

Alessandra Rezende Peris

Cirurgiã-Dentista

**COMPORTAMENTO DOS SISTEMAS ADESIVOS
COM FLÚOR FRENTE AO DESAFIO
CARIOGÊNICO**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do Título de Doutora em Clínica Odontológica - Área de concentração em Dentística.

Piracicaba
2005

Alessandra Rezende Peris

Cirurgiã-Dentista

**COMPORTAMENTO DOS SISTEMAS ADESIVOS
COM FLÚOR FRENTE AO DESAFIO
CARIOGÊNICO**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do Título de Doutora em Clínica Odontológica - Área de concentração em Dentística.

Orientador: PROF.^ª DR.^ª GISELLE MARIA MARCHI BARON

Banca examinadora:

PROF.^ª DR.^ª GISELLE MARIA MARCHI BARON
PROF. DR. JOSÉ AUGUSTO RODRIGUES
PROF. DR. LOURENÇO CORRER SOBRINHO
PROF. DR. LUIZ ROBERTO MARCONDES MARTINS
PROF. DR. WELINGTON DINELLI

Piracicaba
2005

Ficha Catalográfica

P419c Peris, Alessandra Rezende.
Comportamento dos sistemas adesivos com flúor frente ao desafio cariogênico. / Alessandra Rezende Peris. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2005.

Orientador : Prof^a Dr^a Giselle Maria Marchi Baron.
Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Cáries dentárias. 2. Microscopia de polarização. 3. Dentina. I. Baron, Giselle Maria Marchi. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.
(mg/fop)

Palavras-chave em inglês (*Keywords*): Dental caries; Microscopy polarization; Dentin

Área de concentração: Dentística

Titulação: Doutor em Clínica Odontológica

Banca examinadora: Prof^a Dr^a Giselle Maria Marchi Baron; Prof. Dr. Lourenço Correr Sobrinho; Prof. Dr. Luiz Roberto Marcondes Martins; Prof. Dr. Welington Dinelli

Data da defesa: 21/02/2005

DEDICO ¹ ESTE TRABALHO

À Deus,

“Que esteve presente em toda minha vida, és a luz que me ilumina em todos os momentos de alegria ou tristeza. A Ele devo minha vida e todas as minhas conquistas.”

Aos meus pais, Marcos e Maria das Dores,

“A quem dedico e compartilho os méritos de mais uma conquista. Graças ao apoio constante, conselhos e bons exemplos que recebi de vocês, pude realizar mais um sonho. Não foi fácil ficar tanto tempo longe de vocês, mas graças ao amor e eterno companheirismo, pude superar as diversas dificuldades.”

OBRIGADA POR TUDO... EU AMO VOCÊS.

DEDICO ¹ ESTE TRABALHO

À minha irmã **Leia**,

“Que esteve sempre me incentivando e rezando por mim para que eu pudesse alcançar os meus objetivos. Obrigada pelo amor e apoio que sempre me deu mesmo estando tão longe.”

Ao meu irmão **Marcos Túlio** (*in memoriam*)

“Eu acredito que apesar da distância inimaginável, você sempre esteve muito perto de mim, torcendo para que tudo desse certo. Sinto muitas saudades de você.”

Ao meu amor **Fabio**,

“Que sempre esteve do meu lado, com muita paciência, amor e dedicação... às vezes se sacrificando para me ajudar. Você se mostrou um grande namorado, me apoiando nos momentos difíceis e compreendendo as minhas ausências. Não é fácil encontrar palavras para agradecer tudo que você fez por mim e expressar o quanto te admiro. Obrigada por tudo...TE AMO, TE AMO MUITO.”

“Quanto mais se conhece mais se ama”.

Leonardo da Vinci

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A minha Orientadora **Profa. Dra. Giselle Maria Marchi Baron**

“Obrigada pela amizade, apoio, conselhos e oportunidades. Você se mostrou uma grande amiga para todos os momentos. Sempre muito humilde e humana em todas as suas atitudes. Muito obrigada pelo carinho e orientação.”

Ao meu Orientador do mestrado **Prof. Dr. Luiz André F. Pimenta**

“Obrigada pela sua orientação, apoio e oportunidades oferecidas durante o Mestrado”.

Ao meu amigo e ex-Orientador **Prof. Dr. Sillas Luiz L. Duarte Jr.**

“Te agradeço por tudo o que você fez por mim... pelo incentivo, amizade, credibilidade. Graças às oportunidades que você me ofereceu, consegui subir mais um degrau. A você também dedico esta conquista.”

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP, nas pessoas do seu Diretor **Prof. Dr. Thales Rocha de Mattos Filho** e do Diretor Associado **Prof. Dr. Mário Fernandes De Góes**, pela oportunidade da realização deste trabalho.

Ao **Prof. Dr. Pedro Luiz Rosalen**, Coordenador Geral do Curso de Pós-Graduação e ao **Prof. Dr. Roger Willian Moreira Fernandes**, Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Clínica Odontológica, pela atenção prestada.

Aos professores que participaram do meu exame de qualificação, **Prof^a. Dr^a. Cristiane Mariote Amaral**, **Prof. Dr. Luis Alexandre Maffei Sartini Paulillo** e **Prof^a. Dr^a. Marcela Rocha de Oliveira Carrilho**, pelas sugestões que só vieram a enriquecer meu trabalho.

Aos **Professores** da Área de Dentística, que contribuíram com o aprimoramento de meus conhecimentos.

Ao Departamento de Bioquímica, nas pessoas **do Prof. Dr. Jaime A. Cury** e técnicos de laboratório **Valdomiro** e **Alfredo**, pelo suporte científico e técnico oferecidos.

À **CAPES**, pela Bolsa de Estudo a qual me permitiu realizar o Curso de Doutorado com suporte financeiro.

A todos **Funcionários** desta Faculdade, que de uma forma possibilitaram a realização do meu Doutorado.

Aos Professores **José Augusto** e **Cristine Mariote** pela amizade, apoio e bons exemplos que vocês são.

Aos **Professores, Funcionários e Amigos** da Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP, agradeço pelo incentivo e formação que me possibilitaram esta vitória. Em especial, agradeço a **Profa. Dra. Eleny** e todos **Professores da Dentística**.

À **Fernanda (Secretária da Dentística)** e **Pedro**, pela disponibilidade e atenção constante. Também mostraram competência e amizade, procurando sempre nos ajudar.

À minha querida família adotiva, **Antônio, Marilda e Renata**, obrigada por ter me acolhido com tanto carinho e amor. Gosto muito de todos vocês.

Aos meus amigos de Pós-Graduação **Fabinho, Mirela, Larissa, Grace, Carol, Denise, Ciça, Patty, Rogério, Vanessa Cavalli, Teca, Vanessa Ruiva, Ana Karina, Guto, Cristiane Mariote, Érica, André, César, Ricardinho, Celso, Marcelo Santista, Andréa, Ana Paula, André Mineiro, Débora, Cláudia e Fernanda** pelos bons momentos que passamos juntos.

A **Larissa e Mirela** que foram minha família de Piracicaba. De vocês recebi muito carinho e suporte para conseguir superar todas as dificuldades e com vocês compartilhei minhas alegrias. **Lari**, sempre muito alegre, contagiando nossa casa com seu jeitinho de "moleca", mas sempre muito responsável e dedicada... amiga para todos os momentos. **Mi**, um doce de pessoa, minha companheira, amiga e irmãzinha japa. Sempre ali disposta a me ouvir a me ajudar e me aconselhar. Gosto muito de você e te admiro muito...você é pequena no tamanho

mais gigante como pessoa. Vou sentir muita falta de vocês, mas que precisarem pode contar comigo.

À **Grace**, uma pessoa muito amiga e companheira, que nos contagiava com sua simpatia e alegria; à **Denise**, sempre meiga, sincera e eterna amiga; ao **Felipe**, agregado de república, sempre brincalhão e amigo; à **Carol**, pela amizade e exemplo de dedicação e esforço; à **Ana Karina**, exemplo de boa pessoa e uma grande amiga, que mesmo distante está sempre disposta a nos ajudar; à **Teca**, que aos poucos com seu jeitinho especial, ganhou minha amizade e confiança, sendo sua participação de grande importância para realização deste trabalho; à **Andréa** e **Marcelo Santista**, sempre muito atenciosos, alto-astrol e amigos, obrigada pelas boas risadas que demos juntos.

À **Vânia**, minha eterna amiga...mesmo eu estando oito anos fora de Goiânia, em nenhum momento deixou de me apoiar e de ser amiga.

Aos meus companheiros da minha segunda casa, **Léo, Álvaro e Carlos (Bixo)**, obrigada amizade e pelos bons momentos que passamos juntos. Gosto muito de todos vocês.

Aos meus amigos de Materiais Dentários, **Cíntia, Ana Flávia, Vinicius, Roberta, Gisele**, foram muito bons os momentos que passamos juntos.

Aos meus amigos da Graduação (UNICAMP), **Álvaro, Helena, Carlos, Juliana** e **Adriano**, obrigada pelos momentos de descontração.

Aos meus amigos de Graduação, **Amália, Perninha, Olívia, Matsuzaki** e **Emy**, que compartilharam comigo bons momentos da minha vida.

SUMÁRIO

	PÁGINA
RESUMO	1
ABSTRACT	3
1. INTRODUÇÃO	5
2. REVISÃO DA LITERATURA	7
2.1. ADESÃO ÀS ESTRUTURAS DENTAIS.....	7
2.2. CARIOLOGIA.....	13
3. PROPOSIÇÃO	31
4. MATERIAL E MÉTODOS	32
4.1. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	32
4.2. COLETA, ARMAZENAMENTO, SELEÇÃO E PREPARO INICIAL DOS DENTES.....	34
4.3. PREPARO DA SUPERFÍCIE DENTINÁRIA.....	34
4.4. PROCEDIMENTOS ADESIVOS E “RESTAURADORES”.....	35
4.5. PREPARO DOS ESPÉCIMES PARA O ENSAIO DE MICROTRAÇÃO.....	40
4.6. PREPARO DOS DENTES PARA A CICLAGEM DE PH.....	42
4.7. MODELO QUÍMICO DE INDUÇÃO DE CÁRIE: CICLAGEM DINÂMICA DE PH.....	43
4.8. ENSAIO DE MICROTRAÇÃO.....	45
4.9. AVALIAÇÃO DO PADRÃO DE FRATURA.....	47
4.10. ANÁLISE DA PROFUNDIDADE DAS LESÕES DE CÁRIE.....	47
4.11. ANÁLISE QUANTITATIVA DO FLÚOR (F ⁻).....	49
4.12. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	50
5. RESULTADOS	52
6. DISCUSSÃO	62
7. CONCLUSÃO	70
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71
ANEXOS	76

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o comportamento de sistemas adesivos com e sem flúor frente à indução química dinâmica (ciclagem de pH) de cárie secundária, por meio dos testes de microtração, análise da profundidade da lesão de cárie e quantificação da liberação de flúor. Foram utilizadas 80 coroas de incisivos bovinos, as quais tiveram a dentina vestibular exposta. Sobre essa dentina, foram confeccionados blocos de restaurações utilizando quatro sistemas adesivos (n=20), sendo dois sem flúor (Single Bond e Clearfil SE Bond), e dois com flúor (Optibond Solo Plus e Clearfil Protect Bond), além do compósito resinoso Filtek Z250. Após a confecção das restaurações, metade dos corpos-de-prova foi submetida à indução química de cárie e a outra metade foi considerada controle. Foram realizados sete cortes seriados, com espessura de aproximadamente 1 mm, para obtenção de seis fatias, nas quais foram confeccionadas constrições na interface de união de forma a obter-se uma área de, aproximadamente, 1 mm². Em seguida, isolou-se as amostras com verniz para unha mantendo-se uma área de, aproximadamente, 4 mm² de dentina exposta ao redor da interface de união. Esses espécimes foram submetidos à ciclagem de pH durante 4 dias, sendo 4 horas em solução desmineralizadora (DES) e 20 horas diárias imersas em solução remineralizadora (RE). Após a ciclagem, quatro espécimes de cada corpo-de-prova, assim como os espécimes dos grupos controles, foram submetidos ao ensaio de microtração, a uma velocidade de 0,5 mm/min até o momento da fratura. Após o ensaio, as duas porções fraturadas de cada espécime foram avaliadas em MEV para análise dos padrões de fratura. Os dois espécimes restantes dos corpos-de-prova ciclados foram avaliados quanto à profundidade de lesão formada em Microscópio de Luz Polarizada, nas distâncias de 5, 10 e 25µm a partir da interface de união. A concentração de íons flúor nas soluções DES-RE foi quantificada utilizando eletrodo específico calibrado com soluções preparadas com TISAB III. Os dados obtidos na resistência à microtração (MPa) e na avaliação da profundidade da lesão (µm) foram

RESUMO

submetidos à Análise de Variância e ao Teste Tukey ($\alpha=5\%$). Para resistência à microtração, independente do sistema adesivo testado, não foi verificada diferença significativa entre os espécimes do grupo controle. Após a ciclagem, foi observada uma redução nos valores de resistência de união significativa para todos os adesivos, mantendo-se, no entanto a ausência de diferença significativa entre os adesivos. Em relação à profundidade de cárie, houve apenas diferença significativa entre os adesivos na distância de $5\mu\text{m}$, na qual o adesivo com flúor Optibond Solo Plus apresentou menor lesão. Para a quantificação de flúor, encontrou-se concentração de flúor abaixo de $0,03\text{ ppm}$, ou seja, abaixo da curva de sensibilidade do eletrodo. Pode-se concluir que a cárie secundária reduziu a resistência de união das restaurações e o flúor presente nos sistemas adesivos não se mostrou efetivo na manutenção dos valores de resistência de união e redução da profundidade da lesão após indução de cárie secundária.

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the behavior of fluoride-free and fluoride-containing adhesive systems subject to dynamic chemical induction of secondary caries, by means of the microtensile bond strength test, establishment of carious lesion depth and the amount of fluoride-ion release from each adhesive system. Eighty extracted bovine incisors were ground flat to expose the labial dentine surface. The Filtek Z250 composite resin and four adhesives systems, two fluoride-free (Single Bond and Clearfil SE Bond) and two-fluoride containing adhesive systems (Optibond Solo Plus and Clearfil Protect Bond), were used for the construction of bulk restorations (n=20) over the flat dentin surfaces. After bonding, half of the specimens were subjected to carious chemical induction and the other half was the control group. The specimens were serially sectioned into 6 slabs with approximately 1.0 mm width that were trimmed to a 1 mm² cross-sectional area at the bonded interface. Nail varnish was used to cover the dentin surface, leaving an area of 4 mm² around the bonded interface. The specimens were, then, subject to 4-day chemical cycling, comprising immersion on remineralising (RE) and demineralising (DES) solutions for, respectively, 20 hours and 4 hours per day. Microtensile bond strength test of 4 specimens from both the chemical cycling and control groups were performed using a universal testing machine at a crosshead speed of 0.5 mm/min until fracture. SEM observations of the fracture surfaces were perform to evaluate the fracture pattern of the specimens. Polarized Light Microscope was used for the establishment of carious lesion deepness at 5, 10 and 25µm from the bonded interface of the remaining two specimens subject to the chemical challenge. A specific electrode calibrated with solutions prepared with TISAB III was used to determine the amount of fluoride-ion release present in the DES-RE solutions. Data of mean bond strengths (MPa) and carious lesion depth (µm) were analyzed with ANOVA and Tukey test ($\alpha=5\%$). For the microtensile bond strength, regardless the adhesive system tested; there was no statistic significant difference between the specimens of control group. It was observed a significant reduction on the bond strength values for all adhesives

ABSTRACT

systems after chemical cycling; however, there was no difference between the tested materials. For the deepness of carious lesion, a significant difference between the adhesive systems was only detected at the 5 μ m-distance, in which Optibond Solo Plus fluoride-containing adhesive system showed the smallest lesion formation. An amount of fluoride-ion release of less than 0.03 ppm (under the detection limit of the electrode) present on the DES-RE solutions was found. It could be concluded that the secondary carious reduced the restorations bond strength and the amount of fluoride-ion present at the adhesive systems was not effective in preserve the bond strength values after caries chemical induction as well as in the reduction of carious lesion deepness.

1. INTRODUÇÃO

Os avanços ocorridos nos sistemas adesivos resultaram no uso rotineiro dos compósitos restauradores na clínica odontológica. Estes adesivos têm apresentado satisfatória adesão ao esmalte e à estrutura dentinária (PASHLEY & CARVALHO, 1997). Entretanto, a cárie secundária ou recorrente que ocorre ao longo das margens das restaurações ainda é a principal razão para substituição de restaurações confeccionadas com compósito resinoso (KIDD *et al.*, 1992; FONTANA & GONZALEZ-CABEZAS, 2002).

O processo de cárie ocorre devido o desequilíbrio entre desmineralização e remineralização dos tecidos dentais duros que pode, eventualmente, resultar em cavitação (KIDD *et al.*, 1992). O desenvolvimento da cárie depende dos ácidos e enzimas produzidos pelas bactérias da placa bacteriana (CLARKSON *et al.*, 1986; FEATHERSTONE, 1994). Os produtos da placa bacteriana incluem ácidos: láctico, acético e cítrico, os quais reduzem o pH na superfície e desmineralizam os tecidos dentais (FEATHERSTONE, 1994). O flúor exerce significativo efeito na inibição de cárie, promovendo a deposição de mineral e inibição da dissolução (TEN CATE 1990; FEATHERSTONE, 1994; TEN CATE & VAN DUINEN, 1995). Baseados neste aspecto, vários materiais restauradores que liberam flúor têm sido utilizados com a intenção de ajudar a prevenir cárie secundária (SERRA & CURY; 1992; TEN CATE & VAN DUINEN, 1995; NAGAMINE *et al.*, 1997; PEREIRA *et al.*, 1998). Uma nova categoria de materiais foi introduzida no mercado odontológico – sistemas adesivos que contêm flúor. Para alguns autores, o flúor liberado dos sistemas adesivos exerce atividade anticariogênica por aumentar a resistência da dentina aos ataques ácidos presente no meio oral (ITOTA *et al.*, 2002; SAVARINO *et al.*, 2004). Segundo FERRACANE *et al.* (1998), o sistema adesivo libera íons flúor diretamente em contato com a parede do preparo cavitário, que penetra e difunde-se facilmente para a parede dentinária. Estes autores detectaram íons flúor liberados do sistema adesivo na camada híbrida presente na interface dentina/restauração. Para FEATHERSTONE *et al.* (1986), os

INTRODUÇÃO

Íons flúor presentes na dentina aumentam a mineralização e reduzem a desmineralização deste substrato, oferecendo assim, resistência contra a cárie secundária.

Entretanto, há poucos relatos na literatura do efeito dos íons flúor presentes nos sistemas adesivos na resistência de união de restaurações confeccionadas com compósitos resinosos diante de desafio cariogênico.

A influência dos materiais restauradores na dinâmica da cárie dental tem sido estudada, *in vitro*, em modelos que simulam desafio cariogênico, com o objetivo de induzir lesões com características comparáveis às encontradas *in vivo* (GILMOUR & EDMUNDS, 1998; GROSSMAN & MATEJKA, 1999). Estes modelos podem ser do tipo químico: estático – imersão do substrato dental em soluções ou géis ácidos (DIONYSOPOULOS *et al.*, 1998; PEREIRA *et al.*, 1998ab), ou dinâmico – ciclos de desmineralização e remineralização (FEATHERSTONE *et al.*, 1986; MARTINS *et al.*, 1991; NOGUEIRA *et al.*, 2001; TEN CATE, 2001) ou, ainda, ter natureza microbiológica – exposição do substrato a uma ou mais espécies de microorganismos cariogênicos (FRANCCI *et al.*, 1999; TORII *et al.*, 2001). Embora todos esses modelos de indução de cárie apresentem limitações, admite-se que o modelo químico dinâmico seja o método *in vitro* mais próximo do desenvolvimento natural de lesão, pois simula a dinâmica dos episódios físico-químicos de desmineralização e remineralização (FEATHERSTONE *et al.*, 1986; TEN CATE *et al.*, 1990; WHITE, 1995) e forma lesões também histologicamente semelhantes às lesões *in vivo*.

Dessa maneira, o presente estudo teve como objetivos avaliar a influência de sistemas adesivos com e sem flúor na resistência à microtração de restaurações confeccionadas em dentina bovina, submetidas à indução química dinâmica (ciclagem DES-RE) de cárie secundária, bem como avaliar, através de Microscopia de Luz Polarizada, a profundidade das lesões cariosas e quantificar a liberação de íons flúor dos sistemas adesivos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Adesão às Estruturas Dentais

Em 1982, NAKABAYASHI *et al.* avaliaram a efetividade do monômero resinoso 4-META após condicionamento das superfícies de esmalte e dentina com soluções de ácido cítrico a 10% e cloreto férrico a 3% (denominada de solução 10:3) por 30 segundos. Os autores verificaram a penetração dos monômeros bifuncionais, tais como o 4-META, por entre a rede de fibrilas colágenas expostas pelo condicionamento, formando uma estrutura mista com fibrilas envolvidas por resina e cristais de hidroxiapatita. Verificaram também que, após a polimerização, essa zona constituía-se em uma região ácido-resistente, tendo sido mais tarde denominada de camada híbrida, ou zona de interdifusão resina/dentina. Essa camada promoveu um aumento nos valores de resistência de união, obtendo-se valores de até 18 MPa em dentina bovina. Esses resultados levaram os autores a concluir que uma adequada adesão não se dava exclusivamente pelo simples embricamento no interior da dentina, mas sim pela retenção micromecânica dos monômeros resinosos com a rede de fibrilas colágenas expostas pelo condicionamento prévio na dentina intertubular.

No ano de 1983, NAKAMICHI *et al.* avaliaram a possibilidade da utilização de dentes bovinos como substitutos de dentes humanos. Realizaram uma pesquisa comparando-se, *in vitro*, a resistência de união de cinco cimentos duais e duas resinas compostas em dentes humanos e bovinos. Embora os valores obtidos pelos dentes bovinos fossem ligeiramente inferiores, não se verificou diferença estatisticamente significativa.

