



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CENTRO DE TECNOLOGIA – CTEC
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
MATERIAIS - PPGMATERIAIS



THÉO FORTES SILVEIRA CAVALCANTI

**DESENVOLVIMENTO DE MATERIAIS ODONTOLÓGICOS DE ALTO VALOR
AGREGADO CONTENDO PRÓPOLIS VERMELHA DE ALAGOAS**

Maceió-Alagoas

2023



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CENTRO DE TECNOLOGIA – CTEC
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
MATERIAIS - PPGMATERIAIS



THÉO FORTES SILVEIRA CAVALCANTI

**DESENVOLVIMENTO DE MATERIAIS ODONTOLÓGICOS DE ALTO VALOR
AGREGADO CONTENDO PRÓPOLIS VERMELHA DE ALAGOAS**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Materiais da UFAL para obtenção do título de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Josealdo Tonholo.
Coorientador: Prof. Dr. José Marcos dos Santos Oliveira.

Maceió-Alagoas

2023

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecária: Taciana Sousa dos Santos – CRB-4 – 2062

C377d Cavalcanti, Théo Fortes Silveira.
Desenvolvimento de materiais odontológicos de alto valor agregado
contendo própolis vermelha de Alagoas / Théo Fortes Silveira Cavalcanti. –
2023.

76 f. : il. color.

Orientador: Josealdo Tonholo.

Coorientador: José Marcos dos Santos Oliveira.

Tese (Doutorado em Materiais) – Universidade Federal de Alagoas.
Centro de Tecnologia. Programa de Pós-Graduação em Materiais. Maceió,
2023.

Bibliografia: f. 67-75.

Anexo: f. 76.

1. Cárie dentária – Tratamento alternativo. 2. Própolis vermelha de
Alagoas. 3. Flavonoides. 4. Cimento de ionômetro de vidro. I. Título.

CDU: 616.314-002 : 638.135

RESUMO

A tese em questão aborda tratamento alternativo à cárie dentária, uma das doenças endêmicas que afeta toda humanidade. Apresenta também uso de um produto natural da biodiversidade regional - a Própolis Vermelha de Alagoas (PVA) – como aditivo para insumos odontológicos que aprimora a qualidade do tratamento da cárie, com agregação de valor e aumento da eficiência do tratamento. A PVA obtida de fonte controlada foi elaborada de forma a obter o extrato hexânico, o qual foi devidamente qualificado por cromatografia líquida para determinação de teores de flavonoides e fenóis, cujos resultados alcançaram entre 7,35% de flavonoides e 117,6 mg de fenóis totais por grama de extrato hexânico seco. Foi realizado estudo de sequestro de DPPH, onde a IC50 da capacidade de sequestro de radical DPPH do extrato hexânico de PVA foi 9,22 µg/mL enquanto a IC50 do trolox, usado como padrão, foi de 7,02 µg/mL. Após qualificação do extrato, foram formuladas 5 diferentes composições de ionômero de vidro com adição de extrato seco de PVA, que foram submetidos aos ensaios de atividade antibacteriana por difusão, que confirmou a capacidade de liberação de daidzeína, liquiritigenina, pinobanksina, isoliquiritigenina e formononetina. Foram realizados ensaios mecânicos de rugosidade de superfície, que revelaram valores semelhantes entre as superfícies do ionômero de vidro do grupo controle com a do ionômero com o extrato hexânico a 0,5%. A análise da microdureza de materiais (dureza Knoop), comprovou haver diferença estatística significativa na microdureza dos aditivados em relação ao produto comercial do ionômero não aditivado. A determinação de perfil de liberação (qualitativa) de fluoreto foi realizada por RMN por procedimento inédito, revelando a viabilidade de liberação de fluoreto, independente da presença da PVA na mistura do ionômero. Foi também realizado estudo de liberação de flúor por fluorometria, sendo comprovada a liberação quantitativa de flúor, tanto na presença quanto na ausência da PVA. Os resultados de testes biológicos, químicos e mecânicos, realizados in vitro e aqui apresentados, são muito favoráveis à indicação do uso da PVA como aditivo em ionômero de vidro, permitindo recomendar o avanço para estudos in vivo.

PALAVRAS-CHAVE: Própolis Vermelha de Alagoas; Ionômero de Vidro; Flavonoides; Cárie.

DEVELOPMENT OF DENTAL MATERIALS WITH IMPROVED VALUE CONTAINING BRAZILIAN RED PROPOLIS.

SUMMARY

This thesis addresses alternative treatment for tooth caries, one of the endemic diseases that affects all humanity. It also presents the use of a natural product from regional biodiversity – Brazilian Red Propolis (PVA), an exclusive bioproduct from Alagoas, Brazil - as an additive for dental supplies that improves the quality of caries treatment, adding value and increasing treatment efficiency. The PVA obtained from a controlled source was prepared to obtain the hexane extract, which was duly qualified by liquid chromatography to determine flavonoid and phenol contents, the results of which reached between 7.35% of the flavonoid and 117.6 mg of total phenols per gram of dry hexane extract. A DPPH scavenging study was carried out, where the IC₅₀ of the DPPH radical scavenging capacity of the PVA hexane extract was 9.22 µg/mL while the IC₅₀ of Trolox, used as standard, was 7.02 µg/mL. After qualifying the extract, 5 different ionomer compositions were formulated with the addition of PVA dry extract, which were subjected to antibacterial activity tests by diffusion, which confirmed the ability to release daidzein, liquiritigenin, pinobanksin, isoliquiritigenin and formononetin. Mechanical surface roughness tests were carried out, which revealed similar values between the surfaces of the glass ionomer in the control group and that of the ionomer with 0.5% hexane extract. The analysis of the microhardness of materials (Knoop hardness) proved that there was statistically significant difference in the microhardness of the additives in relation to the commercial product of the non-additivated ionomer. The determination of the (qualitative) fluoride release profile was carried out by NMR using an unprecedented procedure, revealing the viability of fluoride release, regardless of the presence of PVA in the ionomer mixture. A fluoride release study was also carried out using fluorometry, demonstrating the quantitative release of fluoride, both in the presence and absence of PVA. The results of biological, chemical and mechanical tests, carried out *in vitro* and here presented, are very favorable to the indication of the use of PVA as an additive in glass ionomer, allowing us to recommend moving towards *in vivo* studies.

KEYWORDS: Red Propolis of Alagoas; Glass Ionomer; Flavonoids; Caries.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnica
ADA	American Dental Association
AlCl ₃	Cloreto de Alumínio
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BHA	<i>Brain heart infusion agar</i>
BHI	<i>Brain heart infusion</i>
CCT	Coleção de Cultura Tropical
CIV	Cimento de Ionômero de Vidro
CIVP	Cimento de Ionômero de Vidro com Própolis (Extrato Hexânico)
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CLSI	Clinical & Laboratory Standards Institute
CMI	Concentração Inibitória Mínima
CSR	Capacidade de Sequestro do Radical
DCNT	Controle de Doenças Não Transmissíveis
DMSO	Dimetilsulfóxido
D ₂ O	Água Deuterada
DPPH	Determinação da Capacidade de Sequestro do Radical
DPPH	1, 1 –difênil-2-picrilhidrazil
DPPH	Radical 2, 2-difênil-1- picril-hidrazil
FID	Free Induction Decay
FT	Transformadas de Fourier
HEMA	2 - Hidroxietil Metacrilato
Hz	Hertz
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IC ₅₀	Concentração Inibitória 50 %
ICON	Infiltração de Resinas de Baixa Viscosidade
JAD	Junção Amelodentinária
MHz	Mega-hertz
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
mV	Milivolts
Na ₂ CO ₃	Carbonato de sódio
OMS	Organização Mundial de Saúde

ODS	Objetivos de Desenvolvimento Sustentável
pH	Potencial Hidrogeniônico
PPM	Parte por milhão
PVA	Própolis Vermelha de Alagoas
RMN	Ressonância Magnética
TISAB II	Total Ionic Strength Adjustment Buffer
UFC/mL	Unidade formadora de colônia por mL

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Desenho que representa a característica multifatorial da doença cárie dentária.	21
Figura 2 – Imagens clínicas e histológicas de lesões de cárie em diferentes estágios de progressão.	22
Figura 3 – Imagem representativa das camadas de dentina acometidas pelo processo de cárie dentária.	24
Figura 4 – Perfil CLAE do extrato hexânico da própolis vermelha de Alagoas a 500 µg/mL.	49
Figura 5: Curva de calibração da quercetina.	50
Figura 6 – Curva de calibração do extrato hexânico para flavonoides totais.	51
Figura 7 – Curva de calibração do ácido gálico.	52
Figura 8 – Curva de calibração do extrato hexânico para fenóis totais.	53
Figura 9 – Curva de calibração da capacidade de sequestro de radical do trolox.	55
Figura 10 – Atividade do ionômero enriquecido pelo método de difusão em agar contra <i>Streptococcus mutans</i>	56
Figura 11 – Perfil de liberação dos ionômeros enriquecidos com extrato hexânico via CLAE.	57
Figura 12 – Sobreposição de três espectro de RMN- ¹⁹ F referentes à liberação de fluoreto a partir da formulação de CIV. (1:5 azul), (2:4 rosa), (3:3 marrom).	61
Figura 13 – Sobreposição de três espectro de RMN- ¹⁹ F referentes à liberação de fluoreto a partir da formulação de CIV. 73,48 mg. (1:5 azul), (2:4 rosa), (3:3marrom).	61
Figura 14 – Sobreposição de três espectro de RMN- ¹⁹ F referentes à liberação de fluoreto a partir da formulação de CIV enriquecido com PVA 74,27 mg. (1:5 azul), (2:4 rosa), (3:3 marrom).	61
Figura 15 – Sobreposição de três espectro de RMN- ¹⁹ F referentes à liberação de fluoreto a partir da formulação de CIV enriquecido com PVA 74,27 mg. (1:5 azul), (2:4 rosa), (3:3 marrom).	62
Figura 16 – Curva de calibração do fluoreto.	63
Figura 17 – Liberação de fluoreto por fluorimetria das amostras CIVP 0,5 % e CIV comercial.	64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Tipos de própolis e suas respectivas origens geográfica e botânica.....	34
Tabela 2 – Constituintes químicos de três tipos de própolis	36
Tabela 3 – Proporções das formulações de ionômero enriquecidas com extrato Hexânico de PVA	44
Tabela 4 – Dados da curva de calibração da quercetina.	50
Tabela 5 – Dados da curva de calibração da do extrato hexânico para flavonoides totais.	51
Tabela 6 – Dados da curva de calibração do ácido gálico.	52
Tabela 7 – Dados da curva de calibração do extrato hexânico para fenóis totais.....	53
Tabela 8 – Dados da curva de calibração da capacidade de sequestro de radical DPPH do trolox.....	54
Tabela 9 – Dados da curva de calibração para a capacidade de sequestro de radical do extrato hexânico de própolis vermelha de Alagoas	55
Tabela 10 – Média (\pm DP) da microdureza (KNH) para os diferentes materiais testados.....	58
Tabela 11 – Média (\pm DP) da rugosidade (μ m) para os diferentes materiais testados.	60
Tabela 12 – <i>Curva de calibração do padrão de fluoreto</i>	63
Tabela 13 – Análise de liberação de fluoreto a partir das amostras de CIVP e CIV. .	64

Sumário

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVOS	12
2.1	Objetivos específicos	12
3	REVISÃO DA LITERATURA	13
3.1	Cárie dental	13
3.1.1	Cárie aguda	13
3.1.2	Cárie crônica	13
3.1.3	Cárie ativa	14
3.1.4	Cárie inativa	14
3.1.5	Cárie dentária primária	14
3.1.6	Recidiva de cárie ou cárie secundária ou recorrente	15
3.1.7	Cárie residual	16
3.1.8	Infiltração Marginal	16
3.2	A cárie dentária e suas consequências	17
3.2.1	Odontológica (dor de dente)	17
3.2.2	Sensibilidade dentinária	17
3.2.3	Abcesso dentário	17
3.2.4	Problemas de magistério e oclusão	17
3.2.5	Problemas estéticos e de fonação	17
3.2.6	Perda dentária ou edentulismo	17
3.3	O acesso aos serviços de saúde bucal	18
3.3.1	Alerta e recomendação OMS	19
3.4	Conceitos atuais da cárie dentária	20
3.5	Tratamento da cárie dental	25
3.6	Materiais dentários de proteção ao Complexo Dentino Pulpar	29
3.6.1	Cimento de ionômero de vidro	30
3.7	Própolis	33
3.7.1	Composição química e atividades biológicas da própolis vermelha de Alagoas.	34
3.7.2	Uso da própolis vermelha no desenvolvimento de produtos odontológicos	37
4	METODOLOGIA	38
4.1	Obtenção do extrato hexânico de própolis vermelha de Alagoas	38

4.2	Caracterização do extrato hexânico de própolis vermelha de Alagoas	39
4.2.1	Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)	39
4.2.2	Determinação do teor de flavonoides totais.....	40
4.2.3	Determinação do teor de fenóis totais	41
4.2.4	Determinação da capacidade de sequestro do radical DPPH (CSR %)	42
4.3	Obtenção das formulações de cimento de ionômero de vidro enriquecido com extrato hexânico de PVA (CIVP).....	43
4.4	Caracterização das formulações de cimento de ionômero de vidro enriquecido com extrato hexânico de PVA (CIVP)	44
4.4.1	Determinação da atividade antibacteriana por difusão	44
4.4.2	Determinação do perfil de liberação de extrato hexânico de própolis.....	45
4.4.3	Microdureza Knoop (KHN).....	45
4.4.4	Rugosidade superficial.....	46
4.4.5	Determinação do perfil de liberação de fluoreto por RMN	46
4.4.6	Determinação do perfil de liberação de fluoreto por Fluorimetria	47
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
5.1	Caracterização do extrato hexânico de própolis vermelha de Alagoas	49
5.1.1	Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)	49
5.1.2	Determinação de flavonoides totais	50
5.1.3	Determinação de fenóis totais	52
5.1.4	Determinação da capacidade de sequestro do radical DPPH	54
5.2	Caracterização das formulações de cimento de ionômero de vidro enriquecidas com própolis vermelha de Alagoas.....	56
5.2.1	Determinação da atividade antibacteriana por difusão	56
5.2.2	Determinação da liberação do extrato hexânico de própolis a partir do ionômero enriquecido com PVA.	57
5.2.3	Microdureza Knoop (KHN).....	58
5.2.4	Rugosidade superficial.....	59
5.2.5	Determinação do perfil de liberação de fluoreto por RMN	60
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	65
	REFERÊNCIAS.....	67
	ANEXO 1 – M REVISTA A2	76

1 INTRODUÇÃO

A cárie dental ainda é o principal problema de saúde bucal no Brasil, além de ser a doença bucal mais estudada no mundo. A cárie dentária é uma doença multifatorial, decorrente da interação de vários agentes, direto ou indiretamente relacionados, assim sendo, temos fatores determinantes (hospedeiro, dieta, biofilme e tempo), fatores sociais, econômicos e comportamentais e esses podem influenciar no desenvolvimento da doença, uma vez que as diferenças nos níveis de saúde podem ser explicadas pelas diferenças socioeconômicas (MACHIULSKIENE et al., 2020; RATHEE; SAPRA, 2021; WARRETH, 2023). A complexidade da doença atravessa séculos e continua acometendo um número muito significativo da população, principalmente povos de baixo poder aquisitivo, baixo nível de escolaridade, alimentação rica em açúcares, e um fator de grande impacto, é a baixa oferta de serviços públicos e quando ofertados, não tem a qualidade de uma saúde integral e preventiva como salientou a Organização Mundial de Saúde (OMS) em 2021.

Nas últimas décadas, a exposição ao flúor tem contribuído para a redução das desigualdades na distribuição da cárie, podendo influenciar a relação açúcar-cárie. A efetividade da fluoretação das águas de abastecimento público e do creme dental fluoretados tem sido amplamente demonstrada na literatura (TWETMAN, 2009). O uso de materiais odontológicos com propriedades capazes de inibir ou prevenir a formação de biofilme, como a liberação de íons a fim de que os efeitos deletérios exercidos pelo biofilme na interface de restaurações e próteses fossem minimizados são interessantes (BOECKH *et al.*, 2002). O sucesso do tratamento restaurador da lesão cariada depende de uma restauração com bom selamento garantindo a manutenção inativa das bactérias remanescentes nas camadas de dentina mais profundas, e evitando a infiltração marginal para prevenir a recidiva de lesão.

Na Odontologia, tem-se estudado a atividade farmacológica de produtos naturais associados aos odontológicos para tratamento de lesões bucais, como uso da própolis, em algumas situações, como: gengivites, periodontite, aftas, mumificação pulpar em dentes de cães e cárie dental em ratos (GERALDINI *et al.*, 2000). Verificou-se ainda a capacidade antisséptica e cicatrizante da própolis em indivíduos internados em hospitais, cujos resultados foram extremamente positivos (GRÉGIO *et al.*, 2005). Assim,

este produto natural revela-se de grande interesse para o tratamento e prevenção das doenças bucais (MANARA et al.,1999). Na área medicinal numerosas propriedades biológicas também têm sido encontradas na própolis, incluindo antimicrobiana, antibacteriana, anti-herpes, anti-tumor, antioxidante e efeitos supressivos da toxicidade da dioxina (RIGHI *et al.*, 2011; TORETI *et al.*, 2013).

A própolis apresenta várias derivações, estas estão disponíveis sob a forma de cápsula (pura ou combinada), extrato (hidroalcoólico ou glicólico), enxaguante bucal (combinado com salva, malva e/ou alecrim), pastilhas, cremes e pó (CASTALDO & CAPASSO, 2002).

2 OBJETIVOS

O objetivo geral do trabalho é desenvolver materiais odontológicos de alto valor agregado com própolis vermelha de Alagoas, visando ampliar a capacidade de combate à cárie dentária de forma mais conservadora.

2.1 Objetivos específicos

- Caracterizar a fração hexânica da própolis vermelha de Alagoas (PVA);
 - Determinar teor de flavonoides totais;
 - Determinar teor de fenóis totais;
 - Determinar atividade antioxidante;
 - Determinar o perfil cromatográfico por cromatografia líquida de alta eficiência;
- Desenvolver cimento de ionômero de vidro enriquecido com PVA;
- Caracterizar cimento de ionômero de vidro enriquecido com PVA;
 - Determinar atividade antibacteriana por difusão em ágar;
 - Determinar o perfil de liberação de PVA a partir do ionômero;
 - Determinar microdureza do ionômero enriquecido com PVA;
 - Determinar rugosidade superficial do ionômero enriquecido com PVA;
 - Determinar o perfil de liberação de flúor do ionômero de vidro; enriquecido com extrato hexânico de PVA, por fluorimetria e por RMN;

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Cárie dental

A cárie dental é uma doença multifatorial, decorrente da interação de vários agentes, direta ou indiretamente relacionados, assim sendo, temos fatores determinantes (hospedeiro, dieta, biofilme e tempo), fatores sociais, econômicos e comportamentais e esses podem influenciar no desenvolvimento da doença, uma vez que as diferenças nos níveis de saúde podem ser explicadas pelas diferenças socioeconômicas (MACHIULSKIENE et al., 2020; RATHEE; SAPRA, 2021; WARRETH, 2023). O termo “cárie dentária” é usado para descrever os resultados (sinais e sintomas) de uma dissolução química da superfície dentária causado por eventos metabólicos que ocorrem no biofilme (placa bacteriana) que recobre a área afetada. (FEJERSKOV O.; NYVAD B; KIDD E, 2017).

Como uma patologia muito antiga e multifatorial, portanto, sendo alvo de muitos estudos e de abordagens distintas quanto as suas características morfológicas, sua agressividade evolutiva, seus sinais e sintomas, sua evolução clínica etc., se fez necessário distinguir cada manifestação da doença com suas devidas especificidades e complexidades, com isso, vários e renomados autores apresentaram conceitos dos diversos tipos de forma e apresentação das cáries.

3.1.1 Cárie aguda

De evolução rápida e agressiva, se caracteriza pela presença na dor de dente constante e intensa, sensibilidade na ingestão de alimentos e bebidas quentes ou frios, e uma aparência escurecida ou manchada do dente. A cárie aguda pode levar à perda da estrutura dentária e até mesmo, à perda do dente, se não for tratada adequadamente (ADA, 2019).

3.1.2 Cárie crônica

É uma forma de cárie dentária que se desenvolve ao longo do tempo, podendo resultar em complicações graves se não for tratada. Segundo a literatura científica, a cárie crônica é definida como uma lesão cariosa que pode demorar anos para se desenvolver completamente e afeta principalmente a superfície oclusal dos molares e pré-molares permanentes. Esta forma de cárie é frequentemente

observada em crianças e adolescentes, no entanto, pode ocorrer em qualquer faixa etária (NAZZAL, H., RICKETTS D., 2019).

3.1.3 Cárie ativa

A cárie ativa é definida como uma lesão cariiosa que continua a progredir em profundidade e/ou em largura. Essa definição, implica que há uma atividade biológica contínua no processo de cárie, envolvendo a desmineralização e a remineralização da estrutura dentária afetada.

De acordo com a International Caries Detection and Assessment System (ICDAS), a cárie ativa é classificada como ICDAS 4, que é caracterizada por uma lesão cariiosa visível, opaca, sem perda visível de estrutura dentária, mas com uma mudança de cor branca ou marrom em relação ao esmalte adjacente. Essa mudança de cor indica a presença de uma zona desmineralizada da estrutura dentária subjacente (PITTS, N. B., EKSTRAND, K. R., 2013).

3.1.4 Cárie inativa

A cárie inativa é uma lesão dental que não está ativa, ou seja, não está progredindo. É caracterizada pela presença de uma mancha esbranquiçada, opaca ou marrom no dente. Essa mancha indica uma desmineralização do esmalte dental, que pode ter ocorrido no passado, mas que não está mais em evolução (GUEDES-PINTO, A. C. et al. 2019).

3.1.5 Cárie dentária primária

A cárie dentária primária é uma doença multifatorial causada pela interação de bactérias cariogênicas, dieta rica em açúcar e fatores de riscos individuais, como baixa salivagem e higiene bucal inadequada. É caracterizada pela desmineralização do esmalte dentário e da dentina subjacente, resultando na formação de cavidades.

De acordo com o artigo "Dental caries: etiology, clinical characteristics, risk assessment and management - A review" publicado na revista Oral and Maxillofacial Pathology, a cárie primária é a forma mais comum de cárie dentária e ocorre em dentes permanentes e decíduos. Ela é classificada de acordo com sua localização na superfície

dentária em cáries de superfície lisas, cárie de sulcos e fissuras e cáries radiculares.

