



FOB USP

**Efeitos de um cimento de ionômero
de vidro e um selante resinoso em esmalte
bovino desmineralizado, submetido ou não
a desafio cariogênico- estudo *in situ***

Adriano Tomio Hoshi



Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Bauru,
da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos
para obtenção do título de doutor em Odontologia, na
área de Odontopediatria.

(Edição Revisada)

**BAURU
2006**

**Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.



**Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru**

FOB USP

**Efeitos de um cimento de ionômero
de vidro e um selante resinoso em esmalte
bovino desmineralizado, submetido ou não
a desafio cariogênico- estudo *in situ***

Adriano Tomio Hoshii



Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Bauru,
da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos
para obtenção do título de doutor em Odontologia, na
área de Odontopediatria.

(Edição Revisada)

ORIENTADOR: Prof^o. Dr^a. Salete Moura Bonifácio da Silva

**BAURU
2006**

Hoshi, Adriano Tomio

H792e Efeitos de um cimento de ionômero de vidro e um selante resinoso em esmalte bovino desmineralizado, submetido ou não a desafio cariogênico- estudo *in situ* / Adriano Tomio Hoshi. - Bauru, 2006.

184p ; il. ; 30 cm.

Tese, (Doutorado)-Faculdade de Odontologia de Bauru/USP.

Orientador: Profa. Dra. Salete Moura Bonifácio da Silva

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação/tese, por processos fotocopiadores e/ou meios eletrônicos.

Assinatura do autor: _____

Data: ____/____/____

Projeto de Pesquisa aprovado pelo Comitê de Ética da FOB em 07 de novembro de 2005
Nº do processo: 96/2005

Dados Curriculares

Adriano Tomio Hoshi

Nascimento	08 de setembro de 1976
Naturalidade	Uraí – PR
Filiação	Jorge Toshimitsu Hoshi Adelina Midori Hoshi
1994 – 1997	Curso de Graduação em Odontologia pela Faculdade de Odontologia de Bauru - Universidade de São Paulo.
1995 – 1997	Bolsista do Programa Especial de Treinamento - CAPES.
1998 – 2000	Curso de Pós-Graduação em Odontologia, nível de Mestrado, Área de Odontopediatria, pela Faculdade de Odontologia de Bauru - Universidade de São Paulo.
2000 - 2001	Professor Auxiliar da Disciplina de Odontopediatria do Curso de Odontologia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel – PR.
2001 - 2006	Professor Assistente das Disciplinas de Odontopediatria e Clínica Integrada Infantil do Curso de Odontologia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel – PR.
2002 - 2003	Coordenador dos Cursos de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel – PR.
Associações	SBPqO – Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica

Dedicatória

À Deus,

Por ter me dado a oportunidade de viver com amor, saúde, paz e alegria, e por permitir que eu tente ser uma pessoa melhor a cada dia. Obrigado por tudo, mas principalmente pela família que tenho.

À minha esposa **Susana Emiko Hoshino Hoshi**

Por estar sempre ao meu lado, em todos os momentos de minha vida, compartilhando sonhos e ideais. Obrigado por seu amor e por ter me dado a benção de ser pai. Te amo muito!

À minha filha **Letícia Harumi Hoshi**

Você é um tesouro que Deus nos deu de presente. Mesmo sem saber o que é uma tese, já sabia que papai tinha que terminá-la. O amor que papai sente por você só aumenta a cada dia.

Aos meus pais **Jorge Toshimitsu Hoshi e Adelina Midori Hoshi**

Por serem meus exemplos de vida e por fazerem de tudo para possibilitar minha melhor formação. Obrigado por tudo. Amo vocês.

Aos meus irmãos **Frank Toshio Hoshi, Edgard Hideaki Hoshi e Vander Koji Hoshi**

Por todos os momentos felizes vividos, pelo incentivo e pela alegria de sermos uma família maravilhosa.

Aos meus avós: **Seiji Hoshi e Tamae Hoshi; Jiichi Ito e Hatsue Ito**

Simplesmente por serem meus avós... vocês vivem em meu coração.

A vocês, dedico este trabalho!

Agradecimentos especiais

À minha orientadora, **Profa. Dra. Salete Moura Bonifácio da Silva**

Você é uma professora exemplar, uma orientadora exemplar, mas principalmente um ser humano exemplar. Obrigado pela paciência, pela compreensão, pelo carinho e pela amizade. Tudo o que você me ensinou nestes 11 anos de convivência permanecerão sempre comigo. Que Deus a abençoe sempre!

À **Profa. Dra. Maria Aparecida de Andrade Moreira Machado**

O sonho quase impossível de escrever um livro de Odontopediatria tornou-se realidade graças a você. Agradeço por permitir que eu participasse desta obra!!!

À minha grande amiga, **Marina de Lourdes Calvo Fracasso**

Trabalhos, corremos, erramos e nos estressamos juntos, mas também nos divertimos, rimos e conversamos muito. Às vezes, também acertamos. Em muitos momentos tudo estava tão difícil que parecia ser impossível. Você, com sua experiência, calma e serenidade sempre me tranquilizava e incentivava para que continuássemos buscando nossos objetivos. Obrigado por tudo. Que Deus esteja sempre com você e sua família.

À minha segunda família: **Sr. Augusto Hoshino, Dona Sandra, Satie, Tiemi e Jaime**

Obrigado pelo carinho, pela amizade, pelo incentivo, pela ajuda e por todos os bons momentos vividos.

Ao amigo **Christian Giampietro Brandão**

Você sempre ajuda muito! Você não é apenas um amigo, mas um irmão!

Às minhas cunhadas **Therumi, Alessandra e Ângela**

Pela amizade, pelo carinho e por estarem sempre incentivando e torcendo...

Ao amigo **Flávio Monteiro Amado**

Pela amizade sincera e por ter deixado sua casa em minhas mãos.

Aos amigos **Heitor, Daniela Rios, Marcelo, Simone, Amandinha**

Por toda a ajuda e pelos momentos compartilhados.

Aos meus amigos - voluntários de pesquisa: **Heitor, Dani, Thiago, Agnes, Evaristo, Fausto, Vivien, Susana, Flávia, Marcela, Natalino e Dafna.**

Obrigado pela paciência e pela colaboração.

Agradecimentos

À Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo, representado pelo Diretor **Prof. Dr. Luis Fernando Pegoraro**, por toda minha formação nos cursos de graduação, mestrado e doutorado.

Aos professores da Disciplina de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Bauru – USP: **Prof. Dr. Aymar Pavarini, Prof. Dr. Bernardo Gonzales Vono, Prof. Dr. José Eduardo de Oliveira Lima, Profa. Dra. Maria Aparecida de Andrade Moreira Machado, Profa. Dra. Maria Francisca Thereza Borro Bijella e Prof. Dr. Ruy César Camargo Abdo**, por todos os ensinamentos e pelo incentivo constante.

Ao **Prof. Dr. Alberto Carlos Botazzo Delbem**, pela ajuda preciosa, pela paciência e pelo incentivo.

À **Profa. Dra. Marília Afonso Rabelo Buzalaf**, por me receber tão bem em seu laboratório e permitir que eu realizasse esta pesquisa, sempre disposta a colaborar e a indicar o melhor caminho a seguir.

Aos funcionários da Disciplina de Odontopediatria: **Dona Lia, Lilian, Fátima, Estela, Peterson, Letícia, Cláudia e Amanda**, pela amizade e ajuda em todos os momentos.

Aos funcionários: **Ovídio, Thelma, Flávio e Flávia**, e ao Prof. Dr. Rodrigo, da disciplina de Bioquímica, pela ajuda, pela preocupação e pela amizade.

Aos funcionários: **Alcides, Nelson e Edmauro**, por ajudarem em várias etapas da pesquisa.

Aos amigos **Juliano Pessan, Flavinha, Tati Furlani, Rejane**, por ajudarem muito nas etapas laboratoriais.

Aos amigos do curso de pós-graduação em Odontopediatria: **Érika, Gladis, Heitor, Leandra, Marcelo, Marina e Thaís**, do meu curso de Doutorado; **Carol Fraga, Tiza, Carol Magalhães, Juliano, Erica, Andréa, Vivien, Evaristo, Sandra, Helena, Thiago, Dafna, Vivi e Ana Paula**, dos demais cursos.

Ao **Prof. Dr. José Roberto Pereira Lauris**, da Disciplina de Saúde Coletiva da FOB – USP, pela análise estatística.

Aos funcionários da biblioteca da FOB – USP, em especial à **Valéria**, pela correção das referências bibliográficas.

Aos professores e amigos da Disciplina de Odontopediatria e Clínica Infantil da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Cascavel - PR: **Prof. Dr. Edo Hirata, Profa. Maria Daniela Basso de Souza, Profa. Denise César de Oliveira Davidoff, Profa. Maria de Fátima Monteiro Tomasin, Prof. Amadeu Tomasin Neto, Prof. Luiz Carlos Marchi, Prof. Roberto Bombonatti e Prof. Mauro Agner Busato**, pelo incentivo, por permitirem que eu fizesse o curso de Doutorado e por trabalharem a mais para suprir a minha ausência.

A todos os meus amigos, que sempre me incentivaram e apoiaram.

A todos que, de uma maneira ou outra, colaboraram para a realização deste trabalho.

A vocês, muito obrigado!

Sumário

LISTA DE FIGURAS.....	xiii
LISTA DE TABELAS.....	xv
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	xvi
RESUMO.....	xix
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	05
2.1 Estudos <i>in vivo</i>	07
2.2 Estudos <i>in situ</i>	17
2.3 Estudos <i>in vitro</i>	35
2.4 Trabalhos de revisão.....	61
3. PROPOSIÇÃO.....	75
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	79
4.1 Aspectos Éticos.....	81
4.2 Delineamento experimental.....	81
4.3 Obtenção dos dentes bovinos.....	82
4.4 Obtenção dos blocos de esmalte bovino.....	83
4.5 Planificação e polimento dos blocos de esmalte.....	84
4.6 Avaliação da microdureza superficial inicial.....	85
4.7 Desmineralização <i>in vitro</i> do esmalte.....	86
4.8 Avaliação da microdureza superficial após a desmineralização.....	87
4.9 Distribuição dos blocos entre grupos e voluntários.....	88
4.10 Montagem e selamento dos espécimes.....	89
4.11 Seleção dos voluntários.....	90
4.12 Preparo do dispositivo intrabucal palatino.....	91
4.13 Procedimentos intrabucais.....	92
4.14 Avaliação da concentração de flúor no biofilme dentário.....	94
4.15 Limpeza e secção dos espécimes.....	95
4.16 Avaliação da concentração de flúor no esmalte (biópsia básica).....	96
4.17 Avaliação da microdureza em secção longitudinal do esmalte.....	97
4.18 Análise estatística.....	98
5. RESULTADOS.....	115
5.1 Quantidade de biofilme dentário coletado e sua concentração de flúor.....	117
5.2 Concentração de flúor no esmalte.....	118
5.3 Porcentagem de volume mineral (conteúdo mineral) do esmalte.....	119
6. DISCUSSÃO.....	127

6.1 <i>Discussão da metodologia</i>	129
6.2 <i>Discussão dos resultados</i>	137
6.2.1 Concentração de flúor no biofilme dentário.....	137
6.2.2 Concentração de flúor no esmalte dentário.....	139
6.2.3 Porcentagem de volume mineral.....	140
7. CONCLUSÕES.....	149
ANEXOS.....	153
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	167
ABSTRACT.....	181

Lista de Figuras

FIGURA 4.1 –	Fluxograma do delineamento experimental.....	101
FIGURA 4.2 –	Materiais testados: selante resinoso Delton e CIVav Ketac Molar Easymix.....	103
FIGURA 4.3 –	Secção para separar coroa e raiz.....	103
FIGURA 4.4 –	a. máquina de cortes; b. espécime posicionado para corte; c. secções duplas no sentido méso-distal e cérvico-incisal; d. espécime obtido da região central da face vestibular.....	103
FIGURA 4.5 –	a. politriz metalográfica; b. blocos antes e após a planificação da dentina; c. bloco após polimento do esmalte.....	105
FIGURA 4.6 –	a. microdurômetro acoplado ao computador; b. indentação delimitada para cálculo da microdureza.....	105
FIGURA 4.7 –	a. blocos de esmalte posicionados; b. blocos fixados com resina composta, com um ângulo aproximado de 120°.....	105
FIGURA 4.8 –	DIP com cavidades onde serão fixados os espécimes (A) e dispositivo com os espécimes fixados, sendo um lado com tela e outro sem tela (B).....	107
FIGURA 4.9 –	DIP a ser removido no 15 ^o dia. Observar biofilme dentário acumulado sob a tela plástica.....	107
FIGURA 4.10 –	a. DIP removido da cavidade bucal; b. corte da tela plástica com tesoura; c e d. biofilme dentário coletado com espátula plástica.....	109
FIGURA 4.11 –	a. biofilme dentário em tubos de microcentrífuga; b. adição de solução de HCl 0,5 M; c. agitação em agitador de tubos; d. agitação em mesa agitadora orbital plana por 3 h.....	109
FIGURA 4.12 –	Eletrodo íon específico Orion para análise de flúor.....	111

FIGURA 4.13 –	Seccionamento longitudinal do espécime em máquina de corte.....	111
FIGURA 4.14 –	a. espécime preparado para biópsia básica; b. espécime imerso em 1 mL de solução de KOH 1 M; c. agitação em mesa agitadora orbital plana por 24 h.....	111
FIGURA 4.15 –	a. embutidora de espécimes; b. espécimes embutidos em resina acrílica.....	113
FIGURA 4.16 –	a. esquema da leitura de microdureza longitudinal em esmalte selado (sob o material), esmalte na borda do material e esmalte não selado (adjacente ao material); b. imagem das indentações realizadas para leitura de microdureza longitudinal nos espécimes com selamento; c. imagem das indentações realizadas para leitura de microdureza longitudinal nos espécimes sem selamento. Obs: as indentações foram realizadas no dois blocos de esmalte de cada espécime.....	113
FIGURA 5.1 –	Médias da porcentagem de volume mineral nas diferentes profundidades (μm) da superfície do esmalte para cada grupo, considerando o esmalte selado	121
FIGURA 5.2 –	Médias da porcentagem de volume mineral nas diferentes profundidades (μm) da superfície do esmalte para cada grupo, considerando o esmalte na borda do material	123
FIGURA 5.3 –	Médias da porcentagem de volume mineral nas diferentes profundidades (μm) da superfície do esmalte para cada grupo, considerando o esmalte não selado	125

Lista de Tabelas

TABELA 4.1 –	Materiais testados e respectivas especificações.....	82
TABELA 4.2 –	Descrição dos grupos em função do material e do desafio cariogênico	82
TABELA 4.3 –	Componentes utilizados no preparo de 1 L de solução desmineralizadora para provocar lesão de cárie artificial.....	87
TABELA 4.4 –	Valores (média ± dp) da microdureza do esmalte (KHN) antes e após a desmineralização dos blocos nos diferentes grupos.....	88
TABELA 4.5 –	Valores (média ± dp) da microdureza do esmalte (KHN) antes e após a desmineralização dos blocos nos diferentes voluntários.....	89
TABELA 5.1 –	Peso úmido total (mg) do biofilme dentário de acordo com o grupo e voluntário.....	117
TABELA 5.2 –	Concentrações de flúor ($\mu\text{g} / \text{g}$) no biofilme dentário dos diferentes grupos.....	119
TABELA 5.3 –	Concentrações de flúor ($\mu\text{g} / \text{cm}^2$) no esmalte dos diferentes grupos.....	117
TABELA 5.4 –	Porcentagem de volume mineral do esmalte selado (média ± dp) nos diferentes grupos, de acordo com a profundidade (μm) em relação à superfície do esmalte.....	121
TABELA 5.5 –	Porcentagem de volume mineral do esmalte na borda do material (média ± dp) nos diferentes grupos, de acordo com a profundidade (μm) em relação à superfície do esmalte.....	123
TABELA 5.6 –	Porcentagem de volume mineral do esmalte não selado (média ± dp) nos diferentes grupos, de acordo com a profundidade (μm) em relação à superfície do esmalte.....	125

Lista de abreviaturas e símbolos

%PDS – porcentagem de perda de dureza superficial

%RMS – porcentagem de recuperação da microdureza superficial

[F] – concentração de flúor

ΔM – mudança no conteúdo mineral

ΔZ – porcentagem de volume mineral x μm (perda mineral)

μL – microlitro

ADD – água destilada e deionizada

AmF – fluoreto de amina

ANOVA – análise de variância

ART ou TRA – tratamento restaurador atraumático

C – controle

Ca – cálcio

$Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ – nitrato de cálcio tetra-hidrato

$CaCl_2$ – cloreto de cálcio

CaF_2 – fluoreto de cálcio

CDTA – diaminocyclohexanetetran-acético

ceod/s – superfícies ou dentes decíduos cariados, extraídos ou obturados

CIV – cimento de ionômero de vidro

CIVav – cimento de ionômero de vidro de alta viscosidade

cm – centímetro

cm^2 – centímetro quadrado

CMPD – controle mecânico da placa dentária

CPOD/S – superfícies ou dentes permanentes cariados, perdidos ou obturados

DF – dentifrício fluoretado

DIP – dispositivo intrabucal palatino

DP – dentifrício sem flúor

dp – desvio padrão

EM – estreptococos mutans

F – flúor

Fe – ferro

FFA – flúor fosfato acidulado
g – grama
h – horas
HCl – ácido clorídrico
HV-GIC – high viscosity glass ionomer cement
KHN – Knoop hardness number (número de dureza Knoop)
kHz – quilo hertz
KOH – hidróxido de potássio
M – mol / L
MFP – monofluorofosfato de sódio
min – minuto
mL – mililitro
mM – mili mol / L
mm – milímetro
mm² – milímetro quadrado
mmol/L – milimol por litro
mV - milivolt
n – número da amostra
NaCl – cloreto de sódio
NaF – fluoreto de sódio
NaH₂PO₄.2H₂O – fosfato de sódio di-hidrato
NaOH – hidróxido de sódio
P – fósforo
p – nível de significância
pH – potencial hidrogeniônico
P_i – polissacarídeos insolúveis
PI ou P_i – fósforo inorgânico
ppm – parte por milhão
QLF – fluorescência quantitativa induzida por luz
rpm – rotações por minuto
s – segundos
SnF – fluoreto estanhoso
SR – selante resinoso

TISAB – tampão de ajuste de força iônica total

α – nível de significância

μm – micrometro



**Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru**

FOB USP

Resumo

Resumo

Este estudo *in situ* avaliou em esmalte bovino desmineralizado, submetido ou não a um desafio cariogênico, os efeitos de um cimento de ionômero de vidro de alta viscosidade (CIVav) e de um selante resinoso, comparativamente a um controle (sem selamento). Doze voluntários usaram dispositivos intrabucais palatinos (DIP) contendo 12 blocos de esmalte bovino desmineralizado, fixados dois a dois para simular uma fissura em V, a qual foi selada com um dos materiais: CIVav (Ketac™ Molar Easymix), selante resinoso (Delton) ou controle (sem selamento). Metade dos espécimes foi submetida ao acúmulo de biofilme, recebendo oito aplicações diárias de sacarose a 20% para provocar um desafio cariogênico, além de outras três, de solução de dentifrício fluoretado (1 g : 3 mL), enquanto a outra metade não sofreu acúmulo de biofilme, mas também recebeu o dentifrício. Após 14 dias, foram avaliadas as concentrações de flúor no biofilme e no esmalte, bem como o conteúdo mineral (microdureza em secção longitudinal). Os dados obtidos foram analisados estatisticamente ($\alpha= 5\%$). O teste Friedman ANOVA revelou que a concentração de flúor no biofilme foi estatisticamente maior com o uso do CIVav, em comparação ao selante resinoso e ao controle. A ANOVA e o teste de Tukey constataram que houve maior concentração de flúor no esmalte associado ao CIVav, sobretudo na ausência de desafio cariogênico, enquanto o selante resinoso e controle foram semelhantes. Em relação ao conteúdo mineral, a ANOVA e o teste de Tukey detectaram diferenças entre os grupos na camada mais superficial do esmalte. Com desafio cariogênico, o conteúdo mineral foi sempre maior no esmalte associado ao CIVav do que naquele associado ao selante resinoso, sendo que o controle apresentou

resultados intermediários. Sem o desafio cariogênico, houve uma tendência de um maior conteúdo mineral no grupo controle. Os resultados sugerem que o CIVav, aplicado sobre uma superfície desmineralizada e sob desafio cariogênico, demonstrou um potencial cariostático pela sua capacidade de doar flúor à estrutura e ao biofilme dentários, minimizando os efeitos da desmineralização, mas não melhorou a remineralização.

Palavras-chave: Cimento de ionômero de vidro. Selantes de fossas e fissuras. Esmalte dentário. Remineralização dentária. Desmineralização do dente.



**Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru**



FOB USP

Introdução

1. Introdução

O selante resinoso tem sido usado com sucesso na prevenção da cárie dentária, constituindo-se numa barreira física que protege sobretudo o esmalte que está sob o material^{30,38,51,80}. Portanto, seu efeito preventivo depende diretamente de sua retenção, que pode ser influenciada pela contaminação do campo operatório, pela habilidade do profissional ou pela colaboração do paciente⁷⁶.

O CIV também pode ser usado para o selamento de fossas e fissuras, mas geralmente apresenta uma retenção inferior ao selante resinoso⁵⁶. Entretanto, tem a capacidade de liberar e reincorporar flúor, sendo capaz de diminuir a desmineralização e auxiliar na remineralização do esmalte, mesmo em situações de alto desafio cariogênico provocado *in vitro*^{18,28,37,38,51,69,73,74,77} e *in situ*^{4,46,86,98}.

Os estudos *in situ* são preconizados por simularem a dinâmica da cavidade bucal sob condições controladas e sem prejuízo aos indivíduos. Assumem uma posição intermediária entre a situação clínica natural descontrolada e a situação laboratorial altamente controlada^{27,100}. Como a cárie dentária vem se tornando um problema limitado a um número menor de pacientes e a lesões localizadas em áreas com alto desafio cariogênico, como nas fossas e fissuras, há a necessidade de modelos que tentem mimetizar estas situações, levando em consideração o maior número possível de condições naturais da cavidade bucal para diminuir o grau de artificialidade⁶⁰.

Atualmente, existem no mercado os CIVav, indicados para a técnica de tratamento restaurador atraumático (TRA ou ART). Alguns estudos verificaram que estes materiais liberam menos flúor que os outros CIV¹⁹, mas ainda assim são

efetivos na inibição da desmineralização⁷⁷, sendo também indicados para o selamento de fossas e fissuras⁹³.

Apesar deste método preventivo específico para superfícies com fossas e fissuras ser consagrado e efetivo na prevenção da cárie dentária^{61,76}, MEJÀRE et al.⁵⁵ (2003) afirmaram que ainda há uma evidência científica limitada ou incompleta sobre seu efeito, sendo ainda necessários estudos em pacientes com alto risco à cárie, os quais podem apresentar uma desmineralização do esmalte, conhecida como lesão de mancha branca, mesmo em dentes semi-irrompidos.

Portanto, em vista do exposto, torna-se necessário o desenvolvimento de estudos com materiais indicados para o selamento e que simulem as condições de desafio cariogênico presentes na cavidade bucal. Esse é o caminho para procurar elucidar as dúvidas ainda existentes sobre a efetividade esperada de diferentes materiais, fornecendo, assim, evidências científicas para o seu emprego clínico.



Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru

2

FOB USP

Revisão

da Literatura

2. Revisão da Literatura

2.1 Estudos *in vivo*

Em 1990, TORPPA-SAARINEN; SEPPÄ⁸⁷ avaliaram a taxa de retenção de selamentos com CIV (Fuji III) realizados em 93 molares e pré-molares humanos recém – irrompidos, sob isolamento relativo. Após quatro meses, 75% dos selamentos estavam totalmente presentes, 22% parcialmente presentes e 3% totalmente perdidos. Nenhum dente apresentou cárie. Foram realizadas impressões dos dentes que apresentavam perda parcial ou total e os modelos foram avaliados em estereomicroscópio ou microscopia eletrônica de varredura. Os exames revelaram que em muitos casos o material ainda estava presente no fundo das fissuras, o que poderia explicar porque os CIV previnem a ocorrência de cárie mesmo após ele parecer ter sido perdido. Para estudar a penetração do material nas fissuras, 28 dentes foram selados *in vitro*, seccionados e examinados em estereomicroscópio. Em 19 casos o selante penetrou totalmente, em 7 casos penetrou 2/3 e em dois casos 1/3 da fissura ou menos.

MEJÅRE; MJÖR⁵⁶, em 1990, avaliaram a retenção de um CIV (Fuji III) e de dois selantes resinosos (Delton e Concise WS) aplicados em 208 molares e pré-molares permanentes. Participaram do estudo 62 crianças com idade entre 5, 7 e 15 anos. As avaliações foram realizadas clinicamente e por meio de réplicas da superfície oclusal para o registro da performance dos materiais no início, após seis a doze meses e, então, anualmente até completar cinco anos. Clinicamente, 61% do CIV foi totalmente perdido após seis a doze meses e 84% após 30-36 meses.

Embora uma perda total tenha sido observada clinicamente para a maioria dos selamentos com CIV, foram observados restos do material em 93% das réplicas. A avaliação clínica dos selantes resinosos mostrou uma média de retenção completa em 90% dos casos após quatro anos e meio a cinco anos. Lesões de cárie foram observadas em 5% dos selamentos com selante resinoso e nenhum com o CIV.

Ainda em 1990, KOCH; HATIBOVIC-KOFMAN⁴⁷ avaliaram a liberação de flúor na saliva e as unidades formadoras de colônias de *S. mutans* presentes na saliva antes e após restaurar os dentes com três CIV (Vitrabond, Ketac-Fil e Chem-Fil II). Participaram da pesquisa 36 crianças de 3 a 11 anos de idade, que receberam de uma a seis restaurações com um dos três materiais. A saliva não estimulada foi coletada e analisada antes da realização das restaurações, imediatamente após o tratamento e após três e seis semanas. Todas as crianças beberam água com 0,01 a 0,05 ppm de flúor e utilizaram dentífrício fluoretado, exceto no dia da coleta da saliva. As concentrações iniciais de flúor foram de 0,038 a 0,050 ppm. Imediatamente após a realização das restaurações de CIV, as concentrações aumentaram para 0,8 ppm para Chem-Fil II e 1,2 ppm para Ketac-Fil e Vitrabond. Após três semanas, as concentrações de flúor liberado diminuíram cerca de 35% para todos os materiais e, após seis semanas, as concentrações diminuíram mais 30%. No entanto, mesmo após seis semanas, os níveis de flúor na saliva não estimulada foram dez vezes maiores do que os iniciais. Quanto maior o número de superfícies dentárias restauradas, maior a concentração de flúor na saliva. A prevalência de *S. mutans* na saliva diminuiu significativamente após a restauração dos dentes com CIV.

No ano seguinte, HATIBOVIC-KOFMAN; KOCH³⁴ avaliaram a liberação de flúor na saliva após um ano, depois de restaurar dentes com três CIV (Vitrabond,

Ketac-Fil e Chem-Fil II), e avaliaram *in vitro* a liberação-absorção-liberação de flúor destes mesmos materiais por 16 semanas. Na primeira parte do estudo, participaram da pesquisa 36 crianças de 3 a 11 anos de idade, que receberam de uma a seis restaurações com um dos três materiais. A saliva não estimulada foi coletada e analisada antes da realização das restaurações e após três e seis semanas. Todas as crianças beberam água com 0,01 a 0,05 ppm de flúor e utilizaram dentifrício fluoretado, exceto no dia da coleta da saliva. Na segunda parte do estudo, espécimes dos três CIV foram confeccionados e imersos em água deionizada para avaliar a liberação de flúor por 16 semanas, sendo expostos a um dentifrício fluoretado (250 ppm) na 12^a semana. A concentração média de flúor na saliva dos três materiais foi de aproximadamente 0,05 ppm antes da realização das restaurações, de 0,8 ppm após três semanas e 0,3 ppm mesmo após um ano. No estudo *in vitro*, os CIV mostraram capacidade de absorver flúor do dentifrício e liberá-lo posteriormente.

Em 1992, CARLSSON et al.⁷ estudaram o efeito da aplicação de selantes resinosos em fossas e fissuras nos níveis de estreptococos mutans (EM) na saliva. Foram avaliadas 46 crianças de 12 anos de idade com níveis altos ou médios de SM (grupo F) durante um ano. Como controle, foram avaliadas 33 crianças com mesma idade e mesmo nível de EM (grupo C) e 55 crianças com baixo nível (grupo L). A incidência e prevalência de cárie foram registradas clinicamente e radiograficamente. No grupo F todas as fossas e fissuras foram seladas com selante resinoso fotopolimerizável à base de Bis-GMA. Os níveis de EM na saliva foram estimados no início e três, seis, 12 e 52 semanas após o tratamento. Os resultados mostraram que houve uma redução significativa nos níveis de EM nos grupos F e C em todas as avaliações, se comparadas com os níveis iniciais. No entanto, não houve diferença

entre os grupos no período estudado. Tanto a incidência como a prevalência de cárie foram maiores nos grupos F e C se comparados ao grupo L. Os resultados sugerem que o selamento com material resinoso não afetou os níveis de EM na saliva e que a diminuição nos níveis de EM estão mais relacionados à atenção em relação à saúde bucal.

Em 1997, van DIJKEN et al.⁹⁰ avaliaram as concentrações de flúor na placa dentária formada sobre restaurações de CIV modificado por resina (Fuji II LC), compômero (Dyract) e resina composta (Pekafill), associando com a ocorrência de bactérias associadas à cárie dentária. Para isso, avaliou-se a placa dentária formada sobre restaurações classe III confeccionadas com estes materiais, após um ano na cavidade bucal, e a placa formada sobre o esmalte da face proximal. Participaram do estudo 18 indivíduos, que receberam uma restauração de cada material, consumiram água fluoretada com concentração menor que 0,25 ppm e dentifício fluoretado. Foram encontradas baixas concentrações de flúor em todas as amostras, enquanto o CIV apresentou concentrações significativamente mais elevadas. A distribuição de estreptococos mutans e lactobacilos não diferiu entre os diferentes materiais e não se correlacionou com a concentração de flúor na placa. Por outro lado, foi observada uma boa correlação entre a quantidade de estreptococos mutans na saliva e na placa. Os resultados indicaram que as concentrações de flúor liberadas *in vivo* a partir de restaurações com um ano não foram suficientes para afetar os níveis de estreptococos mutans e lactobacilos.

TWETMAN et al.⁸⁹, em 1997, investigaram o efeito cariostático de um CIV (Aqua-Cem) e um material resinoso (Concise) utilizados para colagem de braquetes ortodônticos. Foram estudados 22 pares de pré-molares homólogos de pacientes que necessitavam de extração destes dentes para tratamento ortodôntico. Os

braquetes foram colados e os pacientes foram instruídos quanto à higiene bucal e ao uso de dentifrício fluoretado. Após seis a 13 semanas, os dentes foram extraídos e avaliados quanto à extensão e incidência de desmineralização, de acordo com escores, com auxílio de uma régua eletrônica. A incidência de desmineralização do esmalte foi de 68% e de 77% com a utilização de CIV e resina, respectivamente. Em 12 pares de pré-molares a desmineralização pareceu ser menos extensa ao redor do CIV, que apresentou maior zona de esmalte intacto ao redor dos braquetes.

Em 2002, WHITFORD et al.⁹⁵ realizaram um estudo duplo cego e cruzado para determinar a concentração de flúor na saliva e na placa dentária após o uso de dentifrício fluoretado ou placebo, em indivíduos que consumiam água fluoretada (0,75 – 1,0 ppm). As amostras de saliva e placa foram coletadas uma e 12 horas após a última exposição ao dentifrício. As médias de concentração de flúor na saliva e na placa após uma hora foram maiores com o uso de dentifrício fluoretado. Porém, as concentrações de flúor na placa coletada após 12 horas não foram estatisticamente diferentes entre os dois dentifrícios. Houve uma grande variação nas concentrações de cálcio e flúor, mas estas concentrações estavam diretamente relacionadas em todas as condições testadas. Os autores concluíram que pessoas que tomam água fluoretada possuem uma concentração de flúor durante grande parte do dia que não é significativamente aumentada pelo uso de dentifrício fluoretado.

Em 2002, OLIVEIRA⁶¹ realizou um estudo clínico para avaliar e comparar a retenção, o efeito anticariogênico e as características marginais e superficiais de um selante resinoso (Delton), usado sozinho e associado a um adesivo dentinário (Prime & Bond 2.1), e de um CIV modificado por resina (Vitremer), usado em diferentes proporções pó : líquido - $\frac{1}{4}$: 1 (com e sem "primer") e 1 : 1 (sem "primer"),

por um período de 12 meses. Participaram 108 crianças de 5 a 10 anos de idade, apresentando no mínimo dois primeiros molares permanentes hígidos e/ou com lesões na forma de manchas (branca e escura). Elas foram divididas aleatoriamente em seis grupos, num total de 364 dentes: Grupo I (controle, com isolamento absoluto) - Delton; Grupo II - Delton; Grupo III - Prime & Bond 2.1 + Delton; Grupo IV - Vitremer ¼ : 1; Grupo V - "Primer" + Vitremer ¼ : 1, e Grupo VI - Vitremer 1 : 1. O selamento foi realizado sob isolamento relativo para todos os grupos, exceto para o grupo controle, após uma profilaxia prévia com jato de bicarbonato e água e condicionamento com ácido fosfórico a 37% por 15 s. Após seis e 12 meses, a avaliação clínica foi realizada por dois examinadores calibrados, pelo critério modificado, e quanto à retenção nas áreas mésio-oclusal (MO), centro-oclusal (CO) e disto-oclusal (DO). A retenção total (RT) pelo critério modificado aos 12 meses, para os grupos VI, I, II, III, IV e V, foi respectivamente de: 91,67%, 79,41%, 66,67%, 52,08%, 41,18% e 11,67%, e pela somatória das três áreas (MO+CO+DO) foi 97,22%, 92,16%, 86,27%, 77,08%, 68,63% e 35,56%. Houve diferença significativa entre: o grupo V com todos os outros grupos; o grupo VI com os grupos II e III, e o grupo IV com os grupos I e VI, pelo critério modificado. Considerando a somatória das três áreas, houve diferença estatística entre o grupo V com todos os outros, o grupo II com os grupos IV e VI e os grupos I e VI com os grupos III e IV. Concluiu-se que: aos 12 meses, nenhum material apresentou perda total; o Vitremer 1 : 1 e o diluído a ¼ : 1 associado ao "primer" apresentaram, respectivamente, os melhores e os piores resultados de RT; o Delton sob isolamento absoluto e o Vitremer 1:1 apresentaram valores semelhantes de RT; a associação do Delton ao Prime & Bond 2.1 não aumentou o seu grau de retenção. Foram observadas alterações superficiais e marginais em todos os grupos, sem prejuízo para o selamento.

PAIM et al.⁶³, em 2003, desenvolveram um modelo de cárie *in vivo* para superfície oclusal e descreveram as características do esmalte antes e após o controle mecânico da placa dentária (CMPD). Quatro voluntários participaram do experimento, contribuindo com um par de pré-molares homólogos, com indicação de extração por motivos ortodônticos. A avaliação da superfície oclusal foi realizada para evitar dentes com sinais visíveis de desmineralização, opacidades ou restaurações. Para provocar o acúmulo de placa, uma tela metálica foi fixada sobre a superfície oclusal desses dentes, após a extração do pré-molar antagonista. Após quatro semanas, esta tela foi removida e o esmalte apresentou diferentes graus de desmineralização visível em todas as superfícies a serem testadas. Nos grupos 1 e 2, o CMPD foi realizado diariamente pelo paciente, enquanto nos grupos 3 e 4 o CMPD foi realizado diariamente pelo paciente e semanalmente por um profissional. Os dentes dos grupos 1 e 3 foram extraídos após duas semanas, e os dentes dos grupos 2 e 4 após quatro semanas. Clinicamente não houve diferença entre os dois modelos de CMPD aplicados (paciente X paciente e profissional), mas a recuperação do brilho das lesões desmineralizadas foi diretamente proporcional ao tempo de CMPD. Microscopicamente, por microscopia de luz polarizada, observou-se menor porosidade tecidual nos espécimes submetidos a quatro semanas de CMPD. Concluiu-se que o modelo utilizado foi efetivo, visto que todas as superfícies oclusais apresentaram sinais clínicos e microscópicos de perda mineral após quatro semanas de desafio cariogênico. Após a exposição das superfícies ao CMPD, notou-se uma redução das perdas minerais.

Ainda em 2003, GORTON; FEATHERSTONE³² avaliaram a desmineralização ao redor de braquetes ortodônticos cimentados com CIV modificado por resina (Fuji Ortho LC) ou resina composta sem flúor (Transbond XT), em um estudo *in vivo*. Os

braquetes foram cimentados em dois pré-molares de 21 pacientes de 11 a 18 anos, aleatoriamente divididos em dois grupos. Durante o período experimental os pacientes utilizaram dentifrício fluoretado (1100 ppm, NaF), escovando duas vezes por dia. Os dentes foram extraídos após quatro semanas, seccionados e avaliados quanto à microdureza longitudinal, a 100 µm de distância do material, em direção à região cervical. Além disso, o nível de flúor na saliva dos pacientes foi avaliado antes da cimentação dos braquetes, um, dois, três, sete, 14, 21 e 28 dias após para determinar se o flúor do CIV influenciou os níveis de flúor da cavidade bucal. Os resultados mostraram que houve significativamente mais desmineralização ao redor dos braquetes cimentados com resina composta. Não houve diferença nos níveis salivares de flúor, provavelmente porque somente dois dentes haviam recebido os braquetes. Os resultados indicaram que o CIV inibiu a ocorrência de cárie *in vivo* ao redor de braquetes ortodônticos após quatro semanas.

Em um estudo bastante semelhante, PASCOTTO et al.⁶⁴, em 2004, avaliaram o efeito de um CIV (Fuji Ortho LC) e de um cimento resinoso (Concise) na desmineralização do esmalte ao redor de braquetes ortodônticos fixados em primeiros pré-molares (23 dentes em cada grupo). Participaram deste estudo 14 pacientes, que foram aleatoriamente divididos nos dois grupos, de acordo com o material utilizado. Os voluntários viviam em uma área com água fluoretada, mas não utilizaram dentifrício fluoretado durante o experimento. Após 30 dias, os dentes foram extraídos e seccionados longitudinalmente para avaliação por microdureza longitudinal. As indentações foram feitas no limite do braquete, 100 e 200 µm distante do braquete, tanto em direção oclusal como cervical, nas profundidades de 10 a 90 µm da superfície do esmalte. Os resultados mostraram que o CIV foi

estatisticamente mais eficiente que o cimento resinoso, reduzindo a desmineralização em todas as análises.

