontológico, reduzindo o trauma das crianças durante o tratamento (Dorri et al., 2017). Sua aplicação pode ser integrada à logística do ambiente escolar, facilitando o acesso ao tratamento. Além disso, o ART segue o conceito de odontologia de mínima intervenção, priorizando a preservação dos tecidos dentários, o que o torna especialmente benéfico para o atendimento odontológico infantil (Lima et al., 2008).

A saliva humana é um fluido biológico composto por secreções das glândulas salivares maiores e menores, além de substâncias provenientes de fontes não glandulares (Cunha-Cruz et al., 2013). Ela também contém hormônios, anticorpos, fatores de crescimento, enzimas e microrganismos, que entram na saliva por difusão passiva ou transporte ativo a partir da corrente sanguínea, tornando-a um reflexo da função fisiológica ou patológica do corpo (Javaid et al., 2016). Esse fluido desempenha diversas funções, como limpeza, lubrificação dos tecidos bucais, redução da solubilidade do esmalte por meio de cálcio, fosfato e flúor e efeito tampão, tampona ou neutraliza os ácidos produzidos pela microflora cariogênica (Senthil Eagappan et al., 2016).

A saliva tem sido utilizada na detecção de doenças sistêmicas e orais, devido à presença de biomarcadores que podem ser analisados e quantificados (Spielmann et al., 2010; Malamud et al., 2010; Senthil Eagappan et al., 2016; Hassaneen et al., 2017). Além disso, a coleta de saliva é um método não invasivo, fácil, seguro e de baixo custo. Pacientes atendidos na odontopediatria,

especialmente, se beneficiam da praticidade desse método de coleta (Hassaneen et al., 2017).

A avaliação de marcadores salivares do dano oxidativo tem sido utilizada no diagnóstico de doenças que afetam a cavidade oral (Arana et al., 2017; Darczuk et al., 2016; Silva et al., 2016; Buczko et al., 2015), uma vez que está relacionada ao aparecimento e/ou desenvolvimento de doenças inflamatórias (Buczko et al., 2015). O dano oxidativo resulta do estresse oxidativo, caracterizado pelo aumento das concentrações de espécies reativas de oxigênio (ERO) ou nitrogênio, com, ou sem, a redução nos sistemas antioxidantes (Betteridge, 2000).

Estudos anteriores do nosso grupo demonstraram uma redução do dano oxidativo na saliva de crianças com cárie precoce da infância (Silva et al., 2016). Esse efeito está associado ao aumento da capacidade antioxidante total (TAC), mensurada pelo método de capacidade de redução férrica (Ferric Reducing Ability of Plasma – FRAP), e ao incremento da atividade dos sistemas antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos, avaliados, respectivamente, pela atividade da Superóxido Dismutase (SOD) e pela concentração de ácido úrico (AU). Em um estudo posterior, Araújo et al. (2020) observaram uma forte correlação positiva entre TAC, AU e SOD com a gravidade das lesões de cárie, o que contribui para a redução progressiva do dano oxidativo salivar. Esses achados sugerem que o aumento da atividade da SOD na saliva de crianças com lesões de cárie ativa pode representar um mecanismo de defesa do organismo. A SOD desempenha um papel essencial na dismutação do ânion superóxido, convertendo-o em oxigênio e peróxido de hidrogênio (Halliwell, 1999), o que eleva a biodisponibilidade do óxido nítrico (NO). Dessa forma, a maior atividade da SOD na saliva poderia potencializar a ação anticariogênica do NO (Lisboa, 2022).

Em um estudo recente de nosso grupo (Lopes et al., 2025) demonstramos que o ART causou redução significativa na concentração de proteínas totais, com recuperação dos valores basais ao 7º dia após o tratamento. A concentração de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) na saliva, utilizada para avaliar o dano oxidativo consequente da peroxidação lipídica, mostrou aumento significativo imediatamente após o Tratamento

Restaurador Atraumático (ART), voltando aos níveis basais e permanecendo estáveis até o 7º dia. Já as concentrações de TAC e UA diminuíram na saliva das crianças 7 dias após o ART. Essas alterações foram significativas apenas em saliva de crianças com lesões de dentina, e não em crianças com lesões de esmalte. Estes resultados sugeriram que o ART altera temporariamente as concentrações de proteínas totais e biomarcadores redox em saliva de crianças com cárie, retornando as concentrações basais após 7 dias. Além disto, esses resultados ressaltam a importância de complementar os tratamentos restauradores com orientação sobre dieta e higiene oral para garantir um manejo completo da cárie.

O óxido nítrico (NO) é um dos mecanismos naturais e inespecíficos de defesa da cavidade bucal contra bactérias. Sua principal fonte na boca decorre da redução enzimática de nitrato/nitrito da dieta e da conversão da L-arginina pela óxido nítrico sintase (NOS), presente nas glândulas salivares e outros tecidos. Estudos *in vitro* indicam que o nitrito (NO_2^-) salivar inibe o crescimento de bactérias cariogênicas em condições ácidas, sugerindo que a produção de NO pode atuar na defesa do hospedeiro, especialmente em casos de cárie severa ou baixa higiene bucal. Pacientes com alto CPO-D e baixo OHI-S apresentaram concentrações salivares e na placa bacteriana de NO significativamente mais altas (Bayindir et al., 2005).

Na via nitrato, nitrito e óxido nítrico ($\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}$), as bactérias anaeróbias reduzem o nitrato, absorvido da dieta, a nitrito por ação da nitrato redutase (Qu et al., 2016; Doel et al., 2004; Barbadoro et al., 2021). Na via L-arginina $\rightarrow$ NO, a óxido nítrico sintase (NOS) sintetiza NO e citrulina a partir do aminoácido L-arginina, reação enzimática catalisada por NAD(P)H e outros cofatores. A isoforma iNOS é induzida na resposta inflamatória, enquanto as isoformas constitutivas (nNOS e eNOS) regulam funções basais (Şengül et al., 2022). Entretanto, devido à instabilidade do NO, sua quantificação em meios aquosos é feita pelos níveis de NO_3^- ou NO_2^- (Hegde et al., 2008).

Em estudos anteriores, avaliamos a associação entre a progressão das lesões de cárie e a maior biodisponibilidade de NO salivar. Demonstramos que, na saliva de crianças de 1 a 3 anos com lesões de cárie em esmalte e dentina, as concentrações de NO_2^- estavam aumentadas em comparação às crianças

sem cárie (Lisboa et al., 2020, dados não publicados). Esse estudo e outros acima mencionados sugerem que a cárie afeta significativamente vários biomarcadores salivares de estresse oxidativo. No entanto, o impacto do tratamento clínico na concentração de NO salivar e nas vias de sua produção ainda não está claro.

Esta pesquisa teve como objetivo avaliar o efeito do ART nos níveis de óxido nítrico (NO) e nos parâmetros bioquímicos das proteínas totais na saliva de crianças com cárie. Embora o NO salivar seja considerado um biomarcador potencial da cárie dentária, ainda não está claro como suas vias de síntese e biodisponibilidade são afetadas pela doença. Compreender o papel do NO e das proteínas total salivares nos diferentes estágios da cárie poderá, no futuro, auxiliar no desenvolvimento de novas ferramentas para diagnóstico, prognóstico e tratamento da doença.

Avaliação do efeito do tratamento restaurador atraumático das lesões de cárie sobre a concentração de proteínas totais e a concentração de óxido nítrico salivar.

Alanna Ramalho Mateus^a, Mariana Santana Quirino da Silva^b, Haylla de Faria Horta^a, Brenda Renata Lopes Justo^c, João Victor de Araújo Narciso^c, Adrielle Ouchi Lopes^a, Adolfo José da Mota^d, Antonio Hernandes Chaves Neto^{a,b,e}, Cristina Antoniali^{a,b,e,*}

^a Programa de Pós-Graduação em Ciências, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia, Araçatuba, SP, Brasil.

^b Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Ciências Fisiológicas, SBFis, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia, Araçatuba, Brasil.

^c Estudante de Graduação, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia, Araçatuba, SP, Brasil.

^d Universidade Federal do Amazonas, Faculdade de Ciências Agrárias, Departamento de Ciências Fundamentais e Desenvolvimento Agrícola.

^e Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia, Departamento de Ciências Básicas, Araçatuba, SP, Brasil.