3.1.6 Recidiva de cárie ou cárie secundária ou recorrente

Podem ser conceituadas como o ressurgimento de lesões de cáries dentárias, após tratamento restaurador ou protético, aparentemente "bem-sucedido". Realmente é um resultado que incomoda ao paciente e provoca grande preocupação nos pesquisadores, uma vez que, esse número significativo de insucessos nos tratamentos restauradores, provêm de causas decorrentes de alguns procedimentos e falhas por imprudência, imperícia ou negligência do profissional. Outro componente a contribuir para o insucesso no tratamento da cárie primária, são os materiais odontológicos, uma vez que apresentam suas limitações e podem contribuir, desta forma, para o insucesso do trabalho restaurador.

As falhas e/ou iatrogenias nos procedimentos restauradores são na maioria das vezes os responsáveis por dor, desconforto, alteração estética e "queda da restauração." Se as falhas ou alterações não forem corrigidas ou interceptadas a tempo, podem até levar a perda do elemento dental. (NAYAK, P. A., & NAYAK, U. A., 2018).

Geralmente ocorre o acúmulo de placa bacteriana em torno dos materiais nos procedimentos executados, como a resina das restaurações. As principais causas da recidiva de cárie dentária incluem: a) Falhas na técnica restauradora, contração de polimerização, grandes incrementos, matrizes mal adaptadas, etc.;b) Má higiene bucal, escovação e uso fio dental de forma inadequada; c) Dieta rica em açúcares (ADA, 2019).

A cárie recorrente ou secundária é definida como a cárie que se desenvolve em torno ou sob uma restauração dentária existente. Ela pode decorrer como resultado da infiltração de bactérias ou devido a falhas na adaptação da restauração à estrutura do dente adjacente. A cárie recorrente é um problema comum em pacientes que receberam tratamento restaurador, geralmente é necessário refazer a restauração ou a substituição da peça protética. (ROBERSON, T., HEYMANN, H., SWIFT JR., E., 2006).

A recidiva de cárie é definida como a presença de lesões cariosas em uma superfície dentária que anteriormente havia sido tratada e restaurada, ou seja, a cárie retornou após o tratamento dentário. Essa condição é comum em pacientes que apresentam uma alta taxa de risco de cárie, especialmente se não seguirem

uma rotina adequada de higiene bucal e manutenção regular com o dentista. (FEJERSKOV et al., 2008).

3.1.7 Cárie residual

A cárie residual é um conceito utilizado na odontologia para descrever o tecido dentário que permanece infectado, após a remoção da cárie dentária visível. Em outras palavras, é a cárie que permanece na cavidade dentária após a remoção da porção infectada e que pode continuar a progredir se não for tratada adequadamente. A cárie residual é um problema comum em odontologia, sendo difícil de detectar e tratar. (PEGORARO, L. F., DE OLIVEIRA, A. C.P., 2016).

3.1.8 Infiltração Marginal

Infiltração Marginal é o espaço que acontece entre a margem da restauração do dente e o material restaurador, permitindo a passagem de fluídos, íons, pigmentos e bactérias. Ela pode ser causada por falha ou por estresse do sistema adesivo, contaminação por umidade, contração de polimerização das resinas compostas, valamento marginal, diferença de expansão e contração térmica do material restaurador e descontrolo de higiene no contorno das restaurações, permitindo o acúmulo de placa bacteriana. A infiltração marginal, pode provocar sensibilidade dentinária, gengivite marginal, alterações estéticas na restauração e cárie secundária (ABREU, R. A., & REIS, A., 2010).

O tratamento da cárie dental é muito desafiador, pois além dos aspectos técnicos para combater especificamente doença, outros fatores concorrem dificultando ainda mais a solução do problema. As sequelas dos insucessos do tratamento, constituem uma parte de um grande desafio da humanidade. Trabalhar nas consequências e complexidades não é o suficiente, pois não se pode analisar a doença cárie dentária, sem fazer uma crítica e uma abordagem do ponto de vista sócioeconômico-cultural da doença.

Segundo a OMS (2021) “doenças bucais afetam desproporcionalmente os membros mais pobres e socialmente desfavorecidos da sociedade. Existe uma associação muito forte e consistente entre o nível socioeconômico (renda, ocupação e escolaridade) e a prevalência e gravidade das doenças bucais. Essa associação

existe desde a primeira infância até a velhice e em populações de países de alta, média e baixa renda.”

3.2 A cárie dentária e suas consequências

3.2.1 Odontológica (dor de dente)

À medida que a cárie avança, ela pode atingir estruturas mais nobres da polpa dentária, que contém nervos e vasos sanguíneos. Isso pode causar dor de dente intensa e persistente.

3.2.2 Sensibilidade dentinária

A cárie pode provocar a sensibilidade dentária, especialmente quando se come ou bebe algo quente, frio, doce ou ácido.

3.2.3 Abscesso dentário

Em casos avançados de cárie, pode ocorrer uma infecção odontogênica, e esta pode se espalhar para os tecidos adjacentes ao dente, incluindo tecido conjuntivo frouxo, resultando em um abscesso dentário. Isso pode causar dor, inchaço, sensibilidade ao toque e até mesmo uma septicemia.

3.2.4 Problemas de magistério e oclusão

À medida que a cárie progride, o dente pode se tornar fraco e quebradiço, o que pode dificultar a mastigação e a alimentação adequada.

3.2.5 Problemas estéticos e de fonação

Levando a uma baixa na autoestima.

3.2.6 Perda dentária ou edentulismo

Se a cárie não for tratada, ela pode evoluir destruindo a coroa total ou parcialmente levando a exodontia (extração) (ADA, 2019).

Dentre as sequelas mais graves da cárie dentária está o edentulismo, conceituado como a perda total ou parcial dos elementos dentais. Considerado um

dos maiores agravos à saúde bucal. A alta proporção de brasileiros com perda total de dentes, demonstra a falha na possibilidade de controle desse problema, inclusive com os graves impactos provocados na saúde das pessoas. Esses agravos, desafiam a saúde pública a criar políticas que possam minimizar esse problema. É muito importante frisar que as perdas dentárias constituem uma marca da desigualdade social. (HUNG HC, COLDITZ G, JOSHIPURA KJ.2005). Considerada como uma importante medida da condição de saúde bucal de uma população, a perda dentária possui forte efeito sobre a qualidade de vida de um ser humano. Seus impactos podem ser expressos pela diminuição das capacidades funcionais de mastigação e fonação, bem como por prejuízos de ordem nutricional, estética e psicológica, com reduções da autoestima e integração social (MUSACCHIO et al., 2007). Esse conjunto de repercussões no cotidiano dos indivíduos, impactam decisivamente para a redução na qualidade de vida dos mesmos (DOLAN et al., 2001). A ausência de uma cultura preventiva e de preservação da estrutura dental, associada a baixa oferta de serviços odontológicos públicos, contribuem diretamente para o aumento das exodontias e conseqüentemente, a ampliação do edentulismo de maneira muito precoce.

A perda de dentes provoca grandes mudanças nos tecidos da face e intra-orais. Ocorrem alterações morfológicas na face devido à perda do suporte dos tecidos moles e redução da altura da face em repouso (perda da dimensão vertical), como suporte insuficiente dos lábios (BUDTZ – JORGENSEN, 1997).

3.3 O acesso aos serviços de saúde bucal

Na realidade a situação da desigualdade se amplia ainda mais acentuadamente nos países pobres, principalmente em função da escassez de estruturas de saúde públicas, bem como pela precariedade das estruturas disponibilizadas para estas populações, levando a uma distribuição desigual de profissionais de saúde bucal e a falta de instalações de saúde adequadas para atender às necessidades da população na maioria dos países, significa que o acesso a serviços primários de saúde bucal costuma ser baixo.

Despesas desembolsadas para cuidados de saúde bucal podem ser grandes barreiras para o acesso aos cuidados. Pagar pelos cuidados de saúde bucal necessários

está entre as principais razões para gastos catastróficos com saúde, resultando em um risco aumentado de empobrecimento e dificuldades econômicas. (OMS, 2021).

3.3.1 Alerta e recomendação OMS

Preocupada com a situação, a Assembleia Mundial da Saúde aprovou uma Resolução sobre saúde bucal em 2021 na 74ª Assembleia Mundial da Saúde. A Resolução recomenda uma mudança da abordagem curativa tradicional para uma abordagem preventiva que inclua a promoção da saúde bucal na família, nas escolas e nos locais de trabalho e inclua cuidados oportunos, abrangentes e inclusivos no sistema de atenção primária à saúde. A Resolução afirma que a saúde bucal deve ser firmemente incorporada à agenda das DCNT (Controle de Doenças Não Transmissíveis) e que as intervenções de saúde bucal devem ser incluídas nos programas de cobertura universal de saúde.

Em 2022, a Assembleia Mundial da Saúde adotou a estratégia global de saúde bucal com uma visão de cobertura universal de saúde bucal para todos os indivíduos e comunidades até 2030. Um plano de ação detalhado está sendo desenvolvido para ajudar os países a colocar a estratégia global em prática. Isso inclui uma estrutura de monitoramento para acompanhar o progresso, com metas mensuráveis a serem alcançadas até 2030, ou seja, a Década do Envelhecimento Saudável 2020–2030.

Focado na Agenda 2030. Uma atenção toda especial passa a ser trabalhada, no sentido de direcionar todos os esforços para Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS), em particular o Desenvolvimento Sustentável, Objetivo 3 (Assegurar uma vida saudável e promover o bem-estar para todos, em todas as idades), e reconhecendo a importância de interseções entre a saúde bucal e outros Objetivos de Desenvolvimento Sustentável, incluindo o Objetivo 1 (Fim da pobreza em todas as suas formas e em todos os lugares), Objetivo 2 (Acabar com a fome, alcançar a segurança alimentar e melhorar nutrição e promover a agricultura sustentável), Objetivo 4 (Garantir uma educação de qualidade inclusiva e equitativa e promover oportunidades de aprendizagem ao longo da vida para todos) e Objetivo 12 (Garantir o consumo sustentável e padrões de produção); Recordando a Declaração Política da Reunião de Alto Nível da Assembleia Geral sobre a

Prevenção e Controle de Doenças Não Transmissíveis (2011), reconhecendo que as doenças bucais representam um grande desafio e poderia se beneficiar de respostas comuns às doenças não transmissíveis; Recordando também a declaração política da reunião de alto nível sobre a cobertura universal de saúde (2019), incluindo o compromisso de fortalecer os esforços para abordar a saúde bucal como parte da universalização e cobertura de saúde;

Um dado muito relevante elencado pela OMS em seu relatório é que as doenças bucais são altamente prevalentes, atingindo a mais de 3,5 bilhões de pessoas, e que as doenças bucais estão intimamente ligadas às doenças não transmissíveis, levando a uma carga considerável de saúde, social e econômica. Apesar de ter havido melhorias notáveis em alguns países, o ônus da má saúde bucal permanece, especialmente entre os mais vulneráveis da sociedade.

Chama muito a atenção, uma vez que em seu relatório é elencado que a cárie dentária não tratada (cárie dentária) em dentes permanentes ocorre em 2,3 bilhões de pessoas, mais de 530 milhões de crianças sofrem de cárie dentária não tratada nos dentes decíduos (dentes de leite). Outro ponto de suma importância que deve-se levar em conta no relatório, são as taxas precoces de cárie infantil são maior entre aqueles em situações vulneráveis, de uma patologia que essas condições normais são amplamente evitáveis, entretanto a não interceptação do bloqueio da doença, acarreta um ônus econômico, decorrente da má saúde e que se somam para ampliar gastos com doenças bucais respondendo por cerca de US\$ 545 bilhões em custos diretos e indiretos, classificando assim a má saúde bucal entre os mais caros domínios da saúde, equiparando-se com os custos de doenças como a diabetes e as doenças cardiovasculares.

No seu relatório ainda a OMS destaca que a má saúde bucal, acarreta além da dor, desconforto e falta de bem-estar e qualidade de vida, trás também prejuízos por absenteísmo no trabalho com perda de produtividade e na escola, trazendo como decorrência a deficiência no aprendizado, interferindo diretamente na qualidade de vida.

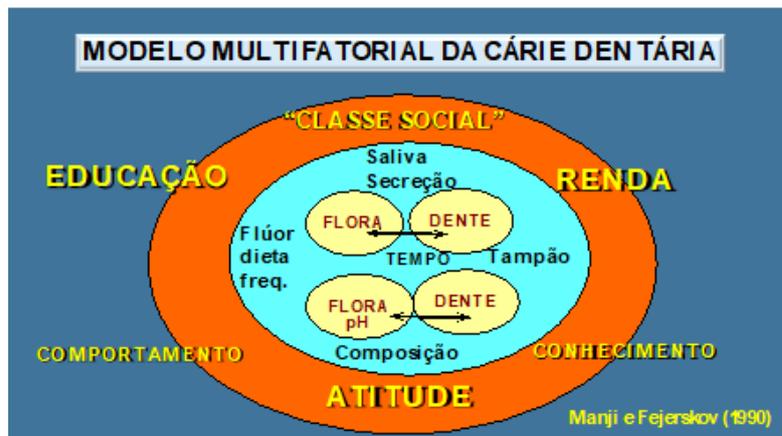
3.4 Conceitos atuais da cárie dentária

A doença cárie dentária tem sido discutida atualmente e assumido aspecto

conceitual de doença dinâmica, multifatorial, não-transmissível, mediada pelo biofilme, impulsionada pelo aumento do consumo de açúcar resultando na perda de minerais dos tecidos duros do dente (PITTS et al., 2017). A cárie dentária não tratada em dentes permanentes é a condição mais prevalente entre todas as doenças e afeta por volta de mais 2 bilhões de pessoas no mundo, e quando se refere a cárie não tratada na dentição decídua, é considerada a doença crônica mais comum na infância atingindo cerca de 530 milhões de crianças em todo o mundo (KASSEBAUM et al., 2015; GBD, 2019; GBD et al., 2020).

A interação de características genéticas, ambientais e comportamentais conferem a doença cárie dentária a condição multifatorial, sendo explicada pela atuação de fatores em nível da superfície dentária: saliva, dieta e exposição a fluoretos; e fatores atuando em nível do indivíduo/população: educação, comportamento, atitudes, conhecimento, renda e classe social (MANJI, FEJERSKOV, 1990), Figura 1.

Figura 1 – Desenho que representa a característica multifatorial da doença cárie dentária.



Fonte: (MANJI, FEJERSKOV, 1990).

O desenvolvimento de lesões de cárie surge do desequilíbrio entre minerais da estrutura dental e fluido do biofilme (MANJI, FEJERSKOV, 1990; FEJERSKOV, NYVAD, 2003), que a partir do metabolismo bacteriano de nutrientes (carboidratos fermentáveis) causa queda de pH bucal e consequente desmineralização do tecido dental podendo acarretar no surgimento clínico da doença cárie dentária. O consumo frequente de carboidratos fermentáveis causa intensa produção de ácidos e os eventos de desmineralização sobrepõem a remineralização conferida a estrutura dental dura, tendo como resultado cumulativo a perda de mineral (TENUTA et al., 2016).

A formação da lesão de cárie ocorre mediante a presença de biofilme dental estagnado em áreas higienizadas de forma inadequada e que o tipo de nutriente, proporcionado pela dieta do indivíduo, que os microrganismos estão expostos pode causar mudanças de pH que irão determinar o desenvolvimento ou não de lesões de cárie (FEJERSKOV, NYVAD, 2003; TENUTA et al., 2016).

O consumo frequente de carboidrato fermentável gera a produção de ácidos levando a seleção de microrganismos acidogênicos que causam desequilíbrio no processo de remineralização e conseqüente predomínio de perda de minerais do elemento dental (**Estágio de desmineralização**). Com a permanência do ambiente acidúrico o número de microrganismos acidogênicos aumenta e surge o desenvolvimento de lesão de cárie (**Estágio acidúrico**), inicialmente no esmalte dental, como uma **mancha branca ativa e sem cavitação**. Com a persistência do processo de desmineralização ocorre uma quebra da camada superficial da lesão e forma-se uma **lesão de cárie ativa cavitada no esmalte dental** com características clínicas de opacidade e aspecto rugoso. A progressão desse estágio da lesão pode ocorrer atingindo a dentina que pode apresentar aspecto amolecido, úmido e coloração amarelada caracterizando uma **lesão de cárie cavitada em dentina** (TENUTA et al., 2016). Os estágios descritos estão apresentados na Figura 2.

Figura 2 – Imagens clínicas e histológicas de lesões de cárie em diferentes estágios de progressão.



Fonte: Imagens cedidas pelo Prof. Dr. Natanael B. Santos, 2023.

As lesões de cárie podem ser paralisadas, independente do seu estágio de progressão ou tecido dentário envolvido, dependendo do estabelecimento de

controle do biofilme dental pelo indivíduo através de higiene bucal adequada e redução do consumo de carboidratos fermentáveis, mudanças essas que proporcionam o equilíbrio do processo de desmineralização-rem mineralização. Fatores como o uso de fluoretos, agentes remineralizantes não fluoretados, **agentes antimicrobianos** e tratamentos não invasivos podem também proporcionar controle das lesões de cárie dentária (MALTZ, JARDIM, ALVES, 2014; TENUTA et al., 2016).

Na presença de lesões cavitadas, a invasão bacteriana no interior da lesão aumenta e, quando a cavidade atinge a dentina, ocorre penetração bacteriana nos túbulos dentinários. Mesmo com a presença de bactérias no interior da dentina, a lesão pode ser controlada, desde que haja possibilidade de desorganização do biofilme do local (BEAL et al., 1979; NYVAD, FEJERSKOV, 1986).

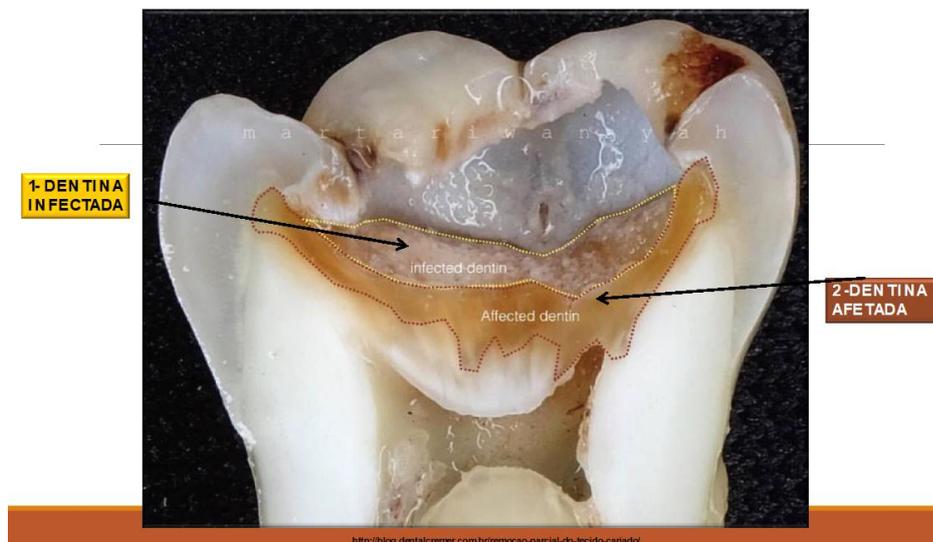
A lesão cavitada é um estágio óbvio da doença, com indicação para intervenção invasiva, já que os micro-organismos cariogênicos podem invadir a estrutura dentária e proliferar formando uma massa de biofilme que facilita a progressão da lesão. Durante o processo da cárie a desmineralização precede a invasão bacteriana do tecido dentário e lesões duras a sondagem e secas apresentam menos microrganismos e tem impacto significativo na remoção do tecido cariado (MALTZ, JARDIM, ALVES, 2014), como também funciona como indicativo de paralisação do processo de cárie.

Para esclarecer características importantes de lesões de cárie em dentina, referente a inatividade das lesões e apontar alternativas terapêuticas adequadas, Fusayama (1979) descobriu que o amolecimento da dentina por ácidos bacterianos, que se difundem mais profundamente em dentina, era seguido de descoloração do tecido e depois por invasão bacteriana; lesões com progressão lenta apresentavam áreas descoloridas mais endurecidas e descreveu duas camadas de dentina cariada (Figura 3):

- 1) DENTINA INFECTADA – camada externa da dentina, próxima da junção amelodentinária (JAD), severamente desmineralizada, fibras colágenas desnaturadas com cristais inorgânicos irregulares e espalhados aleatoriamente por toda a parte, fortemente infectada por bactérias e incapaz de remineralizar;

- 2) DENTINA AFETADA – camada mais próxima da polpa, desmineralizada, mas não na mesma extensão da 1ª camada, fibras colágenas com ligações cruzadas e cristais de apatita ligados a elas, não infectada e capaz de sofrer remineralização;

Figura 3 – Imagem representativa das camadas de dentina acometidas pelo processo de cárie dentária.



Fonte: (Adaptado do site: <http://blog.dentalcremer.com.br/remocao-parcial-do-tecido-cariado/>).

As definições referentes às camadas de dentina cariada têm auxiliado a prática de Mínima Intervenção com conseqüente preservação de tecido dentinário passível de remineralização. Seguindo essa preocupação atualmente vários métodos têm sido utilizados para auxiliar a remoção de cárie (Carisolv®, Abrasão a ar e Laser) e para guiá-la (corantes e técnicas de fluorescência) no intuito de garantir a remoção de toda a dentina infectada. O uso de cureta de dentina bem afiada ainda continua sendo o método mais adequado para a remoção de toda a dentina amolecida (BANERJEE, WATSON, KIDD, 2000).

A presença de bactérias remanescentes na cavidade após a remoção de cárie ou através do micro infiltração resulta em inflamação pulpar, aumento da sensibilidade e cárie secundária (YAP AU, KHOR E, FOO SH, 1999), sendo esta última a principal causa de troca de restaurações de amálgama ou resina composta (YORK AK, ARTHUR JS, 1993). Os materiais restauradores não permitem um perfeito selamento marginal, havendo a presença de interface entre o material e a superfície dentária pela qual os

microrganismos podem penetrar (SHENALZ G, ERGÜCÜ Z, HILLER KA, 2004). Deste modo, é importante que o material restaurador ou forrador possua atividade antibacteriana propiciando um melhor prognóstico para as restaurações.

Diante disso, torna-se importante pesquisar meios químicos, biológicos e mecânicos que possam auxiliar na inativação das lesões de cárie dental e conseqüentemente proporcionar a mínima remoção de tecido dentário, resultando assim, nas práticas de uma odontologia minimamente invasiva. Porém, na realidade, ainda lidamos com uma odontologia pouco conservadora, necessitando, portanto de uma mudança sistemática na prática de abordagem e tratamento da cárie dentária, se transformando de uma prática radical e mutiladora para uma prática conservadora e preventiva.

3.5 Tratamento da cárie dental

O tratamento convencional da cárie dentária, consiste na remoção de todo o tecido cariado, como também das áreas de esmalte sem suporte e estendendo o preparo cavitário, até uma área de estrutura hígida e passível de higienização, obedecendo aos princípios gerais do preparo cavitário sugerido por Black, 1908, com as formas de contorno, forma de conveniência, forma de resistência, forma de retenção e a extensão preventiva. Salientamos que estes princípios são aplicados até os dias atuais, entretanto, muitas adaptações foram incorporadas aos princípios. Black, sugeria a “extensão preventiva ou extension for prevention, como uma técnica para restaurar um dente com uma cavidade incipiente (uma cavidade que está apenas começando a se formar) ou uma lesão cariada inicial, com o objetivo de prevenir a progressão da cárie e evitar a necessidade de uma restauração mais extensa no futuro”.

