



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE ODONTOLOGIA

AGNA ROBERTA XAVIER BEZERRA

**POTENCIAL ANTIBACTERIANO DE CARIOSTÁTICO COMPOSTO POR
NANOPARTÍCULAS DE PRATA EM DENTINA INFECTADA POR
STREPTOCOCCUS MUTANS: ESTUDO COMPARATIVO IN VITRO**

AGNA ROBERTA XAVIER BEZERRA

**POTENCIAL ANTIBACTERIANO DE CARIOSTÁTICO COMPOSTO POR
NANOPARTÍCULAS DE PRATA EM DENTINA INFECTADA POR
STREPTOCOCCUS MUTANS: ESTUDO COMPARATIVO IN VITRO**

Trabalho apresentado à Disciplina de Trabalho
de Conclusão de Curso 2 como parte dos
requisitos para conclusão do Curso de
Odontologia do Centro de Ciências da Saúde da
Universidade Federal de Pernambuco

Orientador: Prof. Dr. Luís Felipe De
Espíndola Castro

Co-orientadora: Profa. MSc Maria Clara
Müller

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Bezerra, Agna Roberta Xavier.

POTENCIAL ANTIBACTERIANO DE CARIOSTÁTICO COMPOSTO
POR NANOPARTÍCULAS DE PRATA EM DENTINA INFECTADA POR
STREPTOCOCCUS MUTANS: ESTUDO COMPARATIVO IN VITRO /

Agna Roberta Xavier Bezerra. - Recife, 2025.

39 : il., tab.

Orientador(a): Luis Felipe Espindola de Castro

Cooorientador(a): Maria Clara Muller

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de
Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde, Odontologia - Bacharelado, 2025.

Inclui referências, apêndices.

1. Saúde bucal. 2. Uso de nanopartículas na odontologia. 3. Prevenção de
cárie dentária. 4. Materiais dentários. I. Espindola de Castro, Luis Felipe .
(Orientação). II. Muller, Maria Clara . (Coorientação). IV. Título.

610 CDD (22.ed.)

AGNA ROBERTA XAVIER BEZERRA

**POTENCIAL ANTIBACTERIANO DE CARIOSTÁTICO COMPOSTO POR
NANOPARTÍCULAS DE PRATA EM DENTINA INFECTADA POR
STREPTOCOCCUS MUTANS: ESTUDO COMPARATIVO IN VITRO**

Trabalho apresentado à Disciplina de
Trabalho de Conclusão de Curso 2
como parte dos requisitos para
conclusão do Curso de Odontologia do
Centro de Ciências da Saúde da
Universidade Federal de Pernambuco.

Aprovada em: ____/____/____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Alexandre Batista Lopes do Nascimento /UFPE

Prof. Emanuel Ewerton Mendonça/UFPE

Prof. Dr. Luis Felipe de Espíndola Castro

*Dedico este trabalho àqueles que partiram antes que eu
pudesse mostrar o caminho percorrido. Com carinho e
saudades, para vô e painho.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a mim mesma. Pela coragem de começar, pela resiliência de ter chegado até aqui. Foram muitos momentos difíceis durante a graduação, dentre eles uma pandemia avassaladora que tirou parte de mim. Agradeço por não ter desistido, diante de cenários inimagináveis. Reconheço cada passo que dei até aqui e me orgulho da pessoa e da profissional que estou me tornando.

A conclusão deste trabalho marca o fim de uma etapa muito importante da minha vida, e não teria sido possível sem o apoio dos meus amigos e familiares, aos quais dedico minha sincera gratidão. Obrigada pelo incentivo, paciência e força, em especial minha Mainha por ter me apoiado durante uma longa jornada de conhecimento mesmo antes dessa graduação, por ter sempre me incentivado a estudar e ter me dado condições de o fazer. A você eu devo minha persistência, foi com você que aprendi que é preciso ter forças e levantar todos os dias para trabalhar duro. Agradeço ao meu falecido avô que sem o acolhimento dele, jamais teria tido a oportunidade de estar aqui.

Agradeço ao meu parceiro de vida Marcio por ser sempre presente, durante todos os longos 5 anos me incentivando e me acolhendo, por participar ativamente da minha formação, desde ajudando em atividades, listas acadêmicas como sendo a quem eu recorria nos momentos em que pensei em desistir.

Não poderia deixar de agradecer aos meus amigos por toda paciência em aguentar minhas reclamações, meus sumiços e por sempre estarem presentes quando eu precisei. Em especial, a minha amiga Maria, não tenho como agradecer por todo o esforço em me ajudar durante esses longos 5 anos afetivamente e financeiramente, obrigada por sempre acreditar em mim mesmo quando eu mesma descreditava.

Sou muito grata também a turma que eu encontrei, quase na metade do curso, turma 18 noturno, obrigada por me abraçar de uma maneira que tornou toda essa caminhada dentro da universidade mais leve e divertida. Aqui, encontrei amigos que quero levar comigo!

Agradeço também aos meus professores que em suma excelência fizeram com que eu me tornasse a profissional que sou hoje e espero um dia poder ser um pouco de cada um de vocês. Em destaque o professor Claudio Heliomar por ter sido um orientador acadêmico da vida, obrigada por todas as nossas conversas e por ter despertado em mim um amor pela prática clínica. Agradeço também ao meu orientador Luís Felipe Espíndola por toda confiança, paciência e direcionamento, quero um dia poder ser tão brilhante quanto és. Também, sou grata

a minha coorientadora Maria Clara, por todos os dias que passamos mais de oito horas no laboratório e no meio desse processo de pesquisa ter ganhado mais uma amiga.

Por fim a todos que participaram de forma direta e indiretamente para essa formação, sou grata por acreditarem em mim. Eu consegui!

“Se muito vale o já feito, mas vale o que será...”.
(Milton Nascimento e Fernando Brant, 1972).

RESUMO

A cárie dentária é a doença bucal mais prevalente na população causada, principalmente, pela bactéria *Streptococcus mutans* (*S. mutans*). O diaminofluoreto de prata (DFP) é um cariostático já consolidado no mercado, porém com inconveniente formação de manchas escuras. O Nano Fluoreto de Prata (NSF) surgiu como alternativa promissora, contra a cárie com menor risco de escurecimento dentário. Entretanto, ainda há necessidade de investigar a sua ação antimicrobiana e o grau penetração desses agentes dentro dos túbulos dentinários. Este estudo visou avaliar o potencial cariostático e a penetrabilidade do NSF nas concentrações de 600 ppm e 2000 ppm, comparando-os com cariostáticos comerciais. Foram utilizados 16 molares humanos extraídos, seccionados em discos de dentina de 1mm (n=16) e divididos em seis grupos: controle negativo (CN), controle positivo (CP), Nano fluoreto de prata 600 ppm (NSF600) e 2000 ppm (NSF2000), Advantage Arrest 38% (DFP38%) e Cariostop 30%(DFP30%). Os discos de dentina foram esterilizados e posteriormente inoculados com *S. mutans*, em seguida, tratados com os agentes cariostáticos. As amostras foram exploradas por Microscopia Eletrônica de Varredura. Houve redução significativa de *S. mutans* nos grupos tratados com NSF, em comparação ao CP. Ambos os agentes do DFP formaram precipitados nos túbulos, impedindo a quantificação bacteriana. Para o grau de penetrabilidade, obteve-se: NSF2000 (0,96 mm), DFP38% (0.79mm), DFP30% (0.78mm) e NSF600 (0,32 mm). Assim, as formulações do NSF obtiveram eficácia antibacteriana contra *S. mutans*, com destaque para a segurança clínica do NSF600 devido à menor penetração. Novos estudos são imprescindíveis para contribuição com essa pesquisa.

Palavras-chave: nanopartículas de prata; *streptococcus mutans*; dentina; diaminofluoreto de prata.

ABSTRACT

Dental caries is the most prevalent oral disease in the population, primarily caused by the bacterium *Streptococcus mutans* (*S. mutans*). Silver diamine fluoride (SDF) is a well-established cariostatic agent on the market; however, it presents the inconvenient formation of dark stains. Nano Silver Fluoride (NSF) has emerged as a promising alternative against caries, with a lower risk of tooth discoloration. Nevertheless, it is still necessary to investigate its antimicrobial action and the degree of penetration of these agents into the dentinal tubules. This study aimed to evaluate the cariostatic potential and the penetrability of NSF at concentrations of 600 ppm and 2000 ppm, comparing them with commercial cariostatic agents. Sixteen extracted human molars were used, sectioned into 1 mm dentin discs (n=16), and divided into six groups: negative control (NC), positive control (PC), Nano Silver Fluoride 600 ppm (NSF600) and 2000 ppm (NSF2000), Advantage Arrest 38% (SDF38%), and Cariostop 30% (SDF30%). The dentin discs were sterilized and subsequently inoculated with *S. mutans*, then treated with the cariostatic agents. The samples were examined using Scanning Electron Microscopy. A significant reduction of *S. mutans* was observed in the groups treated with NSF compared to the PC. Both SDF agents formed precipitates in the tubules, preventing bacterial quantification. Regarding the degree of penetration, the following results were obtained: NSF2000 (0.96 mm), SDF38% (0.79 mm), SDF30% (0.78 mm), and NSF600 (0.32 mm). Thus, the NSF formulations demonstrated antibacterial efficacy against *S. mutans*, with emphasis on the clinical safety of NSF600 due to its lower penetration. Further studies are essential to contribute to this line of research.