Em 2004, van DUINEN et al.⁹² avaliaram, *in vivo*, as alterações detectáveis em CIV aplicados como selante após um longo tempo de acompanhamento clínico. Foram seladas 3179 fissuras em 532 pacientes com idade entre 6 e 18 anos, entre os anos de 1990 e 2001, utilizando Ketac-Fil ou Ketac-Molar. No acompanhamento clínico foi observado um índice de retenção de 70%. Aleatoriamente, 20 impressões dos dentes foram feitas para avaliação em microscopia eletrônica de varredura. Foram observadas alterações do CIV nas bordas da fissura, que apresentava uma resistência inesperada ao corte. As análises microscópicas permitiram visualizar uma dissolução de algumas partículas do CIV, principalmente nas bordas do selante, com uma superfície semelhante ao do esmalte natural. Análises do selante adjacente ao esmalte revelaram absorção de cálcio e fosfato, com perda de alumínio e sílica, provocando uma mineralização do material. Assim, o CIV aumenta sua dureza e tem uma aparência óptica semelhante ao do esmalte. Para este processo, a saliva é fundamental, o que torna estas constatações possíveis apenas em estudos *in vivo*, após dois a três anos de controle.

Ainda neste ano, VIEIRA avaliou o comportamento clínico de cimentos de ionômero de vidro utilizados como selante oclusal por meio da técnica do ART, aplicados em primeiros molares permanentes recém-irrompidos de 42 pacientes de alto índice de cárie (ceos entre 2 e 5). Foram realizados 74 selamentos com ChemFlex (CIVav) e 75 com Vidrion R (CIV convencional), utilizando a técnica da pressão digital. As avaliações foram realizadas por dois cirurgiões-dentistas calibrados por meio de exames clínicos e fotográficos. A perda das amostras nas avaliações realizadas após 12 e 36 meses foi de 9,3% e 11,7%, respectivamente.

Depois de 12 meses, 41,8% dos selamentos com ChemFlex e 43,8% dos com Vidrion R estavam parcial ou totalmente retidos. Dos dentes inicialmente selados, 1,5% encontravam-se restaurados e 98,5% estavam livres de cárie. Após 36 meses, não foi observada retenção total em ambos os grupos, e a retenção parcial foi de 24,6% para o ChemFlex e 20,9% para o Vidrion R. Das superfícies seladas com ChemFlex, 3,1% desenvolveram cárie. O índice de sucesso de ambos os materiais foi de 93,7%, sendo que não houve diferença entre eles tanto na retenção como no efeito preventivo. Os resultados sugeriram que, apesar dos baixos índices de retenção, o selamento de molares com a técnica do ART pode ser considerado um tratamento preventivo em crianças com alto índice de cárie.

Em 2005, WHITFORD et al.⁹⁶ avaliaram em um estudo *in vivo* duplo cego e duplo cruzado, os efeitos do uso de um dentífrico fluoretado na concentração de flúor na placa dentária e na saliva em uma comunidade sem flúor na água e examinaram a relação entre as concentrações de cálcio e flúor. Participaram da pesquisa 16 indivíduos, que utilizaram dentífrico fluoretado ou placebo por uma semana. Após uma e 12 horas da última utilização destes produtos, a saliva e a placa foram coletadas. O estudo foi repetido para incluir um bochecho com 20 mmol/L de cloreto de cálcio imediatamente antes do uso do dentífrico. Como resultados, os autores verificaram que este bochecho teve somente um pequeno efeito nas concentrações de flúor e cálcio na saliva e nenhum efeito nas concentrações destes elementos na placa. Ao contrário dos resultados verificados em comunidades com água fluoretada, todas as concentrações de flúor e cálcio associadas com o uso de dentífrico fluoretado foram significativamente maiores que aquelas encontradas com uso de dentífrico placebo. Os resultados sugerem que o efeito cariostático de um dentífrico fluoretado deve ser maior em áreas sem flúor na

água e que a concentração de flúor é positivamente correlacionada com a concentração de cálcio.

2.2 Estudos *in situ*

Em 1974, KOULOURIDES et al.⁴⁸ realizaram um estudo *in situ* para investigar o efeito do flúor sobre o esmalte bovino hígido ou desmineralizado, sob condição cariogênica ou não cariogênica. Os blocos foram fixados bilateralmente em próteses inferiores, sendo um hígido e um desmineralizado de cada lado. Em apenas um dos lados foi fixada uma gaze para servir de proteção para colonização bacteriana e provocar um desafio cariogênico. Para isso, este mesmo lado era imerso em solução de sacarose a 3% contendo 1 ppm de flúor, enquanto o outro lado era imerso em água contendo 1 ppm de flúor. Participaram deste estudo três voluntários, que utilizaram as próteses continuamente por uma semana, exceto durante as quatro imersões diárias de dez minutos cada. Os blocos foram avaliados quanto à alteração na dureza e incorporação de flúor. Em condições não cariogênicas, foi encontrada uma remineralização parcial e uma alta incorporação de flúor no esmalte desmineralizado. Já no esmalte hígido houve pequena perda de dureza e menor incorporação de flúor. O desafio cariogênico provocou perda de dureza e alta incorporação de flúor ao esmalte, tanto hígido quanto desmineralizado, porém o esmalte hígido apresentou maior perda de dureza e menor incorporação de flúor que o esmalte desmineralizado.

ØGAARD et al.⁵⁹, em 1990, investigaram, *in situ*, o efeito cariostático do flúor sobre o esmalte (flúor solúvel em KOH, flúor fracamente unido ou fluoreto de cálcio) e do flúor dentro do esmalte (flúor insolúvel em KOH ou flúor firmemente unido).

Foram utilizados pares homólogos de pré-molares extraídos, sendo um deles usado como controle (sem tratamento), enquanto do outro foram obtidos dois blocos, os quais foram submetidos a um tratamento com NaF a 2% por 24 horas. Posteriormente, um dos blocos foi tratado com KOH 1 mol/L duas vezes, por 24 horas, para remoção do flúor solúvel, permanecendo apenas o flúor insolúvel em KOH. O outro bloco não foi tratado com KOH, permanecendo então o flúor total, ou seja, tanto o flúor solúvel como o insolúvel em KOH. Cinco voluntários participaram deste estudo, em três fases de quatro semanas cada, período durante o qual utilizaram dentifício não fluoretado. Em cada fase, o voluntário usou um aparelho removível superior contendo três blocos de um mesmo grupo, cobertos com bandas ortodônticas para acúmulo de placa dentária. Os blocos foram seccionados e avaliados por micro-radiografias em relação à profundidade da lesão e perda mineral. Os resultados indicaram que o flúor solúvel em KOH reduziu a perda mineral em 68% e a profundidade da lesão em 63%, quando comparado ao grupo controle. Não foi observada diferença estatisticamente significativa entre o grupo controle e o grupo com flúor insolúvel em KOH.

SCHÄFER, RAVEN; PARR⁷¹, em 1992, afirmaram que o maior critério para avaliar o valor de um modelo experimental é o grau de correspondência entre seus resultados e aqueles obtidos do processo real. Para isso, é necessário que um modelo com alta sensibilidade seja utilizado. Os autores avaliaram a influência de dois fatores específicos (severidade da lesão inicial e local de avaliação no esmalte) na performance da remineralização do esmalte humano. Para avaliar a influência da severidade da lesão, foi realizado um estudo *in situ*, com blocos de esmalte de pré-molares, os quais foram desmineralizados em gel acidificado, pH 4,5, durante duas a três semanas, originando lesões subsuperficiais com uma variação do ΔZ (%vol

mineral x μm) de 800 a 6000. Estes espécimes foram fixados em próteses parciais removíveis de adultos voluntários, que usaram dentífrico fluoretado por seis semanas. Após este período, os espécimes foram seccionados e analisados em micro-radiografias quanto ao tamanho das lesões. Para avaliar o efeito do local de avaliação no esmalte (terços cervical, médio e oclusal) na desmineralização, foi realizado um estudo *in vitro*. Neste estudo, 28 secções longitudinais de esmalte desmineralizado em gel acidificado foram analisadas por meio de microscopia de luz polarizada. Os resultados do primeiro estudo indicaram que ocorreu variação no tamanho da lesão inicial quando houve desmineralização ou remineralização durante o tratamento *in situ*. As amostras com ΔZ entre 1500 a 2500 apresentaram uma maior tendência a sofrer desmineralização que aquelas com ΔZ maior que 3500. Isto significa que a distribuição dos espécimes nos grupos de estudo deve ser bem balanceada quanto ao tamanho da lesão inicial, pois espécimes com lesões maiores parecem ser mais susceptíveis à remineralização, enquanto aqueles com lesões menores podem ser mais indicados para estudos de desmineralização. Quanto ao local de avaliação no esmalte, os resultados mostraram que a profundidade da lesão aumenta do terço coronário para cervical.

Em 1993, BENELLI et al.⁴ estudaram a quantidade de flúor na placa dentária formada sobre restaurações de CIV (Chelon-Fil) ou resina composta (Silux) e avaliaram o efeito do flúor liberado no crescimento de bactérias cariogênicas, absorção de flúor e formação de cárie secundária. Foi realizado um estudo *in situ* cruzado com dez voluntários, em duas fases de 28 dias. Foram utilizados 80 blocos de esmalte humano hígido, que foram aleatoriamente restaurados com um dos materiais. Durante cada fase do estudo, os voluntários utilizaram um dispositivo de resina acrílica contendo quatro blocos de esmalte restaurados com o mesmo

material, utilizaram dentifrício sem flúor e imergiram o dispositivo em solução de sacarose a 20% oito vezes ao dia. Na placa dentária foram avaliados os níveis de flúor, estreptococos mutans e lactobacilos. No esmalte ao redor das restaurações foi avaliada a microdureza e absorção de flúor. Houve maior concentração de flúor e menor número de estreptococos mutans na placa formada sobre o CIV. Já em relação ao número de lactobacilos não houve diferença entre os materiais. No esmalte, o CIV proporcionou maior absorção de flúor e menor perda mineral. Os resultados mostraram que o CIV apresentou um efeito anticariogênico significativo, sendo valioso na prevenção de lesões de cárie secundária, mesmo em situações de alto desafio cariogênico.

Em 1997, CURY; REBELLO; DEL BEL CURY¹⁶ avaliaram a composição da placa dentária de acordo com a exposição à sacarose. Doze voluntários participaram de um estudo *in situ* cruzado, feito em quatro fases distintas de 28 dias, nas quais um aparelho de acrílico palatino foi construído para cada voluntário. Em cada dispositivo foram fixados quatro blocos de esmalte humano protegidos por uma tela plástica. Durante as fases, os voluntários gotejaram uma solução de sacarose a 20%, variando o número de aplicações por dia (zero, duas, quatro e oito), utilizaram dentifrício sem flúor e beberam água com 0,7 ppm de flúor. Após cada fase, foram determinadas as concentrações de flúor, cálcio, fósforo e carboidratos totais na placa dentária. A análise estatística mostrou que aplicações freqüentes de sacarose reduziram significativamente as concentrações de flúor, cálcio e fósforo na placa, mas aumentaram a concentração de carboidratos álcali-solúveis. Os resultados sugerem que a cariogenicidade da placa dentária formada na presença de sacarose não pode ser atribuída somente à sua alta porosidade, mas a baixa concentração inorgânica também é importante.

HYUN KOO; CURY⁴², em 1998, avaliaram, em um estudo *in situ*, a absorção de flúor e a remineralização do esmalte dentário humano promovidas pelo cálcio solúvel em dentifrícios com MFP. Oito voluntários participaram deste estudo cruzado, duplo-cego, com três fases de 45 dias. Durante cada fase, os voluntários usaram aparelhos palatinos removíveis contendo quatro blocos de esmalte com lesão de cárie artificial provocada por solução de ácido láctico, pH 4,6. Estes blocos foram cobertos por gaze para provocar o acúmulo de placa dentária. Em cada fase foram utilizados três dentifrícios distintos: MFP contendo CaCl₂, MFP e placebo. Os voluntários foram orientados a escovar o aparelho na cavidade bucal, quatro vezes ao dia. Após cada fase, os blocos foram removidos para avaliação do flúor absorvido (ppm F), por meio de biópsia ácida, e da microdureza longitudinal. Não houve diferença entre os dois dentifrícios fluoretados em relação à absorção de flúor e microdureza, apesar do dentifrício com cálcio ter apresentado maior incorporação de flúor e microdureza. Ambos foram estatisticamente diferentes do dentifrício placebo. Os valores de microdureza mostraram que houve 50% e 40% de remineralização para os dentifrícios MFP - CaCl₂ e MFP, respectivamente, enquanto o dentifrício placebo apresentou 14% de desmineralização.

Em 1999, KIELBASSA; MÜLLER; GARCIA-GODOY⁴⁶ avaliaram, *in situ*, a ocorrência de cárie próxima a quatro materiais restauradores: Ariston pHc (libera íons flúor e hidroxila); Dyract AP (compômero); Vitremer (CIV modificado por resina); Ketac-Molar (CIVav). Foram preparados espécimes a partir das faces vestibular e lingual de molares humanos. Após planificação da superfície, foram preparadas cavidades de 1 mm de profundidade, que foram preenchidas com um dos materiais. Onze voluntários utilizaram aparelhos mandibulares removíveis, nos quais foi fixado um espécime de cada grupo. Os aparelhos foram utilizados 24 horas por dia, por

quatro semanas, com acúmulo de placa dentária. Durante as refeições os aparelhos foram mantidos imersos em solução de sacarose a 10%. Após o período experimental, os espécimes foram seccionados através das restaurações, desgastados até a espessura de 110 μm e avaliados por meio de micro-radiografia, verificando o conteúdo mineral adjacente ao material e a 0,5 mm de distância. A 0,5 mm não houve diferença entre os materiais. Somente o Ariston pHc apresentou uma perda mineral significativamente menor próximo do material, se comparado ao conteúdo mineral observado a 0,5 mm. Os CIV apresentaram uma tendência a ter menor perda mineral próximo ao material, enquanto o compômero não apresentou nenhum efeito.

Em 2001, SHORE et al.⁷⁵ avaliaram o dispositivo de Leeds, utilizado em estudos *in situ*, que possibilita a recuperação da placa dentária acumulada sobre o substrato dentário de maneira intacta. Foram utilizadas fatias de esmalte obtidas de dentes humanos, as quais foram planificadas e desmineralizadas em gel acidificado por três semanas. A microdureza Vickers inicial foi determinada e um anel de *nylon* foi colado sobre o esmalte desmineralizado, formando um dispositivo de Leeds. Vinte e dois voluntários participaram deste estudo duplo cego e cruzado, em duas fases de 28 dias cada, de acordo com o dentifrício usado: fluoretado (1500 ppm, NaF) ou placebo. Dois dispositivos foram fixados nos molares superiores de cada voluntário, sendo um do lado direito e outro do lado esquerdo, e a higiene bucal foi realizada como de costume com um dos dentifrícios. Após 28 dias, os dispositivos foram removidos para análise microbiológica da placa dentária e da microdureza do esmalte. Após duas semanas de “wash-out”, dois novos dispositivos foram fixados e o outro dentifrício foi utilizado. Não houve diferença estatisticamente significativa na contagem do total de bactérias anaeróbicas, estreptococos mutans ou lactobacilos,

em função do dentifrício usado. Porém, houve maior ganho de microdureza com o uso de dentifrício fluoretado. Os autores concluíram que o dispositivo foi capaz de medir o efeito do dentifrício fluoretado na remineralização do esmalte e na microbiologia da placa.

DUGGAL et al.²¹, em 2001, realizaram um estudo *in situ* para comparar a extensão da desmineralização do esmalte em função da freqüência de consumo de sacarose e do uso de dentifrício fluoretado ou não. Oito voluntários utilizaram aparelhos inferiores removíveis, com blocos de esmalte obtidos de pré-molares humanos, previamente desmineralizados em gel e cobertos com gaze para permitir o acúmulo de placa dentária. Os voluntários utilizaram o aparelho continuamente por sete dias, sendo os dois iniciais sem aplicação de sacarose e os cinco subseqüentes com ingestão de solução de sacarose a 12% (uma, três, cinco, sete ou dez vezes por dia), a qual era mantida na cavidade bucal por dois minutos antes de ser engolida. Foram realizadas duas fases, sendo uma com dentifrício fluoretado e outra com dentifrício não fluoretado. Os voluntários escovaram seus dentes duas vezes ao dia, por dois minutos, com o aparelho *in situ* (escovando todas as superfícies, exceto os blocos). Os espécimes foram removidos, seccionados e avaliados por meio de micro-radiografia transversa para avaliar ganho ou perda mineral. Os resultados indicaram que, mesmo quando o dentifrício fluoretado foi usado, uma desmineralização adicional foi evidenciada com a ingestão de solução de sacarose sete ou dez vezes por dia, porém não significativa. Com ingestões menos freqüentes houve remineralização, que foi significativa somente com ingestão de sacarose uma vez por dia. Já com o uso de dentifrício sem flúor, a desmineralização foi significativa quando a ingestão de sacarose foi maior que três vezes por dia.

Ainda em 2001, CURY et al.¹⁴ avaliaram o efeito anticariogênico do dentifrício com uma associação de flúor e bicarbonato de sódio, comparando com um dentifrício somente com flúor, em um estudo *in situ* cruzado, realizado em três fases de 28 dias. Dez voluntários utilizaram aparelhos palatinos de acrílico removíveis, contendo quatro blocos de esmalte humano polidos previamente, sendo dois hígidos (para avaliar a desmineralização) e dois desmineralizados *in vitro* (para avaliar a remineralização). Estes blocos foram montados abaixo do nível da resina e foram protegidos com uma tela plástica para acúmulo de placa dentária. Durante cada fase, uma solução de sacarose a 10% foi gotejada nos blocos hígidos, três vezes ao dia. Após dez minutos, em cada fase experimental, uma solução de dentifrício foi gotejada sobre todos os blocos: 1) placebo (sem flúor e sem bicarbonato de sódio); 2) com flúor (1500 ppm, NaF); 3) com flúor (1500 ppm, NaF) mais bicarbonato de sódio (20%). Foram realizadas análises da concentração de flúor na placa dentária coletada e da microdureza longitudinal do esmalte. Os resultados mostraram uma alta concentração de flúor na placa formada nos grupos 2 e 3, que não diferiram entre si, em relação ao 1 ($p < 0,05$). A desmineralização foi menor e a remineralização foi maior no grupo 3, quando comparado ao 1 ($p < 0,05$), mas a diferença em relação ao grupo 2 não foi significativa tanto na remineralização como na desmineralização. O grupo 2 apresentou remineralização estatisticamente superior ao 1, mas não foram diferentes na desmineralização. Os dados sugerem que o bicarbonato de sódio não auxilia e nem prejudica o efeito do dentifrício fluoretado na redução da desmineralização e na melhora da remineralização do esmalte.

Em 2002, LAGERWEIJ; ten CATE⁵⁰ realizaram um estudo *in situ* para determinar o máximo de remineralização que pode ser alcançado com aplicações diárias de concentrações altas de flúor. Para isso, compararam a eficácia de

aplicação diária de gel fluoretado (12500 ppm, NaF, pH 4,5) em combinação com dentifrício fluoretado (1450 ppm, NaF), com o dentifrício fluoretado somente. Participaram do estudo 26 pessoas que usavam prótese parcial removível inferior, sendo que 14 usaram apenas o dentifrício fluoretado, enquanto 12 usaram o dentifrício e o gel. Foram preparados espécimes de esmalte bovino, que foram desmineralizados em gel (8% metilcelulose, 0,1 M ácido láctico, pH 4,6) por uma semana. Os voluntários utilizaram as próteses com os blocos por quatro semanas, escovando os dentes duas vezes ao dia por dois minutos e, no outro grupo, além da escovação, foram instruídos a aplicar o gel sobre os espécimes fora da boca. Após quatro minutos o gel foi lavado em água de torneira. Os pacientes foram instruídos a não escovar os espécimes. Após o período experimental, os espécimes foram seccionados para análise do conteúdo mineral com micro-radiografias e da concentração de flúor fracamente unido e unido ao esmalte. A associação do gel com o dentifrício diminuiu a lesão em 54%, enquanto o uso isolado de dentifrício reduziu 44%, mas esta diferença não foi estatisticamente significativa. Ambos os tratamentos foram capazes de remineralizar a lesão a partir de suas camadas mais profundas, mas a camada mais superficial foi mais remineralizada com a associação entre gel e dentifrício. Esta associação também proporcionou maiores concentrações de flúor unido e fracamente unido ao esmalte.

Em 2003, TENUTA et al.⁸⁵ avaliaram o efeito de alguns fatores salivares e da composição da placa dentária na progressão de cárie *in situ*. Inicialmente, foram determinados o fluxo salivar, a capacidade tampão e os níveis de estreptococos *mutans* (EM) na saliva de 13 voluntários. Durante três períodos distintos de quatro, sete e dez dias, eles utilizaram um dispositivo palatino contendo quatro blocos de esmalte bovino, gotejaram uma solução de sacarose a 20% dez vezes por dia e

utilizaram um dentífrico não fluoretado. Em todos os períodos houve acúmulo de placa dentária e um alto desafio cariogênico. Os EM, cálcio e polissacarídeos insolúveis (PI) foram quantificados na placa formada sobre os blocos após cada período. A desmineralização do esmalte foi avaliada pela porcentagem de perda da microdureza superficial (%PDS) em relação aos valores iniciais. Houve desmineralização do esmalte em todos os períodos avaliados ($p < 0,05$) e a %PDS aumentou com o tempo (de 13,8 para 48,3%). As concentrações de cálcio e PI na placa dentária não foram diferentes entre os tempos experimentais, mas houve correlação negativa significativa entre a concentração de cálcio e %PDS e correlação positiva significativa entre a concentração de PI e %PDS. Os fatores salivares avaliados inicialmente e os níveis de EM na placa não apresentaram correlação estatisticamente significativa com a %PDS. Os resultados mostraram que a desmineralização do esmalte depende do tempo e está mais relacionada com a composição da placa dentária formada do que com os fatores salivares estudados.

Com o objetivo de avaliar os efeitos de vários materiais na formação de lesões de cárie secundária, KIELBASSA et al.⁴⁵, em 2003, fizeram um estudo *in situ*. Foram utilizados 88 blocos de esmalte das faces vestibular e lingual de molares humanos extraídos, que receberam cavidades padronizadas, as quais foram restauradas com um dos seguintes materiais: Ariston pHc; Dyract; Vitremer; Tetric Ceram; Compoglass F; F 2000; Hytac; Ketac-Molar. Um espécime de cada material foi fixado em um aparelho intrabucal mandibular, 1 mm abaixo do nível da resina acrílica para acúmulo de placa dentária. Os aparelhos foram utilizados por 11 voluntários por quatro semanas, dia e noite, e a higiene bucal foi realizada com dentífrico sem flúor. Durante as refeições e a higiene bucal os aparelhos foram imersos em solução de sacarose a 10%. Após a fase experimental, os espécimes

foram preparados para análise em micro-radiografias, para aferir o conteúdo mineral e profundidade da lesão em duas posições: próximo (até 100 μm) e distante (acima de 500 μm) do material. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os materiais tanto na perda mineral como na profundidade da lesão. Comparando-se a perda mineral próxima e distante do material, somente o Ariston pHc apresentou diferença estatisticamente significativa, com maior perda mineral no esmalte distante do material. Quanto à profundidade da lesão, os materiais não apresentaram diferenças entre áreas próximas e distantes do material. Os autores concluíram que a liberação de cálcio, hidroxila e flúor do Ariston pHc diminuiu a desmineralização adjacente ao material.

Ainda em 2003, CURY et al.¹² realizaram um estudo *in situ* para avaliar se as baixas concentrações de flúor, cálcio e fósforo inorgânico na placa dentária formada na presença de sacarose poderiam ser atribuídas simplesmente pela fermentação deste açúcar. Participaram deste estudo onze voluntários, em duas fases de 30 dias cada, que utilizaram dispositivos palatinos contendo seis blocos de esmalte humano, cobertas por tela plástica para acúmulo de placa dentária. Em cada fase foram gotejadas soluções de sacarose a 20% ou água destilada, oito vezes ao dia, sobre todos os blocos. Durante o período experimental os voluntários realizaram a higiene bucal com dentífrico sem flúor, mas ingeriram água fluoretada. Após 28 dias de cada fase, a placa dentária acumulada sobre dois blocos foi coletada, o tratamento foi invertido e, após um tempo adicional de 24 e 48 horas, a placa acumulada nos outros blocos foi coletada. As concentrações de íons flúor, cálcio e fósforo inorgânico solúveis em ácido foram analisadas na placa dentária, além da concentração de polissacarídeos insolúveis (P_i). Foram observadas concentrações estatisticamente menores dos íons e uma concentração maior de P_i na placa de 28 dias formada na

presença de sacarose do que na ausência. Após a inversão do tratamento a mudança nas concentrações dos íons não foi significativa, mas a concentração de P_i mudou significativamente. Os autores concluíram que a mudança na concentração de flúor, cálcio e fósforo inorgânico na placa dentária não é devida à fermentação da sacarose.

Em 2004, PAES LEME et al.⁶² examinaram o efeito da combinação entre flúor fosfato acidulado (FFA) e dentifrício fluoretado na desmineralização do esmalte e na composição da placa dentária. Foi realizado um estudo *in situ* cruzado com 16 voluntários, que utilizaram aparelhos palatinos removíveis com espécimes de esmalte bovino cobertos com tela plástica, em quatro fases distintas de 14 dias cada: dentifrício sem flúor (DP); dentifrício fluoretado (DF); FFA + DP; FFA + DF. O FFA foi aplicado sobre os espécimes antes dos 14 dias de experimento. Durante este período, os dentifrícios testados foram aplicados três vezes por dia (solução com proporção 1 g dentifrício : 3 mL de água deionizada), e uma solução de sacarose a 20% foi aplicada 4 ou 8 vezes por dia. Embora a aplicação FFA tenha aumentado a concentração de flúor na placa e reduzido a porcentagem de estreptococos mutans, sua combinação com DF não foi capaz de reduzir a perda mineral ou alterar os níveis de cálcio, polissacarídeos insolúveis e fósforo da placa, quando comparado ao DF sozinho. Com o aumento da frequência de aplicação de sacarose, observou-se que houve menos flúor e cálcio e mais polissacarídeos insolúveis na placa, com maior perda de dureza superficial e menor conteúdo mineral. No entanto, a frequência não alterou a concentração de fósforo e a porcentagem de estreptococos mutans. Como resultados estatisticamente significantes em relação ao dentifrício, verificou-se que o fluoretado proporcionou

maior concentração de flúor e cálcio na placa, e menor perda de microdureza superficial e área de perda mineral.

Em 2005, SÄRNER et al.⁷⁰ avaliaram o efeito de dois palitos e dois fios dentais sobre o esmalte e dentina desmineralizados, bem como sobre a composição da placa, em um estudo *in situ*, simulando os espaços interproximais. Participaram da pesquisa 14 indivíduos com prótese total, nas quais foram fixados espécimes de esmalte e dentina previamente desmineralizados. Estes espécimes formavam um V e foram unidos com resina acrílica, simulando um espaço interproximal. Foram realizados dois períodos cruzados: o primeiro comparando palitos com AmF e NaF; o segundo comparando fios dentais com AmF + NaF e fios sem flúor. Entre estes quatro períodos houve um período controle sem limpeza proximal. Os indivíduos utilizaram um dos dispositivos três vezes por dia, durante quatro semanas. Os resultados mostraram que todos os dispositivos inibiram uma desmineralização adicional em comparação ao grupo controle, sendo a diferença estatisticamente significativa. Os fios dentais foram mais efetivos na inibição da desmineralização que os palitos, principalmente em dentina. O palito com NaF foi mais efetivo que o AmF. Já o fio dental com flúor apresentou menor profundidade da lesão do que o sem flúor. Todos os dispositivos resultaram em menor número de microorganismos em comparação ao controle.

Com o objetivo de estudar os mecanismos envolvidos nas propriedades anticariogênicas dos materiais dentários, TENUTA et al.⁸⁶, em 2005, realizaram um estudo *in situ* de curto período. O estudo apresentou um delineamento cruzado em três fases, duplo-cego, com uso de dentifrício sem flúor, e em cada fase oito voluntários usaram aparelhos palatinos contendo quatro blocos de esmalte bovino, restaurados com um dos seguintes materiais: resina composta (Z 250 – controle

negativo), CIV convencional (Ketac-Fil) ou um CIV modificado por resina (Vitremer). Estes blocos foram cobertos com placa teste de *Streptococcus mutans*, fixados no aparelho e um desafio cariogênico foi realizado pela imersão em solução de sacarose a 20% por um minuto. Após 45 minutos, a placa teste foi coletada para análise de flúor. A microdureza superficial do esmalte foi pré-determinada em um dos lados da restauração para que a porcentagem de perda de microdureza fosse calculada. A concentração de flúor no esmalte também foi analisada por meio de biópsia ácida. Houve menor perda de microdureza superficial no esmalte dos grupos com CIV, que também apresentaram maior concentração de flúor na placa e no esmalte, quando comparados ao grupo controle. Os dois CIV foram semelhantes em relação à perda de microdureza superficial e concentração de flúor na placa, mas o convencional apresentou maior concentração de flúor no esmalte.

Em 2005, YAMAMOTO et al.⁹⁸ determinaram o efeito do flúor liberado pelo CIV na concentração e distribuição de flúor e fósforo na placa e na remineralização do esmalte, em um estudo *in situ*. Foram utilizados blocos de esmalte humano polido, sobre os quais foi colado um aro de nylon para o acúmulo de placa dentária. Em um dos cantos do bloco foi preparada uma cavidade (0,8 mm de diâmetro e 1 mm de profundidade). Em seguida, os blocos foram desmineralizados em gel acidificado, pH 5, por 14 dias. Quinze blocos foram restaurados com CIV (Vitrebond), 15 com cimento de óxido de zinco e eugenol e 15 não foram restaurados e não foram submetidos ao acúmulo de placa. Os espécimes restaurados foram fixados nos primeiros molares superiores de 15 voluntários, que utilizaram dentifício sem flúor durante o período experimental de sete dias. Os espécimes foram preparados e cortados em ultramicrótomo para avaliação da concentração de flúor e fósforo em toda a estrutura da placa, bem como o conteúdo mineral da lesão por

meio de micro-radiografias, nas seguintes distâncias em relação ao material: perto (0,3 - 0,5 mm); intermediário (0,5 - 0,8 mm); longe (0,8 - 1,1 mm). A concentração de flúor na placa aumentou da interface saliva - placa em direção ao esmalte no grupo do CIV, enquanto no grupo do óxido de zinco não houve diferença entre as diferentes camadas da placa. Não houve diferença entre os dois grupos em relação à concentração de fósforo, que também não apresentou diferenças de concentração nas diferentes camadas. Houve uma perda mineral significativamente menor no grupo do CIV em todas as distâncias avaliadas. Este grupo também apresentou menor perda mineral perto do material, se comparado às outras distâncias. No grupo do óxido de zinco não houve diferença na perda mineral nas diferentes distâncias. Quanto à profundidade das lesões, não houve diferença entre os grupos.

PECHARKI et al.⁶⁵, em 2005, avaliaram *in situ*, o efeito do ferro (Fe) co-cristalizado com sacarose (Fe - sacarose) topicamente aplicado *in vitro* na acidogenicidade, composição química e microbiológica da placa dentária formada *in vivo*, e na desmineralização do esmalte. Durante duas fases de 14 dias cada, 16 voluntários usaram um dispositivo palatino contendo dois grupos de três blocos de esmalte humano. Cada grupo de três blocos foi submetido a um dos tratamentos: água destilada e deionizada (T1); solução de sacarose a 20% (T2); solução de sacarose a 20% mais 18 µg Fe / mL (T3); solução de sacarose a 20% mais 70 µg Fe / mL (T4). As soluções foram gotejadas sobre os blocos oito vezes por dia e os voluntários utilizaram dentífrico fluoretado. A placa formada sobre os blocos foi analisada com respeito à acidogenicidade no 13º dia de experimento (antes e 5 minutos após o gotejamento da solução) com microeletrodo. Dez horas após a última exposição ao tratamento, a placa dentária foi coletada para avaliação microbiológica e bioquímica (Fe, F, Ca, fósforo inorgânico e polissacarídeos

insolúveis). Para avaliação da desmineralização foram avaliadas a porcentagem de perda de dureza superficial e microdureza longitudinal. O pH inicial e final da placa dos grupos T2, T3 e T4 não apresentou diferenças significativas entre si, mas foram inferiores ao grupo T1. A quantidade de placa formada sobre os blocos e seu número de lactobacilos foram significativamente menores no grupo T1, em comparação aos demais grupos, que não diferiram entre si. As populações de estreptococos mutans dos grupos T3 e T4 foram semelhantes a do grupo T1. Já o grupo T2 apresentou contagem maior que os grupos T1 e T4, mas não foi diferente do grupo T3. Os grupos T2, T3 e T4 apresentaram concentrações de cálcio significativamente menores e de polissarídeos insolúveis significativamente maiores que o grupo T1. Houve menor desmineralização no grupo T4 do que no T2. O grupo T1 apresentou menor perda de dureza superficial que o grupo T4, mas a perda mineral não foi diferente. O Fe foi capaz de diminuir a desmineralização do esmalte, provavelmente por reduzir a população de estreptococos mutans na placa formada.

Ainda em 2005, CURY et al.¹³ avaliaram *in situ* o efeito na remineralização do esmalte de dois dentifrícios fluoretados (1500 ppm como MFP), sendo um à base de carbonato de cálcio e outro à base de sílica, em comparação a um grupo sem dentifrício. Participaram do estudo dez voluntários, em três fases distintas de quatro horas cada, de acordo com os dentifrícios usados. Estes voluntários utilizaram aparelhos palatinos com quatro blocos de esmalte bovino desmineralizado, sendo que dois foram cobertos com uma placa teste de estreptococos mutans. Não foi aplicada solução de sacarose porque o intuito do estudo foi avaliar a remineralização. Após os tratamentos, os voluntários usaram o aparelho por quatro horas, para posterior análise da porcentagem de recuperação da microdureza superficial (%RMS). A remineralização com ambos os dentifrícios foi maior na

presença de placa do que ausência, ao contrário do que foi observado no grupo controle. Isto sugere que a placa prejudica a capacidade da saliva de remineralizar as lesões de cárie e que, com o uso de dentifrícios fluoretados, a placa funciona como uma reserva de MFP, que pode ser hidrolisado posteriormente, liberando íons flúor e, conseqüentemente, melhorando a capacidade do fluido da placa de remineralizar o esmalte. Os dentifrícios não diferiram estatisticamente entre si em termos de remineralização do esmalte, apesar do dentifrício com carbonato de cálcio apresentar resultados superiores, provavelmente por ser uma fonte de cálcio.

Em 2006, AIRES et al.¹ avaliaram a relação entre concentração de sacarose e potencial cariogênico, em um estudo *in situ* cruzado duplo cego, que envolveu a participação de 12 voluntários adultos. Os participantes usaram aparelhos palatinos removíveis com quatro blocos de esmalte humano, fixados 1 mm abaixo do nível da resina acrílica e protegidos por uma tela plástica para acúmulo de biofilme dentário. O estudo teve três fases de 14 dias cada, avaliando a resposta obtida pela aplicação extrabucal dos tratamentos (água destilada e deionizada – ADD, solução de sacarose a 1%, 5%, 10%, 20% ou 40%) oito vezes por dia. Em cada fase experimental dois tratamentos foram testados. Ao final dos períodos foi avaliada a cariogenicidade (pH), composição inorgânica e conteúdo de polissacarídeos insolúveis do biofilme formado sobre os blocos, além da microdureza do esmalte. Os resultados mostraram que os menores níveis de pH após cinco minutos de exposição à sacarose foram obtidos com as soluções a 10, 20 e 40%, que não foram estatisticamente significantes. A solução de 5% apresentou pH maior que a de 40%, mas não diferiu das soluções de 10 ou 20%. As maiores concentrações de flúor foram achadas nos grupos ADD e sacarose a 1%, que não diferiram estatisticamente entre si, mas foram significativamente maiores que os grupos que receberam

sacarose a 10, 20 e 40%. A concentração encontrada com a solução a 5% foi estatisticamente diferente somente da solução a 40%. As concentrações de cálcio e fósforo em ADD e sacarose a 1% não diferiram entre si, mas foram estatisticamente superiores do que os outros tratamentos. As demais concentrações não foram diferentes entre si. A concentração de polissacarídeos insolúveis foi estatisticamente menor no grupo ADD do que nos outros grupos. Os grupos da sacarose a 5, 10 e 20% não diferiram entre si, mas foram estatisticamente maiores do que a sacarose a 1% e menores que sacarose a 40%. As porcentagens de perda de dureza superficial nos grupos ADD e sacarose a 1% não foram diferentes entre si, mas foram significativamente menores do que as observadas com as outras concentrações de sacarose. A partir da concentração de 5% não foi observada diferença entre os grupos quanto à porcentagem de perda de dureza superficial. O mesmo ocorreu com o ΔZ , já que os grupos ADD e sacarose a 1% não foram diferentes entre si, mas apresentaram perdas minerais menores do que as observadas com as outras concentrações de sacarose. Os blocos tratados com solução de sacarose a 5, 10 e 20% não diferiram estatisticamente entre si, mas o grupo tratado com 40% apresentou maior perda mineral do que os grupos tratados com soluções de sacarose a 5 e 10%. Os autores concluíram que a concentração de sacarose limiar para formação de um biofilme dentário com propriedades de acidogenicidade e composição bioquímica capaz de promover a cárie dentária é ao redor de 5%.

MARTINHON et al.⁵⁴, em 2006, avaliaram, *in situ*, o efeito do ferro na composição do esmalte e na formação do biofilme dentário, sob alto desafio cariogênico. Participaram da pesquisa 12 voluntários, em duas etapas de 14 dias cada. Em cada etapa os voluntários receberam dispositivos palatinos contendo quatro blocos de esmalte bovino e escovaram seus dentes com dentifício não

fluoretado. Oito vezes ao dia, seis voluntários gotejaram uma solução de sulfato ferroso 15 mM sobre os espécimes, enquanto os outros seis gotejaram água deionizada. Cinco minutos depois, uma solução de sacarose a 20% foi gotejada sobre os espécimes. Foi realizada a análise da microdureza superficial antes e após do experimento (carga de 50 g por 10 s) e coletado o biofilme dentário para avaliação de flúor, cálcio, fósforo, ferro e carboidratos álcali-solúveis. Também foi avaliada a microdureza em secção longitudinal (carga de 25 g por 10 s) e flúor, cálcio e ferro do esmalte. No biofilme tratado com sulfato ferroso houve aumento significativo apenas das concentrações de fósforo e ferro. O grupo que recebeu sulfato ferroso apresentou porcentagem de perda de dureza superficial e perda mineral menores que o grupo controle. Quanto à composição do esmalte, não houve diferença entre os grupos. Concluiu-se que o ferro causa um aumento na concentração de fósforo no biofilme dentário, bem como reduz a perda mineral, tanto na superfície como no interior do esmalte.