O procedimento de extensão preventiva envolve a remoção cuidadosa da cárie ou tecido danificado da superfície do dente e a criação de uma cavidade pouco profunda, que é preenchida com um material restaurador, como o amálgama de prata. A ideia é que, ao preencher a cavidade com material restaurador, a superfície do dente seja fortalecida e protegida contra a progressão da cárie.

O tratamento da doença cárie sofreu diversas modificações no passar dos tempos, o que pode ser justificado pela evolução do conhecimento em relação à doença, assim como, pela evolução dos materiais e instrumentos operatórios. Esses

fatores permitiram uma abordagem cada vez mais conservadora e eficaz.

O tratamento da cárie nos tempos atuais, se inicia pelo diagnóstico da doença cárie e deve ser baseado na avaliação do risco, procurando-se verificar o maior número possível de fatores implicados no processo, o que significa que nenhuma avaliação que considere apenas um elemento isoladamente deve merecer confiança (BRATTHALL D.; PETERSSON G., 2005).

Qualquer lesão, em qualquer estágio de destruição tecidual, não-cavitada ou cavitada, pode se tornar inativada. O tratamento não invasivo, assim como o invasivo, trata o processo da doença e dependem de tempo, portanto, ambos merecem a mesma importância. É fundamental ter sempre o foco que não se deve tratar a lesão cáriosa isoladamente, mas sempre realizar uma abordagem integral, considerando todos os fatores que levaram ao estabelecimento dessa condição.

Dentre os tratamentos mais conservadores pode-se lançar mão da remineralização da mancha branca, selamento de cicatrículas e fissuras e uso de infiltrantes. O agente remineralizante de escolha é o flúor, uma vez que esse interfere diretamente no processo de remineralização. Deve-se aplicar o flúor gel pelo tempo recomendado pelo fabricante e em seguida não lavar a boca do paciente orientando-o para não ingerir nenhum alimento nos primeiros 30 minutos. Esse procedimento deve ser repetido semanalmente até a inativação da lesão de mancha branca. A aplicação tópica de flúor leva à formação de fluorapatita que aumenta a resistência do dente à cárie (efeito antissolubilidade) e de fluoreto de cálcio que se dissolve constantemente, ionizando-se, liberando fluoreto para a formação de mais fluorapatita e acelerando o processo de remineralização.

O flúor interfere físico-quimicamente no processo DES-RE na fase de desmineralização já que sua presença diminui o valor do pH crítico para 4,5 e com isso os desafios cariogênicos necessitam ser mais intensos e frequentes para causar danos na estrutura dentária e favorece a remineralização formando compostos menos solúveis com a estrutura dental (PORTO et al., 2008).

Outra opção de tratamento, porém com caráter preventivo, é o selamento das cicatrículas e fissuras, visto que são consideradas regiões de risco para progressão

da lesão cariosa devido a maior dificuldade de remoção do biofilme dessas áreas. O selante atua como barreira que impede o contato do substrato com a superfície dentária, evitando o desenvolvimento de lesões cariosas nessa região. São indicados para dentes recém-erupcionados de pacientes com alto risco à cárie, dentes com manchas brancas e com sulcos profundos. A obliteração das fóssulas e fissuras evita o acúmulo de biofilme, reduzindo a susceptibilidade à cárie.

O selamento pode ser realizado com materiais resinosos, como os ionômeros de vidro e ionômeros de vidro modificados por resina. Os materiais resinosos têm como característica boa resistência adesiva, porém, a técnica é mais sensível. Os ionômeros de vidro apresentam adesão química, mas o tempo de presa é maior do que os modificados por resina que apresentam excelentes resultados, porém com custo maior. Mejàre e Mjor (1990) avaliaram dentes selados com ionômero de vidro e selantes resinosos após 5 anos de acompanhamento quanto a retenção, observação clínica e microscópica e presença de lesão cariosa. Eles concluíram que para o CIV, clinicamente 100% dos dentes estavam sem o selante, porém microscopicamente 93% ainda apresentavam CIV e nenhum dente apresentava cárie. Já os resinosos, clinicamente 90% dos dentes estavam com o selante, porém 5% dos dentes apresentavam lesão cariosa. Num estudo mais recente, com acompanhamento de 12 meses, o selante com ionômero modificado por resina mostrou melhor retenção do que o resinoso (OLIVEIRA et al., 2008).

Um recente tratamento é a infiltração de resinas de baixa viscosidade, denominadas de infiltrantes – ICON, em lesões incipientes de cárie em esmalte. Esta parece ser uma abordagem promissora na odontologia apresentando vantagens em relação à remineralização ou tratamentos invasivos. Para isso o material deve penetrar e selar a entrada das lesões, reforçando a estrutura cariada e impedindo a progressão da lesão com capacidade de manter a resistência de união duradoura com o esmalte cariado. Observando estudos clínicos randomizados, com acompanhamentos de 3 anos (MEYER-LUECKEL; BITTER; PARIS, 2012) e 7 anos (PARIS; BITTER; KROIS; MEYER-LUECKEL, 2020), pode-se verificar resultados satisfatórios demonstrando que a infiltração de resina é capaz de reduzir a progressão das lesões de cárie interproximal.

Diante das situações com lesões cavitadas, as técnicas operatórias

restauradoras precisam ser realizadas, podendo-se lançar mão das resinas compostas e/ou cimentos de ionômero de vidro, de forma isolada ou combinada, a depender de cada situação, extensão e localização da lesão, seguindo sempre a filosofia da odontologia minimamente invasiva. Independente do material a ser utilizado, o acesso à lesão e remoção do tecido cariado são etapas prévias e de extrema importância para o sucesso do tratamento restaurador.

As abordagens para a remoção do tecido cariado perpassam por selamento da cavidade, remoção total, remoção parcial e remoção por etapas. No entanto, as lesões cavitadas ainda são mais comumente submetidas a cuidados padrão clássicos da remoção total onde os tecidos desmineralizados são completamente removidos e substituídos por um material restaurador (PITTS et al., 2017). No entanto, o desenvolvimento de técnicas adesivas sem necessidade de retenção mecânica permitiu que os dentistas adotassem uma abordagem mais conservadora dos dentes.

Uma perspectiva recente é a remoção de lesão cariada com escavação progressiva ou parcial, na qual apenas as camadas superficiais das lesões são removidas, sendo na primeira técnica a remoção inicial para inserção de material de proteção e restauração provisória e em um momento posterior faz-se a remoção completa e a restauração definitiva; na segunda técnica é feita a remoção parcial e a restauração definitiva na mesma sessão. As análises sistemáticas concluíram que estas abordagens reduzem a incidência de exposição à polpa, favorecem a interrupção da cárie e a formação da dentina terciária, estabelecendo nova dentina de proteção em resposta a uma lesão de cárie avançada em dentes decíduos e permanentes (KIDD; FEJERKOV, 2013; RICKETTS et al., 2013). Embora essas técnicas mostrem vantagem clínica em relação à remoção completa da cárie, é muito cedo para recomendar certas estratégias clínicas (PITTS et al., 2017).

De forma geral, o sucesso do tratamento restaurador da lesão cariada depende de uma restauração com bom selamento garantindo a manutenção inativa das bactérias remanescentes nas camadas de dentina mais profundas, e evitando a infiltração marginal para prevenir a recidiva da lesão. As resinas compostas compreendem o principal material empregado nos procedimentos restauradores. No entanto, os materiais resinosos enfrentam desafios no sentido da adesão considerando problemas como degradação da camada híbrida e menor resistência de união em

dentina desmineralizada (SCHWENDICKE et al., 2019) que podem comprometer a durabilidade das restaurações (YOSHIYANA et al., 2002; YOSHIYANA et al., 2004).

Nesse contexto, o desenvolvimento de novos materiais restauradores bioativos é um dos principais alvos das pesquisas odontológicas (SAURO et al., 2015; SADOON et al., 2020) com o objetivo de solucionar tais insucessos clínicos.

3.6 Materiais dentários de proteção ao Complexo Dentino Pulpar

A polpa dentária é um tecido conjuntivo altamente diferenciado, ricamente inervado, vascularizado e, conseqüentemente, responsável pela vitalidade do dente. Sempre que houver perda de substância, quer seja por cárie e sua remoção, fraturas, erosões ou abrasões, o dente deve ser restaurado. A vitalidade do complexo dentino/pulpar deverá ser preservada por meio de adequada proteção, seja de forma indiretas ou direta. A proteção do Complexo dentino-pulpar é a base para que o elemento dentário exerça suas funções na plenitude. Sua finalidade é promover o restabelecimento da polpa dentária, estimular o desenvolvimento de um tecido calcificado e proteger o tecido pulpar de irritações adicionais posteriores (MICKENAUTSCH S, E YENGOPAL V., 2016).

As proteções pulpares indiretas representam a aplicação de agentes seladores, forradores e/ou bases protetoras nas paredes cavitárias com o objetivo de proteger o complexo dentino/pulpar dos diferentes tipos de injúrias; manter a vitalidade pulpar; inibir o processo carioso; e estimular a formação de dentina esclerosada, reacional e/ou reparadora. Dentre os materiais existentes, o cimento de ionômero de vidro é extensamente utilizado para esta função.

Dentina reacional, reparadora ou esclerosada – é uma reação fisiológica da polpa, posterior a estímulos e/ou agressões (por agentes químicos, elétrico, térmicos e mecânicos), aos tecidos dentinários, elaborando uma dentina com características histológicas distinta e mais resistente aos estímulos.

Mondelli, 1998. Apresentou os requisitos ideais para os agentes de proteção pulpar:

- Ser bom isolante térmico e elétrico;
- Ter propriedades bactericidas e/ou propriedades bacteriostáticas;

- Apresentar adesão às estruturas dentárias;
- Estimular a recuperação das funções biológicas da polpa, favorecendo a formação de uma barreira mineralizada;
- Favorecer a formação de dentina terciária ou esclerosada, particularmente remineralizando a dentina desmineralizada no fundo cavitário;
- Ser inócuo à polpa, ou seja, não provocar injúrias pulpares;
- Ser biologicamente compatível com o complexo dentinopulpar, mantendo a vitalidade do dente;
- Apresentar resistência mecânica suficiente aos esforços de condensação dos materiais restauradores;
- Inibir a penetração dos íons metálicos no dente, diminuindo a descoloração ao longo do tempo, causada por restaurações metálicas;
- Evitar ou diminuir a infiltração de bactérias ou toxinas bacterianas na dentina e polpa;
- Ser insolúvel no ambiente bucal;

Tradicionalmente, os materiais protetores podem ser classificados em: agentes de **selamento**, para **forramento** e para **base cavitária**. Essa classificação é baseada na espessura da camada e na viscosidade dos materiais a serem aplicados (SUMMITT 1994; MCCOY, 1995).

3.6.1 Cimento de ionômero de vidro

O cimento de ionômero de vidro (CIV) convencional/quimicamente ativado é empregado na odontologia há mais de 50 anos, este material é composto por um pó de vidro de fluoro-aluminossilicato de cálcio, e pelo líquido, o ácido poliacrílico (HOLMGREN et al., 2013). O CIV pode ser indicado em casos de tratamento restaurador atraumático, selantes, base, forramento e cimentação (FRENCKEN, 2014). Por ser um material biocompatível, tem como características principais a adesão aos tecidos dentários, a liberação de flúor e o coeficiente de expansão térmico semelhante ao elemento dental (MARKOVIC et al., 2012). A prevenção de lesões de cáries com o uso dos CIVs convencionais já demonstrou eficácia em diversos estudos (DE AMORIM et al., 2012; DE AMORIM et al., 2014;

FRENCKEN,2014; MICKENAUTSCH, 2015; MICKENAUTSCH e YENGOPAL, 2016).

Neste contexto, a composição do cimento de ionômero de vidro se dá por um pó constituído por óxido de silício (SiO_2), óxido de alumínio (Al_2O_3) e fluoreto de cálcio (CaF_2) (BARATIERI et al., 1986). Em menores quantidades, também pode ser encontrado neste produto elementos como o magnésio e o sódio (CARVALHO, 1998). O frasco do líquido do CIV contém um ácido polialcenoico, composto pelos ácidos poliacrílicos e polimaléico. A adição do ácido tartárico tem a intenção de prolongar o tempo de trabalho do CIV (NICHOLSON et al., 1998), enquanto que a incorporação do ácido itacônico impede ou retarda a reação química dos ácidos no processo de armazenamento do material (NICHOLSON, 1998).

A reação de presa dos CIVs convencionais ocorre em três estágios. A primeira fase inicia-se na aglutinação do pó com o líquido levando ao deslocamento de íons, representada pelo momento em que os ácidos umedecem a camada mais periférica das partículas de vidro presentes no pó. Íons de cálcio e alumínio deslocados pelo hidrogênio, reagem com o flúor formando fluoretos de cálcio e de alumínio. Dependendo da acidez do meio fluoreto de cálcio pode reagir com os polímeros acrílicos resultando em complexos estáveis.

A aplicação do material deve ser realizada nessa fase, enquanto o mesmo ainda se apresenta com brilho, ou seja, com a presença de grupos carboxílicos livres para que consiga se unir ao dente. A perda de brilho do material indica o término do tempo de trabalho, ou seja, após a perda do brilho, se o material ainda não foi levado à cavidade, deve ser desprezado e outra dosagem e manipulação devem ser realizadas, ressaltando que a reação de presa continua mesmo após a perda de brilho (BUSSADORI et al., 2003).

A segunda etapa da reação inicia-se em cerca de 5 a 10 minutos após a espatulação e é caracterizada pela formação de uma matriz de gel de poliácidos, na qual o cálcio carregado positivamente reage com poliácidos ligados negativamente, resultando na formação de ligações iônicas de poliacrilato de cálcio. Ao atingir esse estágio, após um certo tempo, o CIV endurece. A terceira e última fase dessa reação é a formação do gel de sílica incorporado do vidro à matriz, este processo se dá nas primeiras 24 horas (BUSSADORI et al., 2003).

Ainda de acordo com De Amorim et al., 2018, dentre as propriedades deste material que os tornam favoráveis em situações odontológicas podem ser citados: a ligação química ao esmalte e dentina; expansão térmica semelhante ao elemento dental; biocompatibilidade; captação de flúor (de dentifrícios, enxaguatórios bucais e aplicações tópicas); liberação de flúor e diminuição da sensibilidade à umidade quando comparada às resinas. Devido ao índice de expansão térmica ser semelhante ao dente, e este material não possuir contração de polimerização no momento da presa, o índice de infiltração marginal do CIV é menor. Este material deve ser inserido em um único incremento, o que diminuí o tempo clínico e melhora a qualidade do tratamento (VIEIRA et al., 2006).

O flúor liberado do CIV apresenta influência sobre o crescimento bacteriano, havendo boa correlação ($r = 0,97$) entre a liberação de flúor e a inibição do crescimento bacteriano. Em altas concentrações de flúor, o metabolismo eletrólito das bactérias, especialmente *Streptococcus mutans*, é afetado (SEPPÄ L, TORPPA-SAARINEN E, LUOMA H., 1992). O exato mecanismo como isto ocorre não se encontra definido (VAN LOVEREN C, LAMMENS AJ, TEN CATE JM, 1990). A liberação de flúor pode tornar o esmalte mais ácido resistente. Na dentina, parece ocorrer efeito similar, mas esta necessita de maior quantidade de flúor. A remineralização da dentina resultante da liberação de flúor pelo CIV não está completamente demonstrada *in vivo*, entretanto, há indicações de que a hipermineralização possa ocorrer como resultado do uso deste material. (WESENBERG G, HALS E., 1980). A liberação dos íons flúor é maior durante a fase inicial de presa, decrescendo significativamente em algumas semanas após a inserção do material. (CHANDLER NP, HELING I., 1995; SEPPÄ L, TORPPA-SAARINEN E, LUOMA H. 1992).

Para Vieira et al., 2006 e De Amorim et al., 2018 o CIV apresenta algumas limitações como sua resistência adesiva considerada baixa, principalmente comparada às resinas compostas. Este material sofre o processo de sinérese e embebição para o meio externo após ser introduzido na cavidade bucal, pois no momento em que ocorre a reação de presa do cimento, pode haver desidratação ou a captação de água da saliva, e diante disto, é necessária uma proteção superficial após sua aplicação, como por exemplo, a vaselina. Ainda, ao ser utilizado em

estudos clínicos em regiões de maior esforço mastigatório verificou excessivo desgaste e fratura do material restaurador (DE AMORIM et al., 2018).

3.7 Própolis

Própolis é uma matéria prima elaborada por abelhas da espécie *Apis mellifera* onde esses insetos coletam pólen, exsudatos, cera, flores e folhas de plantas da vegetação circunvizinha à colmeia e, a esse material coletado, adiciona sua saliva, obtendo a própolis (FREIRES; DE ALENCAR; ROSALEN, 2016a). Existem vários tipos de própolis ao redor do mundo e cada tipo se diferencia primeiramente em relação à localidade onde a colmeia ou apiário está inserida. A região geográfica onde o apiário está inserido é determinante para as características físico-químicas dos diversos tipos de própolis uma vez que as abelhas coletam de fontes vegetais circunvizinhas para a produção de própolis (DAUGSCH et al., 2008).

Os diversos tipos de própolis possuem, desse modo, origens botânicas diferentes. Origem botânica é a espécie vegetal que majoritariamente contribui para a composição química da própolis (DAUGSCH et al., 2008). Um dos primeiros tipos de própolis a ser catalogado foi a própolis das regiões temperadas ou própolis poplar. Essa própolis tem uma tonalidade amarelada e tem as plantas do gênero *Populus* (Salicaceae) como origem botânica (DAUGSCH et al., 2008). Dentre os 13 tipos de própolis brasileiras oficialmente catalogados, estão a própolis verde e a vermelha. A própolis verde possui a espécie *Baccharis dracunculifolia* e é encontrada no sudeste brasileiro, já a vermelha possui a espécie *Dalbergia ecastophyllum* como origem botânica, sendo encontrada nas regiões de mangue do nordeste brasileiro, principalmente em Alagoas (DAUGSCH et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2021; PORTO et al., 2021). Na Tabela 1 é possível observar alguns tipos de própolis e suas respectivas origens botânicas.

Tabela 1 – Tipos de própolis e suas respectivas origens geográfica e botânica.

Tipo de própolis	Origem geográfica	Origem botânica
Amarela brasileira (G3)	Sul brasileiro	<i>Populus sp.</i> (Daugusch et al., 2008)
Marrom brasileira (G6)	Nordeste brasileiro	<i>Hyptis divaricata</i> (Daugusch et al., 2008)
Verde brasileira (G12)	Sudeste brasileiro	<i>B. dracunculifolia</i> (Daugusch et al., 2008)
Vermelha brasileira (G13)	Nordeste brasileiro	<i>D. ecastophyllum</i> (Daugusch et al., 2008)
Poplar própolis	Zonas temperadas	<i>Populus sp.</i> (Falcão et. al., 2013)
Laranja da Turquia	Turquia	<i>Populus nigra</i> (Guzelmeric et al.,2018)
Azul da Turquia	Turquia	<i>Populus tremula</i> (Guzelmeric et al.,2018)
Não fenólicas	Turquia	Desconhecida (Guzelmeric et al.,2018)
Z. punctata	Nordeste argentino	<i>Zuccagnia punctata</i> (Solorzano et al., 2017)
Poplar portuguesa	Norte português	<i>Populus sp.</i> (Falcão et al., 2013)
Portuguesa não poplar	Centro e sul português	<i>Canadensis ladanifer</i> (Falcão et al., 2013)
Tipo Birch	Russia	<i>Betula verrucosa</i> (Graikou et al., 2016)
Tipo Clusia (marrom)	Cuba e Venezuela	<i>Clusia spp.</i> (Graikou et al., 2016)
Própolis do Pacífico	Indonésia, Taiwan	<i>Macaranga tanarius</i> (Graikou et al., 2016)
Mediterrânea	Grécia, Malta e Sicília	Família Cupressaceae (Graikou et al., 2016)
Vermelha cubana	Cuba	<i>D. ecastophyllum</i> (Piccinelli et al., 2011)

Fonte: Oliveira, 2020.

3.7.1 Composição química e atividades biológicas da própolis vermelha de Alagoas

A composição química da própolis vermelha de Alagoas ocorre em função da sua origem botânica, a *Dalbergia ecastophyllum*, uma vez que é a planta que produz os metabólitos secundários encontrados como constituintes químicos da PVA (DAUGSCH *et al.*, 2008). A PVA é rica em flavonoides, isoflavonoides, benzofenonas isopreniladas e ácidos fenólicos, além da presença de terpenos (NASCIMENTO *et al.*, 2019). Os marcadores, ou seja, as substâncias químicas que atestam a identidade da PVA são os isoflavonoides biochanina A, daidzeína, formononetina, vestitol; a chalcona isoliquiritigenina, a flavanona liquiritigenina e o pterocarpano medcarpina (Nascimento *et al.*, 2019). Todos esses também são marcadores da *Dalbergia ecastophyllum* (DAUGSCH *et al.*, 2008; TRUSHEVA *et al.*, 2006; ALENCAR *et al.*, 2007). Outros constituintes da PVA são listados e sua composição comparada a outros dois tipos de própolis na Tabela 2.

Segundo a Instrução Normativa Nº 03 de 19 de janeiro de 2001 do Ministério

da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), amostras de própolis podem ser classificadas quanto ao seu teor de flavonoides totais do seguinte modo: baixo teor (até 1,0 % m/m), médio teor (de 1 a 2 % m/m) e de alto teor de flavonoides (acima de 2 % m/m), sendo o mínimo aceitável para a comercialização de 0,5 % (m/m). Já em relação a concentração de fenóis totais, a mesma IN preconiza que tipos de própolis tenham no mínimo 5,0 %.

As atividades biológicas atribuídas à PVA ocorrem em função dos seus constituintes químicos. Diversos estudos têm demonstrado que a PVA possui atividade antibacteriana (OLIVEIRA et al., 2020; DE MENDONÇA et al., 2015; SILVA et al., 2017), antifúngica (SILVA et al., 2017), antioxidante (OLIVEIRA et al., 2020; NASCIMENTO et al., 2019; FROZZA et al., 2013), cicatrizante (JACOB et al., 2015; ORYAN, ALEMZADEH, MOSHIRI; 2018), dentre outras.

SILVA et al., 2017 analisaram 8 amostras de própolis brasileiras dos tipos vermelha, marrom e verde, provenientes do nordeste, sudeste e sul do Brasil em relação às atividades antibacteriana frente à bactérias gram positivas (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Enterococcus* sp. ATCC 29712), gram negativas (*Klebsiella* sp. ATCC 1706 / 700603 e *Escherichia coli* ATCC 25922), e o fungo patogênico (*Candida albicans* ATCC 18804). Os autores observaram que para *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* sp. e *Klebsiella* sp. a PVA apresentou maior atividade que os outros tipos de própolis brasileira (verde e marrom). Para *Escherichia coli* e *Candida albicans*, os autores não observaram atividade para nenhuma dos tipos de própolis.