Keywords : silver nanoparticles ; dentin ; *streptococcus mutans*; silver diamine fluoride.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 Avaliação dos grupos CN(A), CP(B), NSF 600(C), NSF 2000(D), DFP30% (E), DFP 38% (F) por MEV. Nota-se, ausência de microrganismos em A e presença nas imagens B, C, D, em E e F é perceptível dentro dos túbulos dentinários aglomerados luminosos, totalmente distintos das bactérias, apresentando-se mais luminosos como materiais inorgânicos.	20
Figura 2 Análise de EDS dos grupos DFP38% e DFP30%. Nas imagens A e B respectivamente, as imagens são coradas em azul para prata (Ag) e em vermelho para cloro (Cl), em C é possível observar a região sem identificação os dos elementos presentes, em D é apresentada apenas a identificação da Ag dentro dos túbulos dentinários e na imagem E apenas o Cl, em F é apresentada a junção dos elementos presentes, simbolizados pelas cores azul e vermelho formando um tom de violeta.....	21
Figura 3 Média da quantificação bacteriana por grupo.	21
Figura 4 Perfil das amostras 1 (A) e 2 (B) do controle positivo imagem por MEV.	22
Figura 5 Amostras 1, 2 e 3 dos agentes NSF600 (A, B e C) e NSF2000 (D, E e F).....	22
Figura 6 Gráfico de comportamento dos dados (m/T) <i>q-q plot</i>	23
Figura 7 Amostra 2 de NSF2000 imagens feitas em MEV por sinal de SE e BSE. Na imagem A é possível ver a profundidade marcada em amarelo da amostra tratada com NSF2000, é visto que o grau de profundidade foi alto atingindo a amostra toda, em “B” observa-se as nanopartículas geradas dentro dos túbulos dentinários em uma porção mais distante da superfície, a medida da profundidade foi contabilizada até onde tinham partículas protocolo de medição, registra-se até onde tem nanopartículas, observa-se nanopartículas menores.	24
Figura 8 Amostra 2 de NSF600 imagem de MEV (SE e BSE). Na imagem “A” é possível ver a profundidade marcada em amarelo da amostra tratada com NSF600, em “B” observa-se as nanopartículas geradas dentro dos túbulos dentinários, observa-se nanopartículas maiores e menores. Na imagem “C” tem a captura da nanopartícula “unida” a uma <i>S. mutans</i>	25

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Materiais avaliados.	17
Tabela 2 Resultados do teste post-hoc de Dunn.	23

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVO	14
2.1	Objetivo Geral	14
2.2	Objetivos Específicos	14
3	METODOLOGIA	15
3.1	Considerações Éticas.....	15
3.2	Desenho Do Estudo	15
3.3	Localização Do Estudo.....	15
3.4	Preparo Das Amostras.....	15
	<i>3.4.1 Protocolo De Inoculação</i>	<i>16</i>
	<i>3.4.2 Tratamento Das Amostras.....</i>	<i>16</i>
3.5	ANÁLISE EM MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA.....	17
3.6	CONTAGEM DE BACTÉRIAS E ANÁLISE ESTATÍSTICA	18
4	RESULTADOS.....	19
4.1	Análise De Microscopia Eletrônica De Varredura (Mev)	19
4.2	Análise Estatística	23
4.3	Grau De Penetrabilidade De Prata Nos Túbulos Dentinários	24
5	DISCUSSÃO.....	26
6	CONCLUSÃO	29
	REFERÊNCIAS.....	30
	APÊNDICE A – INSTRUMENTO DE COLETA	33
	ANEXO A – NORMAS DA REVISTA BRAZILIAN ORAL RESEARCH.....	37

1 INTRODUÇÃO

A cárie dentária é a condição de saúde mais comum em todo o mundo, segundo a Organização Mundial de Saúde. Em torno de 43% das crianças pré-escolares são afetadas por essa doença globalmente, com variações geográficas.^{1,2} É possível descrever a cárie como um processo dinâmico de desmineralização e remineralização, gerado pelo metabolismo bacteriano sobre os tecidos dentários.³ Vários micro-organismos participam desta patogênese, como o *Streptococcus mutans* (*S. mutans*), o *Lactobacillus spp* e o *Actinomyces spp*, sendo o *S. mutans* o principal associado à patologia.⁴ O *S. mutans* apresenta-se em formato de cocos com 0,5 a 0,75 micrometros, mas em condições ácidas ou quando isolados da dentina cariada podem se apresentar em formato de bastonetes de 1,5 a 3 micrometros.⁵ Terapias têm sido propostas para reverter o processo carioso, como orientação de higiene bucal, aplicação tópica de flúor, restaurações e aplicação de diaminofluoreto de prata (DFP).^{6,7} Este se apresenta como uma alternativa, eficaz, conservadora menos invasiva e vantajosa em caso de dificuldades comportamentais.⁸

Os íons de prata (Ag^+) interagem com grupos sulfidríla das proteínas e com DNA das bactérias, alterando a ligação de hidrogênio, inibindo processos respiratórios, síntese da parede e divisão celular, levando à morte e eventual lise da célula.⁹ A prata possui ação antimicrobiana e alta toxicidade contra estes micro-organismos, e quando utilizada em baixas concentrações, é inofensiva às células humanas.^{10,11,12} O diaminofluoreto de prata possui além da ação antimicrobiana, uma ação remineralizadora através da deposição de fluorapatita na estrutura dental.¹³

Partículas de prata em tamanhos menores seriam mais eficientes devido à sua maior área superficial por volume, o que permite maior contato com as células microbianas.¹⁴ Nanopartículas de prata foram pesquisadas e desenvolvidas como alternativas promissoras para o manejo de cáries, oferecendo novas possibilidades no tratamento.¹⁵ Nesse sentido, o Nano Fluoreto de Prata (NSF) foi formulado contendo partículas de prata de tamanho nanométrico, quitosana e fluoreto. Assim, combinam propriedades preventivas e antibacteriana sem causar pigmentação dental devido ao tamanho de suas partículas.^{6,14} Esta nova substância é segura para ser usada em seres humanos e possui um baixo custo^{10,12}, com bons resultados em estudos laboratoriais e clínicos.^{10,11} Além disso, é eficaz em inibir a adesão e o crescimento de bactérias cariogênicas, além de reduzir a desmineralização, sem causar manchas pretas significativas e em uma concentração de prata menor que no DFP.^{16,17,18} Entretanto, a ação antimicrobiana deste componente contra *Streptococcus mutans* e sua penetrabilidade em túbulos dentinários

dental em dentes permanentes, bem como sua capacidade de inibir a penetração e proliferação destes microrganismos, ainda não foram totalmente esclarecidos.

Portanto, é objetivo deste estudo avaliar o potencial antibacteriano e o grau de penetrabilidade do Nano Fluoreto de Prata 600 e 2.000 ppm (UFPE, Pernambuco, Brasil) quando comparado a outros agentes cariostáticos: diaminofluoreto de Prata 30% (Cariestop, Biodinâmica / Paraná, Brasil) e 38% (Advantage Arrest / Elevate Oral Care Flórida, EUA).

As hipóteses nulas testadas são (I) não há diferença na diminuição da proliferação bacteriana nos túbulos dentinários pelos agentes cariostáticos testados e (II) não há diferença no grau de penetração do NFP quando comparados aos agentes comerciais.

2 OBJETIVO

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o potencial antibacteriano do Nano Fluoreto de Prata nas concentrações 600 ppm e 2000 ppm contra o *Streptococcus mutans* em dentina cariada artificialmente.

2.2 Objetivos Específicos

I. Analisar através da Microscopia eletrônica de varredura (MEV) o crescimento bacteriano nos túbulos dentinários com e sem tratamento do nano fluoreto de prata.

II. Comparar por meio de MEV, o potencial de penetração dos agentes nos túbulos dentinários.

3 METODOLOGIA

3.1 Considerações Éticas

Antes de ser iniciado, o referido estudo foi submetido e aprovado pelo comitê de Ética em Pesquisa em seres Humanos de acordo com a resolução No 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (Parecer: 2.577.182).

3.2 Desenho do estudo

Trata-se de um estudo laboratorial *in vitro*.

3.3 Localização do estudo

A presente pesquisa foi desenvolvida do Laboratório de Biomateriais Dentários (BIODEN) e no Laboratório de Compostos Híbridos e Coloides (CHICO) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

3.4 Preparo das amostras

Para análise do potencial antibacteriano dos agentes testados foram utilizados 16 molares humanos extraídos por razões terapêuticas (doença periodontal ou terceiros molares). Os dentes passaram por inspeção visual sendo excluídos aqueles com presença de cárie, fraturados, com trincas ou fissuras ou que passaram por qualquer intervenção restauradora. Após aplicação dos critérios de elegibilidade, os dentes foram divididos aleatoriamente em 6 grupos, sendo distribuídas n=2 para os controles (negativo e positivo) e n=3 para os tratamentos.

Os dentes foram mantidos armazenados em água destilada sob refrigeração. Foram limpos com curetas periodontais, seguido de limpeza com solução de Cloramina T 5%. Discos de dentina n=16 foram seccionadas a partir de cada dente, usando um disco diamantado sob refrigeração em máquina de corte (ISOMET, Buehler Ltd, Lake Bluff, IL, EUA).

Após a secção das amostras, as lâminas foram regularizadas uniformemente com 1mm de espessura com lixas d'água (#600 e #1.200). Após obtenção dos discos de dentina, as amostras foram tratadas com EDTA por 10 minutos para remoção da *smear layer* e abertura dos túbulos dentinários. Em seguida, as amostras foram lavadas com água destilada e foram inseridas em cuba ultrassônica por dois ciclos de 10 minutos. Em seguida, as amostras foram autoclavadas imersas em água destilada por 15 minutos à 120 °C e tiveram uma de suas faces laterais e inferior pintadas com verniz (esmalte de unha, Risqué, São Paulo, Brasil), de modo que apenas a superfície da dentina coronária ficasse exposta. Em seguida, as amostras foram inseridas em placas Petri de poliestireno mantidas em uma câmara sob luz UV, por 1 hora, para

eliminar possíveis bactérias presentes nas amostras após a manipulação e pintura. As amostras foram divididas em 6 grupos: controle positivo (CP), controle negativo (CN), Advantage Arrest 38% (DFP38%), Cariostop 30% (DFP30%), Nano fluoreto de prata 600 ppm (NSF 600), Nano fluoreto de prata 2000 ppm (NSF 2000).

3.4.1 Protocolo de inoculação bacteriana

Os microrganismos (*S. mutans*) foram adquiridas da Fundação André Toscelo Campinas/SP. As cepas foram isoladas de dentina cariada e misturada com Agar de infusão de cérebro e coração (BHI), CEPA: *S. mutans* ACTT 25175. A repicagem das bactérias foi feita usando 1 microlitro do BHI Agar adicionado a 5L de BHI líquido e mantido por 24h à 37°C em estufa. A colônia de *S. mutans* foi misturada à saliva artificial, sendo essa feita de acordo com o protocolo de crescimento de biofilme.³⁶ Para contaminação das amostras com a *S. mutans*, foi feito uma proporção de 100µml da *S. mutans* para 500µmL de saliva para cada amostra.

Para que todas as amostras tenham níveis comparáveis de contaminação, os discos de dentina foram contaminados com *Streptococcus mutans* adaptando o protocolo proposto por Ma *et al.*³⁴ e modificado por Hamama; Yiu; Burrow³³, utilizando *S. mutans* em vez de *Enterococcus faecalis*. Foram adicionados 500 microlitros da suspensão bacteriana a cada tubo de ensaio e centrifugados a 3150 g durante 10 minutos. As amostras foram tratadas com os agentes (Tabela 1) e em seguida foram incubadas a 37 °C em caldo BHI durante 120 horas.

3.4.2 Tratamento das Amostras

Os grupos testes e controle bem como o protocolo de tratamento das amostras, estão sintetizadas na Tabela 1.

Tabela 1 Materiais avaliados.

