

ROBERTA DALCICO
CIRURGIÃ-DENTISTA

**LIBERAÇÃO DE FLÚOR E ALUMÍNIO E EFEITO ANTICARIOGÊNICO DE
CIMENTOS DE IONÔMERO DE VIDRO - ESTUDO "IN SITU"**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia – Área de Cariologia, da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP, como requisito para obtenção do título de Mestre.

Piracicaba – SP

2002

i

UNICAMP

ROBERTA DALCICO
CIRURGIÃ-DENTISTA

**LIBERAÇÃO DE FLÚOR E ALUMÍNIO E EFEITO ANTICARIOGÊNICO DE
CIMENTOS DE IONÔMERO DE VIDRO - ESTUDO "IN SITU"**

*Este exemplar foi devidamente corrigido,
de acordo com a Resolução CPG-036/93
CPG, 27/03/02*

Cynthia Pereira Machado Tabchoury
Assinatura do Orientador

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia – Área de Cariologia, da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP, como requisito para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Cíntia Pereira Machado Tabchoury

Banca examinadora:

Prof. Dr. Lourenço Correr Sobrinho
Prof^ª. Dra. Renata Corrêa Pascotto

Piracicaba – SP

2002

iii

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

UNIDADE	Be
Nº CHAMADA	T/UNICAMP
	D151L
V	EX
TRABO BC.	48869
PROD.	16-837102
C	D
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	08/05/02
Nº CPD	

CM00167119-5

BIB ID 239294

Ficha Catalográfica

D151L Dalcico, Roberta.
 Liberação de flúor e alumínio e efeito anticariogênico de cimentos de ionômero de vidro – estudo “in situ”. / Roberta Dalcico. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2002.
 xxiv, 153p. : il.

Orientadora : Profª Drª Cíntia Pereira Machado Tabchoury.
 Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Placas dentárias. 2. Cáries – Prevenção. 3. Materiais dentários. I. Tabchoury, Cíntia Pereira Machado. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Marilene Girello CRB/8-6159, da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP.



FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de MESTRADO, em sessão pública realizada em 18 de Fevereiro de 2002, considerou a candidata ROBERTA DALCICO aprovada.

1. Profa. Dra. CINTHIA PEREIRA MACHADO TABCHOURY Cynthia Machado Tabchoury

2. Profa. Dra. RENATA CORRÊA PASCOTTO Renata Pascotto

3. Prof. Dr. LOURENCO CORRER SOBRINHO Luiz Carlos

200219601

DEDICO ESTE TRABALHO...

À minha família

Aos meus pais **Clarice Dalcico** e **Devandir Dalcico**. No papel de constantes mestres, sempre foram um exemplo de integridade, honestidade e dedicação.

Ao meu irmão, **Luiz Fernando Dalcico**, pela sua alegria contagiante, pela amizade e pelo carinho, que me impulsionam na busca dos mais inatingíveis sonhos.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À professora Dra. **Cíntia Tabchoury**, por ter me proporcionado incentivo ao crescimento pessoal e profissional. Agradeço pela participação ativa, direta e segura, mostrando dedicação e inestimável apoio em todos os momentos.

Ao professor Dr. **Jaime Cury**, pelo exemplo de competência, seriedade e dinamismo. Obrigada pela oportunidade de estar sempre aprendendo algo novo, pela troca de idéias, pelo apoio constante e pela atenção de todos os dias.

AGRADECIMENTOS

Ao Magnífico Reitor da UNICAMP, **Prof. Dr. Hermano de Medeiros Ferreira Tavares**.

Ao **Prof. Dr. Antônio Wilson Sallum**, Diretor da FOP - UNICAMP.

À **Prof^a. Dr^a. Altair A. Del Bel Cury**, Coordenadora Geral da Pós-Graduação da FOP – UNICAMP, pela prestimosa colaboração em todas as fases do experimento, pelas sugestões, pela agradável convivência e pelo exemplo de competência profissional.

Ao **Prof. Dr. Pedro Luís Rosalen**, Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, pela ajuda valiosa nos procedimentos laboratoriais, pelas oportunidades de aprendizado científico e pela sincera amizade.

Ao **Prof. Dr. Jaime A. Cury**, Coordenador da Área de Cariologia, pela colaboração em todos os momentos.

Aos Professores **Dr. Reginaldo Bruno Gonçalves, Dr. Jaime A. Cury e Dra. Altair A. Del Bel Cury**, pelas valiosas sugestões durante o processo de qualificação.

À **Prof^a. Gláucia Maria Bovi Ambrosano**, pela orientação nas análises estatísticas.

Aos Professores do Programa de Pós-graduação em Odontologia, Área de Cariologia da FOP-UNICAMP.

Ao **Prof. Dr. Simonides Consani**, do Departamento de Odontologia Restauradora, Área de Materiais Dentários da FOP – UNICAMP, pela colaboração.

À **Profª. Dra. Giselle Maria Marchi Baron**, da Área de Dentística, pela atenção durante a minha passagem pelo Laboratório de Dentística

Ao **Prof. Luiz André Freire Pimenta**, pela colaboração na documentação fotográfica.

Ao **Prof. Dr. Francisco Krug**, do Departamento de Química Analítica do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), pela colaboração e atenção nas dosagens de alumínio.

À **Sra. Sônia Maria Lichote**, Gerente de Desenvolvimento de Mercado da DFL, pela grande atenção, simpatia e pelo fornecimento de materiais.

Às bibliotecárias da FOP – UNICAMP, **Marilene Girello e Heloísa Maria Cecotti**, pela colaboração e correção da lista de referências bibliográficas.

Aos técnicos do Laboratório de Bioquímica Oral da FOP – UNICAMP, **Mariza de Jesus Carlos Soares, Waldomiro Vieira Filho e José Alfredo da Silva**, pelo auxílio nos trabalhos laboratoriais, pela atenção, colaboração e amizade em todos os momentos.

Aos técnicos do Laboratório de Materiais Dentários, FOP – UNICAMP, **Selma e Marcos**, pela ajuda na utilização do Laboratório de Materiais Dentários.

À Secretária do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, **Maria Elisa dos Santos**, pela constante ajuda e atenção.

À Secretária do Departamento de Ciências Fisiológicas da FOP – UNICAMP **Shirlei Rosana M. Sbravati**, pela ajuda e atenção.

Às secretárias de Pós-Graduação, **Érica Alessandra Pinho** e **Sônia Lordello Arthur**, obrigada pela colaboração nos assuntos burocráticos.

À técnica do Laboratório de Prótese Parcial Removível da FOP – UNICAMP, **Joselena Casati Lodi**, por todo o apoio durante o processo de confecção dos aparelhos.

À **FAPESP**, pela concessão de bolsa de mestrado (Proc. 00/01474-6).

Aos professores **Haroldo Beltrão** e **Heloísa Helena Cunha Marques**, da Área de Dentística da Universidade Federal do Ceará, pelo incentivo desde o início das minhas atividades acadêmicas, por terem acreditado e confiado no meu trabalho e na minha capacidade.

Aos **examinadores**, pela competência e paciência na avaliação visual.

Aos queridos e tolerantes **voluntários**, sem os quais o experimento jamais seria possível. Mais uma vez obrigada pela paciência e valiosíssima colaboração.

Aos amigos de pós-graduação **Guto** e **Anderson**, pela ajuda na utilização do Laboratório de Dentística e pelas dicas na condução da avaliação visual.

Ao colega **Fernando**, do CENA, pela ajuda e dedicação nas dosagens de alumínio e pelas longas e produtivas conversas.

À querida Família do Laboratório de Bioquímica Oral, **Adriana Franco Paes Leme, Rosane Orth Argenta, Celso S. Queiroz, Mitsue Fujimaki Hayacibara, Ynara B. O. Lima, Léa M. Bezerra de Menezes, Nilza V. Gonçalves, Silvana B. Francisco, Paulo Perez**, pela amizade e companheirismo constantes, pela ajuda nos momentos difíceis e pela maravilhosa convivência.

À amiga **Adriana**, pela ajuda indispensável em todos os momentos (experimentais e não experimentais) e pela amizade demonstrada desde o primeiro dia no Laboratório de Bioquímica.

À colega **Lidiany**, pelo precioso auxílio durante a confecção das restaurações e a documentação fotográfica. Obrigada não apenas pela paciência, como também pela ajuda nas horas difíceis e pelos momentos de descontração proporcionados nesses dois anos.

À amiga **Carol**, pela essencial ajuda na condução da pesquisa e pela amizade maravilhosa que me cativa cada vez mais.

Aos amigos da iniciação científica do Laboratório de Bioquímica Oral **Carla, Carolina, Magda, Lília, Renato, Danilo, Tatiana, Gustavo, Rodrigo, Daniela**, pela constante ajuda, amizade e pela maravilhosa convivência.

Aos colegas e amigos de Pós-Graduação da Área de Cariologia **Andréa, André, Fábio Carlos, Fábio Mialhe, Iriana, Lidiany, Luciane, Marcelle, Márcia, Maria José, Vanessa, Viviane**, pelo convívio, apoio e amizade.

Aos colegas e amigos dos outros programas de Pós-Graduação **Simone, Flávia, Alexandre (Xandão), Franco, Dani e Leonardo (Leo)**, pela agradável amizade conquistada.

À minha grande amiga **Leylha**, que mesmo estando longe, nunca deixou de me presentear com sua sensacional amizade.

Ao **Ferdi**, por todo apoio, carinho e compreensão. Por me proporcionar, através da sua presença iluminada, maravilhosos momentos de convivência, que se tornam melhores a cada dia.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

Meus sinceros agradecimentos

*“O importante é manter a mente quieta, a
espinha ereta e o coração tranqüilo...”*

SUMÁRIO

RESUMO	1
ABSTRACT	3
1. INTRODUÇÃO	5
2. REVISÃO DA LITERATURA	9
2.1. Utilização do flúor;	9
2.2. Atividade antimicrobiana do flúor;	11
2.3. Utilização dos cimentos de ionômero de vidro (CIVs);	14
2.4. Liberação de flúor e atividade anticariogênica dos CIVs;	20
2.5. Liberação de alumínio pelos CIVs;	32
2.6. Atividade antimicrobiana dos CIVs.	38
3. PROPOSIÇÃO	55
4. MATERIAIS E MÉTODOS	57
4.1. Delineamento experimental	57
4.2. Aspectos éticos	59
4.3. Fase preparatória	60
4.4. Fase clínica	65
4.5. Fase laboratorial	66
4.6. Análise estatística	83

5. RESULTADOS	87
5.1. Composição bioquímica da placa dental	87
5.2. Composição microbiológica da placa dental	91
5.3. Análise de microdureza	95
5.4. Análise visual	102
5.5. Correlação e regressão	103
6. DISCUSSÃO	106
6.1. Utilização de modelos de estudo <i>in situ</i>	106
6.2. Análise bioquímica da placa dental	109
6.3. Análise microbiológica da placa dental	116
6.4. Análise da formação de cárie secundária	120
7. CONCLUSÃO	125
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	127
ANEXO 1	141
ANEXO 2	143
ANEXO 3	149
ANEXO 4	151
ANEXO 5	153

RESUMO

Vários trabalhos *in vitro* e *in vivo* mostram que os cimentos de ionômero de vidro (CIVs) são capazes de diminuir cáries recorrentes. Além disso, alguns estudos têm sugerido que esses materiais podem apresentar efeito inibitório sobre a microbiota cariogênica. Tal efeito tem sido atribuído a alguns componentes liberados pelo material, entre eles flúor (F) e alumínio (Al). Desta maneira, o objetivo deste estudo foi analisar bioquímica e microbiologicamente a placa formada sobre dois cimentos de ionômero de vidro, bem como avaliar os efeitos da liberação de F e Al na proporção de estreptococos do grupo mutans e na formação de cárie secundária. Para tal, 12 voluntários participaram deste estudo cruzado e duplo-cego, realizado em 3 etapas de 21 dias. Blocos de esmalte dental humano foram restaurados com CIV convencional (Ketac-fil) ou com CIV modificado por resina (Vitremmer). Adicionalmente, resina (Z-100) foi usada como controle negativo. Aparelhos intra-orais palatinos, contendo quatro blocos de esmalte restaurados com um dos materiais, foram confeccionados para cada voluntário. Durante o período experimental, os voluntários usaram dentifrício não-fluoretado e gotejaram solução de sacarose a 20% sobre os blocos dentais, oito vezes ao dia. Ao final de cada fase, os níveis de F, Al, cálcio (Ca), fósforo (P) e polissacarídeo insolúvel em água (PI) e as proporções de estreptococos do grupo

mutans foram avaliados na placa dental coletada. Em acréscimo, o desenvolvimento de cárie secundária foi avaliado quantitativamente por meio da determinação de microdureza no esmalte adjacente às restaurações e qualitativamente por inspeção visual. Os resultados não mostraram diferenças estatisticamente significativas para as concentrações de F, Al, PI, Ca e P na placa dental, bem como para a proporção de estreptococos do grupo mutans. Por outro lado, diferenças significativas foram encontradas para a análise de microdureza e para a avaliação visual, indicando que ambos os CIVs foram capazes de diminuir a perda mineral no esmalte adjacente às restaurações. Conclui-se, portanto, que os CIVs inibiram o desenvolvimento de cárie secundária, embora - nas condições do presente estudo *in situ* - não tenham induzido mudanças na composição bioquímica e microbiológica da placa.

ABSTRACT

Several studies *in vitro* and *in vivo* show that glass ionomer cements (GICs) are able to reduce secondary caries. Besides, some studies have been suggesting that GICs can present inhibitory effect on cariogenic microbiota. Such effect has been attributed to some components released from the material, like fluoride (F) and aluminum (Al). Thus, the purpose of this study was to analyze biochemically and microbiologically dental plaque formed on two GICs, as well as to evaluate the effects of F and Al release on the proportion of mutans streptococci and on the formation of secondary caries. For such, twelve volunteers participated in this crossover double-blind study, performed in 3 phases of 21 days. Human enamel blocks were restored with a conventional GIC (Ketac-fil) or with a resin modified GIC (Vitremer). In addition, a resin (Z-100) was used as negative control. Intra-oral palatal appliances, containing four enamel blocks restored with one of the materials, were constructed for each volunteer. During the experimental period, the volunteers used fluoride-free dentifrice and dripped a 20% sucrose solution onto the dental blocks, eight times a day. At the end of each phase, the levels of F, Al, calcium (Ca), phosphorus (P), water-insoluble polysaccharide (WIP) and mutans streptococci proportion were assessed in dental plaque. In addition, the formation of secondary caries was evaluated quantitatively through the determination of

microhardness in enamel around the restorations, and qualitatively by visual inspection. The results did not show significant differences for the concentrations of F, Al, WIP, Ca and P in the plaque, as well as for the proportion of mutans streptococci. On the other hand, significant differences were found for the microhardness analysis and for the visual evaluation, indicating that both GICs were able to reduce the mineral loss in the enamel around the restorations. We can conclude, therefore, that GICs inhibited the development of secondary decay, although – in the conditions of the present *in situ* study – such materials have not induced changes in the biochemical and microbiological composition of dental plaque.

1. INTRODUÇÃO

Desde que as primeiras associações entre uso do flúor e diminuição na prevalência de cárie foram relatadas (DEAN et al., 1939), vários esforços têm sido realizados para se ampliar a disponibilidade desse elemento às populações. Além dos meios convencionais de consumo e utilização de flúor - como, por exemplo, água fluoretada e dentifrícios fluoretados - materiais dentários com potencial de liberação deste elemento para o meio bucal têm se mostrado também uma alternativa viável à prevenção de cáries (HICKS et al., 1986, FORSS & SEPPÄ, 1990, KOTSANOS, 2001). Tal efeito reveste-se de importância ainda maior se levarmos em consideração que os procedimentos de troca de restaurações ainda respondem por grande parte do tempo clínico dos cirurgiões-dentistas, principalmente com o objetivo de limitar os processos de cárie secundária (KIDD et al., 1992)

Dentro da gama cada vez mais ampla de materiais odontológicos restauradores aos quais vêm sendo atribuído algum efeito preventivo, os cimentos de ionômero de vidro possuem destaque especial, graças à comprovada capacidade que possuem de interferir com os mecanismos físico-químicos de perda mineral tanto em esmalte como em dentina (GILMOUR et al., 1997; NAGAMINE et al., 1997; DIONYSOPOULOS et al., 1998). Já é bem estabelecido

que esses cimentos podem liberar fluoreto por prolongados períodos de tempo e, adicionalmente, reincorporar esse elemento através de aplicações tópicas, mantendo, dessa maneira, sua característica preventiva (FORSTEN, 1990; FORSTEN, 1991; CREANOR et al., 1994). Em virtude da sua reconhecida capacidade de atuar nos episódios de desmineralização/remineralização, tais materiais estão, inclusive, indicados para pacientes de alto risco de cárie (SERRA & CURY, 1992).

Além de interferir na dinâmica do processo de cárie, o cimento de ionômero também apresenta ação antibacteriana, podendo atuar na ecologia da placa dental adjacente às restaurações (BENELLI et al., 1993). Sendo assim, vários trabalhos *in vitro* e *in vivo* relatam essa capacidade de inibição de microrganismos cariogênicos (FORSS et al., 1991; SEPPÄ et al., 1993; LOYOLA-RODRIGUEZ et al., 1994). Alguns autores têm correlacionado essa propriedade com a liberação de flúor apresentada pelos ionômeros (SĚPPA et al., 1992; FRIEDL et al., 1997), já que as evidências indicam que o elemento flúor pode interferir direta e indiretamente sobre os microrganismos produtores de ácidos na placa dental (HAMILTON, 1990).