Tabela 2 – Constituintes químicos de três tipos de própolis

Composto	P. vermelha	P. verde	P. poplar	Referências
Ácidos fenólicos				
Artepin C				Park; Alencar; Aguiar, 2002; Andrade et al., 2017.
Ácido clorogênico				Andrade et al., 2017; Popova et al., 2018.
Ácido <i>p</i> -cumárico				Park; Alencar; Aguiar, 2002; Popova et al., 2018; Mendonça et al., 2015.
Ácido gálico				Andrade et al., 2017; Popova et al., 2018.
Ácido caféico				Andrade et al., 2017; Popova et al., 2018.
Ácido ferúlico				Park; Alencar; Aguiar, 2002; Popova et al., 2018.
Flavonoides				
Formononetina e isoformononetina	Isoflavonoides			Daugusch et al., 2008; Piccinelli et al., 2011; Mendonça et al., 2015.
Isossacuranetina		Flavanona		Park; Alencar; Aguiar, 2002.
Sacuranetina			Flavanona	Popova et al., 2018.
Kaempferide		Flavonol		Park; Alencar; Aguiar, 2002; Andrade et al., 2017.
Kaempferol				Mendonça et al., 2015; Andrade et al., 2017; Popova et al., 2018.
Alpinona			Flavanona	Popova et al., 2018.
Biochanina A	Isoflavonoide			Daugusch et al., 2008; Piccinelli et al., 2011.
Isoliquiritigenina	Chalcona			Daugusch et al., 2008; Piccinelli et al., 2011.
Pinobanksina				Daugusch et al., 2008; Popova et al., 2018.
Daidzeína	Isoflavonoide			Daugusch et al., 2008; Mendonça et al., 2015.
Medcarpina	Pterocarpano			Trusheva et al., 2006; Silva et al., 2008; Piccinelli et al., 2011.
Vestitol e neovestitol	Isoflavonoides			Oldoni et al., 2011; Silva et al., 2013; Mendonça et al., 2015.
Liquiritigenina	Flavanona			Daugusch et al., 2008; Mendonça et al., 2015.
Quercetina				Daugusch et al., 2008; Popova et al., 2018.
Pinocembrina				Andrade et al., 2017; Mendonça et al., 2015; Popova et al., 2018.
Retusapurpurina A e B	Isoflananas			Piccinelli et al., 2011; Czakó; Márton, 2001.
Terpenos				
α e β amirina				Trusheva et al., 2006; Andrade et al., 2017; Popova et al., 2018.
Benzofenonas				
Gutiferonas E, F, C e D				Trusheva et al., 2006; Piccinelli et al., 2011; Mendonça et al., 2015.
Xantoquimol				Trusheva et al., 2006; Piccinelli et al., 2011; Mendonça et al., 2015.

* Marcações em cores indicam presença exclusiva do marcador no respectivo tipo de própolis. Ausência de marcação indica presença em mais de um tipo de própolis. Fonte: Oliveira, 2021.

OLIVEIRA et al., 2021 demonstraram atividade dos extratos etanólico e acetato de etila de própolis vermelha de Alagoas frente a cepa de *Streptococcus mutans* CCT 3440 através da técnica de microdiluição em caldo. Ambos os extratos de PVA demonstraram concentração inibitória mínima (CIM) de 125 µg/mL, já as concentrações bactericidas mínimas (CBM) dos extratos acetato de etila e etanólico de PVA foram de 500 µg/mL e 1000 µg/mL, respectivamente. Oryan, Alemzadeh, Moshiri; 2018 listaram as atividades biológicas da própolis vermelha, dentre elas a atividade antifúngica contra *Candida albicans*.

3.7.2 Uso da própolis vermelha no desenvolvimento de produtos odontológicos

A PVA tem sido utilizada no desenvolvimento de produtos odontológicos uma vez que possui atividade antimicrobiana contra *Streptococcus mutans*, *Enterococcus* sp e *Candida albicans*. Os primeiros produtos odontológicos enriquecidos com própolis foram dentrífcios enriquecidos com própolis (BERTOLINI et al., 2010). A literatura cita o uso de própolis vermelha no desenvolvimento de formulação de irrigador endodôntico (PAROLIA et al., 2021), vernises dentários (DE LUCA et al., 2014), resina composta fotopolimerizável do tipo bulk fill (OLIVEIRA et al., 2021), adesivos dentários (PORTO et al., 2021), material para limpeza de cavidades (PORTO et al., 2018) e de gel mucoadesivo (GONZÁLEZ-SERRANO et al., 2021).

4 METODOLOGIA

4.1 Obtenção do extrato hexânico de própolis vermelha de Alagoas

Antes da coleta da própolis vermelha de Alagoas, foi realizado cadastro no SisGen para acesso ao patrimônio genético, como preconiza a Lei 13.123/2015. O cadastro foi realizado em 29 de junho de 2020, sob o número AD15AA4. Em novembro de 2020 foram coletadas 200 g de própolis vermelha de Alagoas *in natura*, em um apiário da cidade de Marechal Deodoro, Alagoas, Brasil. As coordenadas geográficas do local da coleta são as seguintes: 9° 42.258´ S, 35° 54.391´ O, e cerca de 35,5 m acima do nível do mar.

Foram pesadas 150 g de própolis para a realização da extração pelo método maceração exaustiva. Para esse procedimento, a própolis *in natura* foi cortada em pequenos pedaços e adicionada em um frasco pluma âmbar. Posteriormente, houve o preparo de 450 mL da solução extratora (etanol: água na proporção de 4:1) a partir de 360 mL de etanol absoluto e 90 mL de água deionizada. A solução extratora foi vertida ao frasco contendo própolis, o conjunto mantido à temperatura ambiente, protegido do calor, da luz e por um tempo de extração de 48 horas. Após o primeiro período de 48 horas, o sobrenadante foi retirado com auxílio de uma pipeta graduada de 20 mL e acondicionado em outro frasco pluma âmbar limpo. Ao sobrenadante recuperado deu-se o nome de macerado. Foram preparados mais 450 mL da solução extratora e o processo de maceração repetido por mais um período de 48 horas nas mesmas condições já descritas anteriormente. Após o segundo período de extração, o sobrenadante foi novamente retirado e acondicionado no frasco contendo somente o macerado total obtido na extração.

O macerado obtido foi concentrado pelo procedimento de evaporação em rotaevaporador à vácuo 650 mmHg e temperatura de 45 °C. Ao final deste procedimento, foram obtidos 42 g de extrato bruto de própolis vermelha de Alagoas, a partir de agora chamado de extrato hidroalcólico.

A obtenção do extrato hexânico se deu pelo procedimento de extração líquido-líquido, ou particionamento. Foram pesados 2 g de extrato hidroalcólico que foi solubilizado em 80 mL de solução de etanol 50 %. A solução de própolis foi acondicionada em funil de separação, com posterior adição de 200 mL de hexano. O

sistema foi agitado cuidadosamente para promover o particionamento da própolis entre as fases, porém sem promover formação de emulsão. A fase hexânica foi retirada e acondicionada em balão volumétrico. O procedimento foi realizado mais duas vezes, até o esgotamento da coloração amarela, característica da fase hexânica de própolis. A fase hexânica foi concentrada em rotaevaporador nas condições já descritas acima para a obtenção do extrato hexânico de própolis vermelha de Alagoas. Os padrões disponíveis para a análise, conforme Nascimento et al., 2019.

4.2 Caracterização do extrato hexânico de própolis vermelha de Alagoas

4.2.1 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

O sistema CLAE utilizado foi um *Ultra Performance Liquid Chromatography* (UPLC-DAD, Shimadzu) equipado com desgaseificador modelo DGU-20A3R, duas bombas modelo Nexera XR® LC-20AD, auto injetor modelo Nexera XR SIL-20A, forno modelo Prominence® CTO-20A, detector de arranjo de diodos modelo Prominence SPD-M20A, detector de fluorescência modelo Prominence RF-20A e módulo controlador modelo CBM- 20A. O sistema contou com uma fase estacionária C18 (4,6 mm x 150 mm x 5 µm e tamanho de partícula de 100 Å, Kinetex® - Phenomenex) e com uma fase móvel de sistema gradiente de concentração de solventes (solvente A: água ultrapura; solvente B: acetonitrila grau HPLC – Sigma-Aldrich), partindo de 30% de A e chegando em 100% de B após 47 minutos de eluição. O volume de injeção foi de 2 µL e a temperatura de 30 °C (± 2 °C).

Foram pesadas 10 mg do extrato hexânico e posteriormente solubilizado com 10 mL de metanol, obtendo uma solução estoque com concentração de 1 mg/mL (1000 µg/mL). Foram pipetadas 2,5 mL da solução estoque de extrato hexânico e adicionadas em balão volumétrico de 5 mL, com ajuste do volume do balão com metanol para obtenção da solução de extrato hexânico de própolis vermelha com concentração de 500 µg/mL. A solução de extrato hexânico de própolis a 500 µg/mL foi analisada nas condições descritas acima.

Foram utilizados padrões analíticos de flavonoides (Sigma-Aldrich) para a identificação dos marcadores da PVA presentes no extrato hexânico. Os padrões analisados foram: formononetina, daidzeína, isoliquiritigenina, liquiritigenina, biochanina A, pinocembrina e pinobanksina. O preparo das soluções de cada um

dos padrões analíticos de flavonoides foi realizado do seguinte modo: foram pesadas 2 mg de cada um dos padrões que posteriormente foram transferidos para balão volumétrico de 5 mL e solubilizados com metanol, obtendo as respectivas soluções a 200 µg/mL. Os padrões foram analisados nas condições descritas acima.

A identificação dos marcadores da própolis se deu pela comparação do tempo de retenção dos picos do extrato hexânico com os picos dos padrões analíticos disponíveis para a análise, conforme Nascimento et al., 2019.

4.2.2 Determinação do teor de flavonoides totais

4.2.2.1 Preparo das soluções estoques de extrato hexânico, de quercetina e de AlCl_3

A determinação do teor de flavonoides totais foi realizada pelo método do AlCl_3 . Foram pesadas 100 mg de extrato hexânico de PVA que foram solubilizadas com metanol em um balão volumétrico de 10 mL para a obtenção de uma solução de extrato hexânico de PVA a 10 mg/mL. Foram pesadas 10 mg de quercetina (Sigma-Aldrich) que posteriormente foram solubilizadas em metanol em um balão volumétrico de 10 mL para obtenção de solução estoque de quercetina a 1 mg/mL. Foram pesadas 5 mg de AlCl_3 (NEON) e posteriormente solubilizadas em 100 mL de metanol para obtenção de solução estoque de AlCl_3 a 5 %.

4.2.2.2 Realização da curva de calibração da quercetina

Primeiramente, foi realizada uma curva de calibração da quercetina com seis concentrações diferentes em triplicata, nas concentrações de 2, 4, 6, 8, 10 e 12 µg/mL, em balão volumétrico de 5 mL com adição de metanol e 100 µL da solução estoque de AlCl_3 . Essas soluções de quercetina foram preparadas a partir da solução estoque de quercetina a 1 mg/mL. Todas as amostras foram acondicionadas à temperatura ambiente e protegidas da luz por 30 (trinta) minutos. Após este período, as amostras foram submetidas a análise em espectrofotômetro ajustado para o comprimento de onda de 425nm. A partir da curva de calibração da quercetina foram obtidos a equação da reta da quercetina ($y = ax + b$) e o coeficiente de determinação (r^2), conforme Oliveira et al., 2021.

4.2.2.3 Realização da curva de calibração do extrato hexânico de PVA

Foi realizada uma curva de calibração do extrato hexânico com cinco concentrações diferentes em triplicata: 25, 50, 100, 150 e 200 µg/mL, em balão volumétrico de 5 mL com adição de metanol e 100 µL da solução estoque de AlCl_3 . Essas soluções de extrato hexânico de PVA foram preparadas a partir da solução estoque de extrato hexânico a 10 mg/mL. Todas as amostras foram acondicionadas à temperatura ambiente e protegidas da luz por 30 (trinta) minutos. Após este período, as amostras foram submetidas a análise em espectrofotômetro ajustado para o comprimento de onda de 425nm. O teor de flavonoides totais do extrato hexânico foi obtido a partir da equação da reta da quercetina e descrito em % de flavonoides totais.

4.2.3 Determinação do teor de fenóis totais

4.2.3.1 Preparo das soluções estoques de extrato hexânico, de ácido gálico e de Na_2CO_3

A determinação do teor de fenóis totais foi realizada pelo método do Folin-Ciocalteu. Foram pesadas 100 mg de extrato hexânico de PVA que foram solubilizadas com metanol em um balão volumétrico de 10 mL para a obtenção de uma solução de extrato hexânico de PVA a 10 mg/mL. Foram pesadas 10 mg de ácido gálico (NEON) que posteriormente foram solubilizadas em água deionizada em um balão volumétrico de 10 mL para obtenção de solução estoque de ácido gálico a 1 mg/mL. Foram pesadas 5 mg de carbonato de sódio (Na_2CO_3 – NEON) e posteriormente solubilizadas em 100 mL de água deionizada para obtenção de solução estoque de Na_2CO_3 a 5 %. O reagente de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich) foi utilizado para a determinação de fenóis totais. Metodologia análoga foi utilizada por Nascimento et al., 2019.

4.2.3.2 Realização da curva de calibração do ácido gálico

Primeiramente, foi realizada uma curva de calibração do ácido gálico com seis concentrações diferentes em triplicata, nas concentrações de 1, 2, 4, 5, 6 e 8 µg/mL, em balão volumétrico de 5 mL com adição de 250 µL do reagente de Folin-Ciocalteu, 1 mL de Na_2CO_3 a 5 % e com volume ajustado com água deionizada. Essas soluções de ácido gálico foram preparadas a partir da solução estoque de

ácido gálico a 1 mg/mL. Todas as amostras foram acondicionadas à temperatura ambiente e protegidas da luz por 2 horas. Após este período, as amostras foram submetidas a análise em espectrofotômetro ajustado para o comprimento de onda de 760 nm. A partir da curva de calibração do ácido gálico foram obtidos a equação da reta da quercetina ($y = ax + b$) e o coeficiente de determinação (r^2). Metodologia análoga foi utilizada por Nascimento et al., 2019.

4.2.3.3 Realização da curva de calibração do extrato hexânico de PVA

Primeiramente, foi realizada uma curva de calibração do extrato hexânico com cinco concentrações diferentes em triplicata, nas concentrações de 30, 40, 50, 60 e 75 $\mu\text{g/mL}$, em balão volumétrico de 5 mL com adição de 250 μL do reagente de Folin-Ciocalteu, 1 mL de Na_2CO_3 a 5 % e com volume ajustado com água deionizada. Essas soluções de extrato hexânico de PVA foram preparadas a partir da solução estoque de extrato hexânico a 10 mg/mL. Todas as amostras foram acondicionadas à temperatura ambiente e protegidas da luz por 2 horas. Após este período, as amostras foram submetidas a análise em espectrofotômetro ajustado para o comprimento de onda de 760 nm. O teor de fenóis totais do extrato hexânico foi obtido a partir da equação da reta do ácido gálico e descrito em % de fenóis totais. Metodologia análoga foi utilizada por Nascimento et al., 2019.

4.2.4 Determinação da capacidade de sequestro do radical DPPH (CSR %)

4.2.4.1 Preparo das soluções estoques de extrato hexânico, de trolox e de DPPH

A determinação da capacidade do sequestro do radical (CSR %) livre do extrato hexânico de PVA foi realizada pelo método do sequestro do radical DPPH. Foram pesadas 100 mg de extrato hexânico de PVA que foram solubilizadas com etanol em um balão volumétrico de 10 mL para a obtenção de uma solução de extrato hexânico de PVA a 10 mg/mL. Foram pesadas 4 mg de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil - Sigma-Aldrich) que posteriormente foram solubilizadas em etanol em um balão volumétrico de 100 mL para obtenção de solução estoque de DPPH a 0,04 mg/mL. Foram pesadas 5 mg de trolox (Sigma-Aldrich) que posteriormente foram solubilizadas em etanol em um balão volumétrico de 5 mL para obtenção de solução estoque de trolox a 1 mg/mL (controle positivo). Metodologia análoga foi utilizada por Nascimento et al., 2019.

4.2.4.2 Realização da curva de calibração do trolox

Primeiramente, foi realizada uma curva de calibração do trolox com oito concentrações diferentes em triplicata, nas concentrações de 0,25; 0,5; 1; 2; 3; 4; 8 e 12 µg/mL, em balão volumétrico de 5 mL com adição de 2 mL da solução estoque de DPPH e com o volume completado com etanol. Essas soluções de trolox foram preparadas a partir da solução estoque de trolox a 1 mg/mL. Todas as amostras foram acondicionadas à temperatura ambiente e protegidas da luz por 30 (trinta) minutos. Após este período, as amostras foram submetidas a análise em espectrofotômetro ajustado para o comprimento de onda de 520 nm. A partir da curva de calibração do trolox (controle positivo) foram obtidos a equação da reta da do trolox ($y = ax + b$) e o coeficiente de determinação (r^2). A partir da equação da reta do trolox foi possível determinar sua IC₅₀ (concentração inibitória 50 %). Metodologia análoga foi utilizada por Oliveira et al., 2021.

4.2.4.3 Realização da curva de calibração do extrato hexânico de PVA

Primeiramente, foi realizada uma curva de calibração do extrato hexânico com seis concentrações diferentes em triplicata, nas concentrações de 1, 5, 10, 15, 20 e 25 µg/mL, em balão volumétrico de 5 mL com adição de 2 mL da solução estoque de DPPH e com o volume completado com etanol. Essas soluções de extrato hexânico de PVA foram preparadas a partir da solução estoque a 10 mg/mL. Todas as amostras foram acondicionadas à temperatura ambiente e protegidas da luz por 30 (trinta) minutos. Após este período, as amostras foram submetidas a análise em espectrofotômetro ajustado para o comprimento de onda de 520 nm. A partir da curva de calibração do extrato hexânico foram obtidos a equação da reta ($y = ax + b$) e o coeficiente de determinação (r^2). A partir da equação da reta do extrato hexânico foi possível determinar sua IC₅₀ (concentração inibitória 50 %). Metodologia análoga foi utilizada por Oliveira et al., 2021.

4.3 Obtenção das formulações de cimento de ionômero de vidro enriquecido com extrato hexânico de PVA (CIVP)

Foram desenvolvidas três formulações de ionômeros de vidro enriquecidas com PVA a partir de um ionômero comercial. O ionômero comercial utilizado foi o

Maxxion R[®] cor A3 (FGM), quimicamente ativado. A partir do ionômero comercial foram obtidas as formulações enriquecidas com própolis nas seguintes concentrações: 0,5 %, 1,0 % e 2,0 % (peso/peso – p/p) de extrato hexânico de própolis vermelha de Alagoas.

Para o desenvolvimento das formulações, primeiramente foi determinado o peso médio de uma medida padrão do ionômero comercial mediante a pesagem, em triplicata, de uma medida do pó do ionômero com o dosador que acompanha o produto comercial. O peso médio de uma medida foi de 100 mg. A adição de extrato hexânico de PVA ao ionômero comercial se deu através da adição de 5 µL uma solução etanólica do extrato hexânico a uma concentração ideal para obter cada uma das concentrações desejadas para os ionômeros enriquecidos, conforme demonstrado na Tabela 3. Os corpos de prova das formulações experimentais foram preparados em matriz de borracha de 4 mm de diâmetro por 2 mm de profundidade para os ensaios de caracterização.

Tabela 3 – Proporções das formulações de ionômero enriquecidas com *extrato Hexânico de PVA*

Formulação CIVP	Quantidade de pó comercial (mg)	Quantidade de solução de extrato hexânico (µL)	Solução de extrato hexânico utilizada (µL/mL)	Quantidade de própolis inserida (mg)
CIVP 0,5 %	100	5	100	0,5
CIVP 1,0 %	100	5	200	1,0
CIVP 2,0 %	100	5	400	2,0

Fonte: Autor, 2023.

4.4 Caracterização das formulações de cimento de ionômero de vidro enriquecido com extrato hexânico de PVA (CIVP)

4.4.1 Determinação da atividade antibacteriana por difusão

A atividade antibacteriana pelo método de difusão foi determinada em relação à cepa de *Streptococcus mutans* CCT 3440. A cepa bacteriana foi ativada em meio BHI estéril a 37 °C por 24 horas. Após esse período de incubação a cepa foi semeada em meio BHA pela técnica de estriamento e cultivada a 37 °C por 24 horas. Após o segundo período de incubação, foram coletadas colônias isoladas para a realização do

acerte do inóculo. O inóculo foi ajustado para a concentração padrão de 0,5 McFarland (10^8 UFC/mL) a partir da solução fisiológica estéril com auxílio de espectrofotômetro ajustado em 625 nm (absorbância entre 0,08 e 0,1). O ensaio foi realizado em placas de Petri contendo meio BHA estéril. O inóculo a 0,5 McFarland foi aplicado por toda a extensão da placa imediatamente após seu acerte, com auxílio de um swab estéril, conforme preconizado pelo CLSI M2 A8, 2003. Os corpos de prova das formulações experimentais ($n = 5$) foram adicionados à placa. Um disco de eritromicina de 15 μ g foi adicionado no centro da placa como controle positivo e o conjunto incubado a 37 °C por 24 horas. Uma placa de BHA estéril foi preparada com a salina estéril utilizada para realização do acerte do inóculo e incubada a 37 °C por 24 horas como controle negativo. Finalizado o período de incubação, foi realizada a leitura dos resultados em função dos halos de inibição do crescimento bacteriano medidos em milímetros. Metodologia análoga foi utilizada por Oliveira et al., 2021.

4.4.2 Determinação do perfil de liberação de extrato hexânico de própolis

A determinação do perfil de liberação de extrato hexânico de própolis a partir das formulações de ionômeros enriquecidos foi realizada através de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Um corpo de prova de cada uma das formulações experimentais foi acondicionado em tubo criogênico de 2 mL. Em cada tubo contendo o corpo de prova foram adicionados 200 μ L de solução salina e o conjunto colocado em banho-maria a 37 °C por 24 horas. Após esse período, 2 μ L do sobrenadante foram coletados e analisados pelo método CLAE descrito no item 4.2.1. Metodologia análoga foi utilizada por Oliveira et al., 2021.

4.4.3 Microdureza Knoop (KHN)

Os corpos-de-prova (CP), 5 amostras de cada grupo, foram analisados quanto à dureza superficial após 24 horas, pelo método Knoop. A leitura de microdureza Knoop foi realizada no Laboratório de Materiais Dentários da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – FOP/Unicamp, em um Microdurômetro (HMV-2000, Shimadzu, Japão), com uma carga de 50 g aplicada durante 30s, endentador com ponta em forma de losângulo. Foram realizadas três endentações por superfície de cada amostra, observando-se a distância mínima de 1 mm entre uma marca e outra, evitando-se áreas periféricas. A metodologia utilizada foi baseada em Silva et. al (2006).