Grupos	Composição	Tratamento
CP: Controle Positivo	-	Os discos de dentina foram inoculados com <i>S. mutans</i> , mas não receberam tratamento com os agentes cariostáticos
CN: Controle Negativo	-	Os discos de dentina que não entraram em contato com microrganismos nem receberam tratamento com os agentes cariostáticos
NSF600: Nano Fluoreto de Prata a 600ppm (UFPE, Pernambuco, Brasil)	600 ppm de nanopartículas de prata; quitosana e fluoreto de sódio.	Aplicação de uma gota do agente com auxílio de microbrush durante 2 minutos. Seguido de lavagem com água destilada.
NSF2000: Nano Fluoreto de Prata a 2000ppm (UFPE, Pernambuco, Brasil)	2000 ppm de nanopartículas de prata; quitosana e fluoreto de sódio.	
DFP38: Diaminofluoreto de prata a 38%/ Advantage Arrest (Elevate Oral Care, Flórida, EUA)	Diaminofluoreto de Prata aquoso, água deionizada.	
DFP30: diamino fluoreto de prata a 30%/ Cariestop 30% (Biodinâmica / Brasil)	Ácido Fluorídrico, Nitrato de Prata, Hidróxido de Amônia e Água Deionizada.	

Fonte: Autoria própria.

3.5 Análise em Microscopia Eletrônica de Varredura

Para análise em Microscopia Eletrônica de Varredura (n=3), as amostras foram imersas em solução de glutaraldeído a 2,5% em tampão de cacodilato de sódio a 0,1 mol · L⁻¹, com pH ajustado em 7,4. As amostras foram lavadas em água destilada por 10 minutos e secas em papel absorvente. Sequencialmente, as amostras foram desidratadas em series crescentes em etanol nas concentrações: 25% (10 minutos), 50% (10 minutos), 75% (10 minutos), 95% (10 minutos) e 100% (10 minutos). Após secarem naturalmente, as amostras foram estabilizadas em *stubs* com fita dupla face de carbono e metalizados com fina camada de carbono em aparelho de metalização a vácuo (Bal-Tec AG, Blazers, Liechtenstein). As amostras foram analisadas em microscópio eletrônico de varredura (FEG MIRA3, TESCAN) por um operador previamente calibrado e cego em relação a que amostra estava sendo analisada, assim foram adquiridas as imagens com aumento de 1000x de regiões representativas de cada grupo. Foram avaliadas a superfície das amostras com maior concentração de microrganismos e que permitissem uma melhor visualização dos túbulos de forma linear para auxiliar a quebra das amostras.

Logo após, as amostras foram quebradas ao meio em regiões com maior concentração de microrganismos, foram montadas novamente em suportes metálicos para microscopia eletrônica (*stubs*), mas desta vez com a parte interna da dentina virada para cima, com o objetivo

de observar o interior dos túbulos dentinários. As amostras seguiram para o processo de metalização com fina camada de carbono e foi feita a microscopia, adquirindo-se imagens de regiões com túbulos mais lineares e com maior concentração de bactérias.

A análise de penetração dos agentes nos túbulos foi feita no próprio MEV, adquirindo imagens consecutivas a partir da região próxima à superfície da dentina (onde foi feita a quebra) até o final da amostra (parte mais distante da superfície). Para essa análise, o tipo de detector utilizado no MEV foi o de elétrons retroespalhados (BSE), que permite uma diferença de contraste entre elementos químicos mais pesados e mais leves, tornando possível a identificação da prata na dentina. Foram feitos ajustes de energia de tensão de aceleração entre 5 kV e 10 kV, para melhor identificação da prata, seguindo o protocolo feito por Andrade, Rosenblantt e Galembeck¹⁹. Para refinar a identificação dos corpos presentes nas imagens, utilizou-se Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS), que mostra todos os elementos químicos presentes em uma determinada região da amostra e em que local da imagem eles estão presentes em maior concentração.

3.6 Quantificação bacteriana e análise estatística

A quantificação no crescimento bacteriano nos túbulos dentinários foi feita através do software ImageJ³⁵. Foram selecionadas áreas com presença de microrganismos e regiões livres dentro dos túbulos dentinários, e feita a razão entre a área com microrganismos pela área total do túbulo (m/T) em 5 regiões (imagem MEV) diferentes de cada amostra.

A fim de verificar se a distribuição dos valores das razões m/T dos grupos controle positivo, NSF600 e NSF2000 seguem uma distribuição semelhante à distribuição normal, foi realizado o teste de Shapiro-Wilk e o gráfico quantil-quantil. Após os resultados do teste de normalidade, foram aplicados os testes de Kruskal-Wallis, post-hoc de Dunn e de Mann-Whitney para testar (i) a semelhança estatística entre as medianas dos três grupos CP, NSF600 e NSF2000, uma vez havendo diferença estatística, (ii) em quais grupos há diferença, e se (iii) há diferença significativa entre as distribuições das amostras NSF600 e NSF2000, respectivamente. Para detalhes consultar ^{38,39,40}.

Foi admitido a confiabilidade de 95% para todos os testes. Esses foram executados em linguagem Python utilizando os pacotes Scipy²⁰ Pandas²¹ Numpy²² Matplotlib²³ e Scikit-posthoc.²⁴

4 RESULTADOS

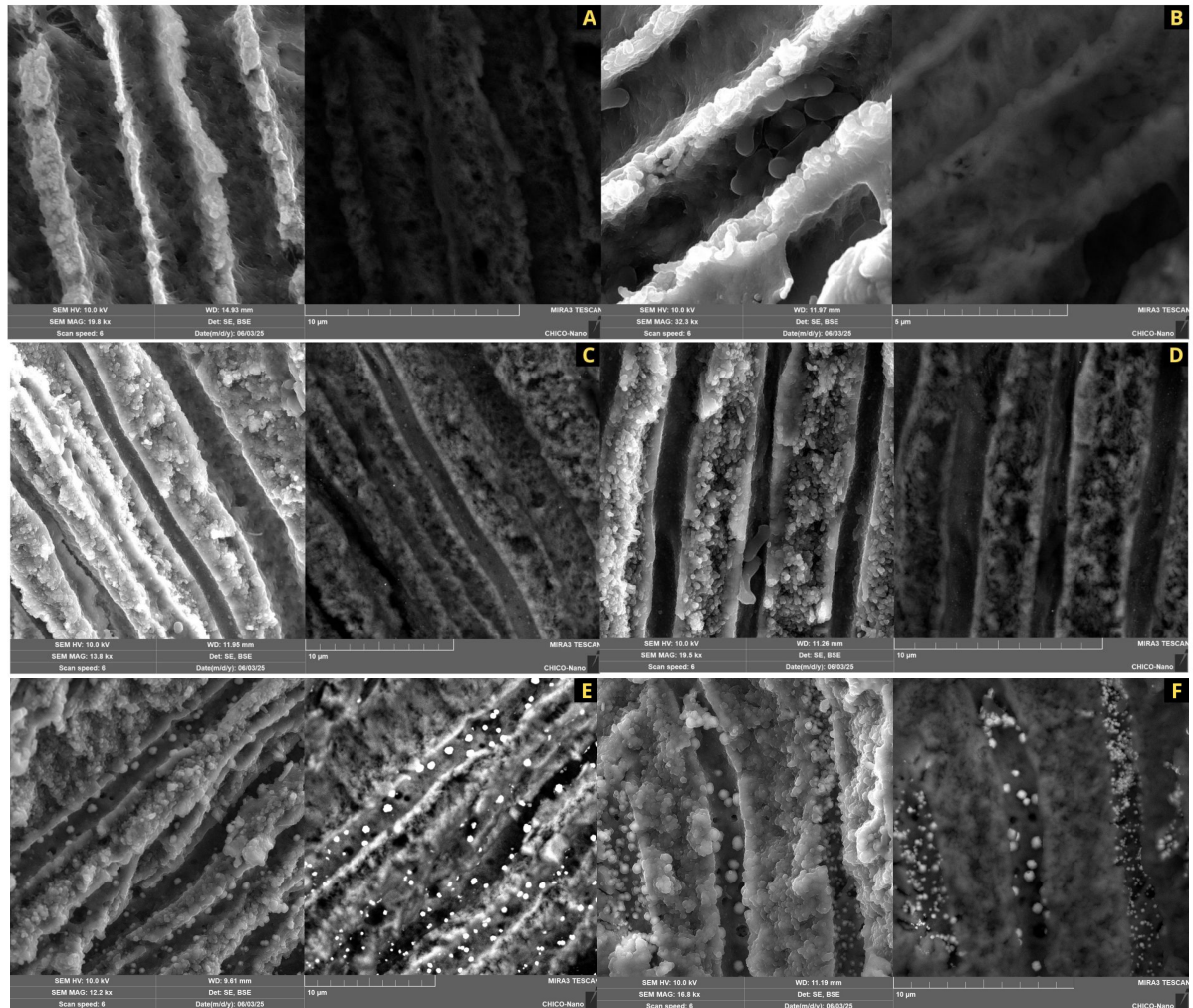
4.1 Análise de Microscopia Eletrônica de varredura (MEV)

Os resultados da proliferação bacteriana dentro dos túbulos dentinários não permitiram a comparação entre os grupos do nano fluoreto de prata NSF600 e NSF2000 com os grupos do diaminofluoreto de prata DFP38 e DFP30%, pois em ambos os cariostáticos comerciais (DFP38 e DFP30%) a identificação das bactérias nas imagens de MEV foi prejudicada pela formação de grandes precipitados dentro dos túbulos a partir dos agentes (Figuras 1 e 2). A hipótese é que há algum nível de crescimento bacteriano dentro dos túbulos, entretanto, para efetuar essa quantificação, seria mais indicado utilizar um tipo de microscopia que permitisse identificar as bactérias mesmo em meio aos precipitados, como por exemplo uma microscopia de fluorescência. A partir de análise por EDS, o mapeamento apontou haver predominância de cloro e prata na região dos precipitados (Figura 3), atribuindo-se possivelmente à formação do sal cloreto de prata (AgCl).

Na análise de EDS (Figura 2), os mapas elementares correspondentes aos elementos cloro e prata (azul e vermelho, respectivamente) mostram a predominância das cores dentro dos túbulos dentinários, onde está presente o precipitado observado na imagem de MEV. A sobreposição dos dois mapas com a imagem de MEV resultou na cor roxa, com maior intensidade na região onde está o agregado. Sendo o roxo a junção do vermelho com o azul, a análise aponta para a presença de AgCl dentro dos túbulos, na região onde está o agregado de prata produzido pelos agentes de DFP utilizados nesse estudo.