Autor correspondente: Professora Dra. Cristina Antoniali
Endereço permanente: Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia, Departamento de Ciências Básicas – Rua José Bonifácio 1193, Vila Mendonça, Araçatuba, SP, CEP: 16015-050, Brasil.
E-mail: cristina.antoniali@unesp.br

Financiamento

O presente estudo recebeu apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001 e da Pró-reitora de Extensão e Cultura (PROEC) da UNESP – Proposta no. 1502 - Projeto Sorriso Feliz - Fortalecimento da Atenção Primária à Saúde Bucal na Primeiríssima e Primeira Infância na Educação Infantil do Estado de São Paulo - DRSII; BRLJ é bolsista PIBIC do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

¹ Formatado de acordo com a Archives of oral Biology - <https://www.sciencedirect.com/journal/archives-of-oral-biology/publish/guide-for-authors>

RESUMO

A saliva contém biomarcadores de estresse oxidativo, cuja expressão pode ser alterada pela presença de cárie. Este estudo avaliou se o tratamento restaurador atraumático (ART) altera a concentração de proteínas totais e de óxido nítrico na saliva de crianças com cárie em diferentes estágios. Foram selecionadas 45 crianças, entre 4 e 6 anos, atendidas nas EMEB de Araçatuba, SP, divididas em três grupos: sem cárie, cárie em esmalte, cárie em dentina. Amostras de saliva foram coletadas antes, imediatamente após e 21 dias após o tratamento clínico, pelo qual as lesões de cárie foram restauradas com Cimento Ionômero de Vidro. As coletas seguiram um protocolo que restringia o uso de produtos fluoretados. Foram conduzidos experimentos bioquímicos previamente padronizados para avaliar a concentração de proteínas totais e de nitrito (NO_2^-) salivar. O ART não alterou a concentração de nitrito (NO_2^-) salivar em crianças com cárie, mas aumentou a concentração de proteínas totais, com efeitos perceptíveis 21 dias após a intervenção, especialmente em crianças com cárie em dentina. Esses resultados indicam que o ART modifica o ambiente oral, destacando a importância de integrar pesquisa, educação e estratégias clínicas para otimizar a prevenção e controle da cárie dentária.

Palavras-Chave: saliva; cárie dentária; biomarcadores; proteína salivar; óxido nítrico; tratamento dentário restaurador sem trauma

1. INTRODUÇÃO

A cárie precoce da infância (CPI) é definida pela Academia Americana de Odontologia Pediátrica como a presença de superfícies dentárias afetadas, cavitadas ou não, restauradas ou ausentes, em dentes decíduos de crianças com menos de seis anos de idade (AAOP, 2024-2025). Trata-se de uma condição multifatorial que, se não tratada, pode comprometer a saúde bucal, sistêmica e social da criança (Pitts et al., 2019; Dülgergil et al., 2013). Entre as estratégias de tratamento, destaca-se a Tratamento Restaurador Atraumático (ART), que representa uma abordagem minimamente invasiva, eficaz e de baixo custo, adequada ao contexto da odontologia de mínima intervenção (Dorri et al.,

2017; Lima et al., 2008). Segundo a Organização Pan-Americana de Saúde (2025), o ART é uma técnica simples e eficaz para o tratamento da cárie dentária, especialmente em locais com recursos limitados. Consiste na remoção do tecido cariado e desmineralizado seguida da restauração com cimento de ionômero de vidro, que libera flúor. A técnica dispensa o uso de eletricidade, água corrente e anestesia, sendo amplamente adotada mundialmente. Sua aplicação, inclusive em ambientes extra clínicos como escolas, facilita o acesso ao cuidado e reduz o trauma do atendimento odontológico infantil.

A saliva humana é um fluido biológico composto por secreções das glândulas salivares maiores e menores, além de substâncias provenientes de fontes não glandulares que tem sido amplamente utilizada como ferramenta diagnóstica por conter uma variedade de biomarcadores capazes de refletir o estado fisiológico ou patológico do organismo (Cunha-Cruz et al., 2013; Javaid et al., 2016). A composição salivar inclui enzimas, hormônios, anticorpos e fatores de crescimento, além de microrganismos e metabólitos associados ao estresse oxidativo (Spielmann et al., 2010; Malamud et al., 2010; Senthil Eagappan et al., 2016; Hassaneen et al., 2017). Biomarcadores como proteínas totais, capacidade antioxidante total (TAC), ácido úrico (AU), superóxido dismutase (SOD) e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) têm sido investigados na cárie dentária, demonstrando associação com a gravidade das lesões (Battino et al., 2002; Silva et al., 2016; Araújo et al., 2020; Martins et al., 2021). A SOD desempenha um papel essencial na dismutação do ânion superóxido, convertendo-o em oxigênio e peróxido de hidrogênio (Halliwell, 1999), aumentando a biodisponibilidade do óxido nítrico (NO), que apresenta propriedades antimicrobianas e pode atuar como um mecanismo de defesa contra a cárie (Bayindir et al., 2005).

No entanto, o impacto do tratamento restaurador, como o ART, sobre a concentração salivar de proteínas totais e de NO ainda é pouco compreendido. Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito do ART nos níveis de proteínas totais e NO na saliva de crianças com cárie dentária. A hipótese é que o ART promova alterações transitórias nesses biomarcadores, principalmente em casos de lesões mais profundas, contribuindo para o

entendimento das respostas bioquímicas ao tratamento e para o aprimoramento do manejo clínico da cárie na infância.

2. 2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Cálculo Amostral

O tamanho da amostra foi calculado usando o OpenEpi (https://www.openepi.com/Menu/OE_Menu.htm), com base nos dados de concentração de proteínas salivares totais obtidos a partir de um estudo piloto envolvendo 45 crianças (dados não publicados). Considerando o poder de teste de 80% e um nível de significância de 5%, 45 crianças seriam suficientes para detectar uma diferença estatisticamente significativa de 0,23 mg/mL na concentração de proteína total na saliva entre os grupos.

2.2. Grupos experimentais

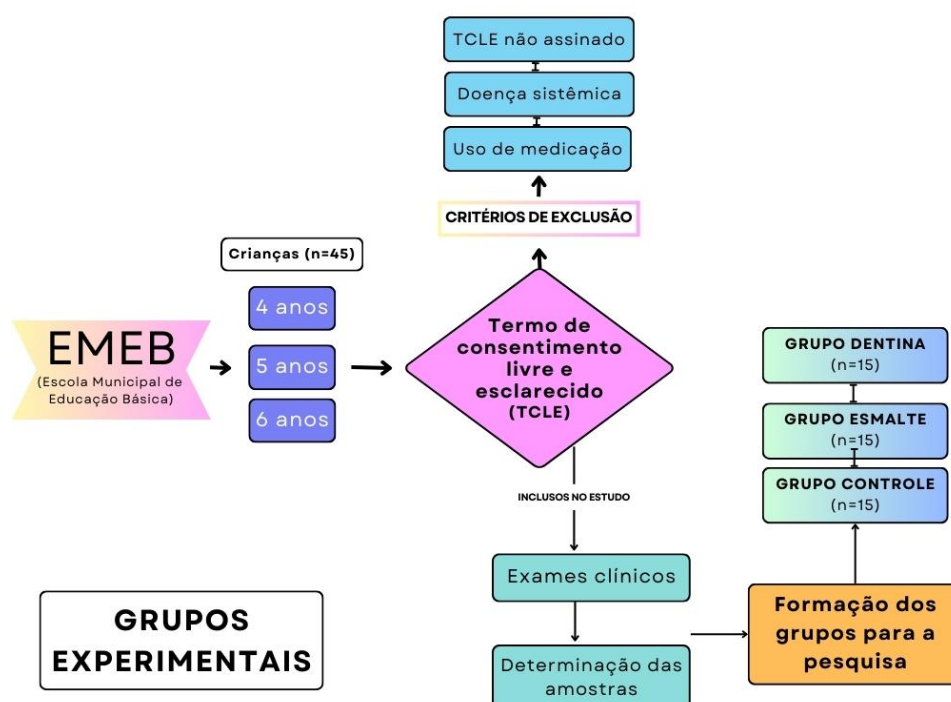
Crianças na faixa etária de 4-6 anos das Escolas Municipais de Educação Básicas (EMEB) foram selecionadas entre os pacientes avaliados no Projeto de Extensão “Sorriso Feliz” da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, acima citado.

Uma primeira reunião foi realizada com os professores, pais ou cuidadores das crianças para explicar detalhadamente o protocolo do estudo e responder a possíveis questões levantadas. Todas as crianças assistiram uma palestra e foram orientadas sobre saúde bucal, destacando a importância de hábitos saudáveis relacionados a alimentação e higienização bucal. Além disso, receberam *kits* de higiene bucal, contendo escova de dentes e pasta de dente fluoretada, cedidos pela Colgate, empresa parceira do Projeto Sorriso Feliz. Os termos de consentimento livre e esclarecido (TCLE) foram distribuídos a todos os pais/cuidadores das crianças e apenas as crianças autorizadas, que devolveram os TCLE assinados, participaram do estudo. Aquelas crianças que não tiveram os termos assinados, ou crianças com doenças sistêmicas e em uso de medicação, não fizeram parte do estudo (critérios de exclusão). Após a entrega dos Termos de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) devidamente assinados, os exames clínicos para avaliação da saúde bucal e das lesões de

cárie foram realizados por uma única cirurgiã-dentista (ARM), previamente treinada e calibrada, com concordância intraexaminadora de $\kappa = 0,835$. No ambiente escolar, além da luz natural, um fotóforo acoplado à cabeça da cirurgiã-dentista foi utilizado para garantir uma melhor iluminação e diagnóstico. Durante o exame clínico, a secagem da superfície dentária foi realizada com gaze estéril, possibilitando melhor visualização das lesões. Cada dente foi avaliado e a respectiva classificação foi ditada pela cirurgiã-dentista e foi registrada no odontograma pela assistente.

As crianças não foram divididas aleatoriamente, mas foram distribuídas nos seguintes grupos: Grupo de crianças sem cárie (n=15); Grupo de crianças com lesão intermediária de cárie - Cavitação em esmalte (n=15); Grupo de crianças com lesão de cárie em estágio avançado - Cavitação em dentina (n=15). A classificação em cavitação de esmalte ou de dentina foi feita a partir dos critérios do Sistema Internacional de Classificação e Gerenciamento de Cárie (ICCMSTM) (Ismail, Pitts e Tellez., 2015). Posteriormente, as crianças foram submetidas ao tratamento clínico da cárie.