4.4.4 Rugosidade superficial

Foram feitas 5 amostras para cada grupo experimental utilizando uma matriz circular de silicone por adição com orifício no centro, que permitiu a confecção das amostras com dimensões de 5 mm de diâmetro e 4 mm de espessura. A matriz foi posicionada sobre uma bancada e pressionada por uma tira de poliéster, cuja o incremento único foi inserido com auxílio de uma espátula antiaderente (Thompson) e compactada ao encontro das paredes internas da matriz. Checou-se a leitura rugosimétrica dos grupos experimentais sem a realização de nenhum tipo de acabamento ou polimento superficial. Avaliou-se a rugosidade superficial por meio de um rugosímetro (Mitutoyo - Modelo: SJ-210, Tokio, Japão), realizando-se três leituras em cada corpo de prova partindo de áreas distintas e passando pelo centro geométrico de amostra. A rugosidade média inicial de cada espécime foi obtida considerando a média das três leituras efetuadas. A metodologia utilizada foi baseada em Silva et. al (2006).

4.4.5 Determinação do perfil de liberação de fluoreto por RMN

O preparo das amostras para análise da liberação de fluoreto por ressonância magnética nuclear (RMN) foi realizado o seguinte modo: três corpos de prova da formulação de ionômero a 0,5 % com a extrato hexânica de PVA, logo após, foram preparados e imediatamente pesados conforme descrito no item 4.3, em seguida, foram preparados também, os três corpos de provas do grupo controle contendo apenas o ionômero de vidro e pesados para determinação de suas respectivas massas. Cada corpo de prova foi acondicionado em frasco contendo 600 μ L de água deuterada (D_2O) a 37 °C por 5 dias. Após esse período, 600 μ L da amostra previamente preparada foi transferida para tubos de RMN de 5mm de diâmetro externo para posterior análise em equipamento BRUKER, modelo Ascend, dotado de magneto supercondutor, operando na frequência de 600 MHz para 1H e na frequência de 564,64 MHz para ^{19}F , equipado com sonda de banda larga de 5 mm de diâmetro, modelo PABBO BBF-H-D-5mm, com aplicação de 256 pulsos (NS) de rádio frequência (RF), com duração de 4 segundos por scan.

Os sinais produzidos (FIDs) (Free Induction Decay), apresentando o decaimento livre do sinal em função do tempo, foram gerados com 128K pontos (TD),

com delay entre pulsos (D1) de 3 segundos, P1: 15 μ s (pulso de 90°), AQ: 0,4893 s (tempo de aquisição), utilizando a sequência de pulsos ZGFHIGQN.2.

Para o processamento das FIDs, foram aplicadas Transformadas de Fourier (FT), precedida de uma função janela do tipo exponencial, com LB = 0,3 Hz, seguido de correção de linha de base e ajuste de fase com os espectros gerados sendo obtidos com uma largura de janela de 237,21ppm. Os sinais observados em um espectro de RMN são gerados em uma escala de ppm, achado de modo que os sinais sejam apresentados em posição idênticas, independentemente do equipamento utilizado. Os valores em ppm para cada sinal, pode ser alcançado, dividindo a posição do sinal em Hz, pela frequência do equipamento em MHz. A interpretação quantitativa do espectro de RMN, pode ser obtida com a integração (relativa) das áreas dos sinais observados nos espectros. A posição dos sinais, em ppm, nos espectros, refletem diferentes ambientes químicos, dependente da posição de cada átomo nas moléculas em análise. A metodologia utilizada foi baseada em Pettinari C., Rafaianni G. (2017) e Lindon J.C. (2016).

4.4.6 Determinação do perfil de liberação de fluoreto por Fluorimetria

Preparo das amostras

Foram preparados corpos de prova de CIV comercial e CIVP 0,5 % (n= 3), conforme metodologia descrita no item 4.3. Os corpos de prova confeccionados foram imediatamente pesados e acondicionados em microtubo contendo 0,6 mL de água deionizada, por 5 dias, protegidos da luz e à temperatura ambiente. Após esse período, as amostras foram avaliadas quanto à capacidade de liberação de fluoreto por fluorimetria.

Análise da concentração de fluoreto

Para a determinação da concentração de fluoreto nas amostras, foi utilizado um eletrodo de flúor íon específico (Orion® 96-09 BNWP; Orion Research, Boston, MA, USA), acoplado a um potenciômetro (Thermo Scientific Orion Versa Star). O eletrodo foi calibrado, em triplicata, com soluções padrão de fluoreto contendo diferentes concentrações de fluoreto (0,125; 0,250; 0,50; 1,0; 2,0; 5,0 e 10 μ g F/mL), obtidas pela diluição de uma solução padrão contendo 10 ppm F (Orion®, Cat. No.

040907, Thermo Scientific). Para tal, foram utilizados 1 mL de cada padrão e 1 mL de tampão TISAB II (Total Ionic Strength Adjustment Buffer). Para a curva de calibração, foi realizado um cálculo de regressão linear entre $\log [F^-]$ e a mV obtida na leitura das amostras ($r^2 = 0.9985$). Posteriormente, foi realizada a leitura das amostras relativas ao CIV ou ao CIV modificado com própolis, também em triplicata. Essas amostras foram preparadas nas mesmas condições descritas para os padrões da curva de calibração (1:1). As leituras da diferença de potencial em mV foram convertidas na concentração de fluoreto em $\mu\text{g F/mL}$ (PPM), utilizando-se o programa Microsoft Excel®. A média da concentração de flúor encontrada nas 3 amostras de cada produto foi calculada e os dados expressos em $\mu\text{g F/mL}$ ($n = 3$). O método utilizado foi adaptado de Carey; Coleman, 2016.

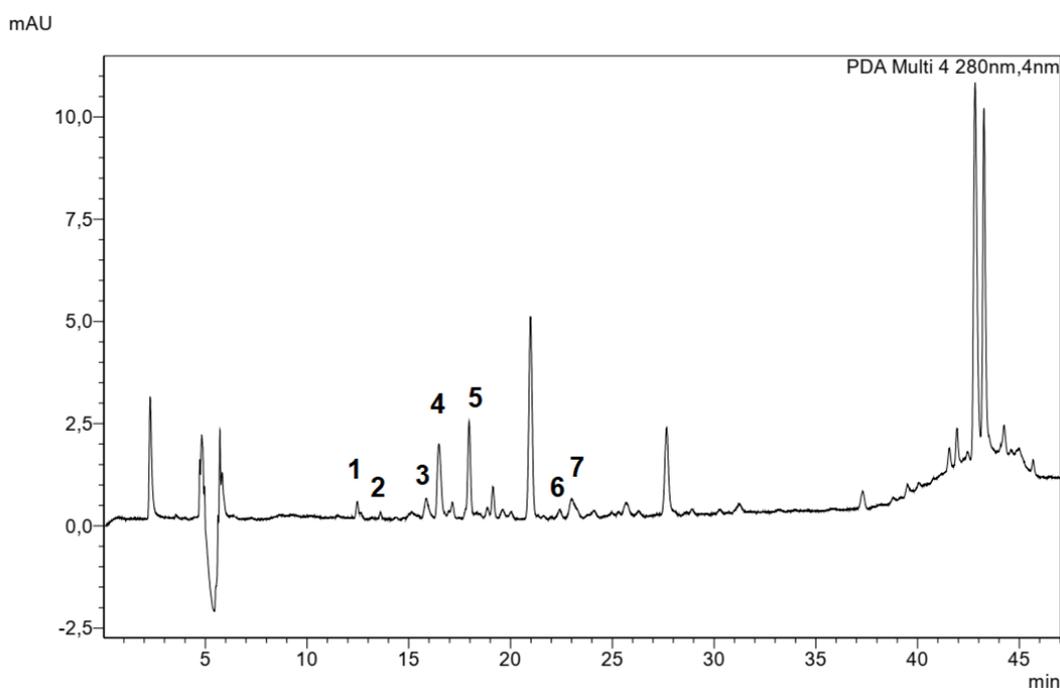
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização do extrato hexânico de própolis vermelha de Alagoas

5.1.1 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

Foram observadas as presenças de sete marcadores da própolis vermelha de Alagoas no extrato hexânico, dentre eles: daidzeína (1), liquiritigenina (2), pinobanksina (3), isoliquiritigenina (4), formononetina (5), pinocembrina (6) e biochanina A (7), conforme apresentado na Figura 4.

Figura 4 – Perfil CLAE do extrato hexânico da própolis vermelha de Alagoas a 500 µg/mL.



Fonte: Autor, 2023.

Os marcadores identificados neste trabalho corroboram com os marcadores da própolis vermelha de Alagoas citados na literatura (DE MENDONÇA *et al.*, 2015; DO NASCIMENTO *et al.*, 2019; SILVA *et al.*, 2008). O desenvolvimento de produtos derivados de própolis vermelha de Alagoas deve ser iniciado pela caracterização do extrato a ser utilizado, uma vez que a composição dos marcadores pode variar conforme a localidade do apiário e sazonalidade (DO NASCIMENTO *et al.*, 2019). A identificação dos marcadores da própolis é de extrema importância no desenvolvimento de produtos derivados de própolis uma vez que esses compostos são responsáveis pelas atividades biológicas atribuídas à PVA (FREIRES; DE ALENCAR; ROSALEN, 2016b; OLDONI *et al.*, 2011; OLIVEIRA *et al.*, 2021; PORTO, I.C.C.M. *et al.*, 2018).

5.1.2 Determinação de flavonoides totais

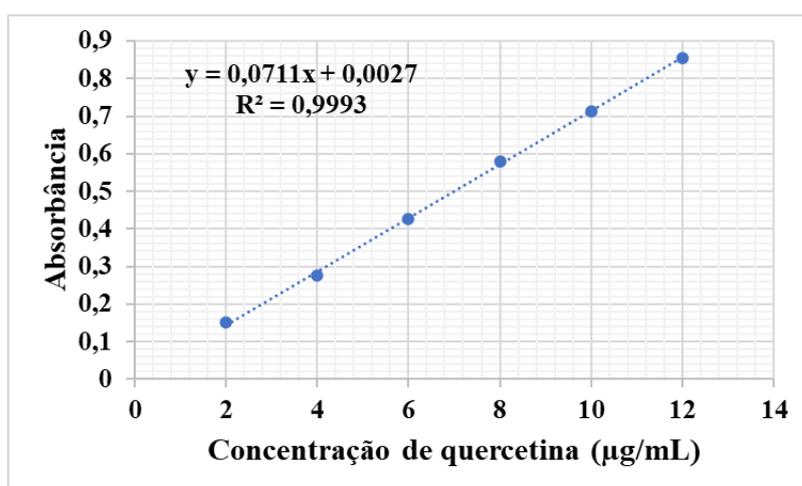
A curva de calibração da quercetina apresentou coeficiente de correlação de Pearson (r) de 0,9997 e coeficiente de determinação (r^2) igual a 0,9993, indicando correlação positiva entre as concentrações das soluções de quercetina e as respectivas respostas de absorbância obtidas para elas no espectrofotômetro (as absorbâncias são diretamente proporcionais às concentrações). O r^2 indica que a resposta do equipamento explica 99,9 % a determinação da concentração de quercetina nas soluções, conforme apresentado na Tabela 4 e Figura 5.

Tabela 4 – Dados da curva de calibração da quercetina.

[$\mu\text{g/mL}$]	ABS 1	ABS 2	ABS 3	Média	DP	%CV	[quercetina recuperada]	exatidão	R
1	0,0641	0,0639	0,064	0,064	0,0001	0,156	0,862	86,217	0,9997
2	0,1522	0,1525	0,152	0,152	0,0002	0,137	2,104	105,180	
4	0,2761	0,276	0,275	0,275	0,0002	0,075	3,843	96,074	
6	0,4268	0,4271	0,427	0,427	0,0002	0,049	5,968	99,469	
8	0,579	0,5795	0,579	0,579	0,0003	0,055	8,111	101,383	
10	0,712	0,7126	0,712	0,712	0,0004	0,064	9,983	99,831	
12	0,8549	0,8551	0,855	0,855	0,0005	0,062	11,992	99,930	

Fonte: Autor, 2023.

Figura 5: Curva de calibração da quercetina.



Fonte: Autor, 2023.

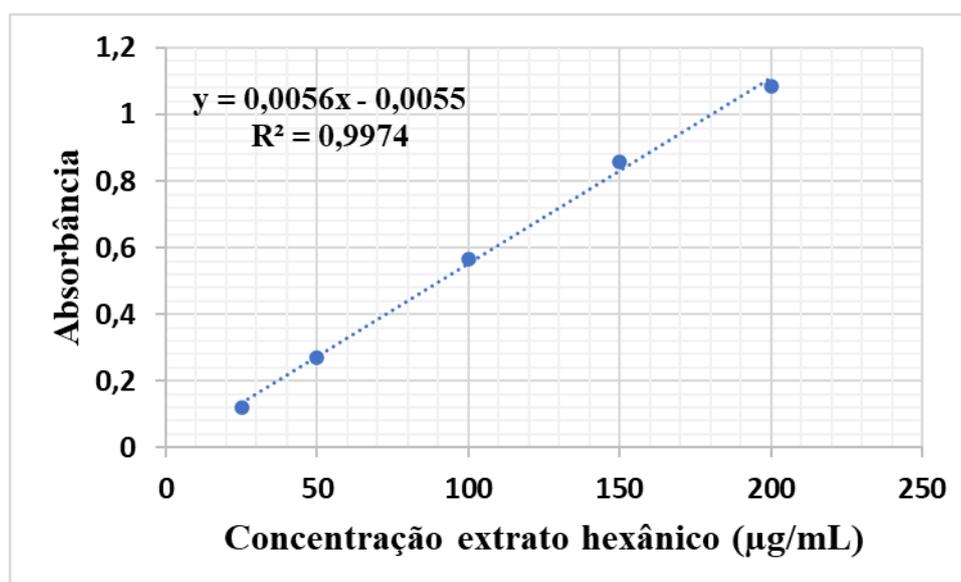
A partir da equação da reta da curva de calibração da quercetina foi possível determinar o teor de flavonoides totais para o extrato hexânico de própolis vermelha de Alagoas que foi de 7,35 %, conforme apresentado na Tabela 5 e Figura 6. Esse resultado equivale a 73,5 mg de flavonoides totais por grama de extrato hexânico seco (73,5 mg/g em equivalentes de quercetina). Segundo a Instrução normativa Nº 03 de 2001 do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), os tipos de própolis podem ser classificados quanto ao teor de flavonoides totais em baixo (menor que 1 %), médio (de 1 a 2 %) e alto teor (acima de 2 %). Desse modo, o extrato hexânico de PVA pode ser caracterizado como de alto teor de flavonoides totais.

Tabela 5 – Dados da curva de calibração da do extrato hexânico para flavonoides totais.

[Hexânico]	ABS 1	ABS 2	ABS 3	Média	DP	%CV	[quercetina]	% flavonoides	% flavonoides totais
25	0,097	0,128	0,139	0,121	0,022	17,950	1,431	5,724	7,352
50	0,265	0,272	0,27	0,269	0,004	1,340	3,593	7,186	
100	0,553	0,573	0,575	0,567	0,012	2,146	7,956	7,956	
150	0,831	0,878	0,86	0,856	0,024	2,769	12,192	8,128	
200	1,088	1,083	1,083	1,085	0,003	0,266	15,535	7,768	

Fonte: Autor, 2023.

Figura 6 – Curva de calibração do extrato hexânico para flavonoides totais.



Fonte: Autor, 2023.

5.1.3 Determinação de fenóis totais

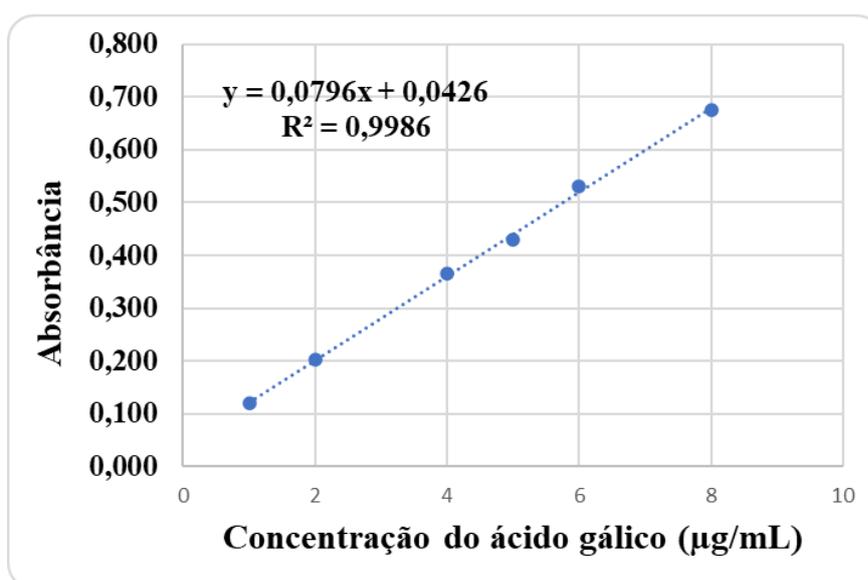
A curva de calibração do ácido gálico apresentou coeficiente de correlação de Pearson (r) de 0,9993 e coeficiente de determinação (r^2) igual a 0,9986, indicando correlação positiva entre as concentrações das soluções de ácido gálico e as respectivas respostas de absorvância obtidas para elas no espectrofotômetro (as absorvâncias são diretamente proporcionais às concentrações). O r^2 indica que a resposta do equipamento explica 99,8 % da determinação da concentração de ácido gálico nas soluções, conforme apresentado na Tabela 6 e Figura 7.

Tabela 6 – Dados da curva de calibração do ácido gálico.

[zg/mL]	ABS1	ABS2	ABS3	MÉDIA	DP	CV%	[Ác. Gálico]	Exatidão (%)	r
1	0,132	0,111	0,116	0,120	0,011	9,167	0,968	96,817	0,9993
2	0,208	0,202	0,2	0,203	0,004	2,048	2,019	100,963	
4	0,364	0,369	0,364	0,366	0,003	0,789	4,058	101,466	
5	0,399	0,45	0,44	0,430	0,027	6,290	4,862	97,253	
6	0,53	0,539	0,527	0,532	0,006	1,174	6,148	102,471	
8	0,68	0,669	0,677	0,675	0,006	0,842	7,948	99,361	

Fonte: Autores, 2023.

Figura 7 – Curva de calibração do ácido gálico.



Fonte: Autor, 2023.

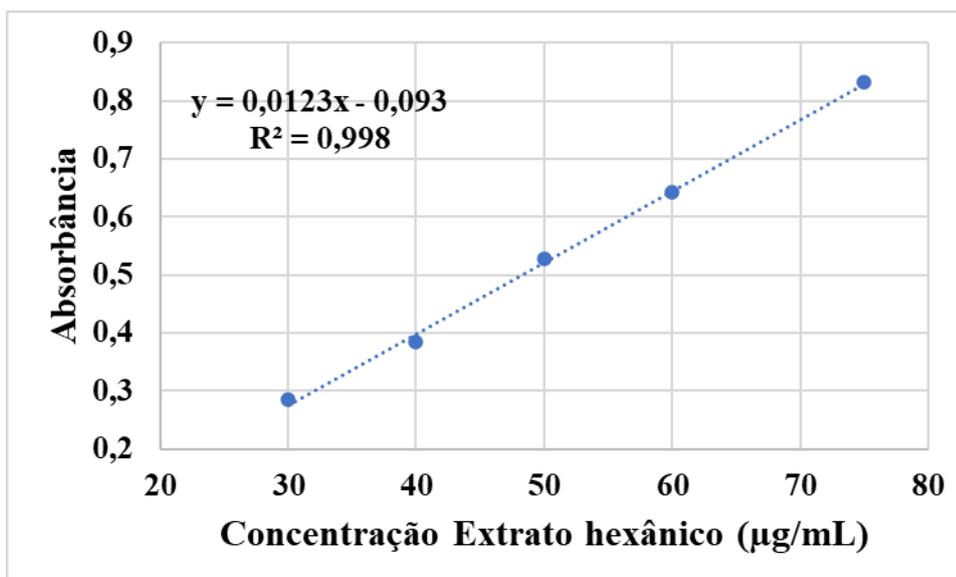
A partir da equação da reta da curva de calibração do ácido gálico foi possível determinar o teor de fenóis totais para o extrato hexânico de própolis vermelha de Alagoas que foi de 11,76 %, conforme apresentado na Tabela 7 e Figura 8. Esse valor de fenóis totais corresponde a 117,6 mg de fenóis totais por grama de extrato hexânico seco (117,6 mg/g em equivalentes de ácido gálico). Segundo a Instrução normativa Nº 03 de 2001 do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), as própolis para serem comercializadas no Brasil precisam ter no mínimo 5 % de compostos fenólicos totais. Desse modo, o extrato hexânico de PVA pode ser caracterizado como de alto teor de compostos fenólicos totais.

Tabela 7 – Dados da curva de calibração do extrato hexânico para fenóis totais.

Extrato [ug/mL]	ABS1	ABS2	ABS3	Média	DP	CV (%)	[Ác. Gálico]	[Fenóis totais]	% Fenóis totais média
30	0,296	0,273	0,288	0,285	0,012	4,087	3,054	10,179	11,767
40	0,39	0,382	0,379	0,383	0,006	1,482	4,285	10,712	
50	0,502	0,534	0,545	0,527	0,022	4,239	6,085	12,171	
60	0,591	0,67	0,665	0,642	0,044	6,891	7,530	12,550	
75	0,831	0,848	0,817	0,832	0,016	1,866	9,917	13,223	

Fonte: Autor, 2023.

Figura 8 – Curva de calibração do extrato hexânico para fenóis totais.



Fonte: Autor, 2023.

ANDRADE et al., 2017 analisaram o teor de flavonoides totais para própolis vermelha, verde e marrom coletadas em janeiro de 2016 na cidade de Marechal Deodoro, Alagoas, Brasil. Os autores observaram que o extrato hidroalcoólico da própolis vermelha apresentou teor de flavonoides totais de 31,48 mg/g (3,14 %) e teor de compostos fenólicos totais de 91,32 mg/g (9,13 %) (ANDRADE et al., 2017). OLIVEIRA et al., 2021 determinaram o teor de flavonoides totais para o extrato acetato de etila de própolis vermelha de Alagoas coletada na cidade de Marechal Deodoro, Alagoas, Brasil em julho de 2013. Os autores observaram que o valor encontrado foi de 54,56 mg/g (5,45 %) (OLIVEIRA et al., 2021). Desse modo, observa-se que o extrato hexânico de própolis vermelha de Alagoas obtido neste trabalho tem maior teor de flavonoides totais e de compostos fenólicos que outros extratos de própolis vermelha do Alagoas descritos na literatura. Esse fato evidencia a potencial utilização deste extrato para o desenvolvimento de produtos à base de própolis uma vez que flavonoides e compostos fenólicos de modo geral conferem atividades biológicas aos extratos de própolis vermelha.