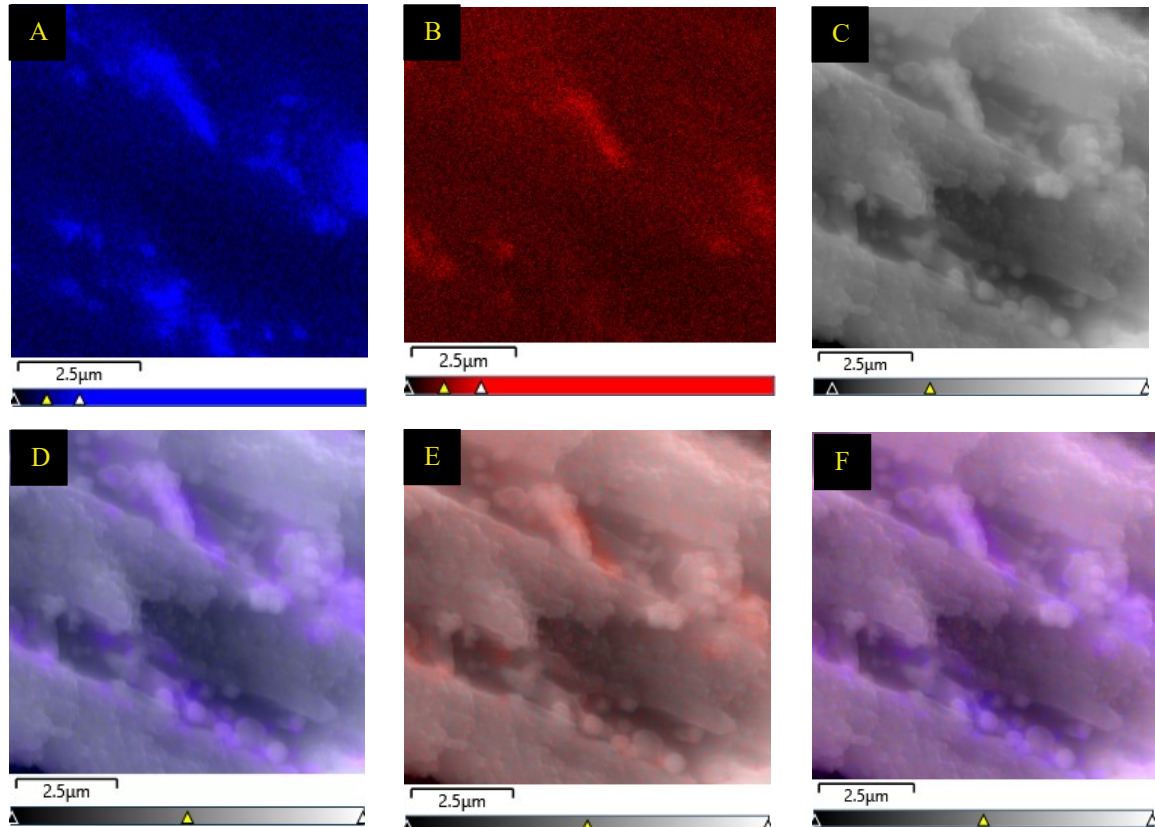
Os produtos da proliferação bacteriana dentro dos túbulos dentinários de CP, NSF 600 ppm e NSF 2000 ppm, podem ser observados na Figura 4 e 5, diferindo do controle negativo (Figura 1.A), nota-se menor proliferação bacteriana para os grupos de tratamento com nanopartículas (Figura 4). Os resultados da quantificação dos microrganismos por grupo estão na Figura 3.

Figura 1 Avaliação dos grupos CN(A), CP(B), NSF 600(C), NSF 2000(D), DFP30% (E), DFP 38% (F) por MEV. Nota-se, ausência de microrganismos em A e presença nas imagens B, C, D, em E e F é perceptível dentro dos túbulos dentinários aglomerados luminosos, totalmente distintos das bactérias, apresentando-se mais luminosos como materiais inorgânicos.



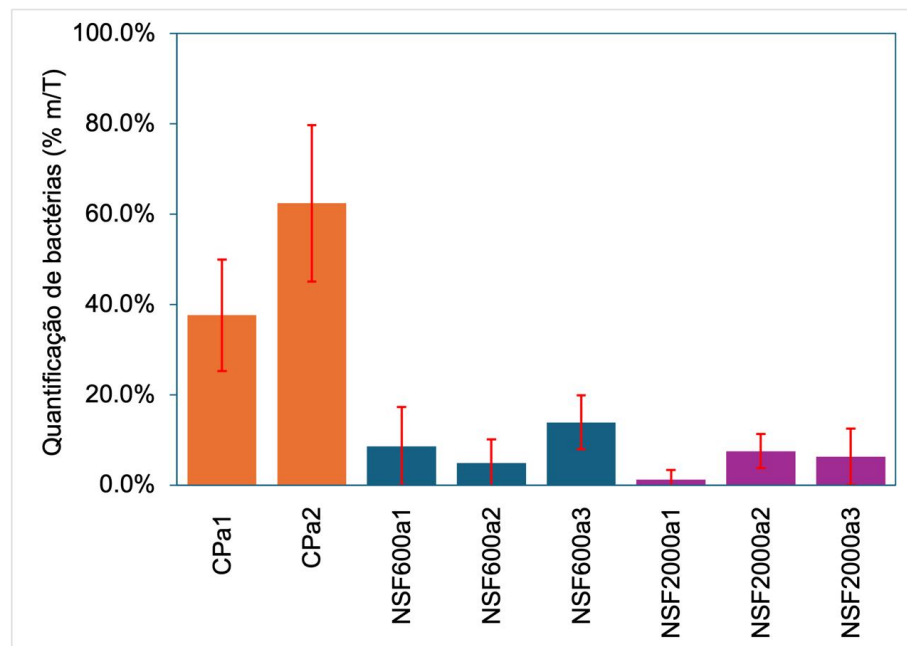
Fonte: Autoria própria.

Figura 2 Análise de EDS dos grupos DFP38% e DFP30%. Nas imagens A e B respectivamente, as imagens são coradas em azul para prata (Ag) e em vermelho para cloro (Cl), em C é possível observar a região sem identificação os dos elementos presentes, em D é apresentada apenas a identificação da Ag dentro dos túbulos dentinários e na imagem E apenas o Cl, em F é apresentada a junção dos elementos presentes, simbolizados pelas cores azul e vermelho formando um tom de violeta.



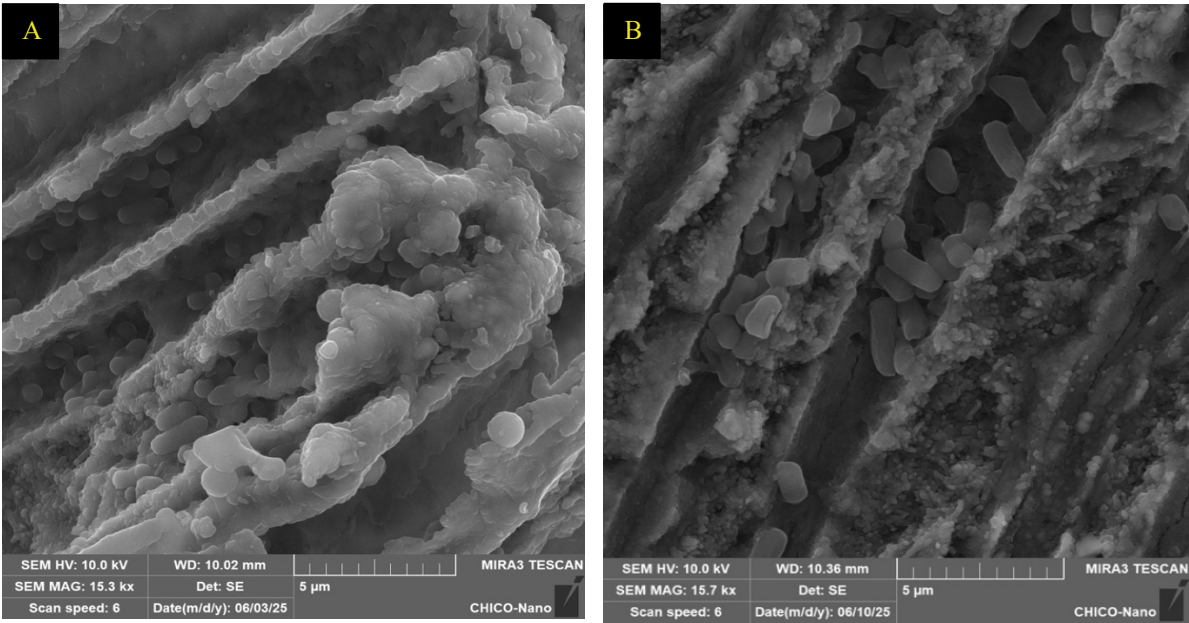
Fonte: Autoria própria.

Figura 3 Média da quantificação bacteriana por grupo.



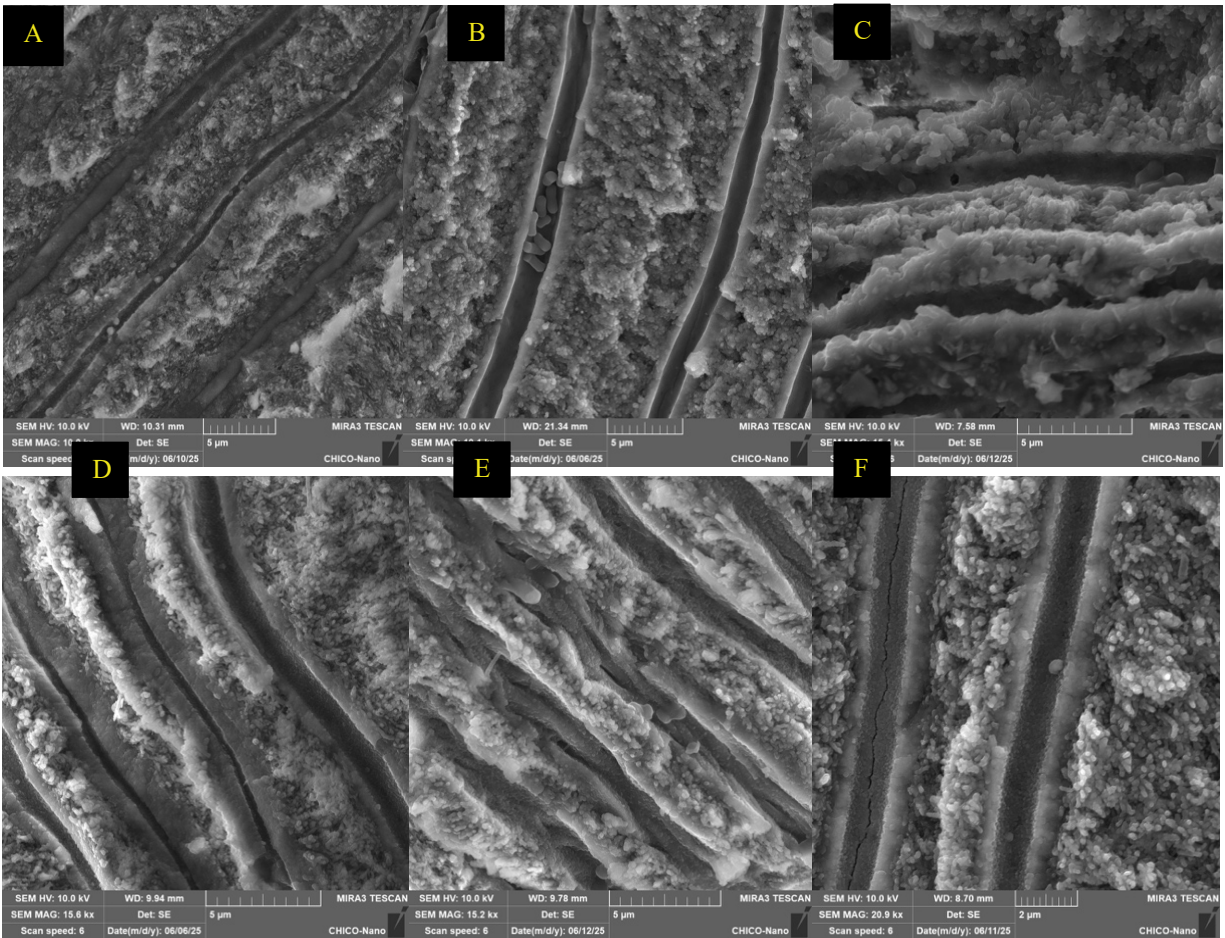
Fonte: Autoria própria.