Em 1988, FEILZER *et al.* determinaram os valores de contração livre e final de polimerização de 26 compósitos resinosos e dois cimentos de ionômero de vidro. As medições foram realizadas à temperatura de 23°C a partir de um dilatômetro. Todos os materiais de polimerização física foram fotoativados com luz

LITERATURA

halógena por 60 segundos, sendo mensurada a contração de polimerização durante 24 horas após o início da polimerização. Já os compósitos de polimerização química foram misturados por 20 segundos, sendo a contração medida durante 24 horas após o início da “contração rígida” desses materiais. Os valores mensurados foram então calculados em volume percentual de contração de polimerização. Os autores verificaram uma menor contração de polimerização para os cimentos de inonômero de vidro em comparação com todos os compósitos avaliados no estudo.

Sabendo das dificuldades da realização dos procedimentos adesivos sobre superfícies dentinárias com diferentes níveis de mineralização, PERDIGÃO *et al.* (1994) avaliaram a resistência de união de quatro sistemas adesivos a substratos dentinários normais (água destilada), desmineralizados (solução de ácido acético) ou hipermineralizados (solução remineralizante). A dentina média coronária de 120 molares humanos foi exposta e dividida em três grupos, de acordo com o tipo de substrato. Após a imersão dos dentes nas respectivas soluções, os substratos foram hibridizados com os sistemas adesivos (All Bond 2, Amalgambond Plus, Prisma Universal Bond 3 e Scotchbond MP) e restaurados com resina composta híbrida, com auxílio de uma matriz cilíndrica. Os corpos-de-prova foram termociclados por 48 horas e avaliados quanto à resistência ao cisalhamento. Para todos os sistemas adesivos, a adesão em dentina normal apresentou significativamente os maiores valores em comparação aos demais substratos. As médias de resistência ao cisalhamento das restaurações confeccionadas sobre o substrato hipermineralizado foram maiores que as médias obtidas na superfície dentinária desmineralizada, exceto para o adesivo Prisma Universal Bond 3. Na análise do padrão de fratura dos espécimes em Microscopia Eletrônica de Varredura, foi constatada uma maior porcentagem de fraturas ocorridas na interface adesiva.

Em 1994, SANO *et al.* desenvolveram uma nova metodologia que tornou possível a determinação da resistência de união de pequenas áreas. Foram

LITERATURA

utilizados terceiros molares humanos que tiveram suas superfícies de esmalte removidas. Sobre essa superfície dentinária exposta, foram construídos blocos de resina composta ou ionômero de vidro com aproximadamente 5 mm de altura, utilizando dois agentes de união (Clearfil Liner Bond 2, Scotchbond Multi Purpose) e o ionômero de vidro modificado por resina Vitremer. Após o procedimento restaurador, foram realizados cortes seriados paralelos ao longo eixo do dente, com espessuras variando de 0,5 a 3 mm. Essas fatias obtidas foram desgastadas lateralmente, formando uma curva com a parte mais estreita coincidente com a interface de união, obtendo-se áreas de superfície variando de 0,25 a 11 mm². Os espécimes, agora com formato denominado pelos autores de *hour-glass* (ou ampulheta) foram então fixados a um dispositivo (*Bencor-Multi-T*) instalado em máquina de ensaio universal, sendo a força de tração aplicada a uma velocidade de 1 mm/min. Os resultados obtidos demonstraram uma relação inversa entre a área adesiva e as médias de resistência à tração para os três sistemas de união testados.

PASHLEY & CARVALHO, em 1997, revisaram as estruturas dentinárias relacionadas aos procedimentos adesivos, assim como a importância da penetração do agente de união nos túbulos dentinários e nos espaços entre as fibras colágenas criados pelo condicionamento ácido prévio para obtenção de adequada adesão a esse substrato. Os autores se preocuparam também em descrever as profundas modificações criadas pelo condicionamento ácido na composição química e propriedades físicas da matriz dentinária, as quais podem influenciar negativamente a resistência de união dos sistemas adesivos à dentina, assim como a durabilidade dessa união.

FERRACANE *et al.*, em 1998 avaliaram a microinfiltração em restaurações de resina composta associadas a sistemas adesivos com e sem flúor, bem como liberação de flúor e a presença deste componente na camada híbrida. 12 cavidades classe V com margem gengival em dentina, foram preparadas nas faces vestibular e lingual de terceiros molares humanos. Seis cavidades foram

LITERATURA

restauradas com sistema adesivo Scotchbond Multipurpose e resina composta Z100 e as outras seis foram restauradas com um sistema adesivo experimental que apresenta flúor em sua composição (FB) e resina composta Litefil. Após 30 dias de armazenagem em água os dentes foram imersos em solução corante de nitrato de prata, seccionados e observados quanto à penetração do corante na margem dentinária e esmalte. Selecionou-se alguns corpos-de-prova do sistema adesivo com flúor para a realização da microanálise dos elementos flúor, cálcio e fosfato em Microscópio Eletrônico de Varredura. Avaliou-se também a liberação de flúor, por 112 dias, de discos confeccionados com o adesivo fluoretado, utilizando para isso um eletrodo específico para flúor. Os resultados mostraram que ocorre uma diminuição de liberação de flúor com o passar do tempo. Em média o adesivo liberou 0,02 ppm/dia de flúor. A microinfiltração foi semelhante para os dois adesivos. Observou-se a presença limitada de flúor na camada híbrida para o adesivo FB, porém na área com microinfiltração encontrou-se o flúor com maior frequência.

No ano de 1998, PRATI *et al.* avaliaram a resistência adesiva e as características da camada híbrida formada por diversos sistemas de união disponíveis no mercado em preparos cavitários tipo Classe I e V. Os autores verificaram que a camada híbrida produzida pelos adesivos de condicionamento total, independente do número de frascos, era mais espessa que a camada produzida pelos adesivos autocondicionantes. Entretanto, os maiores valores de resistência ao cisalhamento foram associados aos adesivos autocondicionantes, o que permitiu aos autores concluir que a espessura da camada híbrida não exerce fundamental importância para o sucesso do procedimento adesivo.

Em 1999, PASHLEY *et al.* publicaram uma revisão da literatura a respeito do teste microtração, enfocando as diversas modificações propostas para esse tipo de teste, no que diz respeito às vantagens e desvantagens de cada técnica proposta. O teste de microtração foi originalmente proposto para se permitir a avaliação da resistência de união entre materiais e pequenas regiões dentais.

LITERATURA

Essa avaliação de superfícies reduzidas traz como principal vantagem a melhor distribuição das tensões durante a aplicação da força de tração, além da possibilidade da obtenção de vários espécimes provenientes de um mesmo dente. Os autores relataram também a possibilidade de se avaliar diferenças regionais ao longo da interface adesiva, em diferentes pontos da estrutura dental (ex: superfície interna dos canais radiculares, ou parede gengival de restaurações Classe V), além, de comparar substratos com diferentes graus de mineralização. Dessa forma, o teste de microtração oferece uma versatilidade que normalmente não pode ser atribuída aos testes de adesão convencionais. Apesar de constituir em uma metodologia extremamente trabalhosa e sensível, o teste de microtração apresenta um grande potencial na avaliação de materiais adesivos restauradores à estrutura dental.

PRATI *et al.*, 2000, avaliaram em Microscopia Eletrônica de Varredura a morfologia da camada híbrida ao longo da margem cervical de cavidades classe V restauradas com diferentes sistemas adesivos. Os autores observaram presença de porosidade na camada híbrida, bem como fibras colágenas não completamente revestidas por adesivo. A presença destas fibras ao longo da margem externa pode reduzir a capacidade seladora dos sistemas adesivos, podendo gerar espaços abertos e fendas marginais, com isso reduzindo a durabilidade da união com o passar do tempo.

Em 2001, MONTES *et al.* mensuraram a resistência adesiva de um adesivo sem carga com compósitos de baixa viscosidade e adesivos com carga aplicados em uma ou duas camadas. Foram selecionados 120 dentes bovinos que tiveram suas superfícies vestibulares expostas para obtenção de superfícies dentinárias planas com diâmetro delimitado de 4 mm para confecção da restauração. Após a realização do condicionamento ácido em todas as superfícies, os dentes foram distribuídos em seis grupos: G1 – 2 camadas do adesivo sem carga Single Bond (SB); G2 – SB + resina de baixa viscosidade Flow-It; G3 - SB + resina de baixa viscosidade Protect Liner F; G4 – aplicação do adesivo com carga

LITERATURA

OptiBond Solo (OS); G5 - 2 camadas do adesivo OS; G6 – SB + resina de baixa viscosidade experimental. Os cilindros de resina composta Z100 com 15 mm altura e 4 mm de diâmetro foram confeccionados em todos os grupos para realização do ensaio de tração a uma velocidade de 0,5 mm/min. Os autores também avaliaram as espessuras da camada híbrida e do adesivo formada. Os resultados não demonstraram influência significativa do uso de adesivos com carga ou resinas de baixa viscosidade na resistência à tração de um compósito à dentina, sendo verificada uma considerável variação apenas no padrão de fratura dos espécimes. Na análise da interface adesiva, foram encontradas espessuras de 4-5 μm para a camada híbrida e 8-14 μm para a camada adesiva do sistema SB. Já para o sistema OS, foram verificadas espessuras de 6-8 μm para a camada híbrida e 30-50 μm para a camada de adesivo.

NAKAJIMA *et al.*, em 2003, avaliaram a durabilidade da resistência a microtração de dois sistemas adesivos autocodicionantes, um contendo flúor (KBF) e outro sem flúor (SE Bond) em dentina humana. Após a realização dos procedimentos restauradores obteve-se, através de cortes seriados, oito a nove fatias de cada dente/restauração, nas quais foram confeccionadas constrições na interface adesiva de forma a obter uma secção transversal de 1 mm² de área. Realizou-se o teste de microtração um dia após a confecção da restauração, e após três e seis meses de armazenamento em água destilada. Das amostras destinadas ao armazenamento, metade foi totalmente coberta com verniz de unha e a outra metade não. Encontrou-se força de união de 44,6 \pm 11,2 MPa para o adesivo SE Bond e 39,8 \pm 8,0 MPa para o adesivo KBF para as amostras que não foram armazenadas. Para os grupos do adesivo SE Bond, que foram armazenados sem a cobertura de verniz, encontrou-se força de união de 26,3 \pm 8,8 MPa em três meses de armazenamento e 23,6 \pm 10,7 MPa para 6 meses. Entretanto para os grupos cobertos com verniz houve uma manutenção da força (41,9 \pm 12,8 MPa - três meses, e 41,8 \pm 9,8 MPa – para 6 meses). Porém para os corpos-de-prova confeccionados com sistema adesivo que contém flúor KBF, as

LITERATURA

amostras não cobertas com verniz mantiveram a força de união após três e seis meses de armazenamento, $32,4 \pm 6.1$ MPa e $36,8 \pm 2.3$ MPa, respectivamente. Similarmente, as amostras cobertas com verniz mativeram a força de união após três e seis meses de armazenamento ($39,3 \pm 13,6$ MPa e $40,9 \pm 14,7$ MPa, respectivamente). Estes resultados indicaram que a resistência de união decresce após três e seis meses de armazenamento em água destilada, entretanto, os sistemas adesivos que contém flúor atuam prevenindo essa redução.

REIS *et al.* (2004) determinaram a resistência à microtração de restaurações confeccionadas em esmalte e dentina humanos, bovinos e suínos. Compararam também a micromorfologia desses substratos em Microscopia Eletrônica de Varredura. Os resultados de resistência de união mostraram diferença significativa entre as médias obtidas em esmalte e dentina, para todas as espécies. No entanto, comparando-se os três tipos de dentes utilizados, não foi observada a presença de diferença significativa. Com relação à observação em MEV, constatou-se que em dentina, as três espécies avaliadas são similares no que diz respeito ao número e diâmetro dos túbulos. Entretanto, o esmalte suíno possui uma morfologia dos prismas totalmente irregular, contra-indicando esse tipo de substrato para realização de testes laboratoriais. Todos esses resultados encontrados levaram os autores a indicar os dentes bovinos como possíveis substitutos aos dentes humanos em estudos laboratoriais.

2.1 Cariologia

CLARKSON *et al.*, em 1986 avaliaram o efeito das enzimas proteolíticas na formação e progressão da lesão de cárie em esmalte e na dentina radicular. Estes substratos foram expostos a soluções ácidas com pH 4,0, 5,5 e 7,0 associadas ou não a enzimas proteolíticas. Os autores observaram histologicamente que na presença das enzimas ocorria a formação de uma lesão de cárie mais severa uma vez que a dentina apresentava erosões, diferentemente dos grupos que foram apenas expostos ao pH ácido, nos quais houve

LITERATURA

desmineralização com ausência de erosão. Assim, concluiu-se que estas enzimas podem contribuir com a formação de cárie.

Os objetivos do estudo *in vitro* realizado por FEATHERSTONE *et al.* (1986) foram desenvolver uma metodologia de ciclagem de desmineralização / remineralização para simular situações *in vivo* e, usando essa ciclagem, verificar o efeito de baixas concentrações de flúor no processo de remineralização. Pacientes em tratamento ortodôntico foram avaliados quanto à ação preventiva na formação de cáries, utilizando dentifrícios fluoretados (1000 ppm F) em combinação com bochecho de flúor (0,05%) ou aplicação tópica de flúor fosfato acidulado. A desmineralização foi avaliada após extração dos dentes submetidos ao regime *in vivo* por 1 mês. A utilização do dentifrício diário associado à solução enxaguatória com flúor foi capaz de proteger completamente os dentes contra desmineralização. Esses resultados encontrados *in vivo* foram reproduzidos *in vitro* por meio da realização de ciclagem de desmineralização (6 horas em solução contendo 2 mM cálcio, 2 mM fosfato e 0,075 M de acetato, pH 4,3) / remineralização (5 minutos nos produtos fluoretados testados no estudo) realizada durante 14 dias. Esses resultados permitiram aos autores concluir que a contínua presença de baixas concentrações de flúor no ambiente oral parece ser efetiva na inibição do processo de desmineralização e aumento da remineralização.

TEN CATE, em 1990 revisaram alguns aspectos relacionados aos efeitos do flúor na desmineralização e remineralização dental. De acordo com o autor, o flúor presente em baixas concentrações é efetivo na promoção da deposição mineral e inibição da dissolução mineral. Esse fenômeno de dissolução mineral pode ser atribuído à concomitante precipitação da fase mineral rica em flúor, impedindo futuras dissoluções. Esses processos resultam em inibição da desmineralização do esmalte e em melhora no padrão de remineralização do mesmo. O autor relata ainda que a realização de estudos com ciclagem de pH podem simular mais adequadamente os processos de desmineralização e remineralização que ocorrem clinicamente.

LITERATURA

QVIST *et al.*, em 1990, realizaram um estudo avaliando os materiais e os motivos para a confecção de 2542 restaurações em compósito na Dinamarca. A partir de um questionário enviado a 341 dentistas, foram respondidas questões a respeito das razões que levaram à confecção da restauração (cárie primária, ou substituição) assim como as razões que levaram a eventuais substituições dessas restaurações. Em adultos, a cárie primária foi fator responsável pela confecção de 38% das restaurações. Já em crianças, 68% das restaurações em dentes decíduos e 77% em dentes permanentes foram realizadas devido à presença de cárie primária, sendo a resina composta o material de escolha tanto para adultos quanto para crianças. Cáries secundárias e fratura das restaurações foram as razões mais frequentemente indicadas pelos dentistas na escolha pela substituição das restaurações.

Em 1992, KIDD *et al.*, conduziram uma revisão de literatura sobre cárie secundária. Eles relataram que este tipo de lesão representa a principal razão para substituição das restaurações, exceto aquelas que são confeccionadas com cimento de ionômero de vidro. Fatores como descoloração e degradação do material restaurador também têm sido causas comuns para substituição das restaurações, entretanto, a incidência destes problemas tem diminuído devido às melhoras na qualidade dos materiais restauradores. O diagnóstico de cárie secundária é difícil, principalmente nas restaurações em amálgama e, a terapia preventiva para este tipo de lesão depende do hábito e conscientização do paciente com relação à higiene bucal, bem como a qualidade da restauração, que inclui o material e técnica restauradora empregada.

SERRA & CURY, em 1992, avaliaram a progressão da cárie secundária ao redor de restaurações confeccionadas com cimento de ionômero de vidro e resina composta. Os autores utilizaram a ciclagem DES/RE para induzir experimentalmente cárie nas restaurações e utilizaram o teste de microdureza Knoop para avaliar o conteúdo mineral do esmalte submetido ao desafio cariogênico. Os resultados indicaram que o cimento de ionômero de vidro possui a

LITERATURA

capacidade de prevenir cáries, sendo este material bem indicado para os pacientes que apresentam alto risco de cárie.

FEATHERSTONE, em 1994, relatou numa revisão da literatura o provável mecanismo de desenvolvimento da cárie em raízes e o papel do flúor na inibição desta lesão. Os estágios iniciais da cárie neste substrato são comparáveis àqueles que ocorrem no esmalte, ou seja, a lesão inicia-se com a dissolução ácida dos minerais, ácido esses, produzidos pelas bactérias. A fermentação de carboidratos pelas bactérias do tipo *mutans* e lactobacilos, resulta na formação de ácidos, tais como, acético, láctico e propiônico, que removem o mineral e a matriz orgânica. Subseqüentemente a esta desmineralização, o material orgânico é quebrado pelas enzimas bacterianas. O flúor inibe a perda de mineral durante a dissolução ácida e promove também a remineralização da dentina radicular de maneira similar ao esmalte dental.

IMAZATO *et al.*, em 1994, avaliaram o efeito do monômero MDPB incorporado nos compósitos no acúmulo de placa bacteriana e nas propriedades mecânicas das resinas. O monômero MDPB não polimerizado apresentou efeito bactericida sobre os *S. mutans* e sobre seis tipos de espécies de estreptococos, efeito semelhante ao do triclosan. Após a incorporação do MDPB na resina composta e polimerização da mesma, observou-se uma redução no acúmulo de bactérias sobre o material, mesmo após noventa dias de imersão em água. Esse monômero incorporado à resina composta não alterou as suas propriedades mecânicas.

Testando a hipótese de que a adesão à dentina afetada por cárie é inferior à adesão à dentina normal, NAKAJIMA *et al.* (1995) avaliaram a influência da diferença do grau de mineralização do substrato dentinário na resistência à microtração de três sistemas adesivos: um autocondicionante (Clearfil Liner Bond 2), um frasco único (All-Bond 2) e um múltiplo frasco (Scotchbond Multi Purpose). Molares humanos extraídos, apresentando cárie oclusal que se estendia pelo

LITERATURA

menos até a metade da distância da junção amelo-dentinária à câmara pulpar, e que possuía dentina normal suficiente em volta, em um mesmo plano oclusal, foram utilizados. Para os adesivos Clearfil e All-Bond 2, os valores de adesão à dentina normal (26,9 e 29,5 MPa, respectivamente) foram significativamente maiores que à dentina afetada (13,0 e 14,0 MPa, respectivamente). Somente o sistema Scotchbond apresentou valores similares para os dois substratos avaliados. Estes autores observaram, na avaliação morfológica, que a camada híbrida apresenta uma resistência aos ataques ácido/base. Os autores concluíram que as variações morfológicas dentinárias podem determinar uma redução da qualidade adesiva, sendo que esse efeito pode ser dependente dos adesivos utilizados. Além disso, a espessura e qualidade da camada híbrida nem sempre é determinante nos valores de adesão.

Com o objetivo de testar a capacidade de remineralização de lesões dentinárias a partir de restaurações adjacentes confeccionadas com cimento de ionômero de vidro (CIV), TEN CATE & VAN DUINEN (1995) realizaram pequenos preparos circulares em discos de dentina que possuíam lesões de cárie incipiente no tecido remanescente. Esses preparos foram restaurados com amálgama, compósitos ou CIVs. Os espécimes restaurados foram posicionados em placas removíveis e utilizados por voluntários durante 12 semanas. Após esse período de tempo, os espécimes foram seccionados e analisados por meio de microrradiografias. Todos os corpos-de-prova restaurados com CIVs exibiram hipermineralização no tecido dentinário em contato com as margens da restauração.

WHITE, em 1995, realizou uma revisão de literatura sobre os diversos modelos utilizados *in vitro* na indução de cárie, bem como suas limitações. O modelo de cárie que utiliza a ciclagem de pH, expõe os substratos, esmalte e dentina à combinação de soluções remineralizadora e desmineralizadora, simulando as variações dinâmicas que ocorrem no processo natural de formação de cárie. Apesar de esse método produzir lesões semelhantes às naturais, ele

LITERATURA

apresenta limitações, pois não simula as condições biológicas de cárie e dificilmente mantém a real proporção de solução.

NAGAMINE *et al.*, em 1997, avaliaram *in vitro* o efeito inibitório dos cimentos de ionômero de vidro modificados por resina sobre lesão de cárie secundária induzidas por *Streptococcus mutans*. Foram preparadas cavidades classe V na junção esmalte-cimento das faces linguais e vestibulares de 32 pré-molares humanos. As cavidades da face vestibular foram restauradas com cimentos de ionômero de vidro convencional (Fuji II), enquanto que as faces linguais foram restauradas com cimentos de ionômero de vidro modificados por resina (Fuji II LC, Photac Fil, Vitremer), ou resina composta (Z100). As margens das restaurações foram submetidas à indução de cárie secundária e o grau de desmineralização foi avaliado por microradiografias. Confeccionou-se também discos de todos os materiais, os quais foram armazenados em água destilada por 161 dias e então, mensurou-se a liberação de flúor utilizando um eletrodo específico para este íon. Os autores encontraram como resultados que os cimentos de ionômero modificados por resina liberam quantidades de flúor semelhante ao ionômero convencional após 161 dias de armazenamento. A profundidade da lesão de cárie e a espessura da camada ácido-resistente não apresentaram diferença estatística significativa entre os cimentos de ionômero de vidro avaliados.

A substituição de restaurações devido ao desenvolvimento de cárie secundária representa um problema para a Dentística Restauradora. Baseados neste fato, DIONYSOPOULOS *et al.*, 1998, conduziram uma pesquisa para avaliar a capacidade dos cimentos de ionômero de vidro e das resinas compostas modificadas por poliácidos de inibir a formação de cárie secundária. Cavidades classe V foram preparadas nas superfícies vestibular e lingual de pré-molares humanos. Estas foram restauradas com 4 materiais: ionômero de vidro convencional (Fuji II), resina composta (Silux Plus), ionômero de vidro modificado por resina (Vitremer) e compômero (Dyract). Após cinco semanas em gel ácido,

LITERATURA

para a formação de cárie secundária, as restaurações foram seccionadas longitudinalmente e avaliadas em Microscópio de Luz Polarizada. Os resultados mostraram que os cimento de ionômero de vidro modificado por resina e resina composta modificada por poliácidos podem prevenir a formação de cáries secundária.