No fluxograma (Fluxograma 1) foram representadas as primeiras etapas do estudo. Após o diagnóstico clínico, amostras de saliva foram coletadas dos três grupos experimentais em momentos específicos: antes, imediatamente após e 21 (vinte e um) dias após o tratamento clínico da cárie. As crianças sem cárie não foram submetidas a nenhum tratamento clínico, e as amostras de saliva foram coletadas em apenas um momento. As crianças com cárie de esmalte e de dentina foram submetidas ao ART com o ionômero de vidro *GC Gold Label 2 LC (Light Cured Universal Restorative-GIC)*, realizado pela cirurgiã-dentista/pesquisadora (ARM), no ambiente escolar. Uma nova coleta de saliva foi realizada imediatamente após a finalização do tratamento. Após 21 (vinte e um) dias do tratamento, uma nova avaliação clínica foi feita para confirmação da eficácia do tratamento de acordo com os parâmetros analisados, e uma nova amostra de saliva foi coletada de cada criança.



Fluxograma 1 - Fluxograma da formação dos grupos experimentais

2.3. Tratamento clínico

Os procedimentos do ART (Tourino et al., 2002; Nunes et al., 2013; Monnerat, 2015) seguiram os protocolos de remoção seletiva ou total das lesões com curetas específicas, de acordo com cada indicação. Em seguida, foi realizado o isolamento relativo da região e o condicionamento ácido (ácido poliacrílico 11,5%), por 15 segundos. Na sequência foi feita a lavagem da região com algodão estéril embebido em água e a secagem com bolas de algodão estéreis. Para selar a cavidade foi utilizado o cimento de Ionômero de vidro (acima citado) e na finalização do procedimento foram feitos os ajustes oclusais.

2.4. Coleta da Saliva

A saliva foi coletada entre 8:00 e 9:30 da manhã, sempre que possível. Todas as coletas foram feitas após 20 minutos da higiene bucal com água e escova de dentes, sem produtos fluoretados, para não haver interferência com as análises bioquímicas.

As amostras de saliva foram coletadas pela cirurgiã-dentista/pesquisadora (ARM) utilizando Salivette® (Sarstedt, Alemanha). Para isto, as crianças foram colocadas em cadeira ou no colo da cirurgiã-dentista/pesquisadora e o rolete de

algodão foi colocado abaixo da língua, por 5 minutos. Caso houvesse alguma intercorrência durante a coleta salivar, o procedimento era interrompido.

Os Salivettes®, contendo as amostras de saliva, foram mantidos em gelo até a centrifugação no laboratório de pesquisa. A centrifugação foi feita a 4000 x RPM durante 10 minutos (Eppendorf® Centrifuge 5810/5810R). Os sobrenadantes foram fracionados em alíquotas 100-500µL e mantidos a -80°C até o momento das análises bioquímicas.

2.5. Análises Bioquímicas

2.5.1. Quantificação da Concentração de Proteínas Salivares

A quantificação de proteínas foi feita em alíquotas de 20 µL de saliva pelo método de Lowry (Lowry et al., 1951). Foi utilizada uma curva padrão de diferentes concentrações de albumina de soro bovino 0,1 a 1mg/mL (0,1; 0,25; 0,5; 0,75; 1). Os valores de absorbância foram determinados a 660 nm, em espectrofotômetro (SPECTRAmax® 190 Microplate Spectrophotometer). Os resultados foram expressos mg/mL.

2.5.2. Quantificação de nitrito (NO₂⁻) salivar pelo Método de Griess

O NO é uma molécula altamente reativa que na presença de oxigênio se oxida a NO₂⁻. A concentração de NO₂⁻ nas amostras de saliva foi determinada pelo Método de Griess, com adaptações da técnica para as amostras de saliva (Bayindir et al., 2005). Foram adicionados 175 µL do reagente de Griess (sulfanilamida a 1% e 0,1% de dicloridrato de N- (1-naftil) etilenodiamina em 2,5% de ácido fosfórico) a 50 µL da saliva. A concentração de NO₂⁻ na amostra foi determinada por reação colorimétrica, a partir de uma curva padrão de nitrito de sódio (NaNO₂, 3,12 - 200 µmol/L). A absorbância foi lida a 570 nm em espectrofotômetro (SPECTRAmax® 190 Microplate Spectrophotometer). Os resultados foram expressos em µmol/L de NaNO₂.

2.6. Análise Estatística

Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa *R* versão 4.4.1 (2024-06-14). Para as análises gráficas foi usado pacote *ggplot2* versão

3.5.1 (2024-04-23) e para as análises inferenciais, pacotes dunn.test versão 1.3.6 (2024-04-12) e easyanova versão 11.0 (2024-09-14).

2.6.1 Estatística inferencial

As análises referentes à variável óxido nítrico (NO) foram realizadas por meio de teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis e quando significativo ($p < 0,05$), aplicou-se o teste post-hoc de Dunn para comparações múltiplas. A escolha para o teste não-paramétrico é explicada pela ausência de normalidade nos resíduos do modelo da ANOVA paramétrica (Shapiro-Wilk). Para a variável proteína, diferentemente, os pressupostos de normalidade, homoscedasticidade dos resíduos do modelo foram atendidos e portanto, optou-se pelo uso da ANOVA paramétrica com teste post-hoc de (Tukey, Duncan, $p < 0,05$).

3. 3. RESULTADOS

As concentrações de Proteína Total e NO foram comparadas inicialmente, entre as amostras de saliva das crianças dos diferentes grupos antes da realização do tratamento (ART0). A concentração de proteína total e NO_2^- foram analisadas no grupo de crianças sem cárie em apenas um momento, que coincide com o tempo zero dos outros grupos.

Em uma primeira análise (Fig.1) foi comparada a concentração de proteína total salivar entre os grupos no tempo zero (ART0), ou seja antes do tratamento. A análise estatística dos resultados obtidos não revelou diferenças significativas ($p = 0,085$) entre as crianças sem cárie e os grupos de crianças com cárie, grupos esmalte e dentina avaliados conjuntamente.

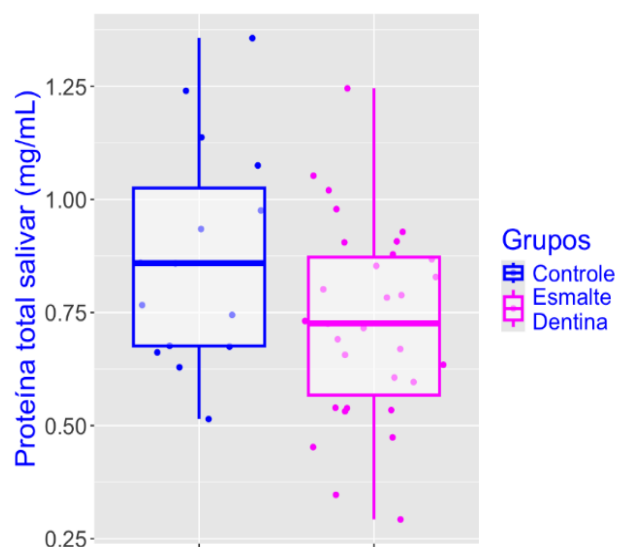


Figura 1. Boxplots para a variável Proteína total salivar (mg/mL) entre o grupo controle (sem cárie) e grupos esmalte e dentina (com cárie) no tempo zero (ART₀), comparação pelo Teste de Kruskal-Wallis.

A concentração de NO_2^- na saliva apresentou diferença estatisticamente significativa entre crianças sem cárie e os grupos de crianças com cárie (Fig. 2A, $p = 0,002$). Para identificar quais grupos diferem entre si, a análise foi realizada separadamente (Fig. 2B). Antes do tratamento (ART₀), não houve diferença significativa na concentração de NO_2^- salivar entre o grupo esmalte e o grupo sem cárie ($p = 0,094$), nem entre os grupos esmalte e dentina ($p = 0,157$). No entanto, foi observada uma diferença significativa entre o grupo dentina e o grupo sem cárie ($p = 0,001$), indicando que crianças com cárie em dentina apresentam uma concentração salivar de NO_2^- maior do que crianças sem cárie.

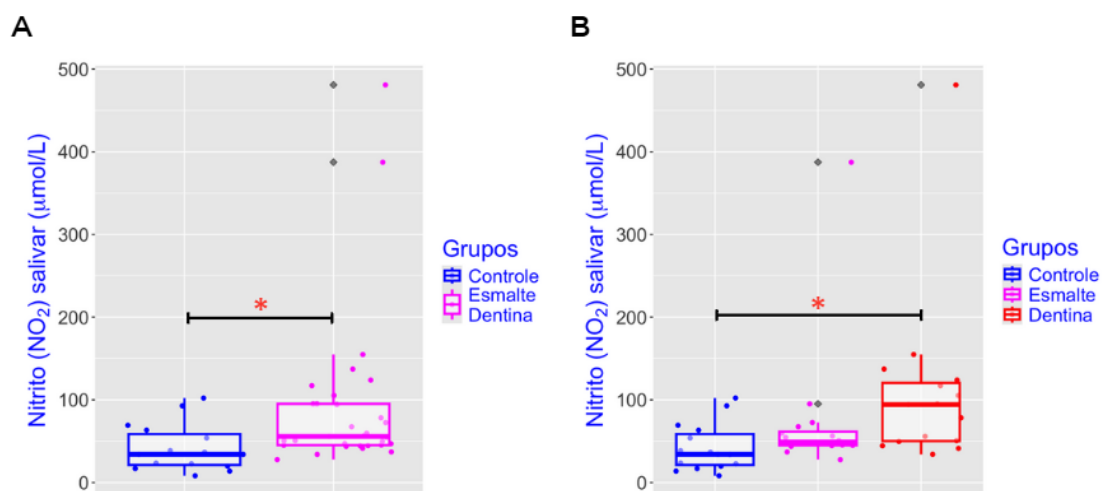


Figura 2. Em A, Bloxpots para a variável NO_2^- salivar entre crianças sem e com cárie. Em B, Boxplots para a variável NO_2^- salivar entre os grupos experimentais no tempo zero (ART_0) (Teste de Kruskal-Wallis, $*p=0,001$).