Figura 4 Perfil das amostras 1 (A) e 2 (B) do controle positivo imagem por MEV.



Fonte: Autoria própria.

Figura 5 Amostras 1, 2 e 3 dos agentes NSF600 (A, B e C) e NSF2000 (D, E e F).

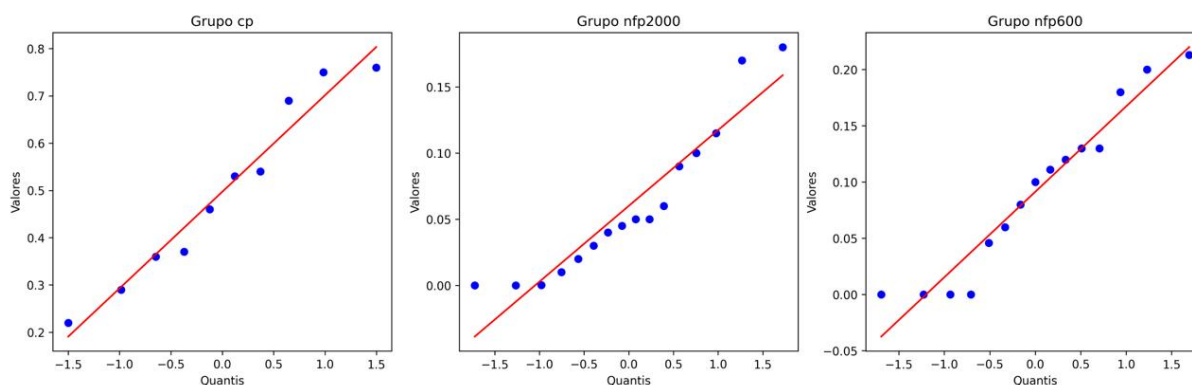


Fonte: Autoria própria.

4.2 Análise estatística

Os dados não seguem uma distribuição normal. Na Figura 5 está apresentado gráfico de comportamento dos dados em (m/T) de cada grupo.

Figura 6 Gráfico de comportamento dos dados (m/T) *q-q plot*.



Fonte: Autoria própria

Além de identificar comportamento anômalo na distribuição dos quantis na Figura 5. Ao analisar o resultado do p-valor do teste de Shapiro Wilk (p-valor = 0,93, 0,19 e 0,04, para CP, NFP600 e NFP2000, respectivamente), podemos confirmar que os dados do grupo NSF2000 não segue uma distribuição normal. Por isso, foram usados testes paramétricos. Esses mostraram que há significância estatística entre os grupos, o grupo controle difere dos grupos de tratamento. Para o teste Kruskal Wallis o p-valor está na ordem de 10^{-5} , menor que o nível de significância (α) 0,05. Assim, indica haver diferença estatisticamente significativa entre pelo menos um dos grupos comparados. Em busca de obter informações sobre quais grupos diferem de si, após o teste de Kruskal Wallis foi aplicado o teste post-hoc de Dunn, cujo resultados se encontram na Tabela 3.

Tabela 2 Resultados do teste post-hoc de Dunn.

	CP	NSF2000	NSF600
CP	1	< 0.001	0.39
NSF2000	< 0.001	1	0.39
NSF600	< 0.001	0.39	1

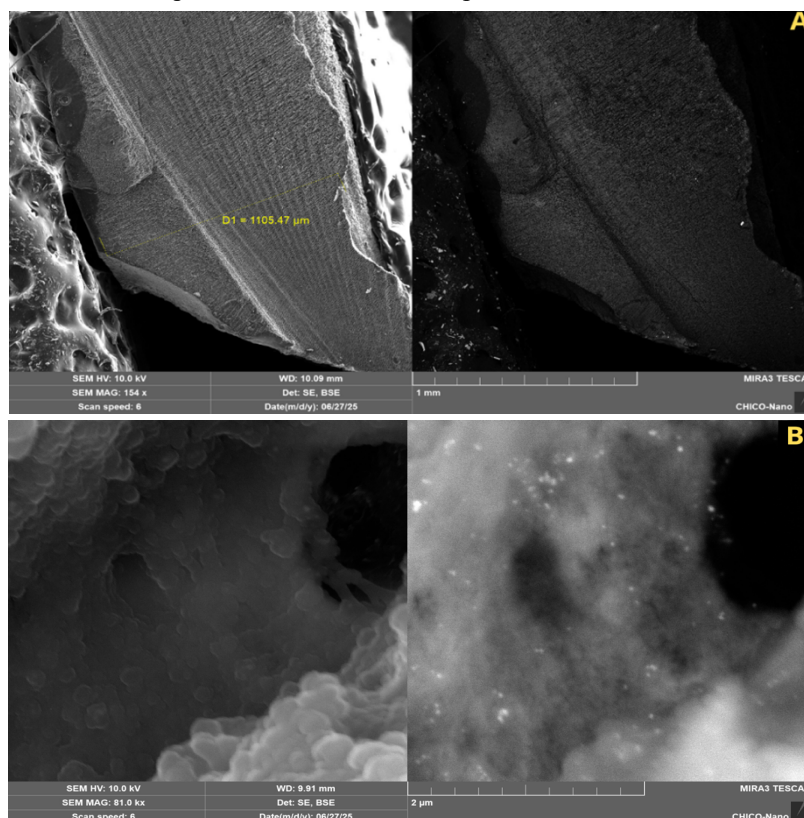
O teste post-hoc de Dunn faz comparações múltiplas indicando que o grupo CP difere de maneira expressiva de ambos os grupos, porém não há diferença entre os tratamentos testados das nanopartículas. Ambos mesmo com concentrações diferentes atuam, estatisticamente, na mesma maneira no combate aos microrganismos. A fim de confirmar esse comportamento, foi aplicado o teste de Mann-Whitney entre os grupos de tratamento NSF600

e NSF2000, o resultado do p-valor = 0,266. O teste de Mann-Whitney confirma que não é possível afirmar haver distinção estatística entre esses dois tratamentos neste conjunto amostral.

4.3 Grau de penetrabilidade de prata nos túbulos dentinários

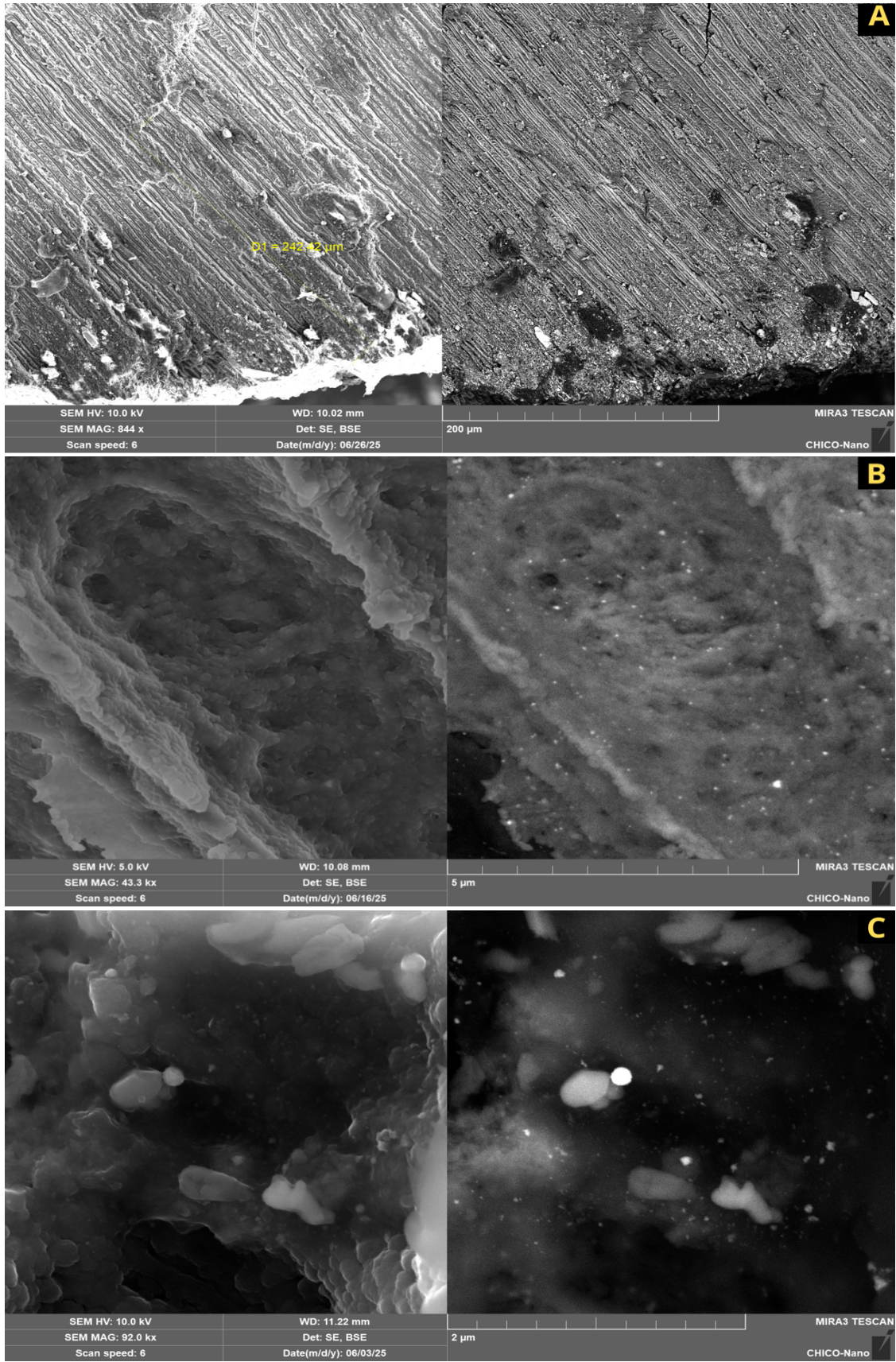
Os agentes testados apresentaram padrões de penetração semelhantes, com entidades compostas por prata penetrando através dos túbulos dentinários em sentido da polpa dentária. Entretanto, os produtos de prata são distintos. Os agentes do DFP formam um agregado de prata em tamanhos maiores com a aparência de ser um sal AgCl, como visto nas Figuras 1 e 2. Eles penetraram uma média de 0.79 mm e 0.78 mm para o DFP38% e DFP30%, respectivamente. Nas amostras do NSF, por outro lado, observa-se uma presença contínua de nanopartículas de prata dentro dos túbulos, que penetram uma média de 0.96 mm para o grupo NSF2000, aproximadamente a amostra toda, e em menor grau de penetrabilidade para o grupo NSF600, cuja média obtida foi de 0.32 mm. O método para a obtenção dessas medidas é mostrado nas Figuras 7 e 8.