GILMOUR & EDMUNDS, em 1998, analisaram em Microscopia de Luz Polarizada a aparência de lesões de cárie secundária adjacentes a restaurações – amálgama, resina composta e ionômero de vidro - confeccionadas na porção coronária e radicular de dentes humanos. Empregou-se *Streptococcus mutans* para induzir artificialmente cárie secundária. Segundos os autores as lesões produzidas são similares às aquelas encontradas no processo natural, indicando uma boa alternativa para os estudos *in vitro*.

PEREIRA *et al.* conduziram um estudo *in vitro* no ano de 1998a avaliando a inibição de cáries secundárias ao redor de materiais restauradores que liberam flúor, assim como mensurar o comprimento e a largura dessas zonas de inibição em Microscopia de Luz Polarizada. Foram confeccionados preparos em forma de caixa na dentina radicular de 60 dentes bovinos. As cavidades foram separadas em quatro grupos, de acordo com o sistema restaurador empregado: ionômero de vidro modificado por resina (Fuji II LC e Vitremer), cimento de ionômero de vidro convencional (Fuji II), e sistema restaurador adesivo (Clearfil Liner Bond II) + resina de baixa viscosidade (Protect Liner F + resina Clearfil APX). Após a confecção das restaurações, essas foram isoladas com esmalte para unha, mantendo-se uma área de 1 mm ao redor das margens das restaurações expostas. Os corpos-de-prova foram imersos durante três dias em solução desmineralizante contendo CaCl_2 , NaH_2PO_4 e ácido acético ajustados ao pH de 4,5. A análise em Microscopia de Luz Polarizada foi conduzida na observação dos parâmetros de formação de zonas de inibição (região adjacente à dentina normal com birefringência semelhante à dentina normal), lesão cariada (região desmineralizada adjacente à zona de inibição, porém com birefringência positiva)

LITERATURA

e lesão de parede (zona de desmineralização ao longo da interface dentina / restauração). Em relação à altura e largura das das lesões, não foi verificada diferença significativa entre os quatro materiais utilizados. Já a largura e a altura das zonas de inibição mostraram-se dependentes do tipo de material, sendo maiores para o ionômero de vidro convencional Fuji II em relação aos ionômeros de viro modificados por resina. Não foram observadas zonas de inibição para a resina de baixa viscosidade com flúor Protect Liner F. No entanto, foram observadas lesões de parede em 80% das restaurações confeccionadas com compósito, contrastando com a ausência desse tipo de lesão nas restaurações com ionômeros.

Também em 1998b, PEREIRA *et al.* avaliaram a microdureza das zonas de inibição de cárie e dentina desmineralizada em restaurações confeccionadas com cimentos de ionômero de vidro convencional e modificadas por resina. Utilizando metodologia similar ao estudo anteriormente descrito, foram preparadas cavidades em forma de caixa na dentina radicular de dentes bovinos, as quais foram restauradas com um cimento de ionômero de vidro convencional Fuji II e dois cimentos de ionômero de vidro modificados por resina Fuji II LC e Vitremer. Após a confecção das restaurações, essas foram isoladas com esmalte para unha, mantendo-se uma área de 1 mm ao redor das margens das restaurações expostas. Os corpos-de-prova foram imersos durante três dias em 25 ml de solução desmineralizante contendo CaCl_2 , NaH_2PO_4 e ácido acético ajustados ao pH de 4,5. Em seguida, foram realizadas secções longitudinais de aproximadamente 150 μm , paralelamente ao longo eixo das raízes. Essas secções foram desgastadas até uma espessura de 100 μm para visualização em Microscopia de Luz Polarizada. A análise de microdureza Knoop foi realizada na lesão cariosa e dentina normal. Já a microdureza da zona de inibição foi mensurada por meio da dureza triangular, uma vez que a ponta do indentador Knoop era maior que a largura da zona de inibição. Foram observadas presença de lesões e zonas de inibição em todos os espécimes. A microdureza Knoop

LITERATURA

mensurada em dentina normal foi significativamente maior em comparação à dureza da lesão. A dureza triangular realizada na zona de inibição dos espécimes restaurados com Fuji II foi similar à dureza da dentina normal, com valores significativamente maiores que a dureza encontrada na zona de inibição dos espécimes restaurados com ionômero de vidro modificado por resina.

FRANCCI *et al.*, em 1999, avaliaram a liberação de flúor de alguns materiais restauradores, bem como a resistência da dentina ao processo de desmineralização e a influência do flúor no metabolismo bacteriano. Duas cavidades foram confeccionadas na porção coronária de 144 incisivos bovinos. Uma cavidade foi preenchida com material restaurador e outra com cera. Foram utilizados os seguintes materiais: a) Single Bond + Z100; b) Single Bond + Tetric Ceram; c) Fuji Bond LC + Z100; d) Fuji Bond LC + Tetric Ceram; e) Fuji II LC; ou f) Fuji IX GP. Para cada sistema restaurador obteve-se doze corpos-de-prova, nos quais foi avaliada a liberação de flúor por 24 horas. A dentina adjacente a restauração foi exposta ao ácido láctico (pH 4,3) por 3 horas e a liberação de cálcio foi mensurada. Outros doze corpos-de-prova de cada grupo foram armazenados em água destilada-deionizada por 24 horas, para em seguida serem expostas à suspensão de *S. mutans* por 6 horas. A liberação de cálcio também foi mensurada nestas amostras, assim como o pH do meio. Os autores confeccionaram cilindros com o material restaurador, os quais foram armazenados em água para a avaliação da liberação de flúor. Os resultados mostraram maior liberação de flúor nos cimentos Fuji Bond LC, Fuji IX GP e Fuji II LC. Houve uma relação direta entre os materiais que liberam mais flúor e resistência a desmineralização da dentina, ou seja, os materiais que liberam maior quantidade de flúor proporcionam maior resistência a desmineralização da dentina.

GROSSMAN & MATEJKA verificaram em 1999, o padrão do desenvolvimento de lesões de cárie em cavidades restauradas com amálgama submetidas à indução química de cárie. Foram realizados preparos classe I em 132 pré-molares humanos: 12 dentes não foram restaurados e 120 receberam

LITERATURA

restaurações de amálgama. Após armazenamento dos espécimes por períodos de 3 meses e 1 ano, os 12 preparos não restaurados e 80 dentes restaurados foram submetidos ao desafio bacteriano por 36 dias, enquanto os 40 dentes restantes foram imersos em solução ácida (pH 4,0). Os dentes foram seccionados para visualização em Microscopia de Luz Polarizada, observando-se a configuração das lesões de cárie formadas em cada uma das paredes do preparo, medindo-se a extensão das lesões de superfície, de parede e lesões em dentina formadas. Com exceção das lesões em dentina, as restaurações submetidas à imersão em solução ácida e espécimes não restaurados mostraram a formação de lesões de cárie com tamanhos similares e ocorrência nos dois lados da parede. Esses resultados demonstram que a indução química de cárie é capaz de promover desenvolvimento de lesões de cárie em um padrão mais regular na interface dente-restauração, ao contrário da indução bacteriana, a qual proporciona regiões com diferentes suscetibilidades ao desenvolvimento da cárie.

HOTTA *et al.*, 2001, avaliaram a mineralização da dentina bovina adjacente a restaurações de ionômero de vidro. Cavidades cilíndricas foram confeccionadas na dentina radicular de incisivos bovinos. Estas cavidades foram restauradas com cimento de ionômero de vidro convencional (Bond Glasionomer F, H) e resina modificada por poliácidos (Geristore, G). Os dentes foram armazenados individualmente em água destilada por 30 dias. Após este período os corpos-de-prova foram seccionados e a dentina da parede axial do preparo cavitário foi analisada para determinar a presença de flúor, cálcio e fosfato por meio de microanálise eletrônica (EPMA – *Electron Probe Microanalysis*). Foi avaliado também a microdureza Knoop da dentina adjacente à restauração. Esta microanálise demonstrou uma zona rica em flúor, cálcio e fosfato na parede axial das cavidades restauradas com cimento de ionômero de vidro convencional. Entretanto, para resina modificada por poliácido não houve a presença desta zona. Para análise de microdureza, as cavidades restauradas com cimento de ionômero convencional apresentaram maiores valores de dureza da dentina

LITERATURA

adjacente. Os autores concluíram que o flúor penetrou mais profundamente na dentina restaurada com cimento de ionômero convencional em comparação à dentina restaurada com resina modificada por poliácido, e também ocorre uma hipermineralização da dentina restaurada com ionômero de vidro.

Materiais que liberam flúor têm sido recomendados para os pacientes com alto risco de cárie. Baseados neste aspecto SHINKAI *et al.*, em 2001, avaliaram a influência de cimentos de ionômero de vidro modificados por resina no desenvolvimento de cáries secundária no esmalte e dentina ao redor de restaurações indiretas metálicas. Utilizou-se doze terceiros molares humanos, os quais foram seccionados na porção cervical em quatro blocos. Obteve-se para este experimento quatro grupos (n=12): ZP (restauração + cimento de fosfato de zinco); GI (restauração + cimento de ionômero de vidro modificado por resina); C1 (não restaurado e não ciclado); C2 (não restaurado e submetido a ciclagem de pH). Nos grupos ZP e GI uma restauração metálica foi cimentada nos preparos cavitários. Os Grupos ZP, GI e C2 foram submetidos à ciclagem de pH (DES/RE) para induzir cárie secundária. Utilizou-se a proporção de 6,25 ml de solução DES para cada 1 mm² de área exposta de dente e 3,125 ml de solução RE. Após a ciclagem de pH todos os blocos foram seccionados, embebidos em resina acrílica e polidos. Utilizou-se a análise de microdureza Knoop para avaliação da desmineralização. Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância, ao Teste Tukey e análise de regressão. Os grupos ZP, GI e C2 mostraram desmineralização em relação ao C1. Na dentina a perda de mineral foi menor nos grupos ZP e GI que em C2. Não houve diferença estatística significativa para os cimentos de ionômero de vidro modificado por resina e fosfato de zinco em ambos substratos dentais.

TORII *et al.*, 2001, avaliaram a liberação de flúor de alguns materiais incluindo cimentos de ionômero de vidro modificado por resina, compômeros e resina composta que possui flúor em sua composição. Este estudo também estimou o efeito destes materiais na inibição de cárie secundária produzidas por

LITERATURA

bactérias cariogênicas. A liberação de flúor dos materiais foi mensurada em água deionizada todos os dias durante 10 semanas. Cavidades classe V foram confeccionadas na margem gengival de pré-molares humanos extraídos e restauradas com os materiais acima citados. Os dentes restaurados foram incubados em meio contendo bactérias cariogênicas. A lesão de cárie foi observada utilizando microradiografias. Os autores observaram que os cimentos de ionômero de vidro modificados por resina liberam grande quantidade de flúor, o que proporciona uma espessa camada radiopaca (zona de inibição) ao redor de toda a restauração. Estes resultados indicam que os materiais que liberam flúor têm o potencial de inibir cárie secundária ao redor das restaurações. Os cimentos de ionômero de vidro modificados por resina apresentam este efeito mais pronunciado, quando comparados aos compômeros e resina composta que libera flúor.

NOGUEIRA *et al.*, em 2001, avaliaram a ação cariostática de materiais híbridos de ionômero de vidro/resina composta, após a simulação de uma situação de alto desafio cariogênico. Foram utilizados 105 fragmentos dentários, divididos aleatoriamente em cinco grupos, para serem restaurados com diferentes resinas compostas modificadas por poliácidos (Compoglass, F2000, Freedom, Resinomer) ou resina composta (Z100). Lesões artificiais de cárie adjacentes às restaurações foram induzidas por um modelo dinâmico de ciclagens térmicas e de pH. Os fragmentos dentários foram avaliados individualmente por três examinadores, previamente calibrados, que atribuíram escores representativos da presença e da severidade das lesões. Através dos resultados pode-se observar que as resinas ionoméricas não apresentaram o potencial cariostático esperado.

TEN CATE, em 2001, avaliou a possibilidade de remineralização de lesões cariosas em esmalte que se estendem até a dentina. Para realização deste experimento foram utilizados incisivos bovinos. Inicialmente a porção coronária foi incluída em araldite e a superfície do esmalte foi removida até 200µm da junção

LITERATURA

esmalte-dentina. Esta superfície do esmalte foi exposta à solução desmineralizadora até a formação de uma lesão na dentina com profundidade de 200µm. Estas lesões receberam quatro tratamentos por 105 e 203 dias: controle; imersão por 5 minutos semanais em solução de fluoreto de sódio 1000 ppm; adição de 1 ppm de flúor na solução remineralizadora e tratamento com *disodium methanelhydroxy bisphosphonate*. A Desmineralização e remineralização foram acompanhadas utilizando microradiografias. Com este experimento o autor conclui que é possível remineralizar lesões de cárie em esmalte e dentina, embora esse processo seja lento, principalmente em dentina.

Já no ano de 2002, DELBEM & CURY, avaliaram o efeito do tempo de aplicação do flúor gel em diferentes formulações (acidulado ou neutro) na resistência à desmineralização do esmalte e incorporação de íons flúor. Cento e noventa e dois blocos de esmalte foram obtidos de 45 molares humanos extraídos. Desses 192 blocos, 144 foram tratados com flúor gel neutro (2% NaF, pH 6,5-7,5) ou acidulado (1,23% F, 0,1 M de ácido fosfórico, pH 3,6-3,9), por 14 ou 4 minutos. Noventa e seis blocos tratados com flúor e 24 blocos do grupo controle foram submetidos ao desafio cariogênico em solução desmineralizante (2,0 mM cálcio, 2,0 mM fosfato em 0,075 M de tampão acetato, com pH 4,3) e remineralizante (1,5 mM cálcio, 0,9 mM fosfato, 150 mM de KCl em 0,1 M de tampão Tris, com pH 7,0). Após a ciclagem de pH, a desmineralização do esmalte foi mensurada por meio do teste de microdureza e o flúor incorporado foi determinado após remoção de uma camada do esmalte com condicionamento ácido. Os resultados do estudo mostraram maior incorporação do flúor acidulado no esmalte em comparação ao neutro, além da maior eficiência do flúor acidulado na redução da desmineralização dos blocos de esmalte submetidos ao desafio cariogênico. O tempo de aplicação do flúor foi significativo apenas na incorporação do flúor no esmalte, não apresentando influência significativa na resistência à desmineralização.

LITERATURA

Em 2002, GONZÁLES-CABEZAS *et al.* compararam a distribuição de três bactérias cariogênicas (*Streptococci mutans*, *Actinomyces naeslundii* e lactobacilos) em lesões de cárie ao redor de restaurações com compósitos. Foram selecionados 69 dentes humanos extraídos com evidência visual de cárie secundária ao redor de restaurações de compósito, os quais foram imunodemarkados com anticorpos e analisados tri-dimensionalmente em Microscopia Confocal. Os autores verificaram a presença dos três grupos de bactérias nas lesões de cárie secundária ao redor de restaurações em compósito, sugerindo que essas bactérias estão diretamente envolvidas na formação e desenvolvimento desse tipo de lesão.

HAN *et al.*, em 2002, avaliaram a liberação de flúor dos sistemas adesivos e a presença deste íon no esmalte e dentina adjacentes à restauração, bem como a formação da camada “ácido-resistente” após o processo de desmineralização. Foram utilizados 4 sistemas adesivos, sendo três com flúor e um sem flúor, além de um cimento resinoso fluoretado. Para quantificar a liberação de flúor confeccionaram-se cilindros de 9 mm de diâmetro e 1 mm de altura com estes materiais, os quais foram armazenados em água deionizada por 56 dias. A avaliação foi realizada com eletrodo específico para flúor nos períodos de 1, 2, 3, 7, 28 e 56 dias. Para verificar a presença do íon flúor no esmalte e dentina, foram confeccionadas cavidade classe V, as quais foram restauradas com os mesmos sistemas adesivos e cimentos utilizados na quantificação de flúor, associados à resina composta APX. Após a restauração, os corpos-de-prova foram seccionados e armazenados em água deionizada por 60 dias. Passado este período realizou-se a microanálise para identificar a distribuição de flúor no esmalte ou dentina/interface. Para identificar a camada “ácido-resistente” confeccionou-se também restaurações classe V, sendo estas, imersas em solução ácida de pH 4.5 por 12 horas e armazenadas por 60 dias. Os autores concluíram que houve a liberação de flúor dos sistemas adesivos e cimento resinoso. A presença de flúor no esmalte e dentina/interface aumentou conforme o aumento

LITERATURA

da espessura da camada “ácido-resistente”. Sendo assim, estes materiais são capazes de prevenir a formação de cárie secundária.

FONTANA & GONZÁLES-CABEZAS, em 2002 realizaram uma revisão de literatura sobre as principais causas dos fracassos e substituições das restaurações. Relataram a histopatologia e etiologia da cárie secundária, bem como as dificuldades de diagnóstico destas lesões, possíveis tratamentos e prevenção. Os autores concluíram dizendo que embora a cárie secundária ainda represente o principal fator causador do fracasso das restaurações, o diagnóstico precoce da lesão é importante para que se estabeleça um tratamento que possa adiar a substituição da restauração.

ITOTA *et al.*, 2002, avaliaram o efeito dos sistemas adesivos que liberam flúor na inibição de cárie secundária. Foram utilizados dois sistemas adesivos que liberam flúor, reactmer bond (RB) e One Up Bond F (OB), e um sistema adesivo que não libera flúor, Mac-Bond (MB). Como material restaurador foram utilizados dois materiais que não liberam flúor, Lite-fil II A (LF) e Estelite (EL), e um material fluoretado Reactmer Paste (RP). Cavidades classe V foram preparadas na junção esmalte-cimento e restauradas com várias associações: MB/EL, OB/EL, RB/LF e RB/RP. As restaurações foram incubadas em meio contendo sacarose e *Streptococcus mutans* por 14 dias. A profundidade da lesão e sua extensão foram verificadas em micro radiografias, as quais demonstraram presença de lesão cariiosa em todas as amostras e uma zona “ácido-resistente” adjacente as restaurações. Para a combinação OB/EL, RB/LF e RB/RP não houve diferença estatística significativa para espessura dessa zona “ácido-resistente”. Entretanto, MB/EL apresentou menor espessura. O grupo RB/RP apresentou menor profundidade de lesão. Os autores concluíram que os sistemas adesivos que liberam flúor são efetivos na prevenção da lesão na parede cavitária, entretanto, não são capazes de reduzir a profundidade da lesão. Somente a combinação de um sistema adesivo que libera flúor com um material restaurador que também libera flúor é capaz de inibir a formação de cárie secundária.

LITERATURA

TOBA *et al*, em 2003, avaliaram o efeito da aplicação tópica de flúor gel na formação de cárie secundária ao redor de restaurações adesivas. Duas cavidades foram preparadas, na superfície lingual e vestibular de raízes bovinas. As cavidades foram restauradas com um adesivo que não libera flúor (Clearfil SE Bond) e outro adesivo experimental que libera flúor (ABF). Flúor gel acidulado (pH 4.2) foi topicamente aplicado na margem da restauração por 0 (não aplicação), 1, 2 e 4 minutos antes da imersão da restauração em solução desmineralizante (pH 4.5). Foram realizados cortes no longo eixo da raiz para a verificação da profundidade da lesão de cárie secundária e avaliação da espessura da zona de inibição, as quais foram analisadas em Microscopia de Laser Confocal. Os dados foram submetidos à análise de variância e Teste Fisher's ($p < 0,05$). Os autores observaram que a presença da zona de inibição esteve presente apenas no adesivo ABF, com ou sem a aplicação tópica de flúor. A aplicação tópica de flúor por 2 e 4 minutos reduziu significativamente a profundidade de cárie para os dois adesivos. Conclui-se que ocorre a formação de uma zona de inibição somente para o sistema adesivo que apresenta flúor. A aplicação tópica de flúor por 2 minutos reduz significativamente a profundidade da lesão de cárie.

O objetivo do estudo realizado em 2004 por LOBO *et al*. foi avaliar o efeito cariostático de sistemas adesivos autocondicionantes contendo agentes antibacterianos em sua composição. Para isso, setenta e cinco fatias de dentes bovinos foram distribuídas em cinco grupos: (1) compósito Filtek Z250, sem adesivo e sem desafio cariogênico; (2) Z250 + desafio cariogênico; (3) Clearfil SE Bond, sem agente antibacteriano + Z250; (4) Protect Bond, contendo MDPB e flúor + Z250; (5) Reactmer Bond, com flúor + Z250. O desafio cariogênico consistiu de imersão em meio de cultura contendo *Streptococcus mutans* por 5 dias, enquanto que o grupo controle foi mantido em meio não-inoculado. Foram realizadas quantificações dos polissacarídeos insaturados presentes no biofilme dental e mensuração da Microdureza Knoop no esmalte adjacente à restauração. Com exceção do grupo (1), todos os demais grupos apresentaram formação de

LITERATURA

cárie similar. Os grupos restaurados com Protect Bond apresentaram as menores quantidades de polissacarídeos em seu biofilme, enquanto que o adesivo SE Bond apresentou as maiores quantidades. A partir desses resultados, os autores puderam concluir que todos os sistemas adesivos avaliados no estudo foram capazes de inibir o desenvolvimento de cárie secundária.

SAVARINO *et al.*, em 2004, conduziram um estudo *in vitro* para avaliar o potencial de materiais restauradores na inibição da formação de cáries secundárias. Preparos Classe V foram confeccionados em 16 terceiros molares humanos extraídos, divididos em quatro grupos contendo diferentes materiais restauradores: Group A – adesivo de condicionamento total ScotchBond 1 + compósito Z250; Group B - ScotchBond 1 + compômero F2000; Group C – adesivo com flúor ABF + compósito APX e Group D – ABF + F2000. Os corpos-de-prova restaurados foram em seguida imersos em solução desmineralizante (ácido láctico, pH 4,5) durante dois dias para simular a formação de cárie secundária. A efetividade dos materiais restauradores em prevenir a formação de cárie secundária foi mensurada em Microscopia de Luz Polarizada e microrradiografia, avaliando a forma, tamanho (profundidade em μm), volume de dentina mineral (%) e perda de mineral integrada (% vol μm) da lesão. Foram utilizadas diferentes áreas para avaliação: dentina *perimarginal* (dentina próxima à margem da restauração), onde uma lesão superficial ou zona de inibição de cárie (ZIC) pode ser verificada, e dentina *exposta*, onde a lesão ocorria. Os grupos restaurados com compômeros (GB e GD) mostraram uma menor espessura de desmineralização das lesões, assim como ao longo da dentina *perimarginal*, e maior zona de inibição de cárie ou ZICs comparados aos grupos restaurados com compósitos. Dessa maneira, os autores concluíram que os compômeros possuem melhor capacidade de conter a desmineralização marginal induzida por soluções ácidas e favorecer a formação de ZICs ao longo das restaurações. Em contrapartida, os compósitos não possuem esse efeito protetor, provavelmente

LITERATURA

devido ao insuficiente selamento marginal e ausência de liberação de flúor em sua composição.