Para avaliarmos a possível influência da variável tempo na concentração de proteína total e de NO_2^- , comparamos os valores obtidos nas amostras coletadas nos diferentes tempos estudados entre os grupos (Fig. 3).

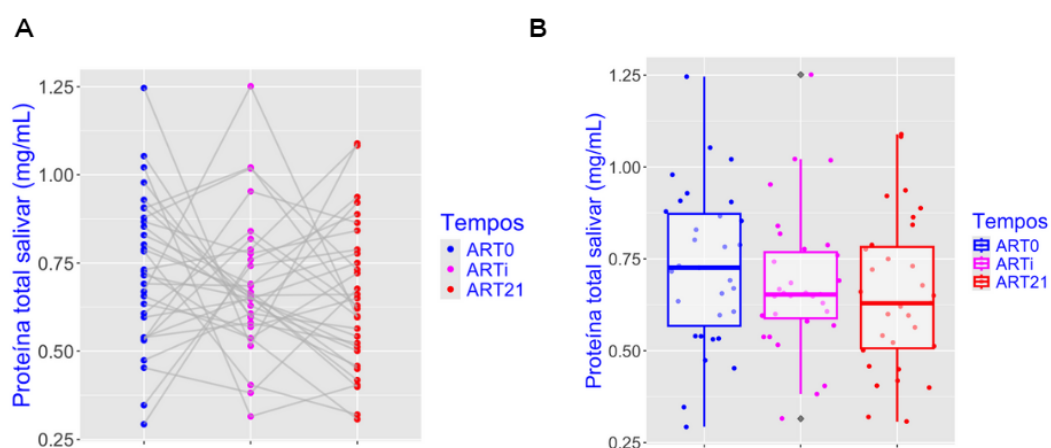


Figura 3. Em A, trajetória individual da proteína total salivar (mg/mL) em três tempos. Em B, Boxplots para a variável proteína total salivar comparada entre os tempos entre as crianças com cárie.

Quando avaliamos a influência do tempo (ART_0 , ART_i , ART_{21}) no grupo esmalte e dentina conjuntamente (Fig. 3A e 3B), ou seja, para as crianças com cárie, sem considerar a gravidade da lesão, foi observado que não houve diferenças na concentração de proteínas totais salivares entre os tempos analisados (ART_0 vs ART_{21} $p=0,209$, ART_0 vs ART_i $p=0,512$, ART_i e ART_{21}

$p=0,897$). Estas análises comparativas mostraram que o tempo (ART_0 , ART_i e ART_{21}) não é uma variável que determina possíveis diferenças na concentração de proteína total salivar.

Quando comparamos a NO_2^- salivar em função do tempo (Fig. 4A e 4B), não foram encontradas diferenças nos valores quando comparados ART_0 vs ART_{21} ($p=1,000$), ART_0 vs ART_i ($p=1,000$), ART_i vs ART_{21} ($p=1,000$). Com isso, mostramos que o tempo (ART_0 , ART_i e ART_{21}) não é uma variável que determina possíveis diferenças encontradas na NO_2^- entre os grupos.

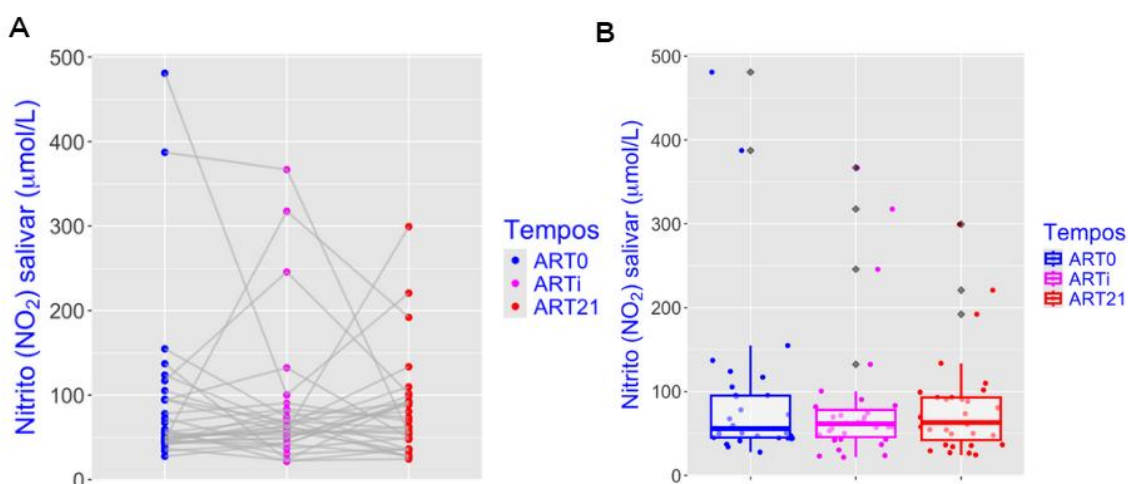


Figura 4. Em A, trajetória individual da concentração de NO_2^- ($\mu\text{mol/L}$) em três tempos. Em B, Boxplots para a variável NO_2^- salivar comparada entre os tempos.

A análise estatística dos resultados obtidos dentro de cada grupo (esmalte ou dentina) mostrou que as concentrações de proteína total e NO_2^- na saliva das crianças podem ou não ser alteradas em função do tipo de lesão e pelo tratamento da cárie (Fig.5).

No grupo esmalte (Fig. 5A), a comparação da concentração de proteína total na saliva das crianças antes e após o tratamento, não revelou diferenças significativas (ART_0 vs ART_{21} , $p=1,000$, ART_0 vs ART_i , $p=0,3956$, ART_i vs ART_{21} , $p=0,487$). Da mesma forma, a concentração de NO_2^- salivar (Fig. 5B) não foi diferente antes e após o tratamento (ART_0 vs ART_{21} , $p=1,000$, ART_0 vs ART_i , $p=1,000$, ART_i vs ART_{21} , $p=1,000$).

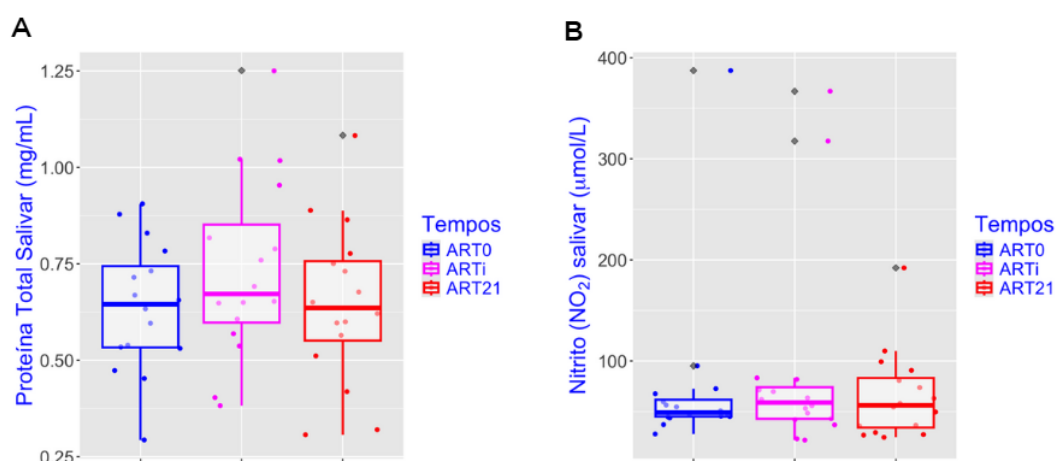


Figura 5. Em A, Boxplots para a variável proteína total salivar, e em B, Boxplots para a variável NO₂⁻ salivar comparadas antes e após o ART, no grupo esmalte.

No entanto, em crianças com cárie em dentina, a análise comparativa revelou uma redução nos valores de mediana da concentração de proteína total após o ART (Fig.6A). Foi observada diferença significativa entre os períodos ART₀ e ART₂₁ ($p=0,043$), ART₀ e ART_i ($p=0,016$), mas não entre ART_i e ART₂₁ ($p=1,000$). No entanto, nas mesmas crianças com cárie em dentina, não foram observadas diferenças significativas na concentração de NO₂⁻ salivar antes e após o tratamento (Fig.6B).