Figura 7 Amostra 2 de NSF2000 imagens feitas em MEV por sinal de SE e BSE. Na imagem A é possível ver a profundidade marcada em amarelo da amostra tratada com NSF2000, é visto que o grau de profundidade foi alto atingindo a amostra toda, em B observa-se as nanopartículas geradas dentro dos túbulos dentinários em uma porção mais distante da superfície, a medida da profundidade foi contabilizada até onde tinham partículas protocolo de medição, registra-se até onde tem nanopartículas, observa-se nanopartículas menores.



Fonte: Autoria própria

Figura 8 Amostra 2 de NSF600 imagem de MEV (SE e BSE). Na imagem A é possível ver a profundidade marcada em amarelo da amostra tratada com NSF600, em B observa-se as nanopartículas geradas dentro dos túbulos dentinários, observa-se nanopartículas maiores e menores. Na imagem C tem a captura da nanopartícula “unida” a uma *S. mutans*.



5 DISCUSSÃO

O presente estudo demonstrou que as formulações contendo nanopartículas de prata associadas ao fluoreto e quitosana possuem potencial inibitório da proliferação bacteriana dentro dos túbulos dentinários em dentina cariada artificialmente por *S. mutans*. A análise qualitativa das imagens obtidas por MEV demonstraram uma menor presença de microrganismos dentro dos túbulos dentinários em comparação ao grupo controle, uma média de 6%, com contagem de até 0% em algumas regiões em ambas as formulações testadas.

Do ponto de vista estatístico, a avaliação inicial dos dados demonstrou ausência de normalidade na distribuição (Figura 5) conforme o teste de Shapiro-Wilk, com *p*-valor inferior a 0.05. Tal característica conduziu a escolha de testes não paramétricos para garantir a qualidade das análises e não comprometer a interpretação dos resultados. A hipótese nula para o teste de Kruskal-Wallis foi rejeitada ($p < 0.05$), indicando haver diferença estatística entre os tratamentos feitos com nanopartículas de prata e o grupo controle. Essa diferença foi confirmada pelo teste post-hoc de Dunn, demonstrando uma significativa entre as razões m/T das amostras com tratamento (NSF600 e NSF2000) e o CP, reforçando o potencial antibacteriano contra a *S. mutans* para ambas as concentrações dos agentes.

Sabe-se que nanopartículas menores têm um maior poder antimicrobiano devido à maior adesão e penetrabilidade à matriz dentinária conforme.^{9,14} Ao comparar as formulações de NSF a 600 ppm contendo tamanhos distintos de nanopartículas (70 nm e <10 nm) e NSF a 2000 ppm (<10 nm) a formulação do NSF 2000 apresentou uma menor contagem bacteriana em relação à NSF 600 (Tabela 2) (Figura 4). No entanto, a análise estatística dos pares, realizada por meio dos testes post-hoc de Dunn e do teste de Mann–Whitney ($p > 0.05$), não indicou diferença estatística entre as formulações, não sendo possível, portanto, refutar a semelhança de ambas. Isso sugere que o aumento da concentração pode não ser necessário para alcançar o efeito bacteriostático desejado. Anteriormente a formulação de 1500 ppm (8 nm a 10 nm) teve, também, seu perfil bacteriostático semelhante ao do NSF 600 ppm, sem contato com a polpa dentária²⁵ e com baixo perfil citotóxico.¹²

Além dos resultados *in vitro* apresentados, a eficácia do NSF encontra respaldo em estudos clínicos prévios realizados em dentes decíduos, que demonstraram redução significativa da cárie ativa e da atividade microbiana, principalmente para *S. mutans* e lactobacilos, com o uso de nanopartículas associadas ao fluoreto e quitosana em concentrações variadas (400 ppm, 600 ppm, 1500 ppm).^{25,26,27} Tais achados corroboram o potencial

terapêutico dessas formulações, não apenas no controle da microbiota cariogênica, mas também na possível remineralização da dentina afetada.

O mecanismo antimicrobiano do NSF pode ser explicado pela liberação tardia de nanopartículas e formação de íons de prata que danificam a membrana celular das bactérias, pela capacidade dos íons prata de interagirem com proteínas e DNA bacterianos, promovendo desnaturação de enzimas, ruptura da parede celular e lise bacteriana.^{28,9} Em uma revisão sistemática o microrganismo *S. mutans* foi o mais frequente nas pesquisas com nanopartículas de prata, destacando seus efeitos antimicrobianos, apresentando inibição de crescimento bacteriano e adesão de biofilme, além de propiciar remineralização dentinária.¹⁶

Os resultados deste estudo se alinham, também, com os estudos de Devi *et al.*¹⁴ e Shaema e colaboradores¹⁸, que demonstraram que nanopartículas de prata associadas ao fluoreto possuem alta eficácia antimicrobiana contra *S. mutans*, mesmo em concentrações mais baixas do que os agentes convencionais à base de DFP. A ação antimicrobiana das nanopartículas foi eficaz mesmo em concentrações significativamente menores, reforçando o potencial do NSF como uma alternativa terapêutica menos agressiva e esteticamente mais aceitável.¹⁸

É importante destacar que a contagem bacteriana e um possível potencial cariostático dos agentes comerciais DFP30% e DFP38% não puderam ser comparados nesse estudo, devido à formação de precipitado de cloreto de prata (AgCl) (Figuras 1E e 1F) dentro dos túbulos dentinários, conforme evidenciado pela análise de EDS (Figura 2). O DFP reage com o cloreto presente na saliva o que explica a formação do sal, no estudo de Kaur e colaboradores²⁹ foi visto a formação de AgCl, esse era reduzido a prata metálica, o que foi usado para justificar a coloração escurecida após o uso de cariostáticos a base de DFP. A coloração escura é o efeito adverso do uso do DFP e pode ser justificado pela formação de sais de prata como cloreto de prata.¹⁵

A formação desse precipitado não inibe o potencial antimicrobiano dos agentes de DFP contra *S. mutans* em dentina cariada, o uso do DFP tem embasamento científico e ganhou atenção não apenas em dentes decíduos, mas também na dentição permanente para o tratamento de cárie em dentina e tratamento de cárie radicular. Em um estudo feito em idosos com lesões de cárie radicular houve diminuição significativa de proliferação de microrganismo *S. mutans* após duas semanas de aplicação, os dentes apresentaram maior dureza de superfície, menor sensibilidade e coloração escurecida.³⁰

O agente DFP38% tem indicação para prevenção de hipersensibilidade dentinária, existem evidências de presença de aglomerados de prata dentro dos túbulos dentinários

próximas a região de aplicação e essa formação pode estar relacionada a sua ação dessensibilizante, já que a obliteração dos túbulos dentinários é um dos mecanismos essenciais para o tratamento de hipersensibilidade dentinária.³¹

A limitação desse estudo foi não ter mecanismos para comparação do potencial cariostático contra *S. mutans* dos cariostáticos a base de DFP com os a base de NSF. Em um ensaio clínico para cárie na primeira infância não houve diferença estatística entre os tratamentos com NSF e DFP38%, ambos tiveram benefícios potenciais, chamando atenção para o NSF por não manchar os dentes como opção mais aceitável para os pacientes e pais.³² Porém, ainda há necessidade de estudos robustos e de acompanhamento prolongado para a comparação.

Outro aspecto relevante do ensaio em questão foi a avaliação da profundidade de penetração dos agentes nos túbulos dentinários. O NSF2000 demonstrou maior penetração (média de 0.96 mm) que o NSF600 (0.32 mm), o que pode ser explicado pelo maior gradiente de concentração e, possivelmente, pela melhor dispersão das nanopartículas na matriz dentinária, sendo o NSF600 considerado, nesse estudo, mais seguro para uso em cavidade com 0.5 mm da popa dentária.

Paralelamente os agentes DFP apresentaram penetração semelhante com formação de agregados densos de sais de prata. Essa avaliação foi vista por MEV e nano-tomografia para visualização da penetrabilidade da prata dentro dos túbulos dentinários, foi encontrado em torno de 761 μm^3 de prata dentro dos túbulos e em até 50 μm de profundidade foi encontrada prata profundidade segura para dentes com cavidades com pelo menos 1mm da popa dentária.³²

Por outro lado, essa elevada penetrabilidade pode aumentar o risco de contato com a polpa dentária, levantando preocupações sobre citotoxicidade. Estudos com células odontoblastóides demonstraram redução na viabilidade celular e nos nódulos de mineralização após exposição aos agentes à base de DFP.¹² No presente estudo não foi possível quantificar a concentração de prata por amostra, mas ao analisar as imagens a formação exacerbada dentro dos túbulos dentinários das amostras dos agentes à base de DFP pode ser notada. Foi visto, também, a progressão da prata em sentido de nível pulpar e coloração escura dentro dos túbulos dentinários que passaram pelo tratamento com DFP o que pode ser mais um alerta para citotoxicidade desses produtos em cavidades profundas.³⁰

É relevante a importância de continuar a pesquisa sobre as nanopartículas de prata associadas ao fluoreto e quitosana e suas aplicações no tratamento de cáries, buscando um equilíbrio entre eficácia clínica e aceitabilidade estética. O desenvolvimento de agentes remineralizantes de alta qualidade é fundamental para aprimorar o manejo das lesões cariosas e promover a saúde bucal.