Também em 2004, Lobo *et al.* analisaram o desenvolvimento de lesões de cárie ao redor de diferentes materiais restauradores, utilizando modelos de indução de natureza química e biológica. Cavidades cilíndricas foram preparadas em 130 fragmentos dentais bovinos, divididos aleatoriamente em seis grupos de acordo com o tratamento restaurador: G1 – cimento provisório à base de óxido de zinco (Coltosol, n=30); G2 – amálgama (Permite C, n=20); G3 – resina composta (Filtek Z250, n=20); G4 – cimento de ionômero de vidro (Fuji II, n=20); G5 – cimento de ionômero de vidro modificado por resina (Vitremmer, n=20); e G6 – resina composta modificada por poliácidos (Dyract AP, n=20). Dez espécimes de cada grupo restaurado foram submetidos a 10 dias de ciclagem de pH (GQ, =60), e outros dez espécimes de cada grupo foram incubados com *Streptococcus mutans* (GB, n=60) por cinco dias. O grupo controle (dez espécimes de G1) não foi submetido a nenhum desafio cariogênico (GC). O volume mineral (%) das lesões de cárie foi calculado a partir de ensaios de microdureza, e a profundidade dessas lesões foi medida em Microscópio de Luz Polarizada. A composição bioquímica do biofilme formado sobre cada material restaurador no GB foi avaliada. Ambos os modelos de indução utilizados desenvolveram lesões de cárie secundária. Foi observado efeito cariostático superior para os cimentos ionoméricos convencional e modificado por resina, em comparação com os demais materiais. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas nos níveis de flúor e polissacarídeo insolúvel no biofilme dental, mas observou-se uma relação inversa entre a quantidade de fósforo inorgânico no biofilme dental e o potencial de inibição de cárie dos materiais restauradores.

3. PROPOSIÇÃO

O presente estudo *in vitro* propôs-se a:

- Avaliar a influência de sistemas adesivos com e sem flúor na resistência à microtração de restaurações confeccionadas em dentina bovina, submetidas à indução química dinâmica (ciclagem DES-RE) de cárie secundária;
- Avaliar, em Microscopia Eletrônica de Varredura, o padrão de fratura encontrado nas amostras submetidas ao ensaio de microtração;
- Avaliar, através de Microscopia de Luz Polarizada, a profundidade das lesões formadas pela indução química dinâmica de cárie secundária, desenvolvidas para cada sistema adesivo;
- Avaliar nas soluções DES e RE a liberação de íons Flúor dos sistemas adesivos.

MÉTODOS

4. MATERIAL E MÉTODOS**4.1. Delineamento experimental**

Para a realização deste estudo *in vitro*, o seguinte delineamento experimental (FIG 1) foi respeitado:

Unidades experimentais:

- 80 incisivos inferiores bovinos

Fatores em estudo:

- Sistemas adesivos (4 níveis)
- Indução química de cárie (2 níveis)

Variável de resposta:

- Resistência de união
- Profundidade de cárie
- Análise quantitativa de flúor

MÉTODOS

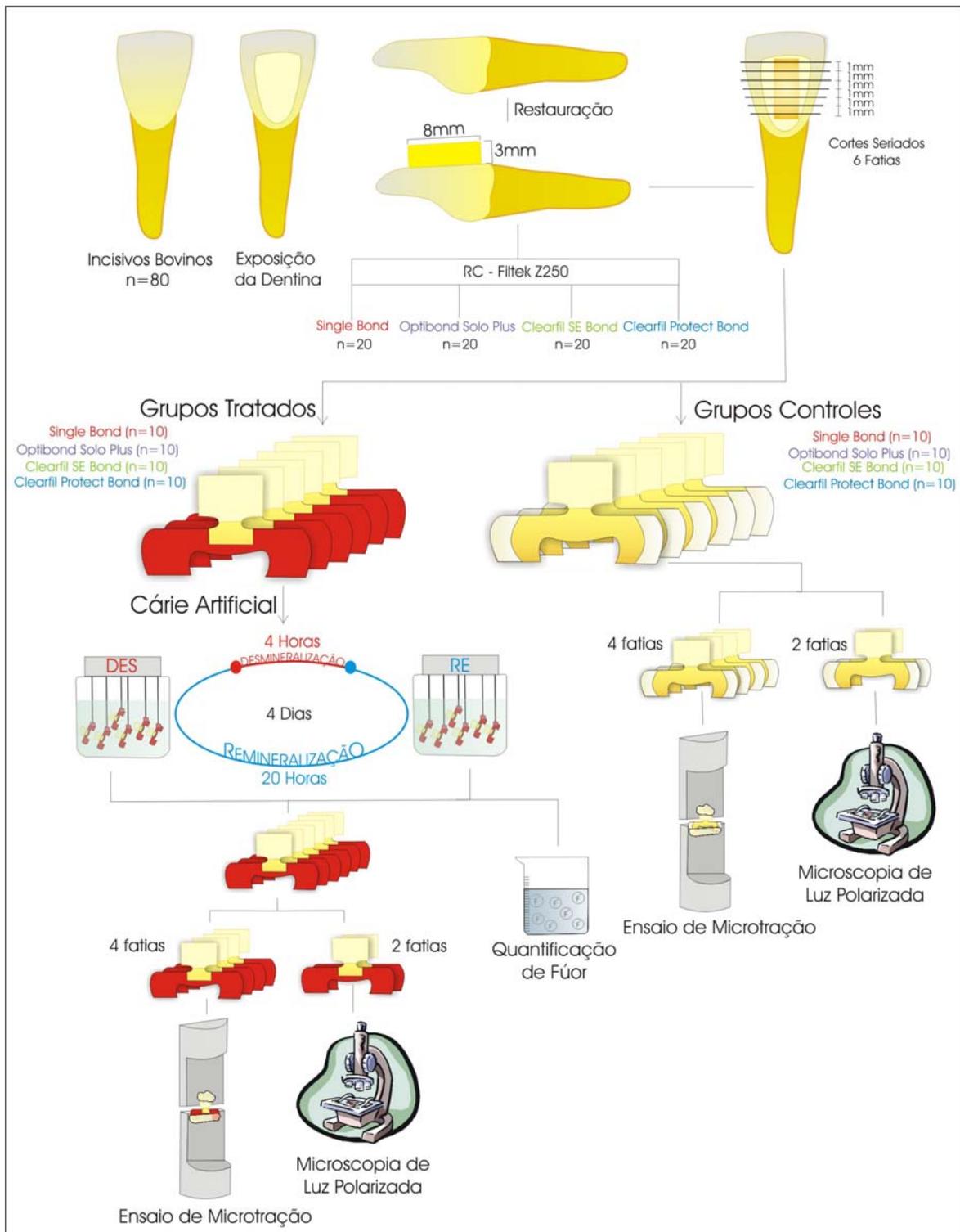


FIGURA 1 – Representação esquemática do delineamento experimental.

MÉTODOS

4.2. Coleta, armazenamento, seleção e preparo inicial dos dentes

A amostra foi constituída por oitenta incisivos inferiores bovinos recém-extraídos que foram armazenados por uma semana em solução de timol a 0,1% para desinfecção, a uma temperatura de 4°C. Dentes que não apresentavam volume coronário adequado foram excluídos deste estudo. Os dentes foram limpos manualmente com curetas periodontais a fim de se remover debris orgânicos e inorgânicos, e polidos em baixa rotação (Kavo do Brasil S.A. Ind. e Com., Joinville, SC, Brasil) com taça de borracha embebida em mistura de pedrapomes e água.

4.3. Preparo da superfície dentinária

O esmalte vestibular foi removido através da utilização de lixas de carbetto de silício (Carburundum, Saint-Gobain Abrasivos LTDA, Guarulhos, SP, Brasil) acopladas em politriz mecânica (MaxiGrind Solotest, São Paulo, SP, Brasil), sob constante irrigação à água (FIG 2A). Foram utilizadas lixas de granulação decrescente, partindo da granulação 120 e passando pelas granulações 320, 400 e 600. Após a exposição da superfície dentinária (FIG 2B), os dentes tiveram suas porções radiculares removidas com o auxílio de discos diamantados dupla-face (KG Sorensen Ind e Com. LTDA, Barueri, SP, Brasil) em baixa rotação (FIG 3).

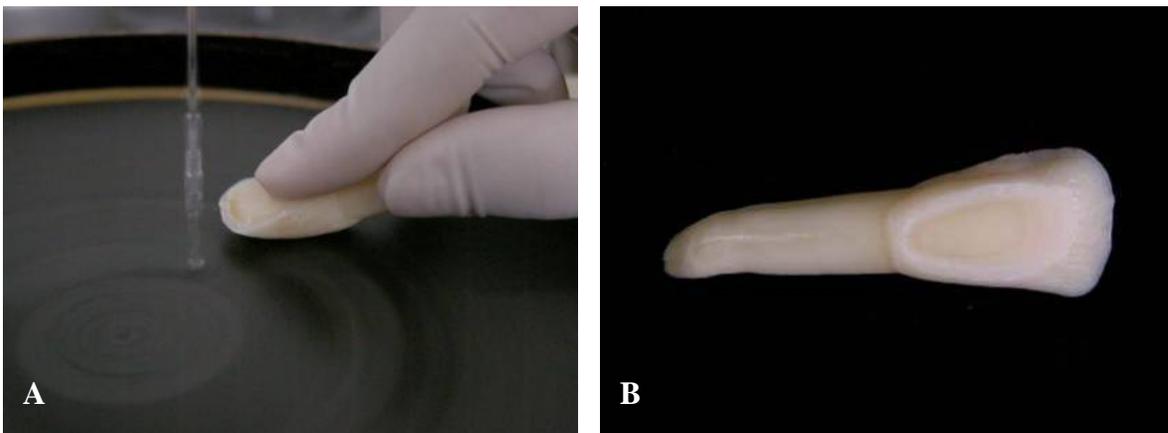


FIGURA 2 – Desgaste da superfície vestibular dos dentes bovinos em politriz mecânica, sob constante irrigação à água (A), para exposição da superfície dentinária (B).

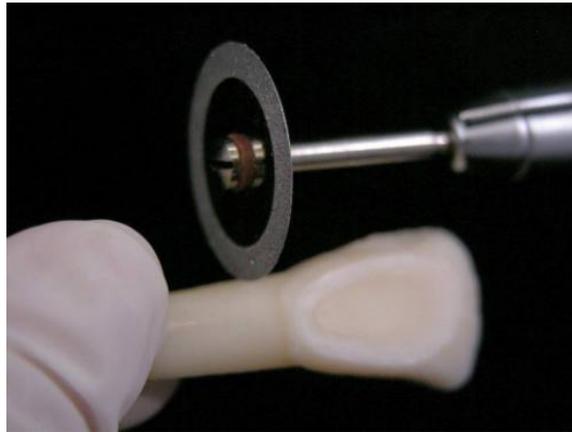


FIGURA 3 – Seccionamento da porção radicular com disco diamantada dupla-face.

Após este procedimento, todas as superfícies dentinárias foram inspecionadas em Microscópio ótico com 20 vezes de aumento (Meiji Techno América, San Jose, CA, Estados Unidos), a fim de se encontrar possíveis áreas de esmalte remanescente. Os dentes que possuíam superfícies em esmalte voltaram a ser desgastados em politriz mecânica, com a lixa de granulação 600.

Os dentes foram armazenados em potes plásticos, com algodão embebido em água destilada deionizada (umidade relativa), por 24 horas até a realização dos procedimentos restauradores.

4.4. Procedimentos adesivos e “restauradores”

Para a confecção dos blocos de resina composta (“restaurações”), os dentes foram distribuídos em quatro grupos (n=20), de acordo com o sistema adesivo (FIG 4 e anexo 1) utilizado para a confecção das restaurações:

G1: sistema adesivo de condicionamento ácido total Single Bond – sem flúor (3M ESPE Dental Products Division, St. Paul, MN, Estados Unidos);

MÉTODOS

G2: sistema adesivo de condicionamento ácido total OptiBond Solo *Plus* - com flúor (Kerr Corporation, Orange, CA, Estados Unidos);

G3: sistema adesivo autocondicionante Clearfil SE Bond – sem flúor (Kuraray Co, LTD, Kurashiki, Okayama, Japão);

G4: sistema adesivo autocondicionante Clearfil Protect Bond – com flúor (Kuraray Co, LTD, Umeda, Osaka, Japão).



FIGURA 4 - Sistemas adesivos e resina composta utilizada no estudo.

MÉTODOS

A aplicação dos sistemas adesivos foi realizada seguindo-se as normas de cada fabricante, conforme descrito abaixo:

Single Bond - A superfície dental foi condicionada por 15 segundos com gel de ácido fosfórico 35% (3M ESPE, Products Division, St. Paul, MN, Estados Unidos) (FIG 5) e lavada pelo mesmo tempo. Após a remoção do excesso de umidade com papel absorvente, duas camadas consecutivas do adesivo foram aplicadas (FIG 6) com auxílio de pincel aplicador (Microbrush, KG Sorensen Ind e Com. LTDA, Barueri, SP, Brasil), seguidas de um leve jato de ar com a finalidade de evaporar o solvente. O adesivo foi fotoativado nas duas porções coronárias, ou seja, cervical e média, com o tempo de exposição de 10 segundos por região.

Optibond Solo Plus - A superfície dental foi condicionada por 15 segundos com gel de ácido fosfórico 35% (3M ESPE, Products Division, St. Paul, MN, Estados Unidos), lavada por 15 segundos e levemente secada com papel absorvente. O adesivo foi aplicado com auxílio de pincel aplicador durante 15 segundos, pincelando-o levemente sobre a superfície. Decorrido este tempo, um leve jato de ar foi aplicado por 2 segundos e, em seguida, o adesivo foi fotoativado por 20 segundos em cada região.

Clearfil SE Bond - com auxílio de pincel aplicador, o *primer* foi aplicado de forma ativa por 20 segundos sobre a superfície da dentina seca. Em seguida, aplicou-se um leve jato de ar por 2 segundos e uma camada do adesivo, seguida também de leve jato de ar e fotoativação durante 10 segundos em cada região.

Clearfil Protect Bond - com auxílio de pincel aplicador, o *primer* foi aplicado de forma ativa por 20 segundos sobre a superfície da dentina seca. Em seguida, aplicou-se de um leve jato de ar por 2 segundos e uma camada do adesivo, seguida também de leve jato de ar e fotoativação durante 10 segundos em cada região.

MÉTODOS



FIGURA 5 – Condicionamento ácido durante 15 segundos.

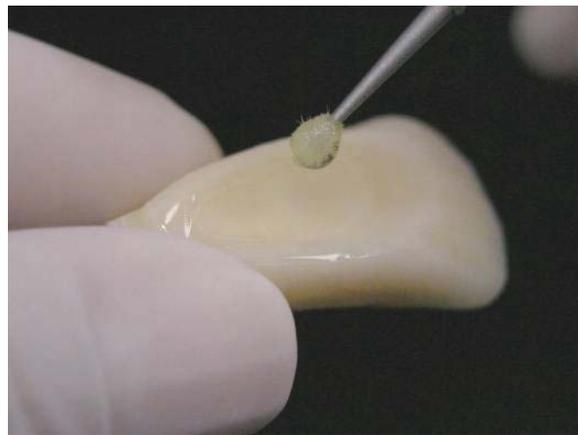


FIGURA 6 – Aplicação do sistema adesivo sobre a superfície dentinária úmida.

Após a execução dos procedimentos adesivos, de acordo com cada grupo experimental, um bloco de resina composta microhíbrida fotopolimerizável Filtek Z250 na cor A2 (3M ESPE, Products Division, St. Paul, MN, Estados Unidos), com 3 mm de largura, 3 mm de espessura e 8 mm de comprimento, foi confeccionado sobre a superfície dentinária tratada (FIGs 7A e 7B). Estas dimensões foram monitorados com auxílio de um paquímetro digital. A resina foi inserida em dois incrementos, cada um de 1,5 mm de altura, sendo os mesmos fotoativados por 20 segundos em suas duas regiões, ou seja, médio-incial e médio-cervical totalizando, dessa maneira, 40 segundos de fotoativação para cada incremento. A unidade fotoativadora utilizada é constituída à base de luz halógena (VIP Jr., Bisco, Inc), tendo sua intensidade de luz periodicamente monitorada com o radiômetro Hilux Light Meter (First Medica, Greensboro NC, USA), encontrando-se entre 670 - 710 mW/cm².

MÉTODOS

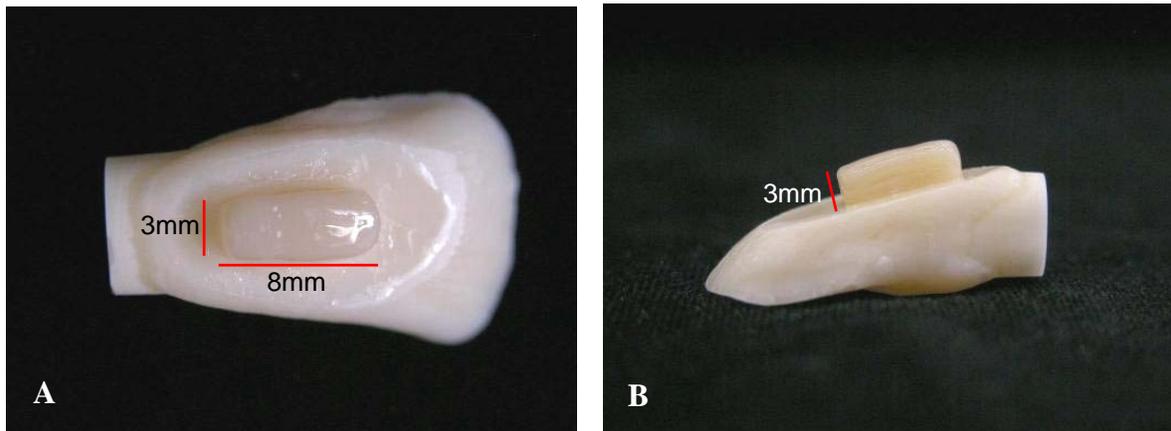


FIGURA 7 – Vista frontal (A) e lateral (B) da restauração concluída, apresentando as seguintes dimensões: 8mm de comprimento, 3mm de largura e 3mm de espessura.

Após os procedimentos restauradores, os espécimes de cada grupo foram re-distribuídos em dois sub-grupos, de acordo com a exposição à ciclagem de pH para indução de cárie. Dessa maneira, foram formados oito grupos experimentais (n=10), descritos no quadro 1:

Quadro 1: Grupos experimentais formados de acordo com a associação entre tratamentos propostas no estudo.

GRUPOS	SISTEMAS ADESIVOS	TRATAMENTOS
G1	Single Bond	Controle
G1.1	Single Bond	Ciclagem de pH
G2	Optibond Solo Plus	Controle
G2.1	Optibond Solo Plus	Ciclagem de pH
G3	Clearfil SE Bond	Controle
G3.1	Clearfil SE Bond	Ciclagem de pH
G4	Clearfil Protect Bond	Controle
G4.1	Clearfil Protect Bond	Ciclagem de pH

MÉTODOS

4.5. Preparo dos espécimes para o ensaio de microtração

Os dentes restaurados foram individualmente fixados com cera pegajosa (KOTA Ind. E Com. LTDA, São Paulo, SP, Brasil) em placas de acrílico (FIG 8A), paralelamente ao longo seu eixo, para serem adaptados à cortadeira metalográfica de precisão (Isomet 1000, Buehler, Lake Bluff, IL, Estados Unidos). Em seguida, foram realizados 7 cortes seriados (FIG 8B) com espessuras de aproximadamente 1,0 mm, no sentido mesio-distal do conjunto dente-restauração, através de um disco com alta concentração de diamante (Extec Corp., Enfield, CT, Estados Unidos), girando em baixa velocidade sob irrigação constante com água destilada/deionizada. Sendo assim, foram obtidas seis fatias a partir de cada dente.

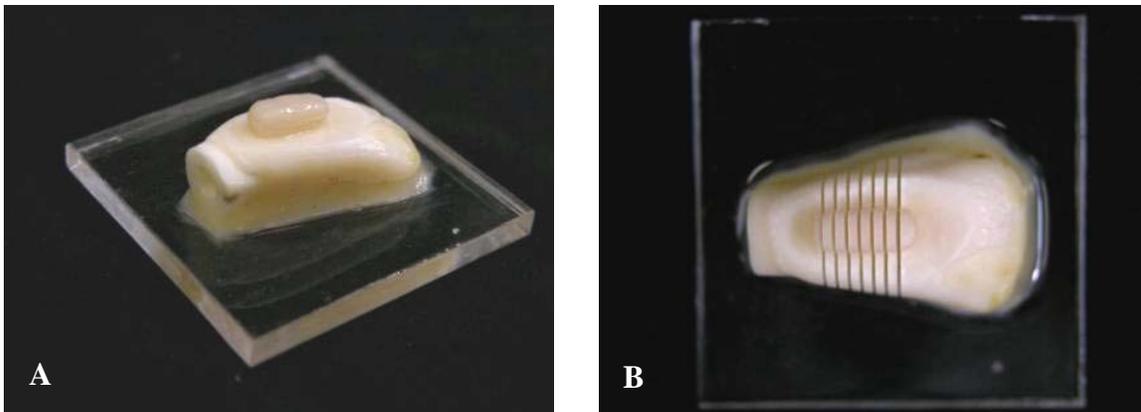


FIGURA 8 – Dente restaurado posicionado na placa de acrílico (A), para que os cortes seriados pudessem ser realizados (B).

Estes cortes foram realizados tomando o cuidado para não separar totalmente as fatias da base acrílica fixada com cera. Após o corte, a base dos dentes foi seccionada perpendicularmente ao seu longo eixo com discos diamantados dupla-face, para separação das seis fatias (FIG 9). Estas foram mantidas em umidade relativa, contendo algodão embebido em água destilada e deionizada.