2.3 Estudos *in vitro*

Em 1980, ARENDS; SCHUTHOF; JONGEBLOED² avaliaram a relação entre a média de profundidade de lesões de cárie artificial e o comprimento de indentações de microdureza na superfície, utilizando dentes humanos e bovinos. Foram utilizados 50 incisivos e pré-molares humanos e 60 incisivos bovinos. Após planificação e polimento de uma janela da face vestibular, os dentes foram imersos em solução desmineralizadora com pH 4,0 ou 4,5, por períodos de dois, quatro e oito dias. Após a realização das indentações, os dentes foram imersos em solução corante por 24 horas e seccionados para avaliar a profundidade da lesão em

microscópio. Os resultados mostraram que há uma relação linear entre os dois métodos tanto para o esmalte humano como para o bovino. O erro na determinação da profundidade da lesão foi de 10 a 15%. Após quatro dias na solução desmineralizadora de pH 4,5 e 4,0, a relação entre as profundidades da lesão do esmalte bovino e humano foram de 1 : 1,4 e 1 : 1, respectivamente, para cada solução. A vantagem da técnica de avaliação da microdureza superficial é que não necessita de destruição do espécime.

FEATHERSTONE; MELLBERG²⁶, em 1981, estudaram a progressão de lesões de cárie artificial sobre esmalte humano e bovino, tanto decíduo como permanente, além de esmalte ovino permanente. Foram empregados dois diferentes meios para provocar cárie. Um sistema gelatinoso com ácido láctico foi aplicado em esmalte bovino e humano, tanto decíduo como permanente, por um período de oito dias, com avaliações de penetração de corante (Rodamina B) no esmalte após um, dois, quatro e oito dias. Além disso, lesões de cárie artificial também foram produzidas em esmalte permanente bovino (natural e abrasionado), ovino e humano, porém utilizando um sistema de difosfonato / ácido láctico por um período de 30 dias. Neste caso, a progressão de lesão foi avaliada pela medida de sua profundidade em microscópio, após secção do espécime e aplicação de Rodamina 6G. A progressão da lesão medida pela penetração de corante foi de 3,7 : 2,9 : 1,5 : 1,0 para esmalte bovino decíduo : bovino permanente : humano decíduo : humano permanente, respectivamente. O esmalte bovino permanente natural ou abrasionado e o esmalte ovino permanente apresentaram uma progressão de lesão semelhante e três vezes mais rápida que o esmalte humano, em ambos os métodos de avaliação.

FEATHERSTONE et al.²⁴, em 1983, compararam a micro-radiografia e a microdureza longitudinal para avaliação de lesões de cárie artificial em esmalte

humano. Após a formação das lesões em solução de ácido láctico, as coroas dos dentes foram seccionadas através do centro das lesões, sendo cada metade avaliada por um dos métodos citados. Foi encontrada uma relação linear entre porcentagem de volume mineral, determinada pela micro-radiografia, e raiz quadrada da dureza Knoop, avaliada pela microdureza, para uma variação da porcentagem de volume mineral de 40 a 90. A equação encontrada foi: porcentagem de volume mineral = $4,3 \times \sqrt{\text{KHN}} + 11,3$. Os autores concluíram que ambas as técnicas podem ser usadas para medir o conteúdo mineral através da lesão de cárie, resultante de desmineralização e provável remineralização, com um coeficiente de correlação de 0,919.

HICKS; FLAITZ; SILVERSTONE⁴⁰, em 1986, avaliaram os níveis de flúor em esmalte humano hígido e desmineralizado após tratamentos com flúor fosfato acidulado a 0,123%, NaF a 0,2%, SnF a 0,4%, além de um grupo controle, sem flúor. Foram utilizados molares permanentes, seccionados em quatro partes, sendo cada parte destinada a um grupo. Os espécimes foram protegidos com verniz ácido resistente, mantendo apenas duas janelas, sendo uma delas exposta a um gel acidificado de ácido láctico (pH 4,2) por dez semanas para criar uma lesão de cárie artificial. Após os tratamentos, os espécimes foram submetidos à biópsia ácida do esmalte com 1 mL de HCl a 0,5 M. O conteúdo de flúor foi determinado por meio de eletrodo específico. A concentração de flúor no esmalte desmineralizado aumentou significativamente quando comparado à concentração no esmalte hígido em todos os grupos, indicando que o primeiro possui maior afinidade à absorção de flúor. O tratamento com flúor fosfato acidulado a 0,123% resultou nos maiores níveis de flúor tanto para o esmalte hígido como no desmineralizado. Os autores concluíram que o esmalte desmineralizado tem maior afinidade à absorção de flúor que o esmalte

hígido e que aplicações freqüentes de agentes fluoretados de baixa concentração podem remineralizar lesões de cárie.

Com o objetivo de avaliar a resistência de lesões de mancha branca à desmineralização após aplicação de selante resinoso, GOEPFERD; OLBERDING³⁰, em 1989, realizaram um estudo *in vitro*. Foram utilizados 15 molares humanos, nos quais foi provocada lesão de mancha branca artificial em duas janelas na superfície vestibular e lingual, com um gel acidificado a 15% (ácido láctico), pH 4,0, por doze semanas. Uma das lesões foi selada com selante resinoso sem carga fotopolimerizável e novamente exposta ao gel acidificado, para verificação do comportamento da mancha branca selada e da mancha branca não selada. Após seis semanas, os dentes foram seccionados. Os exames realizados com microscopia de luz polarizada revelaram uma progressão contínua da lesão não selada e uma paralisação da lesão selada. Ao redor do esmalte selado houve formação de novas lesões. Os autores concluíram que o selamento de lesões de mancha branca após condicionamento com ácido fosfórico a 37% por 60 segundos pode inibir a progressão de lesões.

Avaliando o efeito do selamento sobre a ocorrência de cárie artificial, JENSEN et al.⁴⁴, em 1990, realizaram um estudo comparando selantes resinosos com e sem flúor. Foram utilizados 20 molares humanos extraídos, divididos em dois grupos de acordo com o material aplicado. Após o condicionamento com ácido fosfórico a 37% por 15 s, os dentes foram lavados, secos e os materiais aplicados. Os dentes foram termociclados nas temperaturas de 5°C e 55°C, com banhos de um minuto, num total de 500 ciclos. Após proteção dos espécimes com verniz ácido resistente, foram submetidos a um desafio cariogênico em solução composta por 2,2 mM de cálcio, 2,2 mM de fosfato, com 560 mM de tampão com ácido acético e acetato de potássio,

com pH 4,2, por 62 horas. Os dentes foram seccionados e avaliados em microscópio de luz polarizada, medindo a profundidade e a área das lesões. Como resultados, os autores observaram que o material que libera flúor reduziu significativamente a profundidade e a área de desmineralização do esmalte ao seu redor.

FORSS; SEPPÄ²⁸, em 1990, avaliaram a liberação de flúor e a prevenção da desmineralização do esmalte provocada por diferentes materiais, em um estudo *in vitro*. Foram utilizados 80 molares humanos extraídos, nos quais foram preparadas cavidades nas faces vestibular e lingual. Estas cavidades foram preenchidas com um dos materiais: CIV Fuji II, CIV Ketac-Fil, CIV Ketac-Silver e resina composta Silar. Vinte dentes foram usados como controle (sem material). Após a secção das raízes, a coroa foi dividida em duas partes para separar as cavidades. Estes blocos foram submetidos a uma ciclagem de desmineralização (30 minutos diários) e remineralização (saliva artificial, trocada diariamente), por um período de nove dias. O flúor liberado na saliva foi determinado nos dias um, três, cinco e nove. O conteúdo de flúor no esmalte adjacente à cavidade foi medido antes e após a ciclagem por biópsia ácida. No primeiro dia, a maior quantidade de flúor foi liberada por Fuji II, mas no dia nove a maior quantidade foi liberada pelo Ketac-Fil. A média de flúor inicialmente contido no esmalte foi de 2200 ppm. Após a ciclagem, este conteúdo foi de 1822, 1690, 1693, 1337 e 888 ppm nos cinco grupos, respectivamente. A perda de dureza superficial foi avaliada a 0,5 mm da borda do material, sendo que Fuji II e Ketac-Fil apresentaram os melhores resultados de prevenção da desmineralização.

ZERO et al.⁹⁹, em 1990, compararam os testes de permeabilidade ao iodo e microdureza superficial à dissolução mineral em esmalte bovino após desafio ácido. Os períodos de desmineralização foram 0 (controle), 5, 15, 30 e 45 minutos, usando

0,05 M de lactato (pH 4,75). A perda mineral foi diretamente proporcional ao tempo de dissolução. Variações na permeabilidade ao iodo e na microdureza superficial apresentaram uma correlação de 0,55, aumentaram linearmente em função do tempo e foram relacionados similarmente à dissolução mineral. Com a inclusão de longos períodos de desmineralização (60, 120 e 240 minutos), a correlação foi de 0,68. Os autores concluíram que ambos os testes podem ser usados para medir a dissolução do esmalte em estágios iniciais.

Em 1991, SEPPÄ; FORSS⁷² avaliaram a resistência de fissuras oclusais à desmineralização após a perda de selamento de CIV *in vitro*. Foram utilizadas 71 fissuras híginas de dentes humanos (molares e pré-molares), sendo 22 seladas com CIV (Fuji III), 24 ampliadas com ponta diamantada e seladas com CIV, e 25 mantidas sem selamento. Após uma semana o material foi removido o máximo possível com uma sonda explorada. Todos os espécimes foram imersos, por sete semanas, em solução 0,1 M de ácido láctico, pH 4,3, em 5% de carboximetilcelulose, para provocar lesões artificiais nas fissuras. Os espécimes foram seccionados e analisados em microscópio de luz polarizada, para medir a profundidade da lesão. As médias das profundidades das lesões nos grupos controle, fissura natural selada e fissura ampliada selada foram 143, 93 e 75 μm , respectivamente. Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos selados e o grupo controle. Porém, não houve diferença entre os grupos de fissura natural e fissura ampliada. Os resultados sugeriram que as fissuras seladas com CIV foram mais resistentes à desmineralização do que as fissuras não seladas, mesmo após a perda macroscópica do material. Isto pode ser o resultado da combinação do efeito da liberação de flúor do CIV e dos resíduos do material no fundo da fissura.

Em 1992, HICKS; FLAITZ³⁷ avaliaram a formação de lesões de cárie *in vitro* ao redor de um selante resinoso sem flúor (PrismaShield), um selante resinoso fotopolimerizável com flúor (Fluroshield) e um CIV convencional (Ketac-Fil), em cavidades classe V. Foram utilizados 40 pré-molares humanos, que receberam cavidades classe V nas faces vestibular e lingual e foram seccionados em quatro partes, sendo cada uma designada para um dos materiais. Após a aplicação do material, os espécimes foram termociclados (500 ciclos) em banhos de 5 e 55°C, por 60 s. Lesões de cárie artificial foram criadas com um gel acidificado, pH 4,2, pela adição de ácido láctico. Após seis semanas, os espécimes foram seccionados e avaliados em microscopia de luz polarizada para avaliar o início das lesões. O remanescente do espécime foi novamente exposto ao gel acidificado por mais quatro semanas para avaliação da progressão da lesão. Diferenças significantes foram obtidas entre os três grupos na profundidade das lesões após a iniciação e após a progressão das lesões. Foi encontrada diferença significativa entre os grupos com materiais liberadores de flúor e o grupo de selante sem flúor no aumento da profundidade das lesões após a progressão. O CIV forneceu maior proteção e teve o menor número de lesões nas paredes da cavidade (7,5%), enquanto o selante resinoso sem flúor apresentou o maior número (17,5%). Os autores concluíram que a incorporação de flúor do material na estrutura dentária pode melhorar a resistência à iniciação e progressão da cárie.

CRUZ; ÖGAARD; RÖLLA¹¹, em 1992, avaliaram *in vitro* a retenção de flúor álcali-solúvel (fluoreto de cálcio e flúor adsorvido) e flúor álcali-insolúvel (flúor unido à apatita) em esmalte humano hígido tratado com verniz Duraphat ou solução neutra de NaF a 2%. Foram utilizados blocos obtidos de terceiros molares impactados, de 2,5 x 2,5 mm, distribuídos em cinco grupos: nenhum tratamento, verniz, verniz

seguido de imersão em água por 24 horas, verniz seguido de imersão em água por 48 horas, solução de NaF a 2%. Houve maior concentração de flúor álcali-solúvel com a aplicação de solução de NaF a 2% do que nos grupos em que foi aplicado verniz. A imersão em água por 48 horas após a aplicação de Duraphat diminuiu a concentração deste flúor em 50%. Não houve diferença entre os grupos quanto ao flúor álcali-insolúvel.

Em 1992, SERRA; CURY⁷³ avaliaram, *in vitro*, o efeito de restaurações de CIV e resina composta sobre o esmalte humano submetido a um modelo de desmineralização e remineralização, tanto na iniciação como na progressão de lesões ao redor das restaurações. Foram utilizados pré-molares, nos quais foram preparadas duas cavidades de aproximadamente 2 x 2 mm na face vestibular. Após a secção do dente, cada cavidade foi restaurada com um dos materiais (Herculite ou Ceram-Fil) e os espécimes foram submetidos ao desafio nas soluções de desmineralização e remineralização. Posteriormente, os dentes foram seccionados através das restaurações, incluídos em resina acrílica, polidos e avaliados quanto à microdureza longitudinal, com carga de 20 g por 30 s. Foram feitas doze indentações, nas distâncias de 100, 200, 300 e 400 µm e nas profundidades de 30, 130 e 230 µm. Os resultados mostraram que o CIV possuiu um valor potencial como material restaurador para a prevenção ou reversão de cárie no esmalte adjacente às restaurações, mesmo em situações de alto desafio cariogênico, quando comparada à resina composta, embora não seja capaz de prevenir completamente seu desenvolvimento.

CREANOR et al.¹⁰ avaliaram, em 1994, a liberação de flúor e a reincorporação e posterior liberação de flúor de cinco CIV: Ketac Fil, Chemfil Superior, Fuji II LC, Aquacem e Vitrebond. Foram confeccionados, para ambos os

testes, dez discos de cada material. A liberação inicial de flúor foi medida por 60 dias, durante os quais os materiais foram imersos em 2 mL de água deionizada, com trocas diárias até o dia 15 e a cada três e quatro dias até o final do teste. Todos os materiais liberaram consideráveis quantidades de flúor no primeiro dia, com uma grande variação (15,3 – 155,2 ppm). A liberação no segundo dia diminuiu drasticamente para todos os materiais (6,3 – 44,3 ppm). Todos os materiais liberaram flúor até o dia 60, porém em uma concentração menor (0,9 – 3,99 ppm). Em relação à reincorporação e liberação de flúor, um protocolo semelhante foi adotado: os discos foram imersos em água deionizada por 60 dias para liberação da maior parte do flúor. Após este período, cinco espécimes foram mantidos como controle e cinco foram expostos a uma solução com 1000 ppm de flúor por dois minutos, durante 20 dias. Estes espécimes liberaram significativamente mais flúor iônico dos que os controles em todo o período de 20 dias, indicando que o flúor pode ser reincorporado e liberado posteriormente. Os valores variaram de 3,29 (Aquacem) a 7,63 (Ketac Fil) no primeiro dia, para 8,69 (Aquacem) a 10,34 (Vitrebond) no dia 20. Os cinco CIV reincorporaram e liberaram flúor em quantidades que podem ser significantes clinicamente.

Em 1994, DIONYSOPOULOS et al.¹⁸ avaliaram a capacidade de materiais restauradores liberadores de flúor de inibir a ocorrência de cárie secundária *in vitro*. Foram preparadas cavidades classe V nas faces vestibular e lingual de 18 pré-molares, que foram restauradas com um dos materiais: amálgama rico em cobre (Dispersalloy), amálgama com flúor (Fluor-alloy), resina composta (Valux), resina composta com flúor (Heliomolar), CIV (Fuji) e CIV reforçado por partículas metálicas (Ketac-Silver). Após 15 semanas em gel acidificado, os dentes foram seccionados longitudinalmente e avaliados por microscopia de luz polarizada. Os resultados

mostraram que as restaurações com CIV ou amálgama com flúor podem ser de grande importância na prevenção de cárie secundária nas paredes da cavidade e nas lesões de cárie na superfície do esmalte adjacente.

Em 1995, COSTA et al.⁹ realizaram um estudo para comparar as quantidades e padrões de flúor liberado em água deionizada por materiais dentários restauradores, em um período de 14 dias. Foram testados dois CIV convencionais (Chelon Fil e Chelon Silver), um CIV modificado por resina (Vitremmer) e uma resina composta modificada por componentes de CIV (Variglass). Foram confeccionados seis espécimes na forma de disco de cada material, que foram imersos em água deionizada, trocada a cada 24 horas. Todos os materiais liberaram mais flúor nas primeiras 24 horas (de 25,2% a 35,6% da quantidade total). Os valores médios ($\mu\text{gF} / \text{mm}^2$) no primeiro dia e no dia 14 foram: 2,00 e 0,18 para Chelon Fil; 1,17 e 0,10 para Vitremmer; 0,57 e 0,08 para Chelon Silver e 0,40 a 0,04 para o Variglass. Todos os materiais apresentaram diferenças significantes entre si, exceto no primeiro dia, entre Chelon Silver e Variglass e a partir do terceiro dia, entre Vitremmer e Chelon Silver.

DUNNE et al.²², em 1996, compararam *in vitro*, a inibição de cárie promovida por um CIV resinoso (Fuji II LC) e um convencional (Chemfil II). Foram preparadas cavidades classe V em 14 molares humanos, num total de 28 cavidades, que foram restauradas de acordo com as recomendações dos fabricantes. Os dentes foram imersos em gel acidificado (ácido láctico, gelatina, timol, pH 4,5) por 14 dias, seccionados e preparados para avaliação em microscopia óptica. Não houve diferença significativa entre os materiais quanto às profundidades de lesões superficiais tanto em esmalte quanto em dentina. Não foram observadas lesões nas paredes da cavidade. O CIV convencional apresentou grande perda superficial, o

que não foi observado no CIV modificado por resina, pois este material apresentou-se com margens acima do nível do esmalte.

Em 1997, TAM; CHAN; YIN⁷⁹ avaliaram o perfil anticariogênico (liberação de flúor, absorção de flúor e resistência a um desafio ácido) de diferentes materiais e o efeito do uso de componentes adesivos no desenvolvimento de lesões adjacentes a CIV modificados por resina. Para avaliar a liberação de flúor, foram imersos espécimes de CIV convencional (Chemfil II Express), CIV modificado por resina (Vitremmer e Fuji II LC) e resina composta (Bis-Fil) em água deionizada. O flúor acumulado foi medido após 24 horas, uma, duas, quatro e dez semanas. Para a absorção de flúor e o teste de cárie, 16 terceiros molares extraídos foram utilizados, nos quais cavidades nas faces vestibular e lingual foram restauradas com um dos materiais, sendo que o Fuji II LC foi associado ou não a adesivos intermediários. A profundidade de absorção de flúor na dentina axial da cavidade foi avaliada após uma e dez semanas por meio de espectroscopia de massa de íon secundário. Para o teste de resistência à cárie, os dentes foram imersos em gel acidificado, pH 4,0, por dez semanas e avaliados por microscopia de luz polarizada. Houve maior liberação e absorção de flúor no CIV convencional, com uma quantidade equivalente ou menor no CIV modificado por resina e nenhuma para a resina composta. O uso de um condicionador ácido e de um primer aumentou a profundidade de absorção de flúor após uma semana, enquanto a aplicação de adesivo diminuiu esta profundidade. Ambos os CIV (convencional e modificado por resina) conferiram resistência à dentina contra o desenvolvimento de lesões de cárie nas paredes da cavidade, mas não impediram a formação de lesões tanto na superfície do esmalte como da dentina.

Em 1997, GARCIA-GODOY; SUMMITT; DONLY²⁹ avaliaram a resistência à cárie artificial de lesões de mancha branca seladas com resina sem carga. Vinte molares extraídos foram cobertos com verniz ácido-resistente, exceto em duas janelas nas faces mesial e distal, e foram imersos em gel acidificado com ácido láctico, pH 4,2, por cinco semanas. Os dentes foram lavados e uma das janelas foi dividida em duas partes iguais: uma coberta com verniz ácido-resistente (grupo 1) e a outra não foi coberta (grupo 2). A outra janela foi condicionada com ácido fosfórico e selada com Prisma Universal Bond 2 Adhesive (grupo 3). Os dentes foram imersos novamente no gel ácido por mais 40 dias, seccionados e analisados em microscopia de luz polarizada. A média de profundidade das lesões foi: 366 µm (grupo 1); 746 µm (grupo 2); 298 µm (grupo 3). Os grupos 1 e 3 apresentaram diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo 2. Os autores concluíram que o selamento de manchas brancas previne desmineralizações adicionais.

HATIBOVIC-KOFMAN; KOCH; EKSTRAND³⁵, em 1997, avaliaram a quantidade, a liberação e a reincorporação de flúor de cinco CIV: XR Ionomer, Vitrebond, GC Fuji Lining, Baseline VLC e Zinomer. Foram preparados 15 espécimes de cada material, que foram imersos em água deionizada. O flúor liberado foi avaliado diariamente por 11 dias. Os espécimes foram expostos a soluções fluoretadas com 0,02%, 0,04% e 0,2% de NaF por cinco minutos nos dias 11, 16, 21 e 26. O flúor liberado após a recarga foi medido até o dia 32. Houve uma correlação positiva entre a quantidade de flúor no CIV e sua capacidade de liberar de flúor. Os cinco materiais foram capazes de recarregar flúor após a exposição em solução fluoretada, sendo a solução a 0,2% mais efetiva. XR Ionomer liberou mais flúor do que os outros materiais e apresentou maior capacidade de recarga, enquanto o Zinomer liberou e recarregou menos. Os resultados indicaram que os CIV funcionam

como uma reserva de flúor e podem ter um efeito prolongado por pelo menos 32 dias.

TANTBIROJN; DOUGLAS; VERSLUIS⁸⁰, em 1997, avaliaram a distância até a qual um CIV modificado por resina é capaz de exercer seu efeito cariostático em lesões artificiais em esmalte. Um CIV modificado por resina (Vitremer) e um selante resinoso sem flúor (preparado em laboratório) foram aplicados na superfície do terço cervical da face vestibular de dez dentes bovinos previamente seccionados longitudinalmente. Os espécimes foram imersos separadamente por três semanas em gel de ácido láctico, que foi substituído a cada dois dias para reduzir o acúmulo de flúor. As lesões de cárie artificial foram examinadas por microdureza longitudinal. O volume mineral, a perda mineral (ΔZ) e mudança no conteúdo mineral (ΔM) foram avaliados nas distâncias de 0,2, 0,5, 1,0, 2,0, 4,0 e 7,0 mm da borda do material. A ΔZ do CIV modificado por resina foi significativamente menor do que a do selante resinoso em todas as distâncias avaliadas. O ΔM do CIV modificado por resina foi mais pronunciado até a 1 mm do material, o que sugeriu que a inibição da desmineralização pode ser dividida em efeito próximo e efeito distante. Este estudo *in vitro* permitiu concluir que o CIV modificado por resina aumentou a resistência à cárie do esmalte localizado a uma considerável distância do material, mas principalmente até 1 mm.

Em 1998, HICKS; FLAITZ³⁶ compararam, *in vitro*, o efeito preventivo de dois selantes resinosos, sendo um com flúor (Fissurit – F) e outro sem (Fissurit). Foram utilizados doze molares decíduos hígidos, que foram divididos em quatro partes para a realização do experimento. Foram preparadas cavidades dentro do terço médio das faces vestibular ou lingual dos espécimes, as quais foram seladas com um dos materiais. Em seguida, os espécimes foram termociclados em banhos de 30 s em

saliva artificial, nas temperaturas de 5°C e 55°C, por 500 ciclos, e imersos em gel acidificado contendo Ca, P e flúor, em pH 4,25. Depois de seis semanas foi avaliada a iniciação da cárie e depois de nove semanas a progressão da cárie. Os espécimes foram seccionados e avaliados em microscopia de luz polarizada. Os resultados mostraram que o selante com flúor protegeu o esmalte tanto na iniciação como na progressão, já que a lesão foi significativamente menor.

SERRA; RODRIGUES JUNIOR⁷⁴, em 1998, avaliaram o efeito cariostático de vários materiais restauradores em um estudo *in vitro*. Foram utilizados blocos de esmalte humano (n=15) oriundos de terceiros molares, que receberam cavidades, as quais foram restauradas de acordo com os grupos estabelecidos: controle (resina composta Z-100, sem condicionamento ácido e sem adesivo); resina composta Z-100; resina composta com flúor Heliomolar; resina composta com flúor Tetric; compômero Variglass; compômero Dyract; CIV modificado por resina Vitremer; CIV modificado por resina Photac-Fil e CIV convencional Ketac-Fil. Após 48 horas, os espécimes foram submetidos a um modelo de ciclagem de pH (solução desmineralizante e solução remineralizante) e ciclagem térmica. Os espécimes foram fotografados e avaliados por nove examinadores, sendo classificados por escores. Houve maior efeito cariostático dos CIV, sem diferença entre eles, com pequeno efeito dos compômeros e nenhum efeito das resinas compostas com flúor.

Em 1999, IJIMA et al.⁴³ avaliaram a remineralização *in vitro* de lesões de mancha branca provocadas *in vivo* e lesões artificiais criadas *in vitro*, ambas em esmalte humano. Os espécimes foram micro-radiografados antes e após a remineralização em solução contendo cálcio, fosfato e flúor (1 ppm), em pH 7,0, por duas ou quatro semanas. Antes da remineralização observou-se que as lesões de mancha branca apresentaram maior profundidade de lesão e perda mineral que as

lesões artificiais. Os resultados mostraram que a profundidade da lesão não mudou significativamente durante duas ou quatro semanas de remineralização. No entanto, o acúmulo de mineral foi significativo para ambas as lesões, sendo que as manchas brancas acumularam mais que o dobro que as lesões artificiais. Após quatro semanas, a mancha branca apresentou um valor máximo de mineral na camada superficial, que foi próximo ao do esmalte hígido. O estudo mostrou que ambas as lesões remineralizaram de maneira semelhante com respeito aos valores iniciais. Além disso, constatou-se que os inibidores de remineralização presentes na saliva que penetram nas lesões de mancha branca não influenciaram a remineralização *in vitro* posterior.

DONLY; KERBER²⁰, em 1999, avaliaram, *in vitro*, a inibição da desmineralização em margens de restaurações de amálgama (Tytin) e CIV modificado por resina (Vitremmer), em combinação com aplicações tópicas de flúor - escovação com dentifrício fluoretado (1100 ppm) duas vezes por dia, bochecho com solução fluoretada 0,05%, ambos ou nenhum deles (controle). Foram utilizados 40 molares humanos extraídos, que receberam cavidades classe V nas faces mesial e distal, na junção amelocementária. Uma restauração foi realizada com o CIV e outra com amálgama. Os dentes foram imersos em solução desmineralizadora (pH 4,4) por 35 minutos, três vezes ao dia, sendo mantidos o restante do tempo em saliva artificial. Após 30 dias, os dentes foram seccionados para avaliação da margem dentinária em microscopia de luz polarizada. O CIV apresentou menor desmineralização dentinária do que as restaurações de amálgama quando as restaurações não foram expostas ao flúor, quando foram escovadas com dentifrício fluoretado e quando foram expostas à solução fluoretada. Não houve diferença

significativa na desmineralização ocorrida quando as restaurações de CIV e amálgama foram expostas a ambos (dentífrico e solução).

Em 1999, CARVALHO; CURY⁸ avaliaram o nível de flúor liberado por diferentes materiais restauradores em função das soluções de imersão (água deionizada, saliva artificial e ciclagem em soluções de desmineralização e remineralização). Foram confeccionados seis espécimes cilíndricos de cada material (Chelon-Fil, Dyract, Variglass, Vitremer e Tetric), que foram imersos em 2 mL de cada solução estudada, as quais foram trocadas diariamente por um período de 15 dias. O nível de flúor liberado foi maior na ciclagem de pH, seguido pela água deionizada e saliva artificial. Houve uma alteração na ordem de liberação de flúor dos materiais de acordo com a solução empregada. O Vitremer foi o material que mais liberou flúor na ciclagem de pH e na saliva artificial, enquanto o Chelon-Fil liberou mais flúor na água deionizada. Na ciclagem de pH, os CIV liberaram mais flúor, seguido pelos compômeros e depois pela resina composta.

VIEIRA; SOUZA; MODESTO⁹⁴, ainda neste ano, avaliaram a incorporação e liberação de flúor de uma resina composta (Heliomolar), um CIV convencional (Chelon Fil), um CIV modificado por resina (Vitremer) e dois compômeros (Variglass e Dyract), em uma situação de alto desafio cariogênico. Foram confeccionados 15 espécimes dos materiais, que foram submetidos a 14 dias de desafio cariogênico em soluções de desmineralização e remineralização. Do oitavo dia em diante, foram expostos a uma solução de dentífrico fluoretado (3 mL :1 g) por 5 minutos, duas vezes ao dia. O flúor liberado nas soluções foi quantificado. Todos os materiais testados foram capazes de liberar flúor em quantidades mensuráveis, exceto o Heliomolar, na solução desmineralizadora, do dia quatro ao dia sete. Os outros materiais liberaram significativamente mais flúor na solução desmineralizadora do

que na remineralizadora durante quase todo o experimento. Todos os materiais estudados foram capazes de absorver flúor a partir da solução de dentifrício e liberá-lo posteriormente, mantendo níveis constantes e mais altos que os observados do dia cinco ao dia sete. Porém, a quantidade liberada pela resina composta foi muito inferior que a liberada pelos outros materiais.

Em 2000, HICKS; FLAITZ; GARCIA-GODOY³⁹ avaliaram *in vitro* os efeitos de um selante resinoso com flúor (Fissurit - F) e outro sem flúor (Fissurit) na formação de lesões artificiais no esmalte. Foram utilizados doze dentes humanos hígidos, que foram seccionados em quatro partes. Nas faces vestibular ou lingual foram confeccionadas cavidades, que foram condicionadas com ácido fosfórico e receberam o material. Os espécimes foram termociclados por 500 ciclos em saliva artificial e mantidos em gel acidificado para avaliar a iniciação (após seis semanas) e a progressão da lesão (após nove semanas). Os espécimes foram seccionados e avaliados em microscopia de luz polarizada para determinar a profundidade da lesão e a existência ou não de lesões nas paredes da cavidade. Houve diferença significativa entre os materiais na iniciação e progressão das lesões, mas não houve diferença significativa na ocorrência de lesões na parede da cavidade. Os autores concluíram que o flúor liberado por este material pode promover uma proteção adicional ao esmalte adjacente às fossas e fissuras, agindo como uma reserva de flúor para liberação em longo prazo.

Com objetivo de avaliar a capacidade do CIVav indicado para ART em inibir a desmineralização do esmalte, SMALES; GAO⁷⁷, em 2000, realizaram um estudo *in vitro*. Foram utilizados 24 pré-molares humanos hígidos, nos quais foram preparadas cavidades com todas as paredes em esmalte, as quais foram preenchidas com um dos materiais testados: Fuji IX, Fuji IX GP, Ketac-Molar e Compoglass. Os dentes

foram termociclados por 300 ciclos, em temperaturas de 5° e 55°C, antes de serem colocados em solução desmineralizadora (ácido láctico a 0,1 M com 1 g / L de hidroxiapatita dissolvida), em pH 4,7, por quatro semanas. Os espécimes foram seccionados através das restaurações e avaliados por microscopia de luz polarizada. Ketac-Molar e Compoglass apresentaram uma erosão superficial significativamente menor que os outros materiais. Já em relação ao esmalte, os CIVav apresentaram uma inibição da desmineralização imediatamente adjacente às margens da restauração com mais frequência do que o Compoglass. Os autores concluíram que os íons flúor liberados pelos materiais forneceram um certo grau de proteção ao esmalte.

Em 2000, HICKS; FLAITS³⁸ avaliaram *in vitro* a formação de lesões desmineralizadas em esmalte oclusal adjacente a CIV modificado por resina experimental (PH-SE II) e um selante resinoso fotopolimerizável com flúor (Helioseal F). Foram utilizados doze molares humanos inclusos, que foram seccionados no sentido vestibulo-lingual, totalizando 24 espécimes. Os materiais foram aplicados nas fossas e fissuras, os dentes foram termociclados em saliva artificial (5° e 55° C, 500 ciclos) e expostos a um gel acidificado (pH 4,25, 1 mM cálcio, 0,6 mM fosfato, < 0,05 mM flúor) por seis semanas para produção das lesões. Os espécimes foram seccionados e analisados por microscopia de luz polarizada para avaliação da profundidade da lesão. Houve diferença significativa na profundidade da lesão entre os dois materiais, com o CIV apresentando valores quase 50% menores que o selante resinoso. As lesões oclusais terminaram no exato ponto onde iniciava o material, em ambos os grupos. Observou-se também que o CIV foi capaz de reduzir a extensão da cárie no esmalte não selado próximo ao material, se comparado ao material resinoso.

Em 2001, PETZOLD⁶⁶ avaliou os efeitos do AmF, NaF e MFP, em concentração de 0,1% de flúor, em soluções aquosas e aciduladas (pH 4,5) sobre o esmalte humano. Foram confeccionados blocos de esmalte, que foram submetidos à avaliação em microscopia de força atômica, de poucos segundos até dois minutos de contato com as soluções. Após este contato com o flúor, os espécimes foram avaliados em microscopia eletrônica de varredura. Observou-se que os glóbulos de CaF₂ formaram-se sobre a superfície do esmalte em um tempo menor que 20 s, quando são usadas soluções aciduladas, sendo a precipitação maior com o AmF. Após dois minutos toda a superfície é totalmente coberta pelos glóbulos. O MFP não promove a precipitação de glóbulos, seja com a solução aquosa ou acidulada, devido à baixa disponibilidade de íons flúor. Estes resultados dão suporte ao potencial cariostático do flúor durante o uso de dentifrícios. A formação de CaF₂ é dependente da concentração de íons flúor e cálcio na superfície dentária.

Em 2002, HARA et al.³³ avaliaram *in vitro* a interação entre duas fontes de flúor (material restaurador e dentifrício) na inibição do desenvolvimento de cárie dentinária radicular artificial. Foram utilizados 180 raízes de terceiros molares humanos, nas quais foram preparadas cavidades cilíndricas com 1 mm de profundidade e 1,5 mm de diâmetro. Estas cavidades foram aleatoriamente restauradas com cinco materiais restauradores: Ketac-Fil / Espe (Ke); Fuji II LC / GC (Fj); F2000 / 3M (F2); Surefil / Dentsply (Su) e como controle Filtek Z250 / 3M (Z2). Dez grupos experimentais (n=18) foram obtidos com a associação entre os materiais e os dentifrícios: com flúor (Sensodyne Baking Soda) e sem flúor (Sensodyne Original). Após a restauração e o polimento da superfície foi realizada a leitura da microdureza superficial inicial. Os espécimes foram submetidos a uma ciclagem de pH por três dias, permanecendo uma hora em solução desmineralizadora, cinco

minutos em solução de dentifrício (30%), 23 horas em solução remineralizadora e cinco minutos em solução de dentifrício. A microdureza superficial final foi avaliada e os resultados mostraram uma interação entre os materiais restauradores e os dentifrícios. Todos os materiais forneceram efeito protetor maior quando associados ao dentifrício fluoretado. O maior efeito protetor foi encontrado com o Ke, seguido pelo Fj, com diferença estatisticamente significativa entre eles. Ambos apresentaram proteção significativamente maior que os demais grupos, que não diferiram entre si. Quando o dentifrício não fluoretado foi aplicado, Ke apresentou maior proteção, seguido por Fj, com diferença estatisticamente significativa entre eles. O F2, por sua vez, apresentou proteção semelhante ao Fj e ao Su e Z2, sem diferença significativa. Os autores concluíram que o dentifrício fluoretado pode melhorar o efeito cariostático dos CIV Ketac-Fil e Fuji II LC e pode mascarar o efeito do F2000.

Em 2003, MAIA et al.⁵³ avaliaram o efeito da combinação de dentifrício fluoretado (1100 ppm, NaF) e verniz fluoretado (Duraphat) na remineralização do esmalte e na absorção de flúor em um regime de ciclagem de pH *in vitro*, durante um período de 14 dias. Foram utilizados 78 blocos de dentes bovinos com lesões iniciais de cárie (KHN entre 75,9 a 168,7), que foram divididos em quatro grupos: a) dentifrício placebo sem flúor (DP); b) dentifrício fluoretado (DF); c) verniz fluoretado (VF) + DP; d) DF + VF. O VF foi aplicado nos grupos c e d antes da realização da ciclagem de pH, que consistia na imersão dos espécimes em saliva artificial durante todo o dia, exceto por duas, em que permaneciam em solução desmineralizadora. Além disso, todos os grupos foram submetidos ao dentifrício (com ou sem flúor) durante a ciclagem, em uma proporção 1 g de dentifrício : 3 mL de água, quatro vezes ao dia, durante um minuto. A microdureza superficial dos blocos foi determinada antes e após a desmineralização e após a ciclagem de pH, com carga

de 50 g por 15 s. Foi calculada a porcentagem de dureza superficial recuperada após os tratamentos. A avaliação da concentração de flúor no esmalte foi realizada por biópsia ácida, pela remoção de três camadas de esmalte. O maior valor de recuperação de microdureza foi obtido com o grupo do DF (33%), seguido pelo VF + DF (24%), DP (15%) e VF + DP (10%). A maior absorção de flúor ocorreu nos grupos DF e DF + VF, sem diferença entre eles. Conclui-se que o uso freqüente de dentifrício fluoretado resultou em maior benefício na remineralização do esmalte e efeito similar na absorção de flúor, quando comparado com sua combinação com uma aplicação simples de verniz fluoretado.

Em 2003, DIONYSOPOULOS; KOTSANOS; PATARIDOU¹⁹ compararam a liberação e reincorporação de flúor de um CIVav (Ketac-Molar), um CIV modificado por resina (Vitremer) e dois compômeros (F-2000 e Hytac). Foram preparados 15 espécimes de cada material, que foram imersos em água deionizada, sendo o flúor medido a cada dois dias por 22 dias. A refluoretação dos espécimes foi realizada com soluções de NaF a 0,02, 0,04 e 0,2% por cinco minutos, nos dias 22, 30, 38 e 46. O flúor liberado após a recarga foi medido a cada dois dias até o dia 54. A liberação de flúor foi mais alta durante os primeiros dias após a manipulação do material, diminuindo drasticamente e depois de maneira mais lenta. O material que mais liberou flúor antes da reincorporação foi o Vitremer, seguido pelo F-2000, Ketac Molar e Hytac, com diferenças significantes entre eles. O Ketac-Molar liberou consideravelmente menos flúor que o Vitremer e o F-2000. Os quatro materiais sofreram recarga de flúor, sendo mais efetiva a solução a 0,2%, mas os níveis diminuiram rapidamente até o oitavo dia.