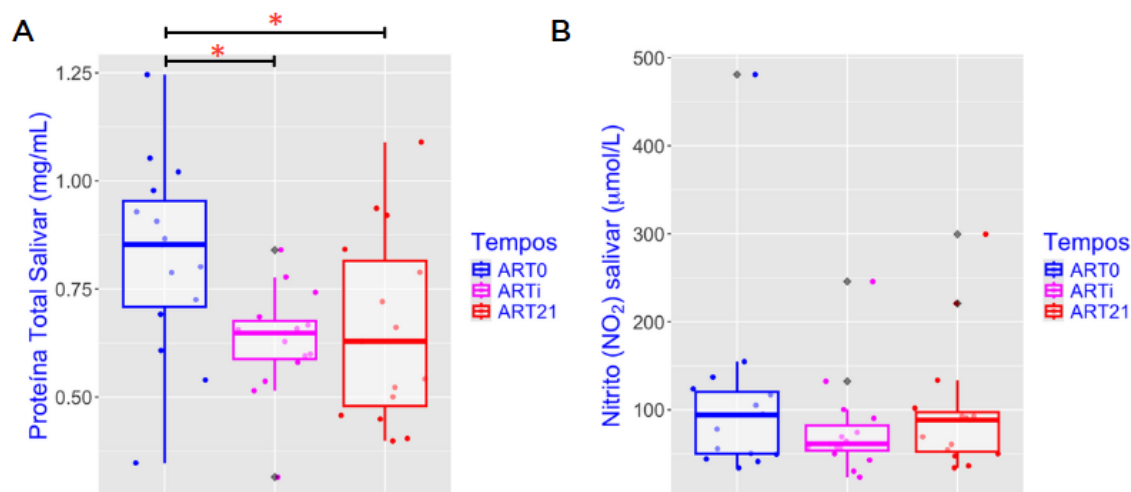


Figura 6. Em A, Boxplots para a variável proteína total salivar, e em B, Boxplots para a variável NO₂⁻ salivar comparadas antes e após o ART no grupo dentina (* $p=0,04$; ** $p=0,016$).

Os resultados mostraram que, em crianças com cárie em dentina, a concentração de proteína total salivar reduz imediatamente e 21 dias após o ART. No entanto, não houve alteração na concentração de NO_2^- salivar.

Avaliamos se o ART normalizaria a concentração de proteína total e NO_2^- salivar comparando os resultados obtidos na saliva de crianças com experiência de cárie após 21 dias de tratamento com os resultados obtidos nas crianças sem cárie.

A concentração de proteína total (Fig. 7A) na saliva de crianças do grupo esmalte ($p=0,0112$) e do grupo dentina ($p=0,0109$) foi significativamente menor aos 21 dias após o ART se comparada à saliva do grupo controle, embora não haja diferença significativa entre o grupo esmalte e o grupo dentina ($p=0,9506$).

Quanto a NO_2^- (Fig. 7B), os dados revelaram uma diferença significativa entre o grupo dentina ($p=0,026$) e o grupo sem cárie, mas não houve diferença entre o grupo esmalte ($p=0,1388$) e o sem cárie, ou entre o grupo esmalte e o grupo dentina ($p=0,1991$).

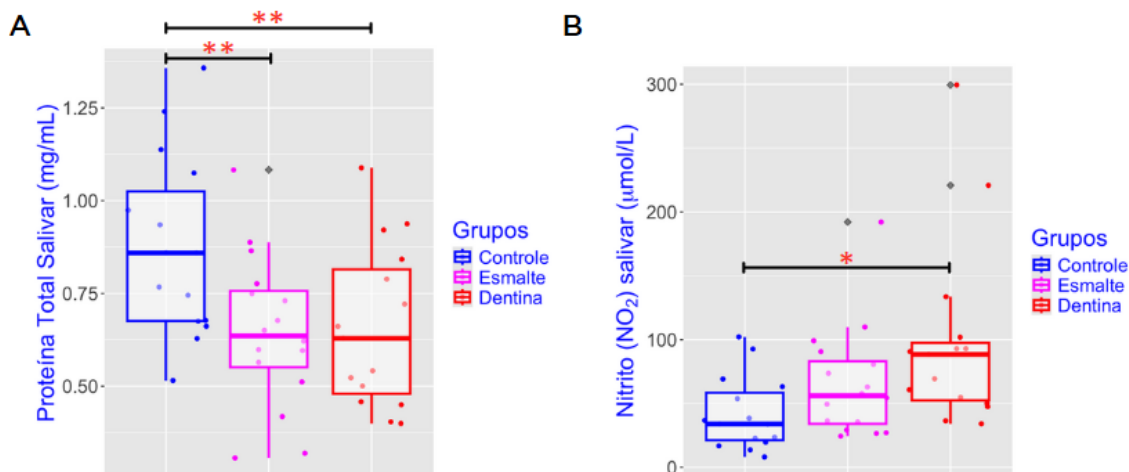


Figura 7. Boxplots para os níveis de proteína total salivar (A) e NO_2^- salivar (B) comparados entre os grupos de crianças com experiência de cárie em esmalte e em dentina, após 21 dias de tratamento, em relação às crianças sem cárie. As análises foram realizadas utilizando o Teste de Duncan para proteína total e o teste de Kruskal-Wallis para NO_2^- . Os valores de significância foram indicados por * $p<0,05$, ** $p<0,01$ e *** $p<0,001$.

Estes resultados mostram que após 21 dias do ART a concentração de NO_2^- salivar em crianças com experiência de cárie em dentina está alterada, e continua aumentada mantendo o padrão de concentração observado no tempo zero (Fig.2).

4. DISCUSSÃO

Nossos resultados mostraram que 21 após o ART, a composição bioquímica da saliva em crianças com experiência de cárie em esmalte ou em dentina está alterada. A concentração de proteína total salivar após o ART foi reduzida, mas a concentração de NO não foi alterada.

A concentração de proteína total salivar, assim como a microbiota oral, vem sendo considerada como preditor de risco, ou biomarcador à cárie na primeira infância (Hemadi et al., 2017). Diversos estudos têm investigado a relação entre a cárie dentária, considerando a gravidade ou progressão, e alterações na concentração de proteína total salivar, porém os achados não são conclusivos uma vez que uma variedade de métodos de coleta e de análise comprometem a interpretação dos resultados obtidos. Os resultados apresentados por Raja et al. (2025) indicaram que cerca de 62% das proteínas totais salivares possuem uma associação aumentada estatisticamente significativa com a cárie, destacando seu potencial biomarcador da doença. No entanto, no estudo os autores salientaram os desafios para se estabelecer uma relação consistente entre proteínas salivares totais e suscetibilidade à cárie dentária. Como essas proteínas são componentes endógenos da saliva, sua expressão não pode ser controlada. Assim, estudos que investigam essa associação dependem exclusivamente das diferenças nos níveis ou na expressão das proteínas salivares totais entre indivíduos livres de cárie e aqueles com cárie ativa.

Uma revisão sistemática sugeriu que alterações da concentração de proteínas salivares totais podem estar associadas a cárie dentária, mas também a outros fatores como idade e sexo (Martins et al., 2022). Porém, nesta mesma revisão, foram relatados diferentes estudos que demonstraram que

concentração de proteína total na saliva de crianças com cárie dentária é maior do que no grupo sem cárie, independentemente da idade se avaliada até 6 anos, ou do sexo, se avaliada antes das alterações hormonais associadas ao desenvolvimento (Martins et al., 2022). Porém, não foram encontradas diferenças significativas na concentração de proteína total salivar entre crianças de 4-6 anos de idade, meninos ou meninas, sem ou com cárie dental (3 superfícies com necessidade de restauração), que tiveram a salivação mecanicamente estimulada por mastigação de parafina (Fargaly et al., 2013). Os resultados mostrados no presente estudo corroboram os últimos acima citados uma vez que diferenças na concentração de proteína total não foram encontradas na saliva de crianças, 4-6 anos, sem cárie ou com cárie em esmalte e dentina.

Considerando que a composição bioquímica salivar poderia ser alterada pela cárie, levantamos a hipótese que tratamentos clínicos da cárie poderiam reverter possíveis alterações. No entanto, relatos sobre a análise da saliva em crianças submetidas à ART ainda são limitados.

Recentemente demonstramos que quando crianças (4-6 anos) com cárie em dentina foram tratadas clinicamente, a concentração de proteína total salivar foi reduzida imediatamente após o ART, seguida de um aumento nesta concentração em 7 dias após o tratamento (Lopes et al., 2025). Corroborando parcialmente estes resultados, os resultados do presente estudo mostraram que houve uma diminuição significativa da concentração proteica imediatamente após a ART, que se manteve aos 21 dias após o tratamento, em crianças com cárie dentina. Para nosso conhecimento, este é o primeiro estudo que mostra o efeito a longo prazo do ART na concentração de proteína salivar total em crianças com cárie em dentina. Esses achados sugerem que o ART, além de sua eficácia na interrupção da progressão das lesões cariosas, contribui para a modificação do ambiente oral, tornando-o menos favorável ao desenvolvimento de novas lesões. Se a alimentação e a higiene bucal das crianças não forem alteradas durante esse período, os fatores que contribuem para o desenvolvimento da cárie poderiam continuar atuando. Isso poderia fazer com que o organismo aumentasse a concentração de proteínas totais salivares como

uma resposta protetora ao longo do tempo, especialmente em crianças com maior predisposição a desenvolver cárie mais severa. Os dados sugerem que o período de 21 dias após o tratamento restaurador das lesões de cárie em dentina, condição severa de cárie dental, foi suficiente para modificar o ambiente oral associado à doença, uma vez que a concentração de proteínas totais salivares diferiu daquela observada antes do tratamento.