Por outro lado, foi verificado que os cimentos ionoméricos também liberam alumínio, e que esta liberação apresenta uma alta correlação positiva com a liberação de flúor (NAKAJIMA et al., 1997; SAVARINO et al., 2000). Dessa maneira, o alumínio também pode ser considerado um fator coadjuvante no efeito antimicrobiano dos ionômeros, já que uma potencialização do efeito do flúor em

presença de diferentes níveis de alumínio foi relatada por STURR & MARQUIS (1990) ao estudarem a inibição da ATPase de *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus casei*. Sendo assim, a liberação simultânea de flúor e alumínio, pelos materiais ionoméricos, poderia provocar um efeito inibitório potencializado sobre as bactérias cariogênicas da placa dental, resultando em maior efeito antimicrobiano, com conseqüente maior redução na progressão das lesões. Em acréscimo, analisando a liberação de F e Al de diferentes cimentos de ionômero de vidro e sua atividade antibacteriana *in vitro*, FUJIMAKI (2000) verificou que o CIV modificado (Vitremmer) liberou maiores quantidades de flúor e alumínio tanto em meio de ciclagem de pH quanto na placa experimental, quando comparado com um ionômero convencional (Ketac-fil). Adicionalmente, o cimento modificado também foi o material que apresentou o maior efeito antibacteriano.

Mesmo com toda a investigação a respeito do efeito dos CIV sobre as bactérias cariogênicas, os dados da literatura não são conclusivos em estabelecer que elementos contribuem para o potencial antimicrobiano dos ionômeros de vidro (DESCHEPPER et al., 1989). Em virtude da falta de estudos que correlacionem a associação F-Al com o efeito antimicrobiano e cariostático apresentado pelos CIVs, o presente trabalho se propõe, através de um delineamento *in situ*, avaliar a composição da placa dental formada sobre um CIV modificado (Vitremmer) e um CIV convencional (Ketac-fil) e o efeito da liberação de F e Al no potencial anticariogênico e antibacteriano desses cimentos.

2. REVISÃO DA LITERATURA

Com a finalidade de facilitar a compreensão e discussão do assunto, a revisão da literatura foi dividida nos itens descritos a seguir:

- 2.1. Utilização do flúor como agente anticariogênico;
- 2.2. Atividade antimicrobiana do flúor;
- 2.3. Utilização dos cimentos de ionômero de vidro (CIVs);
- 2.4. Liberação de flúor e atividade anticariogênica dos CIVs;
- 2.5. Liberação de alumínio pelos CIVs;
- 2.6. Atividade antimicrobiana dos CIVs.

2.1 UTILIZAÇÃO DO FLÚOR COMO AGENTE ANTICARIOGÊNICO

O efeito do flúor na redução das lesões cariosas vem sendo observado desde 1940, embora tenha sido difícil estabelecer um consenso sobre a explicação do efeito preventivo. Durante muitos anos a aplicação prática do flúor baseou-se na suposição de que a incorporação desse elemento no entrelaçado de apatita do esmalte conferiria ao mesmo uma resistência à dissolução ácida. Conseqüentemente, a alta ingestão de flúor durante a formação e mineralização

do dente resultaria em dentição rica em flúor que, presumivelmente, propiciaria resistência duradoura à lesão cariosa (THYLSTRUP & FEJERSKOV, 1995).

Entretanto, com o passar do tempo, as reais observações clínicas e experimentais mostraram que um alto conteúdo de flúor nos tecidos dentais duros era menos importante que concentrações constantes desse elemento nos fluidos orais. Assim, os conceitos modernos sobre o mecanismo de ação do flúor ressaltam o uso diário de fluoreto para estabelecer e manter uma concentração significativa na saliva e no fluido da placa, no intuito de controlar a dissolução do esmalte e de ativar a remineralização salivar (CURY, 2001).

Embora o uso do flúor isoladamente não impeça o desenvolvimento da cárie, apenas reduza sua progressão, o declínio da manifestação dessa doença tem sido atribuído ao emprego abrangente de uma ou mais formas de utilização do flúor. Dentre essas opções, os materiais restauradores liberadores de flúor podem servir como um meio de elevar as concentrações desse elemento na placa dental e saliva, até níveis em que o processo de cárie possa ser prevenido, mesmo em pacientes de alto risco (TEN CATE, 1999).

Adicionalmente, tem sido demonstrado que o fluoreto pode atuar em vários processos metabólicos das bactérias orais, além de interferir nos fenômenos físico-químicos de perda e ganho mineral pelas estruturas dentais. Sendo assim, os principais mecanismos de ação do flúor sobre as bactérias orais serão abordados no item que se segue.

2.2. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO FLÚOR

Um significativo número de trabalhos a respeito do efeito do F sobre vários processos bioquímicos em bactérias da placa dental tem sido realizado. As evidências atuais indicam que o elemento flúor interfere direta e indiretamente sobre os microrganismos produtores de ácidos no biofilme dental, podendo exercer grande influência no metabolismo energético, nos sistemas de transporte de açúcar e na manutenção da homeostase do microrganismo (HAMILTON & BOWDEN, 1996).

Uma vez presente na placa dental, a entrada do F na bactéria acontece sem gasto de energia e aumenta à medida que o pH diminui. Com a queda do pH ambiental, devido à formação de ácidos gerados a partir do metabolismo de carboidratos pelas bactérias acidogênicas, a diferença de pH intracelular e extracelular aumenta e o F (na forma de HF) entra e se acumula dentro da célula até que não exista mais esta diferença. A entrada do HF num citoplasma mais alcalino resulta na dissociação em H^+ e F^- , e essa dissociação do HF dentro da célula tem 2 efeitos principais e distintos na fisiologia microbiana: 1- a liberação de F^- , que poderá interagir com constituintes celulares, incluindo várias enzimas sensíveis a este elemento, causando a inibição da atividade destas e 2- liberação de H^+ , resultando na acidificação do citoplasma que, conseqüentemente, se tornará menos favorável para a atuação de enzimas essenciais (MARQUIS, 1995).

Um dos efeitos diretos do F sobre o metabolismo energético de bactérias relaciona-se com sua capacidade de interferir na via glicolítica. Esta via utiliza a glicose como fonte de energia (ATP) para uma cadeia de reações necessárias ao crescimento microbiano e a vários processos que mantêm a integridade celular e a homeostase, tendo como produto final os ácidos orgânicos, que vão fazer com que o pH da placa diminua e ocorra todo o processo de desmineralização do esmalte. O principal e mais estabelecido efeito do F na via glicolítica é a inibição da metaloenzima enolase. Essa enzima catalisa a reação do 2-fosfoglicerato em fosfoenolpiruvato e requer Mg^{++} para a sua atividade. O F, formando complexos com o Mg^{++} , remove-o do seu sítio catalítico, inibindo a atividade desta enzima. Conseqüentemente, esta inibição promoverá a redução da produção de ácidos e também de ATP pela célula (HAMILTON, 1990).

As bactérias acidogênicas possuem importantes mecanismos de manutenção da homeostase do pH intracelular durante o metabolismo que gera ácido. Isso acontece porque as enzimas celulares normalmente trabalham numa faixa estreita de pH e a acidificação do citoplasma reduziria severamente a atividade metabólica necessária para o crescimento e viabilidade dos microrganismos. Um dos mecanismos que os estreptococos orais possuem é o bombeamento de prótons para fora da célula através da bomba ATPase (uma proteína de membrana que bombeia os prótons para fora da célula utilizando para tal a energia provinda da hidrólise do ATP). Pesquisadores têm mostrado que a enzima ATPase é importante na manutenção da tolerância ácida de

microrganismos orais, permitindo que bactérias acidúricas, como o *S. mutans*, metabolizem carboidratos mesmo em baixo pH (HAMILTON & BUCKLEY, 1991). A ATPase de bactérias orais é diretamente inibida pelo F (SUTTON et al., 1987), e, como consequência, a homeostase do pH celular vai ser comprometida, principalmente em ambientes com valores baixos de pH. Em acréscimo, estudos sobre a ATPase têm indicado que a ação do F na inibição desta enzima é potencializada por diferentes concentrações de Al (STURR & MARQUIS, 1990). O segundo mecanismo pelo qual a célula bombeia os prótons para fora do citoplasma é o chamado efluxo do produto final, processo no qual os prótons são expulsos da célula juntamente com produtos metabólicos finais, como o ácido láctico.

O bombeamento de prótons para fora da célula promove um gradiente de pH entre o meio interno e externo, bem como um gradiente elétrico. A energia potencial gerada a partir desses gradientes, conhecida como força próton motriz, pode ser utilizada para fazer trabalhos biológicos, como a síntese de ATP, movimento flagelar, ou transporte de glicose para dentro da célula. Essas reações contribuem significativamente para a conservação da energia metabólica na bactéria e para a manutenção da homeostase do pH da célula. Assim, o F, inibindo a ATPase, dissipa o gradiente de pH, e bloqueia os processos dependentes da força próton motriz (HAMILTON, 1990).

Dentre os efeitos indiretos do flúor sobre os microrganismos orais, podemos destacar a inibição do transporte de açúcar para dentro da bactéria pelo

Sistema Fosfotransferase. Estreptococos orais e bactérias acidogênicas transportam glicose e outros mono e dissacarídeos via Sistema Fosfotransferase, um tipo de transporte ativo que utiliza a energia fornecida pelo fosfoenolpiruvato para promover o transporte e fosforilação do açúcar na superfície interna da membrana da bactéria, resultando na formação de glicose-6-P intracelular. Um estudo realizado com *S. salivarius* e *S. mutans* verificou que a adição de F a estas células promovia uma severa redução de glicose-6-P intracelular. Uma vez que as enzimas envolvidas no Sistema Fosfotransferase não são inibidas pelo F, atribuiu-se a inibição da formação da glicose-6-P à redução de fosfoenolpiruvato disponível, devido à inibição da enolase (HAMILTON, 1990).

Outros efeitos sobre as bactérias têm sido relatados por HAMILTON (1990), como por exemplo, inibição da síntese de glicogênio, inibição da síntese de outras metaloenzimas (fosfatases, pirofosfatases e fosforilases), entre outros.

2.3. UTILIZAÇÃO DOS CIMENTOS DE IONÔMERO DE VIDRO

Este item tem por objetivo relatar um breve histórico da utilização de materiais ionoméricos, bem como introduzir as características básicas desses cimentos e expor a classificação que será adotada neste trabalho.

Com o desenvolvimento dos cimentos de silicato em 1878, os profissionais da odontologia passaram a prover restaurações estéticas diretas a seus pacientes (FRUITS et al., 1996). O cimento surgiu a partir da idéia de se

misturar o ácido fosfórico com vidros cerâmicos solúveis em ácido, resultando em uma reação ácido-base que levava ao endurecimento do material. Apesar de apresentarem um coeficiente de expansão térmico-linear semelhante à estrutura dental, bem como a propriedade de liberação de flúor (que lhes conferia um efeito anticariogênico), tais cimentos ainda ficavam aquém daquele material idealizado pelos clínicos e pesquisadores. Além de serem considerados severos irritantes pulpares, problemas relacionados à própria química do material faziam com que a restauração se dissolvesse em alguns anos (PHILLIPS, 1993).

No intuito de superar algumas desvantagens e ao mesmo tempo manter as boas propriedades apresentadas pelos materiais disponíveis no mercado até então, WILSON e KENT desenvolveram o cimento de ionômero de vidro no início dos anos 70. Tal material, também conhecido pelo nome de polialceonato de vidro, pode ser considerado um híbrido dos cimentos de silicato e de poliacrilato de zinco e sua constituição baseia-se em um pó de vidro de fluoraluminossilicato de cálcio e de um líquido formado por uma solução aquosa de ácidos poliacrílico e itacônico (WILSON & KENT, 1972). A composição do ionômero de vidro original é dada na tabela 1.

Tabela 1. Composição química do pó do cimento original, G-200 (WILSON & McLEAN, 1988)

ESPÉCIE	COMPOSIÇÃO (%)
SiO ₂	30,1
Al ₂ O ₃	19,9
AlF ₃	2,6
CaF ₂	34,5
NaF	3,7
AlPO ₄	10,0

A despeito de algumas mudanças ocorridas na formulação do cimento desde sua introdução, os ionômeros modernos seguem um processo de presa similar, que se baseia em uma reação ácido-base, que é complexa e acontece em vários estágios. Inicialmente os íons de hidrogênio do ácido poliacrílico causam a extração de íons metálicos (Na⁺, Ca⁺⁺ e Al⁺⁺⁺) da superfície do pó de vidro, deixando um hidrogel de sílica. Os íons cálcio são extraídos primeiramente, formando um sal de policarboxilato de cálcio que causa a geleificação e a presa inicial do material. Os sais de alumínio, que se formam mais lentamente, são responsáveis pelo endurecimento final do cimento. O ionômero consiste, portanto, de partículas de vidro não reagidas cobertas com um gel de sílica e embebidas em uma matriz de um polísal (McLEAN & WILSON, 1977).

Esta complexa e prolongada reação de presa representou um grande problema no uso dos primeiros cimentos e permanece até hoje em menor extensão. Estes materiais são bastante sensíveis a qualquer contaminação da mistura durante os estágios iniciais de reação, quando os sais de cálcio estão sendo formados. Adicionalmente, tais cimentos estão susceptíveis à desidratação, até que a reação seja completada, podendo ficar inaptos para resistir à sinérese até 24 horas após a manipulação (MOUNT, 1981).

Como mencionado anteriormente, os cimentos de ionômero de vidro reúnem algumas das vantagens já observadas em seus precursores (silicato e policarboxilato). Sendo assim, uma das boas propriedades dos cimentos de ionômero de vidro diz respeito à sua capacidade de aderir às estruturas dentais. Como nos cimentos de policarboxilato, os CIVs unem-se à dentina e ao esmalte através de atração iônica e polar (adesão físico-química). Os íons de poliacrilato reagem com a estrutura da apatita, de modo que o cálcio e o fosfato do dente funcionam como uma ponte entre o material e os tecidos mineralizados (WILSON et al., 1983). Há um consenso de que o uso de uma solução de ácido poliacrílico por dez segundos é capaz de remover a "smear-layer" (enquanto retém o cálcio), permitindo um melhor contato entre o cimento e os cristais de hidroxiapatita e aumentando a força adesiva ao dente (GARCIA-GODOY, 1992).

Outras características favoráveis desses cimentos são a sua biocompatibilidade com as estruturas dentais (semelhante aos cimentos de policarboxilato) e sua propriedade de liberação de flúor, a qual será discutida em

detalhes mais adiante. Por outro lado, os cimentos de ionômero ainda apresentam um comportamento negativo no que diz respeito à resistência ao desgaste e às propriedades mecânicas, fato que os torna contra-indicados em regiões de estresse oclusal (WILSON & McLEAN, 1988).

Em virtude das deficiências apresentadas pelos CIVs, a indústria dos materiais vem aprimorando as características desses cimentos (NAVARRO & PASCOTTO, 1998). Na seqüência de modificações passadas pelo ionômero, surgiram os cimentos anidros, nos quais os poliácidos são liofilizados e agregados ao pó, no intuito de impedir a geleificação do ácido poliacrílico durante a armazenagem (KNIBBS & PEARSON, 1984). Ao final da década de 80, foi introduzida no mercado uma nova categoria de cimento ionomérico, o "cermet". Esse cimento foi formado pela sinterização de uma liga de prata com o pó do ionômero, resultando em um material com maior resistência à abrasão (McLEAN, 1990).

A mais recente inovação introduzida nos CIVs foi a inclusão de componentes resinosos ao cimento. Segundo SMITH (1992), o material consiste de um pó de vidro com um iniciador fotoativo e um líquido com um ácido polialcenóico fotopolimerizável e hidróxietilmetacrilato (HEMA). Algumas vantagens em relação ao CIV convencional podem ser enumeradas: características de endurecimento melhoradas, obtenção de alta resistência inicial, maior resistência total (MITRA, 1991) e melhor estética inicial (BELTRÃO et al., 1996). Por outro lado, também apresentam desvantagens como maior contração

de polimerização e mudança de cor após 1 a 2 anos de inserção das restaurações em estudos clínicos (BELTRÃO et al., 1996).

A introdução dessas modificações determinou que uma nova classificação fosse proposta para os materiais disponíveis no mercado. Em 1994, McLEAN et al. sugeriram a seguinte denominação para os materiais:

➤ Cimentos de ionômero de vidro – reservado exclusivamente para os materiais que consistem de um vidro ácido-decomponível e ácido solúvel em água, os quais sofrem uma reação de neutralização. O termo cimento de ionômero de vidro engloba dois subgrupos: os polialcenoatos de vidro e os polifosfonatos de vidro;

➤ Cimentos de ionômero de vidro modificados por resina – esses materiais, além das partículas de vidro e ácidos polialcenóicos, incluem monômeros de resina que polimerizam através de uma ativação por luz para uma reação inicial que é seguida pela reação ácido-base, que também acontecerá mesmo na ausência de luz. Retêm uma significativa reação ácido-base, além de um processo de fotopolimerização;

➤ Resina composta modificada por poliácido – materiais que apresentam componentes essenciais do cimento de ionômero de vidro, mas em níveis insuficientes para promover uma reação ácido-base no escuro, conhecidos por compômeros.