BOMBONATTI⁵, em 2004, avaliou *in vitro* a liberação de flúor e o efeito anticariogênico de um CIV modificado por resina (Vitremer) em três proporções pó-

líquido (1:1; 1/2:1; 1/4:1) em comparação a dois selantes resinosos (Vitro-seal Alpha e Fluoroshield). Para avaliação da liberação de flúor foram confeccionados 16 corpos de prova para cada grupo, sendo oito imersos em água destilada e oito imersos em soluções de desmineralização e remineralização, em ciclagem de pH. A concentração de flúor foi quantificada após um, sete e 15 dias. Para avaliar o efeito anticariogênico foram utilizados blocos de esmalte humano hígido (n= 12), nos quais foram preparadas cavidades que receberam um dos materiais. Todos os espécimes foram submetidos a uma ciclagem de pH por sete dias, sendo avaliados quanto à microdureza superficial e longitudinal. Todos os materiais liberaram mais flúor na ciclagem de pH, com maior liberação do Vitremer diluído a 1/4 : 1 em todos os períodos analisados, seguido pela diluição a 1/2 : 1, 1 : 1, Fluoroshield e Vitro-seal Alpha. Os valores de porcentagem de perda de dureza superficial e porcentagem de volume mineral mostraram que o CIV proporcionou maior proteção ao esmalte contra a desmineralização, principalmente quando diluído a 1/4 : 1, tanto na superfície como nas profundidades de 30 e 60 µm. Não houve diferença entre os grupos na profundidade de 90 µm.

GONZALES; YAP; HSU³¹ avaliaram, em 2004, a inibição da desmineralização promovida por diferentes materiais: um giomero (Reactmer), um CIV convencional (Fuji II), um CIV modificado por resina (Fuji II LC), um compômero (Dyract AP) e uma resina composta sem flúor (Spectrum TPH), como controle. Foram preparadas cavidades classe V nas faces vestibular e lingual de 75 molares humanos extraídos, que foram divididos em cinco grupos. Os dentes restaurados foram estocados em água destilada por duas semanas e submetidas a um desafio cariogênico com soluções de desmineralização (pH 5,0, por 18 horas) e remineralização (pH 7,0 por seis horas), por três dias. Os dentes foram seccionados e avaliados em microscopia

de luz polarizada, em relação à profundidade da lesão externa e área da lesão / inibição na parede da cavidade. Não houve diferença entre os materiais quanto à profundidade da lesão externa. Em relação à inibição da lesão na parede da cavidade, os dois CIV e o giomero apresentaram inibição semelhante entre eles e superior ao compômero e resina composta sem flúor. Estes dois materiais apresentaram resultados semelhantes. Os autores concluíram que os dois CIV e o giomero parecem apresentar uma inibição da desmineralização mais evidente nas margens da restauração.

Em 2005, DELBEM et al.¹⁷ avaliaram as diferenças na liberação e recarga de flúor de quatro materiais restauradores: um CIV convencional (Ketac-Fil Plus), dois CIV modificados por resina (Vitremer e Fuji II LC) e uma resina composta modificada por poliácidos (Freedom). Foram confeccionados 24 espécimes de cada material, os quais foram imersos individualmente em água destilada para avaliação da liberação de flúor diária durante 15 dias. Após este período, os espécimes foram expostos a um gel de flúor - fosfato acidulado (1,23% de íons flúor) ou a um gel neutro de NaF a 2%, por tempos de um ou quatro minutos, totalizando quatro grupos. O flúor recarregado e liberado foi avaliado diariamente por mais 15 dias. Houve maior liberação de flúor pelo Ketac-Fil antes da aplicação de flúor e pelo Vitremer e Fuji II LC após a aplicação do gel acidulado. O gel acidulado proporcionou maior liberação de flúor se comparado ao gel neutro, independentemente do material. O flúor recarregado e liberado foi maior após aplicação de gel acidulado por quatro minutos em comparação ao neutro, exceto para o Ketac-Fil, que apresentou resultados semelhantes com os dois géis. Os CIV modificados por resina foram os mais efetivos na liberação de flúor após aplicação de gel acidulado por quatro minutos, inclusive com valores maiores que os observados nos primeiros 15 dias.

LOBO et al.⁵¹, em 2005, avaliaram o efeito de selantes sobre a desmineralização do esmalte *in vitro*, focando na proteção física do esmalte selado e na proteção do flúor sobre o esmalte adjacente não selado. Fissuras oclusais com áreas de 12 mm² foram delimitadas em 48 molares extraídos, que foram divididos aleatoriamente em quatro grupos (n= 12): 1) sem selamento; 2) selamento com CIV modificado por resina (Vitremer); 3) selamento com selante resinoso liberador de flúor (Climpro); 4) selamento com selante resinoso sem flúor (Concise). Uma janela de 4 mm² foi delimitada na face vestibular dos molares para análise da absorção de flúor. Os grupos 2, 3 e 4 foram submetidos a uma ciclagem de pH por cinco dias, enquanto o grupo 1 foi mantido em ambiente úmido a 37°C. A absorção de flúor foi avaliada por biópsia ácida do esmalte e a quantidade de flúor liberado nas soluções de ciclagem com eletrodo específico. A desmineralização do esmalte foi avaliada por microdureza longitudinal (25 g por 5 s), nas distâncias de 10, 20, 30, 40 e 50 µm, 100 µm acima e 100 µm abaixo da margem do selante. O grupo 2 apresentou maior liberação e absorção de flúor em comparação aos demais grupos, bem como menor desmineralização no esmalte não selado, exceto nas profundidades de 30, 40 e 50 µm, em relação ao grupo 3. No esmalte selado não houve diferença na desmineralização entre os grupos. Não houve diferença significativa entre os grupos 3 e 4 na liberação e absorção de flúor, mas o grupo 3, comparativamente ao grupo 4, apresentou menor desmineralização em todas as profundidades avaliadas.

PIN et al.⁶⁷, em 2005, avaliaram o potencial de vários materiais em inibir lesões de cárie em um estudo *in vitro*. Foram preparadas cavidades em blocos de esmalte bovino hígidos ou com lesões artificiais de cárie. Os espécimes foram restaurados com um CIVav (Ketac Molar), um CIV modificado por resina (Vitremer), uma resina composta modificada por poliácidos (Dyract AP) e uma resina composta

(Z-250). Todos os grupos foram submetidos a um modelo de ciclagem em soluções de desmineralização e remineralização, por 14 dias. Os blocos foram seccionados longitudinalmente através das restaurações para avaliação da perda mineral, por meio de microdureza longitudinal. Houve diferença significativa entre os grupos, embora nenhum dos materiais tenha sido capaz de inibir completamente a formação da lesão. O Vitremer mostrou o maior efeito cariostático em esmalte intacto. O Ketac Molar, em esmalte intacto ou desmineralizado, e o Vitremer, em esmalte desmineralizado, apresentaram um potencial intermediário. Já Z-250 e Dyract AP não apresentaram nenhum efeito. Os dados sugerem que os CIV demonstram melhor efeito cariostático se comparado aos outros materiais.

Ainda em 2005, RODRIGUES et al.⁶⁹ avaliaram *in vitro* o efeito cariostático de vários materiais restauradores com e sem flúor (Fuji II LC, Ketac Fil, F-2000, Degufil Mineral, Sure Fill e Z-250), associados com o uso de dentifrícios fluoretados e não fluoretados em esmalte humano. Foram preparadas cavidades classe V em 240 blocos de esmalte, que foram divididos em doze grupos (seis materiais e dois dentifrícios). Após a restauração, os espécimes foram submetidos à termociclagem (1000 ciclos) nas temperaturas de 5° e 55°C em água e à ciclagem de pH por 14 dias, com soluções de desmineralização e remineralização. Durante esta ciclagem, soluções de dentifrício fluoretado ou não fluoretado foram aplicados por cinco minutos entre as soluções de desmineralização e remineralização. As lesões de desmineralização foram classificadas em escores de 0 a 3 por cinco examinadores independentes. Não houve diferença entre os materiais com o uso de dentifrício fluoretado. Quando associados ao dentifrício não fluoretado, o Ketac-Fil apresentou o maior efeito cariostático, seguido pelo Fuji II LC (sem diferença estatisticamente significativa entre eles) e pelos outros materiais (sem diferença significativa em

relação ao Fuji II LC). Ketac Fil foi o único material que não apresentou diferença com o uso de dentifrício com ou sem flúor. Concluiu-se que a associação de materiais restauradores e dentifrícios fluoretados produziu maior efeito cariostático, exceto para o CIV convencional, cujo efeito cariostático não foi influenciado pelo tipo de dentifrício.

MUELLER et al.⁵⁷, em 2006, avaliaram, *in vitro*, a progressão de lesões iniciais de esmalte seladas com um selante resinoso (Helioseal) ou vários adesivos (Heliobond, Excite, Resulcin Monobond, Solobond M, Prompt L-Pop), após exposição a uma solução desmineralizadora. Foram utilizados 54 espécimes de esmalte bovino, os quais foram protegidos com esmalte cosmético para unhas (controle), mantendo três janelas para tratamento. Após desmineralização (pH 5,0) por 14 dias, duas janelas (A e B) foram condicionadas com ácido fosfórico a 20% por 5 s, enquanto a outra janela (C) serviu como controle. Os espécimes foram divididos em seis grupos (n= 9) e o material foi aplicado uma ou duas vezes, sendo fotopolimerizado após cada aplicação. Metade da área das janelas foi coberta com esmalte cosmético e os espécimes foram novamente imersos na solução desmineralizadora por 14 dias. Após este período, foram seccionados perpendicularmente, infiltrados com resina de baixa viscosidade fluorescente (VIRIN) e analisados em microscopia confocal a laser para avaliação da profundidade da lesão. Após a desmineralização inicial, a média da profundidade das lesões foi de 105 µm. A segunda exposição provocou uma progressão da profundidade da lesão de 52%. Helioseal, Heliobond, Resulcin Monobond e Excite apresentaram melhor inibição da desmineralização que os outros materiais. Os autores concluíram que a penetração de adesivos em lesões iniciais inibiu desmineralizações adicionais *in vitro*.

Em 2006, BRIGHENTI et al.⁶, realizaram um estudo *in vitro* para comparar dois dentifrícios acidificados com baixa concentração de flúor (412 e 550 µgF/g) com dentifrícios neutros. Blocos de esmalte bovino foram divididos em doze grupos (n=13), de acordo com a concentração de flúor no dentifrício (placebo, 275, 412, 550 ou 1100 µgF/g) e pH (7,0 ou 5,5), além de dois dentifrícios disponíveis comercialmente: 1100 µgF/g, pH 7,0 (controle positivo) e dentifrício infantil (500 µgF/g, pH 7,0). Os blocos foram submetidos à ciclagem de pH por sete dias e os tratamentos com dentifrício foram realizados duas vezes por dia. As quantidades de flúor, cálcio e fósforo foram analisadas nas soluções após a ciclagem e o esmalte foi avaliado quanto à porcentagem de alteração da microdureza superficial e perda mineral. Os dentifrícios acidificados reduziram a porcentagem de alteração da microdureza superficial, em comparação aos dentifrícios neutros, em todas as concentrações testadas. Foram encontradas maiores concentrações de flúor e menores de cálcio e fósforo nas soluções dos dentifrícios acidificados. Em relação ao ΔZ , somente o controle positivo e os grupos com 1100 µgF/g acidificado e neutro não foram estatisticamente diferentes. Os dentifrícios acidificados apresentaram uma relação dose – resposta com todas as variáveis. Para os dentifrícios de baixa concentração avaliados, somente aquele com 550 µgF/g (acidificado) apresentou o mesmo efeito anticariogênico do dentifrício com 1100 µgF/g (neutro).

2.4 Trabalhos de revisão

ten CATE⁸¹, em 1990, fez uma revisão sobre os estudos *in vitro* que investigam os efeitos do flúor na desmineralização e remineralização do esmalte. O flúor em baixas concentrações é efetivo em promover a deposição e inibir a

dissolução de minerais. Esta inibição ocorre provavelmente pela precipitação de uma fase mineral rica em flúor que inibe futuras dissoluções. Estes processos resultam em uma diminuição na desmineralização e melhora na remineralização. Além disso, o flúor pode promover a paralisação das lesões de cárie. Para o estudo de substâncias na prevenção de cárie, o autor salienta que o melhor é realizar estudos de desmineralização e remineralização com sistema de ciclagem de pH, no qual há diminuições no pH, mimetizando o que ocorre no ambiente bucal. Porém, afirmou que um dos desafios nesta linha de pesquisa está no *gap* entre os estudos *in vitro* e a situação *in vivo*, particularmente sobre a interação de substâncias preventivas.

ten CATE; FEATHERSTONE⁸², em 1991, afirmaram que após a descoberta do efeito preventivo da cárie promovido pelo flúor, pensou-se, por muitos anos, que ele agia primariamente diminuindo a solubilidade da apatita dos tecidos dentários. Porém, alguns achados da época indicavam que poderia haver outros mecanismos pelos quais o flúor inibiria ou diminuiria a cárie dentária. O flúor presente nos fluidos bucais altera o processo de dissolução e reprecipitação na interface entre o dente e os fluidos. A desmineralização do esmalte é inibida por concentrações de flúor em níveis de sub - ppm. Do mesmo modo, a remineralização de lesões de cárie incipientes é acelerada por quantidades “traço” de flúor. Estes dois processos constituem o balanço fisiológico entre o dano ao tecido dentário e seu reparo, que são influenciados pelo flúor.

Em uma revisão da literatura sobre os selantes resinosos oclusais, KRAMER et al.⁴⁹, em 1991, concluem que pesquisas básicas e aplicadas suportam o uso de selantes de fossas e fissuras como método preventivo eficaz de cárie e indicam que sua eficácia depende diretamente da retenção adequada do selante ao dente. Esta retenção, por sua vez, está diretamente relacionada a uma adequada técnica de

aplicação. Salientam que os selantes devem ser usados em conjunto com outros métodos preventivos, como uma orientação correta de higiene bucal. Assim, buscase evoluir na profissão, buscando não só tratar a doença, mas evitar seu aparecimento.

ÖGAARD; RÖLLA⁶⁰, em 1992, fizeram uma revisão sobre os substratos utilizados para modelos de cárie intrabucais. Vários fatores, tais como esmalte humano x bovino, tecidos hígidos x desmineralizados, tipo de lesão, dentina x esmalte, severidade do desafio cariogênico e microbiota, podem influenciar a reação do tecido duro e o desenvolvimento e progressão da lesão. Alguns modelos utilizam dentes não extraídos e são verdadeiros modelos *in vivo*, enquanto os modelos *in situ* são baseados em tecidos dentários na forma de blocos ou secções. Os modelos que utilizam um desafio cariogênico moderado geralmente mostram uma resposta de flúor em função da dose. No entanto, a cárie é um problema cada vez mais limitado a um grupo de pacientes de alto risco e a lesões localizadas em áreas onde um severo desafio existe, como nas fossas e fissuras. Portanto, são necessários modelos que mimetizem esta situação. Um dos requisitos para um modelo intrabucal que produza um alto desafio cariogênico deveria ser a capacidade de desmineralizar a fluorapatita. Um desafio para futuras pesquisas é o desenvolvimento de agentes que tenham um melhor efeito clínico em fossas e fissuras. No passado, muita ênfase foi dada à remineralização de lesões artificiais. No futuro, mais pesquisas devem ser realizadas para o estudo do processo de desmineralização, o que poderia fornecer melhores resultados clínicos. Um modelo de cárie intrabucal deverá, idealmente, conter o maior número possível de condições naturais da cavidade bucal para minimizar o grau de artificialidade.

Em 1992, FEATHERSTONE; ZERO²⁷ afirmaram que os estudos *in situ*, usados para avaliar a habilidade de produtos em melhorar a remineralização e diminuir ou inibir a desmineralização do esmalte, devem ser cuidadosamente delineados para minimizar efeitos de confusão das variáveis envolvidas. O controle destas variáveis é fundamental para obtenção de respostas significativas. Os autores relatam um modelo *in situ* que combina a experiência de vários grupos. Os critérios de seleção dos sujeitos devem incluir boa saúde geral, boa saúde dental, prótese parcial mandibular, pelo menos oito dentes presentes, nenhuma lesão de cárie ativa, conhecimento da história de flúor, função salivar normal e nenhuma medicação que afete a função salivar. Cada sujeito recebe blocos de esmalte hígido e desmineralizado, *in vitro*, de cada lado de sua prótese, para períodos de teste de duas a quatro semanas. O desafio cariogênico é controlado por imersões extrabucais diárias da prótese em sacarose. Os produtos ou alimentos testados são expostos como desejado. Deve-se incluir, durante o período de testes, diários de dieta, avaliação do fluxo salivar não estimulado, acidogenicidade da placa dentária e flúor na saliva. Após o término da fase experimental, os espécimes são avaliados quanto às alterações no conteúdo mineral por meio de microdureza longitudinal ou micro-radiografia. Neste modelo, a desmineralização ocorre em espécimes hígidos e desmineralizados na ausência de flúor ou outros agentes protetores. O modelo tem a capacidade de diferenciar sistemas de liberação de flúor e de avaliar outros agentes protetores, além do flúor, pelo uso de pequenos grupos de sujeitos.

ARENDS; TEN BOSCH³, em 1992, compararam técnicas experimentais utilizadas para avaliar a desmineralização e a remineralização do esmalte e da dentina em estudos intrabucais. Nos estudos *in situ* é importante saber quanto de mineral foi ganho ou perdido, bem como o local onde ocorreram. As técnicas

utilizadas para medir o conteúdo mineral são micro-radiografia, absorção de iodo (isótopo radioativo), microdureza, luz polarizada, dispersão de luz, permeabilidade ao iodo e análise química. As várias técnicas são comparadas sobre sua conveniência para a determinação do conteúdo mineral (% volume mineral), mudanças no conteúdo mineral (em % volume mineral) e distribuição mineral. Concluiu-se que, embora mais de dez técnicas existam para estas avaliações, a micro-radiografia transversa é a técnica mais prática para uma medida direta e quantitativa do conteúdo mineral, mudanças minerais e distribuição mineral. A microdureza longitudinal e dispersão de luz são também métodos indiretos práticos para determinação quantitativa da perda ou ganho mineral em estudos intrabucais.

Em 1995, ZERO¹⁰⁰ publicou uma revisão sobre os modelos *in situ* para estudo de cárie. Segundo o autor, estes modelos apresentam potencial para estudar aspectos fundamentais do processo de cárie e pesquisar outros problemas, como o efeito da dieta sobre a cárie dentária e o papel do flúor na prevenção da cárie na dentição natural. Os parâmetros essenciais que necessitam ser considerados no desenvolvimento de um modelo *in situ* são as características dos sujeitos da pesquisa, o desenho físico do modelo, o tipo de substrato e o método de avaliação do conteúdo mineral, além do delineamento do estudo e seu protocolo clínico. Cada um dos parâmetros deve ser considerado quanto aos objetivos da pesquisa, considerações éticas, impacto sobre a relevância clínica e as variações da pesquisa. A maior fonte de variação deve ser de natureza biológica e não experimental. Dada à complexidade da natureza da cárie, uma combinação de substratos pode ser necessária, com a utilização de esmalte hígido, esmalte com lesão superficial e subsuperficial, para o entendimento da progressão e prevenção.

Em 1996, FEATHERSTONE²⁵ realizou uma revisão sobre os modelos usados para simular o processo de cárie em pesquisas e sugerir como estes modelos poderiam ser usados para avaliar as propriedades preventivas dos materiais dentários. Ele classificou as pesquisas nas seguintes categorias: 1) desmineralização *in vitro* usando tampões ácidos; 2) desmineralização *in vitro* usando ácidos produzidos por bactérias; 3) des-remineralização *in vitro* usando ciclagem de pH; 4) boca artificial onde um desafio ácido criado por bactérias é entremeado com tratamentos com saliva; 5) modelo *in vivo* em animais; 6) des-remineralização *in situ* usando blocos ou fatias de esmalte ou dentina na boca humana; 7) estudos *in vivo* usando dentes com indicação de extração na cavidade bucal humana. O autor afirma que muitos materiais dentários estudados são avaliados simplesmente pelos estudos de desmineralização *in vitro* ou de liberação de componentes, que são inadequados para responder as questões que são levantadas sobre o potencial de inibição de cárie dos materiais. O método experimental deve ser escolhido com cuidado para assegurar que o material testado seja avaliado corretamente. O último objetivo é prever corretamente os resultados clínicos.

Em 1997, ten CATE⁸⁴ publicou uma revisão sobre o flúor, com ênfase nos mecanismos do CaF_2 na prevenção da cárie. Baixas concentrações de flúor têm um efeito benéfico na des-remineralização. Após tratamentos com flúor, como nas aplicações tópicas, bochechos ou dentifrícios, as concentrações salivares de flúor diminuem exponencialmente até a concentrações muito baixas dentro de poucas horas. Para os tratamentos serem efetivos em períodos mais longos do que o período de escovação e posterior *clearance* da saliva, o flúor necessita ser depositado e liberado lentamente. Os depósitos de CaF_2 ou material semelhante a

ele agem desta maneira, devido a uma cobertura superficial de fosfato e/ou proteínas, que fazem o CaF_2 tornar-se menos solúvel em condições *in vivo* do que em sua forma pura em soluções inorgânicas. Além disso, devido aos grupos fosfato na superfície dos glóbulos de CaF_2 , o flúor é liberado com a diminuição do pH, quando estes grupos fosfato liberam o flúor e se unem com prótons da placa dentária.

Em 1999, ten CATE; van LOVEREN⁸³ publicaram uma revisão sobre o mecanismo de ação do flúor. Salientam que depois da erupção do dente, os seus minerais (hidroxiapatita) estão sujeitos a interações com a saliva e fluido da placa. Com o consumo de carboidratos fermentáveis há uma queda no pH, que, se menor que 5,5, provoca uma condição de subsaturação de cálcio e fosfato. Assim, os cristais de esmalte começam a se dissolver, liberando íons hidroxila e fosfato. Com a ação da saliva sobre a placa e a dissolução dos minerais há uma tendência ao retorno do pH à neutralidade, levando à reprecipitação dos minerais sobre os cristais remanescentes. Com a saída da hidroxila, o flúor pode ser incorporado ao cristal, tornando o esmalte mais resistente ao desafio cariogênico, o que ocorre também na superfície do esmalte, promovendo sua maturação pós - eruptiva. Porém, o flúor mais importante no processo de prevenção da cárie não é a fluorapatita, mas o flúor fracamente unido ao esmalte, que é aquele adsorvido à apatita ou na forma de depósitos de flúor, incluindo o CaF_2 . Sendo assim, a aplicação de flúor no esmalte para a produção de altos níveis de flúor incorporado não é um método eficiente de prevenção da cárie. Os materiais que liberam flúor permitem uma baixa recorrência de cárie, pois localmente, nas proximidades do material, há altos níveis de flúor que podem ajudar a fortalecer o esmalte contra a cárie. Os autores salientam que é mais efetivo usar métodos freqüentes, mesmo em baixas concentrações, do que métodos

de baixa frequência e alta concentração, pois assim são mantidos níveis significativos de flúor na saliva e no fluido da placa. Mesmo assim, deve-se ter em mente que há muitas variações de pessoa para pessoa e, dentro da mesma boca, de local para local.

SONJU CLASEN; ÖGAARD⁷⁸, em 1999, fizeram uma revisão da literatura sobre os modelos experimentais intrabucais utilizados em pesquisas com flúor. O foco do trabalho foram os modelos intrabucais pré-clínicos, os modelos *in situ* e *in vivo*, os vários tipos, seus benefícios e desvantagens. Os processos de preparo e esterilização do substrato dentário podem afetar os resultados, sendo que a utilização de irradiação gama é o método que provoca menor dano. O método experimental mais real é o modelo *in vivo*, seguido pelo modelo *in situ* usando espécimes com superfícies naturais. O método mais direto e preciso para avaliação nos estudos de des-remineralização é a micro-radiografia quantitativa transversa, enquanto a microscopia confocal a laser é o método qualitativo mais sensível. Outros métodos discutidos são a microdureza e a permeabilidade ao iodo. Os autores recomendam que sejam realizados estudos que simulem condições de alto desafio cariogênico, testando combinações e doses de flúor que possam prevenir o desenvolvimento de lesões, mais do que promover a remineralização.

EKSTRAND; OLIVEBY²³, em 1999, publicaram uma revisão sobre a disponibilidade e destino do flúor no ambiente bucal. Salientam que a parte predominante do efeito cariostático do flúor é em função de sua concentração nos fluidos próximos ao dente. A exposição ao flúor resulta em uma ligeira elevação dos níveis constantes de flúor nos fluidos bucais, principalmente na saliva e no fluido da placa. Até o momento, entretanto, pouco se sabe sobre a concentração de flúor intrabucal necessária para alcançar um efeito cariostático no local de ação. As

concentrações de flúor na cavidade bucal dependem do veículo e do conteúdo de flúor utilizado, além do fluxo salivar. Este flúor pode ser achado em diferentes compartimentos da cavidade bucal: pode estar ionizado na saliva, ionizado no fluido da placa, unido à placa, unido como CaF_2 , unido ao esmalte e unido aos tecidos moles. O flúor é também distribuído aos tecidos bucais e à placa por difusão. A placa dentária, após uma exposição ao flúor, torna-se uma reserva de flúor que o armazena por um determinado tempo, liberando-o posteriormente. Esta concentração de flúor na placa é significativamente maior que a observada na saliva e depende da localização do dente, devido às diferenças no fluxo salivar nos diferentes locais da cavidade bucal. Segundo os autores, para um melhor entendimento, mais informações são necessárias sobre a distribuição, retenção e eliminação do flúor da cavidade bucal.

Em 2001, ÖGAARD⁵⁸ publicou um artigo sobre a formação de CaF_2 ou material semelhante ao CaF_2 ou CaF_2 contaminado com fosfato. Estes são o principal produto que se origina após uma aplicação tópica de flúor. Há algumas evidências recentes que sugerem que o CaF_2 forma-se não somente na superfície, mas também em alguma extensão do esmalte. A concentração mínima necessária para a formação de CaF_2 não é bem estabelecida e pode depender se o cálcio está disponível no fluido da placa ou somente pela dissolução do tecido dentário. Além disso, a adsorção superficial de flúor aos cristais pode causar concentrações locais necessárias para a formação de CaF_2 . Também tem sido sugerido que o CaF_2 age como uma reserva de flúor controlada pelo pH. A formação de CaF_2 é aumentada pelo aumento da concentração de flúor, prolongando o tempo de exposição ou com o uso de uma solução com baixo pH. O CaF_2 formado em pH baixo contém menos fosfato interno, o que o torna menos solúvel. O fator controlador parece ser o fosfato,

que controla a taxa de dissolução do CaF_2 em alto pH. Isto pode ser significativo quando o flúor é aplicado topicamente poucas vezes no ano.

SIMONSEN⁷⁶, em 2002, fez uma extensa revisão de literatura sobre os selantes de fossas e fissuras, abordando estudos laboratoriais, preparo do dente, técnica de aplicação, retenção e prevenção de cárie, selantes com flúor, CIV como selante, custo-efetividade, entre outros. O autor verificou que os selantes são seguros, efetivos e pouco utilizados, pelo menos nos EUA. Deveriam ser indicados para pacientes de alto risco à cárie, aplicados por auxiliares treinadas, utilizando uma camada de adesivo intermediária, com isolamento absoluto ou outra técnica efetiva de isolamento, sobre uma superfície que foi devidamente limpa com jato de bicarbonato e condicionada com ácido fosfórico a 35% por 15 segundos. Segundo o autor, os CIV não são tão efetivos quanto os selantes resinosos, levando-se em consideração o custo e a retenção. Além disso, a taxa de retenção do selante resinoso parece ser mais importante que a liberação de flúor do CIV durante o período em que estiver presente sobre o dente.

Em 2003, TWETMAN et al.⁸⁸ fizeram uma revisão sistemática sobre o efeito preventivo de dentifrícios fluoretados em várias faixas etárias, com ênfase na concentração de flúor e na escovação supervisionada ou não. Foram pesquisados artigos publicados entre 1966 e abril de 2003, sendo considerados critérios de inclusão estudos clínicos controlados ou randomizados, com pelos menos dois anos de controle, e resultados como CPOD/S ou ceod/s. Dos 905 artigos encontrados, 54 encontravam-se dentro dos critérios adotados e foram avaliados por dois examinadores independentes. Os resultados mostraram forte evidência para o efeito preventivo dos dentifrícios fluoretados, quando comparados a placebos, para dentes de indivíduos jovens (efeito preventivo de 24,9%); os dentifrícios com 1500 ppm

tiveram um efeito preventivo superior aos dentifrícios com 1000 ppm em indivíduos jovens (efeito preventivo de 9,7%); os maiores efeitos preventivos foram obtidos com escovação supervisionada, se comparado à escovação não supervisionada (efeito preventivo de 23,3%). Entretanto, uma evidência incompleta foi encontrada sobre o efeito preventivo do dentifício fluoretado na dentição decídua. Como conclusão, a revisão reforçou a importância da escovação diária com dentifício fluoretado para prevenção da cárie dentária, embora estudos longitudinais em outras faixas etárias ainda sejam necessários.

Neste mesmo ano, MEJÀRE et al.⁵⁵ fizeram uma revisão sistemática sobre o efeito preventivo dos selantes de fossas e fissuras e examinaram os fatores que poderiam modificar seu efeito. Os critérios de inclusão foram: estudos clínicos randomizados ou quase randomizados ou estudos clínicos controlados, comparando selamento de fissuras com nenhum tratamento ou com outro tratamento preventivo em crianças com até 14 anos de idade no início da pesquisa; além disso, os resultados deveriam ser apresentados de acordo com o incremento de cárie; os critérios de diagnóstico deveriam ser descritos e, deveria haver um controle de no mínimo dois anos. Os artigos foram avaliados por dois examinadores independentes. A principal medida utilizada foi redução do risco relativo. Ao final, apenas 13 estudos foram incluídos. Os resultados mostraram que a maioria dos estudos foi realizada durante a década da 1970, com uma única aplicação do material. O risco relativo à cárie estimado do selante resinoso aplicado em primeiros molares permanentes foi 33%, sendo este efeito dependente da retenção do material. Como conclusão, pela escassez de estudos bem delineados, a revisão sugere que há limitada evidência de que selantes resinosos em primeiros molares permanentes têm efeito preventivo. A evidência é incompleta para os segundos molares, pré-molares, molares decíduos e

CIV. Portanto, há a necessidade de estudos de alta qualidade, particularmente em crianças com baixo e alto risco.

Em 2004, LYNCH; NAVADA; WALIA⁵² revisaram a literatura sobre o efeito dos dentífrícios fluoretados e dos baixos níveis de flúor na desmineralização e remineralização do esmalte. O maior efeito dos dentífrícios fluoretados está relacionado às baixas, porém prolongadas, elevações dos níveis de flúor na saliva e na placa dentária. O flúor sistemicamente incorporado ao esmalte não reduz suficientemente sua solubilidade para exercer um efeito anticariogênico. O flúor é capaz de exercer seu efeito anticariogênico de três maneiras: 1) inibição da desmineralização; 2) promoção da remineralização; 3) interferir no crescimento e metabolismo bacterianos. Entretanto, os baixos níveis de flúor que podem influenciar o processo de cárie são insuficientes para um efeito significativo sobre as bactérias. Portanto, a redução da cárie pelos dentífrícios fluoretados está relacionada a uma modificação no balanço entre desmineralização e remineralização sobre o dente, provocada pelos baixos níveis de flúor na saliva e na placa. O uso de dentífrícios fluoretados duas vezes ao dia provoca um aumento no nível de flúor na placa e na saliva por mais de 12 horas após a escovação. Estes níveis encontrados na saliva podem significativamente reduzir a desmineralização do esmalte, enquanto os níveis encontrados na placa têm o potencial para remineralização.

Em uma revisão sobre a importância dos dentífrícios fluoretados no Brasil, CURY et al.¹⁵, em 2004, afirmaram que a cárie dentária apresentou um declínio significativo no país nas duas últimas décadas. Esta redução pode ter ocorrido em função da fluoretação da água de abastecimento, da expansão dos programas preventivos em escolas e, especialmente, do amplo uso de dentífrícios fluoretados. O papel da fluoretação da água na prevenção da cárie é evidente, com uma redução

de aproximadamente 50% da cárie dentária e uma abrangência de aproximadamente 43% da população. Mas atualmente esta contribuição tem sido questionada, principalmente pelo efeito dos dentifrícios fluoretados. Mesmo áreas sem água fluoretada ou aquelas que interromperam a fluoretação da água têm apresentado declínio da cárie. No entanto, as áreas com água fluoretada apresentaram uma diferença de 30% na redução de cárie em relação às áreas sem água fluoretada. Embora alguns programas preventivos tenham se mostrado eficientes, é difícil saber exatamente o papel que assumem na redução da cárie até que pesquisas controladas sejam realizadas. O aumento da redução de cárie após a introdução dos dentifrícios fluoretados no mercado nacional, independente de programas preventivos ou exposição à água fluoretada, indicam que os dentifrícios são os principais responsáveis pelo declínio.

Em 2005, HIGHAM et al.⁴¹ revisaram aspectos dos sistemas disponíveis para avaliação do processo de cárie em esmalte. Descrevem principalmente um modelo *in situ* desenvolvido em Liverpool (banda em que os espécimes de esmalte, cobertos por gaze, são fixados no primeiro molar inferior) e o método de quantificação de perda mineral denominado de fluorescência quantitativa induzida por luz (QLF), por meio da qual uma perda mineral pode ser quantificada pela perda de intensidade de luz. Segundo os autores, a QLF é um método poderoso para medir desmineralização e remineralização em superfícies dentárias *in vivo*, sem a necessidade de destruir o tecido, como no caso de avaliação por micro-radiografias. Assim, o método seria muito útil para casos de avaliação de lesões recorrentes e desmineralização ao redor de braquetes ortodônticos. Além disso, o método necessita de menor tempo, reduz o custo de estudos clínicos e podem ser conduzidos longitudinalmente *in vivo*, sem o uso de aparelhos ou dispositivos para fixação de blocos dentários.

Em 2006, WIEGAND; BUCHALLA; ATTIN⁹⁷ fizeram uma revisão sobre os materiais restauradores com flúor, abordando as características de liberação e recarga de flúor, propriedades antibacterianas e sua influência na formação de cárie, com artigos científicos publicados de 1980 a 2004. Os materiais apresentaram diferenças evidentes nas características de liberação e recarga de flúor, as quais estão relacionadas com sua matriz, mecanismo de presa e conteúdo de flúor, além de várias condições ambientais. Eles podem agir como uma reserva de flúor e aumentar os níveis de flúor na saliva, placa dentária e tecidos duros dentários. Os CIV e compômeros apresentam propriedades cariostáticas e podem afetar o metabolismo bacteriano em condições cariogênicas simuladas *in vitro*. Entretanto, os estudos clínicos exibiram resultados conflitantes em relação ao efeito significativo na prevenção e inibição de cárie secundária, bem como no crescimento de bactérias associadas à cárie, quando comparados a materiais sem flúor.



Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru

3

FOB USP

Proposição

3. Proposição

Este estudo *in situ* se propôs a analisar em esmalte bovino desmineralizado, submetido ou não a um desafio cariogênico, os efeitos de um CIV de alta viscosidade (CIVav) e de um selante resinoso, comparativamente a um controle (sem selamento), com os seguintes objetivos:

- ✓ avaliar a concentração de flúor no biofilme dentário formado sobre o esmalte associado ao CIVav, selante resinoso ou sem selamento;
- ✓ avaliar a concentração de flúor no esmalte associado ao CIVav, selante resinoso ou sem selamento, com e sem desafio cariogênico;
- ✓ avaliar o conteúdo mineral do esmalte associado ao CIVav, selante resinoso ou sem selamento, com e sem desafio cariogênico.



Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru



FOB USP

Material **e Métodos**

4. Material e Métodos

4.1 Aspectos Éticos

Este projeto foi desenvolvido após ter sido submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FOB – USP, conforme processo número 96/2005 (Anexo 1).

4.2 Delineamento experimental

Este estudo *in situ* envolveu um desenho aleatorizado e foi realizado em um período de 14 dias^{62,65}, durante os quais voluntários utilizaram um DIP contendo espécimes de esmalte bovino. Cento e quarenta e quatro blocos de esmalte bovino desmineralizados *in vitro*, após um ordenamento conforme a microdureza, foram aleatoriamente divididos entre doze voluntários e entre seis grupos de estudo. Foram estudadas três situações: a) selamento com CIVav; b) selamento com selante resinoso convencional sem carga e sem flúor; e c) ausência de selamento (controle); sob duas condições: com e sem desafio cariogênico. Desta forma, foram formados seis grupos (Tabela 4.2), cujos materiais testados são apresentados na tabela 4.1. Cada DIP continha doze blocos, fixados dois a dois, para simularem uma fissura em forma de V. Durante o período experimental, metade dos espécimes foi submetida a um desafio cariogênico, ou seja, ao acúmulo de biofilme dentário e gotejamento de solução de sacarose a 20%, oito vezes ao dia^{12,62,65}. Todos os espécimes receberam solução de dentifrício fluoretado (1 g dentifrício : 3 mL de água deionizada) três vezes ao dia^{14,62}. O efeito dos materiais foi analisado por meio da avaliação da microdureza em

secção longitudinal, além da determinação da concentração de flúor no biofilme dentário e na superfície do esmalte (biópsia básica do esmalte).

O delineamento experimental deste estudo pode ser visualizado no fluxograma apresentado na figura 4.1; os materiais testados e os seis grupos formados são apresentados, respectivamente, na figura 4.2, tabela 4.1 e tabela 4.2.

TABELA 4.1 – Materiais testados e respectivas especificações

MATERIAL / NOME COMERCIAL	FABRICANTE	LOTE/VALIDADE	COMPOSIÇÃO
CIV de alta viscosidade / Ketac™ Molar Easymix	3M ESPE AG Dental Products, Seefeld, Alemanha	197603 01/2006	Pó: vidro de fluorsilicato de alumínio, lantânio e cálcio, ácido poliacrílico, eudragit, ácido tartárico, ácido sórbico, ácido benzóico e pigmentos Líquido: água, copolímero de ácido acrílico e ácido maleico, ácido tartárico e ácido benzóico
selante resinoso sem flúor / Delton	Dentsply Ind. e Com. Ltda, Petrópolis – RJ, Brasil	187221 07/2006	Catalisador: monômeros de dimetacrilato, estabilizantes fenólicos e peróxido de benzoíla Universal: monômeros de dimetacrilato, estabilizantes fenólicos e amina terciária

TABELA 4.2 – Descrição dos grupos em função do material e do desafio cariogênico

GRUPO	MATERIAL	DESAFIO CARIOGÊNICO
1 (CIVav-D)	Ketac™ Molar Easymix	sim
2 (CIVav)	Ketac™ Molar Easymix	não
3 (SR-D)	Delton	sim
4 (SR)	Delton	não
5 (C-D)	Controle (sem selamento)	sim
6 (C)	Controle (sem selamento)	não

4.3 Obtenção dos dentes bovinos

Foram utilizados neste estudo 200 incisivos bovinos extraídos de gado com idade média de 36 meses, abatidos para consumo no Frigorífico Vangélio Mondelli

Ltda, em Bauru, SP. Os dentes foram limpos com curetas periodontais para remover resíduos de tecido gengival aderido à superfície e posteriormente esterilizados em solução de formol a 2%^{12,16,62,85,86}, pH 7,0, preparado com tampão fosfato, onde ficaram imersos por 30 dias e durante o período de preparo dos blocos de esmalte.