A cárie dentária em crianças impacta o equilíbrio redox da saliva, pois sua gravidade está associada ao aumento da atividade dos sistemas antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos (Araújo et al., 2020). No entanto, devido à natureza crônica da cárie e à influência de fatores como idade e métodos de coleta salivar, estudos indicam que sua progressão pode reduzir os níveis de NO na saliva e na placa dentária (Bayindir et al., 2005). Embora as evidências ainda sejam limitadas, o NO salivar é um potencial biomarcador da cárie dentária. Entretanto, diversas variáveis, como idade dos pacientes, técnicas de coleta e métodos bioquímicos de análise, podem interferir nos níveis de NO_2^- na saliva (Diaz-Fabregat et al., 2024).

A quantificação de NO_2^- salivar é feita por diferentes métodos bioquímicos como o método colorimétrico de Griess, técnicas fluorescentes, quimioluminescência e detecção eletroquímica (Hetrick & Schoenfisch, 2009). Em nosso estudo, a concentração de NO na saliva de crianças sem e com cárie, antes e após o ART, foi avaliada indiretamente pelo método de Griess, que quantifica a concentração de nitrito ($[\text{NO}_2^-]$) em meios oxigenados como a saliva.

Um estudo longitudinal revelou que os níveis de NO_2^- na saliva aumentam à noite e são mais elevados em adultos mais velhos, especialmente em homens. Além disso, esses níveis apresentam pouca variação diária, mas mudanças mais significativas foram observadas ao longo de 4 a 6 anos de observação (Mirvish et al., 2000). Em nosso estudo, foi observado que na saliva das crianças avaliadas, os níveis de NO_2^- permaneceram estáveis dentro do período analisado de 0 a 21 dias.

A concentração de nitrato na saliva varia com a taxa de fluxo salivar e o método de coleta, pois a estimulação aumenta sua produção e conversão em nitrito (Granli et al., 1990). Em nosso estudo, a saliva foi coletada seguindo um

protocolo padronizado para coleta fora do consultório odontológico (Silva et al., 2016; Araújo et al., 2020; Lopes et al., 2025), minimizando a interferência do método na $[\text{NO}_2^-]$ salivar.

Após descartar possíveis influências metodológicas, nossos resultados indicam que a concentração de NO_2^- salivar aumenta conforme a gravidade da cárie, sendo maior em crianças com lesões em dentina. Esse achado corrobora estudo prévio que relatou níveis significativamente mais altos de NO_2^- salivar em crianças com cárie, especialmente em casos mais severos, em comparação às crianças livres da doença (Duncan et al., 1995). Esse aumento pode representar uma resposta protetora do hospedeiro contra bactérias cariogênicas, já que altas concentrações de NO podem inibir o crescimento bacteriano ou potencializar a citotoxicidade dos macrófagos presentes na saliva (Duncan et al., 1995). Além disso, a elevação do NO_2^- salivar pode estar associada à presença de biofilme oral e à proliferação de microrganismos produtores de NO (Diaz-Fabregat et al., 2024).

A superfície posterior da língua é a principal responsável pela redução de nitrato na cavidade oral, influenciada pela quantidade de bactérias anaeróbias presentes (Doel et al., 2005). Estudos em ratos mostraram que essa atividade ocorre predominantemente nessa região, onde há maior concentração de bactérias gram-negativas nas fissuras linguais (Li et al., 1997). A importância da microbiota oral na geração de NO_2^- salivar foi confirmada em ratos livres de germes, que produziram níveis insignificantes de NO_2^- salivar mesmo após ingestão de nitrato, e em ratos tratados com enxaguatório antisséptico, nos quais a produção de NO_2^- salivar foi drasticamente reduzida (Sobko et al., 2004).

Foi esperado que o ART, a partir da remoção da lesão de cárie, reverteresse as alterações da homeostase do NO_2^- salivar associadas à cárie. Contrariamente ao esperado, nossos resultados mostraram que 21 dias após o ART, a concentração de NO_2^- salivar manteve-se aumentada em crianças que tiveram a experiência de cárie em dentina. Este resultado mostra que o impacto do ART na homeostase do NO_2^- salivar é mínimo e sugere que a criança com experiência de cárie apresentará aumento de NO salivar, independentemente de tratamentos clínicos. Possivelmente, este é o primeiro estudo que avaliou o

impacto do ART na concentração de NO_2^- salivar em crianças com experiência de cárie.

Outros fatores, além dos avaliados, eventualmente poderiam influenciar a concentração de nitrito salivar após o ART. Um estudo recente (Akgul et al., 2025) mostrou que restaurações de dentes cariados em adultos (18-25 anos) com resina composta de formulação específica (TEGDMA 1–5%, Bis-GMA 1–5%, Bis-EMA 5–10%, UDMA 5–10%, single bond contendo Bis-GMA 10–30%, HEMA 5–25%, e dimethacrylates 7–28%, e 38% ácido fosfórico) modificou a concentração de NO na saliva dos pacientes tratados. No estudo de Akgul et al., (2025), os autores avaliaram a concentração de NO_2^- salivar, pelo método de Griess, 1h, 1 dia, 7 e 30 dias após a restauração dental e observaram maior concentração de NO_2^- salivar aos 7 e 30 dias após o tratamento, sugerindo que o aumento do nível de NO_2^- salivar em intervalos de tempo regulares seria associado a monômeros residuais liberados na saliva após a restauração. Estes achados reforçaram a observação que o 2-hidroxi-etil metacrilato (HEMA), principal componente liberado de cimentos de ionômero de vidro modificados por resina e adesivos dentais podem promover citotoxicidade dose-dependente no epitélio oral e polpa dentária, células S–G epiteliais gengivais humanas e fibroblastos de polpa, respectivamente, pela produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e depleção de glutathione intracelular (GSH) (Chang et al., 2005). Além disto, os autores observaram variações na concentração de ácido úrico salivar, principal antioxidante não enzimático salivar, sugeriram que alterações no equilíbrio redox estariam ocorrendo após a aplicação de restaurações com resina composta e isso seria causado pelos monômeros residuais liberados na saliva.

Reforçando nossos achados, em um estudo recente (Lopes et al., 2025) foi demonstrado um aumento significativo na quantidade de espécies reativas de oxigênio, e uma redução da capacidade antioxidante e da concentração de ácido úrico na saliva de crianças após o ART, principalmente naquelas com a pior condição clínica, ou seja, aquelas com dois dentes cariados e lesões de cárie na dentina. Após 7 dias de tratamento, os valores aumentados de TBARS encontrados na saliva não foram diferentes daqueles obtidos imediatamente

após a ART (Lopes et al., 2025). Esses dados sugerem que, embora os materiais restauradores utilizados no ART tenham benefícios clínicos, eles podem influenciar o equilíbrio redox salivar, mas sem impacto significativo nas concentrações de NO_2^- salivar. No entanto, apesar de este estudo ter sido cuidadosamente planejado, algumas limitações devem ser consideradas. Entre elas, destacam-se o uso (ou não) de produtos fluoretados, a frequência da escovação dental diária, variações na microbiota oral e na dieta ao longo dos 21 dias de avaliação, além da influência da presença (ou ausência) de biofilme na composição salivar. Tais fatores dificultam uma compreensão precisa do efeito do ART sobre a composição da saliva. Assim, são necessários novos estudos para aprofundar o entendimento dos efeitos do ART nos processos bioquímicos salivares.

Nossos resultados corroboram a proposta previamente defendida pela OPAS quanto à utilização do ART, ao demonstrar que, além de interromper clinicamente a progressão das lesões de cárie, esse método também promove alterações benéficas na composição bioquímica da saliva.

5. CONCLUSÃO

O tratamento restaurador atraumático (ART) altera a composição salivar, influenciando as concentrações de proteína total e NO_2^- . Após 21 dias, observamos um aumento da concentração de proteína total, especialmente em crianças com cárie em dentina, e maior concentração de NO_2^- salivar em comparação às crianças sem cárie, embora a relação direta com o ART ainda deva ser melhor esclarecida. Esses resultados sugerem que o ART modifica o ambiente oral e pode impactar benéficamente a saúde bucal, destacando a importância de estratégias clínicas integradas à pesquisa para a prevenção e controle da cárie dentária.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Akgul, N., Gul, P., & Alp, H. H. (2015). Effects of composite restorations on nitric oxide and uric acid levels in saliva. *Contemporary Clinical Dentistry*, 6(3), 381–385.

Academia Americana de Odontologia Pediátrica. (2024-2025). Política sobre cárie na primeira infância (ECC): consequências e estratégias preventivas. *The Reference Manual of Pediatric Dentistry*, 89-92.

Arana, C., Moreno-Fernández, A. M., Gómez-Moreno, G., Morales-Portillo, C., Serrano-Olmedo, I., & Martín Hernández, T. (2017). Increased salivary oxidative stress parameters in patients with type 2 diabetes: Relation with periodontal disease. *Endocrinología, Diabetes y Nutrición*, 64(5), 258–264.