Em 1998, de maneira mais abrangente, NAVARRO & PASCOTTO citaram uma classificação dos CIVs quanto à natureza química, em 3 categorias principais:

- ◆ Convencionais: composto de pó de partículas vítreas e líquido de ácidos polialcenóicos;
- ◆ Reforçados por metais: constituído de líquido semelhante ao dos ionômeros convencionais e pó composto de mistura do pó convencional com partículas de liga de amálgama ou partículas de ligas de prata sinterizadas com as partículas de vidro;
- ◆ Modificados por resinas: parte do líquido do ácido polialcenóico é substituída por hidroxietilmetacrilato (HEMA).

Nas citações mencionadas nesta revisão e nos termos empregados nos outros itens da dissertação, o presente trabalho valeu-se da classificação sugerida por McLEAN et al. (1994), sendo que em algumas descrições os cimentos de ionômero de vidro foram também chamados de cimentos convencionais.

2.4. LIBERAÇÃO DE FLÚOR E ATIVIDADE ANTICARIOGÊNICA DOS CIVs

O flúor é um constituinte essencial dos cimentos de ionômero. Os sais de fluoreto foram incorporados ao material com a finalidade de reduzir a temperatura de fusão do vidro (durante a confecção do pó), melhorar as

características de trabalho na manipulação do cimento e aumentar a resistência do material endurecido. Em acréscimo, o flúor aumenta a translucidez e contribui para o valor terapêutico do cimento, graças à sua liberação por períodos prolongados (WILSON & McLEAN, 1988).

Existe um consenso de que a liberação de flúor dos cimentos ionoméricos ocorre com maior intensidade nas primeiras 24-48 horas, e permanece em menor concentração por longos períodos. Esse fenômeno decorre da presa lenta do cimento, que desloca uma quantidade maior de elementos ionicamente ativos (inclusive o flúor) nas primeiras etapas da geleificação. Dessa forma, à medida que os íons vão reagindo com a matriz, a liberação de flúor diminui (MOMOI & McCABE, 1993). De acordo com VERBEECK et al. (1998), o flúor liberado teria origem de quatro fontes: 1- partículas de vidro contendo F que ainda não foram atacadas pelo ácido; 2- a fase de gel de sílica resultante da reação ácido-base e que recobre as partículas de vidro; 3- a matriz de polissais onde os íons F podem estar fortemente ligados a íons metálicos, especialmente ao alumínio; e 4- o líquido, no qual os íons F estão fracamente unidos e livres para se mover.

Vários trabalhos na literatura têm demonstrado que a taxa de liberação de flúor é dependente de uma série de variáveis relacionadas ao preparo do material, ao meio de imersão, ao modelo experimental e ao método de análise.

CRISP et al., em 1976, avaliaram pela primeira vez a liberação de F por 2 CIVs: ASPA I e ASPA II, em água deionizada, durante 13 semanas. Os resultados mostraram que, embora a liberação de F tenha diminuído com o tempo, esta não cessou durante o período testado. Os autores verificaram ainda que as principais espécies químicas liberadas dos CIVs foram a sílica e íons sódio e F, que não são importantes para a estrutura do cimento, não indicando, portanto, sua desintegração.

Estudos comparando a liberação de F entre cimentos de silicato e CIVs (ASPA) mostraram que este último liberou mais flúor em todo o período experimental (FORSTEN, 1977; MALDONADO et al., 1978), o que sugere que o ionômero pode ser tão efetivo quanto o cimento de silicato em inibir cáries secundárias.

CRANFIELD et al. (1982) estudaram a influência exercida pela temperatura (37°C, 29°C e 10°C), pH do meio (9, 7 e 4), proporção pó-líquido (2:1 e 3:1) e geometria da amostra (espécimes confeccionados em tubos de aço com comprimento de 10, 5, 3 e 1 cm) na liberação de F pelo cimento ASPA, em água deionizada, por 28 dias. Verificou-se que a temperatura não influenciou a liberação de flúor e que maior quantidade de flúor foi liberada em pH ácido e com a proporção 2:1. A liberação foi proporcional ao comprimento dos espécimes, levando os autores a concluir que o flúor liberado é oriundo do volume total do cimento e não somente da sua área superficial.

Através de um estudo de longo prazo, FORSTEN (1990) verificou a liberação de F de dez diferentes materiais, sendo quatro CIVs convencionais, um CIV para selamento, três CIVS com partículas metálicas, um amálgama e uma resina composta (os dois últimos com liberação de flúor). Os corpos de prova foram expostos a água corrente não fluoretada por um período de dois anos, e a liberação de flúor dos mesmos foi medida após armazenamento por 24 horas, durante os dois primeiros meses, e por uma semana, nos meses subseqüentes. Verificou-se que o flúor foi liberado pelos CIVs durante todo o período do estudo, e que, embora a liberação tenha diminuído com o tempo, manteve-se superior a 0,5 ppm após um ano. No segundo ano, a maioria dos cimentos continuou liberando flúor em níveis suficientes para produzir um efeito cariostático.

HÖRSTED-BINDSLEV & LARSEN (1990) determinaram a liberação de F de CIVs convencionais (Fuji II e GC Fuji II) e reforçados com prata (Chelon Silver, Ketac-silver e Miracle Mix), em água destilada, nos períodos de 15, 30 e 45 minutos, 24 horas e 100 dias após a espatulação. Foi observado que até 30 minutos, a liberação dos CIV convencionais foi superior à dos reforçados. Além disso, após 100 dias, o Miracle Mix e o Fuji II liberaram significativamente mais F que o Ketac-silver, o qual, por sua vez liberou mais que o GC Fuji II e Chelon Silver.

COSTA (1995) analisou a liberação de F por CIVs convencionais (Chelon-fil e Chelon-silver) e modificados por resina (Variglass e Vitremer) em água destilada deionizada. A liberação foi avaliada diariamente por 14 dias. Os

resultados mostraram que neste período o Chelon-fil liberou maiores quantidades totais de F, seguido pelo Vitremer, Chelon-silver e Variglass. Todos os materiais apresentaram o mesmo padrão de liberação de F, sendo esta maior nas primeiras 24 horas.

Considerando que o meio água não simula da melhor maneira a condição bucal *in vivo*, alguns autores propuseram experimentos com outros meios de imersão. CURY et al. (1993) avaliaram a liberação de F de selantes em água destilada e desmineralizada, saliva artificial (pH 7,0) e num modelo de ciclagem de pH com soluções desmineralizante (Des)- pH 4,3 e remineralizante (Re)- pH 7,0, onde os corpos de prova permaneciam 6 horas na solução Des e 18 horas na Re, durante 14 dias. Os resultados mostraram liberação maior em Des-Re do que em água e saliva. Os autores concluíram que a liberação de F é diferente nos meios estudados, tendo sido observadas concentrações cariostáticas significantes.

Em 1999, utilizando os mesmos meios de imersão, CARVALHO & CURY (1999) avaliaram a liberação de F por 5 materiais restauradores (Chelon-fil, Vitremer, Variglass, Dyract e Tetric). Os resultados mostraram que houve maior liberação no meio des-remineralizante e menor liberação no meio saliva artificial. Além disso, o comportamento de liberação de F de cada material variou dentro de cada meio estudado. Assim, os autores concluíram que a liberação de F de cada material depende do meio de avaliação estudado.

Além da liberação de F, uma outra característica de troca iônica do CIV é a incorporação de F, o qual pode ser liberado subsequente. FORSTEN (1991) estudou a liberação e incorporação de F por CIV, após manter os corpos de prova em solução tamponada (pH 7,0) 50 ppm de F, por 7 dias. Foi observado que esses materiais conseguem incorporar o F, o que não ocorre com a resina composta. Da mesma maneira, CREANOR et al. (1994), ao estudar as características de incorporação e posterior liberação de F de CIV, expondo os corpos de prova a solução de F a 1.000 ppm por 2 minutos, encontraram valores consistentemente maiores de liberação desse elemento em relação a um controle que não havia sido exposto à solução.

A comprovada liberação de flúor pelos cimentos de ionômero de vidro por períodos prolongados tem estimulado vários pesquisadores a estudar o potencial anticariogênico desses materiais. Dessa maneira, a literatura mostra diversos trabalhos testando esse efeito, seja através de indução de cárie *in vitro*, da utilização de delineamentos *in situ* ou mesmo através de avaliações clínicas.

Um dos primeiros trabalhos a verificar o potencial anticariogênico dos ionômeros foi realizado por KIDD, em 1978, e visava comparar a capacidade seladora de um CIV com uma resina composta. Para tal, lesões de cárie artificial foram induzidas com um gel ácido (pH 4,0), por 10 semanas e subsequente avaliadas por microscopia de luz polarizada. Os resultados obtidos demonstraram uma boa capacidade seladora para os dois materiais, e lesões de cárie menos

extensas ao redor do cimento de ionômero de vidro, comprovando sua capacidade cariostática.

Também se valendo de uma metodologia de indução de cárie artificial por gel ácido (pH 4,2, por 10 semanas), HICKS et al. (1986) avaliou lesões cariosas ao redor de restaurações de CIV, utilizando microscopia eletrônica de varredura e luz polarizada. Foi verificado que o cimento ionomérico impediu a formação de lesões de parede e diminuiu a severidade das lesões superficiais. O autor sugere que o material pode trazer benefícios para pacientes com alto risco de cárie, dada sua propriedade de liberação de flúor.

HATTAB et al. (1989) avaliaram cinco materiais restauradores quanto à liberação de flúor e quanto à capacidade de interferir na formação de lesões artificiais de cárie (também induzidas com gel ácido). A ordem decrescente de liberação de flúor e de efeito cariostático foi a seguinte: CIV convencional > CIV modificado por prata > amálgama com flúor > amálgama sem flúor > resina composta.

A fim de avaliar a liberação de flúor e a prevenção da desmineralização do esmalte por diferentes materiais restauradores (dois ionômeros convencionais, um ionômero reforçado e uma resina), FORSS & SEPPÄ (1990) submeteram blocos dentais restaurados a nove dias de ciclos de desmineralização (30 minutos diários) e remineralização (saliva artificial). Determinaram-se o conteúdo de flúor no esmalte adjacente às cavidades (por ataque ácido), antes e após a ciclagem, e

a liberação desse elemento na saliva. Adicionalmente, microdureza Vickers na superfície do esmalte foi avaliada após os ciclos de des-re. Os resultados mostraram que os CIVs liberaram quantidades consideráveis de flúor e preveniram a desmineralização do esmalte, sendo que os ionômeros convencionais pareceram ser mais eficazes que o ionômero cermet.

Através de um estudo clínico de cinco anos, TYAS (1991) avaliou o desempenho de restaurações de classe V confeccionadas com ionômero de vidro ou com resina composta, no que diz respeito a manchamento marginal e recorrência de cárie. O autor verificou que, após cinco anos, 1% das restaurações de ionômero e 5% das restaurações de resina exibiram cárie secundária. Além disso, houve aproximadamente duas vezes mais manchamento ao redor de restaurações de resina em relação às restaurações de ionômero de vidro, o que indica que significantes benefícios podem advir quando da utilização de CIVs para restaurar lesões cariosas de classe V.

Com o objetivo de avaliar diferenças na iniciação e progressão de cárie secundária em esmalte, SERRA & CURY (1992) induziram a formação de lesões cariosas ao redor de cavidades restauradas com cimento de ionômero de vidro ou resina composta. Para tal, utilizaram um modelo *in vitro* de ciclagem de desmineralização/remineralização, simulando uma condição de alto desafio cariogênico. A avaliação da perda mineral através de microdureza mostrou que as restaurações de CIVs interferem com a formação e progressão de lesões de cárie

em esmalte, mesmo em situações de alto desafio cariogênico, podendo as mesmas ser indicadas para pacientes de alto risco de cárie.

Um modelo de indução bacteriana de cárie artificial foi utilizado por NAGAMINE et al., em 1997, a fim de avaliar a inibição de lesões de cárie ao redor de restaurações de três ionômeros de vidro modificados por resina, um ionômero convencional e uma resina composta. Para tal, espécimes dentais restaurados foram suspensos em caldo BHI (brain-heart infusion), contendo 0,5% de extrato de levedura e 1% de sacarose, inoculado com *Streptococcus mutans* IFO 13955, por 20 dias. Após esse período, cortes de 60 μ m foram avaliados através de radiomicrografia. A análise mostrou que não houve diferenças na profundidade das lesões, quando o ionômero convencional foi comparado com os cimentos modificados, e que lesões mais profundas foram encontradas com o compósito. Além disso, a análise da liberação de flúor em água destilada pelos materiais testados mostrou que o CIV convencional e os CIVs modificados liberaram semelhantes quantidades cumulativas de flúor, no período de 161 dias.

O efeito de um ionômero de vidro modificado por resina na remineralização de lesões de cárie natural foi demonstrado por HATIBOVIC-KOFMAN et al., em 1997. Secções de dentes decíduos com lesões proximais de mancha branca foram mantidas junto aos dentes de plástico restaurados com o material híbrido. Fotomicrografias antes e após uma ou duas semanas de imersão em saliva artificial foram realizadas, e as áreas de lesão, comparadas. Foi

constatado que o ionômero de vidro modificado por resina utilizado tem potencial para aumentar a remineralização de lesões incipientes *in vitro*.

Como demonstrado pelos trabalhos expostos acima, os CIVs exibem um potencial para inibir lesões de cárie imediatamente adjacentes às restaurações, pouco se sabendo a respeito de seu efeito além das margens do material. Dessa maneira, a fim de avaliar a distância em que os CIVs modificados por resina são capazes de exercer seu efeito cariostático (efeito remoto), TANTBIROJN et al. (1997) seccionaram longitudinalmente a coroa de incisivos bovinos e aplicaram, no terço cervical de uma metade, um selante resinoso e, na outra metade, um material ionomérico (esse último com uma espessura de aproximadamente 1,5 mm). Todas as metades foram submetidas à produção de cárie artificial em gel ácido por três semanas, e, após esse período, as lesões foram examinadas utilizando a técnica de microdureza em secções longitudinais. A análise contemplou as distâncias de 0,2, 0,5, 1,0, 2,0, 4,0 e 7,0 mm da margem do material e 15, 65, 115, 165, 215, 265, 315 e 365 μm da superfície do esmalte. Os resultados demonstraram que o CIV modificado por resina proveu um forte efeito inibidor da desmineralização na área adjacente ao material e um efeito remoto que retardou a progressão da lesão em todas as distâncias avaliadas.

A fim de avaliar o potencial cariostático de oito materiais restauradores, SERRA & RODRIGUES JR (1998) induziram lesões artificiais de cárie em fragmentos dentais restaurados, através de um modelo dinâmico de ciclos

térmicos e de pH. A presença e severidade das lesões foram avaliadas visualmente por examinadores, com a atribuição de escores de 0 a 3. Os resultados demonstraram maior potencial cariostático do cimento ionomérico e dos ionômeros de vidro modificados por resina. As resinas compostas modificadas por poliácidos apresentaram pouco efeito cariostático, e os compósitos com flúor, nenhum.

Seguindo a metodologia de indução de cárie artificial com gel ácido, DIONYSOPOULOS et al. (1998) avaliaram a inibição de cárie ao redor de restaurações de híbridos de ionômero de vidro e resina composta. Após a confecção das restaurações, os espécimes dentais foram ciclados termicamente 800 vezes e imersos em gel de pH 4,5 por cinco semanas, tendo sido posteriormente avaliados através de microscopia de luz polarizada. Foi observado que a progressão de cárie secundária pode ser significativamente reduzida em esmalte e dentina quando CIVs modificados por resina e compômeros são usados como materiais restauradores.

Utilizando um delineamento de estudo *in situ*, DONLY et al. (1999) avaliaram a remineralização de lesões interproximais de cárie formadas *in vitro*, analisadas previamente em microscopia de luz polarizada. Inseriu-se cada espécime dental em coroas provisórias, que foram cimentadas ao lado de restaurações de classe II confeccionadas com uma resina composta convencional, uma resina liberadora de flúor ou um cimento de ionômero de vidro modificado por resina. Adicionalmente foram instituídos tratamentos com dentifrício fluoretado e

não fluoretado. Após seis meses de estudo cruzado (cada tratamento extendia-se por um mês), as lesões de cárie foram novamente avaliadas em luz polarizada. Todos os tratamentos associados ao dentifrício fluoretado apresentaram lesões significativamente menores em relação à resina composta associada ao dentifrício não fluoretado. Além disso, a resina convencional associada ao dentifrício com flúor apresentou um desempenho estatisticamente semelhante ao ionômero e à resina com flúor, estando estes associados ou não ao dentifrício.

A fim de avaliar o potencial anticariogênico de materiais ionoméricos indicados para técnica restauradora atraumática, SMALES & GAO (2000) induziram, através de imersão em solução ácida (precedida de ciclagem térmica), a formação de lesões de cárie ao redor de dois CIVs de alta viscosidade, um ionômero convencional indicado para dentes posteriores e um compômero. Os espécimes foram avaliados em luz polarizada, e os resultados indicaram que a inibição da desmineralização do esmalte imediatamente adjacente às margens da restauração foi mais pronunciada com os cimentos de ionômero de vidro.