4.4 Obtenção dos blocos de esmalte bovino

Os dentes foram selecionados inicialmente a olho nu, eliminando-se aqueles com trincas, rachaduras, grande desgaste incisal, manchas e/ou defeitos hipoplásicos.

As raízes foram removidas com auxílio de um disco diamantado Diaflex-F (Wilcos do Brasil, Ind. e Com. Ltda., Petrópolis – RJ, Brasil) adaptado em um torno de polimento odontológico, sendo feita uma secção na porção cervical da raiz dos dentes (Figura 4.3). Em seguida, as coroas foram fixadas com godiva termoativada (Kerr Corp., CA, USA) em uma placa de alumínio (40 x 40 x 5 mm) para realização dos cortes em um aparelho de corte de precisão Isomet Low Speed Saw (Bulher Ltda, Lake Bluff, IL, USA), com auxílio de dois discos diamantados dupla face (referência 12205, 102 x 0,3 x 12,7 mm, high concentration, Extec[®] Corp., Enfield, CT, USA) e um espaçador de alumínio (7 cm de diâmetro, 4 mm de espessura e orifício central de 1,3 cm) entre os discos, com velocidade de 300 rpm e refrigeração com água deionizada. Foram obtidos espécimes de esmalte de 4 x 4 mm da porção mais plana da coroa, através de uma secção dupla no sentido cérvico-incisal e outra no sentido mésio-distal (Figura 4.4). Após nova seleção a olho nu, os blocos com esmalte trincado ou manchado foram desprezados.

4.5 Planificação e polimento dos blocos de esmalte

Para permitir a planificação e polimento do esmalte, inicialmente foi necessário realizar a planificação da superfície da dentina. Para isso, os blocos foram fixados com cera em bastão para enceramento (Kota Ind. e Com. Ltda, São Paulo – SP, Brasil) no centro de um disco acrílico cristal (30 mm de diâmetro por 8 mm de espessura), com a maior área plana de esmalte voltada para o disco. Seis conjuntos (disco / bloco) foram adaptados em uma Politriz Metalográfica (APL 4, Arotec, Cotia – SP, Brasil), capaz de realizar polimento automático e permitir paralelismo entre as superfícies polidas e a base de acrílico onde são fixados os blocos. Nesta planificação foi utilizada uma lixa de silicone carbide de granulação 320 (Silicon Carbide Waterproof Paper, Extec Abr. disc S/C, W/D, Extec[®] Corp.), com refrigeração a água, por aproximadamente 30 a 60 s, em velocidade baixa e com dois pesos, até que os blocos apresentassem a superfície de dentina totalmente plana e espessura aproximada de 3 mm. Os blocos com superfície de dentina muito irregular foram desgastados manualmente, nesta mesma lixa, antes de serem adaptados na politriz, para evitar que a lixa fosse rasgada durante a planificação.

Os blocos foram removidos dos discos de acrílico, os quais foram limpos com xilol (Merck, Darmstadt, Germany) para retirar todos os resíduos de cera. Em seguida, foram novamente fixados com cera no centro do disco, porém com o esmalte voltado para cima. Este procedimento foi realizado com cuidado para que a cera não escorresse sob o bloco, o que alteraria o paralelismo entre as superfícies de esmalte e dentina.

O conjunto foi adaptado na politriz e o esmalte foi desgastado com lixas de silicone carbide (Extec[®] Corp.) de granulação 320 por 1 min em velocidade baixa,

sob refrigeração a água e com dois pesos; lixa de granulação 600 por 3 min em velocidade baixa, sob refrigeração a água e com dois pesos; lixa de granulação 1200 por 4 min em velocidade alta, sob refrigeração a água e com dois pesos; disco de feltro (Extec Alphagam Cloth PSA, 203 mm Wheel, Extec[®] Corp.) umedecido com suspensão de diamante de 1 μm , de cor marfim (referência 16587, Extec I Water based diamond permanent polishing suspension, Extec[®] Corp.) por 5 min em velocidade alta, sem refrigeração, com dois pesos (Figura 4.5).

Para evitar que os grânulos de uma lixa interferissem no polimento da seguinte, os conjuntos disco / bloco foram limpos em aparelho de ultra-som (Ultrasonic Cleaner Mod USC 750, Unique Ind. e Com. de Produtos Eletrônicos Ltda, São Paulo – SP, Brasil) por 2 min, com frequência de 40 kHz, com água deionizada. Ao final do procedimento de polimento, os blocos foram limpos por 10 min neste aparelho.

A partir do início do polimento, os blocos passaram a ser armazenados em recipientes plásticos com tampa, cobertos por papel absorvente umedecido com água deionizada, em temperatura de 4°C.

4.6 Avaliação da microdureza superficial inicial

A microdureza superficial inicial do esmalte foi avaliada em um microdurômetro (HMV – 2000, Shimadzu Corporation, Japão) acoplado a um microcomputador com programa específico (Cams-Win-New Age Industries / USA) para a análise das imagens. Foi utilizado um penetrador diamantado piramidal tipo KNOOP, com carga estática de 25 g, aplicada por 5 s. Em cada bloco foram realizadas cinco indentações na região central, com uma distância de 100 μm entre elas. Para medir as indentações realizadas, duas marcas pontilhadas que aparecem

na tela do computador foram sobrepostas aos vértices agudos do losango correspondente à indentação, determinando o comprimento da maior diagonal (Figura 4.6). Os resultados da dureza KNOOP foram obtidos pelo cálculo automático feito pelo programa, a partir da seguinte equação:

$$KHN = \frac{C \cdot c}{d^2}$$

KHN= valor de dureza KNOOP
C (constante)= 14,230
c = 25 g
d= comprimento da maior diagonal da indentação

Os blocos selecionados apresentaram uma microdureza média (KHN) \pm dp de 377 ± 45 (máximo: 470 e mínimo: 265), sendo o restante desprezado.

4.7 Desmineralização in vitro do esmalte

Os blocos foram protegidos com uma camada de esmalte cosmético para unhas (Colorama Maybelline – ultra duração, Cosbra Cosméticos Ltda, São Paulo – SP, Brasil), mantendo apenas a superfície de esmalte polida exposta. Em seguida, foram imersos em uma solução desmineralizadora (pH 5,0), com composição baseada em QUEIROZ⁶⁸ (2003), descrita na tabela 4.3, para preparo de 1 L.

TABELA 4.3 – Componentes utilizados no preparo de 1 L de solução desmineralizadora para provocar lesão de cárie artificial

REAGENTES	FABRICANTE	CONCENTRAÇÃO
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O (nitrato de cálcio tetra-hidrato)	Merck, Darmstadt, Germany	1,3 mM (0,30699 g)
NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O (fosfato de sódio di-hidrato)	Merck, Darmstadt, Germany	0,78 mM (0,13883 g)
ácido acético glacial	Merck, Darmstadt, Germany	50 mM (2,87 mL)
NaF - 100 ppm (fluoreto de sódio)	Orion, MA, USA	0,0315 ppm (315 µL)

pH ajustado com ácido acético ou NaOH

Os espécimes foram imersos individualmente em 32 mL de solução (2 mL/mm²), por um período de 16 horas, a 37 °C. Após este período, foram lavados abundantemente com água deionizada e o esmalte cosmético para unhas foi removido com auxílio de um esculpador Le Cron (Duflex, White Artigos Dentários Ltda, Rio de Janeiro – RJ, Brasil). Após este período, a superfície do esmalte ainda apresentava-se clinicamente intacta, sem perda de estrutura superficial, porém com uma leve alteração de cor, tornando-se mais esbranquiçada, mas não opaca.

4.8 Avaliação da microdureza superficial após a desmineralização

A microdureza superficial do esmalte foi avaliada novamente, utilizando-se o mesmo equipamento e a mesma metodologia anteriormente descritos.

Os blocos apresentaram microdureza média (KHN) ± dp de 147 ± 40 (máximo: 229 e mínimo: 83). Os outros blocos apresentaram microdureza fora deste intervalo e foram descartados. Ao final, 144 espécimes foram selecionados.

4.9 Distribuição dos blocos entre grupos e voluntários

Blocos de microdureza alta e baixa foram distribuídos para todos os grupos e voluntários, de modo que a microdureza média fosse semelhante tanto para grupo como para voluntário (Tabelas 4.4 e 4.5, Anexo 2). Este procedimento seguiu um modelo de “aleatorização em blocos”, utilizando o programa Microsoft Excel (Anexo 3).

TABELA 4.4 – Valores (média \pm dp) da microdureza do esmalte (KHN) antes e após a desmineralização dos blocos nos diferentes grupos

GRUPO	microdureza antes da desmineralização	microdureza após a desmineralização
1 (CIVav-D)	364 \pm 40,1	146 \pm 41,8
2 (CIVav)	360 \pm 39,4	146 \pm 41,5
3 (SR-D)	384 \pm 49,5	147 \pm 40,9
4 (SR)	374 \pm 47,7	147 \pm 40,0
5 (C-D)	389 \pm 47,1	147 \pm 41,6
6 (C)	391 \pm 43,0	146 \pm 40,7

TABELA 4.5 – Valores (média \pm dp) da microdureza do esmalte (KHN) antes e após a desmineralização dos blocos nos diferentes voluntários

VOLUNTÁRIO	microdureza antes da desmineralização	microdureza após a desmineralização
1	379 \pm 51,0	146 \pm 34,2
2	388 \pm 38,2	147 \pm 37,2
3	373 \pm 50,2	145 \pm 40,4
4	386 \pm 50,7	145 \pm 45,1
5	368 \pm 34,3	149 \pm 36,1
6	383 \pm 44,1	148 \pm 33,0
7	386 \pm 32,8	146 \pm 51,5
8	371 \pm 59,3	148 \pm 43,1
9	373 \pm 44,8	146 \pm 28,9
10	372 \pm 56,1	148 \pm 44,5
11	382 \pm 38,4	144 \pm 56,2
12	365 \pm 51,0	142 \pm 46,0

4.10 Montagem e selamento dos espécimes

Após a distribuição aleatória dos blocos nos diferentes voluntários e grupos, os mesmos foram fixados dois a dois com um ângulo de 120° entre as superfícies de esmalte, para simular uma fissura em forma de V. Para isso, foi utilizado um dispositivo de resina acrílica que auxiliou no posicionamento dos blocos (Figura 4.7). Em seguida, realizou-se um condicionamento com ácido fosfórico a 37% (Dentsply Ind. e Com. Ltda, Petrópolis – RJ, Brasil) e aplicação de adesivo Single Bond (3M ESPE), sendo os blocos fixados com resina composta para compor um espécime.

Nos grupos 1 (CIVav-D) e 2 (CIVav), as superfícies de esmalte do espécime foram limpas por 10 s com o líquido do CIVav, usando um aplicador descartável (KG brush, KG Sorensen Ind. e Com. Ltda., Barueri – SP, Brasil), lavadas e secas, conforme orientações do fabricante. Uma fita adesiva (Scotch, 3M do Brasil, Sumaré

– SP, Brasil) foi colada ao redor do espécime para delimitar as extremidades livres da fissura e evitar que o material fluísse. O CIVav (Ketac™ Molar Easymix) foi aplicado em toda a extensão da fissura com auxílio de uma seringa Centrix (DFL Ind. e Com. Ltda, Rio de Janeiro – RJ, Brasil) com ponta plástica fina, cobrindo aproximadamente metade da superfície dos espécimes. Em seguida, aplicou-se uma camada de vaselina para proteção superficial do material.

Nos grupos 3 (SR-D) e 4 (SR) as superfícies foram condicionadas por 15 s com ácido fosfórico a 37% (Dentsply Ind. e Com. Ltda, Petrópolis – RJ, Brasil), lavadas e secas⁶¹. A fita adesiva foi colada ao redor do espécime, como descrito anteriormente, e a fissura foi selada com selante resinoso quimicamente ativado (Delton), com auxílio do aplicador que acompanha o material, cobrindo aproximadamente metade da superfície do espécime.

Os espécimes dos grupos 5 (C-D) e 6 (C) não foram selados.

Após a realização dos selamentos, os espécimes foram cobertos com gaze umedecida com água deionizada e mantidos em estufa a 37 °C por 48 h, para que ocorresse a finalização da reação de presa do CIVav.

4.11 Seleção dos voluntários

Foram selecionados doze voluntários adultos jovens com idade entre 20 e 32 anos ($27 \pm 3,3$) para participar da pesquisa, sendo seis do gênero masculino e seis do feminino, todos residentes em Bauru – SP, onde a água é fluoretada (0,6 – 0,8 ppm). Os critérios considerados para inclusão no estudo foram baseados em ZERO¹⁰⁰ (1995): ter boa saúde geral; não utilizar ou ter utilizado antibióticos nos últimos dois meses; não utilizar medicamentos que afetem o fluxo salivar; não

apresentar lesões de cárie ativas no estágio de cavitação; ter pelo menos oito dentes naturais; ter boa condição periodontal; não tomar suplementos de flúor, e não ter recebido aplicação tópica de flúor profissional em altas concentrações nas últimas duas semanas. A cavidade bucal dos voluntários foi examinada com auxílio de uma espátula de madeira para detecção de lesões de cárie ou doença periodontal. Os voluntários tomaram ciência do experimento pela “CARTA DE INFORMAÇÃO AO SUJEITO DA PESQUISA” e assinaram o “TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO” (Anexos 4 e 5).

4.12 Preparo do dispositivo intrabucal palatino

A arcada superior dos voluntários foi moldada com alginato (Jeltrate, Dentsply Indústria e Comércio Ltda, Petrópolis – RJ, Brasil) e modelos de gesso pedra (Herodent – Soli Rock – Vigodent S/A Indústria e Comércio, Rio de Janeiro – RJ, Brasil) foram obtidos. Sobre os modelos foram confeccionados os DIP em resina acrílica (Clássico, Artigos odontológicos clássicos Ltda, São Paulo – SP, Brasil), os quais continham seis cavidades de 6 x 10 x 5 mm, divididas em duas fileiras (direita e esquerda), onde foram fixados os espécimes com cera em bastão para enceramento (Kota Ind. e Com. Ltda., São Paulo - SP, Brasil). Os DIP foram desgastados e polidos quimicamente pela imersão, por alguns segundos, em monômero de resina acrílica aquecido.

A distribuição dos espécimes nas diferentes cavidades do DIP (anterior, média, posterior) foi planejada de forma que os grupos fossem distribuídos igualmente em todas as posições das cavidades.

A fixação dos espécimes foi criteriosa, evitando-se fendas laterais entre o espécime e a resina acrílica, bem como desconforto aos voluntários. No lado sem acúmulo de biofilme dentário, os blocos foram fixados no nível da resina acrílica do DIP. Já no lado em que houve acúmulo de biofilme para provocar desafio cariogênico, os espécimes foram fixados 1 mm abaixo do nível da resina acrílica e cobertos com tela plástica^{4,12,16,65} recortada de uma peneira (Plasútil Ind. e Com. de plásticos, Bauru – SP, Brasil), como demonstrado na figura 4.8.

4.13 Procedimentos intrabucais

Cada voluntário recebeu: uma lista de orientações idêntica à carta de informação ao sujeito da pesquisa (Anexo 4); um formulário para relatório dos horários das refeições (Anexo 6); um estojo plástico (Dental Morelli Ltda, Sorocaba – SP, Brasil) para guardar o DIP; uma bisnaga de dentifrício Sorriso Fresh à base de sílica e NaF, com 1100 ppm de flúor (lote BR1117, validade 03/2008, Colgate-Palmolive Ind. e Com. Ltda., São Bernardo do Campo – SP, Brasil); uma escova dental Oral B (Classic 35 extra-macia, Proctor & Gamble do Brasil, São Paulo – SP, Brasil); uma escova dental infantil extra-macia (Sorriso Kolynos Master, Colgate-Palmolive Ind. e Com. Ltda.); fio dental Pro® (Oral B, Proctor & Gamble do Brasil); um frasco plástico conta-gotas com solução de sacarose a 20%; um frasco plástico conta-gotas com solução de dentifrício fluoretado, na proporção de 3 mL de água deionizada para 1 g de dentifrício (Sorriso Fresh) e porções de gaze (Cremer S.A., Blumenau – SC, Brasil).

O DIP foi instalado na noite que antecedia a fase experimental, após a última higiene bucal, que foi realizada com o material fornecido. Os voluntários foram

orientados a utilizar o DIP 24 h por dia, exceto durante as refeições (três refeições diárias de uma hora cada, no máximo), período em que os DIP foram mantidos no estojo plástico e cobertos com gaze umedecida em água de abastecimento. Os voluntários foram orientados a não ingerirem bebidas fora dos horários das refeições, exceto água, quando deveriam retirar o DIP da boca.

Os voluntários realizaram a higiene bucal normalmente após as refeições (7h30, 12h30, 20h), sem o DIP, usando o dentifrício fornecido^{62,65}. Além da higiene bucal habitual, eles foram orientados a agitar o frasco com solução de dentifrício fluoretado e gotejá-la sobre todos os espécimes (duas gotas / espécime), aguardando dois minutos antes de reinstalarem o DIP na cavidade bucal. Esta solução foi substituída por outra recém-manipulada após sete dias.

Se houvesse acúmulo de biofilme dentário sobre os espécimes no lado sem tela, os voluntários deveriam realizar uma limpeza cuidadosa com a escova dental infantil fornecida. Porém, nenhum dos voluntários relatou esta ocorrência.

No lado com tela, os voluntários foram orientados a gotejar uma solução de sacarose a 20% sobre todos os espécimes (duas gotas / espécime), oito vezes ao dia (aproximadamente às 8h, 9h30, 11h, 14h, 15h30, 17h, 19h, 21h), sendo a última aplicação realizada após a última higiene. Após 5 minutos, o DIP foi reinstalado na cavidade bucal^{12,62,65}. Esta solução foi substituída por outra recém-manipulada a cada dois dias.

Para padronização dos horários no último dia de experimento, os voluntários foram orientados a aplicar a solução de dentifrício e de sacarose às 22h e 23h, respectivamente. Assim, a última aplicação de dentifrício ocorreu 10 horas antes da coleta do biofilme^{62,65}.

Na manhã do 15^o dia de uso do DIP, os voluntários permaneceram em jejum e sem realizar a higiene bucal até a entrega dos DIP para a coleta do biofilme dentário e remoção dos espécimes (Figura 4.9).

4.14 Avaliação da concentração de flúor no biofilme dentário

A tela que recobria os espécimes foi cortada com tesoura e removida. O biofilme foi coletado com auxílio de espátula plástica Jon (Jon - Com. de produtos odontológicos Ltda., São Paulo – SP, Brasil) (Figura 4.10) e pesado em balança de precisão Mettler Toledo (modelo AT 261, Delta Range, Suíça), em tubos para microcentrífuga previamente pesados, com aproximadamente 10 mg de biofilme por tubo. A seguir, foi adicionado HCl 0,5 M, na proporção de 0,5 mL / 10 mg de biofilme (peso úmido). O conjunto foi homogeneizado em aparelho agitador de tubos (modelo 251, Fanem, São Paulo, Brasil) e, em seguida, os tubos foram mantidos sob agitação constante (mesa agitadora orbital plana – Nova Técnica, modelo NT 145, Piracicaba, São Paulo, Brasil), durante 3 h à temperatura ambiente. Após este procedimento, um mesmo volume de TISAB II (tampão de ajuste de força iônica total) foi adicionado ao tubo e centrifugado por 1 min a 11000 g (centrífuga modelo A14, Jovan S.A., Herblain, França). O sobrenadante foi coletado para análise da concentração de flúor (Figura 4.11).

O flúor foi analisado com o eletrodo íon específico combinado Orion (modelo 96-09, Orion, MA, EUA) e um analisador de íons Orion (modelo EA 940, Orion), demonstrado na figura 4.12^{4,12,14,16}. O conjunto foi calibrado utilizando os padrões de concentração de flúor de 0,0125; 0,025; 0,05; 0,1; 0,2; 0,4; 0,8 e 1,6 ppm, obtidos

por diluição seriada de um estoque de 100 ppm de flúor (Orion), conforme descrito no anexo 7.

Para a análise das amostras foram utilizados 0,3 mL de amostra e 0,3 mL de TISAB II, pois alguns voluntários não possuíam um volume suficiente de amostra para leitura em 0,5 mL [voluntário 3 – grupo 3 (SR-D); voluntário 6 – grupo 3 (SR-D), voluntário 8 – grupo 1 (CIVav-D); voluntário 10 – grupos 3 (SR-D) e 5 (C-D); voluntário 11 – grupo 5 (C-D); voluntário 12 – grupo 1 (CIVav-D)]. Sempre que possível, as leituras foram feitas em duplicata, exceto para os casos citados anteriormente.

As leituras foram realizadas em mV, sendo transformadas em $\mu\text{g F / g}$ por meio de planilha gerada no programa Microsoft Excel. Somente curvas de calibração com porcentagem de variação de até 5% para todos os padrões, $r \geq 0,99$ (linearidade) e “slope” entre 54 e 62 foram aceitas, contemplando a exatidão do método.

4.15 Limpeza e secção dos espécimes

Os espécimes foram removidos do DIP, limpos e desinfetados com uma solução de clorexidina a 0,12%. Em seguida, foram fixados em uma placa de alumínio e seccionados longitudinalmente através do material em máquina de corte de precisão Isomet Low Speed Saw (Buehler), com velocidade de 300 rpm e refrigeração com água deionizada. Foi utilizado um disco diamantado dupla face (Extec[®] Corp.) para realizar um corte na região central do espécime, porém deslocado para um dos lados (Figura 4.13). A parte mais grossa foi utilizada para avaliação da concentração de flúor no esmalte (biópsia básica de esmalte), que

necessitava de uma área maior, enquanto a parte mais fina foi utilizada para avaliação da microdureza em secção longitudinal.

4.16 Avaliação da concentração de flúor no esmalte (biópsia básica)

A parte mais grossa do espécime foi imersa em solução de acetona diluída em água deionizada (1 : 1) durante 30 s e seca em gaze esterilizada. Para que não houvesse contaminação do esmalte por gordura oriunda da mão, todos os espécimes foram manuseados com luvas e pinça. Perfurou-se uma fita adesiva colorida (Scotch, 3M do Brasil, Sumaré – SP, Brasil) com perfurador de couro, obtendo-se uma fita com 2 mm de diâmetro e área circular de 3,14 mm². Esta pequena fita foi colada na superfície do esmalte, sem atingir o material. O CIVav foi removido dos espécimes com auxílio de sonda exploradora (Duflex, White Artigos Dentários Ltda, Rio de Janeiro – RJ, Brasil), pois se parte dele eventualmente ficasse exposto poderia ocorrer uma interferência do seu flúor na avaliação da concentração de flúor do esmalte. Em seguida, o restante da superfície do espécime foi totalmente coberto por cera em bastão para enceramento. Após a secagem da cera, a fita adesiva foi removida cuidadosamente da superfície de esmalte, expondo uma área com formato circular, a qual foi submetida à biópsia básica (Figura 4.14).

Para isso, foram preparadas soluções de KOH 1 M e 2 M, além de TISAB II com HCl, conforme descrito no anexo 8.

Para validação da metodologia, dez blocos que não foram expostos aos materiais e ao meio bucal foram também analisados.

Os espécimes foram individualmente imersos em 1 mL de KOH 1 M (0,5 mL / área exposta) em tubos de ensaio e mantidos, sob agitação constante por 24 h, em mesa agitadora e temperatura ambiente.

Após este período, as soluções foram analisadas quanto à concentração de flúor, utilizando eletrodo íon específico combinado Orion (modelo 96-09, Orion) e um analisador de íons Orion (modelo EA 940, Orion), previamente calibrados com padrões contendo 0,025; 0,05; 0,1; 0,2; 0,4; 0,8 e 1,6 ppm de flúor, obtidos por diluição seriada de um estoque de 100 ppm de flúor (Orion). Os padrões utilizados para a biópsia básica foram preparados de acordo com o anexo 9.

Para a análise das amostras foram utilizados 0,3 mL de amostra e 0,3 mL de TISAB II (HCl), para possibilitar que as leituras fossem feitas em duplicata.

As leituras foram realizadas em mV, sendo transformadas em $\mu\text{g F} / \text{cm}^2$ por meio de planilha gerida no programa Microsoft Excel. Foram aceitas somente curvas de calibração com porcentagem de variação de até 5% para todos os padrões, $r \geq 0,99$ (linearidade) e “slope” entre 54 e 62, contemplando a exatidão do método.

4.17 Avaliação da microdureza em secção longitudinal do esmalte

A metade menor do espécime foi embutida em resina acrílica, com a sua superfície interna exposta, utilizando uma embutidora metalográfica (AROTEC PRE 30S, AROTEC Ind. e Com., Cotia-SP, Brasil). Posteriormente, os espécimes embutidos foram polidos na politriz metalográfica na mesma seqüência adotada para o polimento de esmalte (Figura 4.15).

Os espécimes foram então avaliados no microdurômetro, utilizando a mesma carga e o mesmo tempo da avaliação da microdureza inicial, ou seja, 25 g por 5

s^{14,62}. Nos espécimes sem selamento (controle) foram realizadas 16 indentações no esmalte da região central de cada bloco, nas profundidades de 10, 30, 50, 70, 90, 110, 220 e 330 µm em relação à superfície, em duas fileiras distintas, com uma distância entre elas de 100 µm. Ao final, foi obtida a média da microdureza das duas fileiras em cada profundidade. Já nos espécimes selados com CIVav e selante resinoso foram realizadas 24 indentações nas mesmas profundidades, porém em três fileiras distintas, com uma distância entre elas de 100 µm, estando a fileira central localizada na borda do material. Portanto, as leituras de microdureza foram realizadas no esmalte selado (sob o material), esmalte na borda do material e esmalte não selado (adjacente ao material), como demonstrado na figura 4.16.

Os valores de microdureza obtidos foram convertidos em porcentagem de volume mineral, por meio de fórmula definida por FEATHERSTONE²⁴ (1983):

$$\text{Porcentagem de volume mineral} = 4,3 \times \sqrt{\text{KHN}} + 11,3$$

4.18 Análise estatística

Comprovada a homogeneidade dos dados de porcentagem de volume mineral e concentração de flúor no esmalte, foi aplicada a Análise de Variância (ANOVA). Para a variável porcentagem de volume mineral considerou-se os fatores material, desafio cariogênico e profundidade. Para a variável concentração de flúor no esmalte, os fatores considerados foram material e desafio cariogênico. O teste de comparação de Tukey foi aplicado para as comparações individuais.

Como os dados da concentração de flúor no biofilme dentário apresentaram-se heterogêneos, foi aplicado o teste de Friedman ANOVA.

Todos os testes consideraram um $n = 12$ (12 voluntários) e um nível de significância de 5%. O programa estatístico utilizado foi SAS System 6.11 (SAS Institute, Cary, NC, USA).

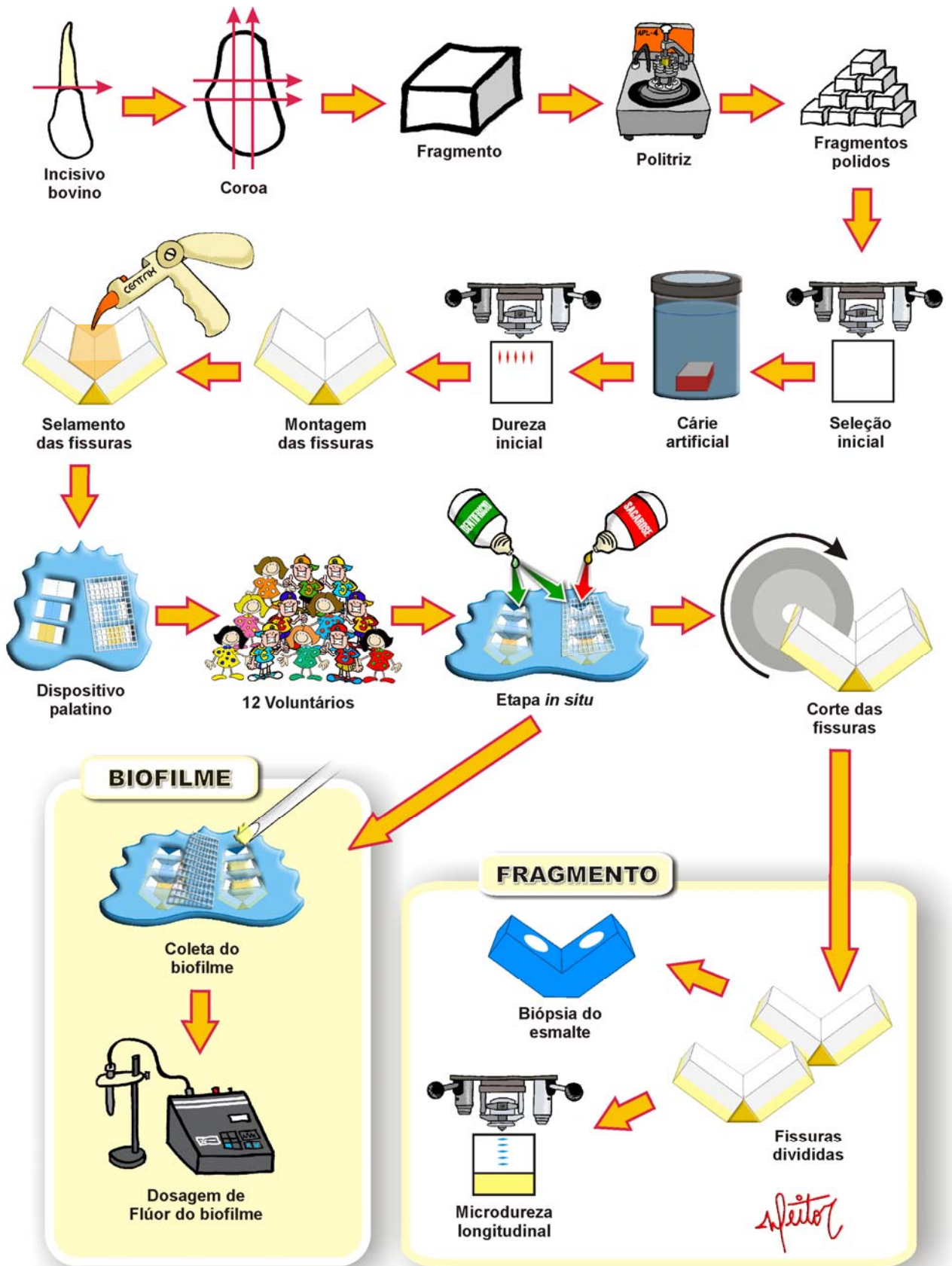


FIGURA 4.1 Fluxograma do delineamento experimental

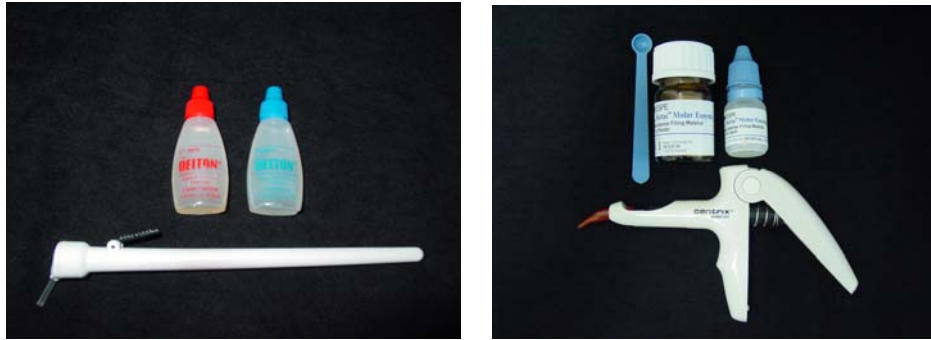


FIGURA 4.2 – Materiais testados: selante resinoso Delton e CIVav Ketac Molar Easymix



FIGURA 4.3 – Secção para separar coroa e raiz

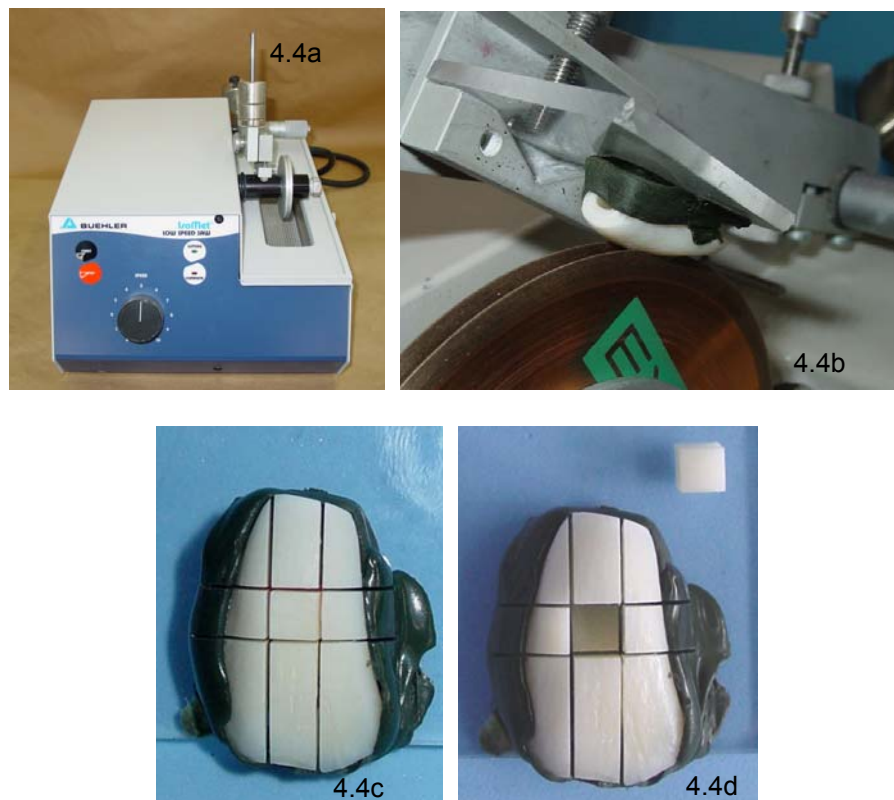


FIGURA 4.4 – a. máquina de cortes; b. espécime posicionado para corte; c. secções duplas no sentido méso-distal e cérvico-incisal; d. espécime obtido da região central da face vestibular

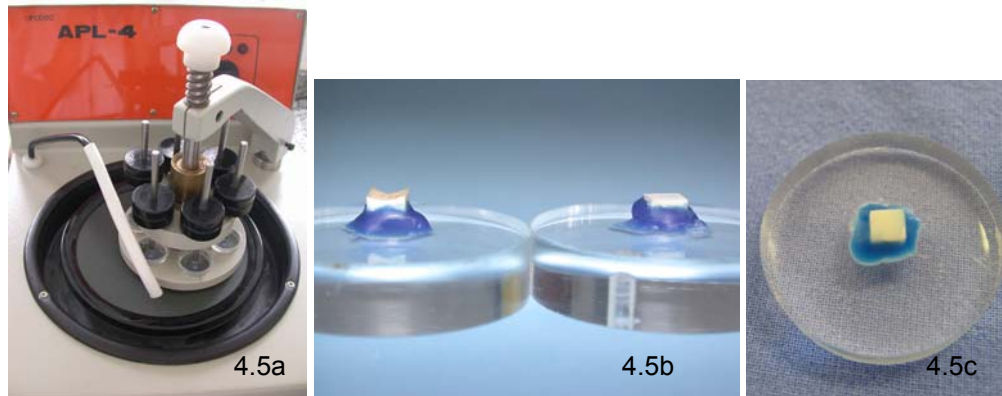


FIGURA 4.5 – a. politriz metalográfica; b. blocos antes e após a planificação da dentina; c. bloco após polimento do esmalte

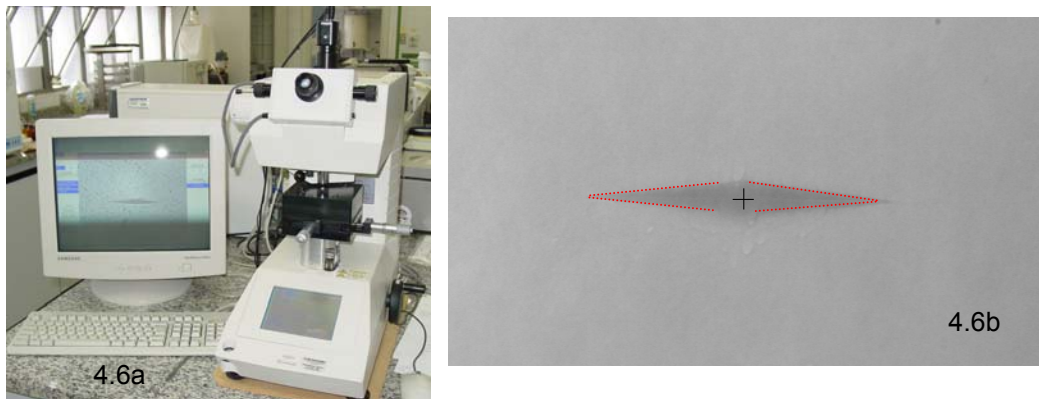


FIGURA 4.6 – a. microdurômetro acoplado ao computador; b. indentação delimitada para cálculo da microdureza

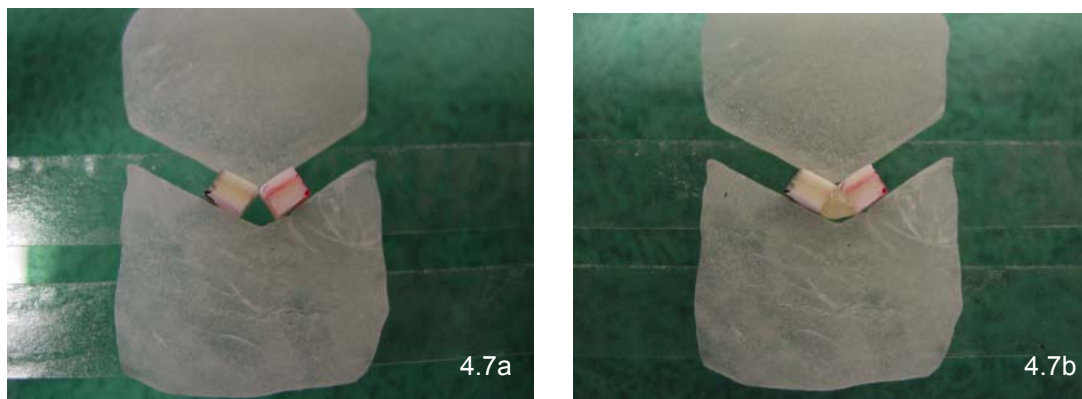


FIGURA 4.7 – a. blocos de esmalte posicionados; b. blocos fixados com resina composta, com um ângulo aproximado de 120°