MÉTODOS

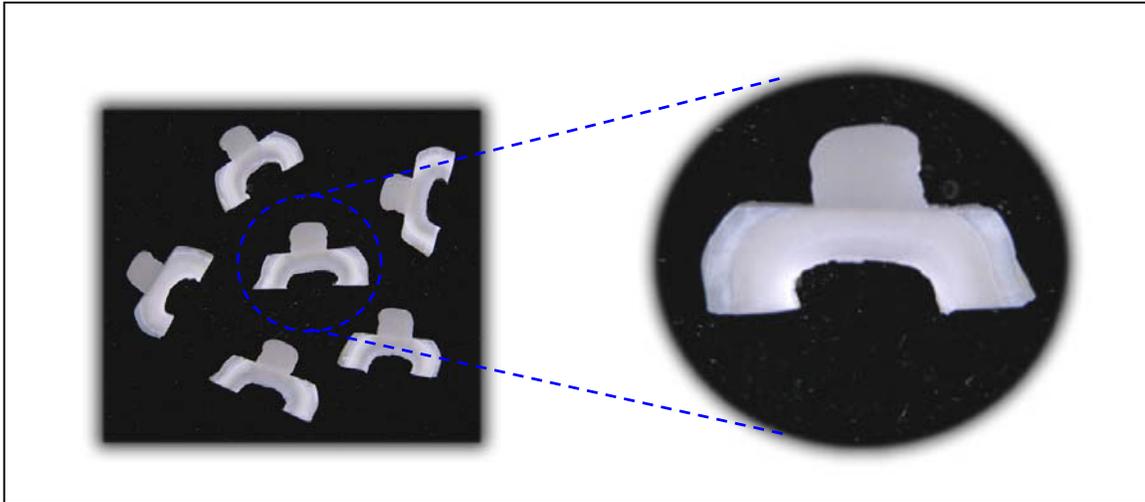


FIGURA 9 – Espécimes obtidos a partir do corte seriado do conjunto dente-restauração.

Para obtenção dos espécimes com o formato de *hour-glass* (ou ampulheta) (FIG 10), foram utilizadas pontas diamantadas extrafina #1093 FF (KG Sorensen Ind. e Com. LTDA, Barueri, SP, Brasil) montadas em turbina de alta rotação (Kavo do Barsil S.A. Ind. e Com., Joinville, SC, Brasil) sob refrigeração constante. Foram realizados desgastes proporcionais na altura da interface adesiva obtendo, assim, o formato de ampulheta (FIG 10) com uma área adesiva de, aproximadamente, 1,0 mm². A área da secção transversal da interface dente-restauração foi constantemente monitorada com o auxílio de paquímetro digital (Carl Mahr, GmbH, Esslinger, Alemanha).

MÉTODOS

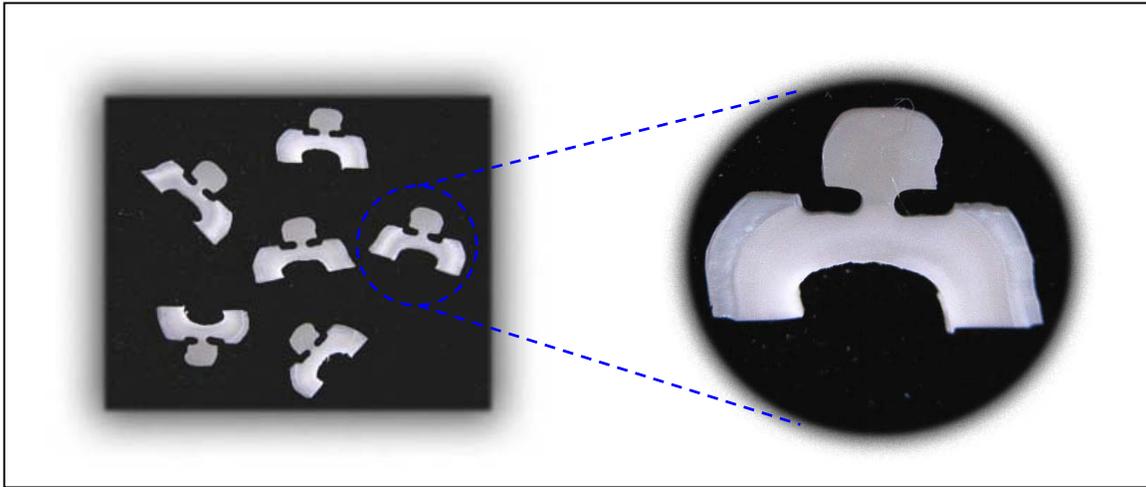


FIGURA 10 – Espécimes com formato de *hour-glass*.

Os grupos experimentais submetidos à indução química de cárie secundária foram preparados conforme descrito a seguir e, os grupos controle, foram submetidos ao teste de microtração conforme descrito no item 4.8.

4.6. Preparo dos dentes para a ciclagem de pH

Após a obtenção dos espécimes em formato de ampulheta, estes foram fixados com cola quente a fios ortodônticos #5, de aproximadamente 6,0 cm de comprimento, e estes foram fixados com cera #7 (Probem Divisão Odontológica, Catanduva, SP, Brasil) e cola quente à tampa de potes plásticos (FIG 11A) devidamente numerados. Cada pote continha as 6 fatias de um mesmo dente. Sendo assim, para cada grupo obteve-se 10 potes destinados à solução remineralizadora e 10 para solução desmineralizadora.

Estando fixadas as fatias na tampa dos potes, estas foram isoladas com aplicação de duas camadas de verniz para unha (Impala, Lab. Avamiller de Cosméticos LTDA, Guarulhos, SP, Brasil) em toda a superfície, deixando apenas uma área de 1 mm² ao redor de cada lado correspondente à interface adesiva (LOBO, 2004), totalizando 4 mm² de dentina/interface união exposta à ciclagem de pH (FIG 11B).

MÉTODOS

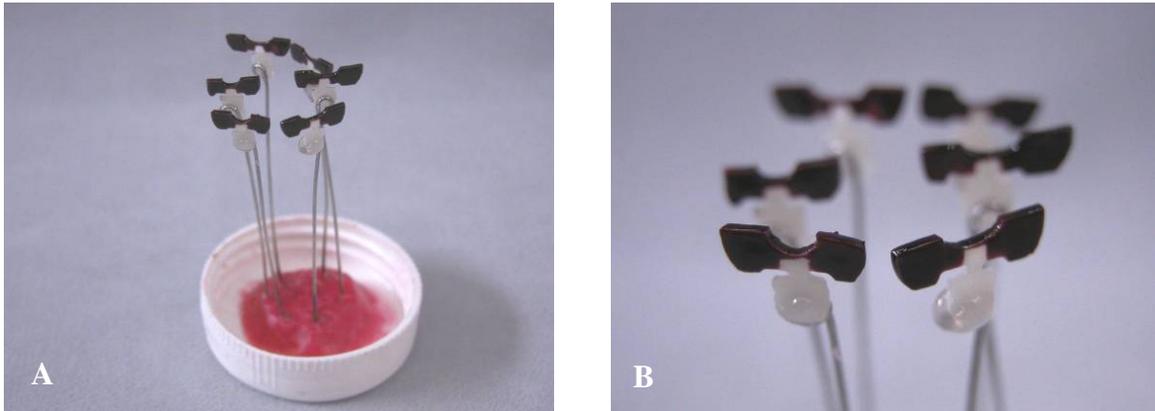


FIGURA 11 – Espécimes isolados com esmalte para unha e fixados em tampas plásticas com cera utilidade para posterior indução de cárie (A); Vista aproximada dos espécimes isolados, mantendo apenas uma região de 4mm² de dentina exposta ao redor da interface de união (B).

Ao término dos preparos de delimitação da área, todas as fatias foram mantidas em potes, utilizados para remineralização, em umidade relativa até a completa secagem do verniz.

4.7. Modelo Químico de indução de cárie: Ciclagem dinâmica de pH

As amostras destinadas à indução de cárie foram submetidas ao regime de ciclagem de pH baseado nos estudos de FEATHERSTONE *et al.* (1986) e DELBEM & CURY (2002). Estudos pilotos prévios foram realizados para determinar o número de ciclos e período de exposição às soluções DES e RE que se adequasse melhor à metodologia proposta.

A ciclagem iniciou-se com a imersão das amostras em 75 ml de solução remineralizadora (FIG 12) por 20 horas, a 37°C. Após esse período, as fatias dentais foram lavadas por 30 segundos em água destilada deionizada e imersas em 150 ml de solução desmineralizadora (FIG 12) por 4 horas, a 37°C (FIG 13). O volume de soluções DES e RE foi calculado em função da área exposta à

MÉTODOS

ciclagem (24 mm²) por pote, na proporção de 6,25 ml/mm² e 3,125 ml/mm², respectivamente (SHINKAI *et al.*, 2001, LOBO, 2004).



FIGURA 12 – frascos plásticos devidamente numerados e identificados com as soluções DES-RE utilizadas na ciclagem de pH.

No total, foram realizados 4 ciclos de 24 horas conforme ilustrado na Figura 13. Após o término do último ciclo de desmineralização, as amostras foram mantidas em solução remineralizadora, por aproximadamente 15 horas, até a realização do teste de microtração. Cabe ressaltar, mais uma vez, que esse modelo foi baseado em pilotos realizados previamente ao desenvolvimento do experimento, buscando estabelecer um protocolo adequado para metodologia proposta.

MÉTODOS

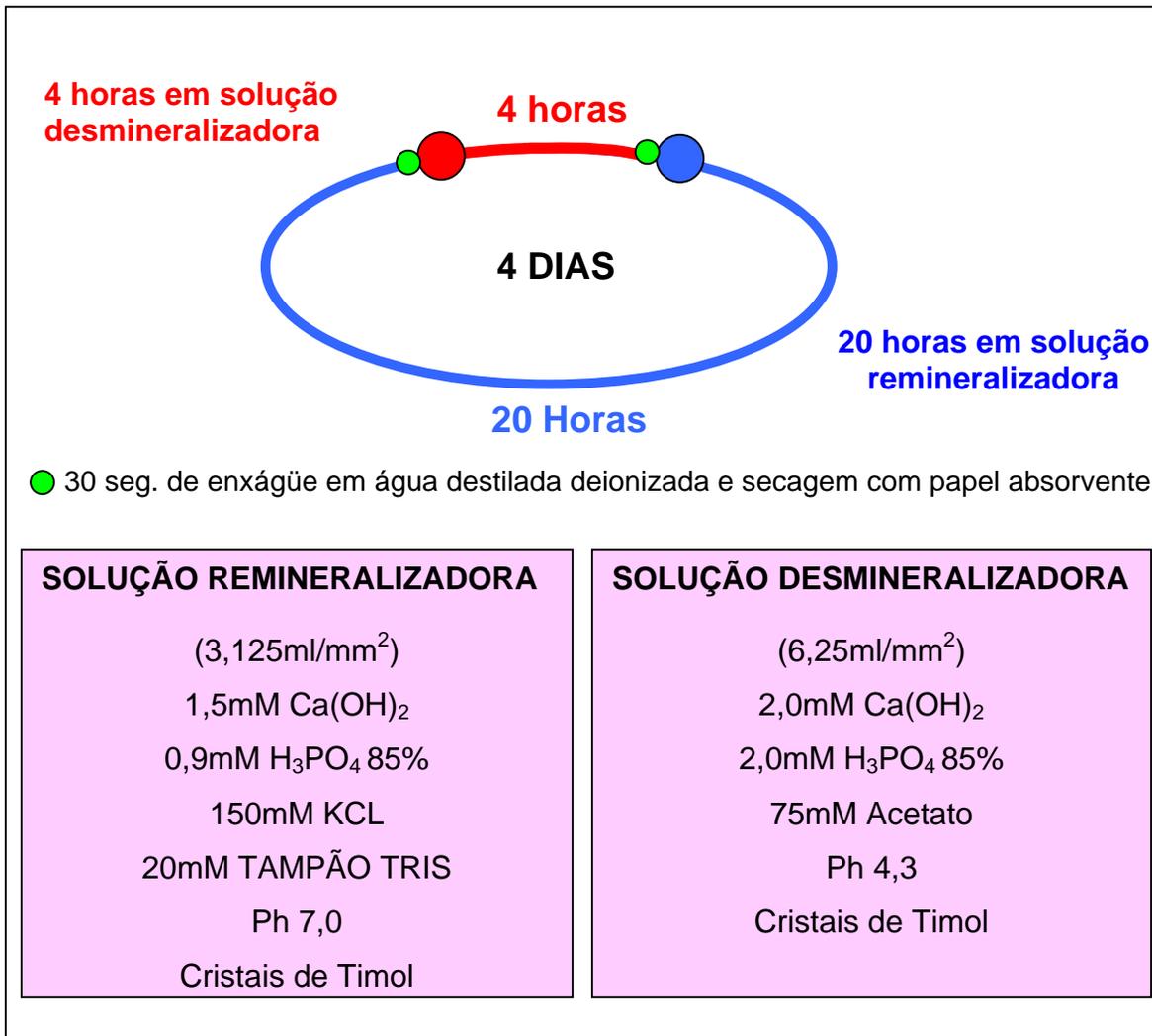


FIGURA 13 - Diagrama das ciclagens de pH e composição das soluções DES e RE.

4.8. Ensaio de microtração

Como foi possível obter 6 fatias do conjunto dente/restauração para cada dente, foram selecionadas aleatoriamente 4 para o ensaio de microtração e as 2 restantes foram preparadas para avaliação de Microscopia de Luz Polarizada, tanto dos grupos que sofreram indução química de cárie secundária quanto dos grupos controle.

MÉTODOS

Para realização do ensaio de microtração foi utilizado um dispositivo metálico específico para este ensaio acoplado à Máquina de Ensaio Universal (EMIC LTDA, São José dos Pinhais, PR, Brasil). Os espécimes foram individualmente fixados ao dispositivo com adesivo à base de cianocrilato (Henkel Loctite Adesivos LTDA, Itapevi, SP, Brasil) pelas suas extremidades, de modo a posicionar a área de adesão perpendicularmente ao longo eixo de aplicação da carga (FIG 14).

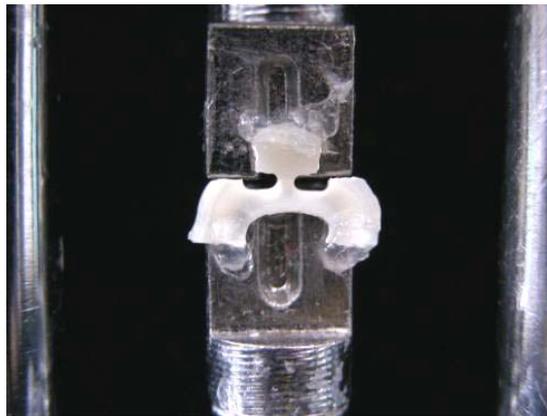


FIGURA 14 – Espécime posicionado no dispositivo de microtração.

Os testes foram realizados com velocidade constante de 0,5 mm/min. Durante todo o teste, o evento foi monitorado por um programa de computador que apresenta, em sua tela, um gráfico representativo da carga em função do deslocamento. Os valores máximos da tensão, em quilograma-força (kgf), foram registrados no momento da fratura. As duas porções fraturadas foram removidas do dispositivo e a interface adesiva foi mensurada com paquímetro digital. A área de cada corpo-de-prova foi calculada e, os valores de resistência de união em Kgf por cm^2 , transformados em MPa.

MÉTODOS

4.9. Avaliação do padrão de fratura

Para análise do padrão de fratura, os dois lados de cada espécime fraturado, foram fixados com resina composta em *stubs* metálicos, coberto com uma fina camada de ouro em metalizadora a vácuo (Dentun Vacuum Desk II: Denton Vacuum LLC, Moorestown, NJ, USA) e examinados em Microscópio Eletrônico de Varredura (JSM 5600 LV; Jeol, Tóquio Japão). As fraturas foram classificadas em: fratura de interface (camada híbrida), coesiva no adesivo, coesiva em dentina e mista (quando envolveu mais que um dos padrões) (NAKAJIMA *et al.*, 2003).

4.10. Análise da profundidade das lesões de cárie

Após a fase de indução de cárie, duas fatias de cada dente foram preparadas para a avaliação da profundidade da lesão de cárie em Microscópio de Luz Polarizada (Leica DMLSP, Leica Microsystems, Heerbrugg, Switzerland). Estas fatias foram embutidas (FIG 15) em resina epóxica (Epoxicure Resin, Buehler, USA) com auxílio de tubos de PVC com 15 mm de diâmetro interno e 3 mm de altura. A seguir estas secções foram lixadas com lixas de carbetto de silício (granulações 180) acopladas em politriz mecânica, sob constante irrigação à água caracterizando, assim, uma primeira redução de espessura. Depois foram também lixadas manualmente com lixas de carbetto de silício de granulações 600 e 1200, dispostas sobre placas de vidro e refrigeração com água, até que a espessura final alcançasse $0,10 \pm 0,02$ mm (PEREIRA *et al.*, 1998b; GROSSMAN & MATEJKA, 1999), conferindo-se com paquímetro digital.

MÉTODOS



FIGURA 15 – Espécime incluído em resina epóxica para posterior análise da profundidade de lesão de cárie.

Para a avaliação da lesão, apenas uma fatia de cada dente foi embebida em água, disposta sobre lâminas de vidro seladas com lamínulas, e visualizada em Microscópio de Luz Polarizada com uma câmera acoplada. As imagens, captadas com uma lente de 10x de aumento, foram transferidas para o monitor de um computador, através do software Image-Pro® Plus (Version 4.1 for Windows™, Media Cybernetics). Foi selecionado para a avaliação da profundidade o lado da amostra que apresentou a lesão mais profunda e mais nítida, sendo a profundidade da lesão de cárie mensurada nas distâncias de 5, 10, 25 μ m a partir da interface adesiva (FIG 16), utilizando uma ferramenta de medida linear do programa de computador. Foi adotado como pontos iniciais de referência a superfície da resina, uma vez que em algumas amostras houve perda de estrutura dentinária, e a interface do adesivo (FIG 16). Os resultados foram obtidos em micrômetros, correspondendo à profundidade das lesões de cárie nestas distâncias.

MÉTODOS

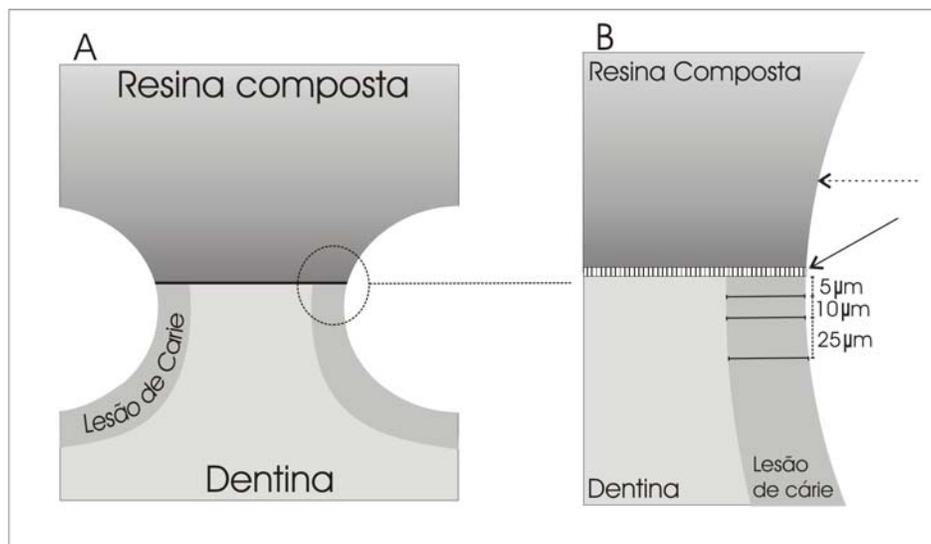


FIGURA 16 – Esquema representativo da microscopia de luz polarizadas das amostras submetidas a ciclagem de pH (A). Visão ampliada do lado e distâncias (5, 10 e 25µm) da interface adesiva nas quais foi mensurada a profundidade da lesão de cárie. A seta contínua indica a interface adesiva e a seta pontilhada a superfície da restauração, sendo estas as referências utilizadas na orientação do posicionamento da barra de medida linear do computador.

Para os grupos que não sofreram a indução química de cárie, foi realizada a Microscopia de Luz Polarizada para confirmar a ausência de desmineralização.

4.11. Análise quantitativa do Flúor (F⁻)

A concentração de flúor em todas as soluções DES e RE foi determinada através de potenciômetro (ORION EA - 940, Orion Research Inc. Boston, MA 02129) com um eletrodo específico para flúor ORION 96-09, utilizando uma curva de calibração com padrões de 0,03125, 0,06250, 0,12500, 0,25000, 0,50000, 1,00 ppm F⁻, preparadas com TISAB III (*Total Ionic Strength Adjustment Buffer*, Termo Orion, Beverly, MA, USA) sendo 1,0 ml de padrão (ou amostra) + 0,1 ml de TISAB III. As leituras das amostras foram expressas em milivolt (mV) e

MÉTODOS

transformadas em $\mu\text{gF}^-/\text{ml}$ (ppm F^-) através da regressão linear da curva de calibração (FIG 17).

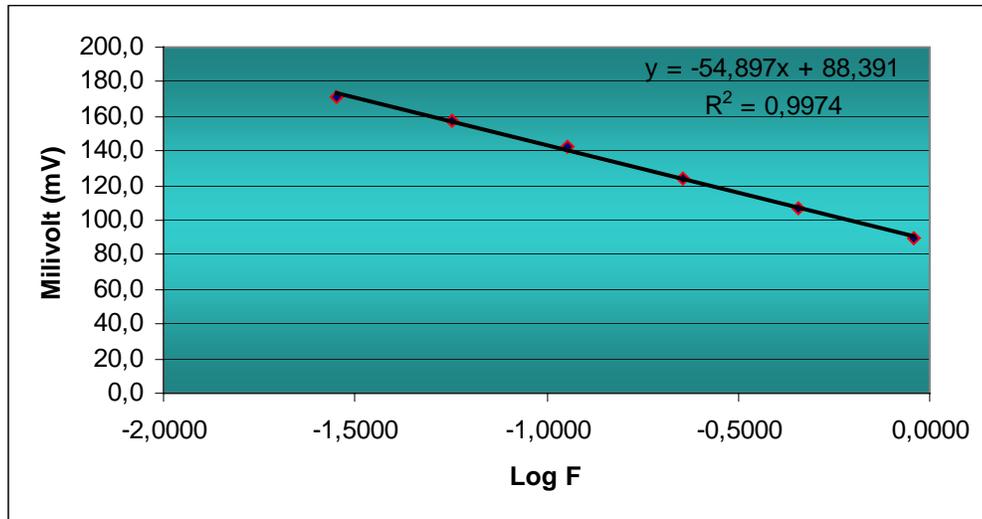


FIGURA 17: Gráfico da regressão linear da curva de calibração.