Através de um estudo *in vitro*, RODRIGUES (2001) avaliou o efeito cariostático de 5 materiais restauradores, associados à aplicação de dentifrício fluoretado. Cavidades de classe V foram preparadas e restauradas no esmalte de fragmentos dentais, submetidos subseqüentemente a ciclos térmicos e de desmineralização-remineralização, de modo que fosse simulado um alto desafio cariogênico. Os fragmentos recebiam, ainda, tratamento com dentifrício fluoretado ou placebo, 5 minutos por dia. As diferenças no desenvolvimento de cárie

secundária foram avaliadas através de análise visual, atribuindo-se aos fragmentos escores de 0 a 3. Os resultados mostraram que, quando associados ao dentifrício não fluoretado, os cimentos de ionômero de vidro convencional e modificado apresentaram efeito cariostático superior às resinas compostas e similares entre si. Quando associados ao dentifrício com flúor, os materiais estudados apresentaram efeitos cariostáticos semelhantes.

Em um recente estudo *in situ*, KOTSANOS (2001) avaliou o efeito de três materiais liberadores de flúor (um ionômero convencional, um CIV modificado por resina e um compômero), utilizando uma resina como controle. Blocos de esmalte bovino foram pareados com quatro amostras hemisféricas provindas de cada um dos quatro materiais, de modo que a superfície curva das hemisferas tocasse o esmalte, simulando um ponto de contato. Os pares foram inseridos na porção vestibular de duas próteses inferiores, por 70 dias. Microdureza de superfície foi avaliada nos blocos de esmalte antes e depois da fase clínica, nas distâncias de 0, 0,4, 0,8 e 1,2 mm do ponto de contato. Em relação à resina composta, o grau de proteção às cáries seguiu a ordem: CIV modificado (82%) > CIV convencional (69%) > F-2000 (42%).

2.5. LIBERAÇÃO DE ALUMÍNIO

Poucos estudos em relação à liberação de Al por materiais restauradores são encontrados na literatura. Os primeiros trabalhos que relataram

uma liberação de Al pelo CIV relacionavam-se com a erosão do material. Outros experimentos dosando concentrações de Al liberado por materiais restauradores visavam verificar uma possível citotoxicidade dos cimentos de ionômero. Trabalhos mais recentes testam o grau de liberação de alumínio em diferentes estágios de maturação do ionômero e de que maneira esse íon pode interferir com a dosagem de outros elementos.

CRISP et al. (1976), em um estudo de 3 meses sobre a erosão de 2 tipos de cimentos ASPA, avaliaram a eluição de diferentes íons, entre eles o Al. Corpos de prova foram colocados em 50 mL de água desmineralizada por 13 semanas. Neste estudo a liberação de Al foi detectada nas primeiras 23 horas do experimento, sendo que, após esse tempo, não se verificou mais liberação desse elemento no eluente.

Com o objetivo de esclarecer o mecanismo de erosão dos CIVs, FUKAZAWA et al. (1987) imergiram duas marcas comerciais de ionômeros para cimentação em uma solução tampão ácida, variando tempo de imersão, volume e forma dos espécimes, tempo de envelhecimento e agitação. Observou-se que as concentrações eluídas de Al, F, Si e Ca foram proporcionais à raiz quadrada do tempo de imersão, não se relacionaram com a forma ou volume da amostra, dependeram da sua área de superfície e não foram afetadas pela agitação do espécime.

Também com o objetivo de verificar erosão de materiais restauradores, FORSS (1993) comparou a liberação de F, Na, Si, Ca, Sr e Al por 5 CIVs modificados por resina (Baseline VLC thick mix, Baseline VLC thin mix, Fuji Lining LC, Vitrebond e XR Ionomer) com 2 CIVs convencionais (Ketac-fil Aplicap e Ketac-silver). Os corpos de prova foram primeiramente imersos em água deionizada por 16 dias e, em seguida, foram mantidos mais 16 dias em ácido láctico 0,01 M (pH 4,0). Após esse tempo, imergiram-se os corpos de prova novamente em água por 122 dias. Durante o primeiro dia, foi liberada alta quantidade de Al pelo XR Ionomer ($63,68 \mu\text{g Al /cm}^2$), menor quantidade por Baseline VLC (thick - $13,04$ e thin - $21,32 \mu\text{g Al /cm}^2$), Vitrebond ($8,48 \mu\text{g Al /cm}^2$) e Ketac-fil Aplicap ($23,04 \mu\text{g Al /cm}^2$). XR Ionomer e Ketac-fil Aplicap liberaram Al até o último dia do estudo. Além disso, no ácido láctico, todos os materiais liberaram Al, sem exceção.

Além das características desfavoráveis de solubilidade, alguns trabalhos têm relatado sensibilidade pós-operatória provocada por materiais ionoméricos indicados para cimentação, relacionando esta sensibilidade com o baixo pH do cimento associado à liberação de elementos citotóxicos (SMITH & RUSE, 1986). Preocupados com essa possível citotoxicidade do CIV, BAPNA & MUELLER (1994) avaliaram o pH do meio e a liberação de F, Ca, Al e Si por 4 CIVs, em 3 condições diferentes de presa do material: 1- corpos de prova após a reação de presa (após 15 minutos da manipulação); 2- cimento sem ter tomado presa (após 2 minutos da manipulação) e 3- cimento sem ter tomado presa (a menos de 1 minuto da manipulação). Todas as amostras foram colocadas em 5

mL de água destilada, por 15 minutos e a concentração dos íons já citados nas soluções foi analisada. Os resultados mostraram que a análise dos elementos liberados pelo cimento sem ter tomado presa apresentou valores de concentração mais altos e esses valores diminuíram à medida que se aproximaram da condição 1. As análises de pH mostraram uma tendência oposta, isto é, valores mais altos com tempo maior de presa. Todos os materiais liberaram Al nas 3 condições, sendo que a média variou de 12 a 23 ppm de Al para a condição 1 e de 450 a 1.375 ppm Al para a condição 3.

Com o objetivo de estudar a liberação de Al por CIVs convencionais e modificados por resina, em estágios precoces de presa do material, ANDERSSON & DAHL (1994) mergulharam espécimes dos materiais em solução salina a 37°C, por 60 minutos. As soluções foram, então, analisadas em espectroscopia de emissão atômica de plasma. Verificou-se que os CIVs convencionais liberaram maior quantidade de Al, em relação aos fotopolimerizáveis. Em acréscimo, os autores mostraram valores consideráveis de liberação de Al, variando entre 200-450 ppm para alguns materiais.

NAKAJIMA et al. (1997) avaliaram a interferência da liberação de alumínio por 5 cimentos ionoméricos convencionais (GC Lining Cement, Dentin Cement, Shofu Base Cement, Ketac-fil e Ketac-silver) na determinação da concentração de F. Para tanto, foram confeccionados corpos de prova que foram imersos em 8 mL de água deionizada após 1 hora do início da manipulação. As concentrações de F e Al foram determinadas no meio de imersão, sendo a

dosagem do F realizada utilizando diferentes soluções tampão, contendo diferentes descomplexantes. Os autores encontraram uma liberação de F e Al diferente para cada material e uma correlação positiva ($r^2=0,812$) entre a liberação de F e Al liberados pelos materiais estudados. Além disso, as concentrações de F medidas sem agente descomplexante foram significativamente inferiores às com este agente, dependendo da quantidade de Al na solução. Assim, concluíram que quando a liberação de F é determinada através de eletrodo específico, os procedimentos analíticos devem receber especial atenção a fim de se evitar possíveis interferências do alumínio.

WILLIAMS et al. (1997) avaliaram a liberação de íons por CIVs reforçados por metais (Miracle-mix, Chelon-silver e Opus-silver), com tempos diferentes de maturação, quando colocados em água. Os resultados mostraram que o Al foi liberado por todos os materiais, em níveis prontamente detectáveis, e confirmou-se que a imersão dos corpos de prova após curto período de maturação provoca uma alta liberação de íons para a água.

CHUNG et al. (1998) identificaram e avaliaram a liberação de diferentes íons por CIV convencional. Corpos de prova foram imersos em 30 mL de água deionizada, em temperatura de 37°C após 3 minutos de sua manipulação. Foram determinadas as concentrações cumulativas de Al, Ca, Si, Sr, P e F nas soluções, desde 1 minuto até 168 dias. Foi observada uma diminuição acentuada de Al quando comparados os tempos de 30 e 60 minutos de imersão; entretanto,

somente após 84 dias, observou-se a concentração cumulativa em um nível estável. Em relação ao F, Ca, Si, Sr foi encontrado este nível estável em 7 dias.

Através de um estudo *in vitro*, FUJIMAKI (2000) avaliou a liberação de F e Al por cinco materiais (Fuji Ortho LC, Ketac-fil, Vitremer, F 2000 e Z 100) em 3 meios de imersão - água deionizada, saliva artificial e soluções des-remineralizantes - por um período de 15 dias. Os resultados da liberação de flúor mostraram que, dentro de cada meio, houve diferença significativa entre os materiais (meio ciclagem: Vitremer > Fuji > Ketac > F 2000; meio saliva artificial: Vitremer = Fuji > Ketac = F 2000 > Z 100; meio água: Vitremer = Ketac = Fuji > F 2000 > Z 100). As dosagens referentes à liberação de Al só puderam ser realizadas em meio ciclagem de pH, sendo que, com esta análise, observou-se também diferença entre os materiais (Vitremer > Fuji > Ketac > F 2000).

Com o objetivo de avaliar a liberação de flúor e alumínio por diferentes materiais restauradores e cimentadores utilizando uma metodologia sistemática, SAVARINO et al. (2000) compararam 2 cimentos convencionais, 2 cimentos modificados por resina e 2 resinas modificadas por poliácidos com 1 hora e 1 semana de maturação. A extração dos espécimes (1 g) em meio essencial mínimo (5 mL) e a dosagem das soluções foram realizadas seguindo rigorosos parâmetros padronizados e controlados. Os resultados indicaram maior liberação de flúor e alumínio pelos cimentos de ionômero de vidro (convencionais e modificados); todos os materiais liberaram as maiores proporções de íons quando a extração foi realizada uma hora após a mistura. Adicionalmente, os valores de flúor e alumínio

mostraram uma alta correlação positiva, independentemente do tempo de presa. Os autores concluíram que as investigações biológicas a respeito de cimentos dentais só podem ser realizadas se uma pré-avaliação dos elementos liberados é obtida através da aplicação de um protocolo padronizado.

2.6. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS CIMENTOS DE IONÔMERO DE VIDRO (CIVs)

Além da reconhecida capacidade de CIVs interferirem na dinâmica do processo de cárie, é relatado que tais materiais também apresentam ação antibacteriana, podendo interferir na ecologia da placa dental adjacente às restaurações (BENELLI et al., 1993). Vários trabalhos *in vitro* e *in vivo* têm mostrado que o ionômero de vidro exerce algum efeito sobre a microbiota cariogênica, inibindo o crescimento bacteriano sobre as restaurações (SEPPÄ et al., 1992; GARIB, 1993; PASCOTTO, 1999). Em virtude de os trabalhos presentes na literatura envolverem metodologias bem diferentes, a revisão foi subdividida em estudos *in vitro* e estudos *in situ* e *in vivo*.

2.6.1. ESTUDOS IN VITRO

Uma das primeiras metodologias utilizadas para verificar a capacidade antibacteriana de materiais restauradores foi o teste de difusão em ágar. Seguindo este método, DESCHEPPER et al. (1989) avaliaram o efeito de onze CIVs

manipulados, seus componentes individuais pó e líquido e uma resina contendo ionômero de vidro e F sobre *S. mutans*. Todos os CIVs recém-preparados inibiram o crescimento microbiano, enquanto que a resina fotopolimerizável para forramento não mostrou atividade contra *S. mutans* e não liberou concentrações inibitórias de flúor. O efeito antimicrobiano foi atribuído à acidez do meio (pH < 4), provocada pelos compostos polialcenóicos, e à liberação de flúor em concentrações superiores ao limite considerado inibitório para o crescimento de *S. mutans* (20 ppm).

Empregando a mesma metodologia, GARIB et al. (1993) estudaram o efeito antimicrobiano de 5 CIVs restauradores frescos e após a presa em ágar inoculado com *S. mutans* GS-5, e, adicionalmente, avaliaram a liberação de flúor no ágar. Todos os CIVs frescos e após a polimerização, exceto o Ceram-fil após a presa, inibiram o crescimento bacteriano e liberaram flúor em concentrações inibitórias. Entretanto, não foi encontrada correlação entre atividade antimicrobiana - determinada pelo halo de inibição - e liberação de flúor.

A fim de investigar os fatores envolvidos na atividade antimicrobiana de vários cimentos de ionômero forradores e restauradores, LOYOLA-RODRIGUEZ et al. (1994) realizaram um experimento também baseado em testes de difusão em ágar. Espécimes de cimento recém-preparado foram depositados sobre placas de ágar semeadas com cinco cepas de *S. mutans* e três cepas de *S. sobrinus*, com o objetivo de se avaliar o efeito antimicrobiano dos materiais. O efeito do pH e da liberação de flúor dos CIVs sobre *S. sobrinus* foi avaliado com a utilização de

sobrenadantes obtidos a partir da incubação dos materiais em água deionizada, por 48 horas. A maioria das cepas foi sensível aos CIVs, entretanto as cepas de *S. sobrinus* mostraram-se mais sensíveis à atividade inibitória dos ionômeros. O efeito antimicrobiano foi associado com a liberação de flúor; no entanto, não se verificou a mesma associação com as alterações no pH após a reação de presa dos materiais.

Mais recentemente, YAP et al. (1999) compararam as concentrações de flúor e o padrão de liberação deste elemento por 2 resinas liberadoras de flúor, um ionômero modificado por resina e um compômero, utilizando um cimento convencional como controle. Adicionalmente os autores verificaram o efeito antimicrobiano desses cimentos em culturas de *Lactobacillus casei*, *S. mutans* e *S. sobrinus*, através de teste de difusão em ágar, usando como controle um cimento de óxido de zinco - eugenol. A ação sobre os microrganismos foi avaliada no baseline e em intervalos semanais por um período de 35 dias após a manipulação do material. Os resultados de liberação de flúor mostraram valores significativamente mais altos para o ionômero convencional; além disso os cimentos ionoméricos e o compômero apresentaram um padrão similar de liberação de flúor, caracterizado por uma liberação inicial muito superior àquela observada após a segunda semana de imersão. Em relação ao teste microbiológico, nenhum dos materiais restauradores afetou o crescimento dos microrganismos utilizados no teste, tanto no *baseline* quanto nos intervalos semanais. A determinação da quantidade de flúor liberada para o ágar mostrou

não haver correlação entre potencial de liberação de flúor e efeito antimicrobiano dos CIVs.

Além da avaliação inibitória em ágar, outros testes podem ser empregados a fim de se verificar a capacidade antimicrobiana indireta dos cimentos odontológicos. Alguns testes estudam mecanismos de virulência das bactérias orais, como por exemplo sua capacidade de aderir-se às superfícies dentais e, conseqüentemente, de iniciar a formação da placa bacteriana.

Baseando-se nesses conceitos, PALENIK et al. (1992) avaliaram a inibição *in vitro* do crescimento bacteriano e aderência de 5 bactérias (*A. viscosus*, *L. casei*, *S. mitis*, *S. mutans* e *S. sanguis*) por CIVs forradores e restauradores. Os estudos sobre inibição direta foram realizados através dos testes de difusão em ágar, e a inibição da aderência bacteriana foi testada incubando-se incisivos bovinos (restaurados com os materiais em estudo) em caldo de cultura com sacarose e *S. mutans*. Em relação ao *S. mutans*, o Miracle Mix exibiu as maiores zonas de inibição, enquanto que o Ketac-fil e o Ketac-silver, as menores. Todos os 4 materiais restauradores testados significativamente reduziram o acúmulo bacteriano sobre a superfície do esmalte bovino quando comparados ao grupo controle não restaurado. Segundo os autores, a elevação dos níveis de F liberado a curto prazo estaria possivelmente correlacionada com a inibição do crescimento bacteriano. A redução da aderência poderia ser relacionada à liberação de F e/ou Ag ou a um pH inicial baixo dos materiais.

Outro fator que vem sendo avaliado refere-se à ação de diferentes CIVs sobre a produção de ácidos e o metabolismo eletrolítico de *S. mutans*. Tais efeitos foram estudados por SÉPPA et al. (1992), que utilizaram corpos de prova recém-preparados de CIV convencional, CIV com partículas de prata e resina composta, além de corpos de um CIV convencional envelhecidos por 14 dias, adaptados na parte inferior de tubos. Uma camada de *S. mutans* foi, então, centrifugada sobre eles e os mesmos foram incubados por 20 horas em uma solução contendo sacarose. Após a incubação, foram determinados pH, F, cálcio (Ca) da fase líquida e conteúdo celular de F, Ca, Mg (magnésio), P (fósforo) e de Ag para o CIV reforçado. Em relação ao Fuji e ao Ketac-silver recém-preparados, o pH da solução caiu menos do que para Fuji envelhecido e resina composta. Esses materiais também liberaram as maiores quantidades de F na fase fluida. Ketac-silver liberou grandes quantidades de Ca e o conteúdo celular de Ca dobrou nesse grupo. Dessa maneira, o CIV recém-preparado foi capaz de afetar a produção ácida e o metabolismo eletrolítico de *S. mutans*; no entanto, os resultados sugerem que os efeitos dos cimentos convencionais parecem desaparecer em poucas semanas, o que levanta dúvidas quanto ao papel antimicrobiano de cimentos envelhecidos.