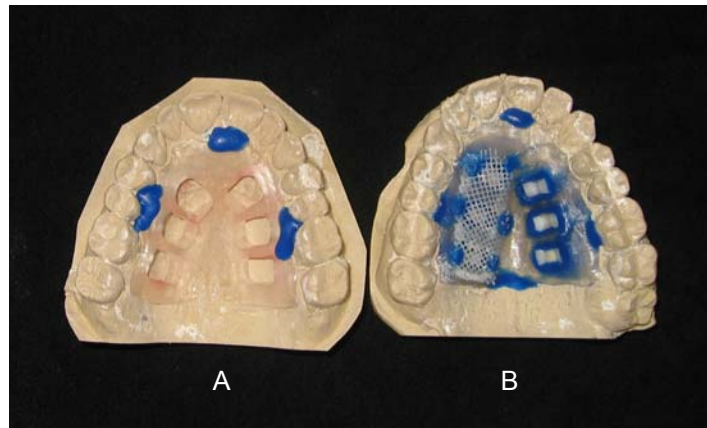


FIGURA 4.8 – DIP com cavidades onde serão fixados os espécimes (A) e dispositivo com os espécimes fixados, sendo um lado com tela e outro sem tela (B)



FIGURA 4.9 – DIP a ser removido no 15º dia. Observar biofilme dentário acumulado sob a tela plástica

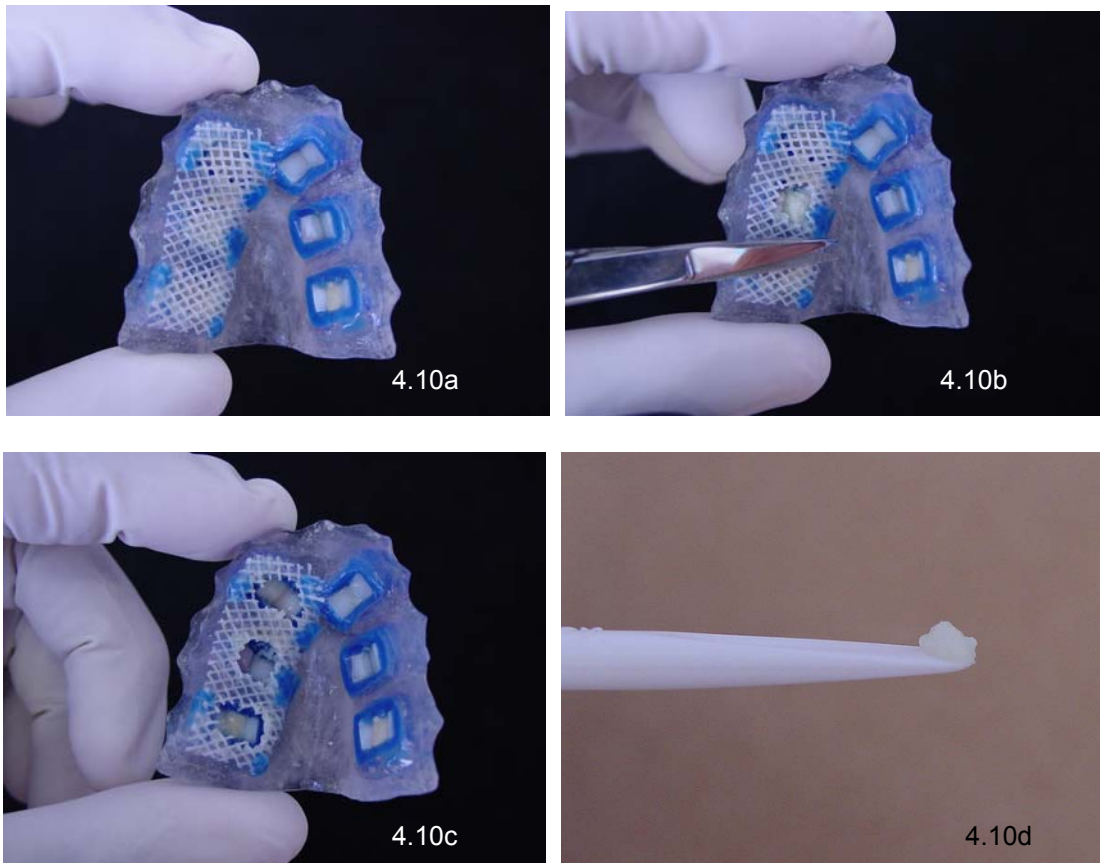


FIGURA 4.10 – a. DIP removido da cavidade bucal; b. corte da tela plástica com tesoura; c e d. biofilme dentário coletado com espátula plástica

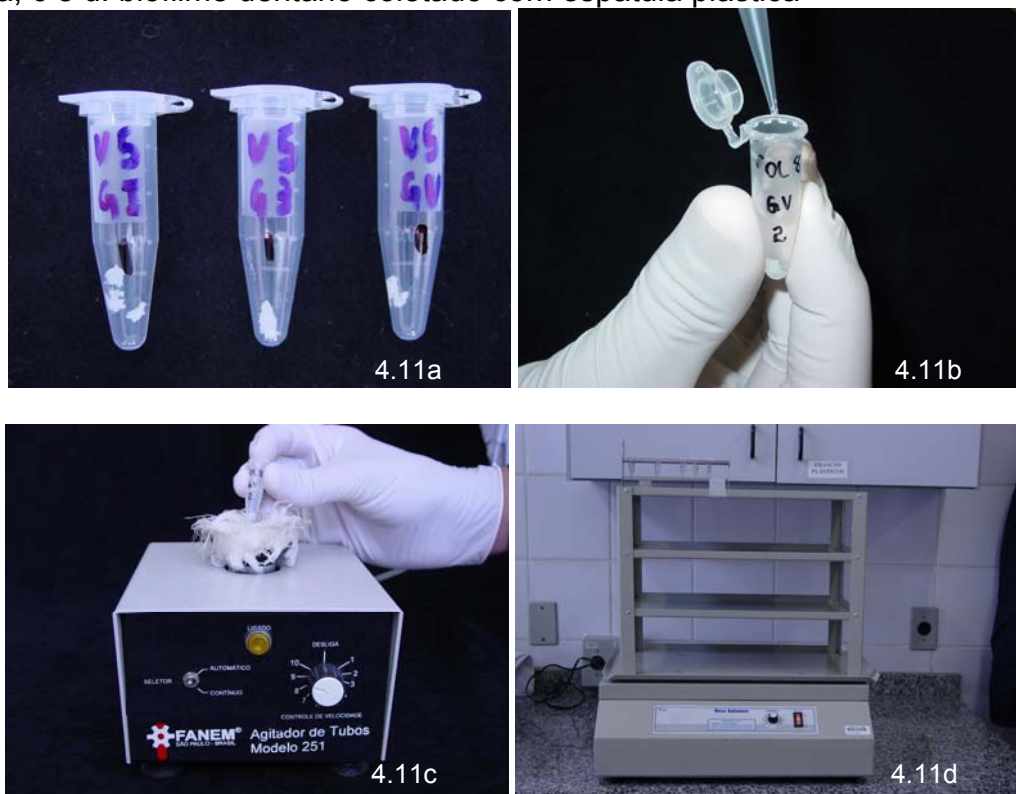


FIGURA 4.11 – a. biofilme dentário em tubos de microcentrifuga; b. adição de solução de HCl 0,5 M; c. agitação em agitador de tubos; d. agitação em mesa agitadora orbital plana por 3 h



FIGURA 4.12 - Eletrodo íon específico Orion para análise de flúor



FIGURA 4.13 - Seccionamento longitudinal do espécime em máquina de corte

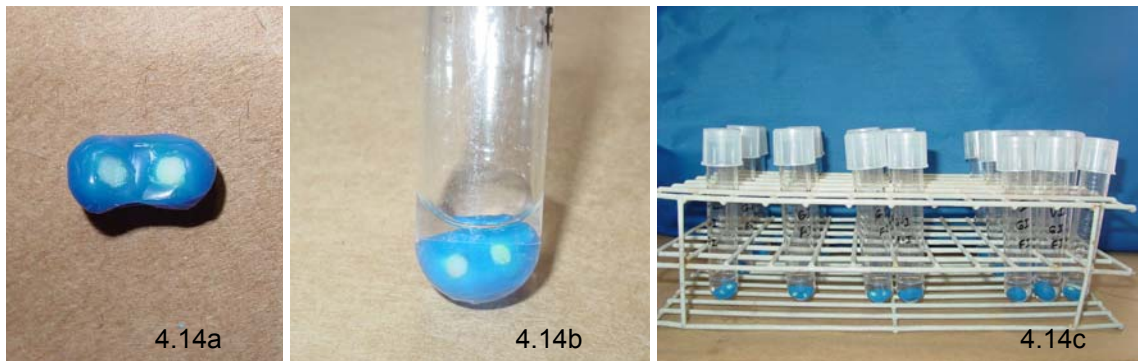


FIGURA 4.14 – a. espécime preparado para biópsia básica; b. espécime imerso em 1 mL de solução de KOH 1 M; c. agitação em mesa agitadora orbital plana por 24 h

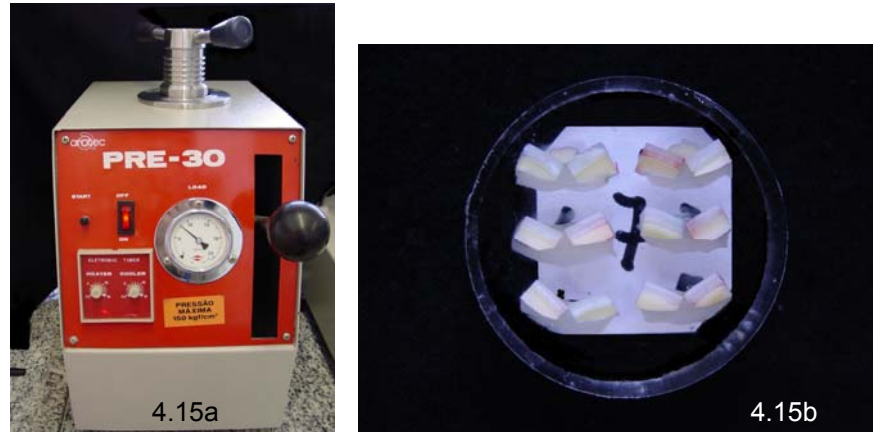


FIGURA 4.15 – a. embutidora de espécimes; b. espécimes embutidos em resina acrílica

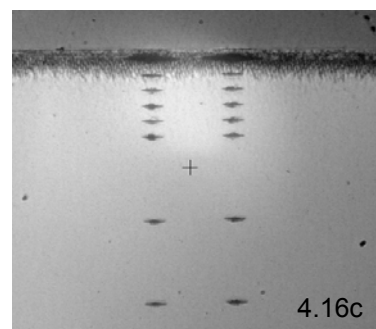
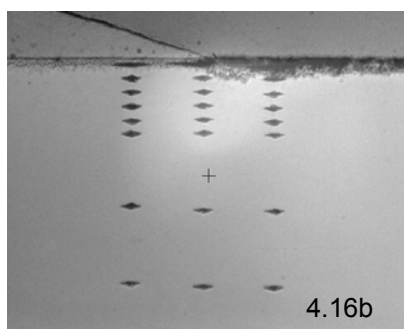
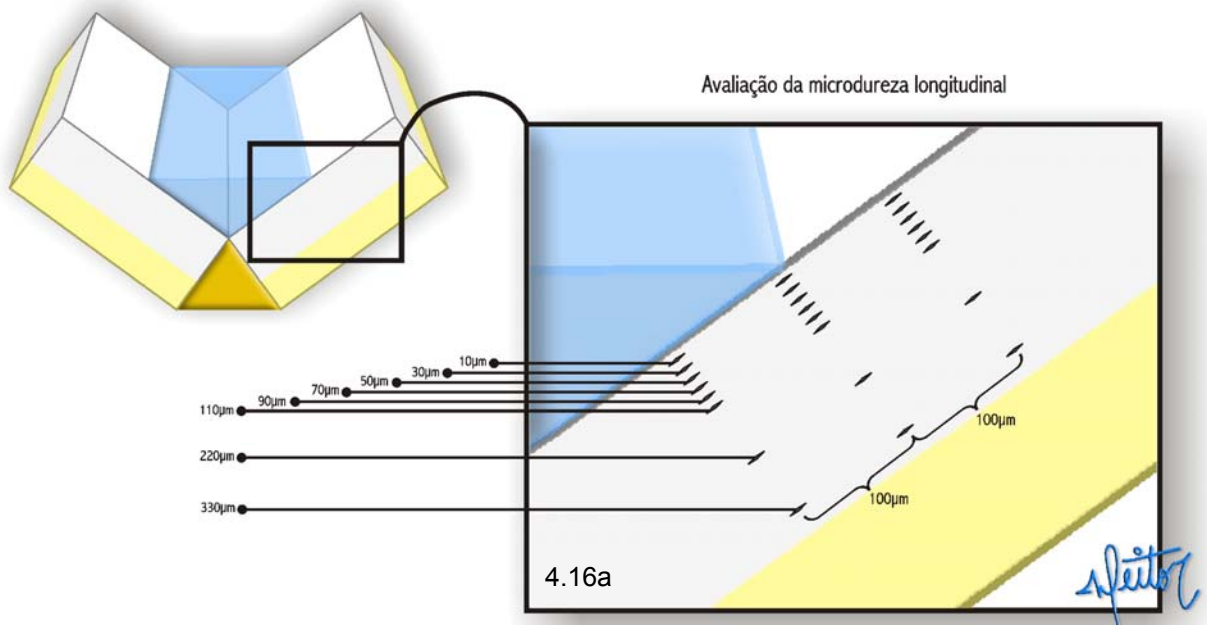


FIGURA 4.16 – a. esquema da leitura de microdureza longitudinal em esmalte selado (sob o material), esmalte na borda do material e esmalte não selado (adjacente ao material); b. imagem das indentações realizadas para leitura de microdureza longitudinal nos espécimes com selamento; c. imagem das indentações realizadas para leitura de microdureza longitudinal nos espécimes sem selamento. Obs: as indentações foram realizadas no dois blocos de esmalte de cada espécime.



**Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru**

5

FOB USP

Resultados

5. Resultados

5.1 Quantidade de biofilme dentário coletado e sua concentração de flúor

A tabela 5.1 apresenta o peso úmido do biofilme dentário de cada voluntário nos diferentes grupos, exceto para o voluntário 2 que não pôde comparecer no laboratório para coleta e processamento do biofilme.

Observou-se uma grande variação no peso de biofilme coletado nos diferentes grupos e voluntários. No entanto, a média de biofilme dentário nos três grupos foi semelhante.

TABELA 5.1 – Peso úmido total (mg) do biofilme dentário de acordo com o grupo e voluntário

Voluntário	GRUPO		
	1 (CIVav-D)	3 (SR-D)	5 (C-D)
1	35,6	48,1	33,4
2	-	-	-
3	9,1	31,2	12,4
4	36,0	11,4	33,3
5	32,8	20,3	20,4
6	42,1	7,4	36,2
7	22,6	18,4	23,0
8	6,9	5,1	33,3
9	33,5	33,5	41,8
10	32,2	20,2	10,5
11	22,2	30,5	5,1
12	12,2	17,6	45,4
média ± dp	25,9 ± 12,1	22,2 ± 12,7	26,8 ± 13,4

Em relação à concentração de flúor no biofilme dentário (Tabela 5.2), o teste Friedman ANOVA revelou diferenças estatisticamente significantes entre os grupos ($p= 0,0008$), sendo que o grupo 1 (CIVav-D) apresentou uma concentração de flúor no biofilme maior que os grupos 3 (SR-D) e 5 (C-D). Estes resultados são apresentados na tabela 5.2.

TABELA 5.2 – Concentrações de flúor ($\mu\text{g} / \text{g}$) no biofilme dentário dos diferentes grupos

[F] ($\mu\text{g} / \text{g}$)	GRUPO		
	1 (CIVav-D)	3 (SR-D)	5 (C-D)
média	75,1 ^a	15,6 ^b	18,4 ^b
dp	124,1	22,5	20,8

Letras diferentes demonstram diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Teste de Friedman ANOVA ($\alpha= 5\%$).

5.2 Concentração de flúor no esmalte

Os resultados da ANOVA a dois critérios (material e desafio cariogênico) apresentaram diferença estatisticamente significativa considerando o fator material ($p<0,000001$) e a interação material x desafio cariogênico ($p= 0,0044$).

Como houve efeito desta interação, foi necessário desdobrá-la. Pela análise de seu desdobramento, o teste de Tukey constatou que a maior concentração de flúor foi verificada no grupo 2 (CIVav), seguido pelo grupo 1 (CIVav-D), com diferenças estatisticamente significantes entre eles. Os demais grupos apresentaram menores concentrações e não diferiram entre si.

A tabela 5.3 apresenta os resultados das concentrações de flúor encontradas no esmalte após a realização da biópsia básica.

TABELA 5.3 – Concentrações de flúor ($\mu\text{g} / \text{cm}^2$) no esmalte dos diferentes grupos

[F] ($\mu\text{g} / \text{cm}^2$)	GRUPO					
	1 (CIVav-D)	2 (CIVav)	3 (SR-D)	4 (SR)	5 (C-D)	6 (C)
média	5,5 ^a	8,7 ^b	0,5 ^c	0,2 ^c	0,4 ^c	0,1 ^c
dp	4,1	4,1	0,4	0,1	0,3	0,1

Letras diferentes demonstram diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Teste de Tukey ($\alpha= 5\%$).

5.3 Porcentagem de volume mineral (conteúdo mineral) do esmalte

A análise dos resultados referentes à porcentagem de volume mineral foi realizada considerando a localização das indentações para a leitura da microdureza em secção longitudinal, ou seja, no **esmalte selado**, **esmalte na borda do material** e **esmalte não selado**, nas oito profundidades estudadas.

Como os grupos 5 (C-D) e 6 (C) não receberam selamento, seus dados foram repetidos três vezes, para efeito de comparação com os valores dos demais grupos, nas três localizações estudadas (Tabelas 5.4 a 5.6). No entanto, as comparações intragrupos envolvendo os grupos 5 (C-D) e 6 (C) serão apresentadas apenas uma vez, na descrição dos resultados do esmalte selado.

A tabela 5.4 e figura 5.1 apresentam os resultados de porcentagem de volume mineral dos diferentes grupos em função da profundidade, considerando o **esmalte selado**.

Nesta localização, na profundidade de 10 μm , a ANOVA constatou diferença estatisticamente significativa para o fator material ($p= 0,0006$) e interação material x desafio cariogênico ($p= 0,0041$). Como houve interação, foi necessário o desdobramento pelo Teste de Tukey. O teste revelou que, com desafio cariogênico, houve maior conteúdo mineral no grupo 1 (CIVav-D), que diferiu estatisticamente dos grupos 3 (SR-D) e 5 (C-D), os quais foram semelhantes entre si. Sem desafio

cariogênico, não houve diferença entre os grupos (CIVav, SR e C). Comparando os resultados do mesmo material na presença ou ausência de desafio cariogênico, verificou-se que tanto o CIVav quanto o selante resinoso não apresentaram diferenças no conteúdo mineral do esmalte nas duas condições. Porém, quando não foi realizado o selamento, houve um conteúdo mineral estatisticamente menor no grupo 5 (C-D) em relação ao 6 (C).

Nas demais profundidades não houve diferença entre os grupos.

A ANOVA também detectou um efeito altamente significativo do fator profundidade em todos os grupos. O desdobramento pelo Teste de Tukey constatou um volume mineral menor e significativo a 10 μm em todos os grupos. A partir de 30 μm o conteúdo mineral foi semelhante ao das demais profundidades nos grupos 1 (CIVav-D), 4 (SR) e 6 (C). Nos grupos 2 (CIVav), 3 (SR-D) e 5 (C-D) o conteúdo mineral foi semelhante ao das demais profundidades somente a partir de 50 μm .

TABELA 5.4 – Porcentagem de volume mineral do **esmalte selado** (média \pm dp) nos diferentes grupos, de acordo com a profundidade (μm) em relação à superfície do esmalte

Esmalte	Profundidade	GRUPOS					
		1 (CIVav-D)	2 (CIVav)	3 (SR-D)	4 (SR)	5 (C-D)	6 (C)
S E L A D O	10	^A 69,8 ^a \pm 9,9	^{AC} 65,6 ^a \pm 9,5	^B 53,5 ^a \pm 7,9	^{BCD} 58,3 ^a \pm 11,3	^B 54,2 ^a \pm 12,4	^{AD} 68,1 ^a \pm 10,2
	30	^A 88,9 ^b \pm 5,4	^A 89,0 ^b \pm 8,5	^A 89,3 ^b \pm 5,1	^A 89,1 ^b \pm 4,0	^A 81,4 ^b \pm 12,7	^A 89,3 ^b \pm 4,3
	50	^A 91,9 ^b \pm 3,7	^A 93,0 ^{bc} \pm 5,3	^A 93,8 ^c \pm 3,3	^A 92,6 ^b \pm 3,1	^A 91,7 ^c \pm 5,0	^A 93,5 ^b \pm 3,3
	70	^A 92,3 ^b \pm 3,2	^A 94,6 ^c \pm 3,9	^A 93,6 ^c \pm 3,5	^A 93,4 ^b \pm 3,8	^A 94,1 ^c \pm 2,3	^A 93,7 ^b \pm 3,0
	90	^A 92,3 ^b \pm 4,0	^A 94,7 ^c \pm 4,5	^A 94,2 ^c \pm 2,7	^A 93,9 ^b \pm 3,3	^A 94,9 ^c \pm 1,8	^A 93,6 ^b \pm 3,4
	110	^A 93,5 ^b \pm 2,8	^A 95,0 ^c \pm 2,8	^A 94,3 ^c \pm 3,1	^A 93,5 ^b \pm 3,3	^A 95,0 ^c \pm 2,5	^A 94,2 ^b \pm 2,9
	220	^A 93,9 ^b \pm 1,8	^A 93,3 ^{bc} \pm 2,6	^A 92,6 ^{bc} \pm 2,2	^A 93,0 ^b \pm 3,1	^A 93,3 ^c \pm 3,0	^A 93,1 ^b \pm 3,2
	330	^A 92,7 ^b \pm 1,8	^A 92,4 ^{bc} \pm 2,3	^A 93,6 ^c \pm 1,8	^A 91,1 ^b \pm 3,4	^A 93,0 ^c \pm 2,6	^A 92,5 ^b \pm 2,4

Letras maiúsculas diferentes demonstram diferença estatisticamente significativa na horizontal e letras minúsculas diferentes demonstram diferença estatisticamente significativa na vertical. Teste de Tukey ($\alpha = 5\%$).

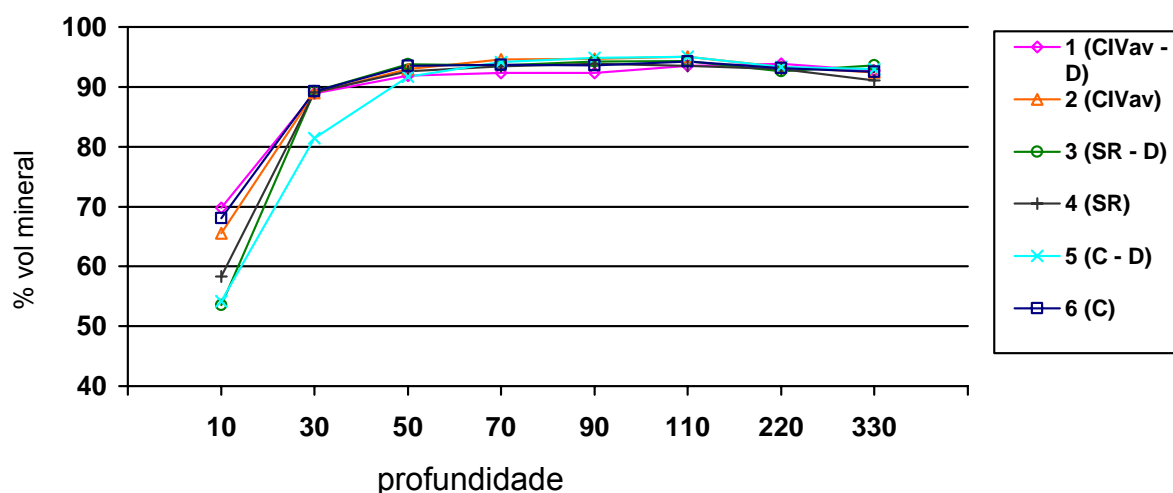


FIGURA 5.1 – Médias da porcentagem de volume mineral nas diferentes profundidades (μm) da superfície do esmalte para cada grupo, considerando o **esmalte selado**

Na tabela 5.5 e figura 5.2 podem ser observados os resultados da porcentagem de volume mineral dos diferentes grupos em função da profundidade, considerando o **esmalte na borda do material**.

Nesta localização, na profundidade de 10 μm , a ANOVA revelou diferença estatisticamente significativa para o fatores material ($p= 0,0115$) e desafio cariogênico ($p= 0,0466$), bem como a interação entre eles ($p= 0,0071$). Como houve interação, foi necessário o desdobramento pelo Teste de Tukey. O teste revelou que, com desafio cariogênico, houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos 1 (CIVav-D) e 3 (SR-D), com maior conteúdo mineral no grupo 1 (CIVav-D). O grupo 5 (C-D) não diferiu destes grupos. Sem desafio cariogênico, houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos 4 (SR) e 6 (C), com maior conteúdo mineral no grupo 6 (C). O grupo 2 (CIVav) não diferiu destes grupos. Comparando os resultados do mesmo material na presença ou ausência de desafio cariogênico, verificou-se que ambos não apresentaram diferenças no conteúdo mineral do esmalte nas duas condições. Porém, quando não foi realizado o selamento, houve um conteúdo mineral estatisticamente menor no grupo 5 (C-D) em relação ao 6 (C).

Nas demais profundidades não houve diferença entre os grupos.

A ANOVA também detectou um efeito altamente significativo do fator profundidade em todos os grupos. O desdobramento pelo Teste de Tukey constatou um volume mineral menor e significativo a 10 μm em todos os grupos. A partir de 50 μm o conteúdo mineral foi semelhante ao das demais profundidades nos grupos 1 (CIVav-D), 2 (CIVav), 3 (SR-D) e 4 (SR).

TABELA 5.5 – Porcentagem de volume mineral do **esmalte na borda do material** (média \pm dp) nos diferentes grupos, de acordo com a profundidade (μm) em relação à superfície do esmalte

		GRUPOS					
Esmalte	Profundidade	1 (CIVav-D)	2 (CIVav)	3 (SR-D)	4 (SR)	5 (C-D)	6 (C)
B	10	^{AC} 63,9 ^a	^{ABC} 60,1 ^a	^B 49,8 ^a	^{AB} 55,1 ^a	^{AB} 54,2 ^a	^C 68,1 ^a
O		\pm 9,4	\pm 13,6	\pm 8,7	\pm 9,9	\pm 12,4	\pm 10,2
R	30	^A 86,5 ^b	^A 86,8 ^b	^A 89,4 ^b	^A 87,0 ^b	^A 81,4 ^b	^A 89,3 ^b
D		\pm 6,1	\pm 10,2	\pm 4,3	\pm 5,5	\pm 12,7	\pm 4,3
A	50	^A 92,9 ^c	^A 93,4 ^{bc}	^A 94,7 ^c	^A 93,7 ^c	^A 91,7 ^c	^A 93,5 ^b
		\pm 4,1	\pm 5,2	\pm 2,7	\pm 3,5	\pm 5,0	\pm 3,3
D	70	^A 93,8 ^c	^A 95,1 ^c	^A 95,1 ^c	^A 93,1 ^c	^A 94,1 ^c	^A 93,7 ^b
O		\pm 3,6	\pm 3,4	\pm 3,2	\pm 3,7	\pm 2,3	\pm 3,0
	90	^A 92,7 ^c	^A 94,7 ^c	^A 95,3 ^c	^A 93,6 ^c	^A 94,9 ^c	^A 93,6 ^b
		\pm 4,0	\pm 3,5	\pm 3,5	\pm 3,4	\pm 1,8	\pm 3,4
M	110	^A 94,2 ^c	^A 94,9 ^c	^A 95,5 ^c	^A 92,8 ^{bc}	^A 95,0 ^c	^A 94,2 ^b
A		\pm 2,0	\pm 2,2	\pm 2,8	\pm 3,6	\pm 2,5	\pm 2,9
T	220	^A 93,4 ^c	^A 94,1 ^{bc}	^A 92,9 ^{bc}	^A 92,3 ^{bc}	^A 93,3 ^c	^A 93,1 ^b
E		\pm 1,7	\pm 2,6	\pm 3,9	\pm 2,9	\pm 3,0	\pm 3,2
R	330	^A 93,2 ^c	^A 92,1 ^{bc}	^A 93,2 ^{bc}	^A 91,6 ^{bc}	^A 93,0 ^c	^A 92,5 ^b
I		\pm 2,1	\pm 2,0	\pm 3,4	\pm 3,2	\pm 2,6	\pm 2,4
A							
L							

Letras maiúsculas diferentes demonstram diferença estatisticamente significante na horizontal e letras minúsculas diferentes demonstram diferença estatisticamente significante na vertical. Teste de Tukey ($\alpha = 5\%$).

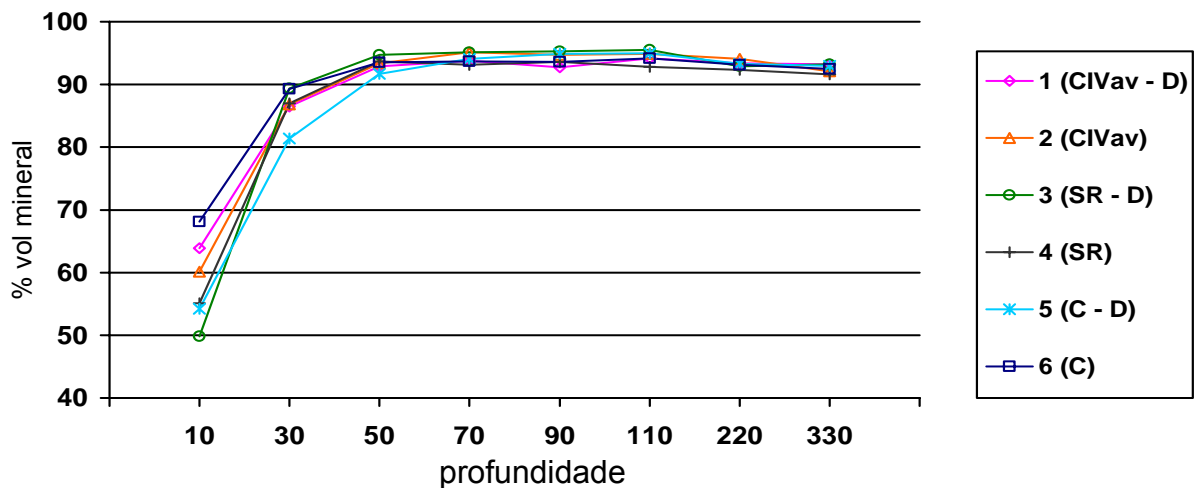


FIGURA 5.2 – Médias da porcentagem de volume mineral nas diferentes profundidades (μm) da superfície do esmalte para cada grupo, considerando o **esmalte na borda do material**

Na tabela 5.6 e figura 5.3 podem ser observados os resultados da porcentagem de volume mineral dos diferentes grupos em função da profundidade, considerando o **esmalte não selado**.

Nesta localização, na profundidade de 10 μm , a ANOVA revelou diferença estatisticamente significativa para o fator material ($p= 0,0013$) e interação material x desafio cariogênico ($p= 0,0012$). Como houve interação, foi necessário o desdobramento pelo Teste de Tukey. O teste revelou que, com desafio cariogênico, houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos 1 (CIVav-D) e 3 (SR-D), com maior conteúdo mineral no grupo 1 (CIVav-D). O grupo 5 (C-D) não diferiu destes grupos. Sem desafio cariogênico, houve maior conteúdo mineral no grupo 6 (C), sendo a diferença estatisticamente significativa em relação aos demais grupos (CIVav e SR), que não diferiram entre si. Comparando os resultados do mesmo material na presença ou ausência de desafio cariogênico, verificou-se que somente o CIVav não apresentou diferenças no conteúdo mineral do esmalte nas duas condições. Já o selante resinoso e o grupo controle apresentaram diferenças estatisticamente significantes, sendo que houve maior conteúdo mineral na ausência de desafio cariogênico.

Ainda no esmalte não selado, na profundidade de 30 μm , a ANOVA detectou efeito significativo apenas para o fator desafio cariogênico ($p= 0,0139$), ou seja, na presença de desafio cariogênico o conteúdo mineral foi menor, independente do material (CIVav, SR) e mesmo no controle. Não houve efeito significativo do material, bem como interação material x desafio cariogênico. Nas demais profundidades não houve diferença entre os grupos.

A ANOVA também constatou efeito altamente significativo do fator profundidade para todos os grupos. O desdobramento pelo Teste de Tukey

apresentou um conteúdo mineral menor e significativo na profundidade de 10 μm em todos os grupos. A partir de 50 μm o conteúdo mineral foi semelhante ao das demais profundidades nos grupos 1 (CIVav-D), 2 (CIVav), 3 (SR-D) e 4 (SR).

TABELA 5.6 – Porcentagem de volume mineral do **esmalte não selado** (média \pm dp) nos diferentes grupos, de acordo com a profundidade (μm) em relação à superfície do esmalte

Esmalte	Profundidade	GRUPOS					
		1 (CIVav-D)	2 (CIVav)	3 (SR-D)	4 (SR)	5 (C-D)	6 (C)
N Ã O S E L A D O	10	^{AC} 61,6 ^a \pm 11,1	^A 55,8 ^a \pm 14,4	^B 44,3 ^a \pm 5,7	^A 56,4 ^a \pm 8,1	^{AB} 54,2 ^a \pm 12,4	^C 68,1 ^a \pm 10,2
	30	^A 81,1 ^b \pm 12,6	^B 84,4 ^b \pm 7,8	^A 85,0 ^b \pm 7,4	^B 85,2 ^b \pm 7,0	^A 81,4 ^b \pm 12,7	^B 89,3 ^b \pm 4,3
	50	^A 89,6 ^c \pm 6,6	^A 92,0 ^{bc} \pm 4,2	^A 91,9 ^c \pm 5,5	^A 92,5 ^c \pm 4,4	^A 91,7 ^c \pm 5,0	^A 93,5 ^b \pm 3,3
	70	^A 92,2 ^c \pm 3,7	^A 93,5 ^c \pm 4,0	^A 93,6 ^c \pm 5,1	^A 92,9 ^c \pm 3,6	^A 94,1 ^c \pm 2,3	^A 93,7 ^b \pm 3,0
	90	^A 93,6 ^c \pm 3,4	^A 94,6 ^c \pm 3,4	^A 94,7 ^c \pm 5,4	^A 93,2 ^c \pm 3,3	^A 94,9 ^c \pm 1,8	^A 93,6 ^b \pm 3,4
	110	^A 93,8 ^c \pm 3,2	^A 95,9 ^c \pm 3,1	^A 94,7 ^c \pm 4,2	^A 94,2 ^c \pm 2,9	^A 95,0 ^c \pm 2,5	^A 94,2 ^b \pm 2,9
	220	^A 92,8 ^c \pm 2,3	^A 93,2 ^c \pm 3,3	^A 93,0 ^c \pm 3,2	^A 92,8 ^c \pm 2,6	^A 93,3 ^c \pm 3,0	^A 93,1 ^b \pm 3,2
	330	^A 91,7 ^c \pm 1,8	^A 92,5 ^c \pm 2,6	^A 92,4 ^c \pm 3,9	^A 91,9 ^c \pm 3,2	^A 93,0 ^c \pm 2,6	^A 92,5 ^b \pm 2,4

Letras maiúsculas diferentes demonstram diferença estatisticamente significativa na horizontal e letras minúsculas diferentes demonstram diferença estatisticamente significativa na vertical. Teste de Tukey ($\alpha=5\%$).

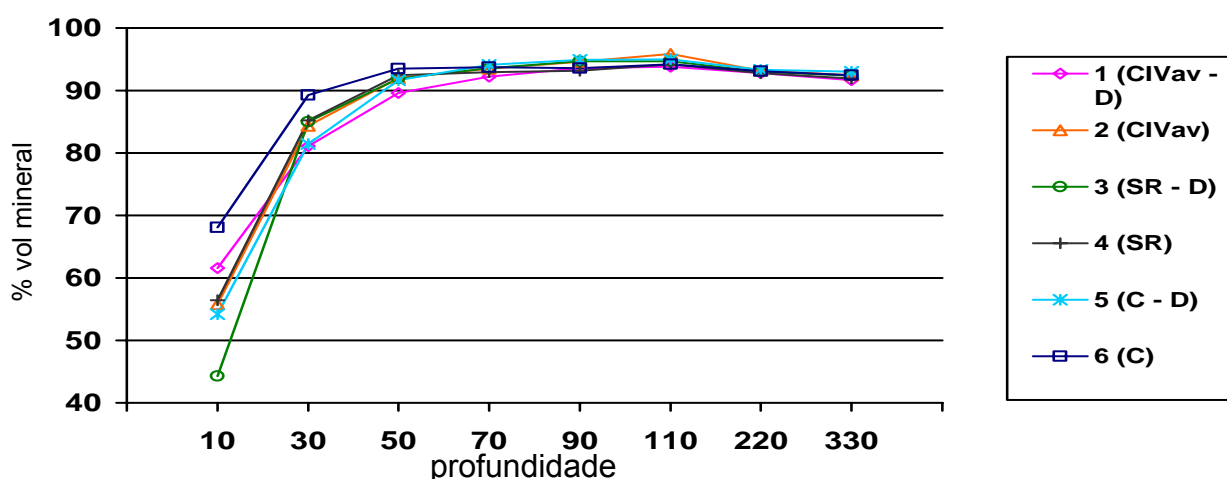


FIGURA 5.3 – Médias da porcentagem de volume mineral nas diferentes profundidades (μm) da superfície do esmalte para cada grupo, considerando o **esmalte não selado**



Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru



FOB USP

Discussão

6. Discussão

6.1 Discussão da metodologia

Neste estudo *in situ*, blocos de esmalte bovino desmineralizados foram fixados para compor uma fissura artificial em forma de “V”, sobre a qual foi aplicado um CIVav, um selante resinoso ou nenhum material. Este conjunto foi montado em um DIP que foi utilizado por 14 dias, sendo induzidas duas condições: com e sem desafio cariogênico. Este modelo foi idealizado com a intenção de simular situações muito comuns em crianças: a detecção de manchas brancas em fossas e fissuras da superfície oclusal de molares decíduos ou permanentes jovens, que podem ou não ser seladas com diferentes materiais e estar em uma cavidade bucal sob a ação, ou não, de um desafio cariogênico.

Os modelos *in situ* envolvem o uso de dispositivos, os quais criam condições definidas na cavidade bucal humana, por simularem o processo de cárie dentária, servindo de ponte entre a situação clínica natural descontrolada e a situação laboratorial altamente controlada¹⁰⁰. Dada à natureza multifatorial da cárie dentária, estes modelos devem incluir o substrato dentário, a formação de biofilme dentário com potencial cariogênico, a aplicação de carboidratos e o tempo¹⁰⁰.