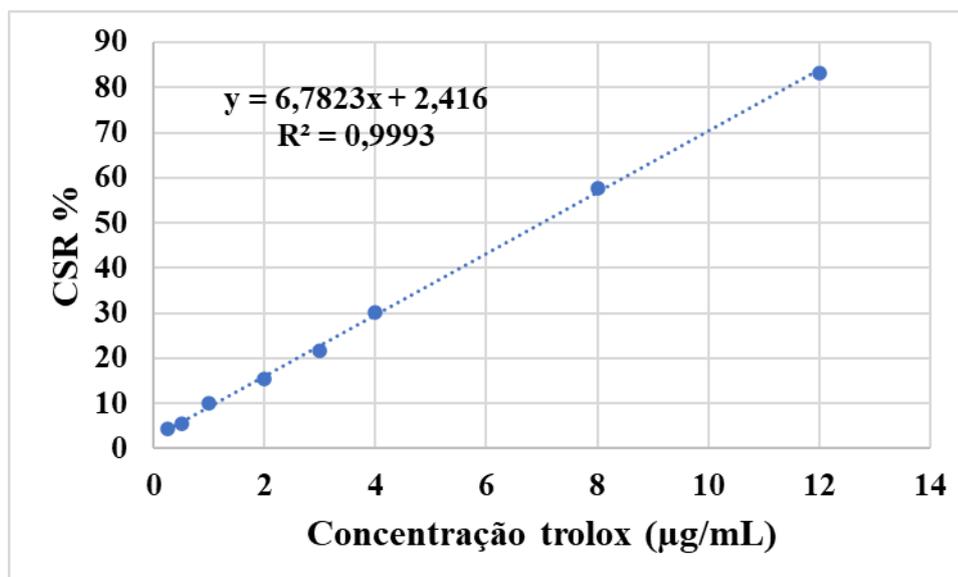
5.1.4 Determinação da capacidade de sequestro do radical DPPH

A curva de calibração do trolox (controle positivo) apresentou coeficiente de correlação de Pearson (r) de 0,9997 e coeficiente de determinação (r^2) igual a 0,9993, indicando correlação positiva entre as concentrações das soluções de trolox e as respectivas respostas de CSR% obtidas para elas no espectrofotômetro (a CSR % é diretamente proporcional às concentrações). O r^2 indica que a resposta do equipamento explica 99,9 % o sequestro do radical DPPH pelo trolox nas soluções, conforme apresentado na Tabela 8 e Figura 9.

Tabela 8 – Dados da curva de calibração da capacidade de sequestro de radical DPPH do trolox.

[$\mu\text{g/mL}$]	ABS 1	ABS 2	ABS 3	MÉDIA	D P	CV%	CSR 1	CSR 2	CSR 3	MÉDIA	DP	IC50 $\mu\text{g/mL}$	r
0,25	0,657	0,659	0,65	0,655	0,00	0,72	4,09	3,80	5,11	4,33	0,69	7,02	0,9996
0,5	0,648	0,649	0,643	0,647	0,00	0,50	5,40	5,26	6,13	5,60	0,47		
1	0,609	0,62	0,621	0,617	0,01	1,08	11,09	9,49	9,34	9,98	0,97		
2	0,581	0,58	0,578	0,580	0,00	0,26	15,18	15,33	15,62	15,38	0,22		
3	0,541	0,534	0,537	0,537	0,00	0,65	21,02	22,04	21,61	21,56	0,51		
4	0,474	0,476	0,487	0,479	0,01	1,46	30,80	30,51	28,91	30,07	1,02		
8	0,288	0,29	0,292	0,29	0,00	0,69	57,96	57,66	57,37	57,66	0,29		
12	0,112	0,116	0,115	0,114	0,00	1,82	83,65	83,07	83,21	83,31	0,30		

Fonte: Autor, 2023.

Figura 9 – Curva de calibração da capacidade de sequestro de radical do trolox.

Fonte: Autor, 2023.

A IC_{50} da capacidade de sequestro de radical DPPH do extrato hexânico de PVA foi 9,22 µg/mL enquanto a IC_{50} do trolox foi de 7,02 µg/mL conforme descrito na Tabela 9.

Tabela 9 – Dados da curva de calibração para a capacidade de sequestro de radical do extrato hexânico de própolis vermelha de Alagoas

[µg/mL]	ABS1	ABS2	ABS3	Média	CSR% 1	CSR% 2	CSR% 3	CSR média%	DP	IC_{50} µg/mL	R
1	0,565	0,55	0,555	0,557	2,08	4,67	3,81	3,52	0,60	9,23	0,9227
5	0,389	0,383	0,38	0,384	32,58	33,62	34,14	33,44	0,36		
10	0,219	0,222	0,235	0,225	62,04	61,52	59,27	60,94	1,17		
15	0,165	0,165	0,141	0,157	71,40	71,40	75,56	72,79	2,11		
20	0,129	0,128	0,131	0,129	77,64	77,81	77,29	77,58	0,26		
25	0,108	0,103	0,112	0,108	81,28	82,14	80,58	81,34	0,78		

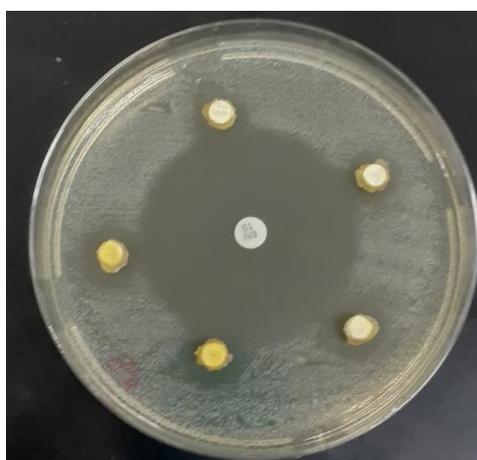
Fonte: Autor, 2023.

5.2 Caracterização das formulações de cimento de ionômero de vidro enriquecidas com própolis vermelha de Alagoas

5.2.1 Determinação da atividade antibacteriana por difusão

As formulações de ionômeros enriquecidas com própolis nas concentrações de 1 e 2 % ficaram demasiadamente escuras, comprometendo a função estética necessária de simulação de material restaurador e, por esse motivo, não foram utilizadas nos ensaios de caracterização. A formulação 0,5 % apresentou halo de inibição de 13,2 mm ($\pm 1,64$) em relação a cepa de *Streptococcus mutans* CCT 3440, conforme apresentado na Figura 10. Almeida et al., 2017 avaliaram a atividade antibacteriana do extrato hidroalcolólico e do extrato clorofórmico de uma amostra própolis vermelha de Alagoas coletadas em abril de 2012 na cidade de Marechal Deodoro, Alagoas, Brasil frente a bactéria *Staphylococcus aureus*. Os autores observaram que o halo de inibição para o extrato hidroalcolólico na concentração de 400 $\mu\text{g/mL}$ foi de 10 mm, enquanto o halo de inibição para o extrato clorofórmico na mesma concentração foi de 12 mm (ALMEIDA et al., 2017). Os resultados observados por Almeida et al., 2017 corroboram com os achados deste trabalho. Apesar das bactérias serem diferentes, as duas cepas são Gram positivas, logo, mais sensíveis aos extratos de própolis. Sabe-se que as bactérias Gram negativas são mais resistentes aos extratos de própolis. Nesse sentido, a formulação de ionômero enriquecida com extrato hexânico de própolis vermelha se mostrou promissora ao apresentar atividade contra o *S. mutans*.

Figura 10 – Atividade do ionômero enriquecido pelo método de difusão em agar contra *Streptococcus mutans*.

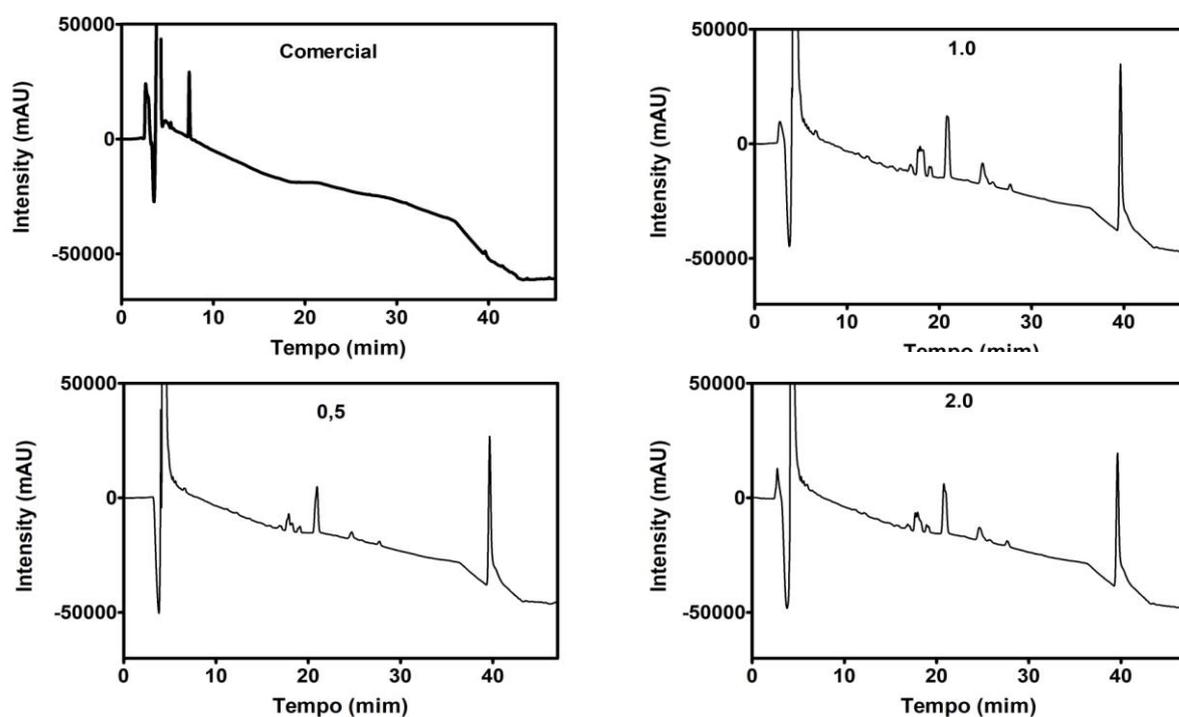


Fonte: Autor, 2023.

5.2.2 Determinação da liberação do extrato hexânico de própolis a partir do ionômero enriquecido com PVA.

Foi possível observar que as formulações enriquecidas com extrato hexânico de própolis vermelha de Alagoas foram capazes de liberar flavonoides presentes no extrato, conforme Figura 11. Os compostos identificados foram: daidzeína, liquiritigenina, pinobanksina, isoliquiritigenina e formononetina. A liberação desses compostos em meio aquoso a partir das formulações de ionômero enriquecidas explica a atividade antibacteriana observada por difusão em ágar. Os compostos identificados são característicos da própolis vermelha de Alagoas. No perfil de liberação do ionômero comercial não foi possível observar os picos dos constituintes da própolis vermelha de Alagoas. Por outro lado, os perfis apresentados na Figura 11 não permitem correlacionar a concentração de PVA no substrato com as alturas de picos ou áreas integradas sob as curvas. Evidencia-se aqui que a liberação não depende da concentração de PVA, mas provavelmente da superfície exposta do corpo de prova.

Figura 11 – Perfil de liberação dos ionômeros enriquecidos com extrato hexânico via CLAE.



Fonte: Autor, 2023.

5.2.3 Microdureza Knoop (KHN)

Os valores médios e de desvio padrão de dureza superficial para os grupos estão representados na Tabela 10. Os resultados mostraram que foi observada diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre os materiais estudados após ANOVA One-way.

Tabela 10 – Média ($\pm DP$) da microdureza (KHN) para os diferentes materiais testados.

Material	Microdureza Knoop (KHN)
CIV	50.5 \pm 1,58 C
0,5%	66.5 \pm 2,49 A
2%	78.3 \pm 4.43 B

Fonte: Autor, 2023.

Os cimentos de Ionômero de Vidro (CIV) são amplamente utilizados na Odontologia, e isso se deve primordialmente às suas propriedades, como a capacidade de absorver e liberar flúor, coeficiente de expansão térmica linear semelhante ao dente, biocompatibilidade, e uma boa adesão aos substratos dentais (NICHOLSON et al 2016).

A capacidade de um material resistir às forças da mastigação é uma das propriedades fundamentais, visto que isto está relacionado à manutenção deste na cavidade oral, sem sofrer fraturas. Em virtude disso, para avaliar se a própolis vermelha adicionada ao CIV resultaria em um material viável para uso, o teste de Microdureza Knoop (KHN) foi o método escolhido para a análise das amostras do grupo controle, e do grupo com as concentrações diferentes de extrato hexânico de própolis + CIV.

Os resultados obtidos neste estudo se mostraram superiores à média de valores normais de Dureza Knoop (KHN) – sendo o valor mínimo de dureza para os cimentos de ionômero de vidro restauradores igual a 48 KHN (RAGGIO, 2004). Em nosso estudo os grupos associados à própolis, apresentaram resistência à compressão superior ao grupo controle. Estes achados corroboram com os de ALTUNSOY et al 2016 que relata que o avanço da microdureza dos espécimes CIV adicionados de extrato de própolis pode ser resultado da combinação de moléculas CIV e EEP (extrato

etanólico de própolis). Muitos compostos fenólicos estão presentes no EEP. O aumento na microdureza superficial do EEP adicionado ao CIV pode ser devido à alta atividade do EEP, como resultado, o aumento das ligações cruzadas.

Em contrapartida, no estudo de SUBRAMANIAM et al 2017 a diferença entre os resultados de força compressiva do grupo controle e do grupo experimental acrescido de própolis foi estatisticamente significativa, exibindo uma perda significativa na capacidade de resistir às forças. Foi atribuído a isto uma possível interferência da própolis na reação entre as partículas de vidro e o ácido poliacrílico, aumentando o número de partículas não reagentes na estrutura. Diante do que foi apresentado, os resultados mostraram que a associação do CIV com o extrato hexânico aqui utilizado não alterou as propriedades mecânicas do material, e no outro, a adição do extrato de própolis ocasionou numa perda da capacidade do CIV de resistir a forças de compressão. Isso possivelmente deve-se ao fato de a presença do extrato de própolis resultar em partículas não reagentes (SUBRAMANIAM et al 2017), tornando o material mais vulnerável, além de as diferentes concentrações de extrato utilizadas nos diferentes estudos – incluindo este – poderem ter alguma influência. Além disso, a própolis produz uma coloração amarelada (FERREIRA & REGO 2006), podendo alterar a cor do cimento de ionômero de vidro, afetando negativamente a estética quando usado na região anterior (ALTUNSOY et al 2016), e a presença do solvente altera a viscosidade do material (FERREIRA & REGO 2006), tornando-o mais fluido e aumentando seu tempo de presa e, conseqüentemente, de trabalho (HATUNOG˘LU et al 2014).

5.2.4 Rugosidade superficial

Os resultados obtidos estão representados na Tabela 11, onde se observa valores médios e de desvio padrão de rugosidade superficial para os grupos com valores distintos. Os resultados mostraram que foi observada diferença entre os materiais estudados quando comparados ao de 2%. A concentração de 0,5% apresentou padrão de rugosidade superficial igual ao grupo controle, mostrando que a inclusão de extrato hexânico da própolis vermelha, em concentrações menores, não alteram a rugosidade de superfície do material.

Tabela 11 – Média ($\pm DP$) da rugosidade (μm) para os diferentes materiais testados.

Material	Rugosidade (μm)
CIV	0,484 \pm 0.225 A
0,5%	0,382 \pm 0.220 A
2%	0,898 \pm 0.566 B

Fonte: Autor, 2023

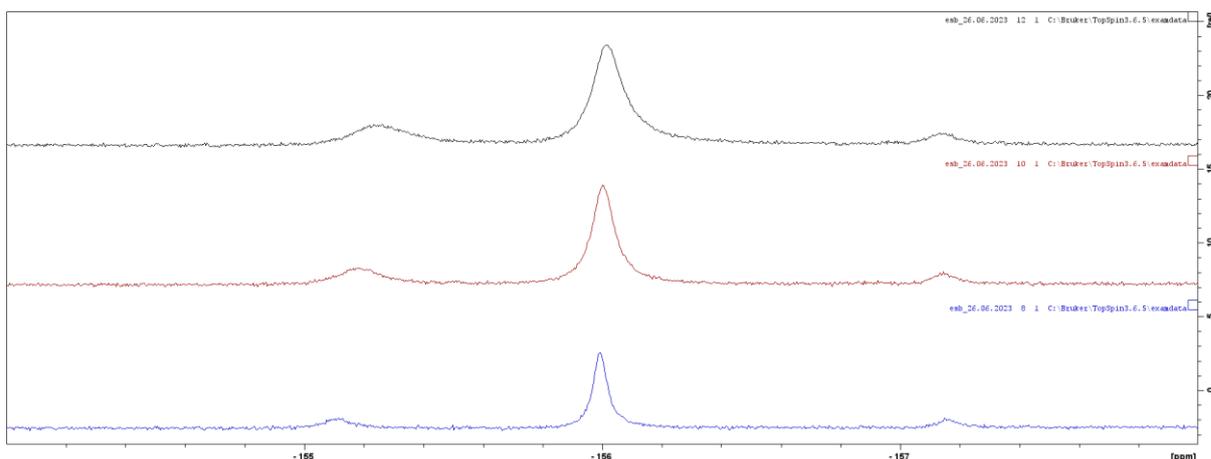
Tal resultado encontra respaldo nos resultados de Oliveira et al. 2013 e em Miličević et al. 2018. Bollen *et al.* em 1997, relataram que a rugosidade superficial crítica (Ra) para colonização bacteriana é de 0,2 μm . O acúmulo bacteriano, a maturação da placa e a acidez aumentam significativamente quando a rugosidade superficial ultrapassa 0,2 μm , o que atua nas superfícies dos materiais, aumentando assim o risco de cárie (Bollen *et al.* 1996). No entanto, os CIV compensam parcialmente a liberação anticárie de flúor que é incorporado à rede de hidroxiapatita e retardam os processos de desmineralização e contribuem para o processo de remineralização (Weidlich et al. 2000). A presença de extrato de própolis no ionômero proposto neste trabalho é mais um fator positivo, além da presença convencional de fluoreto, para o impedimento da colonização da superfície do material por bactérias, pois, como demonstrado, o material apresentou atividade antibacteriana contra *Streptococcus mutans*.

5.2.5 Determinação do perfil de liberação de fluoreto por RMN

Os espectros de RMN F19 foram ampliados entre -130 a -170 ppm, para uma melhor visualização dos sinais de flúor. Foi possível observar a liberação de fluoreto para o meio, uma vez que os espectros dos sobrenadantes apresentaram sinal de flúor (Figuras 12, 13, 14, e 15). Não foram encontrados estudos na literatura que demonstrem a liberação de fluoreto de cálcio a partir de cimento de ionômero de vidro através da técnica de RMN. Esse tipo de estudo é geralmente realizado em fluorímetro (NEELAKANTAN et al., 2011). Contudo, os resultados dos ensaios, demonstraram que foi possível observar que as massas semelhantes apresentam sinais gráficos compatível de proporcionalidade, inclusive, quando da diluição do sobrenadante nas proporções de: 1:5, 2:4, 3:3, tanto para o CIV, quanto para CIVP, verificou - se a similaridade dos espectros, diretamente proporcional ao aumento da

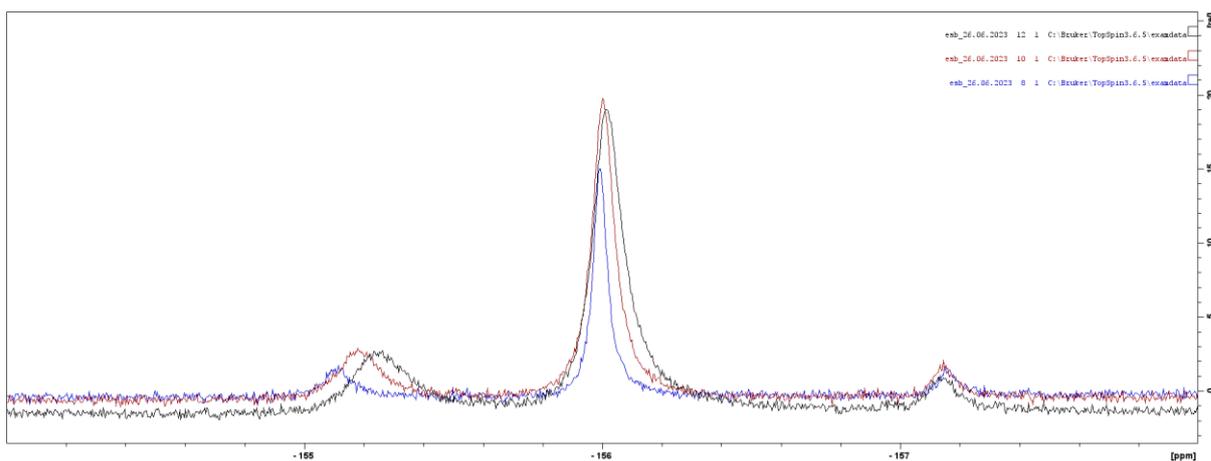
concentração e aumento das massas. Fez-se necessário a condução de ensaio de determinação da liberação de fluoreto de cálcio por meio da técnica de fluorimetria, objetivando confirmar os resultados aqui encontrados, face a inediticidade do uso da técnica de RMN para detecção de flúor livre em materiais odontológicos.

Figura 12 – Sobreposição de três espectro de RMN-¹⁹F referentes à liberação de fluoreto a partir da formulação de CIV. (1:5 azul), (2:4 rosa), (3:3 marrom).