A partir dessas constatações, e utilizando uma metodologia semelhante, os mesmos autores (SÉPPA et al., 1993) realizaram um estudo com o objetivo de investigar se a liberação de F e o efeito antimicrobiano de CIV recém-manipulado poderiam ser prolongados pela aplicação de F no material

envelhecido. As amostras de CIVs envelhecidas foram recobertas por dentifrícios fluoretados ou com F gel, e as amostras de resina composta, com F gel. Após lavagem abundante, células de *S. mutans* foram incubadas sobre as amostras. Após a aplicação de F gel, o conteúdo de F na fase fluida e nas células foi tão elevado quanto nas amostras de CIVs recém-manipulados, e o efeito inibitório sobre a queda do pH e metabolismo eletrolítico foi até mais pronunciado que inicialmente. Os autores concluíram que a aplicação tópica de gel no material pode resultar em uma maior liberação de flúor pelos CIVs envelhecidos e em um aumento no seu efeito antimicrobiano.

Outra forma de verificar a atividade antimicrobiana de materiais odontológicos relaciona-se com a avaliação da capacidade fermentativa dos microrganismos envolvidos no processo carioso. Com esse objetivo, COSTA et al. (1996) estudaram a atividade antimicrobiana de CIVs restauradores convencionais e modificados por resina através dos testes de fermentação e formação de placa em caldo de cultura inoculado com *S. mutans*, durante um período de 7 dias. Na avaliação do pH dos meios de cultura semeados, somente o Vitremer reduziu significativamente a produção de ácidos, mantendo o pH acima do valor crítico, nas primeiras 24 horas do experimento. Em relação ao controle (aço inoxidável), houve um menor acúmulo de polissacarídeos sobre todos os cimentos, porém com quantidades significativamente menores sobre o CIV modificado Vitremer.

A fim de mensurar as quantidades de flúor liberadas e determinar a influência de 6 materiais restauradores (1 CIV convencional, 1 CIV cermet, 3 CIVs modificados por resina e 1 compômero) sobre o crescimento bacteriano, FRIEDL et al. (1997) incubaram espécimes teste em solução salina a 37°C por um período de 180 dias. A cada dois dias, os espécimes eram transferidos para uma nova solução e o conteúdo de flúor era mensurado na salina. Adicionalmente, os eluentes de 48 h, 14 d, 90 d e 180 d foram inoculados com *S. mutans* e o crescimento bacteriano foi determinado nefelometricamente. Os resultados mostraram que os materiais estudados reduziram o crescimento bacteriano em todos os tempos de avaliação, mas os efeitos decresceram significativamente com o tempo, observando-se um crescimento máximo de 71,7% (Ketac-fil) até 85,6% (Ketac-silver) depois de 48 horas e 94,7% (Vitremmer) até 99% (Ketac-silver) depois de 180 dias (grupo controle – 100%). Os autores concluíram que os materiais testados mostraram uma boa correlação entre liberação de flúor e influência no crescimento bacteriano; entretanto, os dois efeitos sofreram declínio dramático no período de 180 dias.

FUJIMAKI (2000) avaliou a liberação de flúor e alumínio por materiais odontológicos e seu efeito na acidogenicidade de *S. mutans* e na formação e composição da placa dental experimental. Corpos de prova foram confeccionados e imersos individualmente em caldo Mitis Salivarius (contendo glicose e sacarose) inoculados com *S. mutans* durante 7 dias. Os meios foram trocados a cada 24 horas, nos quais foram feitas determinações de pH e da quantidade de F e Al

liberadas. Adicionalmente, determinaram-se as concentrações de F, Al e polissacarídeo solúvel em álcali na placa formada após 7 dias. Os resultados mostraram que o CIV modificado Vitremer liberou maior quantidade de F e Al para a placa e meio de cultura, tendo apresentado também maior efeito antimicrobiano, evidenciado por quedas menos pronunciadas de pH e menores quantidades de placa e polissacarídeo. Os autores sugeriram que a liberação conjunta de F e Al parece ter um importante significado na inibição da acidogenicidade de *S. mutans* e na formação e composição da placa dental experimental.

2.6.2. ESTUDOS *IN SITU* E *IN VIVO*

Com o objetivo de obter resultados que reflitam as verdadeiras condições a que são submetidos os materiais restauradores dentro da cavidade bucal, vários autores vêm realizando estudos *in situ* e *in vivo*, também avaliando a capacidade dos cimentos ionoméricos em interferir com o crescimento e a virulência da microbiota oral.

BERG et al., em 1990, conduziram um estudo clínico, a fim de verificar o efeito de restaurações de CIV reforçado sobre os níveis de estreptococos do grupo mutans na placa dental interproximal. Foram selecionadas para o estudo 15 crianças, que apresentavam pelo menos uma superfície proximal hígida e duas lesões de cárie classe II, sendo uma restaurada com cermet e outra com resina composta no dente contra-lateral. Amostras de placa das regiões interproximais

foram coletadas antes e após uma semana, um mês e três meses do término do tratamento e semeadas em diferentes meios de cultura para contagem de anaeróbios totais, estreptococos totais e estreptococos do grupo mutans. Uma semana após o tratamento, as contagens mostraram que as restaurações com cermet reduziram significativamente os níveis de estreptococos do grupo mutans na placa interproximal, não se observando o mesmo com os sítios controle. No entanto, um mês após o tratamento, os sítios experimental e controle apresentaram aproximadamente o mesmo nível de estreptococos do grupo mutans, que se mostrou estabilizado três meses após a confecção das restaurações. Os autores sugeriram que o efeito inibitório do cimento de ionômero de vidro no tempo de uma semana esteja relacionado com o período de maior liberação de flúor do material.

Através de um estudo de campo, KOCH & HATIBOVIC-KOFMAN (1990) analisaram as concentrações de flúor e *S. mutans* na saliva de 36 crianças (3-11 anos) que haviam recebido de uma a seis restaurações de cimento de ionômero de vidro em dentes decíduos. Três diferentes materiais foram utilizados: Vitrebond, Ketac-fil e Chemfil II. Saliva não estimulada foi coletada para análise antes do tratamento (baseline), logo após a realização da última restauração e 3 e 6 semanas após. As concentrações de F no baseline ficaram entre 0,038 e 0,050 ppm. Imediatamente depois da colocação das restaurações, as concentrações de F aumentaram para 0,8 (Chemfil II) e 1,2 (Ketac-fil e Vitrebond) ppm. Depois de 3 semanas, as concentrações de flúor liberado decresceram em aproximadamente

35% para os três materiais, e, após 6 semanas, as concentrações decresceram outros 30%. No entanto, mesmo após 6 semanas, as concentrações de F na saliva não estimulada eram 10 vezes maiores do que os valores do baseline. Em acréscimo, contagens de estreptococos do grupo mutans realizadas no baseline e após seis meses indicaram que a prevalência desses microrganismos na saliva decresceu depois da colocação das restaurações.

Uma nova metodologia *in vivo* para determinação do conteúdo de flúor na placa adjacente ao cimento de ionômero de vidro foi proposta por JOKINEN et al., em 1991. Bráquetes ortodônticos foram fixados em molares superiores de 16 voluntários, utilizando-se para tal um cimento de ionômero (Ketac fil) e uma resina composta (Silux) no dente contralateral. A colagem foi realizada de tal forma que um espaço permanecesse sob o bráquete, através da inclusão de um cone de guta-percha no cimento, sendo que o cone era posteriormente removido. Seis semanas após a fixação dos bráquetes, amostras de placa foram coletadas e analisadas. A média da proporção de flúor/proteína na placa foi 80 vezes maior no grupo do ionômero de vidro, sugerindo que este material pode agir como uma fonte de flúor para a placa. Além disso, os resultados mostraram que o método de amostragem utilizado permitiu coletar quantidades suficientes de placa para quantificação de flúor e outros componentes.

Utilizando o delineamento proposto pelo estudo anteriormente citado, FORSS et al. (1991) compararam os níveis de F e estreptococos do grupo mutans na placa formada sobre um cimento de ionômero convencional (Ketac fil) e uma

resina composta (Silar). Amostras de placa formada por 14 dias foram coletadas dos túneis deixados sob as restaurações 14, 28 e 42 dias depois da cimentação. Os níveis de F na placa formada sobre restaurações de ionômero foram superiores aos das restaurações de resina. Adicionalmente, nas amostras de placa coletadas do CIV as contagens de estreptococos do grupo mutans foram significativamente menores do que nas amostras coletadas da resina composta, para todos os períodos de tempo.

Em 1992, HALLGREN et al. analisaram a microbiota da placa dental formada ao redor de bráquetes ortodônticos cimentados com CIV (Aqua Cem) ou com resina composta (Concise), usando o modelo de boca dividida. Foram coletadas amostras de placa com 48 horas de formação no 3º, 8º e 28º dias após o início do tratamento ortodôntico. Observou-se um aumento na prevalência de estreptococos mutans e lactobacilos na placa bacteriana formada sobre ambos os materiais e maior tendência de colonização ao redor de bráquetes retidos com resina. Os resultados mostraram que, quando o CIV é utilizado como agente cimentante na clínica ortodôntica, pode-se desenvolver uma microbiota menos cariogênica na placa bacteriana formada sobre esse material.

Esses mesmos autores, em 1993, investigaram *in vivo* a concentração de flúor na placa dental utilizando uma metodologia semelhante à empregada no estudo anterior. As amostras de placa foram coletadas no dias 3, 8 e 28 e 6 meses após o início do tratamento. Concentrações significativamente maiores de flúor foram observadas nas amostras coletadas nas adjacências de bráquetes retidos

com o ionômero, em todos os períodos de amostragem. Os autores sugeriram que o CIV utilizado para colagem de bráquetes pode atuar como um sistema de liberação de flúor a longo prazo, exercendo um efeito cariostático em sítios de alto desafio cariogênico.

Através de um estudo *in situ*, BENELLI et al. (1993) compararam as quantidades de F liberado na placa dental formada sobre restaurações de ionômero de vidro e compósito e avaliaram os efeitos do flúor liberado na microbiota cariogênica, na incorporação de flúor ao esmalte e na formação de cáries secundárias sob condições de alto desafio cariogênico. Dez voluntários utilizaram aparelhos removíveis palatinos, contendo quatro blocos de esmalte dental humano restaurados com um dos materiais. O estudo foi cruzado e realizado em duas etapas de 28 dias; durante esse período os voluntários não usaram dentifrício fluoretado e mergulharam os aparelhos em solução de sacarose a 20% oito vezes ao dia. Os resultados da análise bioquímica e microbiológica da placa dental formada sobre os blocos mostraram maior quantidade de F na placa formada sobre os cimentos de ionômero de vidro e menor quantidade de estreptococos do grupo mutans. Além disso, a incorporação de flúor no esmalte adjacente às restaurações de CIV foi maior e a perda mineral significativamente menor. Os autores concluíram que o CIV apresenta amplo efeito anticariogênico e pode ser valioso na prevenção de cáries secundárias, interferindo também na ecologia da microbiota bucal.

PASCOTTO (1999) avaliou a liberação de F e a proporção de estreptococos do grupo mutans na placa dental *in vivo* ao redor de bráquetes ortodônticos cimentados com o ionômero Fuji Ortho LC ou com a resina Concise (em quadrantes opostos), bem como a capacidade de manutenção do F na placa com uso de agentes fluoretados. A placa dental foi coletada antes da fixação dos acessórios, 2, 15, e 30 dias após a instalação do aparelho fixo, 2 e 15 dias após a aplicação tópica de F gel acidulado a 1,23% por um minuto e 15 dias após o início do uso de um dentifício fluoretado (1500 ppm de F como MFP). Na placa dental ao redor do CIV houve um aumento significativo na concentração de F após a instalação aparelho, sendo esta concentração mantida elevada ao redor do material após a aplicação tópica profissional de F ou após o uso do dentifício. Adicionalmente houve uma redução nas proporções de mutans na placa formada sobre o CIV, até o final do período experimental.

Diferentemente dos estudos acima, que avaliaram o efeito de cimentos “frescos” sobre a microbiota oral, outros estudos têm procurado verificar a capacidade antimicrobiana de CIVs envelhecidos. Com esse objetivo, SVANBERG et al. (1990) analisaram amostras de placa interproximal formada sobre restaurações classe II de amálgama, resina ou ionômero de vidro cermet, comparando-as intra e inter-individualmente. Após um período médio de 20 meses da realização das restaurações, a porcentagem de estreptococos do grupo mutans, em relação à contagem bacteriana total na placa, foi maior nas restaurações de resina composta (média de 13,7%) e amálgama (média de 4,3%),

do que nas restaurações de CIV (média de 1,1%), na comparação inter-individual. Na comparação intra-individual, foram analisadas amostras de placa formada sobre restaurações de resina e CIV, confeccionadas em dentes contra-laterais. Os resultados dessa análise também indicaram diferenças significativas entre os dois materiais, sendo que valores de porcentagem inferiores foram encontrados para o ionômero (média de 0,4% para CIV e de 4,2% para resina composta).

Através de um estudo transversal *in vivo*, VAN DIJKEN et al. (1991) compararam a quantidade de estreptococos do grupo mutans, estreptococos totais e lactobacilos presentes na saliva e na placa bacteriana formada sobre a superfície do esmalte sadio e sobre dentes restaurados há um ano com cimento de ionômero de vidro (Chem fil II) e resina composta (Silux). Os autores não verificaram diferenças significantes nas proporções dos microrganismos avaliados, em todas as superfícies-teste, o que sugere que os níveis de flúor na placa adjacente às restaurações, um ano após a confecção das mesmas, não foram altos o suficiente para inibir o crescimento de estreptococos do grupo mutans e lactobacilos.

FORSS et al., em 1995, investigou o efeito de restaurações envelhecidas de CIV na quantidade de F e na microbiota da placa dental formada sobre o material. Além disso, foi verificado se tal ação poderia ser aumentada pela aplicação tópica de F sobre as restaurações *in vivo*. Participaram do estudo 27 pacientes que apresentavam, pelo menos, 3 restaurações de CIV com aproximadamente 3 anos na cavidade bucal. Para a análise do conteúdo de flúor e

da proporção de bactérias, amostras de placa foram coletadas ao redor das restaurações e nos dentes contralaterais. A seguir realizou-se uma aplicação tópica de F em todos os dentes, sendo que uma nova coleta de placa foi efetuada 3 dias após. O conteúdo de flúor encontrado na coleta inicial foi de 0,51 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de proteína na placa sobre o CIV e de 0,35 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de proteína na placa do dente contra-lateral ($p=0,03$). Após o tratamento, os conteúdos respectivos de flúor foram 0,59 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de proteína e 0,75 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de proteína ($p=0,85$). Não se observaram diferenças na microbiota, nos diferentes sítios de coleta. Os autores concluíram que o CIV pode aumentar o nível de flúor na placa dental a longo prazo, porém uma simples aplicação de flúor não parece influenciar nas concentrações desse elemento na placa.

VAN DIJKEN et al. (1997) analisaram a placa formada sobre restaurações classe 3 de resina composta, compômero e CIV modificado por resina que estavam presentes há um ano na cavidade oral, correlacionando-a com a ocorrência de bactérias associadas à cárie. Baixos níveis de flúor foram detectados em todas as amostras; no entanto, as amostras de CIV mostraram quantidades significativamente mais altas. A distribuição de estreptococos orais, estreptococos do grupo mutans e lactobacilos não diferiu significativamente entre as superfícies e não se correlacionou com os níveis de flúor nas amostras. Como no estudo realizado anteriormente pelo mesmo grupo de pesquisadores (VAN DIJKEN et al, 1991), os resultados indicaram que as concentrações de flúor

liberadas *in vivo* por restaurações de um ano não foram altas o suficiente para afetar a microbiota cariogênica da placa.

Além da avaliação do efeito dos CIV sobre os microrganismos da placa, outros autores (KREULEN et al., 1997) investigaram a influência de um cimento de ionômero de vidro modificado por resina na dentina cariada que permanecia sob as restaurações, quando comparado com amálgama. Através de um delineamento tipo boca dividida, os autores selecionaram 40 pares de molares com cárie dentinária oclusal diagnosticada clínica e radiograficamente. Em um primeiro momento as cavidades eram abertas e amostras de dentina cariada eram coletadas para análise microbiológica. As restaurações eram subseqüentemente confeccionadas, mantendo parte da dentina cariada. Após seis meses as cavidades eram reabertas, novas amostras eram coletadas e a dentina cariada totalmente removida para a realização de um novo procedimento restaurador. Para ambos os materiais, um substancial decréscimo de estreptococos mutans, lactobacilos e microbiota total foi encontrado. O cimento de ionômero mostrou um significativo maior decréscimo nas contagens de estreptococos mutans e lactobacilos em relação ao amálgama, mas não na microbiota total. Os autores concluíram que a remoção de dentina cariada ainda é um passo essencial durante o procedimento restaurador, e sugerem que novos estudos devem ser conduzidos sobre o efeito do isolamento da dentina cariada na progressão da lesão.