4.12. Análise Estatística

Inicialmente, foi realizada a análise descritiva (média e desvio padrão) e a análise exploratória (normalidade e homogeneidade) utilizando o Software SAS. Todas as análises foram realizadas considerando o nível de significância de 5%, utilizando os softwares SAS e Sanest.

4.12.1 Resistência de união

Os valores obtidos no teste de resistência de união (teste de microtração) foram submetidos à Análise de Variância em 2 fatores (sistemas adesivos e ciclagem de pH), adotando-se o nível de significância de 5% para tomada de decisão. Para as variações individuais de inter-relação entre os fatores, foi empregado o teste paramétrico Tukey.

4.12.2 Profundidade da lesão de cárie

MÉTODOS

Os dados de profundidade das lesões foram analisados pela Análise de Variância em esquema de parcela subdividida, avaliando os efeitos dos fatores: Sistema adesivo (Single Bond, Optibond Solo Plus, Clearfil SE Bond e Clearfil Protect Bond) e distância (5, 10 e 25 μm), e a interação entre eles. O teste de Tukey foi empregado para comparar os níveis dos fatores ($p < 0,05$).

OS

5. RESULTADOS

5.1 Resistência de união

A Análise de variância (Tabela 1) dos valores de resistência à microtração demonstrou diferenças estatísticas significantes para a ciclagem de pH ($p=0,00004$); entretanto, não houve diferenças estatísticas significantes para o fator adesivo ($p=0,94416$) e também não foi verificada interação entre os fatores ciclagem/adesivos ($p=0,39320$).

TABELA 1. Análise de Variância (dois critérios) para os fatores em estudo.

Fatores	Grau de Liberdade	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	Valor de F	Probabilidade de F
Ciclagem pH	1	945,3125000	945,3125000	25,1033	0,00004*
Adesivo	3	14,1375000	4,7125000	0,1251	0,94416
Cicla x Ades	3	114,4375000	38,1458333	1,0130	0,39320
Resíduo	72	2711,3000000	37,6569444		
Total	79	37,6569444			

Média geral: 23,687500

Coefficiente de variação: 25,906%

* Diferença estatisticamente significativa

Avaliando a Tabela 2 não houve diferença estatisticamente significativa na resistência de união dos adesivos avaliados, tanto nos grupos que foram submetidos à ciclagem de pH quanto para os controles. Entretanto, quando se avalia o efeito da ciclagem de pH, ou seja, indução artificial de cárie secundária, verifica-se que este procedimento reduziu significativamente os valores de resistência de união para todos adesivos avaliados dos grupos ciclados.

OS

TABELA 2. Resultado da média de resistência de união (MPa), e desvio padrão para cada adesivo e grupos experimentais.

SISTEMAS ADESIVOS	CONTROLE		CICLADOS	
	Média	(DP)	Média	(DP)
Single Bond	28,49 ^{Aa}	8,50	20,13 ^{Ab}	6,64
Optibond Solo Plus	25,14 ^{Aa}	7,35	22,42 ^{Ab}	4,84
Clearfil SE Bond	29,41 ^{Aa}	6,19	20,19 ^{Ab}	5,86
Clearfil Protect Bond	27,41 ^{Aa}	4,38	20,28 ^{Ab}	4,08

Médias seguidas de letras distintas (maiúsculas na vertical e minúsculas na horizontal) diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

5.2 Avaliação do padrão de fratura

As figuras a seguir apresentam os gráficos que representam as porcentagens dos tipos de padrão de fratura encontrados para os sistemas adesivos avaliados neste estudo.

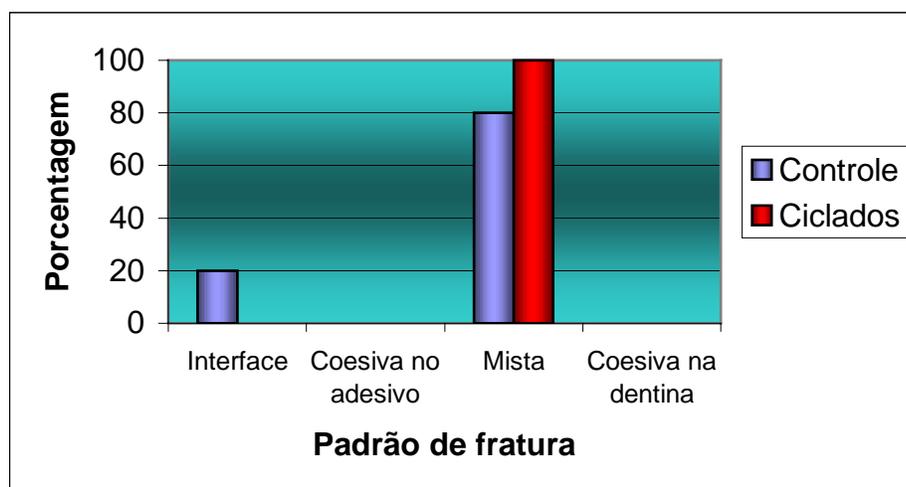


FIGURA 18: Gráfico representativo das porcentagens dos padrões de fratura encontrados para o adesivo Single Bond.

OS

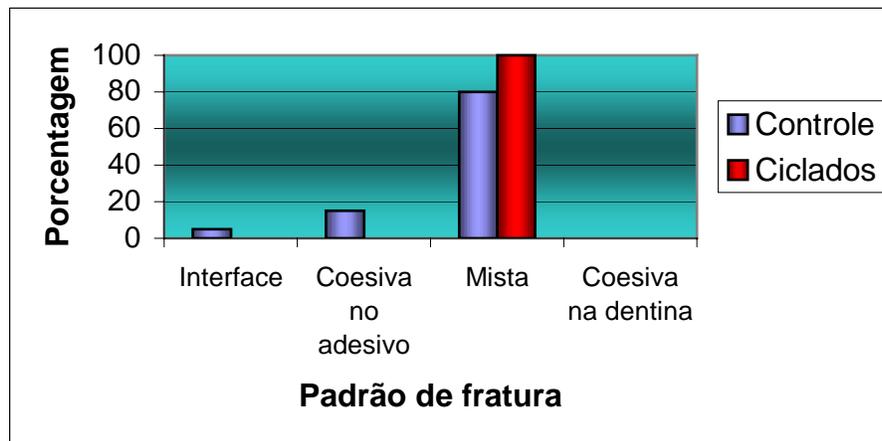


FIGURA 19: Gráfico representativo das porcentagens dos padrões de fratura encontrados para o adesivo Optibond Solo Plus.

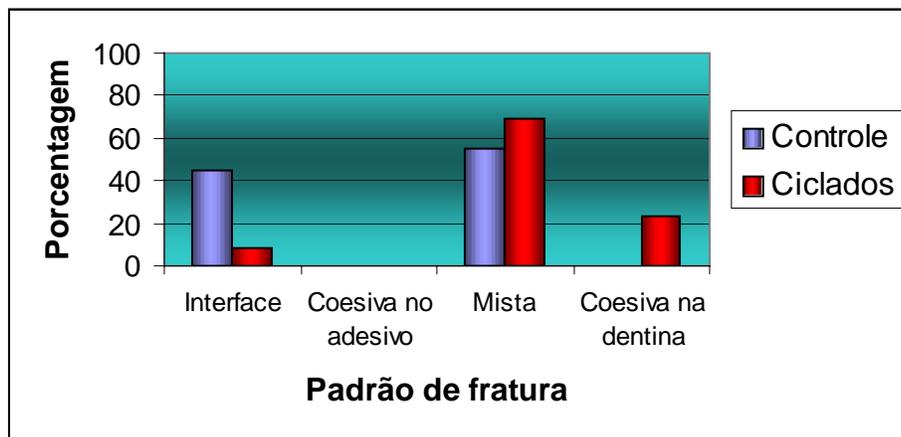


FIGURA 20: Gráfico representativo das porcentagens dos padrões de fratura encontrados para o adesivo Clearfil SE Bond.

OS

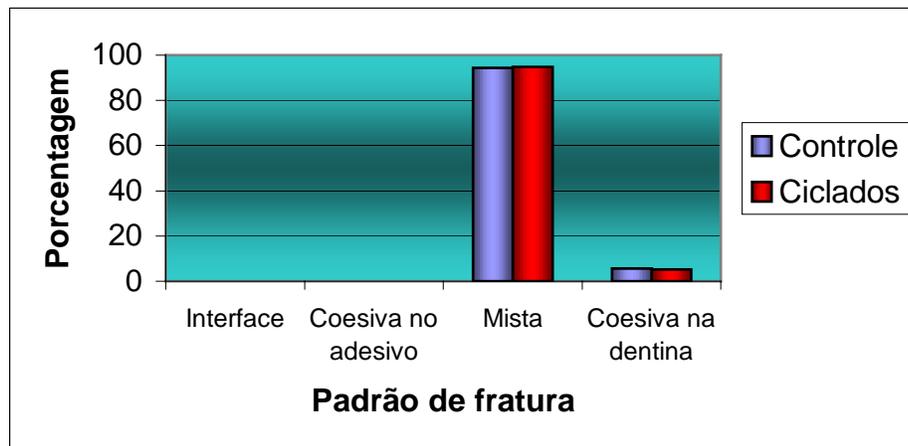


FIGURA 21: Gráfico representativo das porcentagens dos padrões de fratura encontrados para o adesivo Clearfil Protect Bond.

Avaliando os padrões de fratura pode-se observar que para todos adesivos, a maioria das amostras apresentou fratura mista, tanto para o grupo controle quanto, para os que sofreram indução de cárie secundária (FIG 18, 19 e 21). Entretanto, para o sistema adesivo Clearfil SE Bond (FIG 20), no grupo controle, as fraturas ficaram divididas em interface e mista. Nas figuras 22, 23, 24 e 25 estão ilustrados os tipos de fraturas encontrados neste estudo.

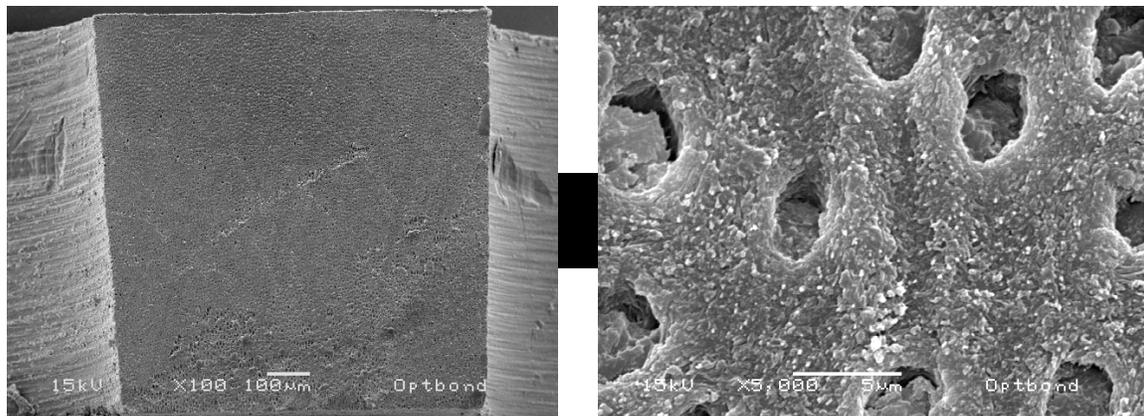


FIGURA 22 – microscopia ilustrativa do padrão de fratura de interface.

OS

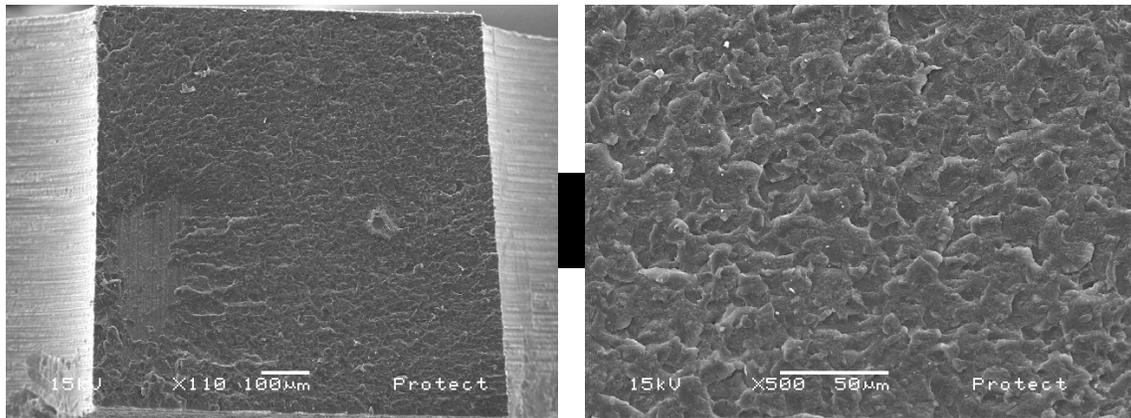


FIGURA 23 – microscopia ilustrativa do padrão de fratura coesiva no adesivo.

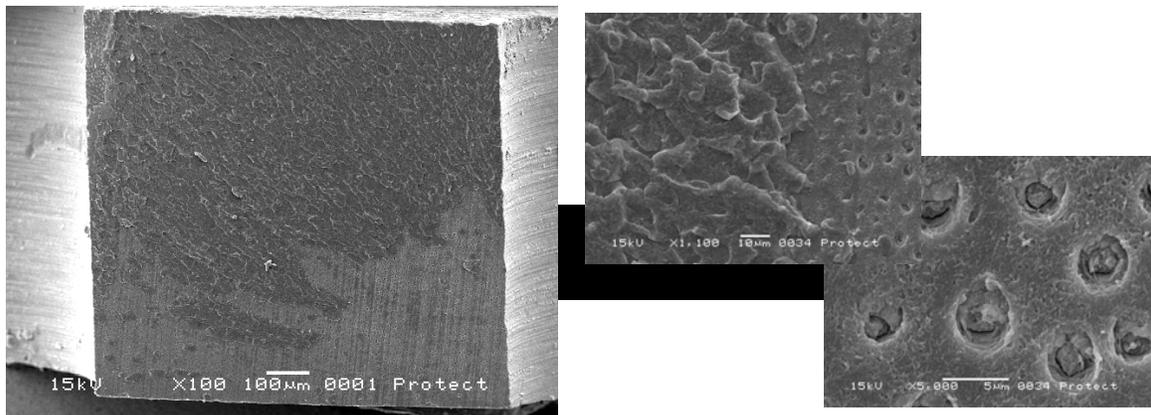


FIGURA 24 – microscopia ilustrativa do padrão de fratura mista (adesivo e interface).

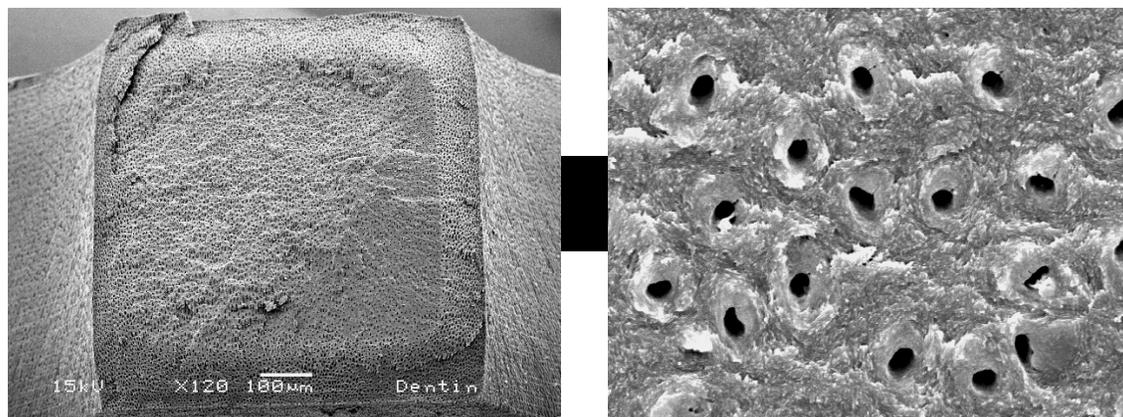


FIGURA 25 – microscopia ilustrativa do padrão coesiva na dentina.

OS

Outro aspecto importante para se relatar diz respeito às imagens encontradas nas superfícies das amostras que sofreram indução de cárie secundária, onde, nas bordas destas amostras, foi encontrada fratura em dentina (FIG 26). Isto provavelmente ocorreu devido à desmineralização dentinária causada pela ciclagem de pH, a qual enfraqueceu a dentina nesta região. Porém, para o adesivo Optibond Solo Plus e Single Bond, este tipo de imagem foi encontrado com menos freqüência, uma vez que nas bordas foi encontrada também fratura no sistema adesivo (FIG 27).

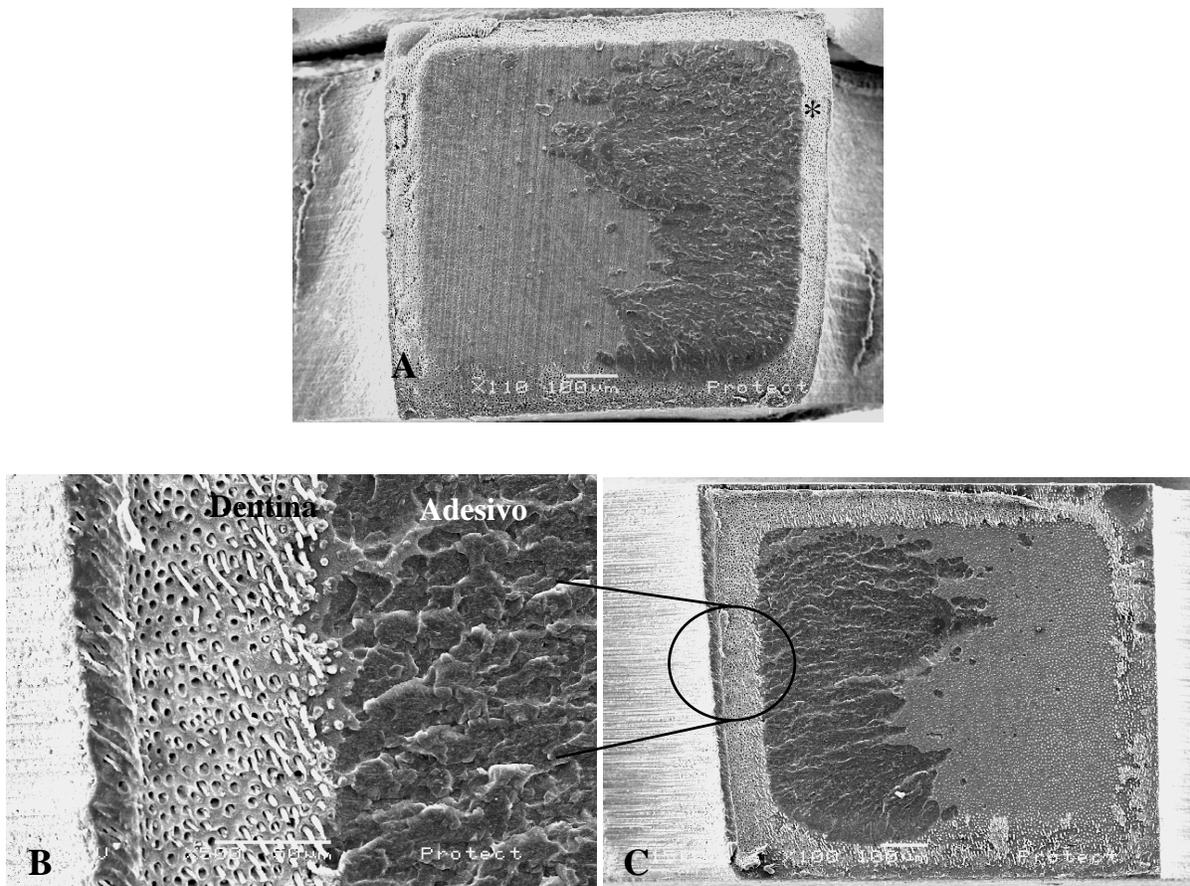


FIGURA 26 - Microscopia Eletrônica de Varredura do padrão de fratura comumente encontrado nas amostras que sofreram indução artificial de cárie secundária. A) superfície correspondente à porção dentinária, onde na borda da amostra encontra-se com fratura coesiva na dentina (*); B) Evidências de dentina e *tags* de resina; C) porção resinosa da amostra.

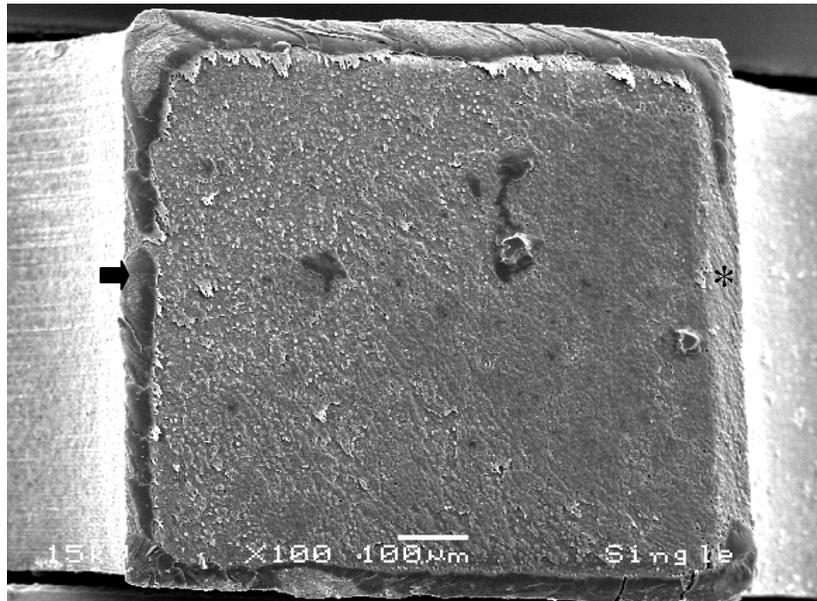


FIGURA 27 – Microscopia da Porção dentinária do padrão de fratura comumente encontrado nas amostras dos sistemas adesivos Single Bond (figura em questão) e Optibond Solo Plus. A seta indica presença de adesivo nas bordas da amostra e também fratura coesiva na dentina (*).