Araujo, H. C., Nakamune, A. C. M. S., Garcia, W. G., Pessan, J. P., & Antoniali, C. (2020). Carious lesion severity induces higher antioxidant system activity and consequently reduces oxidative damage in children's saliva. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020, Article ID 3695683.

Barbadoro, P., Ponzio, E., Coccia, E., Prospero, E., Santarelli, A., Rappelli, G. G. L., & D'Errico, M. M. (2021). Association between hypertension, oral microbiome and salivary nitric oxide: A case-control study. *Nitric Oxide: Biology and Chemistry*, 106, 66–71.

Battino, M., Ferreiro, M. S., Gallardo, I., Newman, H. N., & Bullon, P. (2002). The antioxidant capacity of saliva. *Journal of Clinical Periodontology*, 29, 189–194.

Bayindir, Y.Z., Polat, M.F., Seven, N. (2005). Nitric oxide concentrations in saliva and dental plaque in relation to caries experience and oral hygiene. *Caries Research*, 39(2), 130-3.

Betteridge, D. J. (2000). What is oxidative stress? *Metabolism*, 49(2 Suppl 1), 3–8.

Buczko, P., Zalewska, A., & Szarmach, I. (2015). Saliva and oxidative stress in oral cavity and in some systemic disorders. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 66(1), 3–9.

Chang, H. H., Guo, M. K., Kasten, F. H., Chang, M. C., Huang, G. F., Wang, Y. L., Wang, R. S., & Jeng, J. H. (2005). Stimulation of glutathione depletion, ROS production and cell cycle arrest of dental pulp cells and gingival epithelial cells by HEMA. *Biomaterials*, 26(7), 745-753.
<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2004.03.021>

Cunha-Cruz, J., Scott, J., Rothen, M., Mancl, L., Lawhorn, T., Brossel, K., & Berg, J.; Northwest Practice-based REsearch Collaborative in Evidence-based DENTistry. (2013). *Salivary characteristics and dental caries: Evidence from general dental practices. Journal of the American Dental Association*, 144(5), e31–e40.

Darczuk, D., Krzysciak, W., Vyhouskaya, P., Kesek, B., Galecka-Wanatowicz, D., Lipska, W., Kaczmarzyk, T., Gluch-Lutwin, M., Mordyl, B., & Chomyszyn-Gajewska, M. (2016). Salivary oxidative status in patients with oral lichen planus. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 67(6), 885–894.

Díaz-Fabregat, B., Ramírez-Carmona, W., Cannon, M. L., Monteiro, D. R., Pessan, J. P., & Antoniali, C. (2024). Are salivary NO₂⁻/NO₂⁻ and NO₃⁻ levels biomarkers for dental caries in children? Systematic review and meta-analysis. *Nitric Oxide*, 144, 11-19.

Dinno, A. (2024). *dunn.test: Dunn's test of multiple comparisons using rank sums*. R package version 1.3.6. <https://CRAN.R-project.org/package=dunn.test>

Doel, J. J., Hector, M. P., Amirtham, C. V., Al-Anzan, L. A., Benjamin, N., & Allaker, R. P. (2004). Protective effect of salivary nitrate and microbial nitrate

reductase activity against caries. *European Journal of Oral Sciences*, 112(5), 424–428.

Doel, J. J., Benjamin, N., Hector, M. P., Rogers, M., & Allaker, R. P. (2005). Evaluation of bacterial nitrate reduction in the human oral cavity. *European Journal of Oral Sciences*, 113(1), 14–19.

Dorri, M., Martinez-Zapata, M. J., Walsh, T., Marinho, V. C., Deceased, S. A., & Zaror, C. (2017). Tratamento restaurador atraumático versus tratamento restaurador convencional para o manejo de cáries dentárias. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 12(12).

Dülgergil, Ç., Dalli, M., Hamidi, M., & Çolak, H. (2013). Early childhood caries update: A review of causes, diagnoses, and treatments. *Journal of Natural Science, Biology and Medicine*, 4, 29.

Duncan, C., Dougall, H., Johnston, P., et al. (1995). Chemical generation of nitric oxide in the mouth from dietary nitrate. *Nature Medicine*, 1(6), 546–551.

Farghaly, J. G., Fachin, L. V., Otton, R., Guaré, R. O., & Leite, M. F. (2013). Efeito do gênero na cárie dentária e nos parâmetros salivares de crianças. *Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada*, 13(1), 11-15.

Granli, T., Dahl, R., Brodin, P., & Bøckman, O. C. (1989). Nitrate and nitrite concentrations in human saliva: Variations with salivary flow-rate. *Food and Chemical Toxicology*, 27(10), 675-680.

Halliwell, B. (1999). Antioxidant defence mechanisms: From the beginning to the end (of the beginning). *Free Radical Research*, 31(4), 261–272.

Hassaneen, M., & Maron, J. L. (2017). Salivary diagnostics in pediatrics: Applicability, translatability, and limitations. *Frontiers in Public Health*, 5, 83.

Hegde, A. M., Neekhara, V., & Shetty, S. (2008). Evaluation of levels of nitric oxide in saliva of children with rampant caries and early childhood caries: A comparative study. *The Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 32(4), 283–286.

Hemadi, A. S., Huang, R., Zhou, Y., & Zou, J. (2017). Salivary proteins and microbiota as biomarkers for early childhood caries risk assessment. *International Journal of Oral Science*, 9(11), e1.

Hetrick, E. M., & Schoenfisch, M. H. (2009). Analytical chemistry of nitric oxide. *Annual Review of Analytical Chemistry*, 2, 409–433.

H. Wickham. ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. Springer-Verlag New York, 2016.

Ismail, A. L., Pitts, N. B., & Tellez, M. (2015). The International Caries Classification and Management System (ICCMSTM) is an example of a Caries Management Pathway. *BMC Oral Health*, 15(1), 1-13.

Javaid, M. A., Ahmed, A. S., Durand, R., & Tran, S. D. (2016). Saliva as a diagnostic tool for oral and systemic diseases. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*, 6(1), 66–75.

Lima, D. C., Saliba, N. A., & Moimaz, S. A. S. (2008). Tratamento restaurador atraumático e sua utilização em saúde pública. *Revista Gaúcha de Odontologia*, 56(1), 75-79.

Lisboa, A. C. G. (2022). A severidade da cárie na primeira infância aumenta a atividade da SOD sensível ao KCN, reduz as proteínas carboniladas e aumenta a biodisponibilidade do óxido nítrico na saliva (Master's thesis). Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba.

Lopes, A. O., de Freitas, R. N., Fiais, G. A., Horta, H. F., Mateus, A. R., Araujo, H. C., Aranega, A. M., Díaz-Fabregat, B., Chaves-Neto, A. H., & Antoniali, C.

(2025). Atraumatic restorative treatment induces transient changes in salivary total protein and redox biomarkers in children with caries: A non-randomized clinical study. *Journal of Dentistry*, 153, 105521.

Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193(1), 265–275.

Malamud, D. (2011). Saliva as a diagnostic fluid. *Dental Clinics of North America*, 55(1), 159–178.

Martins, J. R., Díaz-Fabregat, B., Ramírez-Carmona, W., Monteiro, D. R., Pessan, J. P., & Antoniali, C. (2022). Salivary biomarkers of oxidative stress in children with dental caries: Systematic review and meta-analysis. *Archives of Oral Biology*, 139, 105432.

Mirvish, S. S., Reimers, K. J., Kutler, B., Chen, S. C., Haorah, J., Morris, C. R., Grandjean, A. C., Lyden, E. R. (2000). Nitrate and nitrite concentrations in human saliva for men and women at different ages and times of the day and their consistency over time. *European Journal of Cancer Prevention*, 9(5), 335-342.

Monnerat, A. F. (2015). TRA – Tratamento restaurador atraumático: Abordagem clínica em saúde pública – Conceito, técnica, tratamento e materiais. Elsevier.

Nunes, O. B. C., Silva, F. M. da, Souza, M. L. R. de, & Almeida, R. C. de. (2003). Avaliação clínica do tratamento restaurador atraumático (ART) em crianças assentadas do movimento sem-terra. *Revista da Faculdade de Odontologia de Lins*, 15(1), 23–31.

Organização Pan-Americana da Saúde. (2025). *Saúde bucal*. <https://www.paho.org/pt/topicos/saude-bucal>

Pitts, N., Baez, R., & Diaz-Guallory, C. (2019). Early Childhood Caries: IAPD Bangkok Declaration. *International Journal of Paediatric Dentistry*, 29, 384-386.

Pitts, N. B., Baez, R. J., Diaz, C., Guillory, K. J., Donly, C. A., Feldens, C., McGrath, P., Phantumvanit, W. K., Seow, N., Sharkov, Y. S., Ngpaisan, N., & Tinanoff, S. (2019). Early Childhood Caries: IAPD Bangkok Declaration. *Journal of Dentistry for Children*, 86, 72.

Qu, X. M., Wu, Z. F., Pang, B. X., Jin, L. Y., Qin, L. Z., & Wang, S. L. (2016). From nitrate to nitric oxide: The role of salivary glands and oral bacteria. *Journal of Dental Research*, 95(13), 1452-1456.

Raja, M., Nazzal, H., Cyprian, F. S., et al. (2025). Associação de proteínas salivares com cáries dentárias em crianças com dentição mista: uma revisão sistemática. *European Archives of Paediatric Dentistry*.