3. PROPOSIÇÃO

Através de um delineamento *in situ*, o presente estudo se propôs a:

- Analisar a placa dental formada sobre restaurações de cimento de ionômero de vidro (CIV), no que tange às suas concentrações de flúor, cálcio, fósforo, alumínio e polissacarídeo insolúvel em água;

- Avaliar o efeito da liberação de flúor e alumínio de CIVs nos níveis de estreptococos do grupo mutans e de microrganismos totais na placa dental e na formação subsequente de cárie secundária.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O estudo foi do tipo cruzado, duplo-cego, do qual participaram 12 voluntários adultos. Para estes voluntários foram construídos dispositivos intra-orais palatinos contendo 4 blocos de esmalte dental humano restaurados de maneira aleatória com um dos seguintes materiais:

Tratamento 1: resina composta Z-100¹

Tratamento 2: cimento de ionômero de vidro modificado por resina Vitremer²

Tratamento 3: cimento de ionômero de vidro Ketac-fil³.

O fator em estudo neste trabalho foi o *tratamento restaurador*, sendo que, do ponto de vista de delineamento experimental, o material resina composta pode ser considerado um controle negativo, com o qual não se esperava obter nenhum efeito antimicrobiano ou anticariogênico. Os cimentos de ionômero de vidro convencional e modificado representaram os grupos experimentais.

¹ 3M do Brasil – Lote 20000706

² 3M do Brasil – Lote 7CK

³ Espe - América, Inc – Lote 0067920/0067222

Para simular a condição de desafio cariogênico, os voluntários gotejaram sobre os blocos dentais solução de sacarose a 20%, 8 vezes ao dia. Adicionalmente, os espécimes dentais foram cobertos com tela plástica, para permitir acúmulo de placa.

O período total do estudo compreendeu 3 etapas de 21 dias, com o intervalo mínimo de 7 dias entre cada etapa. Em cada fase participaram os 12 voluntários, sendo 4 em cada tratamento, de tal modo que, ao final de todos os cruzamentos, todos os voluntários foram submetidos a todos os tratamentos (BENELLI et al., 1993).

O fluxograma abaixo resume o delineamento:

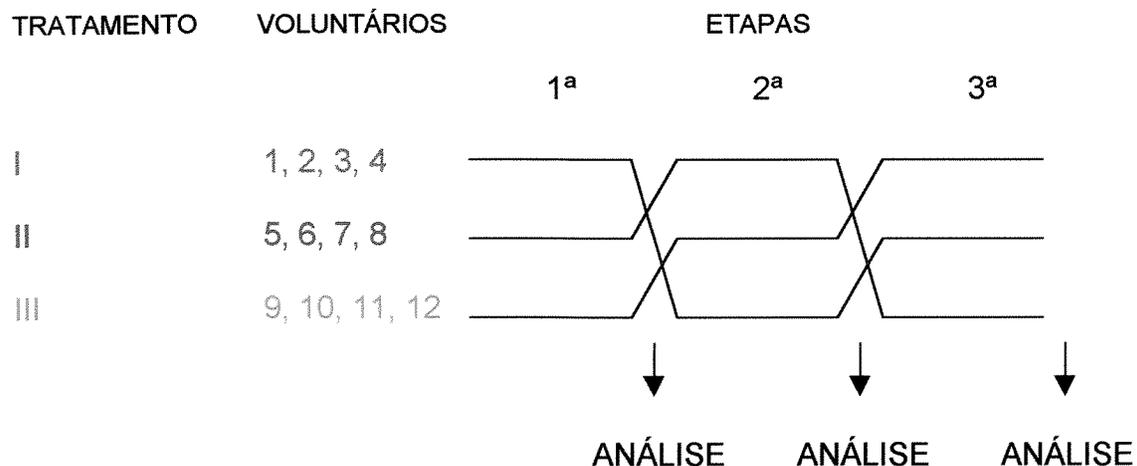


Figura 1. Esquema do delineamento experimental.

Ao final de cada fase, a placa dental formada sobre os blocos foi analisada bioquímica (flúor, alumínio, cálcio, fósforo e polissacarídeo insolúvel em

água) e microbiologicamente (estreptococos do grupo mutans e microrganismos totais). Adicionalmente, avaliou-se qualitativa e quantitativamente a perda mineral dos blocos dentais. A avaliação qualitativa foi feita através de análise visual das lesões de mancha branca, com atribuição de escores, e a análise quantitativa foi realizada pela determinação da microdureza do esmalte nas secções longitudinais dos blocos.

4.2. ASPECTOS ÉTICOS

Por se tratar de um estudo envolvendo voluntários e dentes humanos, este experimento, antes de sua realização, foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa – FOP/UNICAMP, sob o protocolo 77/2000. Estando de acordo com a resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde / MS, foi aprovado em novembro de 2000 (anexo 1). Como parte das exigências do Comitê de Ética em Pesquisa, os voluntários assinaram, previamente ao início do estudo, um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, do qual constaram também todas as informações relativas à pesquisa (anexo 2).

4.3. FASE PREPARATÓRIA

4.3.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

Para a realização do experimento foram utilizados blocos de esmalte dental humano obtidos de terceiros molares retidos, extraídos por razões clínicas e armazenados em solução de timol a 0,1%, desde a extração. Todos os dentes foram provenientes da mesma cidade, que possui uma concentração ótima de flúor na água de abastecimento. Esse cuidado foi observado a fim de se assegurar que os doadores estivessem expostos a uma mesma concentração desse elemento presente na água de abastecimento. Selecionaram-se os dentes sem defeitos de esmalte e com pelo menos 2/3 de formação da raiz completos. Para a obtenção dos blocos, os mesmos foram cortados com 2 discos de diamante (série 15 HC-Diamond BUEHLER®, nº. 11-4243) acoplados a uma cortadeira elétrica (BUEHLER® - ISOMET), utilizando-se entre eles um espaçador de 4 mm, a fim de se conseguir uma amostra de aproximadamente 4 x 4 mm (ou 16 mm²).

Após o corte dos espécimes, foi realizado o desgaste da dentina visando padronizar a espessura dos blocos (2 mm) e também a fim de se conseguir com que as superfícies de esmalte e dentina ficassem paralelas, facilitando os procedimentos de polimento da futura restauração. Para tal, utilizou-se um aparelho politriz APL-4 AROTEC® com lixa de granulação 320 (CARBIMET® Paper Discs - BUEHLER®) em baixa rotação, sob refrigeração a

água, durante aproximadamente 40 segundos. A espessura dos blocos foi verificada com um paquímetro digital MAUSER JR (0,01 mm - 150 mm). As amostras foram acondicionadas em recipientes plásticos e guardadas em ambiente úmido refrigerado.

4.3.2. CONFECÇÃO DAS CAVIDADES

Para a confecção das cavidades nos blocos dentais, foi utilizado um dispositivo específico para realização de preparos cavitários, gentilmente cedido pelo laboratório de Dentística da FOP – UNICAMP (figura 2). O dispositivo é constituído de uma coluna, à qual é acoplado, através de uma haste de altura regulável, um relógio comparador digital (semelhante a um paquímetro) com uma extremidade móvel. Nessa coluna também é acoplado um suporte utilizado para fixar uma caneta de alta rotação (KAVO do Brasil), que pode ser elevada ou abaixada através de um sistema de rosqueamento. Quando a caneta é elevada ou abaixada, o mesmo acontece com a ponta do paquímetro, que está apoiada em uma pequena plataforma unida ao dispositivo que segura a caneta. Dessa maneira, o paquímetro registra a distância percorrida pela caneta de alta rotação e, conseqüentemente, pela broca acoplada à mesma. Para a realização do preparo, encosta-se a ponta da broca no bloco dental já fixado e, nessa posição, zera-se o paquímetro. A caneta é, então, acionada por um sistema de ar comprimido, com abundante refrigeração à água, e vai sendo abaixada até que o paquímetro indique 1 mm, distância essa que corresponde à profundidade da

cavidade. Utilizou-se para tal uma ponta diamantada cilíndrica nº. 2096 com diâmetro de 1,4 mm (KG SORENSEN); dessa maneira a cavidade obtida apresentava um diâmetro de aproximadamente 1,5 mm. Confeccionada a cavidade, o bloco era removido da plataforma e a dimensão do preparo era verificada através de um paquímetro digital MAUSER JR (0,01 mm - 150 mm). A cada dez preparos uma nova broca era encaixada à caneta, a fim de se garantir que a ponta diamantada não gerasse calor ou pressão excessivos na estrutura dental. Após a realização do preparo, os blocos foram lavados com água destilada e deionizada e armazenados em ambiente refrigerado e úmido.

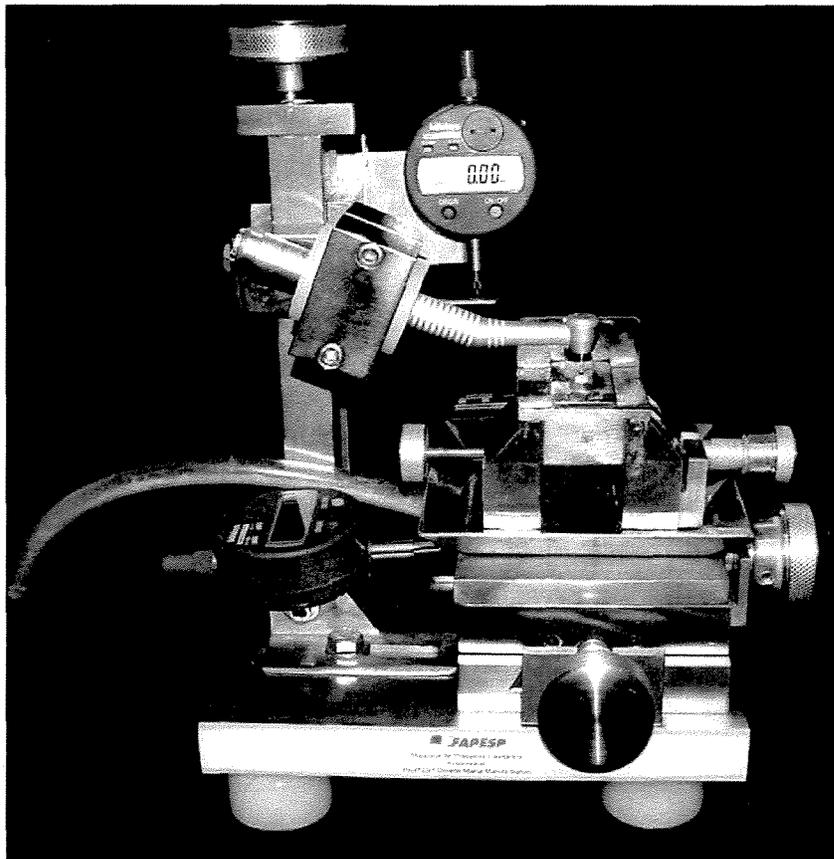


Figura 2. Dispositivo de preparos cavitários.

4.3.3. RESTAURAÇÃO DAS CAVIDADES

Todas as restaurações foram confeccionadas em sala com temperatura e umidade controladas (aproximadamente 23°C e 50% de umidade do ar), gentilmente cedida pelo Laboratório de Materiais Dentários da FOP- UNICAMP. Inicialmente os blocos dentais foram distribuídos aleatoriamente em 3 grupos (correspondentes aos 3 materiais), e, após isso, conjuntos de 4 blocos destinados a um mesmo tratamento eram fixados em cilindros de acrílico. Esse procedimento teve por objetivo apenas prover um apoio para a manipulação dos blocos. Após isso, os espécimes foram submetidos a uma profilaxia com escovas de Robson acopladas a um micromotor (KAVO de Brasil), embebidas em uma pasta de pedra-pomes e água. Em seguida, os preparos foram lavados com uma seringa tríplice (ar-água) por 20 segundos e secos com um jato de ar por mais 5 segundos, tempo suficiente para que a cavidade ficasse livre de vestígios de água, sem, no entanto, sofrer ressecamento. Os blocos ficaram, então, armazenados em ambiente úmido até que recebessem o procedimento restaurador. A ordem da confecção das restaurações foi estabelecida através de sorteio.

As técnicas restauradoras foram conduzidas de acordo com a recomendação dos fabricantes, especificadas no anexo 3. Dada a pequena profundidade da cavidade (1,0 mm), os materiais foram inseridos em incremento único. Para os fotopolimerizáveis, a reação de presa foi induzida com a utilização do aparelho fotopolimerizador XL 2500 (3M), fornecedor de uma intensidade de

luz de 600 mW/cm², verificada com radiômetro (DEMETRON). Ressalte-se que, após a inserção do material, previamente à polimerização, as restaurações eram observadas em lupa (COLEMAN), com aumento de 10 vezes, a fim de se verificar possíveis falhas na superfície e na margem das mesmas e para que os excessos pudessem ser mais adequadamente removidos. Depois de restaurados, todos os blocos foram mantidos em ambiente com 100% de umidade, a 37°C (estufa), por 24 horas. Após esse tempo, as restaurações receberam um acabamento com lâmina de bisturi nº. 15 e foram polidas com uma lixa nº. 1200 (MICROCUT - BUEHLER®), em um aparelho politriz APL-4 AROTEC®. O emprego da politriz permitiu padronizar o tempo de polimento e a pressão a que seriam submetidas as restaurações. Dessa maneira, as mesmas foram polidas por 45 segundos, em baixa rotação, sob refrigeração a água, utilizando-se 3 pesos padrões (86 g). Após isso, todas as restaurações foram novamente observadas em lupa, a fim de se verificar a integridade da superfície do material e também a presença de possíveis excessos nas margens, que poderiam interferir no processo de cárie dental ao redor da restauração. Quando constatada a presença de material sobre as margens, o mesmo era removido com as pontas de óxido de alumínio do sistema para polimento ENHANCE (DENTISPLY), acopladas a um micromotor (KAVO).

4.3.4. CONSTRUÇÃO DOS APARELHOS REMOVÍVEIS PALATINOS

Para cada voluntário, 3 aparelhos palatinos foram confeccionados em resina acrílica incolor (CLASSICO) - um para cada fase do experimento - . Durante

a confecção do aparelho, 4 cavidades de 5 x 5 x 3 mm foram criadas no dispositivo, na região próxima aos dentes molares e pré-molares, sendo 2 de cada lado. Nestes espaços 4 blocos dentais foram fixados com cera pegajosa, tendo-se o cuidado de não cobrir a superfície de esmalte com cera e de deixá-los paralelos à superfície do aparelho. Estando fixados os blocos, os mesmos foram cobertos com uma tela plástica, deixando-se um espaço de 1 mm entre o bloco e a tela, a fim de se permitir acúmulo de placa dental (BENELLI et al., 1993).

4.4. FASE CLÍNICA

Doze voluntários adultos residentes em Piracicaba, com bom estado de saúde bucal e geral, fizeram parte desse estudo. Os voluntários passaram por um período pré-experimental de uma semana, em que foram instruídos a interromper o uso de qualquer produto contendo flúor, incluindo a ingestão de alimentos ricos nesse elemento. Os hábitos de alimentação foram mantidos e os voluntários fizeram uso de água de abastecimento de Piracicaba (contendo 0,6 - 0,8 ppm F, de acordo com dosagens realizadas no período - anexo 4). Foi solicitado aos voluntários que a higienização oral fosse realizada normalmente, ocasião em que era feita também a limpeza dos aparelhos. Tanto para a escovação quanto para a limpeza, utilizou-se um dentífrico não-fluoretado, que também deveria ser usado nos períodos de *wash-out* (intervalos entre as fases, com finalidade de eliminação de possíveis efeitos residuais). Para simular situações de desafio cariogênico, os voluntários gotejaram solução de sacarose a 20% sobre cada bloco dental, oito

vezes ao dia. Foi estabelecido um tempo de cinco minutos entre o gotejamento da solução de sacarose e a recolocação do aparelho na boca. Todos os procedimentos a serem seguidos pelos voluntários durante a fase clínica foram verbalmente explicados antes do início de cada fase e enfatizados através de orientações escritas (anexo 5).

4.5. FASE LABORATORIAL

4.5.1. COLETA E DETERMINAÇÃO DO PESO ÚMIDO DA PLACA DENTAL

Ao final de cada etapa do experimento, cerca de 12 horas após a última exposição à solução de sacarose, os voluntários compareceram ao laboratório em jejum e sem ter realizado escovação dental. As telas plásticas que recobriam os blocos de esmalte foram removidas com lâmina de bisturi número 15 e, então, com auxílio de espátula plástica de manipulação de resina composta (JON) esterilizada, coletou-se a placa dental formada sobre os blocos de esmalte (figura 3). Foi tomado o cuidado de não se coletar a placa dental formada sobre a resina acrílica. A placa foi imediatamente transferida para tubos de microcentrífuga pré-pesados e autoclavados (um tubo para cada voluntário). Após a coleta, os tubos contendo a placa dental foram mantidos em gelo, até que a mesma fosse analisada bioquímica e microbiologicamente. Cerca de 2 mg de cada amostra foram encaminhados para análise microbiológica e o restante teve seu peso úmido

determinado utilizando-se uma balança analítica de precisão 1:10000 (Analytical Plus OHAUS).