6 CONCLUSÃO

As formulações NSF a 600 ppm e 2000 ppm demonstraram alto potencial antimicrobiano contra *Streptococcus mutans*, uma bactéria-chave na etiologia da cárie dentária. O NSF 600 ppm teve menor grau de penetração nos túbulos dentinários em comparação aos tratamentos comerciais e à formulação NSF 2000, indicando ser seguro para uso clínico e não ser necessário aumento da concentração para ter o perfil cariostático desejado. Ainda assim, são necessários estudos adicionais que comparem diretamente a ação cariostática e a penetrabilidade dentinária das formulações testadas, a fim de confirmar e ampliar os achados deste estudo.

REFERÊNCIAS

- 1 World Health Organization (WHO), Oral health, (2020). <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/oral-health> (acesso em 1 de julho de 2025).
- 2 Uribe SE, Innes N, Maldupa I. The global prevalence of early childhood caries: A systematic review with meta-analysis using the WHO diagnostic criteria. *Int J Paediatr Dent.* v.31, n. 6,p. 817-830,2021. <https://doi.org/10.1111/ipd.12783>
- 3 Ribeiro, Apoená Aguiar; PASTER, Bruce J. Dental caries and their microbiomes in children: what do we do now? *Journal of oral microbiology*, v. 15, n. 1, p. 2198433, 2023.
- 4 Serpa, Eliane Batista et al. The effect of atraumatic restorative treatment on adhesive restorations for dental caries in deciduous molars. *Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry*, v. 35, n. 2, p. 167-173, 2017.
- 5 Thayumanavan, T., Harish, B.S., Subashkumar, R. et al. Streptococcus mutans biofilms in the establishment of dental caries: a review. *3 Biotech* 15, 62 2025. <https://doi.org/10.1007/s13205-025-04227-3>
- 6 Espíndola-Castro, L. F. et al. Dentin staining caused by nano-silver fluoride: a comparative study. *Operative Dentistry*, v. 45, n. 4, p. 435-441, 2020.
- 7 Ericson, Dan et al. Effect of a single application of silver diamine fluoride on root caries after 12 months in institutionalised older adults—A randomised clinical trial. *Gerodontology*, v. 40, n. 3, p. 390-397, 2023.
- 8 Abdellatif, E.B., El Kashlan, M.K. & El Tantawi, M. Silver diamine fluoride with sodium fluoride varnish versus silver diamine fluoride in arresting early childhood caries: a 6-months follow up of a randomized field trial. *BMC Saúde Bucal* 23, 875 (2023). <https://doi.org/10.1186/s12903-023-03597-5>
- 9 Durán, Nelson et al. Silver nanoparticles: A new view on mechanistic aspects on antimicrobial activity. *Nanomedicine: nanotechnology, biology and medicine*, v. 12, n. 3, p. 789-799, 2016.
- 10 Freire, Priscila LL et al. Antimicrobial and cytotoxicity evaluation of colloidal chitosan–silver nanoparticles– fluoride nanocomposites. *International journal of biological macromolecules*, v. 93, p. 896-903, 2016.
- 11 Santos Junior, Valdeci Elias et al. Antimicrobial activity of silver nanoparticle colloids of different sizes and shapes against Streptococcus mutans. *Research on Chemical Intermediates*, v. 43, p. 5889-5899, 2017.
- 12 Espíndola-Castro LF et al. Evaluation of the cytotoxicity of new formulations of cariostatic agents containing nano silver fluoride: an in vitro study. *Odontology*, v.113 n.2, p. 655-665, 2025. <https://doi.org/10.1007/s10266-024-01001-4>
- 13 Piovesan, Érica Torres et al. Is silver diamine fluoride effective in reducing dentin hypersensitivity? A systematic review. *Journal of Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects*, v. 17, n. 2, p. 63, 2023.
- 14 Devi, Chigurupati et al. A Randomized Controlled Trial Evaluating the Effectiveness of Nanosilver Fluoride in Arresting Dental Caries in School Children. *Int J of Clinical Pediatric Dentistry*, v. 16, n. 5, p. 667, 2023.

- 15 Xu et al. Silver Compounds for Caries Management. International dental journal. v. 74, p. 179-186, 2024.
- 16 Yin et al., Use of Silver Nanomaterials for Caries Prevention: A Concise Review. International Journal of Nanomedicine. v.15, p. 3081-3191, 2020.
- 17 Ghareep et al. Nano silver fluoride versus silver diamine fluoride with potassium iodide on carious dentine of primary teeth. Tanta Dental Journal. v.20, n.4, p. 365-370, 2023.
- 18 Shaema et al, A Comparison of Antimicrobial Efficacy of Silver-based Preventive Restorations (Silver Nitrate, Silver Diamine Fluoride, and Silver Nanoparticles) against *Streptococcus mutans* Monospecies Biofilm Model. Int J Clin Pediatr Dent. v.16, n.1, p. S13–S19, agosto 2023
- 19 Andrade M C M, Rosenblatt A, Galembeck A, Silver nanoparticles penetration in dentin: Implications for long-term carie. Materialia.v.24,2022.
<https://doi.org/10.1016/j.mtla.2022.101489>
- 20 Virtanen, P., Gommers, R., Oliphant, T.E. et al. SciPy 1.0: fundamental algorithms for scientific computing in Python. Nat Methods17, 261–272, 2020.
<https://doi.org/10.1038/s41592-019-0686-2>
- 21 McKinney Data Structures for Statistical Computing in Pythondoi, 2010
<https://doi.org/10.25080/majora-92bf1922-00a>
- 22 Harris, C.R., Millman, K.J., van der Walt, S.J. et al. Array programming with NumPy. Nature 585, 357–362, 2020. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2649-2>
- 23 J. D. Hunter, "Matplotlib: A 2D Graphics Environment," in Computing in Science & Engineering, v. 9, n. 3, p. 90-95, 2007, <https://doi.org/10.1109/MCSE.2007.55>
- 24 Terpilowski. Scikit-posthocs: Pairwise multiple comparison tests in Python. Journal of Open Source Software, v.4, n.36, p. 1169, 2019. <https://doi.org/10.21105/joss.01169>
- 25 de Lavôr JR, de Abreu RS, Costa SA, de Brito DH, Dos Santos TG, Almeida NL, da Silva MC, Júnior AF, Heimer MV, Galembeck A, Rosenblatt A. Efficacy of a high concentration of nano silver fluoride in preventing caries: A randomized controlled trial. J Clin Exp Dent. v.16, n.3, 2024. <https://doi.org/10.4317/jced.60776>
- 26 Arnaud M et al. Nano-silver Fluoride at Higher Concentration for Caries Arrest in Primary Molars: A Randomized Controlled Trial. Int J Clin Pediatr Dent. v. 14, n.2, p.:207-211, 2021. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10005-1920>
- 27 Ammar, N., El-Tekeya, M.M., Talat, D.M. et al. Effect of silver diamine fluoride and nanosilver on salivary bacterial counts in children with early childhood caries: a randomized controlled clinical trial. BMC Saúde Oral, v.25, 2025.
<https://doi.org/10.1186/s12903-025-06325-3>
- 28 Targino AG, Flores MA, dos Santos Junior VE, de Godoy Bené Bezerra F, de Luna Freire H, Galembeck A, Rosenblatt A. An innovative approach to treating dental decay in children. A new anti-caries agent. J Mater Sci Mater Med. v.25, n.8,2014.
<https://doi.org/10.1007/s10856-014-5221-5>
- 29 Kaur M, Anderson P, Shahid S e Wong FSL. Chemical kinetics of silver diammine fluoride in demineralization and remineralization solutions-an in vitro study.. Saúde Oral Frontal, 2024.<https://doi10.3389/froh.2024.1374333>
- 30 Chitpitak N, Wongwitwichot P, Talungchit S, Naorungroj S. Clinical, Microbiological, and Microcomputed Tomography Evaluation of Silver Diamine Fluoride in Controlling

- Root Carious Lesions: An in Vivo Study. *J Clin Exp Dent*. v.16, n.7, p.836-844, 2024
<https://doi.org/10.4317/jced.61178>
- 31 Kiesow A, Menzel M, Lippert F, Tanzer JM e Milgrom P. Dentin tubule occlusion by a 38% silver diamine fluoride gel: an in vitro investigation.v. 8, n.1,2022.
<https://doi.org/10.1038/s41405-022-00095-8>
 - 32 Menzel M, Kiesow A, de Souza E Silva JM. Nano-CT characterization of dentinal tubule occlusion in SDF-treated dentin. *Sci Rep. Sep* v.13, n.1,2023
<https://doi.org/10.1038/s41598-023-42805-8>
 - 33 Hamama, H. H.; Yiu, C. K.; BURROW, M. F. Effect of silver diamine fluoride and potassium iodide on residual bacteria in dentinal tubules. *australian dental journal*, v. 60, n. 1, p. 80-87, 2015.
 - 34 Ma, Jingzhi et al. A new noninvasive model to study the effectiveness of dentin disinfection by using confocal laser scanning microscopy. *Journal of endodontics*, v. 37, n. 10, p. 1380-1385, 2011.
 - 35 Abramoff, M.D., Magelhaes, P.J., Ram, S.J. "Image Processing with ImageJ". *Biophotonics International*, volume 11, issue 7, pp. 36-42, 2004.
 - 36 Freire P L L, et al. Action of silver nanoparticles towards biological systems: cytotoxicity evaluation using hen's egg test and inhibition of *Streptococcus mutans* biofilm formation. *International Journal of Antimicrobial Agents*. v.45, n.2, 2015.
<https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2014.09.007>
 - 37 TIRUPATHI et al. Comparative cariostatic efficacy of a novel Nano-silver fluoride varnish with 38% silver diamine fluoride varnishes a double-blind randomized clinical trial. *J Clin Exp Dent*. v.11, n.2, p.105-12.
 - 38 Dunn, O.J. Multiple Comparisons Using Rank Sums. *Technometrics*, v.6, p. 241-252, 1964
<https://doi.org/10.1080/00401706.1964.10490181>
 - 39 Kruskal, W. H., & Wallis, W. A. (1952). Use of Ranks in One-Criterion Variance Analysis. *Journal of the American Statistical Association*, v. 47, p. 583-621, 1952.
<http://dx.doi.org/10.1080/01621459.1952.10483441>
 - 40 Mann, H.B. and Whitney, D.R. On a Test of Whether One of Two Random Variables Is Stochastically Larger than the Other. *Annals of Mathematical Statistics*, v.18, p. 50-60, 1947. <http://dx.doi.org/10.1214/aoms/1177730491>