5.3 Análise da profundidade das lesões de cárie

A análise de variância (Tabela 3) dos valores de profundidade de cárie demonstrou diferenças estatísticas significativas para os adesivos ($p=0,03548$), distâncias ($p= 0,00001$) e também interação entre os fatores adesivo/distância ($p=0.00429$).

OS

TABELA 3. Análise de variância para os fatores em estudo.

Fatores	G.L.	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	Valor de F	Probabilidade de F
Adesivo	3	24624510391	8208170130	3.1627	0.03548*
Resíduo (A)	36	93432122143	259.5336726		
Parcelas	39	11805.6632534			
Distâncias	2	3092.9887636	1546.4943818	45.8132	0.00001*
Ades*dist	6	716.1833245	119.3638874	3.5360	0.00429*
Resíduo (B)	72	2430.4705320	33.7565352		
Total	119	18045.3058734			

Média geral: 51.597000

Coeficiente de variação (A): 18.027 %

Coeficiente de variação (B): 11.260 %

*Diferença estatisticamente significativa

Na tabela 4, pode-se observar que na distância 5 μ m, o sistema adesivo Optibond Solo Plus, apresentou menor profundidade de lesão de cárie (31,64 μ m), diferindo significativamente dos outros sistemas. Porém, nas distâncias de 10 e 25 μ m, não houve diferença estatística significativa entre os sistemas adesivos avaliados.

Na avaliação individual dos adesivos, a análise estatística demonstrou que a média de profundidade da lesão de cárie na distância de 25 μ m não apresentou diferença estatística significativa quando comparada à distância de 10 μ m, que por sua vez, não se diferiu da distância de 5 μ m, tanto para o adesivo Single Bond, quanto para os adesivos Clearfil SE Bond e Clearfil Protect Bond. Entretanto, para o adesivo Optibond Solo Plus, a profundidade da lesão de cárie foi menor na distância de 5 μ m (31,64 μ m) e maior na distância de 25 μ m (53,91 μ m), e apresentou média intermediária na distância de 10 μ m (45,74b).

OS

TABELA 4 – Profundidade da lesão de cárie (μm) e desvio padrão, dentro de cada distância avaliada, segundo o sistema adesivo empregado.

SISTEMAS ADESIVOS	PROFUNDIDADE DA LESÃO DE CÁRIE					
	5 μm	DP	10 μm	DP	25 μm	DP
Single Bond	49,75Ab	8,47	55,71Aab	6,94	58,94Aa	7,79
Optibond Solo Plus	31,64Bc	12,48	45,74Ab	14,08	53,91Aa	9,20
Clearfil SE Bond	49,58Ab	13,10	53,56Aab	12,78	58,74Aa	11,59
Clearfil Protect Bond	49,54Ab	8,49	53,56Aab	8,52	58,51Aa	9,35

Médias seguidas de letras distintas (maiúsculas na vertical e minúsculas na horizontal) diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

A observação da Microscopia de Luz Polarizada das amostras dos grupos controles evidenciou integridade dentinária, não apresentando nenhuma evidência de desmineralização (FIG. 28A). Porém, para os grupos ciclados, houve uma desmineralização dentinária, ou seja, formação de cárie secundária para todos os adesivos avaliados (FIGs 28C,D,E,F). É possível observar nestas microscopias a presença de uma zona de inibição (seta azul) também chamada de zona “ácido-resistente” próxima à camada adesiva.

5.4 Quantificação de Flúor

Foi realizada análise exploratória dos dados obtidos na quantificação de Flúor, uma vez que as soluções DES e RE avaliadas apresentaram uma concentração muito baixa de flúor, estando abaixo da concentração mínima da curva de calibração, ou seja, abaixo de 0,03125 ppm F^- estando, portanto, susceptíveis a erro de leitura. Sendo assim, pode-se afirmar que os adesivos que contem flúor em sua composição liberaram este elemento em quantidades inferior a 0,03125 ppm F^- . Para os sistemas adesivos Optibond Solo Plus e Clearfil Protect Bond encontrou-se nas soluções uma média de 0,002 ppm F^- .

OS

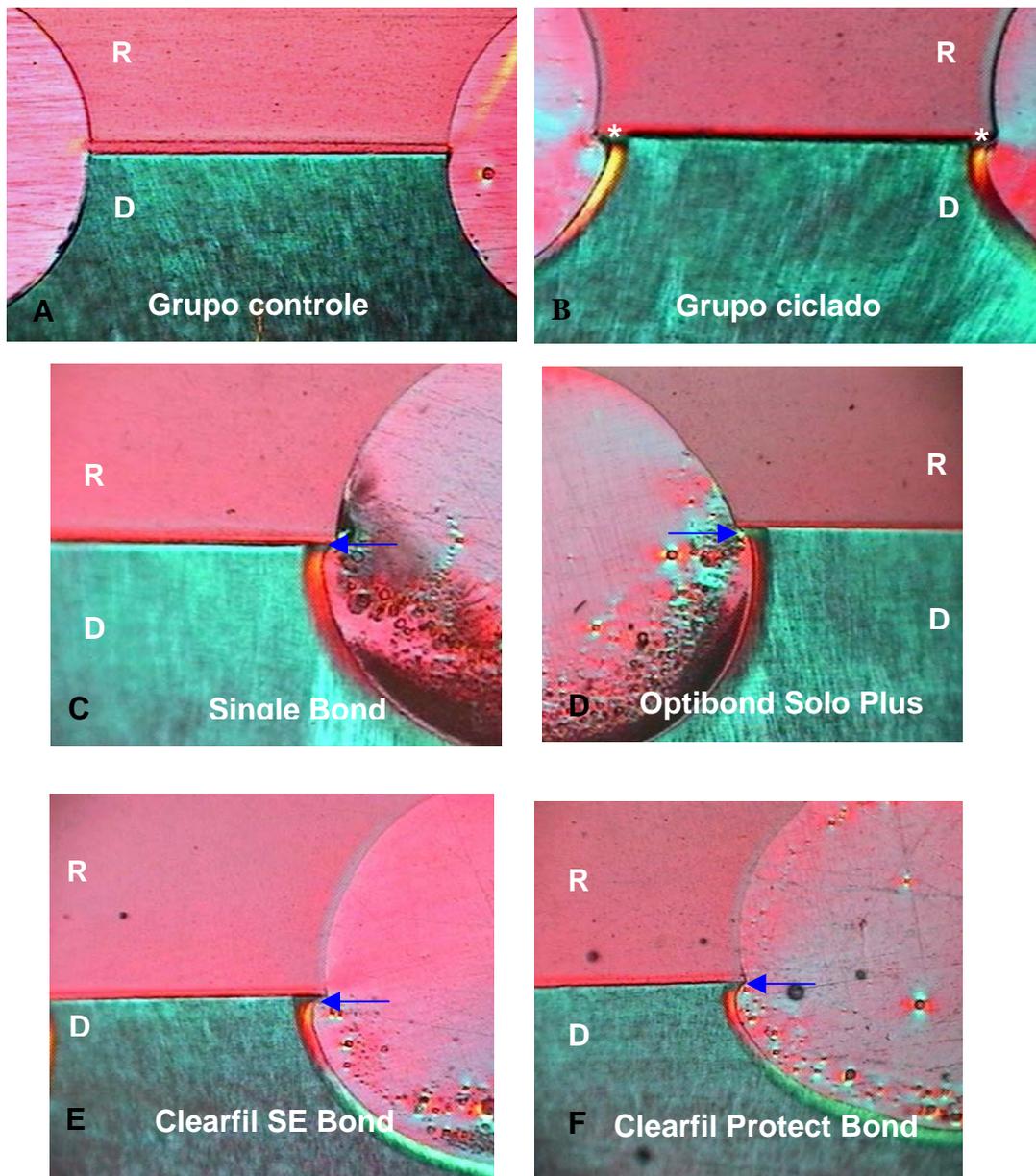


FIGURA 28 – Microscopias de luz polarizada, onde R representa a restauração e D a dentina. Imagem representativa da ausência de lesão de cárie (desmineralização) de uma amostra do grupo controle **(A)**. Imagem representativa da lesão de cárie (*) de uma amostra submetida à ciclagem de pH **(B)**. Aspecto da lesão nas amostras restauradas com sistema adesivo Single Bond **(C)**, Optibond Solo Plus **(D)**, Clearfil SE Bond **(E)** e Clearfil Protect Bond **(F)**. Seta azul indica a presença da zona de inibição.

6. DISCUSSÃO

As resinas compostas são amplamente utilizadas na confecção de restaurações diretas. Entretanto, este material apresenta contração de polimerização, que pode provocar a formação de fendas marginais ou microinfiltração (FEILZER *et al.*, 1988) com conseqüente degradação da interface de união (QVIST *et al.*, 1990). Dessa maneira, consideráveis esforços têm sido despendidos para promover uma durável interface de união. No substrato dentinário, a camada híbrida representa o mecanismo mais importante para a estabilidade e durabilidade da união (NAKABAYASHI *et al.*, 1982; PERDIGÃO *et al.*, 1994).

Ao longo da camada híbrida e da dentina marginal pode-se encontrar defeitos como fendas marginais, porosidades e túbulos dentinários abertos (PRATI *et al.*, 2000). Todas estas condições podem aumentar a permeabilidade da dentina marginal às soluções ácidas, tais como ácidos lácticos, os quais podem infiltrar não apenas na interface como também na dentina marginal criando uma zona de desmineralização (SAVARINO *et al.*, 2004). Esta zona de desmineralização, conhecida como cárie secundária, desenvolve-se rapidamente ao longo da interface adesiva e sob os materiais restauradores, contribuindo com o fracasso da restauração (GONZALEZ-CABEZAS *et al.*, 2002).

Alguns estudos têm avaliado a integridade marginal e resistência de união das restaurações confeccionadas com resina composta (PERDIGÃO 1994; NAKAJIMA *et al.*, 1995; FERRACANE *et al.*, 1998, PRATI *et al.*, 1998; PASHLEY *et al.*, 1999; MONTES *et al.*, 2001, NAKAJIMA *et al.*, 2003). SANO *et al.*, em 1994, introduziram o teste de microtração, para avaliar a resistência de união entre materiais adesivos, utilizando superfície de união com área de, aproximadamente, 1 mm². Empregando este método é possível avaliar a resistência de união da restauração, uma vez que a maioria das fraturas ocorre na interface de união,

O devido à melhor distribuição do carregamento, na amostra testada, durante a realização do teste. Estes autores também relataram maiores valores de resistência de união que os testes tradicionais (cisalhamento e tração). Estes métodos tradicionais utilizam uma grande superfície de união (7-12 mm²), e o tipo de fratura ocorre, freqüentemente, na dentina, ou seja, fratura coesiva na dentina (PASHLEY *et al.*, 1999), não avaliando assim, a verdadeira resistência adesiva da interface de união (PASHLEY *et al.*, 1999).

Para avaliar a resistência de união dos materiais restauradores ao substrato dental, muitos pesquisadores utilizam dentes humanos extraídos (PERDIGÃO *et al.*, 1994; NAKAJIMA *et al.*, 1995; FERRACANE *et al.*, 1998; NAKAJIMA *et al.*, 2003). Entretanto, torna-se cada vez mais difícil obter estes dentes, principalmente em grande quantidade, como às vezes é necessário para o desenvolvimento de pesquisas, uma vez que a atual filosofia de tratamento odontológico procura preservar o elemento dental (NAKAMICHI *et al.*, 1983). Sendo assim, diante das dificuldades de obter dentes humanos, alguns estudos apresentam os incisivos bovinos como possível substituto na realização de testes de adesão (NAKAMICHI *et al.*, 1983; REIS *et al.*, 2004). Os incisivos bovinos têm sido também amplamente utilizados nos experimentos de cariologia (PEREIRA *et al.*, 1998ab; FRANCCI *et al.*, 1999; TEN CATE 2001; HOTTA *et al.*, 2001; TOBA *et al.*, 2003).

No presente estudo foi utilizada dentina superficial da porção coronária de incisivos bovinos, como substrato dental para confecção de restaurações diretas adesivas, as quais foram submetidas à indução artificial de cárie secundária.

Vários estudos têm demonstrado que o flúor tem significativo efeito na inibição de cárie (FEATHERSTONE, 1994; TEN CATE & VAN DUINEN, 1995; NAGAMINE *et al.*, 1997, HOTTA *et al.*, 2001; TORII *et al.*, 2001; ITOTA *et al.*, 2002). Baseados

O

nesse aspecto, materiais restauradores e sistemas adesivos que liberam flúor têm sido desenvolvidos com a intenção de ajudar a prevenir cárie secundária.

No presente estudo, diante de um desafio cariogênico, a resistência à microtração das restaurações confeccionadas com sistemas adesivos que contém flúor não apresentou diferença estatística significativa daquelas sem flúor (TAB 2). Entretanto, quando se compara os grupos controles com os submetidos à ciclagem de pH, pode-se observar também na Tabela 2, que a indução de cárie secundária produzida neste experimento reduziu significativamente os valores de adesão para todos adesivos em estudo. Uma possível explicação para este resultado pode estar no fato de que a desmineralização causada ao redor das restaurações, como pode ser visualizada na Microscopia de Luz Polarizada (FIG 28) foi capaz de enfraquecer a dentina e, provavelmente, a interface de união, de forma a reduzir significativamente a força de união da restauração ao substrato dentinário, independentemente do adesivo apresentar ou não flúor.

NAKAJIMA *et al.*, em 2003, também determinaram a influência do elemento flúor liberado nos sistemas adesivos na durabilidade da resistência de união em dentina após seis meses de estocagem em água. Os autores também estocaram as amostras em forma de ampulheta para diminuir a distância de difusão da água e acelerar a degradação hidrolítica. Como resultados, observaram que o sistema adesivo com flúor estabilizou a resistência de união à microtração após seis meses de estocagem em água. Estes autores sugeriram que lenta liberação de flúor do sistema adesivo pode aumentar a concentração de fluorapatita na dentina justaposta à camada híbrida. Esta dentina menos solúvel previne a liberação de enzimas proteolíticas da matriz mineralizada. Além disso, o flúor unido à apatita pode ter seu efeito prolongado, uma vez que a fluorapatita é menos solúvel que o NaF - fluoreto de sódio. Assim, para estes autores, o flúor agiria na estabilidade da camada híbrida. Cabe ressaltar que, no presente estudo o flúor do sistema adesivo não estabilizou a força de união. Essa diferença nos

O resultados pode estar apoiada no fato que NAKAJIMA *et al.* (2003), utilizaram como meio de envelhecimento a água, enquanto que em nosso estudo as amostras foram submetidas à ciclagem de pH, induzindo cárie secundária.

Outros estudos demonstraram que o flúor dos sistemas adesivos pode ser detectado na camada híbrida e dentina adjacente a esta após várias semanas de imersão em água (FERRACANE *et al.*, 1998; HAN *et al.*, 2002). SAITO (1996), demonstrou que a resistência à microtração de um adesivo MMA-TBB contendo flúor não diminuiu após 18 meses de imersão em água, enquanto que a resistência de união do mesmo adesivo sem flúor diminuiu.

É especulado que o flúor, presente nos sistemas adesivos, de alguma forma previne a degradação da dentina, resultando numa estabilidade da interface adesiva (NAKAJIMA *et al.*, 2003). Este flúor pode reduzir a solubilidade em água do fosfato de cálcio presente na camada híbrida, resultando na estabilização da força de união na dentina (NAKAJIMA *et al.*, 2003). A matriz dentinária mineralizada contém muitas enzimas (por exemplo: fosfatases alcalinas, metaloproteases, incluindo as collagenases) que podem ser liberadas e ativadas durante o condicionamento ácido ou durante o armazenamento do dente em água. Estas enzimas podem atacar as ligações éster da resina (NAKAJIMA *et al.*, 2003), o colágeno (MARTIN-DE LAS HERAS *et al.*, 2000) ou ambos. Entretanto, o flúor inibe algumas enzimas enterases (NAKAJIMA *et al.*, 2003). Este elemento presente na camada híbrida pode inibir o ataque destas enzimas aos componentes desta camada, ou prevenir a liberação destas através de sua ação remineralizadora da dentina (NAKAJIMA *et al.*, 2003). Diante de todos esses efeitos do flúor, parece que o flúor dos sistemas adesivos age estabilizando a camada híbrida, porém diante de um desafio cariogênico ele parece não influenciar a resistência de união à microtração, como foi verificado nos resultados do presente estudo.

A avaliação do padrão de fratura em MEV demonstrou uma predominância no padrão de fratura do tipo mista, independentemente do adesivo

O testado. Porém, a indução química de cárie secundária aumentou a porcentagem deste padrão. Isso sugere que alguma alteração pode ter ocorrido no substrato ou camada adesiva. Como ilustrado na figura 26, foi comum encontrar fratura da dentina nas bordas das amostras que sofreram indução de cárie. Isso ocorreu, provavelmente, devido ao enfraquecimento da dentina marginal causada pela desmineralização deste substrato durante a ciclagem DES/RE.

Na avaliação da profundidade da lesão de cárie em Microscopia de Luz Polarizada (TAB 4) observa-se que na distância de 10 μ m e 25 μ m, os sistemas adesivos Single Bond, Clearfil SE Bond e Clearfil Protect Bond não apresentaram diferença estatística significativa entre si. ITOTA, *et al.*, em 2002, avaliaram também a profundidade de lesões de cárie secundária em dentina, através microradiografias, quando da utilização de sistemas adesivos com e sem flúor. Estes autores observaram que os adesivos comportaram-se de maneira semelhante estando, assim, de acordo com nossos resultados.

Porém, na distância de 5 μ m da interface adesiva somente o Optibond Solo Plus apresentou menor profundidade de cárie, diferindo significativamente dos outros em estudo. Sendo assim, dos adesivos que contém flúor, Optibond Solo Plus e Clearfil Protect Bond, somente o primeiro apresentou menor profundidade de cárie na distância de 5 μ m. Este adesivo emprega a técnica de condicionamento ácido total, enquanto o Clearfil Protect Bond é do tipo autocondicionante, o qual emprega um *primer* ácido para condicionar a dentina. Estes tipos de tratamento da dentina resultam na formação de uma camada híbrida com diferentes espessuras: sistemas autocondicionantes espessura entre 0,5-1,5 μ m (PRATI *et al.*, 1998) e condicionamento ácido total entre 4-5 μ m (MONTES *et al.*, 2001). A camada híbrida é formada pela infiltração do adesivo dentro da dentina desmineralizada e representa o mecanismo essencial de adesão à dentina (PASHLEY & CARVALHO, 1997), ela também é caracterizada como camada ácido-resistente (NAKAJIMA *et al.*, 1995). Em nosso estudo, a menor profundidade de

○
lesão encontrada para o adesivo Optibond na distância de 5 μ m pode estar relacionada à própria espessura de camada híbrida. MONTES *et al.* (2001) demonstraram que para este adesivo, a espessura da camada híbrida situa-se entre 6-8 μ m. Estes valores altos ocorrem devido ao modo de aplicação do sistema, cujo fabricante preconiza a aplicação ativa, beneficiando assim, a penetração do adesivo na dentina desmineralizada pelo condicionamento ácido. Dessa maneira, a menor profundidade da lesão de cárie na distância de 5 μ m pode estar relacionada à própria camada híbrida, que resistiu ao ataque ácido da solução desmineralizadora.

Alguns estudos reportam que os adesivos que liberam flúor possuem a capacidade de formar uma zona de inibição próxima à interface de união, a qual é caracterizada como “ácido-resistente”, pois resiste ao ataque ácido durante a formação de cárie secundária (ITOTA *et al.*, 2002; TOBA *et al.*, 2003; SAVARINO *et al.*, 2004). Porém, ela encontra-se presente também nos adesivos que não liberaram flúor, entretanto em menor espessura, uma vez que ela se forma devido à própria camada híbrida (TORII *et al.*, 2001, ITOTA *et al.*, 2002). No presente estudo, foi possível observar esta zona de inibição, na análise de Microscopia de Luz Polarizada, próxima à interface de união (FIG 28), em todos os sistemas adesivos avaliados. Porém, em maior espessura para o adesivo que utiliza a técnica de condicionamento ácido total e libera flúor – Optibond Solo Plus. Essa zona “ácido-resistente” pode estar também relacionada a menor profundidade de cárie encontrada para este adesivo na distância de 5 μ m, porém não foi capaz de manter a resistência de união.

ITOTA, *et al.*, em 2002, verificaram que somente um adesivo com flúor associado a um material restaurador que também libera flúor, possuía a capacidade de reduzir a profundidade da lesão artificial de cárie secundária, isto devido à alta concentração de flúor presente no material restaurador. Pois o

O mesmo adesivo, utilizado com outro material restaurador que não possua flúor não foi efetivo na redução da lesão de cárie.

O sistema adesivo Clearfil Protect Bond possui, além do flúor em sua composição, um componente monomérico, MDPB, que apresenta característica antibacteriana. IMAZATO *et al.*, em 1994, demonstraram que o MDPB é capaz de reduzir significativamente o acúmulo de *S. mutans* na restauração até 3 meses de imersão em água. LOBO *et al.*, 2004, relataram uma redução da produção de polissacarídeos na placa bacteriana em restaurações confeccionadas com um sistema adesivo que apresenta em sua composição o MDPB. Talvez a presença deste componente presente no sistema adesivo Clearfil Protect Bond seja uma vantagem deste sistema, uma vez que o flúor não apresentou efetividade na redução da cárie secundária, como relatado nos resultados do presente estudo. Porém, são necessárias mais investigações científicas para comprovar os efeitos destes dois componentes sobre a placa bacteriana e cárie secundária.

A quantificação de íons F^- presente na soluções DES e RE apresentou concentrações muito baixas estando abaixo da sensibilidade do eletrodo. Esta técnica apresenta limitação, pois o eletrodo não consegue medir com segurança concentrações baixas de flúor. Alguns autores (Itota *et al.*, 2002, Han *et al.*, 2002, Phanthavong *et al.*, 2004) na tentativa de contornar essa limitação, confeccionaram discos de sistemas adesivos, porém essa metodologia não simula a condição na qual o material encontra-se presente em uma restauração.