Os materiais dentários podem ser testados com este modelo para avaliação de sua eficácia em relação ao seu teor de flúor, à sua ação antibacteriana e, ainda, em relação a qualquer outra propriedade que seja relevante na cavidade bucal²⁵. A maioria dos estudos com materiais dentários utilizam modelos *in vitro* de desmineralização ou de liberação de componentes^{5,18,28,37,38,51,57,69,73,74,77}, que,

isoladamente, são inadequados para responder questões sobre as propriedades anticariogênicas dos materiais testados^{25,45}.

FEATHERSTONE; ZERO²⁷ (1992) e ZERO¹⁰⁰ (1995) citam as principais vantagens e desvantagens dos estudos *in situ*. Relatam como vantagens: a) são realizados na cavidade bucal humana, diferentemente dos estudos *in vitro* ou daqueles realizados em animais; b) facilitam o controle de variáveis experimentais e a flexibilidade do desenho experimental, difíceis de serem obtidos nos trabalhos clínicos; c) facilitam a integração de várias técnicas de avaliação das ciências básicas, aumentando a sensibilidade e a validade científica da metodologia; d) seu curto tempo operacional supera muitos problemas éticos associados aos estudos envolvendo seres humanos e, e) há geralmente um custo menor comparado aos estudos clínicos longitudinais. Há, porém, desvantagens: a) limitação do número de participantes devido à própria natureza do estudo *in situ*; b) alta dependência da colaboração dos participantes e, c) a condução de um estudo *in situ* de alta qualidade é muito exigente, requerendo grande perícia clínica e analítica. Ainda como desvantagem, deve-se salientar que a localização dos espécimes e sua relação anatômica com um dente normal geralmente não são reproduzidas^{45,46}.

Por possuir muitas variáveis, os estudos deste tipo apresentam resultados que podem ser difíceis de interpretar, necessitando, a princípio, de um número relativamente grande de voluntários para solução destes problemas. Porém, este número gera uma dificuldade na logística e um aumento do custo²⁷. No presente estudo participaram 12 voluntários^{1,16}, seguindo as recomendações de FEATHERSTONE; ZERO²⁷ (1992), os quais afirmaram que um número de 10 a 20 voluntários pode fornecer respostas a questões sobre agentes preventivos da cárie ou efetividade de sistemas de liberação de flúor. No entanto, este número varia

muito na literatura, desde três⁴⁸ até 16^{62,65}, mas nota-se uma tendência a utilizar um número cada vez maior. Além do número de voluntários, a realização de um estudo cruzado e cego aumenta a confiabilidade dos resultados²⁷. Como este estudo foi realizado em fase única, todos os voluntários participaram das mesmas condições ao mesmo tempo. Para melhor compreensão e confiabilidade, participaram estudantes de graduação e pós-graduação que já conheciam ou estavam habituados a participar de estudos *in situ*⁴⁵. Foram instruídos verbalmente e por escrito, além de preencherem uma ficha com horários e durações das refeições²⁷.

Quanto ao substrato, os estudos relacionados à cárie dentária são influenciados por vários fatores, como dentes humanos ou bovinos, tecidos hígidos ou desmineralizados, lesão em esmalte ou dentina, severidade do desafio cariogênico e microbiota. Estes fatores podem influenciar a reatividade do substrato, bem como o desenvolvimento e progressão da lesão⁶⁰. O desenho experimental deste estudo seguiu outros^{2,48,50,53,67} que empregaram blocos de esmalte desmineralizados oriundos de dentes bovinos. Os espécimes foram desmineralizados em solução com pH 5,0 por 16 horas⁶⁸, que permitiu a obtenção de lesões de cárie sem erosão superficial. O dente humano deve ser considerado o mais apropriado do ponto de vista de relevância clínica, porém possui uma composição altamente variável devido à influência genética, condições ambientais (dieta, exposição ao flúor, desafios cariogênicos prévios) e idade¹⁰⁰. Isso resultaria em uma grande variação na resposta, além de possuir um tamanho pequeno e ser curvado, dificultando a confecção dos espécimes. Já os dentes bovinos estão disponíveis mais facilmente, têm composição mais homogênea e respondem de maneira mais uniforme ao desafio cariogênico, apesar de serem mais porosos e desmineralizarem mais rápido. No entanto, estas diferenças são apenas

quantitativas e não qualitativas, permitindo uma boa reprodutibilidade nas pesquisas¹⁰⁰. Também possuem uma concentração de flúor menor que o esmalte humano⁷⁸ e são maiores, permitindo a obtenção de espécimes maiores⁹¹. O esmalte bovino apresenta uma progressão de cárie três vezes mais rápida que o humano²⁶, devido aos prismas de esmalte, aos espaços interprismáticos e intercristalinos, que são maiores⁹¹. Por outro lado, outros trabalhos² mostraram que a profundidade da lesão de cárie provocada artificialmente em solução de pH 4,0 foi semelhante entre dentes humanos e bovinos.

O esmalte hígido é indicado para avaliar a eficácia de agentes ou condições na diminuição ou inibição da desmineralização^{14,27,48,100}. Já a utilização de blocos de esmalte com lesões de cárie pré-formadas permite avaliar tanto a remineralização como a desmineralização. Se a desmineralização for predominante, há uma progressão da lesão. Se houver predomínio de remineralização, haverá um ganho de mineral na lesão^{27,48}.

Idealmente deveriam ser usados espécimes com lesões provocadas experimentalmente *in vivo*, por serem mais próximas da realidade que as lesões artificiais⁷⁸. No entanto, este procedimento dificulta a realização do experimento. Por este motivo, existem diversos métodos para produzir lesões de cárie artificial, podendo ser citadas as soluções com tampão ácido^{26,48,51,69}, que tendem a provocar erosão superficial ou lesões bem superficiais, e os géis acidulados^{21,29,38,39,40,50,80,98}, que podem induzir lesões sub-superficiais. Estas lesões artificiais produzidas em gel apresentam uma perda mineral e uma profundidade aproximadamente 2,5 vezes menor que manchas brancas naturais, mas são mais homogêneas. No entanto, a remineralização parece ser semelhante quando comparada ao padrão inicial⁴³. Por isso, é fundamental que no delineamento experimental os grupos de estudo sejam

bem balanceados quanto à severidade das lesões iniciais⁷¹. Neste estudo, a variação da microdureza superficial obtida pela aleatorização dos blocos desmineralizados foi de 146 a 147 KHN entre os seis grupos.

Muitos trabalhos utilizam cavidades para inserção do material^{5,18,20,22,28,31,36,37,67,73,74,79,86}, mas este modelo dificulta a avaliação do contato direto entre o esmalte desmineralizado e o material. Se a desmineralização do esmalte for realizada antes do preparo cavitário, as paredes da cavidade não se apresentarão desmineralizadas. Já com a confecção do preparo antes da desmineralização, observou-se, em estudo piloto, um padrão de lesão bastante irregular, com áreas muito desmineralizadas e outras com dureza quase normal em um mesmo bloco, provavelmente porque houve exposição de uma superfície de esmalte e de dentina não polida, além do aumento da área total de tecido dentário exposto. Buscou-se, então, um modelo que permitisse o contato direto do material com uma superfície desmineralizada e que também simulasse as fossas e fissuras da superfície oclusal. Isso foi conseguido pela fixação de dois blocos com resina composta, formando uma fissura em “V”, de maneira semelhante a outro estudo⁷⁰ que tentou simular um contato interproximal, unindo os blocos com um dispositivo de resina acrílica. Além das cavidades, estudos *in vitro* também utilizaram superfícies proximais²⁹ e fossas e fissuras naturais^{38,51}, enquanto alguns estudos *in vivo* estudaram a desmineralização ao redor de braquetes ortodônticos^{32,64}.

Há uma grande variabilidade nos tipos de dispositivos para a realização de estudos *in situ*, bem como na localização dos espécimes neste dispositivo. Estes fatores influenciam o acúmulo de biofilme e seu potencial cariogênico, além da ação da saliva, da dieta e do tratamento anticariogênico, resultando em uma resposta diferente do processo de des e remineralização¹⁰⁰. Neste estudo foram

confeccionados DIP, como usado em outros trabalhos^{1,4,12,13,14,16,42,62,65,85,86}, com o cuidado de que todos os grupos estivessem igualmente distribuídos nas diferentes cavidades do DIP, para que a variável posição no DIP não interferisse nos resultados. Outros dispositivos relatados são a prótese inferior parcial^{48,50}, aparelho removível inferior^{21,46} e a fixação, na face vestibular do primeiro molar permanente, de uma fatia de esmalte contendo um anel de *nylon* para acúmulo de biofilme^{75,98}.

Uma outra variável dos estudos *in situ* é o tempo de utilização dos dispositivos. Os voluntários deste trabalho usaram por 14 dias, como preconizado por outros autores^{4,14,16,46,50,59}, mas os tempos variam de 45 minutos⁸⁶ até 45 dias⁴², dependendo do delineamento experimental. Os tempos menores (minutos ou horas) são de pesquisas que empregaram a cobertura do esmalte com biofilme dentário “teste”, obtido de uma colônia de *Streptococcus mutans* produzida em laboratório⁸⁶.

O acúmulo de biofilme dentário foi conseguido pela fixação dos espécimes 1 mm abaixo do nível da resina acrílica e pela cobertura por uma tela plástica, de acordo com o realizado em outros trabalhos^{1,4,12,14,16,62,65,85}. A simples fixação dos espécimes 1 mm abaixo do nível da resina acrílica é suficiente para causar desmineralização²⁷, correspondendo às áreas com acúmulo limitado de biofilme devido à força abrasiva dos tecidos bucais e das práticas de higiene¹⁰⁰. Cobrindo os espécimes com gaze^{21,42} ou com tela consegue-se um desafio cariogênico mais uniforme e severo^{27,100}, compatível com áreas de grande acúmulo de biofilme, como as regiões interproximais ou de fossas e fissuras¹⁰⁰. Optou-se pela tela plástica por ser aparentemente mais higiênica, além da gaze poder atuar como uma superfície adsorvente e permitir a colonização preferencial de algumas bactérias²⁷. Existem outros dispositivos que possibilitam o acúmulo de biofilme dentário, como bandas ortodônticas⁵⁹ e o anel de *nylon* fixado em uma fatia de esmalte^{75,98}.

Além do acúmulo de biofilme, um desafio cariogênico severo foi simulado pela aplicação, com conta-gotas, de solução de sacarose a 20%, oito vezes por dia, como realizado em outros trabalhos^{12,16,62,65}. Embora este esquema não simule o uso regular diário de sacarose, permite que haja um desafio padronizado²⁷. PAES LEME et al.⁶² (2004), detectaram que um desafio cariogênico provocado por aplicação de solução de sacarose a 20%, oito vezes por dia, mostrou-se mais efetivo para a formação de lesões desmineralizadas que aplicações feitas quatro vezes por dia. Além disso, diminuem as concentrações de flúor e cálcio e aumentam a concentração de polissacarídeos insolúveis no biofilme dentário. AIRES et al.¹ (2006) verificaram que quanto maior a concentração de sacarose, menores serão o pH e as concentrações de flúor, cálcio e fósforo inorgânico no biofilme, com maior perda de microdureza superficial e área de perda mineral do esmalte. A concentração mínima de sacarose para a formação de um biofilme dentário cariogênico foi de 5%, a qual provocou um efeito cariogênico semelhante às concentrações de 10 e 20%, quando aplicada oito vezes por dia.

Em muitos estudos *in situ* que testaram materiais ou outros agentes preventivos, os voluntários utilizaram dentifrício sem flúor^{1,4,16,59,85,86,98}. Para simular uma situação mais próxima da realidade, os voluntários deste estudo escovaram seus dentes com dentifrício fluoretado três vezes ao dia, sem o DIP^{62,65}. O dentifrício adotado foi o mesmo utilizado por PECHARKI et al.⁶² (2005), com 1100 ppm de flúor (NaF) e abrasivo à base de sílica, existente no mercado nacional. Para que os espécimes também recebessem flúor, foi aplicada uma solução feita com o mesmo dentifrício (1 g : 3 mL) também três vezes ao dia, por dois minutos, numa metodologia semelhante a de outros trabalhos^{14,62}.

Há várias técnicas para medir as alterações no conteúdo mineral do esmalte dentário. Entre elas, pode-se citar o método visual⁶⁹, microscopia de luz polarizada^{29,38,40,63}, micro-radiografia^{21,46,50,59,71,98}, microdureza superficial^{1,5,6,28,62,65}, microdureza em secção longitudinal^{1,5,6,32,42,62,64,65,67,80}, permeabilidade ao iodo⁹⁹, microscopia confocal a laser^{57,78} e fluorescência quantitativa induzida por luz⁴¹.

A microdureza em secção longitudinal apresenta resultados muito semelhantes aos obtidos pela micro-radiografia, com uma alta correlação entre os valores de microdureza e a porcentagem de volume mineral ($r = 0,91$), tanto em esmalte hígido como desmineralizado²⁴. No entanto, não permite uma medida direta do conteúdo mineral como na micro-radiografia, considerada o método mais prático e preciso de avaliação^{3,78}, sendo necessária a conversão dos valores de microdureza para porcentagem de volume mineral²⁴. A literatura apresenta uma grande variação nas cargas estáticas e nos tempos utilizados para microdureza longitudinal, sendo neste estudo aplicada carga de 25 g por 5 s, seguindo a metodologia de outros trabalhos^{14,62,67}.

Para o estudo do flúor presente no esmalte, foi realizada a biópsia básica com KOH, que dissolve apenas o flúor fracamente unido, como o fluoreto de cálcio e o flúor adsorvido ao esmalte^{11,59}. O maior mecanismo da ação cariostática do flúor tópico está relacionado com a formação deste flúor fracamente unido ao esmalte^{23,58,59,83,84}, ao invés da fluorapatita^{52,59,83}, talvez pelo fato do fluoreto de cálcio ser uma reserva maior de flúor e formar uma camada resistente ao ataque ácido^{58,59,66}. Neste estudo não foi realizada a biópsia ácida porque ela verifica a presença de flúor incorporado ao esmalte, em uma forma semelhante à fluoroapatita, baseando sua concentração em valores da porcentagem de fósforo^{4,28,40,42,53} ou cálcio⁴⁸ do esmalte hígido. Como foram utilizados blocos de esmalte

desmineralizado, estes valores encontram-se alterados, dificultando a avaliação da concentração de flúor. No entanto, sabe-se que o esmalte desmineralizado possui maior afinidade ao flúor que o esmalte hígido⁴⁰.

6.2 Discussão dos resultados

6.2.1 Concentração de flúor no biofilme dentário

A quantidade de biofilme dentário coletado dos diferentes voluntários demonstrou variação individual (Tabela 5.1), confirmando dados já relatados na literatura⁵⁴. Apesar desta variação, os valores médios encontrados em cada um dos grupos foram equilibrados.

A concentração de flúor no biofilme dentário formado após o selamento com CIVav foi maior e significativa se comparado aos demais grupos, que foram semelhantes entre si, confirmando resultados obtidos por outros autores que testaram CIV^{4,86,90,98}. BENELLI et al.⁴ (1993) utilizaram a mesma técnica de dosagem do flúor, porém não empregaram o dentifrício fluoretado. Esse talvez tenha sido o motivo de encontrarem valores menores da concentração de flúor no biofilme formado sob a influência de um CIV (mediana= 21,18 ppm / 1,50 – 90,22) ou de uma resina composta (mediana= 3,37 ppm / 0,264 – 13,42). PAES LEME et al.⁶² (2004), utilizaram dentifrício fluoretado, sem a presença do material, e encontraram um valor de concentração de flúor de $37,3 \pm 48,3 \mu\text{g} / \text{g}$ no biofilme. No entanto, esses valores, bem como os encontrados neste estudo, foram menores àquele alcançado por CURY et al.¹⁴ (2001), que utilizaram dentifrício fluoretado e obtiveram uma concentração de flúor de $264,2 \mu\text{g} / \text{g}$ no biofilme formado sobre blocos de esmalte

sob desafio cariogênico. Isto talvez tenha ocorrido pela maior concentração de flúor no dentifrício empregado (1500 ppm), cuja solução ainda foi gotejada depois da última aplicação de solução de sacarose, mantendo níveis mais altos de flúor no biofilme. No presente estudo, inversamente, a solução de sacarose foi gotejada após a última aplicação da solução de dentifrício, com o intuito de manter um alto desafio cariogênico durante a noite. A sacarose provoca uma mudança na concentração inorgânica do biofilme dentário, diminuindo a concentração de flúor^{12,16,62}. É provável que o flúor do dentifrício permaneça firmemente unido ao biofilme, pois ele ainda é encontrado em altas concentrações, mesmo após 10 horas da última aplicação⁶². Contudo, WHITFORD et al.⁹⁵ (2002) verificaram, *in vivo*, que após 12 horas não há diferença na concentração de flúor no biofilme coletado de grupos que usaram dentifrício fluoretado ou placebo, em comunidades com água fluoretada. Já em comunidades sem água fluoretada, as concentrações de flúor no biofilme dentário são maiores com o uso de dentifrício fluoretado, mesmo após 12 horas⁹⁶. Com o envelhecimento dos materiais (após um ano) há uma diminuição da liberação de flúor pelo CIV, porém os níveis de flúor no biofilme ainda continuam superiores em relação a materiais resinosos⁹⁰.

Além do flúor presente no biofilme dentário, um outro fator que tem sido estudado^{7,47} é a influência dos materiais na contagem de bactérias relacionadas à cárie dentária. CARLSSON et al.⁷ (1992) verificaram que a aplicação de selantes resinosos não afetou os níveis de estreptococos mutans na saliva. Segundo os autores, isto pode ter ocorrido porque as bactérias bucais têm afinidade a materiais resinosos e também pelas falhas no próprio material, como retenção parcial, fratura e hidrólise, que criam novas áreas de retenção bacteriana. Já KOCH; HATIBOVIC-KOFMAN⁴⁷ (1990) concluíram que após a utilização de CIV em restaurações, há

uma redução destes microorganismos na saliva. Porém, tais informações não devem ser analisadas isoladamente, visto que há dados⁸⁵ demonstrando que a concentração de estreptococos mutans no biofilme parece não estar correlacionada com o grau de desmineralização do esmalte. Além disso, os estudos clínicos apresentam resultados conflitantes em relação ao potencial dos materiais com flúor, de afetar o crescimento de bactérias associadas à cárie dentária⁹⁷.

6.2.2 Concentração de flúor no esmalte dentário

Os grupos com CIVav apresentaram maior concentração de flúor fracamente unido ao esmalte se comparados aos demais grupos, sendo maior no CIVav sem desafio cariogênico. Este resultado é coerente com a concentração de flúor encontrada no biofilme dentário e confirma a capacidade do CIV de liberar flúor, auxiliando na proteção do esmalte adjacente frente a um desafio cariogênico, juntamente com o flúor proveniente do dentifrício. Neste estudo não foi possível diferenciar as fontes de flúor, mas sim conhecer, numa situação mais próxima do normal, como ocorreria o efeito protetor do flúor do dentifrício associado ao do material. LAGERWEIJ; ten CATE⁵⁰ (2002) verificaram, *in situ*, uma concentração de flúor fracamente unido de $4,8 \pm 6,9 \mu\text{g} / \text{cm}^2$ em blocos de esmalte bovino desmineralizado, após o uso de dentifrício fluoretado com 1450 ppm. Além de aumentar a concentração de flúor fracamente unido ao esmalte, trabalhos realizados *in vitro* e *in situ* com biópsia ácida apontam que o CIV também proporciona maior incorporação de flúor no esmalte adjacente, se comparado a materiais resinosos^{4,28,51,86}.

A menor concentração de flúor encontrada no esmalte associado ao CIVav com desafio cariogênico, se comparado ao grupo sem desafio, pode ter ocorrido pela presença do biofilme dentário, não permitindo que o flúor proveniente do dentifrício e da água fluoretada chegasse ao esmalte, enquanto no grupo sem biofilme a superfície estava livre para receber o flúor. Um outro fator que pode ter contribuído é o próprio desafio cariogênico, pois aplicações de sacarose diminuem as concentrações de flúor, cálcio e fósforo inorgânico no biofilme, provavelmente por uma mudança estrutural no biofilme dentário¹². Assim, parte do flúor fracamente unido ao esmalte pode migrar para o biofilme ou ser incorporado ao esmalte durante o desafio cariogênico.

O alto desvio-padrão das concentrações de flúor no biofilme e no esmalte verificado neste e em outros trabalhos ocorre principalmente devido à sensibilidade dos testes e à técnica do operador. Justamente por isso, sempre que possível, as leituras foram realizadas em duplicata.

6.2.3 Porcentagem de volume mineral

Com relação ao conteúdo mineral, os resultados deste estudo mostraram que houve diferenças apenas na camada mais superficial do esmalte, pois elas foram detectadas principalmente na profundidade de 10 µm, em todas as posições (esmalte selado, borda do material e esmalte não selado).

No **esmalte selado**, na profundidade de 10 µm, houve diferenças significantes entre os grupos apenas na presença de desafio cariogênico. Nesta condição, o grupo com CIVav apresentou maior conteúdo mineral que o selante resinoso e o controle (sem selamento). Este resultado contradiz trabalhos *in vitro*^{36,51}

que mostraram não haver diferença no efeito de diferentes materiais no esmalte selado, ou seja, sob o material, após um desafio cariogênico severo. LOBO et al.⁵¹ (2005) compararam um CIV modificado por resina, um selante resinoso com flúor e outro sem flúor, aplicados em fossas e fissuras oclusais hígidas de molares humanos e verificaram não haver diferença no conteúdo mineral do esmalte sob estes materiais. HICKS; FLAITZ³⁶ (1998) compararam o efeito de selantes resinosos com e sem flúor aplicados em cavidades confeccionadas em esmalte hígido de dentes decíduos e observaram que não houve diferença na frequência de lesões na interface material – esmalte. No entanto, com a manutenção do desafio cariogênico, houve um aumento no número destas lesões, principalmente quando usado o selante sem flúor. Porém, outros trabalhos *in vitro*^{29,30,57} concluíram que a aplicação de selantes, mesmo sem flúor, em lesões iniciais de esmalte, inibe a progressão da desmineralização, mesmo com a manutenção de desafio cariogênico, demonstrando que há divergências nos resultados obtidos por diferentes estudos.

Já na ausência de desafio cariogênico não houve diferença entre os grupos. Apesar de apresentar um conteúdo mineral maior que os demais, como esperado, em função da exposição do esmalte à ação remineralizadora da saliva e do flúor do dentífrico, o grupo controle não foi estatisticamente diferente dos demais. Este resultado poderia ser encontrado se um tempo experimental maior fosse empregado e se um método mais sensível de detecção de alterações superficiais no conteúdo mineral fosse adotado, como a microdureza superficial.

Na **borda do material** houve um comportamento semelhante, ou seja, o CIVav proporcionou maior conteúdo mineral ao esmalte na profundidade de 10 µm, se comparado ao selante resinoso, na presença de desafio cariogênico. Como a interface dente-material é uma área mais propensa para acúmulo de biofilme,

espera-se que nesta região haja um ambiente mais ácido que em locais mais distantes⁴⁵. Já na ausência de desafio não houve diferença entre os grupos, confirmando os resultados verificados no esmalte selado.

No **esmalte não selado**, com a presença de desafio cariogênico, na profundidade de 10 µm, houve maior conteúdo mineral no grupo do CIVav, sendo a diferença significativa em relação ao grupo do selante resinoso. O grupo controle apresentou um resultado intermediário, sem diferença em relação ao demais. Já na ausência de desafio, também na profundidade de 10 µm, o grupo controle apresentou conteúdo mineral superior ao grupo do CIVav e do selante resinoso, que apresentaram resultados semelhantes.

Observou-se que, com a aplicação do CIVav, não houve diferença no conteúdo mineral independente da presença ou não de desafio cariogênico. Os demais grupos (selante resinoso e controle) apresentaram um menor conteúdo mineral do esmalte na presença de desafio cariogênico. Este fato demonstra que o efeito protetor do selante resinoso só ocorre no esmalte que está sob o material e não no esmalte adjacente, necessitando de manutenção do selante intacto^{49,51,80}.

Os resultados obtidos neste estudo confirmam achados anteriores, os quais apontam que o CIV apresenta efeito anticariogênico, sendo capaz de diminuir a desmineralização do esmalte, mesmo com alto desafio cariogênico provocado *in vitro*^{18,28,37,38,51,67,69,73,74,77} e *in situ*^{4,46,86,98}, apesar de alguns estudos *in situ* não encontrarem diferença do CIV em relação a outros materiais que contém flúor em sua formulação⁴⁵. Além disso, alguns estudos *in vivo*^{32,64,89} também demonstraram que o CIV reduz a desmineralização do esmalte, quando comparado à resina, na cimentação de braquetes ortodônticos. Em relação aos CIVav, como o usado neste estudo, há poucos relatos na literatura, mas SMALES; GAO⁷⁷ (2005) verificaram que

foram mais efetivos que os compômeros na inibição da desmineralização e VIEIRA⁹³ observou, após três anos, uma semelhança no comportamento preventivo entre um CIVav e um convencional aplicados como selante em uma população de alto risco à cárie.

As diferenças encontradas entre os materiais ocorrem principalmente pela capacidade dos CIV de liberar flúor^{8,9,10,17,19,28,97}, o que pode ser confirmado pelas concentrações de flúor detectadas tanto no esmalte como no biofilme dentário. Grande parte do flúor dos CIV é liberada nas primeiras 24 a 48 horas, sofrendo um declínio acentuado até manter níveis baixos e constantes^{8,9,10,17,19,28,94}, que são importantes nos processos de desmineralização e remineralização^{81,82,84}. Por outro lado, alguns estudos demonstram que os CIVav liberam substancialmente menos flúor que os outros CIV¹⁹. Isto provavelmente ocorre pela baixa solubilidade destes materiais e pela alta proporção pó-líquido¹⁹.

O maior conteúdo mineral no esmalte adjacente ao CIVav, em comparação ao selante resinoso, em uma condição de desafio cariogênico, confirma os resultados de outros estudos^{18,32,38,51,64,67}, que mostraram que o CIV é capaz de reduzir a extensão ou a severidade da lesão de cárie. A maior ação protetora do CIV ocorre entre 0,5 mm^{77,98} e 1 mm⁸⁰ do material, embora um pequeno efeito tenha sido observado até a 7 mm de distância em estudos *in vitro*⁸⁰. Entretanto, outros dados *in situ*⁴⁵ mostraram que o CIV não forneceu maior proteção ao esmalte a uma distância aproximada de 0,5 mm do material, quando comparado a outros materiais com flúor.

Deve-se considerar ainda, a capacidade do CIV em recarregar-se de flúor a partir de outros agentes fluoretados e liberá-lo posteriormente^{10,17,19,34,35}. Neste estudo provavelmente houve uma reincorporação de flúor a partir do dentifrício fluoretado, como demonstrado em outros trabalhos^{34,94}. Esta capacidade confere ao

CIV maior efeito protetor em relação aos demais materiais, mesmo sendo a liberação de flúor menor que aquela verificada nos primeiros dias após a sua manipulação, como constatado em trabalhos que empregaram agentes com concentrações mais baixas de flúor, como dentifrícios³⁴ e soluções^{19,35}. Já a utilização de agentes com concentrações mais elevadas, como os géis acidulados, pode aumentar a liberação de flúor¹⁷.

A aplicação de um dentifrício fluoretado três vezes ao dia sobre os espécimes possivelmente tornou os resultados de conteúdo mineral mais próximos entre os diferentes grupos. RODRIGUES et al.⁶⁹ (2005) afirmaram que a associação entre materiais e dentifrícios fluoretados parece resultar em respostas semelhantes de diferentes materiais frente a um desafio cariogênico. Dados *in situ*⁴² demonstraram que o dentifrício fluoretado, por si só, pode remineralizar lesões de cárie em torno de 40 a 50%, enquanto *in vivo* o efeito preventivo é de aproximadamente 30% em relação a placebos⁸⁸. A ação anticariogênica pode ainda ser potencializada com o uso de dentifrícios acidificados⁶ e CURY et al.¹⁵ (2004) salientam que a redução na prevalência de cárie nas duas últimas décadas ocorreu principalmente pela disponibilidade de dentifrícios fluoretados no mercado nacional.

Há também uma diferença significativa entre os materiais resinosos com e sem flúor, já que a presença de flúor no selante reduz, *in vitro*, a profundidade da lesão^{36,37,39,44,51}. Apesar disso, o CIV diminui ainda mais a desmineralização em relação a estes materiais^{5,37,38,51,67,74}. Alguns estudos mostram que os CIV possuem um efeito protetor maior que os materiais resinosos mesmo com o uso de dentifrícios fluoretados, tanto no esmalte⁸⁹, como na dentina^{20,33}. Isso talvez ocorra pela maior capacidade do CIV de incorporar flúor do dentifrício, liberando-o posteriormente nos momentos de alto desafio cariogênico⁹⁴.

Apesar de haver diferenças no conteúdo mineral entre o CIVav e o selante resinoso na presença de desafio cariogênico, o mesmo não ocorreu na sua ausência, em todas as posições avaliadas. O CIVav aumentou a concentração de flúor fracamente unido ao esmalte em comparação ao selante resinoso ou controle, porém esta concentração maior não possibilitou uma maior remineralização. LAGERWEIJ; ten CATE⁵⁰ (2002), comparando o potencial remineralizador de dentifrícios fluoretados associados ou não ao gel fluoretado, também encontraram diferenças na concentração de flúor, mas não na remineralização.

Em relação à profundidade das lesões, todos os grupos apresentaram menor conteúdo mineral a 10 µm, seguido por 30 µm e, então, pelas demais. A partir de 30 ou 50 µm o conteúdo mineral se estabilizou, sem diferenças significativas com as partes mais profundas do esmalte, mostrando que o efeito dos materiais ocorreu apenas na camada mais superficial do esmalte, como verificado em outros estudos^{14,51,64}. PASCOTTO et al.⁶⁴ (2004) verificaram *in vivo*, que a atuação do CIV ocorreu até 30 µm da superfície do esmalte, em comparação a um cimento resinoso, semelhante ao encontrado por LOBO et al.⁵¹ (2005), que compararam um CIV a um selante resinoso com flúor *in vitro*. BOMBONATTI⁵ (2004) verificou, *in vitro*, que o CIV proporcionou maior proteção do esmalte em comparação a dois selantes resinosos, tanto na superfície como nas profundidades de 30 e 60 µm. BENELLI et al.⁴ (1993) verificaram, *in situ*, que o CIV protegeu o esmalte nas profundidades de 20, 40 e 60 µm, quando comparada à resina composta. Porém, YAMAMOTO et al.⁹⁸ (2005), em um estudo *in situ*, verificaram que não houve diferença na profundidade das lesões de cárie, sob a influência de um CIV ou cimento de óxido de zinco e eugenol, com a presença de biofilme.

A retenção, *in vivo*, do CIV nas fissuras geralmente é inferior ao selante resinoso⁵⁶, mas os resultados são variáveis, dependendo do operador e do tipo de material. OLIVEIRA⁶¹ (2002) obteve um índice de retenção de um CIV modificado por resina de 97% após 12 meses, semelhante ao observado com um selante resinoso. Entretanto, MEJÀRE; MJÖR⁵⁶ (1990) observaram perda de quase todos os selantes após seis a doze meses, utilizando um CIV convencional. Porém, o CIV parece exercer um efeito protetor mesmo após a sua perda macroscópica⁷², talvez não necessitando de uma retenção por um longo período. O flúor liberado pelo CIV e incorporado ao esmalte ou biofilme dentário pode dar uma proteção prolongada⁷², associada à presença de CIV no fundo das fissuras mesmo após a perda macroscópica do material^{56,72,87}. Além disso, após dois ou três anos sob influência da saliva, o CIV pode tornar-se mais liso, duro e resistente, além de absorver cálcio e fósforo, apresentando um aspecto semelhante ao esmalte⁹².

Embora o CIV aumente a resistência do esmalte à desmineralização e auxilie na remineralização, a formação da lesão não é inibida completamente *in vitro*^{22,37,38,51,72,73,79} e *in vivo*⁶⁴. SERRA; CURY⁷³ (1992) verificaram que o CIV permite uma perda mineral de aproximadamente 3% na profundidade de 30 µm da superfície, enquanto a resina composta permite uma perda mineral de aproximadamente 20%. HICKS, FLAITS³⁷ (1992) verificaram que mesmo com o CIV, as lesões de cárie progridem cerca de 35% com a manutenção do desafio cariogênico.

Pelos resultados obtidos neste trabalho, pode-se supor que na presença de desafio cariogênico, como pacientes que possuam superfícies oclusais com alto risco de desenvolver cárie, um selamento com CIV apresenta maior efeito protetor ao esmalte que um selante resinoso, sendo portanto, o material de escolha nestas

condições. Já na ausência de biofilme dentário, ou em pacientes em que o desafio cariogênico é controlado, não houve diferença no conteúdo mineral encontrado nos grupos com CIVav ou selante resinoso, mostrando que o material, nestas condições, não interfere no resultado de conteúdo mineral do esmalte. Desse modo, a aplicação de selantes é facultativa e o material a ser aplicado parece não ser um fator tão importante, pois o esmalte desmineralizado, na cavidade bucal, em contato com saliva, e sem desafio cariogênico, ganha dureza e incorpora mais flúor que o esmalte normal⁴⁸. No entanto, outros fatores também devem ser considerados antes de indicar um determinado tratamento ou material. Sendo assim, a decisão do profissional deverá basear-se no seu conhecimento científico, nas necessidades e no risco de cárie do paciente.

Vale ressaltar que esta pesquisa foi realizada com materiais recém-manipulados e o efeito do CIV a longo prazo tem sido questionado⁸⁶, pela diminuição da capacidade de liberação de flúor, sendo necessários outros estudos com materiais envelhecidos. Além do flúor, outros íons podem contribuir com a inibição da desmineralização e merecem ser avaliados, como íons hidroxila e cálcio^{45,46} ou ferro^{54,65}.

Apesar dos muitos estudos realizados para testar a efetividade dos selantes, há limitada ou incompleta evidência científica sobre seu efeito, pela falta de estudos bem delineados⁵⁵. Portanto, estudos clínicos longitudinais controlados devem ser realizados para confirmação ou não dos resultados obtidos com os diferentes tipos de materiais.



Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru

7

FOB USP

Conclusões

7. Conclusões

A análise dos resultados deste trabalho permitiu constatar que:

- ✓ A concentração de flúor no biofilme dentário formado foi maior no esmalte associado ao CIVav, seguido pelos demais grupos, os quais não diferiram entre si;
- ✓ A concentração de flúor foi maior no esmalte associado ao CIVav sem acúmulo de biofilme, seguido pelo CIVav com acúmulo de biofilme e pelos demais grupos, os quais não diferiram entre si, e
- ✓ O conteúdo mineral apresentou diferenças entre os grupos na camada mais superficial do esmalte. Com o acúmulo de biofilme dentário, ele foi sempre maior no esmalte associado ao CIVav do que naquele associado ao selante resinoso, sendo que o controle apresentou resultados intermediários. Sem o acúmulo de biofilme dentário, houve uma tendência de um maior conteúdo mineral no grupo controle.

A análise das constatações acima mencionadas permitiu concluir que:

- ✓ O CIV convencional de alta viscosidade, aplicado como selante sobre uma superfície desmineralizada e sob alto desafio cariogênico, demonstrou um potencial cariostático pela sua capacidade de doar flúor à estrutura dentária e ao biofilme, minimizando os efeitos da desmineralização, mas não melhorou a remineralização.



**Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru**

FOB USP

Ânexos

Anexo 1



Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru
Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 – Bauru-SP – CEP 17012-901 – C.P. 73
PABX (0XX14)3235-8000 – FAX (0XX14)3223-4679

Comitê de Ética em Pesquisa (3235-8356)

Processo nº 96/2005


Bauru, 07 de novembro de 2005.

Senhora Professora,

Informamos que após o envio da documentação solicitada referente ao projeto de pesquisa encaminhado a este Comitê de Ética em Pesquisa “Efeito anticariogênico de um selante resinoso e de um cimento de ionômero de vidro aplicados em esmalte bovino desmineralizado - estudo in situ” de autoria de Adriano Tomio Hoshi que será desenvolvido sob sua orientação, foi novamente analisado e considerado **APROVADO** por este Comitê nesta data.

Informamos ainda, que após o envio do trabalho concluído, este Comitê enviará o parecer final, que será utilizado para publicação do trabalho.

Atenciosamente,


Prof. Dr. José Henrique Rubo
Coordenador

Sr^a Prof^a Dr^a Salete Moura Bonifácio da Silva
DD. Docente do Departamento de Odontopediatria, Ortodontia e Saúde Coletiva

Anexo 2

Microdureza (KHN) inicial e após a desmineralização do esmalte nos diferentes voluntários e grupos

VOLUNTARIO	GRUPO	BLOCO	DUREZA INICIAL	DUREZA APÓS DES	MÉDIA
1	1	244	376	106	
1	1	182	403	170	
1	2	15	426	112	
1	2	169	336	162	
1	3	215	394	92	
1	3	181	426	170	
1	4	44	347	120	
1	4	17	293	153	
1	5	192	433	172	
1	5	133	337	147	
1	6	71	454	142	
1	6	147	326	212	146
2	1	73	367	136	
2	1	111	391	185	
2	2	231	314	86	
2	2	177	338	169	
2	3	9	458	113	
2	3	210	419	162	
2	4	20	393	107	
2	4	171	367	167	
2	5	70	398	118	
2	5	36	419	179	
2	6	159	383	132	
2	6	100	404	210	147
3	1	45	281	134	
3	1	84	368	206	
3	2	42	379	130	
3	2	93	292	209	
3	3	297	417	83	
3	3	190	375	159	
3	4	32	376	134	
3	4	120	337	192	
3	5	194	437	139	
3	5	262	440	102	
3	6	166	368	106	
3	6	157	401	151	145
4	1	154	390	102	
4	1	79	318	175	
4	2	29	358	221	
4	2	129	316	145	
4	3	72	334	142	
4	3	52	466	201	
4	4	299	421	89	
4	4	112	366	173	

Continua...

Continuação...

4	5	60	464	90	
4	5	22	382	162	
4	6	134	416	88	
4	6	49	400	159	145
5	1	114	386	118	
5	1	90	301	146	
5	2	144	333	126	
5	2	116	356	181	
5	3	34	364	122	
5	3	136	383	222	
5	4	6	390	141	
5	4	86	378	182	
5	5	59	358	131	
5	5	98	342	164	
5	6	295	439	89	
5	6	164	380	162	149
6	1	54	322	145	
6	1	296	362	164	
6	2	5	369	121	
6	2	149	374	102	
6	3	179	327	127	
6	3	150	459	189	
6	4	26	423	126	
6	4	87	409	162	
6	5	28	400	114	
6	5	101	323	210	
6	6	167	409	136	
6	6	95	418	178	148
7	1	156	377	86	
7	1	57	361	213	
7	2	62	395	97	
7	2	74	360	198	
7	3	201	440	96	
7	3	122	350	194	
7	4	58	434	144	
7	4	265	426	155	
7	5	33	357	94	
7	5	41	382	221	
7	6	50	402	96	
7	6	137	352	163	146
8	1	80	265	101	
8	1	110	357	198	
8	2	27	423	141	
8	2	123	353	185	
8	3	47	358	138	
8	3	103	330	150	
8	4	230	448	98	
8	4	138	296	223	
8	5	106	393	141	
8	5	212	367	85	
8	6	61	470	125	
8	6	81	393	187	148
9	1	82	358	126	

Continua...