APÊNDICE A – INSTRUMENTO DE COLETA

UNIVERSIDADE DE
PERNAMBUCO/ PROPEGE/



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Atividade Antibacteriana do Fluoreto de Nanopartícula de Prata Contra Streptococcus Mutans em Túbulos Dentinários

Pesquisador: Luís Felipe de Espindola Castro

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 85829818.4.0000.5207

Instituição Proponente: FUNDACAO UNIVERSIDADE DE PERNAMBUCO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.577.182

Apresentação do Projeto:

Atividade Antibacteriana do Fluoreto de Nanopartícula de Prata Contra Streptococcus Mutans em Túbulos Dentinários

O projeto de pesquisa de mestrado em Odontologia pela UPE se propõe a analisar as reações de substâncias utilizadas no tratamento da cárie - Fluoreto de Nanopartícula de Prata em relação ao uso do diamino fluoreto de prata (12% e 30%) e do fluoreto de prata (35% - e avaliar quais delas reagem de maneira mais adequada no tratamento desta doença. As substâncias serão analisadas e avaliadas em dentes molares que foram extraídos por indicação terapêutica e que sejam doados pelos pacientes tratados por odontólogos das clínicas da UPE. Serão abordados para doação dos molares, 90 pacientes após diagnóstico e tratamento dentário de extração realizados pelos dentistas das clínicas da UPE. Os pesquisadores não realizarão o procedimento de extração. Nem farão a abordagem aos pacientes para doação dos molares antes do diagnóstico e do tratamento de extração. Os dentes seriam descartados em lixo adequado nas clínicas e, através da pesquisa, passam a ser utilizados para fins de produção de conhecimento em Laboratórios específicos da Faculdade de Odontologia da UPE e do Departamento de Medicina Tropical da UFPE.

Localização do Estudo

A pesquisa será realizada no centro de pesquisa em biomateriais (CPqB) da Faculdade de

Endereço: Av. Agamenon Magalhães, s/nº

Bairro: Santo Amaro

CEP: 50.100-010

UF: PE

Município: RECIFE

Telefone: (81)3183-3775

Fax: (81)3183-3775

E-mail: comite.etica@upe.br

UNIVERSIDADE DE
PERNAMBUCO/ PROPEGE/



Continuação do Parecer: 2.577.182

Odontologia de Pernambuco (FOP/UPE), e no Departamento de Microbiologia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

População

Participarão voluntariamente desta pesquisa, adultos, na faixa etária de 18 a 64 anos de idade, que possuam indicação de exodontia molares.

Tamanho da Amostra

Para a avaliação do potencial antibacteriano, a amostra envolvida nesta pesquisa será composta por 15 molares permanentes extraídos, tomando como base o tamanho amostral de estudos semelhantes (MA et al., 2011; WANG et al., 2012; HAMAMA; YIU; BURROW, 2014; HAMAMA; YIU; BURROW, 2015). A unidade amostral será composta por 30 fragmentos de dentina coronária obtidas das regiões interproximais (mesiais e distais) as quais serão divididas aleatoriamente em 6 grupos (n=5).

Para a avaliação das alterações de cor após utilização dos agentes cariostáticos, serão utilizados 60 molares permanentes extraídos. O tamanho da amostra foi baseada em estudos semelhantes (KARADAS; SEVEN, 2014; CORREIA et al., 2017). A unidade amostral para esta avaliação será de 60 blocos de dentina coronária os quais serão divididas aleatoriamente em 4 grupos (n=15).

Seleção da Amostra

Os pesquisadores frequentarão as clínicas da FOP/UPE onde são realizadas as extrações dentárias (Clínicas de Atenção Básica II e III, Clínica de Alta e Média Complexidade II e serviço de Cirurgia e Traumatologia Buco-maxilo-facial). Somente após toda a rotina das respectivas clínicas quanto ao procedimento de extração, realizado pelos profissionais responsáveis da clínica, os pacientes serão abordados pelos pesquisadores. Desta forma, toda decisão clínica e intervenção não será realizada e nem será executada por nenhum dos pesquisadores deste estudo.

Critérios de Inclusão

- Pacientes adultos com idades entre 18 e 64 anos;
- Que passaram por exodontia de molares de quaisquer lados por indicações terapêuticas.

Critérios de Exclusão

- Presença de tecido cariado ou restaurações nos elementos dentários;
- Presença de fraturas, trincas ou fissuras na porção coronária dos dentes.

A abordagem aos pacientes atendidos se dará nos consultórios individuais de cada clínica. Após devida identificação, os pesquisadores esclarecerão aos pacientes sobre a pesquisa em questão e serão questionados se desejam doar o dente extraído para uso na pesquisa. Aceitando, os mesmos serão convidados a assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido próprio para

Endereço: Av. Agamenon Magalhães, s/nº

Bairro: Santo Amaro

CEP: 50.100-010

UF: PE

Município: RECIFE

Telefone: (81)3183-3775

Fax: (81)3183-3775

E-mail: comite.etica@upe.br

UNIVERSIDADE DE
PERNAMBUCO/ PROPEGE/



Continuação do Parecer: 2.577.182

doação de amostras biológicas para a constituição do Biorrepositório.

O Biorrepositório será estabelecido conforme descrito na Resolução CNS nº. 441 de 2011. Assim, o material biológico humano armazenado em Biorrepositório é do participante da pesquisa, permanecendo sua guarda sob a responsabilidade institucional. O doador poderá a qualquer momento requerer a devolução do devido órgão.

Objetivo da Pesquisa:

• Geral

Avaliar o potencial antibacteriano do Fluoreto de Nanopartícula de Prata contra o Streptococcus Mutans e seu potencial de pigmentação dental em dentina cariada artificialmente em relação ao diamino fluoreto de prata (12% e 30%) e fluoreto de prata (35%).

• Específicos

I. Analisar qualitativamente por meio de microscopia confocal de varredura a laser a morte celular do Streptococcus mutans em dentina cariada artificialmente após a aplicação dos agentes cariostáticos;

II. Mensurar através de análise histomorfométrica a área de bactérias vivas e mortas presentes nas imagens geradas pela microscopia confocal;

III. Avaliar quantitativamente as alterações de cor das estruturas dentárias após a utilização dos cariostáticos por meio de Espectrofotômetro digital (Vita Easy Shade / Wilcos).

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos

Quanto aos riscos envolvidos, podemos citar o risco de possível constrangimento ao ser abordado pelo pesquisador. Este risco será minimizado com conversas particulares, nos locais individuais de atendimento. Sempre deixando claro para o doador que ele não terá nenhum prejuízo caso não queira doar. Esses dentes ao invés de serem descartados em lixo biológico, serão doados para utilização em pesquisa. Os doadores serão esclarecidos que os dentes serão seccionados, para que na eventualidade de virem a requerer o devido órgão do Biorrepositório. Os procedimentos cirúrgicos de extrações dentárias não serão realizados por esta equipe de pesquisa. Os dentes serão coletados nas Clínicas de Atenção Básica II e III, Clínica de Alta e Média Complexidade II e serviço de Cirurgia e Traumatologia Buco-maxilo-facial. Sendo assim, os riscos inerentes às exodontias não serão de responsabilidade do presente projeto.

Endereço: Av. Agamenon Magalhães, s/nº

Bairro: Santo Amaro

CEP: 50.100-010

UF: PE

Município: RECIFE

Telefone: (81)3183-3775

Fax: (81)3183-3775

E-mail: comite.etica@upe.br

UNIVERSIDADE DE
PERNAMBUCO/ PROPEGE/



Continuação do Parecer: 2.577.182

• Benefícios

Os benefícios que a pesquisa apresenta é permitir a classe odontológica um maior conhecimento acerca do comportamento de diversos agentes cariostáticos. Sendo estes de extrema importância, por serem materiais de fácil manipulação e aplicação, que permitem diminuir ou paralisar a proliferação bacteriana. Aplicável principalmente, em áreas com pouco acesso aos atendimentos odontológicos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

É um estudo que pode facilitar o uso de substâncias no tratamento da cárie em grupos com menos acesso a tratamento dentário tendo, portanto, um significado social que pode ser considerado relevante na diminuição da proliferação da cárie.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos obrigatórios (TCLE, Carta de Anuência, Termo de Confidencialidade, Termo de Concessão) foram apresentados de forma a atender as normativas de ética em pesquisa com seres humanos.

Recomendações:

Não há recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

O pleno acompanha o parecer do relator.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1093723.pdf	15/03/2018 17:46:49		Aceito
Outros	CURRICULO_LUIS_FELIPE.pdf	15/03/2018 17:45:41	Luís Felipe de Espindola Castro	Aceito
Outros	CURRICULO_GABRIELA_QUEIROZ.pdf	15/03/2018 17:45:06	Luís Felipe de Espindola Castro	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento /	TCLE.pdf	15/03/2018 17:44:02	Luís Felipe de Espindola Castro	Aceito

Endereço: Av. Agamenon Magalhães, s/nº

Bairro: Santo Amaro

CEP: 50.100-010

UF: PE

Município: RECIFE

Telefone: (81)3183-3775

Fax: (81)3183-3775

E-mail: comite.etica@upe.br

UNIVERSIDADE DE
PERNAMBUCO/ PROPEGE/



Continuação do Parecer: 2.577.182

Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	15/03/2018 17:44:02	Luís Felipe de Espindola Castro	Aceito
Declaração de Pesquisadores	CONFIDENCIALIDADE.jpeg	15/03/2018 17:43:42	Luís Felipe de Espindola Castro	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	CONCESSAOCQB.jpeg	15/03/2018 17:42:35	Luís Felipe de Espindola Castro	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	CONCESSAOBIOFILME.jpeg	15/03/2018 17:42:01	Luís Felipe de Espindola Castro	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	ANUENCIA.jpeg	15/03/2018 17:41:23	Luís Felipe de Espindola Castro	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PRE_PROJETO_PLATAFORMA_BRASIL.docx	15/03/2018 17:40:46	Luís Felipe de Espindola Castro	Aceito
Folha de Rosto	FOLHA_ROSTO_PDF.pdf	15/03/2018 17:39:19	Luís Felipe de Espindola Castro	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RECIFE, 03 de Abril de 2018

Assinado por:
Jael Maria de Aquino
(Coordenador)

Endereço: Av. Agamenon Magalhães, s/nº

Bairro: Santo Amaro

CEP: 50.100-010

UF: PE

Município: RECIFE

Telefone: (81)3183-3775

Fax: (81)3183-3775

E-mail: comite.etica@upe.br