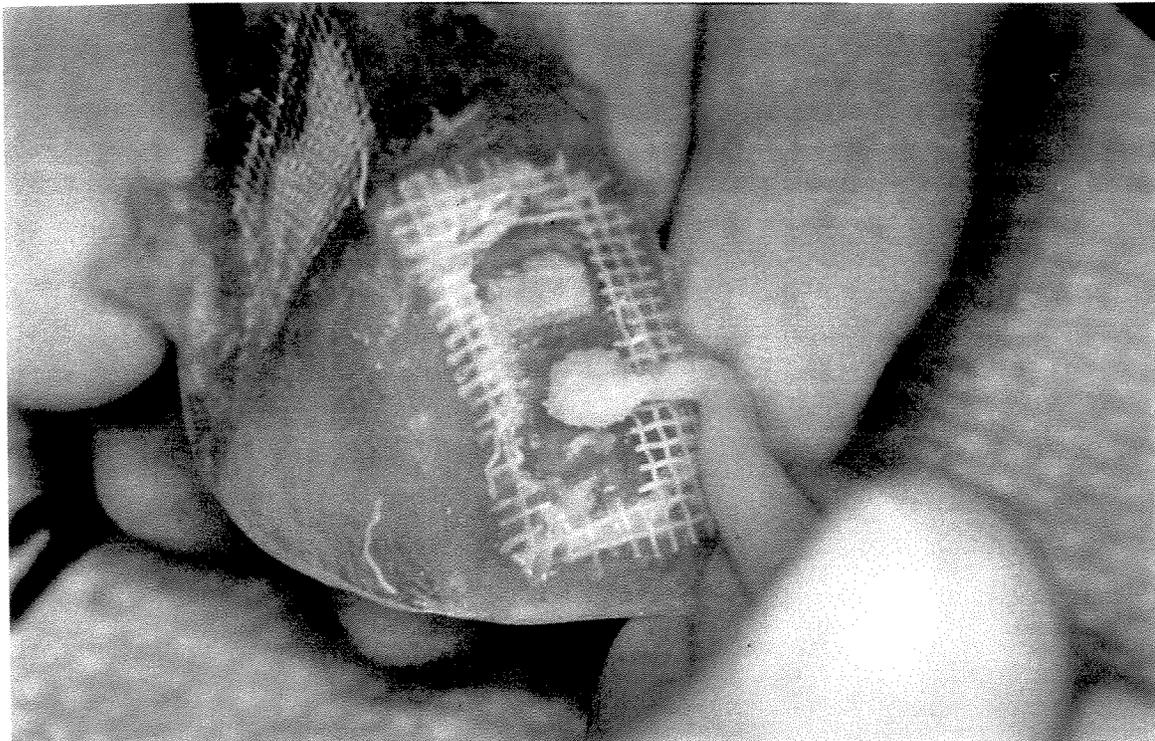


Figura 3. Coleta da placa dental.

4.5.2. ANÁLISE BIOQUÍMICA DA PLACA DENTAL

Para análise de componentes orgânicos e inorgânicos da matriz da placa dental, amostras das placas formadas sobre os blocos de esmalte foram tratadas com 0,5 mL de HCl 0,5 M / 10 mg de placa dental, durante 3 horas, a temperatura ambiente, sob agitação. Após esta extração, adicionou-se às amostras o mesmo volume de TISAB II pH 5 (contendo 20 g NaOH / L) (CURY et

al., 2000). As amostras foram centrifugadas em centrífuga INCIBRÁS SPIN 1 durante 6 minutos, 11000 g, sendo então no sobrenadante (sob. 1) determinadas as concentrações de flúor, alumínio, cálcio e fósforo. Ao precipitado (ppt. 1) foi adicionado 1 mL de NaOH N / 10 mg de placa dental; ressuspendeu-se esse precipitado, que foi deixado 3 horas a temperatura ambiente, sob agitação. Em seguida as amostras foram centrifugadas, conforme descrito acima, tendo sido então no sobrenadante (sob. 2) determinada a concentração de polissacarídeo insolúvel em água (PI) (MAKINEN et al., 1985).

O fluxograma abaixo resume este tratamento:

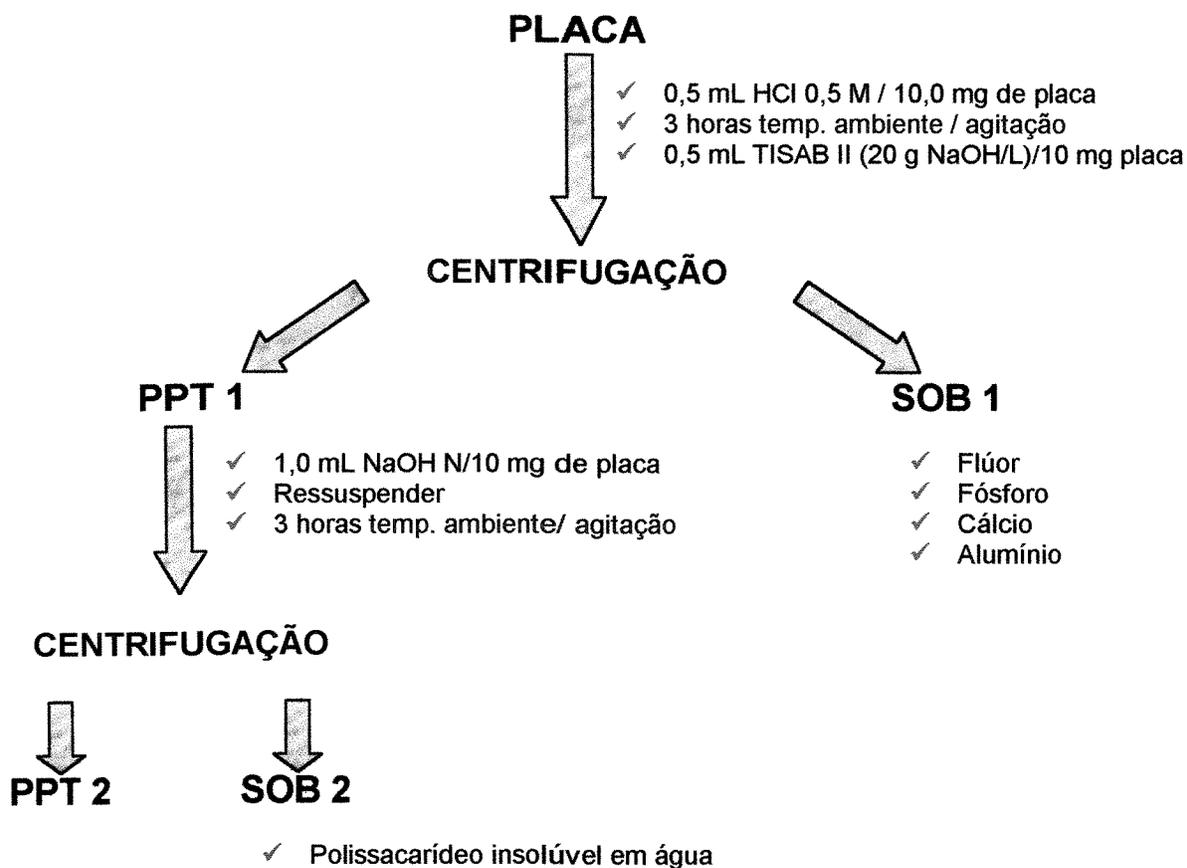


Figura 4. Seqüência do tratamento da placa dental.

4.5.2.1. Determinação da concentração de flúor

A concentração de flúor no sobrenadante (sob. 1) foi determinada através de um potenciômetro ORION EA-940 com um eletrodo específico para flúor ORION 96-09, utilizando-se, para tal, uma curva de calibração com padrões de 0,025 a 0,50 $\mu\text{g F}^-/\text{mL}$ preparados com TISAB II pH 5,0 (20 g NaOH/L) e HCl M. As leituras das amostras foram expressas em milivolt (mV) e transformadas em $\mu\text{g F}^-/\text{mL}$ através de regressão linear da curva de calibração.

4.5.2.2. Determinação da concentração de fósforo

A determinação da concentração de fósforo inorgânico na placa dental foi realizada pelo método de FISKE & SUBBAROW (1925) e a intensidade de cor, medida em um espectrofotômetro BECKMAN DU-70 a 660 nm. Este método tem como princípio a transformação do fósforo dos fosfatos minerais em fosfomolibdato, o qual em seguida é reduzido pelo ácido alfa-amino-naftol-sulfônico, dando um produto de cor azul, cuja intensidade de coloração é proporcional ao teor de fósforo inorgânico presente na amostra. Sendo assim, foram pipetados 0,25 mL de amostra (sob 1) e acrescentaram-se 2,05 mL de água deionizada, 0,5 mL de ácido molíbdico, agitou-se e após dez minutos foram adicionados 0,2 mL de redutor. Agitou-se novamente, e, após vinte minutos, a

intensidade de cor foi medida no espectrofotômetro BECKMAN DU-70 a 660 nm, previamente calibrado com padrões de 3 a 24 μg de P/mL.

4.5.2.3. Determinação da concentração de cálcio

A concentração de cálcio nas amostras foi determinada através de espectrofotometria de absorção atômica, um processo pelo qual os constituintes de uma amostra são decompostos e convertidos para partículas atômicas. O processo de atomização foi realizado com a queima das amostras através de chama. A fim de suprimir a interferência do fosfato, lantânio foi adicionado às soluções a serem dosadas. Para tal utilizou-se um espectrofotômetro VARIAN AA-50, previamente calibrado com padrões de 0,2 a 2,0 ppm de Ca, tendo sido as leituras realizadas a 422,7 nm.

4.5.2.4. Determinação da concentração de alumínio

A concentração de alumínio nas amostras foi determinada através de espectrofotometria de absorção atômica, sendo que o processo de atomização do alumínio foi realizado através de queima em forno de grafite. Para tal utilizou-se um espectrofotômetro PERKIN ELMER modelo 4100ZL equipado com fornos de grafite com aquecimento transversal e corretor de absorção de fundo baseado em efeito Zeeman longitudinal. As soluções de referência para confecção da curva de

calibração foram preparadas em ácido clorídrico 0,5 mol/L, em concentrações de 0,0 a 200,0 ppb de Al. Antes de cada análise as amostras foram diluídas com o próprio branco das mesmas, visto que apresentavam concentrações superiores às da faixa de linearidade do aparelho.

4.5.2.5. Determinação da concentração de polissacarídeo insolúvel em água

A concentração dos polissacarídeos insolúveis em água nas amostras de placa foi determinada no sob 2. A análise foi realizada pelo método de dosagem de carboidratos totais (DUBOIS et al., 1956), que se baseia na capacidade de um açúcar (pentose ou hexose), quando na presença de um ácido forte (H_2SO_4), formar compostos furfúricos. Os compostos furfúricos, na presença de fenol, adquirem uma coloração laranja cuja intensidade é proporcional ao teor de açúcar na amostra. Decorridos vinte minutos após as amostras terem sido preparadas, a intensidade de cor foi medida em um espectrofotômetro BECKMAN DU-70, previamente calibrado com padrões de 10 a 50 μg de glicose/mL, a 490 nm.

4.5.3. ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DA PLACA DENTAL

4.5.3.1. Homogeneização e diluição da placa

Imediatamente após a sua coleta, parte da placa dental (aproximadamente 2 mg) foi acondicionada em tubos plásticos de ensaio com tampa (GREYNER), autoclavados e pré-pesados. A amostra foi, então, pesada (Analytical Plus OHAUS) e aos tubos foi adicionada solução salina (NaCl 0,9%), na proporção de 3 mL de solução para 1 mg de placa. Essa proporção foi utilizada com base em dois estudos pilotos realizados previamente, em que se constatou que tal razão permitia a contagem dos microrganismos em pelo menos uma diluição. A suspensão foi, então, homogeneizada em agitador (PHOENIX) e sonicada 2 vezes (sonicador Vibra Cell 400 w - Sonics and Materials Inc). O tempo total de sonicação foi de 59 segundos, compreendendo 6 pulsos de 9 segundos, com intervalos de 5 segundos entre cada pulso, utilizando uma amplitude de 5% (ROSALEN et al., 1996). Após isso, a suspensão foi diluída, adicionando-se 100 μ L da mesma a 900 μ L de solução salina, obtendo-se uma diluição de 1:10. O mesmo procedimento foi realizado mais duas vezes com as novas suspensões, obtendo-se então diluições de 1:100 e 1:1000.

4.5.3.2. Semeadura do material

Depois da diluição seriada, as amostras foram inoculadas em meio MSB e Ágar Sangue (em duplicata) para contagem de estreptococos do grupo mutans e de microbiota total, respectivamente (GOLD et al., 1973). O meio MSB foi preparado com telurito a 1% e bacitracina na concentração de 200 unidades/L.

A semeadura das amostras foi realizada automaticamente por um aparelho *Spiral Plater* (figura 5). O funcionamento da máquina consiste inicialmente na sucção de cerca de 1 mL da amostra, previamente agitada e depositada no becker específico do aparelho. A distribuição também é feita através da cânula de sucção que, encostada ao meio, move-se linearmente pela extensão da placa de Petri, enquanto a mesma realiza um movimento de rotação (figura 6).

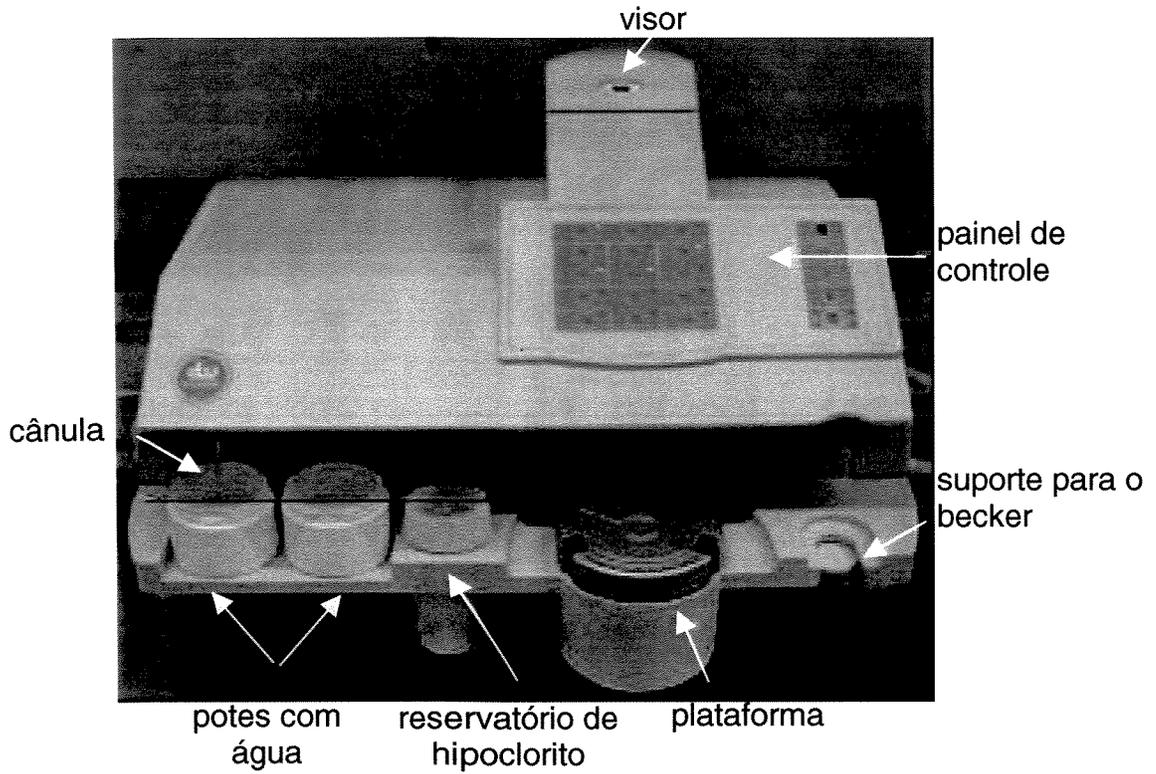


Figura 5. Spiral Plater e seus componentes.



Figura 6. Inoculação da amostra na placa de Petri.

A máquina possui capacidade de realizar até 4 inoculações de 50 μ L, que, no presente trabalho, foram distribuídas de forma logarítmica. A lavagem da máquina entre as semeaduras foi realizada com solução de Milton (hipoclorito de sódio a 0,5%) seguida de água destilada e deionizada. As placas de MSB e Ágar Sangue foram incubadas em atmosfera de 10% de CO₂, 37°C por 48 horas. As placas de Ágar Sangue foram ainda incubadas em estufa de aerobiose por mais 24 horas.

4.5.3.3. Contagem das unidades formadoras de colônia (UFC)

A contagem das colônias foi realizada com ajuda de uma lupa, acoplada a um contador próprio para a análise de placas de Petri semeadas pelo aparelho *Spiral Plater*. O procedimento seguiu o protocolo da máquina, que consiste na contagem de setores previamente estabelecidos da placa que podem ser visualizados com a ajuda de um tracejado de referência (figura 7).