R Core Team. (2024). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>

Şengül, V., Güney, Z., Kurgan, Ş., Önder, C., Serdar, M. A., & Günhan, M. (2022). Evaluation of salivary and serum methylated arginine metabolites and nitric oxide synthase in advanced periodontitis patients. *Clinical Oral Investigations*, 26(7), 5061–5070.

Senthil, E. A. R., Arun, P. R. V., Sujatha, S., Senthil, S., Sathiyajeeva, J., & Rajaraman, G. (2016). Evaluation of salivary nitric oxide level in children with early childhood caries. *Dental Research Journal (Isfahan)*, 13(4), 338-341.

Silva, V. P., Troiano, J. A., Nakamune, A. C. M. S., Pessan, J. P., & Antoniali, C. (2016). Increased activity of the antioxidants systems modulate the oxidative stress in saliva of toddlers with early childhood caries. *Archives of Oral Biology*, 70, 62-65.

Sobko, T., Reinders, C., Norin, E., Midtvedt, T., Gustafsson, L. E., & Lundberg, J. O. (2004). Gastrointestinal nitric oxide generation in germ-free and conventional rats. *American Journal of Physiology Gastrointestinal Liver Physiology*, 287(5), G993-G997.

Spielman, N., & Wong, D. T. (2011). Saliva: Diagnostics and therapeutic perspectives. *Oral Diseases*, 17, 345-352.

Tourino, L. F. P. G., Imparato, J. C. P., Volpato, S., & Puig, A. V. C. (2002). O tratamento restaurador atraumático (ART) e sua aplicabilidade em saúde pública. *Jornal Brasileiro de Clínica Odontológica Integrada*, 6(31), 78–83.

ANEXOS

ANEXO A – COMITÊ DE ÉTICA

UNESP - FACULDADE DE ODONTOLOGIA-CAMPUS DE ARAÇATUBA/ UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"	
---	--

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação do efeito do Tratamento Restaurador Atraumático das lesões de cárie sobre a produção e biodisponibilidade de óxido nítrico salivar.

Pesquisador: Cristina Antoniali Silva

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 71635623.3.0000.5420

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

Patrocinador Principal: Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 6.337.348

Apresentação do Projeto:

Trata-se de reapresentação do projeto de Pesquisa, intitulado: Avaliação do efeito do Tratamento Restaurador Atraumático das lesões de cárie sobre a produção e biodisponibilidade de óxido nítrico salivar.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar se o tratamento restaurador atraumático (ART) com ionômero de vidro é capaz de reverter às alterações da biodisponibilidade de NO associado a alterações das enzimas NOS, nitrato redutase, NAD(P)H oxidase e suas isoformas em saliva de crianças sem e com cárie em diferentes estágios.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Risco Mínimo.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Projeto de Pesquisa sem pendências.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos foram apresentados, de acordo com a Resolução 466 de dezembro de 2012.

Endereço: JOSE BONIFACIO 1193		CEP: 16.015-050
Bairro: VILA MENDONÇA		
UF: SP	Município: ARACATUBA	
Telefone: (18)3636-3234	Fax: (18)3636-3203	E-mail: cep.foa@unesp.br

UNESP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA-CAMPUS DE
ARAÇATUBA/ UNIVERSIDADE
ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO
DE MESQUITA FILHO"



Continuação do Parecer: 6.337.348

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto reapresentado, atendendo e respondendo as pendências do parecer anterior.

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, item b, e, título XI, seção XI.2., item d), há necessidade de apresentação de relatórios semestrais, devendo o primeiro relatório ser enviado até 01/03/2024.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_2175163.pdf	29/08/2023 12:38:37		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_de_Pesquisa_Alanna_.pdf	29/08/2023 12:38:00	ALANNA RAMALHO MATEUS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_.pdf	29/08/2023 12:37:28	ALANNA RAMALHO MATEUS	Aceito
Folha de Rosto	Alanna_R_Mateus_PB.pdf	21/07/2023 06:55:06	ALANNA RAMALHO MATEUS	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

ARACATUBA, 02 de Outubro de 2023

Assinado por:
André Pinheiro de Magalhães Bertoz
(Coordenador(a))

Endereço: JOSE BONIFÁCIO 1193
Bairro: VILA MENDONÇA CEP: 16.015-050
UF: SP Município: ARACATUBA
Telefone: (18)3636-3234 Fax: (18)3636-3203 E-mail: cep.foa@unesp.br

UNESP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA-CAMPUS DE
ARAÇATUBA/ UNIVERSIDADE
ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO
DE MESQUITA FILHO"



Continuação do Parecer: 6.337.348

Endereço: JOSE BONIFACIO 1193
Bairro: VILA MENDONÇA CEP: 16.015-050
UF: SP Município: ARACATUBA
Telefone: (18)3636-3234 Fax: (18)3636-3203 E-mail: cep.foa@unesp.br

Página 03 de 03

ANEXO B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título da Pesquisa: “Avaliação do efeito do Tratamento Restaurador Atraumático das lesões de cárie sobre a produção e biodisponibilidade de óxido nítrico salivar.”

Nome da Pesquisadora: Alanna Ramalho Mateus

Nome da Orientadora: Cristina Antoniali Silva

1. **Natureza da pesquisa:** a Sra. (Sr.) está sendo convidada (o) a participar desta pesquisa que tem como finalidade avaliar no estudo será avaliar se o tratamento clínico da cárie reverte possíveis alterações na concentração de NO e de enzimas que participam da produção e da biodisponibilidade de NO na saliva de crianças com cárie em diferentes estágios classificados pelo Sistema Internacional de Classificação e Gerenciamento de Cárie (ICCMS™). na saliva antes e após o procedimento restaurador em crianças com cárie da primeira infância.
2. **Participantes da pesquisa:** Serão incluídos neste estudo 45 pacientes de 4-6 anos de idade, atendidos nas Escolas Municipais de Educação Básica (EMEB) participantes e/ou na Clínica de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, UNESP.
3. **Envolvimento na pesquisa:** ao participar deste estudo a Sra. (Sr.) permitirá que a pesquisadora Alanna Ramalho Mateus colete saliva da cavidade bucal do seu filho. A Sra. (Sr.) 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) seu filho(a). Sempre que quiser poderá pedir mais informações sobre a pesquisa através do telefone do (a) pesquisador (a) do projeto e, se necessário através do telefone do Comitê de Ética em Pesquisa.
4. **Sobre as entrevistas:** Não se trata especificamente de uma entrevista, mas o responsável deverá responder algumas perguntas referentes à identificação da criança, como nome, idade, telefone e endereço para contato.
5. **Riscos e desconforto:** a participação nesta pesquisa não infringe as normas legais e éticas (a coleta de saliva será feita por um método que causa risco mínimo (associado ao desconforto causado pelo rolete de algodão na boca), não invasivo e indolor, utilizando um dispositivo com o nome comercial de SALIVETE®. Este dispositivo contém um pequeno rolo de algodão, que será posicionado na cavidade bucal). Os procedimentos adotados nesta pesquisa obedecem aos Critérios da Ética em Pesquisa com Seres Humanos conforme resolução n. 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde – Brasília – DF. Não haverá riscos e desconfortos para os voluntários da pesquisa. Nenhum dos procedimentos usados oferece riscos à sua dignidade.
6. **Confidencialidade:** todas as informações coletadas neste estudo são estritamente confidenciais. Somente a pesquisadora Alanna Ramalho, a orientadora Prof. Assoc. Dra. Cristina Antoniali Silva e sua equipe de pesquisa composta pela Prof. Assoc. Dr. Juliano Pelim Pessan e Prof. Assoc. Dr.

Antonio Hernandez Chaves-Neto, que 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 a Sra. (Sr.) autorizará que nós da equipe de pesquisa, realizaremos um exame clínico completo no menor, além de realizar os procedimentos restauradores necessários e se houver necessidade, poderá ser realizado encaminhamentos. Além destes benefícios diretos, esperamos que este estudo traga informações importantes sobre diagnóstico da doença cárie, de forma que o conhecimento que será construído a partir desta pesquisa possa auxiliar o Cirurgião-Dentista no tratamento desta patologia onde pesquisador se compromete a divulgar os resultados obtidos, respeitando-se o sigilo das informações coletadas, conforme previsto no item anterior.
8. **Pagamento:** a Sra. (Sr.) não terá nenhum tipo de despesa para participar desta pesquisa, bem como nada será pago por sua participação.

Após estes esclarecimentos, solicitamos o seu consentimento de forma livre para participar desta pesquisa. Portanto preencha, por favor, os itens que se seguem:

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

[] Confiro que recebi cópia deste termo de consentimento, e autorizo a execução do trabalho de pesquisa e a divulgação dos dados obtidos neste estudo.

Consentimento Livre e Esclarecido

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

Nome do Participante da Pesquisa (Nome da Criança)

Assinatura do Participante da Pesquisa (Responsável pela Criança)

Cirurgiã-Dentista Alanna Ramalho Mateus

Prof. Assoc. Dra Cristina Antoniali Silva

Pesquisadora: Alanna Ramalho Mateus (64) 99647-7827

Orientadora: Cristina Antoniali Silva

Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa: Prof. Dr. André Pinheiro de Magalhães Bertoz

Vice-Coordenador: Prof. Aimee Maria Guiotti

Telefone do Comitê: (18) 3636-3234

E-mail: cep@foa.unesp.br