Esta baixa concentração pode ser justificada pelo fato que o material que libera flúor estava restrito a uma pequena porção da restauração exposta nas soluções, ou seja, somente na camada adesiva e, provavelmente, encontrava-se preso na matriz resinosa polimerizada do adesivo ou na camada híbrida. TOBA *et al.* (2003), sugeriram que o flúor dos sistemas adesivos apresenta-se rodeado pela matriz resinosa, encontrando dificuldade em entrar em contato com a água porque

○
o seu livre movimento é, provavelmente, limitado pela matriz resinosa polimerizada.

Vários estudos comprovam que o flúor presente nos materiais restauradores ajuda a prevenir cárie secundária (HOTTA *et al.*, 2001; TORII *et al.*, 2001; ITOTA *et al.*, 2002). Entretanto, a ação do flúor nos sistemas adesivos ainda é questionada. No presente estudo, pode-se observar que o flúor presente no sistema adesivo não interferiu no processo de indução química de cárie secundária e resistência de união das restaurações. Sendo assim, não se deve selecionar o sistema adesivo para ser utilizado na prática diária apoiado no fato dele apresentar flúor em sua composição, deve-se considerar principalmente a resistência de união que ele proporciona à restauração. Entretanto, mais comprovações científicas são necessárias para avaliar também a ação do flúor nos microorganismos da placa cariogênica, como também estudos *in vivo* ou *in situ* que possam avaliar o comportamento do material dentro das condições orais.

O

7. CONCLUSÃO

Considerando as condições experimentais e os resultados do presente estudo, pode-se concluir que:

- A indução de cárie secundária reduziu significativamente a resistência de união de “restaurações” confeccionadas com resina composta;
- Os sistemas adesivos com flúor apresentaram resistência a microtração semelhante aos sistemas adesivos sem flúor, diante de um desafio cariogênico;
- O padrão de fratura do tipo mista apresentou-se predominante nas amostras avaliadas;
- Somente na distância de 5 μm da interface adesiva o sistema adesivo Optibond Solo Plus apresentou menor profundidade de cárie, diferindo estatisticamente dos outros adesivos utilizados;
- A liberação de flúor dos sistemas adesivos encontra-se abaixo de 0,03 ppmF⁻.

BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CLARKSON BH, HALL DL, HEILMAN JR, WEFEL JS. Effect of proteolytic enzymes on caries lesion formation in vitro. **J Oral Pathol.** 1986; 15(8):423-429.

DELBEM ACB, CURY JA. Effect of application time of APF and NaF gels on microhardness and fluoride uptake of *in vitro* enamel caries. **Am J Dent.** 2002;15(3):169-172.

DIONYSOPOULOS P, KOTSANOS N, PAPADOGIANNIS Y, KONSTANTINIDIS A. Artificial secondary caries around two new F-containing restoratives. **Oper Dent.** 1998; 23(2):81-86.

FEATHERSTONE JDB. Fluoride remineralization and root caries. **Am J Dent.** 1994; 7(5):271-274.

FEATHERSTONE JDB, O'REILLY MM, SHARIATI M, BRUGLER S. Enhancement of remineralisation *in vitro* and *in vivo*. In: LEACH, S.A. Factors relating to demineralization and remineralisation of the teeth. Oxford: IRL Press, p.23-34, 1986.

FEILZER AJ, De GEE AJ, DAVIDSON CL. Curing contraction of composite and glass ionomer cements. **J Prosthet Dent.** 1988; 59(3):297-300.

FERRACANE JL, MITCHEM JC, ADEY JD. Fluoride penetration into the hybrid layer from a dentin adhesive. **Am J Dent.** 1998; 11(1):23-8.

FONTANA M, GONZALES-CABEZAS C. Secondary caries and restoration replacement: an unresolved problem. **Compend Contin Educ Dent.** 2002; 21(1):15-26.

FRANCCI C, DEATON TG, ARNOLD RR, SWIFT EJ JR, PERDIGAO J, BAWDEN JW. Fluoride release from restorative materials and its effects on dentin demineralization. **J Dent Res.** 1999; 78(10):1647-54.

GILMOUR ASM, EDMUNDS DH. The polarized light microscope appearance of caries-like lesions adjacent to restored cavities in the crowns and roots of extracted human teeth. **J Oral Rehabil.** 1998; 25(12):929-939.

GONZALEZ-CABEZAS C, LI Y, GREGORY RL, STOOKEY GK. Distribution of

BIBLIOGRÁFICAS

- cariogenic bacteria in carious lesions around tooth-colored restorations. *Am J Dent.* 2002; 15(4):248-251.
- GROSSMAN ES, MATEJKA JM. Histological features of artificial secondary caries adjacent to amalgam restorations. *J Oral Rehab.* 1999; 26(9):737-744.
- HAN L, EDWARD C, OKAMOTO A, IWAKU M. A comparative study of fluoride-releasing resin materials. *Dent Mater J.* 2002; 21(1):9-19.
- HOTTA M, LI Y, SEKINE I. Mineralization in bovine dentin adjacent to glass-ionomer restorations. *J Dent.* 2001; 29(3):211-215.
- IMAZATO S, TORII M, TSUCHITANI Y, MCCABE JF, RUSSELL RR. Incorporation of bacterial inhibitor into resin composite. *J Dent Res.* 1994; 73(8):1437-1443.
- ITOTA T, NAKABO S, IWAI Y, KONISHI N, NAGAMINE M, TORII Y. Inhibition of artificial secondary caries by fluoride-releasing adhesives on root dentin. *J Oral Rehabil.* 2002; 29(6):523-527.
- KIDD EA, TOFFENETTI F, MJOR IA. Secondary caries. *Inter Dent J.* 1992; 42(3):127-138.
- LOBO MM, PIMENTA LAF, GONÇALVES RB, BEDRAN-DE-CASTRO AKB, PEREIRA PNR. *In vitro* evaluation of caries inhibition promoted by self-etching adhesive systems containing antibacterial agents. *J Biomed Res.* Part B: Applied Biomaterials. No prelo 2004.
- LOBO MM. **Avaliação de lesões de cárie adjacentes a restaurações com diferentes materiais, induzidas através de modelos químico ou biológico** [tese]. Piracicaba: UNICAMP/FOP; 2004.
- MARTINS LRM, SERRA MC, FRANCISCHONE CE, CURRY JA. Fluoride release from glass-ionomer cements subjected to demineralization-remineralization cycles [Abstract 20]. *J Dent Res.* 1991; 71: 638.
- MARTIN DE LAS HERAS S, VALENZUELA A, OVERALL CM. The matrix metalloproteinase gelatinase A in human dentine. *Arch Oral Biol.* 2000; 45(9):757-765.
- MONTES MAJR, DE GÓES MF, DA CUNHA MRB, SOARES AB. A morphological

BIBLIOGRÁFICAS

and tensile bond strength evaluation of an unfilled adhesive with low-viscosity composites and a filled adhesive in one and two coats. *J Dent.* 2001; 29(6):435-441.

NAGAMINE M, ITOTA T, TORII Y, IRIE M, STANINEC M, INOUE K. Effect of resin-modified glass ionomer cements on secondary caries. *Am J Dent.* 1997; 10(4):173-178.

NAKABAYASHI N, KOJIMA K, MASUHARA E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. *J Biomed Mater Res.* 1982; 16(3):265-273.

NAKAJIMA M, SANO H, BURROW MF, TAGAMI J, YOSHIYAMA M, EBISU S *et al.* Tensile bond strength and SEM evaluation of caries-affected dentin using dentin adhesives. *J Dent Res.* 1995; 74(10):1679-1688.

NAKAJIMA M, OKUDA M, OGATA M, PEREIRA PNR TAGAMI J, PASHLEY DH. The durability of a fluoride-releasing resin adhesive system to dentin. *Oper Dent.* 2003; 28(2):186-192.

NAKAMICHI I, IWAKU M, FUSAYAMA T. Bovine teeth as possible substitutes in the adhesion test. *J Dent Res.* 1983; 62(10):1076-1081.

NOGUEIRA EC, SERRA MC, MORAIS PMR, MARCHI GM. Avaliação cariostática de híbridos de ionômero de vidro/resina composta. *Rev Paul Odont.* 2001; ano XXIII, n.3: 30-33.

PASHLEY DH, CARVALHO RM. Dentine permeability and dentine adhesion. *J Dent.* 1997; 25(5):355-372.

PASHLEY DH, CARVALHO RM, SANO H, NAKAJIMA M, YOSHIYAMA M, SHONO Y *et al.* The microtensile bond test: a review. *J Adhes Dent.* 1999; 1(4):299-309.

PERDIGAO J, SWIFT EJ JR, DENEHY GE, WEFEL JS, DONLY KJ. In vitro bond strengths and SEM evaluation of dentin bonding systems to different dentin substrates. *J Dent Res.* 1994; 73(1):44-55.

PEREIRA PNR, INOKOSHI S, TAGAMI J. In vitro secondary caries inhibition around fluoride releasing materials. *J Dent.* 1998a; 26(5-6):505-510.

PEREIRA PNR, INOKOSHI S, YAMADA T, TAGAMI J. Microhardness of in vitro

BIBLIOGRÁFICAS

caries inhibition zone adjacent to conventional and resin-modified glass ionomer cements. **Dent Mater.** 1998b; 14(3):179-185.

PHANTHAVONG S, HARADA N, SONODA H, NIKAIDO T, PEREIRA PNR, TAGAMI J. Fluoride release and microhardness of one-step adhesives in two immersion solutions. **Int Chin J Dent.** 2004; 4(1):1-7.

PRATI C, CHERSONI S, MONGIORGI R, PASHLEY DH. Resin-infiltrated dentin layer formation of new bonding systems. **Oper Dent.** 1998; 23(4):185-194.

PRATI C, PASHLEY DH, CHERSONI S, MONGIORGI R. Marginal hybrid layer in class V restorations. **Oper Dent.** 2000; 25(3):228-233.

QVIST V, QVIST J, MJOR IA. Placement and longevity of tooth-colored restorations in Denmark. **Acta Odontol Scand.** 1990; 48(5):305-311.

REIS AF, GIANNINI M, KAVAGUCHI A, SOARES CJ, LINE SRP. Comparison of microtensile bond strength to enamel and dentin of human, bovine and porcine teeth. **J Adhes Dent.** 2004; 6(2):117-121.

SAITO A. Effect of fluoride in adhesion to dentin. **J Jpn Soc Dent Mater Devices.** 1996; 5:78-88.

SANO H, SHONO T, SONODA H, TAKATSU T, CIUCCHI B, CARVALHO RM *et al.* Relationship between surface area for adhesion and tensile bond strength – evaluation of a micro-tensile bond test. **Dent Mater.** 1994; 10(4):236-240.

SAVARINO, L. BRESCGU L, TEDALDI M, CIAPETTI G, TARABUSI C, GRECO M, *et al.* Ability of restorative and fluoride releasing materials to prevent marginal dentine demineralization **Biomaterials.** 2004; 25 (6):1011-1017.

SERRA MC, CURY JA. The in vitro effect of glass-ionomer cement restoration on enamel subjected to a demineralization and remineralization model. **Quintessence Int.** 1992; 23(2):143-147.

SHINKAI RS, DeI Bel CURY AA, CURY, JA. *In vitro* evaluation of secondary caries development in enamel and root dentin around luted metallic restoration. **Oper Dent.** 2001; 26(1):52-59.

TEN CATE JM. *In vitro* studies on the effects of fluoride on de- and remineralization. **J Dent Res.** 1990; 69 Special Issue:614-619.

BIBLIOGRÁFICAS

TEN CATE JM. Remineralization of caries lesions extending into dentin. **J Dent Res.** 2001; 80(5):1407-1411.

TEN CATE JM, VAN DUINEN RN. Hypermineralization of dentinal lesions adjacent to glass-ionomer cement restorations. **J Dent Res.** 1995; 74(6):266-271.

TOBA S, PEREIRA PNR, NIKAIDO T, TAGAMI J. Effect to topical application of fluoride gel on artificial secondary caries inhibition. **Int Chin J Dent.** 2003; 3(2):53-61.

TORII Y, ITOTA T, OKAMOTO M, NAKABO S, NAGAMINE M, INOUE K. Inhibition of artificial secondary caries in root by fluoride releasing restorative materials. **Oper Dent.** 2001; 26(1):36-43.

WHITE JM. The application of in vitro models to research on demineralization and remineralization of the teeth. **Adv Dent Res.** 1995; 9(3):175-193.

ANEXOS

ANEXO 1: Tabela da marca comercial, composição, fabricante e número de lote dos materiais utilizados no estudo.

MARCA COMERCIAL	COMPOSIÇÃO	FABRICANTE (N ^o DO LOTE)
SINGLE BOND	<ul style="list-style-type: none"> • Etanol • Bis-GMA • HEMA • Água • Dimetacrilatos • Fotoiniciador • Copolímeros dos ácidos poli-itaçônico e poli-acrílico 	3M DENTAL PRODUCTS ST PAUL, MN, EUA (3JK)
OPTIBOND SOLO PLUS	<ul style="list-style-type: none"> • Etanol, • Bis-GMA • HEMA • GPDM • Água • Sílica • Vidro de bário • Hexafluorosilicato de sódio 	KERR CORP. ORANGE, CA, EUA (304142)
CLEARFIL SE BOND	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Primer:</i> N,N-Dietanol-p-toluidine, 10-MDP, HEMA, dimetacrilatos hidrofílicos, di-camforoquinona, água. • <i>Bond:</i> 10-MDP, Bis-GMA, HEMA, dimetacrilatos hidrofóbicos, di-camforoquinona, N,N- Dietanol-p-toluidine, sílica coloidal silanizada. 	KURARAY CO, LTD. UMEDA, OSAKA, JAPÃO (Primer - 00330A) (Bond - 00422A)
CLEARFIL PROTECT BOND	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Primer:</i> 10-MDP, 12-MDPB, HEMA, dimetacrilatos hidrofílicos, água. • <i>Bond:</i> 10-MDP, Bis-GMA, HEMA, dimetacrilatos hidrofóbicos, di-camforoquinona, N,N- Dietanol-p-toluidine, sílica coloidal silanizada, Fluoreto de sódio tratado superficialmente 	KURARAY CO, LTD. UMEDA, OSAKA, JAPÃO (Primer - 00004A) (Bond - 00008A)
FILTEK Z250	<ul style="list-style-type: none"> • Bis-EMA • UDMA • Bis-GMA • Canforoquinona • Partículas inorgânicas de zircônio-sílica (60%v) 	3M DENTAL PRODUCTS ST PAUL, MN, EUA (2TA)

ANEXO 2: Análise estatística realizada para avaliação dos dados obtidos no teste de microtração.

```
*****
*           SANEST - SISTEMA DE ANALISE ESTATISTICA           *
*   Autores: Elio Paulo Zonta - Amauri Almeida Machado   *
*   Empresa de Pesquisa Agropecuaria de Minas Gerais-EPAMIG *
*           ANALISE DA VARIAVEL RESUNIAO - ARQUIVO: ALESSAND *
*****
```

CODIGO DO PROJETO: 002

RESPONSAVEL: FELIPE

DELINEAMENTO EXPERIMENTAL:

OBSERVACOES NAO TRANSFORMADAS

NOME DOS FATORES

FATOR NOME

A TRATAM

B ADESIVO

QUADRO DA ANALISE DE VARIANCIA

CAUSAS DA VARIACAO	G.L.	S.Q.	Q.M.	VALOR F	PROB.>F
TRATAM	1	945,3125000	945,3125000	25,1033	0,00004
ADESIVO	3	14,1375000	4,7125000	0,1251	0,94416
TRA*ADE	3	114,4375000	38,1458333	1,0130	0,39320
RESIDUO	72	2711,3000000	37,6569444		
TOTAL	79	3785,1875000			

MEDIA GERAL = 23,687500

COEFICIENTE DE VARIACAO = 25,906 %

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE TRATAM

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	1	CONTROLE	40	27,125000	27,125000	a	A
2	2	CICLADO	40	20,250000	20,250000	b	B

MEDIAS SEGUIDAS POR LETRAS DISTINTAS DIFEREM ENTRE SI AO NIVEL DE SIGNIFICANCIA INDICADO
D.M.S. 5% = 2,73713 - D.M.S. 1% = 3,63075

MEDIAS DO FATOR TRATAM
DENTRO DE SE DO FATOR ADESIVO

NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS
1	CONTROLE	10	27,900000	27,900000
2	CICLADO	10	19,800000	19,800000

MEDIAS DO FATOR TRATAM
DENTRO DE PRO DO FATOR ADESIVO

NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS
1	CONTROLE	10	24,700000	24,700000
2	CICLADO	10	21,800000	21,800000

MEDIAS DO FATOR TRATAM
DENTRO DE SBOND DO FATOR ADESIVO

NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS
1	CONTROLE	10	28,900000	28,900000
2	CICLADO	10	19,700000	19,700000

MEDIAS DO FATOR TRATAM
DENTRO DE OPTI DO FATOR ADESIVO

NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS
1	CONTROLE	10	27,000000	27,000000
2	CICLADO	10	19,700000	19,700000

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE ADESIVO

NUM.ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	3	SBOND	20	24,300000	24,300000	a	A
2	1	SE	20	23,850000	23,850000	a	A
3	4	OPTI	20	23,350000	23,350000	a	A
4	2	PRO	20	23,250000	23,250000	a	A

MEDIAS SEGUIDAS POR LETRAS DISTINTAS DIFEREM ENTRE SI AO NIVEL DE SIGNIFICANCIA INDICADO

D.M.S. 5% = 5,11133 - D.M.S. 1% = 6,27081

MEDIAS DO FATOR ADESIVO
DENTRO DE CONTROLE DO FATOR TRATAM

NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS
1	SE	10	27,900000	27,900000
2	PRO	10	24,700000	24,700000
3	SBOND	10	28,900000	28,900000
4	OPTI	10	27,000000	27,000000

MEDIAS DO FATOR ADESIVO
DENTRO DE CICLADO DO FATOR TRATAM

NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS
1	SE	10	19,800000	19,800000
2	PRO	10	21,800000	21,800000
3	SBOND	10	19,700000	19,700000
4	OPTI	10	19,700000	19,700000

ANEXO 3: Análise estatística realizada para avaliação dos dados obtidos da mensuração da profundidade de profundidade de cárie.

ANOVA E TUKEY

```
*****
*           SANEST - SISTEMA DE ANALISE ESTATISTICA           *
*   Autores: Elio Paulo Zonta - Amauri Almeida Machado   *
*   Empresa de Pesquisa Agropecuaria de Minas Gerais-EPAMIG *
*           ANALISE DA VARIÁVEL MEDIA - ARQUIVO: ALES           *
*****
```

CODIGO DO PROJETO:

RESPONSAVEL:

DELINEAMENTO EXPERIMENTAL:

OBSERVACOES NAO TRANSFORMADAS

NOME DOS FATORES

FATOR NOME
-----A ADES
B DIST
C REP

QUADRO DA ANALISE DE VARIANCIA

CAUSAS DA VARIACAO	G.L.	S.Q.	Q.M.	VALOR F	PROB. >F
ADES	3	2462,4510391	820,8170130	3,1627	0,03548
RESIDUO (A)	36	9343,2122143	259,5336726		
PARCELAS	39	11805,6632534			
DIST	2	3092,9887636	1546,4943818	45,8132	0,00001
ADE*PRO	6	716,1833245	119,3638874	3,5360	0,00429
RESIDUO (B)	72	2430,4705320	33,7565352		
TOTAL	119	18045,3058734			

MEDIA GERAL = 51,597000

COEFICIENTE DE VARIACAO (A) = 18,027 %

COEFICIENTE DE VARIACAO (B) = 11,260 %

INFORMACOES PARA OS TESTES DE SIGNIFICANCIA

VARIANCIAS COMPLEXAS

VARIANCIA DO FATOR A(B)

$$[2.*Q.M.RESIDUO (A) + 4.*Q.M.RESIDUO (B)]/30$$

VARIANCIA DO FATOR B(A)

$$[2.*Q.M.RESIDUO (B)]/10$$

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE ADES

DENTRO DE 5 DO FATOR DIST

NUM.ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	1	SINGLE	10	49,745000	49,745000	a	A
2	3	PROTECT	10	49,581000	49,581000	a	A
3	2	SE	10	49,536000	49,536000	a	A
4	4	OPTI	10	31,637000	31,637000	b	B

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE ADES

DENTRO DE 10 DO FATOR DIST

NUM.ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	3	PROTECT	10	55,714000	55,714000	a	A
2	2	SE	10	53,557000	53,557000	a	A
3	1	SINGLE	10	53,557000	53,557000	a	A
4	4	OPTI	10	45,738000	45,738000	a	A

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE ADES

DENTRO DE 25 DO FATOR DIST

NUM.ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	2	SE	10	58,942000	58,942000	a	A
2	1	SINGLE	10	58,735000	58,735000	a	A
3	3	PROTECT	10	58,511000	58,511000	a	A
4	4	OPTI	10	53,911000	53,911000	a	A

MEDIAS SEGUIDAS POR LETRAS DISTINTAS DIFEREM ENTRE SI AO NIVEL DE SIGNIFICANCIA INDICADO
D.M.S. 5% = 12,38982 - D.M.S. 1% = 15,27060

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE PROF

DENTRO DE SINGLE DO FATOR ADES

NUM.ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
-----------	-----------	------	------------	--------	------------------	----	----

1	3	25	10	58,735000	58,735000	a	A
2	2	10	10	53,557000	53,557000	ab	AB
3	1	5	10	49,745000	49,745000	b	B

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE PROF
DENTRO DE SE DO FATOR ADES

NUM.ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	3	25	10	58,942000	58,942000	a	A
2	2	10	10	53,557000	53,557000	ab	AB
3	1	5	10	49,536000	49,536000	b	B

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE PROF
DENTRO DE PROTECT DO FATOR ADES

NUM.ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	3	25	10	58,511000	58,511000	a	A
2	2	10	10	55,714000	55,714000	ab	AB
3	1	5	10	49,581000	49,581000	b	B

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE PROF
DENTRO DE OPTI DO FATOR ADES

NUM.ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	3	25	10	53,911000	53,911000	a	A
2	2	10	10	45,738000	45,738000	b	B
3	1	5	10	31,637000	31,637000	c	C

MEDIAS SEGUIDAS POR LETRAS DISTINTAS DIFEREM ENTRE SI AO NIVEL DE SIGNIFICANCIA INDICADO

D.M.S. 5% = 6,22476 - D.M.S. 1% = 7,81953

DIFEREM ENTRE SI AO NIVEL DE SIGNIFICANCIA INDICADO

D.M