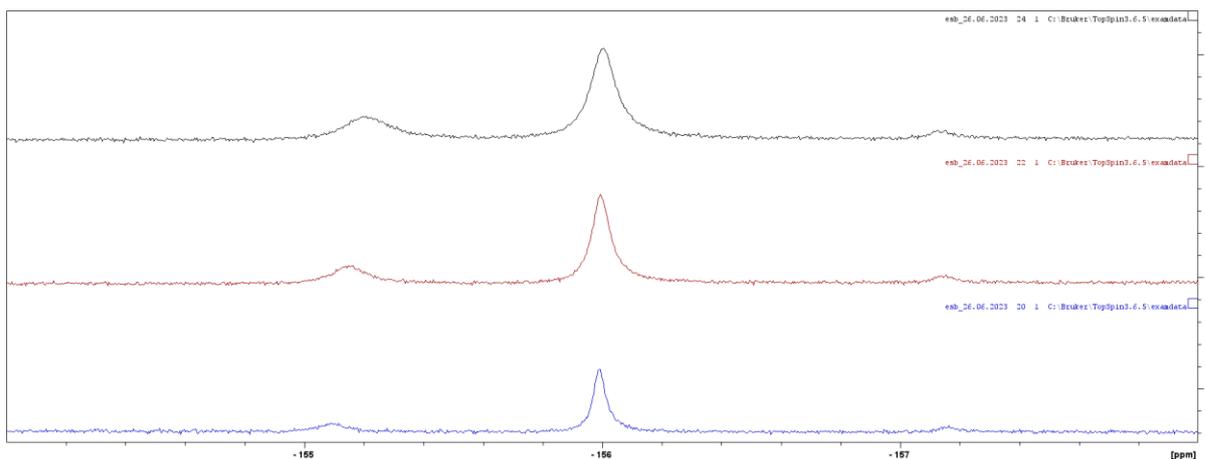
Fonte: Autor 2023.

Figura 13 – Sobreposição de três espectro de RMN-¹⁹F referentes à liberação de fluoreto a partir da formulação de CIV. 73,48 mg. (1:5 azul), (2:4 rosa), (3:3marrom).



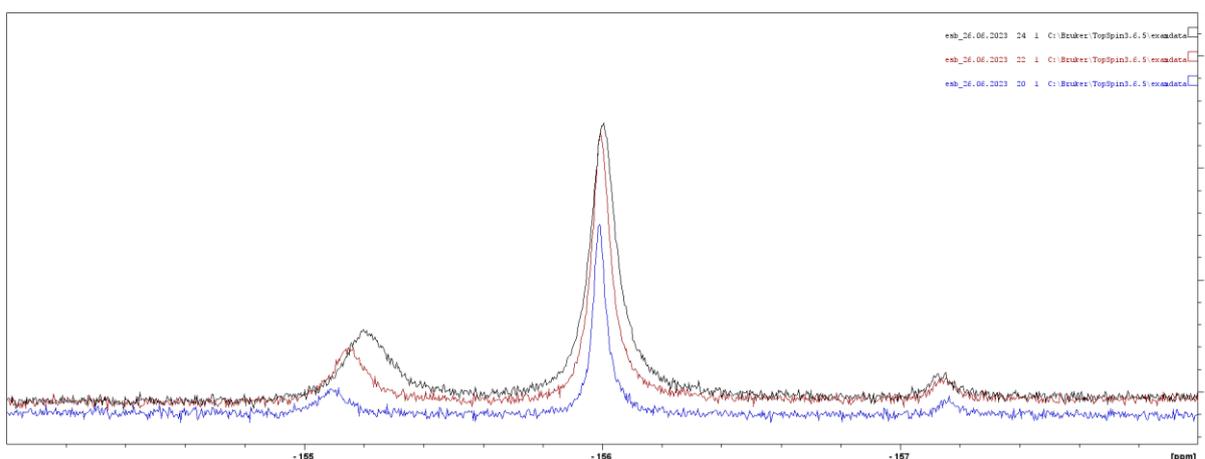
Fonte: Autor 2023.

Figura 14 – Sobreposição de três espectro de RMN-¹⁹F referentes à liberação de fluoreto a partir da formulação de CIV enriquecido com PVA 74,27 mg. (1:5 azul), (2:4 rosa), (3:3 marrom).



Fonte: Autor 2023.

Figura 15 – Sobreposição de três espectro de RMN- ^{19}F referentes à liberação de fluoreto a partir da formulação de CIV enriquecido com PVA 74,27 mg. (1:5 azul), (2:4 rosa), (3:3 marrom).



Fonte: Autor 2023.

5.2.6 Determinação do perfil de liberação de fluoreto por fluorimetria

A partir da curva de calibração do fluoreto (Tabela 12 e Figura 16), foi possível determinar a liberação de fluoreto para as amostras de CIV comercial e CIVP 0,5 %. Conforme a Tabela 13 e a Figura 17, o CIV comercial apresentou liberação de 67,32 ($\pm 7,21$) $\mu\text{g F}^-/\text{mL}$ enquanto CIVP 0,5 % apresentou liberação de 75,53 ($\pm 7,39$) $\mu\text{g F}^-/\text{mL}$. O teste Man-Whitney realizado para comparar os dois grupos demonstrou que não houve diferença estatística significativa entre eles ($p = 0,2$). A amostra CIVP 0,5 % se apresenta promissora pois, além de demonstrar atividade antibacteriana contra *S mutans*, possui o mesmo nível de liberação de fluoreto que o cimento de ionômero

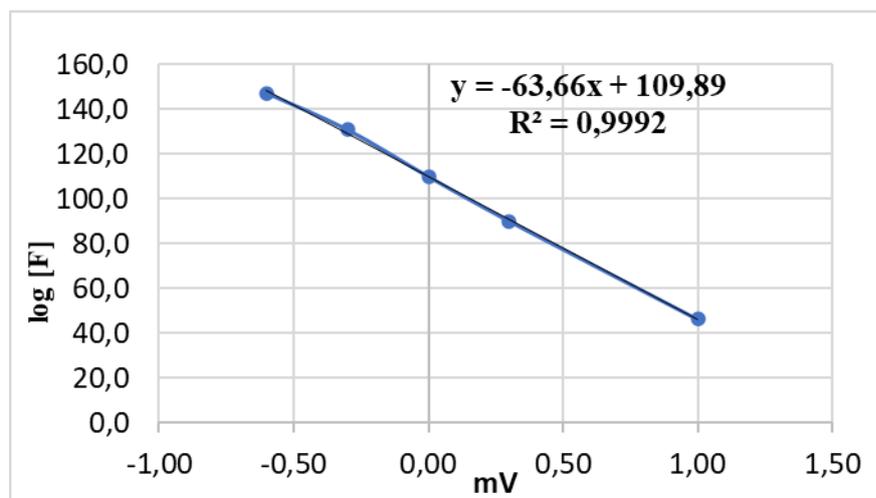
de vidro comercial. Sabe-se que a intencionalidade clínica do uso CIV é justamente a liberação de fluoreto sobre a superfície da cavitação. Sabe-se que esse material atua como reservatório de fluoreto, pois após a liberação do seu conteúdo original, é capaz de captar fluoreto proveniente da escovação com dentrífcio fluoretado e/ou colutórios fluoretados, promovendo trocas iônicas mantendo sua capacidade de liberação de fluoretos. Esse ciclo se mantém durante a vida útil do material. Esse mecanismo de ação do material é de extrema importância para a promoção da remineralização dos tecidos remanescentes na cavidade.

Tabela 12 – Curva de calibração do padrão de fluoreto

Conc. Padrão	mL do	mL de	Conc. da			Intercep.	log F	µg F	
µg F / mL	Padrão	Tisab II	µg F / mL	log F	mv	1,7248	calc.	calc.	C.V. %
0,125	1,0	1,0	0,125	-0,9031	163,4		-0,8960	0,127	1,66
0,250	1,0	1,0	0,250	-0,6021	147,1	Inclinação	-0,6345	0,232	-7,20
0,500	1,0	1,0	0,500	-0,3010	130,8	-0,01604	-0,3731	0,424	####
1,000	1,0	1,0	1,000	0,0000	109,9	RQuad	-0,0379	0,917	-8,35
2,000	1,0	1,0	2,000	0,3010	90,0		0,2813	1,911	-4,44
10,000	1,0	1,0	10,000	1,0000	46,3	0,9985	0,9822	9,599	-4,01
						Slope			

Fonte: Autor, 2023.

Figura 16 – Curva de calibração do fluoreto.



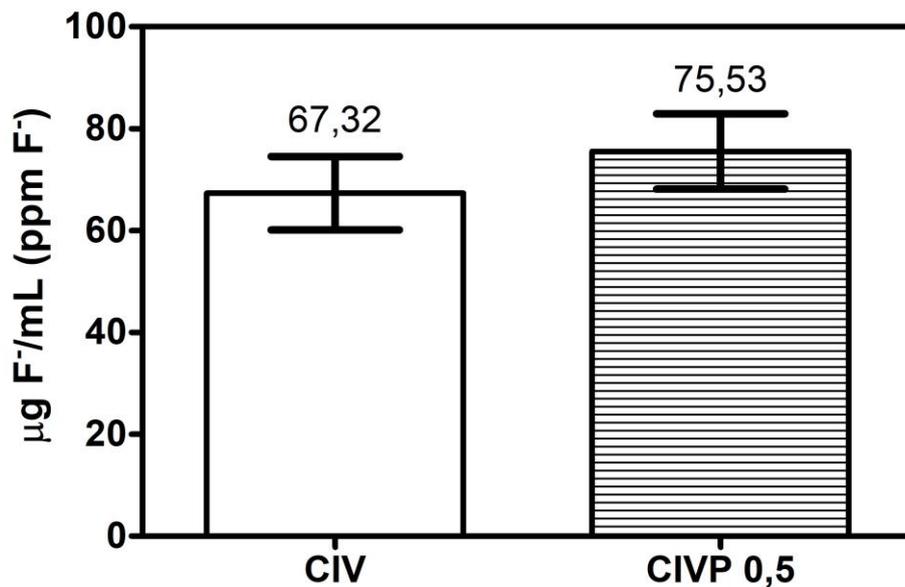
Fonte: Autor, 2023.

Tabela 13 – Análise de liberação de fluoreto a partir das amostras de CIVP e CIV.

Amosta	mv	log F calc.	[Mistura]		Diluição TISAB	Diluição Amostra	Média amostra	Média $\mu\text{g F/mL}$	dp	Cv%
			$\mu\text{g F calc.}$	$\mu\text{g F/mL}$						
CIV 1	12,5	1,5244	33,447	33,447	2	1	66,89			
CIV 2	9,5	1,5725	37,366	37,366	2	1	74,73			
CIV 3	15,3	1,4794	30,161	30,161	2	1	60,32	67,32	7,21	10,7
CIV + P 1	7,3	1,6078	40,528	40,528	2	1	81,06			
CIV + P 2	8,2	1,5933	39,203	39,203	2	1	78,41			
CIV + P 3	12,4	1,5260	33,570	33,570	2	1	67,14	75,53	7,39	9,8

Fonte: Autor, 2023.

Figura 17 – Liberação de fluoreto por fluorimetria das amostras CIVP 0,5 % e CIV comercial.



Fonte: Autor, 2023.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O extrato hexânico de própolis apresentou alto teor de flavonoides totais e de fenóis totais, e capacidade do sequestro do radical DPPH. O perfil cromatográfico do extrato hexânico demonstrou a presença dos marcadores da própolis vermelha de Alagoas liquiritigenina, daidzeína, pinocembrina, isoliquiritigenina, formononetina, biochanina A e pinobanksina.

Foi possível desenvolver e caracterizar três formulações de cimento de ionômero de vidro enriquecidos com própolis vermelha de Alagoas (CIVPs). A formulação CIVP 0,5 % demonstrou atividade antibacteriana contra *Streptococcus mutans* CCT 3440 por difusão, sugerindo que a mesma possui capacidade de liberar o extrato de própolis para o meio. O perfil de liberação de própolis a partir da formulação CIVP 0,5 % confirmou a liberação de própolis a partir da formulação de ionômero enriquecida, através dessa determinação foi possível observar a liberação dos flavonoides marcadores da própolis em meio aquoso.

A determinação da liberação de fluoreto através da técnica de RMN sugere a liberação desse íon a partir da formulação enriquecida, de forma qualitativa. Na fluorimetria, observou-se resultados promissores, onde a liberação de fluoretos nas amostras do CIVP a 0,5% apresentou resultados semelhantes aos das amostras do CIV comercial utilizados como controle. Ou seja, a presença do extrato hexânico de PVA não afeta a liberação de flúor pelo CIV.

Em relação à caracterização mecânica, os resultados dos grupos associados à própolis, apresentaram resistência à compressão superior ao grupo controle. Quanto à rugosidade, foi possível que o CIVP 0,5 % apresentou mesma rugosidade superficial que o grupo CIV comercial, indicando que essa concentração de própolis adicionada não interfere na rugosidade superficial.

A busca por um material odontológico ideal para o combate a cárie dentária não tem sido fácil, porém o aprimoramento dos materiais restauradores, combinados com a diversidade de produtos naturais, alimentam as esperanças de num futuro próximo poderemos alcançar esse objetivo.

Em suma, a adição de própolis vermelha de Alagoas, a partir do extrato

hexânico utilizado permite a agregação de todas as atividades biológicas já atribuídas à PVA, dentre elas, as fungicidas, bactericidas, cicatrizantes, entre outras, mas de outro lado, mantem a integridade mecânica necessária para o correto uso do CIV, já que os testes de microdureza, rugosidade superficial e de liberação de fluoreto não são afetados pela presença do extrato. Assim, põe-se o extrato hexânico de PVA como um poderoso aliado do cirurgião dentista, incrementando as prolatadas propriedades mecânicas do CIV com propriedades farmacêuticas até então inéditas em produtos odontológicos de origem natural.

Os resultados aqui apresentados apontam que o uso do CIVP pode permitir o desenvolvimento e resultados muito mais favoráveis no combate as lesões de caries e nos insucessos das restaurações através de técnicas efetivas e minimamente invasivas.

REFERÊNCIAS

ABREU, R. A., & REIS, A., **Infiltração marginal em dentes restaurados**: revisão de literatura. *Revista Sul-Brasileira de Odontologia*, 7(2), 237-242, 2010.

ADA, American Dental Association. 2019. **Dental Caries (Tooth Decay)**. Recuperado. https://www.ada.org/~media/ADA/Publications/Files/ADA_PatientSmart_Caries.ashx. 2023.

ALTUNSOY, M., TANRIVER, M., TÜRKAN, U., USLU, ME, & SILICI, S. (2016). **Avaliação in vitro da microinfiltração e microdureza de extratos etanólicos de própolis em diferentes proporções adicionados ao cimento de ionômero de vidro**. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 40 (2), 136-140.

ALMEIDA, JRMD, MEDEIROS, TCD, ARAÚJO, DFGD, CALDAS, SGFR, & GALVÃO, MR (2017). **Avaliação de rugosidade, dureza e superfície dos cimentos de ionômero de vidro após diferentes sistemas de acabamento e polimento**. *Revista de Odontologia da UNESP*, 46, 330-335.

ANDRADE, J. K. S.; DENADAI, M.; OLIVEIRA, C. S.; NUNES, M. L.; NARAIN, N. **Evaluation of Bioactive Compounds Potential and Antioxidant Activity of Brown, Green and Red Propolis from Brazilian Northeast Region**. *Food Research International*, v. 101, n. 1, p. 129-138, 2017

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – **Resolução RDC Nº 166. 24 de julho de 2017**. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos. Diário Oficial da União. 25 jul. 2017.

BANERJEE, A.; WATSON, T.F.; KIDD, E.A. **Dentine caries excavation**: a review of current clinical techniques. *Br. Den. J.* 2000, 188(9);476-82.

BARATIERI, LN, NETTO JC, NAVARRO MFL. **Cimentos de ionômero de vidro I composição, reação de presa, tipos e principais características**. *OM* 1986; 13: 20-5.

BEAL, J.F.; JAMES, P.M.; BRADNOCK, G.; ANDERSON, R.J.; **The relationship between dental cleanliness, dental caries incidence and gingival health. A longitudinal study**. *Br. Dent. J.* 1979; 146(4):111-4.

BERTOLINI, P.F.R. et al. **Antimicrobial capacity of Aloe vera and propolis dentifrice against Streptococcus mutans strains in toothbrushes**: an in vitro study. *J Appl Oral Sci.* 2010.

BLACK, G. V. *Operative Dentistry*. CHICAGO: Medico Dental, 1908.

BOECKH, C. et al. **Antibacterial activity os restorative dental biomaterials in vitro**. *Caries Res.* v.36, p.101-107, 2002.

BOLLEN CM, PAPAIOANNO W, VAN ELDERE J, SCHEPERS E, QUIRYNEN M, VAN STEENBERGHE D. **A influência da rugosidade da superfície do pilar no acúmulo de placa e na mucosite peri-implantar**. *Clin Implantas Orais Res* . 1996. Setembro; 7 (3)

BOLLEN CML, LAMBRECHTS P, QUIRYNEN M. **Comparação da rugosidade superficial de materiais duros orais com a rugosidade superficial limiar para retenção de placa bacteriana: uma revisão da literatura.** *Dente Mater.* 1997. julho; 13 (4):258–69.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. MAPA. **Instrução Normativa MAPA nº 9**, de 01 de janeiro de 2001, aprova os regulamentos técnicos de identidade e qualidade de apitoxina, cera de abelha, geleia real, geleia real liofilizada, pólen apícola, própolis e extrato de própolis.

BRATTHALL, D. & HÄNSEL PETERSSON, G. **Cariogram** — a multifactorial risk assessment model for a multifactorial disease. *Community Dent. Oral Epidemiol.* 33, 256–264 (2005).

BUDTZ – JÖRGENSEN E. **Etiology, pathogenesis**, Therapy, and prophylaxis of oral yeast infections. *Acta Odontol Scand.*;48(1):61-9, 1990.

BUSSADORI SK, RIBEIRO PC, DOS SANTOS EM, RAGGIO DP, GUEDES-PINTO AC. **Avaliação da reação de presa dos cimentos de ionômero de vidro.** *J Bras Odontopediatria Odontol Bebê.* 2003;6(33):405.

Carey CM, Coleman SS. **Method for the analysis of total fluoride in fluoride-releasing dental varnishes.** *Caries Res.* 2014;48(4):306-11. doi: 10.1159/000355613. PMID: 24557443; PMCID: PMC5017202.

CARVALHO RM. **Revista de dentística restauradora.** Bauru SP: Editora CEOB; 1998.

CASTALDO S, CAPASSO F. **Propolis, an old remedy used in modern medicine.** *Fitoterapia*; 2002; 1: S1-S6.

CHANDLER NP, HELING I. **Efficacy of three cavity liners in eliminating bacteria from infected dentinal tubules.** *Quintessence Int.* 1995; 26:655-9.

Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI). **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically**; Approved Standard. USA, n.2, v.32, M07-A9, 2012

DA CRUZ ALMEIDA, E. T.; DA SILVA, M. C. D.; OLIVEIRA, J.M.S.; KAMIYA, R.U.; ARRUDA, R.E.S.; VIEIRA, D.A.; SILVA, V.C.; ESCODRO, P.B.; BASÍLIO-JÚNIOR, I.D.; DO NASCIMENTO, T. G. **Chemical and microbiological characterization of tinctures and microcapsules loaded with Brazilian red propolis extract.** *Journal of Pharmaceutical Analysis*, vol. 7, no. 5, p. 280–287, 2017. DOI 10.1016/j.jpha.2017.03.004. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpha.2017.03.004>.

DAUGSCH, A.; MORAES, C. S.; FORT, P.; PARK, Y. K. **Brazilian red propolis - Chemical composition and botanical origin.** *Evidence Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 5, no. 4, p. 435–441, 2008. <https://doi.org/10.1093/ecam/nem057>.

DE AMORIM RG, LEAL SC, FRENCKEN JE. **Survival of atraumatic restorative**

treatment (ART) sealants and restorations: a meta-analysis. Clin Oral Investig. 2012;16(2):429-41.

DE AMORIM RG, LEAL SC, MULDER J, CREUGERS NH, FRENCKEN JE. **Amalgam and ART restorations in children:** a controlled clinical trial. Clin Oral Investig. 2014;18(1):117-24.

DE AMORIM RG, FRENCKEN JE, RAGGIO DP, CHEN X, HU X, LEAL SC. **Survival percentages of atraumatic restorative treatment (ART) restorations and sealants in posterior teeth:** an updated systematic review and meta-analysis. Clin Oral Investig 2018; 22:2703-25. DOI.ORG/10.1007/S00784-018-2625-5.

DE A SILVA MF, DAVIES RM, STEWART B, DEVIZIO W, TONHOLO J, DA SILVA JÚNIOR JG, PRETTY IA. **Effect of whitening gels on the surface roughness of restorative materials in situ.** Dent Mater. 2006;22(10):919-924. <http://dx.doi.org/10.1016/j.dental.2005.11.029> » <https://doi.org/10.1016/j.dental.2005.11.029>

DE LUCA, M.P. et al. **Propolis Varnish:** Antimicrobial Properties against Cariogenic Bacteria, Cytotoxicity, and Sustained-Release Profile. Biomed. Res.Int. p.1–6. 2014. doi: 10.1155/2014/348647

DE MENDONÇA, ICG et al. **Brazilian red propolis:** phytochemical screening, antioxidant activity and effect against cancer cells. BMC complementary and alternative medicine, vol. 15, p. 357, Oct. 2015. <https://doi.org/10.1186/s12906-015-0888-9>.

DOLAN TA. Et al. **Risk indication of edentulismo.** Partial tooth loss and prosthetic status among black and White middle aged and older adults. Community Dent Oral Epidemiol. 29: 329-40, 2001.

DO NASCIMENTO, T.G. et al. **Comprehensive multivariate correlations between climatic effect, metabolite-profile, antioxidant capacity and antibacterial activity of Brazilian red propolis metabolites during seasonal study.** Scientific Reports, vol. 9:18293, 2019. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-54591-3>.

FEJERSKOV, O.; NYVAD, B. **Is dental caries an infections disease?** Diagnostic and treatment consequences for the practitioner; in Schou L (ed): Nordic Dentistry 2003 Yearbook. Copenhagen, Quintessence Publishing, p. 141-151, 2003

FEJERSKOV, O.; KIDD, E.; NYVAD, B.; BAELUM, V. **Defining the disease:** an introduction. In: Fejerskov, O.; Kidd, E., editors. Dental caries. The disease and its clinical management. Oxford: Blackwell Munksgaard; 2008. p. 3-6

FEJERSKOV O., NYVAD B., KIDD E., **Cárie Dentária, fisiopatologia e tratamento.** Tradução Ana Júlia Perrotti-Garcia. - 3ª. Ed. – Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017; 404 p.

FERREIRA HC, REGO MA. **Avaliação in vitro de propriedades físico-químicas de cimentos de ionômero de vidro convencionais, após adição de própolis e antibióticos.** Cienc Odontol Bras jan. /mar.; 9 (1): 38-46, 2006.

FREIRES, I. A. et al. **A pharmacological perspective on the use of Brazilian Red**

Propolis and its isolated compounds against human diseases. European Journal of Medicinal Chemistry, vol. 110, p. 267–279, 2016a. DOI 10.1016/j.ejmech.2016.01.033. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.01.033>.

FRENCKEN JE. **The state-of-the-art of ART restorations.** Dent Update. 2014; 41(3):218-20, 222-4.

FROZZA, C.O.S et al. **Chemical characterization, antioxidant and cytotoxic activities of Brazilian red propolis.** Food and Chemical Toxicology. v. 52, p. 137–142, 2013.

FUSAYAMA, T. **Two layers of carious dentin:** diagnosis and treatment. Oper Dent. 1979; 4(2):63-70.