Continuação...

9	1	196	410	154	
9	2	3	436	142	
9	2	176	384	157	
9	3	25	346	135	
9	3	75	314	166	
9	4	298	377	88	
9	4	204	423	198	
9	5	172	322	128	
9	5	251	422	159	
9	6	24	378	128	
9	6	96	305	174	146
10	1	258	405	92	
10	1	203	370	162	
10	2	91	316	89	
10	2	77	341	167	
10	3	158	395	106	
10	3	94	283	176	
10	4	66	313	105	
10	4	125	320	196	
10	5	239	433	196	
10	5	46	450	192	
10	6	289	434	108	
10	6	105	406	193	148
11	1	306	377	83	
11	1	128	366	163	
11	2	255	391	122	
11	2	119	302	225	
11	3	292	432	100	
11	3	135	354	124	
11	4	21	400	90	
11	4	308	377	185	
11	5	18	345	226	
11	5	202	446	115	
11	6	195	400	94	
11	6	63	390	226	144
12	1	263	404	106	
12	1	11	419	226	
12	2	118	403	130	
12	2	221	351	97	
12	3	168	391	122	
12	3	4	404	229	
12	4	170	391	118	
12	4	178	278	189	
12	5	206	401	106	
12	5	132	294	134	
12	6	78	290	118	
12	6	117	353	136	142
		média	377	147	
		dp	45	40	
		max	470	229	
		min	265	83	

Anexo 3

Processo de “aleatorização em blocos” dos 144 fragmentos para os seis grupos e doze voluntários por meio do programa Microsoft Excel.

“Aleatorização em blocos” para os grupos

- na coluna A, digitar o número dos blocos e na coluna B, seus respectivos valores de microdureza;
- classificar os blocos em ordem crescente de microdureza, utilizando a função “classificação crescente” na barra de ferramentas padrão;
- na coluna C, utilizar a função aleatório na categoria matemática e trigonométrica, sendo os números aleatórios acrescentados nesta coluna até o bloco de maior microdureza (para isso, arrastar a borda escura que circunda o valor aleatório referente ao primeiro bloco até o último bloco, que tem a maior microdureza);
- na coluna D, digitar seqüencialmente os números correspondentes aos grupos (neste caso, de 1 a 6) e repetir esta seqüência até os seis blocos de maior microdureza;
- realizar um sorteio dos seis blocos de menor microdureza para os seis grupos: estes seis blocos deverão ser selecionados através das colunas A, B e C, iniciando pela coluna C. Não selecionar a coluna D. Classificar a seleção em ordem crescente, utilizando a função “classificação crescente” na barra de ferramentas padrão. Pela ordenação dos números aleatórios fica definido qual bloco pertencerá a cada um dos grupos. Assim, o primeiro sorteio foi realizado;
- realizar o segundo sorteio para distribuição dos seis blocos seguintes (de microdureza crescente em relação aos anteriores), seguindo as mesmas etapas descritas para o primeiro sorteio;
- realizar os demais sorteios até os seis blocos de maior microdureza. Neste trabalho foram realizados 24 sorteios para distribuição dos 144 blocos nos seis grupos;
- eliminar a coluna C, pois os números aleatórios não serão mais utilizados;
- selecionar todas as colunas e linhas, a partir da coluna referente aos grupos, e classificar em ordem crescente para que os blocos referentes a cada grupo sejam agrupados (do grupo 1 ao 6);
- calcular a média de microdureza e o dp de cada grupo, utilizando a função estatística. Se os resultados entre os grupos forem muito discrepantes, todos os sorteios deverão ser repetidos. Se os resultados forem semelhantes, fazer a aleatorização destes blocos para os voluntários.

“Aleatorização em blocos” para os voluntários

- utilizar a tabela anterior, que terá os números dos blocos na coluna A, valores de microdureza na coluna B e grupos ordenados em ordem crescente na coluna C;
- na coluna D, utilizar a função aleatório na categoria matemática e trigonométrica, sendo os números aleatórios acrescentados nesta coluna, até o bloco de maior microdureza, como descrito anteriormente;

- na coluna E, digitar seqüencialmente os números correspondentes aos voluntários (neste caso, de 1 a 12) e repetir esta seqüência até os 12 blocos de maior microdureza;
- realizar um sorteio dos doze primeiros blocos, referentes ao grupo 1, para os doze voluntários: estes doze blocos deverão ser selecionados através das colunas A, B, C e D, iniciando pela coluna D. Não selecionar a coluna E. Classificar a seleção em ordem crescente, utilizando a função “classificação crescente” na barra de ferramentas padrão. Pela ordenação dos números aleatórios fica definido qual bloco pertencerá a cada um dos voluntários. Assim, o primeiro sorteio foi realizado;
- realizar o segundo sorteio para distribuição dos doze blocos seguintes, ainda referentes ao grupo 1 (pois neste trabalho havia dois blocos por grupo), para os doze voluntários: seguir as mesmas etapas descritas para o primeiro sorteio;
- realizar os demais sorteios até os últimos doze blocos, referentes ao grupo 6. Neste trabalho foram realizados 12 sorteios para distribuição dos 144 blocos nos doze voluntários;
- eliminar a coluna D, pois os números aleatórios não serão mais utilizados;
- selecionar todas as colunas e linhas, a partir da coluna referente aos voluntários, e classificar em ordem crescente para que os blocos referentes a cada voluntário sejam agrupados (do voluntário 1 ao 12);
- calcular a média de microdureza e o dp de cada voluntário, utilizando a função estatística. Se os resultados entre os voluntários forem muito discrepantes, todos os sorteios para eles deverão ser repetidos, até se obter a semelhança entre os resultados.

Anexo 4



Universidade de São Paulo Faculdade de Odontologia de Bauru

Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 – Bauru-SP – CEP 17012-901 – C.P. 73
PABX (0XX14)3235-8000 – FAX (0XX14)3223-4679

CARTA DE INFORMAÇÃO AO SUJEITO DA PESQUISA

Nome do sujeito da pesquisa: _____

1 - Título do Trabalho Experimental

“Efeito anticariogênico de um selante resinoso e de um cimento de ionômero de vidro aplicados em esmalte bovino desmineralizado - estudo *in situ*”

2 - Objetivo

Esta pesquisa tem por objetivo avaliar a ação de dois materiais (cimento de ionômero de vidro e selante resinoso), com e sem a presença de placa bacteriana, sobre a estrutura dentária.

3 - Fase Experimental

APARELHO: contém 6 espécimes de esmalte bovino, sendo 3 cobertos por tela (para acúmulo de placa bacteriana) e 3 sem cobertura. Estes espécimes foram divididos em três grupos: selamento com cimento de ionômero de vidro, selante resinoso ou sem selamento.

USO DO APARELHO E ALIMENTAÇÃO: dormir com o aparelho na noite que antecede o período experimental, após a última higiene bucal, utilizando o creme dental, fio dental e escova dental (Oral B) fornecidos pelo pesquisador;

-Utilizar o aparelho 24h/dia, exceto durante as refeições (3 refeições diárias, totalizando no máximo 3h/dia);

-Durante as refeições o aparelho deverá ser mantido no estojo plástico, coberto com gaze úmida em água de abastecimento;

-Não ingerir bebidas fora dos horários das refeições, exceto água (retirar o aparelho);

-Não ingerir medicamentos no período experimental (se necessário, entrar em contato com o pesquisador);

APLICAÇÃO DE SACAROSE: retirar o aparelho e aplicar uma solução de sacarose a 20% 8 vezes ao dia (sugestão de horários: 8h, 9:30h, 11h, 14h, 15:30h, 17h, 19h, 21h) nos **espécimes cobertos com tela** (2 gotas/ espécime). Aguardar 5 minutos e reinstalar o aparelho na boca sem lavá-lo. O intervalo mínimo de tempo entre uma aplicação e outra é de 1h. A última aplicação de sacarose (oitava aplicação do dia) deverá ser feita após a última aplicação de solução de creme dental.

HIGIENE BUCAL: retirar o aparelho e realizar a higiene bucal como de costume 3 vezes/dia (após café da manhã, almoço e jantar). Utilizar o creme dental, fio dental e escova dental (Oral B) fornecidos pelo pesquisador (sugestão de horários: 7:30h, 13h, 20h);

-Diariamente, após a última higiene bucal, o voluntário deverá avaliar se há placa bacteriana sobre os espécimes sem tela. Se houver, deverá removê-lo com a escova dental infantil fornecida, fazendo movimentos suaves com leve pressão e sem creme dental;

APLICAÇÃO DE SOLUÇÃO DE CREME DENTAL: durante a higiene bucal, aplicar solução de creme dental (2 gotas/espécime), tanto nos **espécimes com tela como naqueles sem tela**. Aguardar 2 minutos e reinstalar o aparelho sem lavá-lo; agitar o frasco antes de aplicar.

FIM DO PERÍODO EXPERIMENTAL: na manhã do 15º dia (____/____), o voluntário permanecerá em jejum e não deverá realizar a higiene bucal até a retirada do aparelho no laboratório de Bioquímica da FOB-USP, para coleta da placa bacteriana.
HORÁRIO:

Dúvidas ligar: Adriano – Telefone: (14) 3224 2798 / (14) 8122 8246 / (43) 9131 0301

Marina – Telefone: (14) 3227 2665 / (44) 8404 1391

Odontopediatria (FOB) – Telefone: (14) 3235 8218 ou 3235 8225

4 – Benefício para participar do experimento

Você será beneficiado com atendimento preventivo (limpeza profissional) e curativo, caso este último seja necessário, sob responsabilidade do autor.

A qualquer momento você poderá receber respostas a qualquer dúvida acerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados com a pesquisa ou até mesmo negar-se a continuar participando da pesquisa, sem penalidade, contatando o aluno Adriano Tomio Hoshi pelo telefone (14)3224-2798 ou (14)8122-8246. Cabe enfatizar que como medida de segurança você não será identificado e será mantido o caráter confidencial da informação relacionada com sua privacidade.

Caso você queira apresentar reclamações em relação a sua participação na pesquisa, poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos, da FOB-USP, pelo endereço da Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 (sala no prédio da Biblioteca, FOB/USP) ou pelo telefone (14)3235-8356.

Adriano Tomio Hoshi - Pesquisador

Adriano Tomio Hoshi

Anexo 5



Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru
Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 – Bauru-SP – CEP 17012-901 – C.P. 73
PABX (0XX14)3235-8000 – FAX (0XX14)3223-4679

Pelo presente instrumento que atende às exigências legais, o Sr. (a)

_____,
portador da cédula de identidade _____, após leitura minuciosa da **CARTA DE INFORMAÇÃO AO SUJEITO DA PESQUISA**, devidamente explicada pelos profissionais em seus mínimos detalhes, ciente dos serviços e procedimentos aos quais será submetido, não restando quaisquer dúvidas a respeito do lido e explicado, firma seu **CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO** concordando em participar da pesquisa proposta.

Fica claro que o sujeito da pesquisa ou seu representante legal, pode a qualquer momento retirar seu **CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO** e deixar de participar desta pesquisa e ciente de que todas as informações prestadas tornaram-se confidenciais e guardadas por força de sigilo profissional (Art. 9º do Código de Ética Odontológica).

Por estarem de acordo assinam o presente termo.

Bauru-SP, _____ de _____ de _____.

Assinatura do Sujeito da Pesquisa

Adriano Tomio Hoshi
Autor

Salette Moura Bonifácio da Silva
Orientadora

Anexo 7

Componentes para preparo dos padrões de flúor para análise da concentração de flúor no biofilme dentário

BLANCK 0,5 mL de água deionizada 0,5 mL de HCl 1M 1 mL de TISAB II	Padrão de 0,2 ppm F 0,5 mL de padrão de 0,8 ppm F 0,5 mL de HCl 1M 1 mL de TISAB II
Padrão de 0,0125 ppm F 0,5 mL de padrão de 0,05 ppm F 0,5 mL de HCl 1M 1 mL de TISAB II	Padrão de 0,4 ppm F 0,5 mL de padrão de 1,6 ppm F 0,5 mL de HCl 1M 1 mL de TISAB II
Padrão de 0,025 ppm F 0,5 mL de padrão de 0,1 ppm F 0,5 mL de HCl 1M 1 mL de TISAB II	Padrão de 0,8 ppm F 0,5 mL de padrão de 3,2 ppm F 0,5 mL de HCl 1M 1 mL de TISAB II
Padrão de 0,05 ppm F 0,5 mL de padrão de 0,2 ppm F 0,5 mL de HCl 1M 1 mL de TISAB II	Padrão de 1,6 ppm F 0,5 mL de padrão de 6,4 ppm F 0,5 mL de HCl 1M 1 mL de TISAB II
Padrão de 0,1 ppm F 0,5 mL de padrão de 0,4 ppm F 0,5 mL de HCl 1M 1 mL de TISAB II	Teste (0,1 ppm F) 0,5 mL de padrão de 0,4 ppm F 0,5 mL de HCl 1M 1 mL de TISAB II

Anexo 8

Soluções utilizadas para biópsia básica:

Solução de KOH (hidróxido de potássio) 1M e 2M

O KOH (Carlos Erba, lote: 7080069, Montedison Farmacêutica, São Paulo – SP, Brasil) possuía peso molecular de 56,11 g e 85% de pureza. Para preparar uma solução com 1 M, é necessário 1 peso molecular em 1 L de água deionizada, mas com 100% de pureza. Sendo assim, adicionou-se 66,012 g de KOH em 1 L de água deionizada. Para preparar uma solução 2 M, foi utilizado 132,024 g KOH em 1 L de água deionizada.

Solução de TISAB II com HCl

A solução de TISAB II é composta por:

- ácido acético glacial 1 M (Merck, lote: K34419863509, Darmstadt, Germany)
- NaCl 1 M (cloreto de sódio, Sigma, lote: 70K0049, Steinheim, Germany),
- CDTA 11,55 mM (diaminociclohexanetetran-acético, Sigma, lote: 032K0072)
- NaOH 0,5 M (hidróxido de sódio, Synth, lote: 33863, Labsynth Produtos para Laboratório Ltda., Diadema – SP, Brasil).

Este TISAB II foi modificado para a realização da biópsia básica, misturando-se de 8,5 mL de HCl concentrado (ácido clorídrico, Synth, lote: 90295) em 100 mL de TISAB II.

Teste das soluções

Para testar as soluções, misturou-se 2 mL de TISAB II com HCl a 2 mL de KOH 1 Mm e aferiu-se o pH da solução, que deveria estar próximo de 5,2.

Anexo 9

Componentes para preparo dos padrões de flúor para análise da biópsia básica

BLANCK 0,5 mL de KOH 1M 0,5 mL de TISAB II (HCl)	Padrão de 0,4 ppm F 0,25 mL de padrão de 1,6 ppm F 0,25 mL de KOH 2M 0,5 mL de TISAB II (HCl)
Padrão de 0,025 ppm F 0,25 mL de padrão de 0,1 ppm F 0,25 mL de KOH 2M 0,5 mL de TISAB II (HCl)	Padrão de 0,8 ppm F 0,25 mL de padrão de 3,2 ppm F 0,25 mL de KOH 2M 0,5 mL de TISAB II (HCl)
Padrão de 0,05 ppm F 0,25 mL de padrão de 0,2 ppm F 0,25 mL de KOH 2M 0,5 mL de TISAB II (HCl)	Padrão de 1,6 ppm F 0,25 mL de padrão de 6,4 ppm F 0,25 mL de KOH 2M 0,5 mL de TISAB II (HCl)
Padrão de 0,1 ppm F 0,25 mL de padrão de 0,4 ppm F 0,25 mL de KOH 2M 0,5 mL de TISAB II (HCl)	Teste (0,2 ppm F) 0,25 mL de padrão de 0,8 ppm F 0,25 mL de KOH 2M 0,5 mL de TISAB II (HCl)
Padrão de 0,2 ppm F 0,25 mL de padrão de 0,8 ppm F 0,25 mL de KOH 2M 0,5 mL de TISAB II (HCl)	



**Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru**

FOB USP

Referências

Bibliográficas

Referências Bibliográficas[☆]

1. AIRES, C.P. et al. Effect of sucrose concentration on dental biofilm formed in situ on enamel demineralization. **Caries Res.**, v.40, n.1, p.28-32. 2006.
2. ARENDS, J.; SCHUTHOF, J.; JONGEBLOED, W.G. Lesion depth and microhardness indentations on artificial white spot lesions. **Caries Res.**, v.14, n.4, p.190-5, 1980.
3. ARENDS, J.; TEN BOSCH, J.J. Demineralization and remineralization evaluation techniques. **J. Dent. Res.**, v.71, n.1, p.924-33. 1992
4. BENELLI, E.M. et al. In situ anticariogenic potential of glass ionomer cement. **Caries Res.**, v.27, n.4, p.280-4, 1993.
5. BOMBONATTI, J.F.S. **Liberção de flúor e potencial anticariogênico de um cimento de ionômero de vidro modificado por resina em diferentes proporções pó/líquido, comparativamente a selantes.** Bauru, 2004. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.
6. BRIGHENTI, F.L. et al. In vitro evaluation of acidified toothpastes with low fluoride content. **Caries Res.**, v.40, n.3, p.239-44, 2006.
7. CARLSSON, A. et al. Pit and fissure sealing and mutans streptococci levels in saliva. **Am. J. Dent.**, v.5, n.6, p.280-2, 1992.
8. CARVALHO, A.S.; CURY, J.A. Fluoride release from some dental materials in different solutions. **Oper. Dent.**, v.24, n.1, p.14-9, 1999.

* Normas recomendadas para uso no âmbito da Universidade de São Paulo, com base no documento "Referências Bibliográficas: exemplos", emanado do Conselho Supervisor do Sistema Integrado de Bibliotecas da USP, em reunião de 20 de setembro de 1990.

9. COSTA, B. et al. Estudo comparativo da liberação de flúor de materiais dentários restauradores. **Rev. Odontol. Univ. São Paulo**, v.9, n.4, p.279-84, 1995.
10. CREANOR, S.L. et al. Fluoride uptake and release characteristics of glass ionomer cements. **Caries Res.**, v.28, n.5, p.322-8, 1994.
11. CRUZ, R.; ÖGAARD, B.; RÖLLA, G. Uptake of KOH-soluble and KOH-insoluble fluoride in sound human enamel after topical application of a fluoride varnish (Duraphat) or a neutral 2% NaF solution in vitro. **Scand. J. Dent. Res.**, v.100, n.3, p.154-8, 1992.
12. CURY, J.A. et al. Composition of dental plaque formed in the presence of sucrose and after its interruption. **Braz. Dent. J.**, v.14, n.3, p.147-52, 2003.
13. CURY, J.A. et al. Effect of a calcium carbonate-based dentifrice on in situ enamel remineralization. **Caries Res.**, v.39, n.3, p.255-7, 2005.
14. CURY, J.A. et al. Effect of dentifrice containing fluoride and/or baking soda on enamel demineralization / remineralization: an in situ study. **Caries Res.**, v.35, n.2, p.106-10, 2001.
15. CURY, J.A. et al. The importance of fluoride dentifrices to the current dental caries prevalence in Brazil. **Braz. Dent. J.**, v.15, n.3, p.167-74, 2004.
16. CURY, J.A.; REBELLO, M.A.B.; DEL BEL CURY, A.A. *In situ* relationship between sucrose exposure and the composition of dental plaque. **Caries Res.**, v.31, n.5, p.356-60, 1997.
17. DELBEM, A.C.B. et al. Fluoride release / recharge from restorative materials – effect of fluoride gels and time. **Oper. Dent.**, v.30, n.6, p.690-5, 2005.
18. DIONYSOPOULOS, P. et al. Secondary caries formation in vitro around fluoride-releasing restorations. **Oper. Dent.**, v.19, n.5, p.183-8, 1994.

19. DIONYSOPOULOS, P.; KOTSANOS, N.; PATARIDOU, A. Fluoride release and uptake by four new fluoride releasing restorative materials. **J. Oral Rehabil.**, v.30, n.9, p.866-72, 2003.
20. DONLY, K.J.; KERBER, L. Demineralization inhibition at glass-ionomer cement and amalgam restoration margins in conjunction with additional fluoride regimens. **Spec. Care Dent.**, v.19, n.1, p.24-8, 1999.
21. DUGGAL, M.S. et al. Enamel demineralization *in situ* with various frequencies of carbohydrate consumption with and without fluoride toothpaste. **J. Dent. Res.**, v.80, n.8, p.1721-4, 2001.
22. DUNNE, S.M. et al. Caries inhibition by a resin-modified and a conventional glass ionomer cement, *in vitro*. **J. Dent.**, v.24, n.1-2, p.91-4, 1996.
23. EKSTRAND, J.; OLIVEBY, A. Fluoride in the oral environment. **Acta Odontol. Scand.**, v.57, n.6, p.330-3, 1999.
24. FEATHERSTONE, J.B.D. et al. Comparison of artificial carieslike lesions by quantitative microradiography and microhardness profiles. **Caries Res.**, v.17, n.5, p.385-91, 1983.
25. FEATHERSTONE, J.D.B. Modeling the caries-inhibitory effects of dental materials. **Dent. Mat.**, v.12, n.3, p.194-7, 1996.
26. FEATHERSTONE, J.D.B.; MELLBERG, J.R. Relative rates of progress of artificial carious lesions in bovine, ovine and human enamel. **Caries Res.**, v.15, n.1, p.109-14, 1981.
27. FEATHERSTONE, J.D.B.; ZERO, D.T. An *in situ* model for simultaneous assessment of inhibition of demineralization and enhancement of remineralization. **J. Dent. Res.**, v.71, Spec. Iss., p.804-10, 1992.

28. FORSS, H.; SEPPÄ, L. Prevention of enamel demineralization adjacent to glass ionomer filling materials. **Scand. J. Dent. Res.**, v.98, n.2, p.173-8, 1990.
29. GARCIA-GODOY, F.; SUMMITT, J.B.; DONLY, K.J. Caries progression of white spot lesions sealed with an unfilled resin. **J. Clin. Pediatr. Dent.**, v.21, n.2, p.141-3. 1997.
30. GOEPFERD, S.J.; OLBERDING, P. The effect of sealing white spot lesion progression in vitro. **Pediatr. Dent.**, v.11, n.1, p.14-6, 1989.
31. GONZALEZ, E.D.; YAP, A.U.; HSU, S.C. Demineralization inhibition of direct tooth-colored restorative materials. **Oper. Dent.**, v.29, n.5, p.578-85, 2004.
32. GORTON, J.; FEATHERSTONE, J.D.B. *In vivo* inhibition of demineralization around orthodontic brackets. **Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.**, v.123, n.1, p.10-4, 2003.
33. HARA, A.T. et al. Cariostatic effect of fluoride-containing restorative systems associated with dentifrices on root dentin. **J. Dent.**, v.30, n.5-6, p.205-12, 2002.
34. HATIBOVIC-KOFMAN, S.; KOCH, G. Fluoride release from glass ionomer cement *in vivo* and *in vitro*. **Swed. Dent. J.**, v.15, n.6, p.253-8, 1991.
35. HATIBOVIC-KOFMAN, S.; KOCH, G.; EKSTRAND, J. Glass ionomer materials as a rechargeable fluoride-release system. **Int. J. Paediatr. Dent.**, v.7, n.2, p.65-73, 1997.
36. HICKS, M.J.; FLAITZ, C.M. Caries formation *in vitro* around a fluoride-releasing pit and fissure sealant in primary teeth. **J. Dent. Child.**, v.65, n.9, p.164-8, 1998.
37. HICKS, M.J.; FLAITZ, C.M. Caries-like lesion formation around fluoride-releasing sealant and glass ionomer. **Am. J. Dent.**, v.5, n.6, p.329-34, 1992.

38. HICKS, M.J.; FLAITSZ, C.M. Occlusal caries formation *in vitro*: comparison of resin-modified glass ionomer with fluoride-releasing sealant. **J. Clin. Pediatr. Dent.**, v.24, n.3, p.309-14, 2000.
39. HICKS, M.J.; FLAITSZ, C.M.; GARCIA- GODOY, F. Fluoride-releasing sealant and caries-like enamel lesion formation *in vitro*. **J. Clin. Pediatr. Dent.**, v.24, n.3, p.215-9, 2000.
40. HICKS, M.J.; FLAITSZ, C.M.; SILVERSTONE, L.M. Fluoride uptake *in vitro* of sound and caries-like lesions of enamel from fluoride solutions of relatively low concentrations. **J. Pedod.**, v.11, n.1, p.47-61, 1986.
41. HIGHAM, S.M. et al. The use of *in situ* models and QLF for the study of coronal caries. **J. Dent.**, v.33, n.3, p.235-52. 2005.
42. HYUN KOO, R.; CURY, J.A. Soluble calcium / SMFP dentifrice: effect on enamel fluoride uptake and remineralization. **Am. J. Dent.**, v.11, n.4, p.173-6, 1998.
43. IJIMA, Y. et al. *In vitro* remineralization of *in vivo* and *in vitro* formed enamel lesions. **Caries Res.**, v.33, n.3, p.200-13, 1999.
44. JENSEN, M.E. Effects of a fluoride-releasing fissure sealant on artificial enamel caries. **Am. J. Dent.**, v.3, n.2, p.75-8, 1990.
45. KIELBASSA, A.M. et al. Initial *in situ* secondary caries formation: effect of various fluoride-containing restorative materials. **Oper. Dent.**, v.28, n.6, p.765-72, 2003.
46. KIELBASSA, A.M.; MÜLLER, U.; GARCIA-GODOY, F. *In situ* study on the caries-preventive effects of fluoride-releasing materials. **Amer. J. Dent.**, v.12, p.13-4, 1999. Special issue.
47. KOCH, G; HATIBOVIC-KOFMAN, S. Glass ionomer cements as a fluoride release system *in vivo*. **Swed. Dent. J.**, v.14, n.6, p.267-73, 1990.

48. KOULOURIDES, T. et al. An intraoral model used for studies of fluoride incorporation in enamel. **J. Oral Pathol.**, v.3, n.4, p.185-96, 1974.
49. KRAMER, P.F. et al. Selantes oclusais: revisão da literatura. **Rev. Assoc. Paul. Cirurg. Dent.**, v.45, n.3, p.473-7, 1991.
50. LAGERWEIJ, M.D.; ten CATE, J.M. Remineralization of enamel lesions with daily applications of a high-concentration fluoride gel and a fluoridated toothpaste: an in situ study. **Caries Res.**, v.36, n.4, p.270-4, 2002.
51. LOBO, M.M. et al. Fluoride-releasing capacity and cariostatic effect provided by sealants. **J. Oral Sci.**, v.47, n.1, p.35-41, 2005.
52. LYNCH, R.J.M.; NAVADA, R.; WALIA, R. Low-levels of fluoride in plaque and saliva and their effects on the demineralization na remineralization of enamel; role of fluoride toothpastes. **Int. Dent. J.**, v.54, n.3, p.304-9, 2004.
53. MAIA, L.C. et al. Effect of a combination of fluoride dentifrice and varnish on enamel surface rehardening and fluoride uptake *in vitro*. **Eur. J. Oral Sci.**, v.111, n.1, p.68-72, 2003.
54. MARTINHON, C.C. et al. Effect of iron on bovine enamel and on the composition of the dental biofilm formed 'in situ'. **Arch. Oral Biol.**, v.51, n.6, p.471-5. 2006.
55. MEJÀRE, I. et al. Caries-preventive effect of fissure sealants: a systematic review. **Acta Odontol. Scand.**, v.61, n.6, p.321-30, 2003.
56. MEJÀRE, I.; MJÖR, I.A. Glass ionomer and resin-based fissure sealants: a clinical study. **Scand. J. Dent. Res.**, v.98, n.4, p.345-50, 1990.
57. MUELLER, J. et al. Inhibition of lesion progression by the penetration of resins in vitro: influence of the application procedure. **Oper. Dent.**, v.31, n.3, p.338-45, 2006.

58. ÖGAARD, B. CaF₂ formation: cariostatic properties and factors of enhancing the effect. **Caries Res.**, v.35, p.40-4, 2001. Supplement 1.
59. ÖGAARD, B. et al. Relative cariostatic effects of KOH-soluble and KOH-insoluble fluoride fluoride *in situ*. **J. Dent. Res.**, v.69, n.8, p.1505-7. 1990.
60. ÖGAARD, B.; ROLLA, G. Intra-oral models: comparison of *in situ* substrates. **J. Dent. Res.**, v.71, p.920-3, 1992. Special issue.
61. OLIVEIRA, F.S. **Selamento de fossas e fissuras: Avaliação longitudinal da retenção e da eficácia na inibição da cárie oclusal do primeiro molar permanente.** Bauru, 2002. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de Bauru – Universidade de São Paulo.
62. PAES LEME, A.F. et al. *In situ* effect of frequent sucrose exposure on enamel demineralization and on plaque composition after APF application and F dentifrice use. **J. Dent. Res.**, v.83, n.1, p.71-5, 2004.
63. PAIM, S. et al. Development and control of caries lesions on the occlusal surface using a new *in vivo* caries model. **Pesqui. Odontol. Bras.**, v.17, n.2, p.189-95. 2003.
64. PASCOTTO, R.C. et al. *In vivo* effect of a resin-modified glass ionomer cement on enamel demineralization around orthodontic brackets. **Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.**, v.125, n.1, p.36-41, 2004.
65. PECHARKI, G.D. et al. Effect of sucrose containing iron (II) on dental biofilm and enamel demineralization *in situ*. **Caries Res.**, v.39, n.2, p.123-9, 2005.
66. PETZOLD, M. The influence of different fluoride compounds and treatment conditions on dental enamel: a descriptive *in vitro* study of the CaF₂ precipitation and microstructure. **Caries Res.**, v.35, p.45-51, 2001. Supplement 1.

67. PIN, M.L.G. In vitro evaluation of the cariostatic action of esthetic restorative materials in bovine teeth under severe cariogenic challenge. **Oper. Dent.**, v.30, n.3, p.368-75, 2005.
68. QUEIROZ, C.S. et al. Avaliação de um modelo de ciclagem de pH na remineralização do esmalte e no efeito dose-resposta. **Anais da 20^o Reunião Anual da SBPqO**, 2003; 17 suplemento 2: 221.
69. RODRIGUES, J.A. et al. Visual evaluation of *in vitro* cariostatic effect of restorative materials associated with dentifrices. **Braz. Dent. J.**, v.16, n.2, p.112-8, 2005.
70. SÄRNER, B. et al. Effect of fluoridated toothpicks and dental flosses on enamel and dentine and on plaque composition *in situ*. **Caries Res.**, v.39, n.1, p.52-9, 2005.
71. SCHÄFER, F.; RAVEN, S.J.; PARR, T.A. The effect of lesion characteristic on remineralization and model sensitivity. **J. dent. Res.**, v.71, p.911-13, 1992. Special issue.
72. SEPPÄ, L.; FORSS, H. Resistance of occlusal fissures to demineralization after of glass ionomer sealants in vitro. **Pediat. Dent.**, v.13, n.1, p.39-41, 1991.
73. SERRA, M.C.; CURY, J.A. The in vitro effect of glass-ionomer cement restoration on enamel subjected to a demineralization and remineralization model. **Quintessence Int.**, v.23, n.2, p.143-7, 1992.
74. SERRA, M.C.; RODRIGUES JUNIOR, A.L. Potencial cariostático de materiais restauradores contendo flúor. **Rev. Assoc. Paul. Cirurg. Dent.**, v.52, n.5, p.359-63, 1998.

75. SHORE, R.C. et al. Investigation to evaluate and validate the Leeds in situ device for the study of enamel remineralization in vivo. **J. Dent.**, v.29, n.6, p.415-9, 2001.
76. SIMONSEN, R.J. Pit and fissure sealant: review of the literature. **Pediatr. Dent.**, v.24, n.5, p.393-414, 2002.
77. SMALES, R.J.; GAO, W. *In vitro* caries inhibition at the enamel margins of glass ionomer restoratives developed for ART approach. **J. Dent.**, v.28, n.4, p.249-56, 2000.
78. SONJU CLASEN, A.B.S.; OGAARD, B. Experimental intra-oral caries models in fluoride research. **Acta Odontol. Scand.**, v.57, n.6, p.334-41, 1999.
79. TAM, L.E.; CHAN, G.P.L.; YIM, D. *In vitro* caries inhibition effects by conventional and resin-modified glass-ionomer restorations. **Oper. Dent.**, v.22, n.1, p.4-14, 1997.
80. TANTBIROJN, D.; DOUGLAS, W.H.; VERSLUIS, A. Inhibitive effect of a resin-modified glass ionomer cement on remote enamel artificial caries. **Caries Res.**, v.31, n.4, p.275-80. 1997.
81. ten CATE, J.M. *In vitro* studies on the effects of fluoride on de- and remineralization. **J. Dent. Res.**, v.69, p.614-9, 1990. Special issue.
82. ten CATE, J.M.; FEATHERSTONE, J.D. Mechanistic aspects of the interactions between fluoride and dental enamel. **Crit. Rev. Oral Biol. Med.**, v.2, n.3, p.283-96, 1991.
83. ten CATE, J.M.; van LOVEREN; C. Fluoride mechanisms. **Dent. Clin. North Amer.**, v.43, n.4, p.713-42, 1999.
84. ten CATE; J.M. Review on fluoride, with special emphasis on calcium fluoride mechanisms in caries prevention. **Eur. J. Oral Sci.**, v.105, n.5, p.461-5, 1997.

85. TENUTA, L.M.A. et al. Effect of plaque accumulation and salivary factors on enamel demineralization and plaque composition *in situ*. **Pesqui. Odontol. Bras.**, v.17, n.4, p.326-31, 2003.
86. TENUTA, L.M.A. et al. The short-term *in situ* model to evaluate the anticariogenic potential of ionomeric materials. **J. Dent.**, v.33, n.6, p.491-7, 2005.
87. TORPPA-SAARINEN, E.; SEPPÄ, L. Short-term retention of glass-ionomer cement fissure sealants. **Proc. Finn. Dent. Soc.**, v.86, n.2, p.83-8, 1990.
88. TWETMAN, S. et al. Caries-preventive effect of fluoride toothpaste: a systematic review. **Acta Odontol. Scand.**, v.61, n.6, p.331-40, 2003.
89. TWETMAN, S. et al. Cariostatic effect of glass ionomer retained orthodontic appliances. **Swed. Dent. J.**, v.21, n.5, p.169-75, 1997.
90. van DIJKEN, J.W.V. et al. Fluoride and Mutans Streptococci levels in plaque on aged restorations of resin-modified glass ionomer cement, compomer and resin composite. **Caries Res.**, v.31, n.5, p.379-83, 1997.
91. van DORP, C.S.E.; EXTERKATE, R.A.M.; ten CATE, J.M. The effect of dental probing on subsequent enamel demineralization. **J. Dent. Child.**, v.55, n.5, p.343-7, 1988.
92. van DUINEN, R.N.B. et al. *In situ* transformation of glass-ionomer into an enamel-like material. **Am. J. Dent.**, v.17, n.4, p.223-7, 2004.
93. VIEIRA, A.L.F. **Comportamento clínico de cimentos de ionômero de vidro utilizados como selante oclusal por meio da técnica do tratamento restaurador atraumático (ART)**. Bauru, 2004. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de Bauru – Universidade de São Paulo.

94. VIEIRA, A.R.; SOUZA, I.P.R.; MODESTO, A. Fluoride uptake and release by composites and glass ionomers in high caries challenge situation. **Am. J. Dent.**, v.12, n.1, p.14-8, 1999.
95. WHITFORD, G.M. et al. Plaque fluoride concentrations are dependent on plaque calcium concentrations. **Caries Res.**, v.36, n.4, p.256-65, 2002.
96. WHITFORD, G.M. et al. Plaque fluoride concentrations in a community without water fluoridation: effects of calcium and use of a fluoride or placebo dentifrice. **Caries Res.**, v.39, n.2, p.100-7, 2005.
97. WIEGAND, A.; BUCHALLA, W.; ATTIN, T. Review on fluoride-releasing restorative materials – fluoride release and uptake characteristics, antibacterial activity and influence on caries formation. **Dent. Mat.**, Apr. 2006. /No prelo/
98. YAMAMOTO, K. et al. Effect of plaque fluoride released from glass-ionomer cement on enamel remineralization in situ. **Caries Res.**, v.39, n.2, p.157-60, 2005.
99. ZERO, D.T. et al. Comparison of the iodide permeability test, the surface microhardness test, and mineral dissolution of bovine enamel following acid challenge. **Caries Res.**, v.24, n.3 p.181-8, 1990.
100. ZERO, D.T. *In situ* caries models. **Adv. Dent. Res.**, v.9, n.3, p.214-30, 1995.



**Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru**

FOB USP

Abstract

Abstract

Effects of a glass ionomer cement and a resin sealant on bovine demineralized enamel, submitted or not to a cariogenic challenge – *in situ* study

This *in situ* study evaluated on demineralized bovine enamel, submitted or not to a cariogenic challenge (dental biofilm), the effects of a high viscosity glass ionomer cement (HV-GIC) and a resin sealant in comparison with a control group (without sealing). Twelve volunteers wore a palatal appliance containing 12 blocks of demineralized bovine enamel mounted (2 by 2) to simulate a fissure in a “V” shape and sealed with: HV-GIC (Ketac™ Molar Easymix), resin sealant (Delton) or maintained with no sealing material (control). Half of specimens was submitted to a cariogenic challenge by dripping a 20% sucrose solution 8 times/day besides a fluoride dentifrice solution (1 g : 3 mL) 3 times/day. The others specimens only received a dentifrice solution. After 14 days, the concentration of fluoride in dental biofilm and enamel was evaluated as well as the mineral content (cross-sectional microhardness) of the enamel. The concentration of fluoride in dental biofilm was higher with HV-GIC (Friedman ANOVA, $p < 0.05$) in comparison with resin sealant and control group. The concentration of loosely-bound fluoride on enamel was significant (ANOVA and Tukey test, $p < 0.05$) specially without a cariogenic challenge for HV-GIC, while it was similar for the resin sealant and control group. Concerning the mineral content, ANOVA and Tukey test ($p < 0.05$) detected differences among the

groups on the superficial layers of the enamel. Under the dental biofilm influence the mineral content was always higher on the enamel associated with HV-GIC than with resin sealant and the control group presented intermediary results. Without dental biofilm the control group presented a tendency of a higher mineral content. The results suggest that HV-GIC applied on a demineralized surface and under the dental biofilm influence has shown a cariostatic potential by its ability to give fluoride to the dental structure and biofilm reducing the demineralization effects.

Key words: Glass ionomer cements. Pit and fissure sealants. Dental enamel. Tooth remineralization. Tooth demineralization.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)