GBD 2017 Oral Disorders Collaborators; BERNABE E, MARCENES W, HERNANDEZ CR, BAILEY J, ABREU LG et al. **Global, regional, and national levels and trends in burden of oral conditions from 1990 to 2017:** a systematic analysis for the Global Burden of Disease 2017 study. J Dent Res. 2020; 99(4):362–73. doi: 10.1177/0022034520908533.

GERALDINI CAC, SALGADO EGC, RODE SM. **Ação de diferentes soluções de própolis na superfície dentinária** – avaliação ultra-estrutural. Revista da Faculdade de Odontologia São José dos Campos 2000; 3(2):37-42

GLOBAL burden of disease 2019 (GBD 2019) results [online database]. Seattle: Institute of Health Metrics and Evaluation (IHME); 2020 (<https://vizhub.healthdata.org/gbd-results/>, accessed 14 November 2022).

GONZÁLEZ-SERRANO, J. et al. **Short-term Efficacy of a Gel Containing Propolis Extract, Nanovitamin C and Nanovitamin E on Peri-Implant Mucositis:** A Double Blind, Randomized, Clinical Trial. J. Periodont Res. v. 56, p. 897–906, 2021. doi:10.1111/jre.12886.

GRÉGIO, A. M. T. et al. **Efeito da própolis mellifera sobre o processo de reparo de lesões ulceradas na mucosa bucal de ratos.** Estud. Biolog. v. 27, n. 58, p. 43-47, 2005.

GUEDES-PINTO, A. C. et al. **Dental caries in children:** a comprehensive approach to a multifactorial disease. Eur J Pediatr Dent. 2019, Mar; 20(1):65-70.

HATUNOG˘LU E, ÖZTÜRK F, BILENLER T, AKSAKALLI S, S˘IMS˘EKE N. **Antibacterial and mechanical properties of propolis added to glass ionomer cement.** Angle Orthodontist, Vol 84, No 2, 2014.

HOLMGREN CJ, LO EC, HU D. **Glass ionomer ART sealants in Chinese school children-6year results.** J Dent. 2013; 41(9):764-70.

HUNG HC, COLDITZ G, JOSHIPURA KJ. **The association between tooth loss and the self-reported intake of selected CVD-related nutrients and foods among US women.** Community Dent Oral Epidemiol. 33: 167-73, 2005.

JACCOB, A. **The effects of Malaysian propolis and Brazilian red propolis on connective tissue fibroblasts in the wound healing process.** BMC Complementary and Alternative Medicine. v.15:1, p.1-10, 2015.

KASSEBAUM NJ, BERNABÉ E, DAHIYA M, BHANDARI B, MURRAY CJ, MARCENES W. **Global burden of untreated caries: a systematic review and met regression.** J Dent Res. 2015; 94(5):650–8. doi:10.1177/0022034515573272.

KIDD, E. & FEJERSKOV, O. **Changing concepts in cariology: forty years on.** Dent. Update 40, 277–286 (2013).

LINDON J.C., **Reference Module in Chemistry**, Molecular Sciences and Chemical Engineering 19F NMR Spectroscopy, Imperial College London, London, United Kingdom, 2016 Elsevier, 1-11.

MACHIULSKIENE, V. et al, **Terminology of Dental Caries and Dental Caries Management: Consensus Report of a Workshop Organized by ORCA and Cariology Research Group of IADR.** Caries research, v. 54, n. 1, p. 7 – 14, 2020.

MACOY RB. **Bases, liners, and varnishes update.** Oper Dent 1995; 20:216

MALTZ, M.; JARDIM, J. J.; ALVES, L. S. **Selamento de lesões de cárie versus tratamento restaurador convencional.** In: BUSATO, A. L.; MALTZ, M. Cariologia: aspectos de dentística restauradora. São Paulo: Artes Médicas, 2014. P.23-32.

MANARA LRB, GROMATZKY A, CONDE MC, BRETZ WA 1999. **Utilização da própolis em odontologia.** Rev FOB 7: 15-20

MANJI, F.; FEJERSKOV, O. **Dental caries in developing countries in relation to the appropriate use of fluoride.** J Dent Res., n. 69, p. 733-741, discussion 820-823, 1990.

MARKOVIĆ D, PETROVIĆ B, PERIĆ T, BLAGOJEVIĆ D. **Microleakage, adaptation ability and clinical efficacy of two fluoride releasing fissure sealants.** Vojnosanit Pregl. 2012 Apr;69(4):320-5. PMID: 22624423

MEJÀRE, I, MJÖR, IA. **Glass ionomer and resin-based fissure sealants: a clinical study.** Scand J Dent Res. 1990 Aug; 98(4):345-50. doi: 10.1111/j.1600-0722.1990.tb00983.x.

MEYER-LUECKEL, H., BITTER, K. & PARIS, S. **Randomized controlled clinical trial on proximal caries infiltration: three-year follow-up.** Caries Res. 46, 544

MICKENAUTSCH S, YENGOPAL V. **Caries-Preventive Effect of High-Viscosity Glass Ionomer and Resin-Based Fissure Sealants on Permanent Teeth: A Systematic Review of Clinical Trials.** PLoS One. 2016. 11(1):e0146512.

MICKENAUTSCH S. **Are high-viscosity glass-ionomer cements inferior to silver amalgam as restorative materials for permanent posterior teeth? A Bayesian analysis.** BMC Oral Health. 2015. Oct; 15(1):118.

MILIČEVIĆ A, GORŠETA K, VAN DUINEN RN, GLAVINA D. **Surface Roughness of**

Glass Ionomer Cements after Application of Different Polishing Techniques. Acta Stomatol Croat. 2018 Dec;52(4):314-321. doi: 10.15644/asc52/4/5. PMID: 30666062; PMCID: PMC6336453.

MONDELLI J. **Proteção do complexo dentinopulpar.** Artes Médicas: São Paulo, 1998.

MUSACCHIO E, PERISSINOTTO E, BINOTO P, SARTORI L, SILVA-NETTO F, ZAMBON S, et al. **Tooth loss in the elderly and its Association with nutritional status, sócio-economic and lifestyle factors.** Acta Odontol Scand.; 65:78-86, 2007.

NASCIMENTO, T.G. et al. **Comprehensive multivariate correlations between climatic effect, metabolite-profile, antioxidant capacity and antibacterial activity of Brazilian red propolis metabolites during seasonal study.** Scientific Reports. 9:18293, 2019.

NAYAK, P. A., & NAYAK, U. A. **Dental caries:** etiology, clinical characteristics, risk assessment and management - A review. Oral and Maxillofacial Pathology Journal,9(3),1-6.2018. https://www.researchgate.net/publication/327974149_Dental_caries_etiology_clinicalcharacteristics_risk_assessment_and_management_-_A_review.

NAZZAL H., RICKETTS D., **Chronic Caries:** From Diagnosis to Management, International Journal of Pediatric Dentistry, Volume 29, Issue 3, Pages 264-272, ISSN 1365-263X, 2019. <https://doi.org/10.1111/ipd.12457>.

NEELAKANTAN, P. et al. **Fluoride Release From a New Glass-ionomer Cement.** Operative Dentistry, 36-1, 2011, p. 80-85.

NICHOLSON JW. **Chemistry of glass-ionomer cements:** a review. Biomater 1998; 19: 485-94.

NICHOLSON JW, SIDHU SK. **A Review of Glass-Ionomer Cements for Clinical Dentistry.** J. Funct. Biomater. 7, 16; 2016.

NYVAD B, FEJERSKOV O: **Active root surface caries converted into inactive caries as a response to oral hygiene.** Scand J Dent Res 1986;94:281-4.

OLDONI, T.L. C.; CABRAL, I.S.R.; D'ARCE, M.A.B.R.; ROSALEN, P.L.; IKEGAKI, M.; NASCIMENTO, A.M.; ALENCAR, S.M. **Isolation and analysis of bioactive isoflavonoids and chalcone from a new type of Brazilian propolis.** Separation and Purification Technology, vol. 77, no. 2, p. 208–213, 2011. DOI 10.1016/j.seppur.2010.12.007. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.seppur.2010.12.007>.

OLIVEIRA ALBM, PINHEIRO MC, SILVA RC, AQUINO SG, PINTO LAM, ZUANON ACC. J Health Sci Inst. 2013;31(3):244-7

OLIVEIRA, J.M.S.; CAVALCANTI, T.F.S.; LEITE, I. F. **Propolis in Oral Healthcare:** Antibacterial Activity of a Composite Resin Enriched With Brazilian Red Propolis. Frontiers in Pharmacology, vol. 12, no. November, p. 1–19, 2021. DOI 10.3389/fphar.2021.787633. Available at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2021.787633/full>.

OLIVEIRA, L. B., SHEIHAM, A. & BÖNECKER, M. **Exploring the association of**

dental caries with social factors and nutritional status in Brazilian preschool children. Eur. J. Oral Sci. 116, 37–43 (2008).

OMS, 74ª **ASSEMBLEIA MUNDIAL DA SAÚDE** WHA74.5, Item 13.2 da ordem do dia 31 de maio de 2021 saúde bucal.

ORYAN, A., ALEMZADEH, E., & MOSHIRI, A. (2018). **Potencial papel da própolis na cicatrização de feridas:** propriedades biológicas e atividades terapêuticas. *Biomedicina e farmacoterapia*, 98, 469-483.

PAROLIA, A. et al. **Effect of Propolis Nanoparticles against Enterococcus faecalis Biofilm in the Root Canal.** *Molecules*. 26, 715. 2021. doi:10.3390/molecules26030715

PEGORARO L. F., DE OLIVEIRA A. C. P., "Tratado de Clínica Odontológica". Editora Santos, 2016.

PETTINARI C., RAFAIANI G., NMR Applications, Solution state 19F. **Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry**, Elsevier, Third Edition, Universita di Camerino, Italy, 2017, 117-124. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-803224-4.00142-4>

PINHEIRO SL, AZENHA GR, PROVASI S, BOSCARIOLI APT, VILLALPANDO KT. **Utilização da fonte de luz como energia catalisadora da presa química inicial dos cimentos ionoméricos convencionais.** Rev. Ciênc. Méd. 2016;25(1):41-47.

PITTS, NB; ZERO, DT; MARSH, PD; EKSTRAND, K; WEINTRAUB, JA; GOMEZ, FR; TAGAMI, J; TWETMAN, S; TSAKOS, G; ISMAIL, A. **Dental Caries.** Nat Rev Dis Primers. 2017 May 25; 3:17030. doi: 10.1038/nrdp.2017.30. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.30>.

PITTS, N. B., EKSTRAND, K. R., ICDAS Foundation. **International Caries Detection and Assessment System (ICDAS) and its International Caries Classification and Management System (ICCMS)-methods for staging of the caries process and enabling dentists to manage caries.** Community dentistry and oral epidemiology, 41(1), e41-e52. 2013.

PORTO, C. L DE A. P. et al. **Cariologia:** grupo brasileiro de professores de dentística. São Paulo: Artes Médicas, 2008.

PORTO, I.C.C.M.; NASCIMENTO, T.G.; OLIVEIRA, J.M.S.; FREITAS, P.H.; HAIMEUR, A.; FRANÇA, R. **Use of polyphenols as a strategy to prevent bond degradation in the dentin–resin interface.** European Journal of Oral Sciences, vol. 126, no. 2, 2018. <https://doi.org/10.1111/eos.12403>.

PORTO, I.C.C.M.; ROCHA, A.B.B.; FERREIRA, I.S.; DE BARROS, B.M.; ÁVILA, E.C.; DA SILVA, M.C.; DE OLIVEIRA, M.P.S.; LÔBO, T.L.G.F.; OLIVEIRA, J.M.S.; DO NASCIMENTO, T.G.; DE FREITAS, J.M.D.; DE FREITAS, J.D. **Polyphenols and Brazilian red propolis incorporated into a total-etching adhesive system help in maintaining bonding durability.** Heliyon, vol. 7, no. 2, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06237>.

RAGGIO DP. **Dureza Knoop de Cimentos de Ionômero de Vidro indicados para**

o Tratamento Restaurador Atraumático (TRA) [Tese (Doutorado)]. Universidade de São Paulo, 2004.

RATHEE, I.; SAPRA, A. **Dental Caries**. Treasure Island (FL): {s.n.}. restorative and luting materials. ISO 4049, 2000.

RICKETTS, D., LAMONT, T., INNES, N. P., KIDD, E. & CLARKSON, J. E. **Operative caries management in adults and children**. Cochrane Database Syst. Rev. 3, CD003808 (2013).

RIGHI, A. A.; ALVES, T. R.; NEGRI, G.; MARQUES, L. M.; BREYER, H.; SALATINO, A. **Brazilian red propolis: unreported substances, antioxidant and antimicrobial activities**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 91, n. 13, p. 2363-2370, 2011.

ROBERSON, T.; HEYMAN, H.; SWIFT, E. **Additional Conservative Esthetic Procedures**. Sturdevant's Art and Science of Operative Dentistry. 5. ed. St. Louis, Mosby, 2006, p. 623-681.

SADOON Ny, FATHY SM, OSMAN MF. **Effect of using biomimetic analogs on dentin remineralization with bioactive cements**. Braz Dent J. 2020;31(1):44-51.

SALATINO, A.; FERNANDES-SILVA, C. C.; RIGHI, A. A.; SALATINO, M. L. F. **Propolis research and the chemistry of plant products**. Natural Product Reports, v. 28, p. 925–936, 2011.

SAURO S, OSORIO R, WATSON TF, TOLEDANO M. **Influence of phosphoproteins' biomimetic analogs on remineralization of mineral-depleted resin-dentin interfaces created with ion- releasing resin-based systems**. Dent Mater. 2015; 31:759-77.

SCHWENDICKE F, AL-ABDI A, MOSCARDÓ AP, CASCALES AF, SAURO S. **Remineralization effects of conventional and experimental ion-releasing materials in chemically or bacterially-induced dentin caries lesion**. Dent Mater. 2019;35:772-9

SEPPÄ L, TORPPA-SAARINEN E, LUOMA H. **Effect of different glass ionomers on the acid production and electrolyte metabolism of Streptococcus mutans**. Caries Res. 1992; 26:434-8.

SHENALZ G, ERGÜCÜ Z, HILLER KA. **Effect of dentin on the antibacterial activity of dentin bonding agents**. J Endod. 2004; 30:352-8.

SILVA, B. B.; ROSALEN, P. L.; CURY, J. A.; IKEGAKI, M.; SOUZA, V. C.; ESTEVES, A.; ALENCAR, S. M. **Chemical Composition and Botanical Origin of Red Propolis, a New Type of Brazilian Propolis**. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, vol. 5, no. 3, p. 313–316, 2008. DOI 10.1093/ecam/nem059. Available at: <http://www.hindawi.com/journals/ecam/2008/380385/>.

SILVA, R.P.D. et al., **Antioxidant, antimicrobial, antiparasitic, and cytotoxic properties of various Brazilian propolis extracts**. Plos one. 2(3): e0172585, 2017. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0172585>.

S PARIS, K BITTER, J KROIS, H MEYER-LUECKEL. **Seven-year-efficacy of proximal caries infiltration - Randomized clinical trial.** J Dent. 2020; 93:103277. doi: 10.1016/j.jdent.2020.103277.

SUBRAMANIAM P, GIRISH BABU KL, NEERAJA G, PILLAI S. **Does Addition of Propolis to Glass Ionomer Cement Alter its Physic Mechanical Properties? An *In Vitro* Study.** The Journal of Clinical Pediatric Dentistry Volume 41, Number 1/2017.

SUMMITT J. **Bases, liners, and varnishes update.** Oper DENT 1994; 19:35.

TENUTA LM, CURY JA, de OLIVEIRA BH, dos SANTOS AP. **Are fluoride releasing dental materials clinically effective on caries control?** Dent Mater. 2016 Mar;32(3):323-33. doi: 10.1016/j.dental.2015.12.002. Epub 2016 Jan 6. PMID: 26777115

TWETMAN S, FONTANA M. **Patient caries risk assessment.** Monogr Oral Sci. 2009;21:91-101

VAN LOVEREN C, LAMMENS AJ, TEN CATE JM. **Development and establishment of fluoride-resistant strains of *Streptococcus mutans* in rats.** Caries Res. 1990; 24:337-43.

VIEIRA AL, ZANELLA NL, BRESCIANI E, BARATA TJ, DA SILVA SM, MACHADO MA, et al. **Evaluation of glass ionomer sealants placed according to the ART approach in a community with high caries experience: 1-year follow-up.** J Appl Oral Sci. 2006 Aug;14(4):270-5.

YANG J, Mei S, FERREIRA JMF. **Hydrothermal synthesis of nanosized titania powders: influence of tetraalkyl ammonium hydroxides on particle characteristics.** J Am Ceram Soc. 2001; 84:1696–1702.

YAP AU, KHOR E, FOO SH. **Fluoride release and antibacterial properties of new-generation tooth-colored restoratives.** Oper Dent. 1999; 24:297-95.

YORK AK, ARTHUR JS. **Reasons for placement and replacement of dental restorations in the United States Navy Dental Corps.** Oper Dent. 1993; 18:203-8.

YOSHIYAMA M, Doi J, NISHITANI Y, ITOTA T, TAY FR, CARVALHO RM, et al. **Bonding ability of adhesive resins to caries-affected and caries-infected dentin.** J Appl Oral Sci 2004; 12:171–6.

YOSHIYAMA M, TAY FR, DOI J, NISHITANI Y, YAMADA T, ITOU K, et al. **Bonding of self-etch and total-etch adhesives to carious dentin.** J Dent Res 2002; 81:556–60.

WARRETH, A. **Dental Caries and its Management.** International Journal of Dentistry, v. 2023, p. 1 – 15, 3 Jan. 2023.

WEIDLICH P, MIRANDA LA, MALTZ M, SAMUEL SMW. **Liberação e absorção de flúor em cimentos de ionômero de vidro e resinas compostas.** Braz Dent J. 2000; 11 (2):89–96.

WESENBERG G, HALS E. **The in vitro effect of a glass ionomer cement on dentine and enamel walls.** An electron probe and microradiographic study. J Oral Rehabil. 1980;7:35-42.

ANEXO 1 – M REVISTA A2



Propolis in Oral Healthcare: Antibacterial Activity of a Composite Resin Enriched With Brazilian Red Propolis

José Marcos dos Santos Oliveira^{1,2*}, Théo Fortes Silveira Cavalcanti^{3,4}, Ingrid Ferreira Leite², Dávida Maria Ribeiro Cardoso dos Santos⁵, Isabel Cristina Celerino de Moraes Porto^{4,6}, Fernanda Lima Torres de Aquino⁷, Artur Falqueto Sonsin⁸, Renata Matos Lamenha Lins⁴, Rafael Pino Vitti⁹, Johnnatan Duarte de Freitas¹⁰, Emiliano de Oliveira Barreto⁷, Samuel Teixeira de Souza⁸, Regianne Umeko Kamiya⁷, Ticiano Gomes do Nascimento⁶ and Josealdo Tonholo¹

¹Postgraduate Program of Chemistry and Biotechnology, Institute of Chemistry and Biotechnology, Federal University of Alagoas, Maceió, Brazil, ²Postgraduate Program in Health Research, Cesmac University Center, Maceió, Brazil, ³Postgraduate Program in Materials, Center of Technology, Federal University of Alagoas, Maceió, Brazil, ⁴Faculty of Dentistry, Federal University of Alagoas, Maceió, Brazil, ⁵Postgraduate Program Multicenter of Biochemistry and Molecular Biology, Institute of Pharmaceutical Sciences, Federal University of Alagoas, Maceió, Brazil, ⁶Postgraduate Program in Pharmaceutical Sciences, Institute of Pharmaceutical Sciences, Federal University of Alagoas, Maceió, Brazil, ⁷Postgraduate Program in Health Sciences, Institute of Biological and Health Sciences, Federal University of Alagoas, Maceió, Brazil, ⁸Postgraduate Program in Physics, Institute of Physics, Federal University of Alagoas, Maceió, Brazil, ⁹Faculty of Dentistry, Herminio Ometto Foundation, Araras, Brazil, ¹⁰Department of Chemistry, Federal Institute of Alagoas, Maceió, Brazil

OPEN ACCESS

Edited by:

Jose Mauricio Storcin,
São Paulo State University, Brazil

Reviewed by:

Luis A. Salazar,
University of La Frontera, Chile
Ary Fernandes Junior,
São Paulo State University, Brazil

*Correspondence:

José Marcos dos Santos Oliveira
jose_marcos_cbjr@hotmail.com
oliveira.jms91@gmail.com

Specialty section:

This article was submitted to
Ethnopharmacology,
a section of the journal
Frontiers in Pharmacology

Received: 01 October 2021

Accepted: 03 November 2021

Published: 29 November 2021

Citation:

Oliveira JMS, Cavalcanti TFS, Leite IF, dos Santos DMRC, Porto ICCdM, de Aquino FLT, Sonsin AF, Lins RML, Vitti RP, de Freitas JD, Barreto EdO, de Souza ST, Kamiya RU, do Nascimento TG and Tonholo J (2021) Propolis in Oral Healthcare: Antibacterial Activity of a Composite Resin Enriched With Brazilian Red Propolis. *Front. Pharmacol.* 12:787633. doi: 10.3389/fphar.2021.787633

The aim of this study was to obtain a Brazilian red propolis (BRP) enriched composite resin and to perform the characterization of its antibacterial activity, mechanical, and physical-chemical properties. Brazilian red propolis ethyl acetate extract (EABRP) was characterized by LC-ESI-Orbitrap-FTMS, UPLC-DAD, antibacterial activity, total flavonoids content, and radical scavenging capacity. BRP was incorporated to a commercial composite resin (RC) to obtain BRP enriched composite at 0.1, 0.15 and 0.25% (RP10, RP15 and RP25, respectively). The antibacterial activity RPs was evaluated against *Streptococcus mutans* by contact direct test and expressed by antibacterial ratio. The RPs were characterized as its cytotoxicity against 3T3 fibroblasts, flexural strength (FS), Knoop microhardness (KHN), post-cure depth (CD), degree of conversion (DC%), water sorption (Wsp), water solubility (Wsl), average roughness (Ra), and thermal analysis. Were identified 50 chemical compounds from BRP extract by LC-ESI-Orbitrap-FTMS. EABRP was bacteriostatic and bactericide at 125 and 500 µg/ml, respectively. The RP25 exhibited antibacterial ratio of 90.76% after 1 h of direct contact with *S. mutans* ($p < 0.0001$) while RC no showed significant antibacterial activity ($p = 0.1865$), both compared with cell control group. RPs and RC no showed cytotoxicity. RPs exhibited CD from 2.74 to 4.48 mm, DC% from 80.70 to 83.96%, Wsp from 17.15 to 21.67 µg/mm³, Wsl from 3.66 to 4.20 µg/mm³, Ra from 14.48 to 20.76 nm. RPs showed thermal resistance between 448–455°C. The results support that propolis can be used on development of modified composite resins that show antibacterial activity and that have compatible mechanical and physical-chemical properties to the indicate for composite resins.