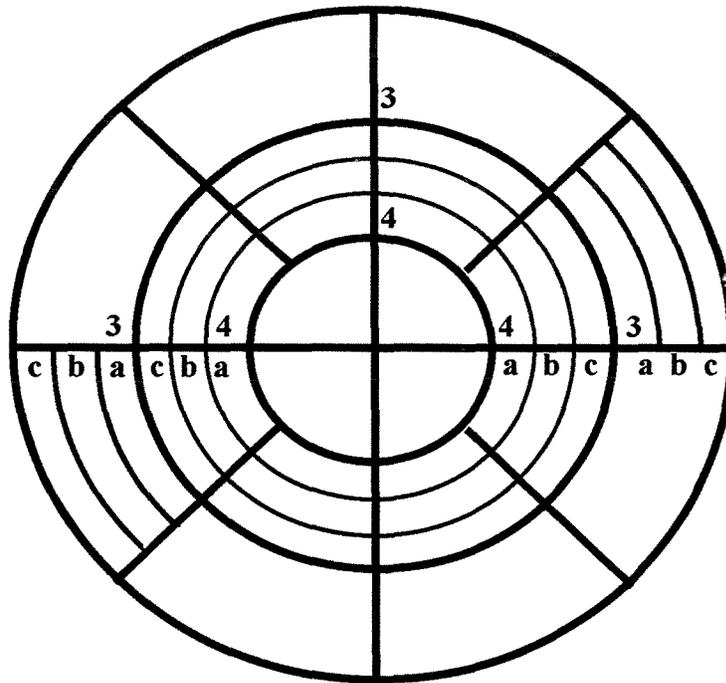


Figura 7. Traçado de referência para contagem de colônias.

A figura acima está desenhada sobre o vidro do contador de colônias, de maneira que, na ocasião da colocação da placa sobre esta porção do aparelho, pôde-se ver, através do meio de cultura, a imagem da mesma. A superposição da placa na figura possibilitou a contagem das colônias apenas em setores da placa. Deste modo, o número total de colônias pôde ser estimado, tomando-se por base o fato de que a inoculação foi feita de forma logarítmica. Levando-se em consideração que a cada setor da placa corresponde um determinado volume de inoculação e que o volume total despejado pela máquina é de 50 μ L, pôde-se,

através de uma regra de três, calcular o número aproximado de colônias existentes em toda a extensão da placa de Petri.

A contagem das colônias de estreptococos do grupo mutans foi baseada na observação da morfologia da colônia. Sendo assim, apenas colônias com características típicas de estreptococos mutans eram registradas. Para ágar sangue, todas as morfologias de colônias de bactérias foram contadas.

4.5.4. ANÁLISE DE MICRODUREZA

Para a realização dos testes de microdureza, os blocos dentais foram seccionados com disco diamantado (série 15 HC-Diamond BUEHLER®) acoplado a uma cortadeira elétrica (BUEHLER® - ISOMET) através do centro da restauração, no sentido ocluso-cervical do bloco. Após isso, todas as metades foram embutidas em resina acrílica termopolimerizável (CLÁSSICO), com auxílio de uma embutidora metalográfica AROTEC® C modelo PRE-30. Padronizou-se uma pressão média de 100 Kgf/cm², tempo de aquecimento de 6 minutos e de resfriamento de 9 minutos. Os espécimes assim obtidos foram polidos em politriz (APL 04 - AROTEC®) através de lixas carbide 600 (10 minutos) e 1200 (12 minutos), com refrigeração a água, seguidas de um disco de feltro (1 µm) lubrificado com pasta diamantada abrasiva de 1 µm (14 minutos) (todos os materiais acima relacionados são da marca BUEHLER). O polimento foi considerado satisfatório quando se constatava não haver vestígios de resina sobre

os blocos embutidos e quando se verificou a ausência de riscos deixados pelos abrasivos sobre as superfícies dos corpos de prova.

Para análise da microdureza foi utilizado o microdurômetro Future Tech modelo FM-7 acoplado a um software, e penetrador tipo KNOOP com carga estática de 25 gramas e tempo de 5 segundos. Dezesesseis identações foram feitas no esmalte ao redor de cada restauração. As impressões foram localizadas 20, 40, 60 e 80 μm , respectivamente, da superfície externa do esmalte e 50, 100, 150 e 200 μm , respectivamente, da parede lateral do preparo cavitário. Essas distâncias foram estabelecidas com base na profundidade de cárie que foi encontrada em um estudo piloto realizado previamente às fases clínicas do experimento.

A figura a seguir ilustra a seqüência de preparação dos blocos e o esquema das identações feitas nas margens das restaurações.

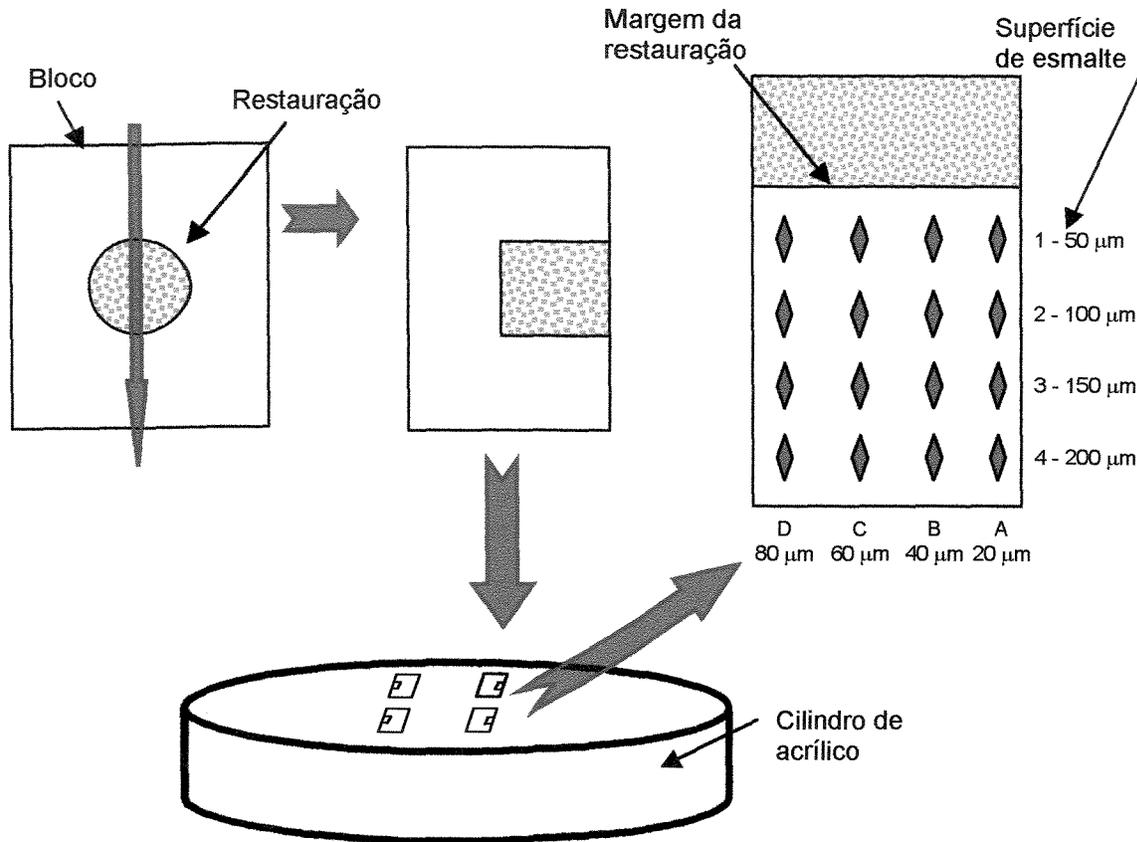


Figura 8. Corte, embutimento e esquema das identações feitas no esmalte adjacente às restaurações.

Os resultados da avaliação da cárie secundária foram representados através dos valores de microdureza Knoop (KHN), nas diferentes profundidades e distâncias das margens. Além disso, transformaram-se os valores de KHN em porcentagem de volume mineral, sendo que esses novos dados foram plotados em função da profundidade de lesão.

A transformação foi feita empregando-se a fórmula proposta por FEATHERSTONE et al. (1983), que relaciona os valores de KHN com porcentagem de volume mineral. Através desse estudo, foi estabelecida uma relação entre valores de indentação de microdureza e conteúdo mineral, válida para esmalte hígido e parcialmente desmineralizado e para dentina hígida. Os autores demonstraram que a porcentagem de mineral em volume, como determinado pela microrradiografia, foi diretamente proporcional à raiz quadrada do KHN, com um coeficiente de correlação de 0,92, tendo proposto, então, a seguinte equação:

$$\% \text{ mineral (em volume)} = 4,3 \cdot \text{KHN}^{1/2} + 11,3$$

4.5.5. ANÁLISE VISUAL

Ao término da fase clínica, os blocos dentais foram removidos dos aparelhos e limpos com auxílio de escova macia e dentífrício não-fluoretado. Após isso, os espécimes foram mantidos em ambiente úmido refrigerado, até que fossem fotografados.

Os *slides* foram feitos com auxílio de uma máquina NIKON F 70, à qual foi acoplada uma lente MEDICAL NIKKOR 120 mm F-4, ajustada para um aumento de 1/1,2. Utilizaram-se filmes para *slides* FUJICHROME Sensia 100, sendo que os mesmos foram sempre adquiridos e revelados no mesmo estabelecimento. Antes da tomada dos *slides*, os blocos dentais foram mantidos

secos por 3 minutos, a fim de se promover um leve ressecamento da estrutura dental. As fotos foram feitas de modo que em cada uma se registrassem 4 blocos dentais.

A análise visual foi realizada por 3 cirurgiões-dentistas, alunos de pós-graduação, previamente calibrados. Os examinadores classificaram a presença e severidade das lesões de cárie atribuindo escores variando de 0 a 3 (figura 9). Foi sugerido que, na dúvida entre escores, o mais severo deveria ser atribuído. A projeção dos slides foi realizada em uma sala totalmente escura, utilizando-se um projetor KODAK CAROUSEL 5600.

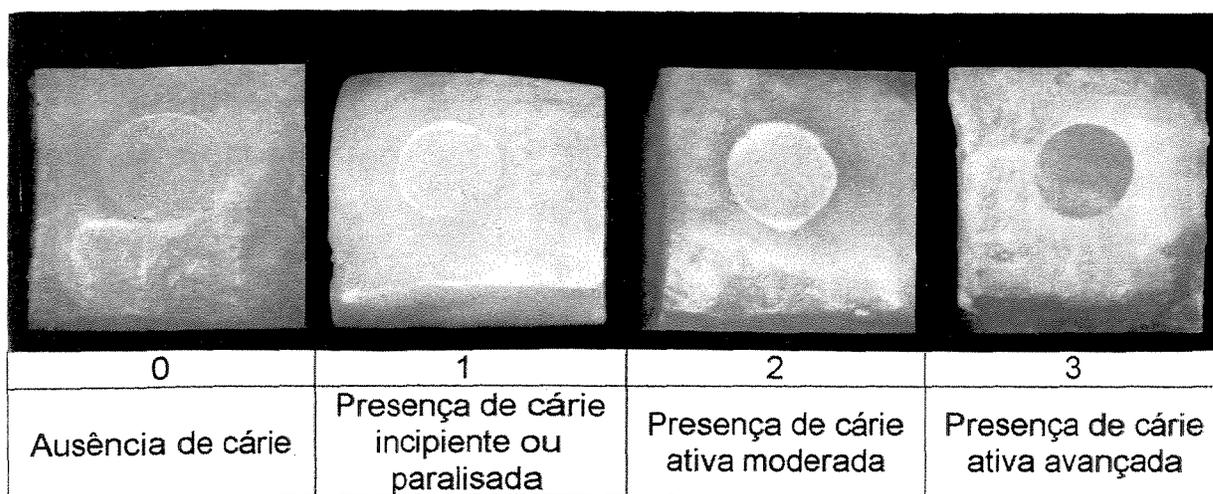


Figura 9. Escores de lesão de cárie atribuídos pelos examinadores

Para a calibração, selecionaram-se 32 fragmentos (8 slides) sem e com a presença de lesão de cárie. Esses blocos dentais foram examinados em conjunto por todos os avaliadores e, após um consenso entre eles, escores foram

atribuídos. A avaliação final foi realizada individualmente, seguindo-se os mesmos critérios empregados na calibração, sendo os escores de cada bloco assinalados em uma ficha de avaliação.

Para a análise dos dados, calculou-se a mediana dos escores atribuídos pelos examinadores a cada bloco. Visto que a unidade experimental do estudo é constituída por voluntários, uma nova mediana foi calculada, desta vez correspondente aos escores dos quatro blocos de cada voluntário, em cada tratamento.

4.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises estatísticas foram realizadas considerando que o delineamento do presente experimento foi do tipo cruzado. Dessa maneira, quando a análise dos dados através de um estudo de suposições mostrava que os mesmos apresentavam distribuição normal, era empregado o teste paramétrico **Análise de Variância (ANOVA)** de acordo com o modelo adequado para experimentos casualizados em blocos (ANOVA com dois critérios - **material e voluntário**). Se o fator material mostrasse efeito significativo sobre a variável de resposta, adotava-se o teste de **Tukey** para a realização da comparação das médias.

Para as análises de microdureza, houve uma mudança no modelo de análise de dados em decorrência da existência de dois outros fatores (**distância**

da margem e profundidade), que foram aleatoriamente estabelecidos após a aplicação do tratamento principal. Sendo assim, a análise dos dados foi adequada de acordo com um modelo para experimentos casualizados em blocos com **parcelas subdivididas**, considerando-se os fatores distância e profundidade como determinantes da subparcela e o fator material determinante da parcela.

Quando o estudo de suposição indicava que os dados não se adequavam ao modelo estatístico adotado, os mesmos eram transformados. Para as análises dos resultados de composição bioquímica e microbiológica da placa, apenas os dados de PI não exigiram transformação. Os demais resultados foram transformados da seguinte maneira: converteram-se os dados de F em $1/x$, os de Al, Ca, P, em $\log(x)$, os de microbiologia, em $\ln(x)$ (logaritmo neperiano). A análise dos dados de microdureza também indicou necessidade de transformação, sendo que os valores foram elevados à potência 2,8.

A análise estatística dos dados referentes à análise visual de cárie foi realizada através da aplicação de um teste não paramétrico, visto que se tratavam de dados ordenativos (não-numéricos), representativos da mediana dos escores obtidos para cada voluntário. As diferenças observadas entre os tratamentos para a variável de resposta qualitativa **desenvolvimento de cárie secundária** foram determinadas pelo teste de Friedman, já que o estudo envolveu amostras relacionadas.

Para se verificar o grau de concordância entre os examinadores, foram realizados os testes de concordância e o teste Kappa. Os testes comparam apenas 2 examinadores entre si; dessa maneira, houve a necessidade de se empregar os testes 3 vezes (para examinadores 1 e 2, 2 e 3 e 1 e 3). A partir dos resultados obtidos para cada associação, calculou-se uma média para o teste de concordância e uma média para o teste Kappa.

Adicionalmente, procurou-se detectar e quantificar a associação existente entre as variáveis de resposta observadas no experimento. Sendo assim, estudos de correlação e regressão foram aplicados, com o objetivo de verificar a relação entre as concentrações de F, Al, Ca, P e PI e a contagem de estreptococos do grupo mutans, bem como entre F, Al, Ca, P e PI e a proporção desses microrganismos na placa dental. Para o estudo de correlação, foram calculados os coeficientes de correlação de Pearson - que permitem estudar a associação entre duas variáveis - e, para o estudo de regressão, calcularam-se as regressões múltiplas, que permitem o estudo do comportamento de uma variável dependente em função de duas ou mais variáveis preditoras.

As análises foram feitas com auxílio dos programas de estatística SAS e Bioestat, sempre se considerando um nível de significância de 5%.

5. RESULTADOS

5.1. COMPOSIÇÃO BIOQUÍMICA DA PLACA DENTAL

Os resultados (médias \pm desvios-padrão) relativos à composição bioquímica da placa dental para cada tratamento (material restaurador) estão demonstrados na tabela 2. Os resultados da concentração de flúor e alumínio estão expressos em $\mu\text{g/g}$ de placa (ppm) e os de polissacarídeo insolúvel em água (PI), cálcio e fósforo estão expressos em mg/g de placa.

Tabela 2. Médias (desvios-padrão) das concentrações de flúor, PI, alumínio, cálcio e fósforo na placa dental, para cada tratamento (n=11).

MATERIAL	FLÚOR ($\mu\text{g/g}$)	PI (mg/g)	ALUMÍNIO ($\mu\text{g/g}$)	CÁLCIO (mg/g)	FÓSFORO (mg/g)
RESINA	3,83	39,58	0,03	0,43	0,43
COMPOSTA	(3,14)	(37,46)	(0,02)	(0,15)	(0,18)
IONÔMERO	13,42	26,50	0,20	0,43	0,42
MODIFICADO	(21,80)	(21,81)	(0,28)	(0,22)	(0,10)
IONÔMERO	7,74	29,84	0,08	0,62	0,54
CONVENCIONAL	(7,25)	(21,06)	(0,15)	(0,49)	(0,28)

*A comparação entre as médias de todas as variáveis de resposta não mostrou diferença significativa entre os tratamentos.

A análise de variância mostrou que o modelo (tratamento) não foi significativo para nenhuma das variáveis de resposta relativas à composição bioquímica da placa. Isso não nos permite concluir que existam médias diferentes para essas variáveis, nos diversos níveis de materiais utilizados.

Em relação ao flúor, a maior média observada foi com o material ionômero de vidro modificado (IV MOD.), enquanto que menor média ocorreu com o material resina composta. Estes resultados estão ilustrados na figura 10.

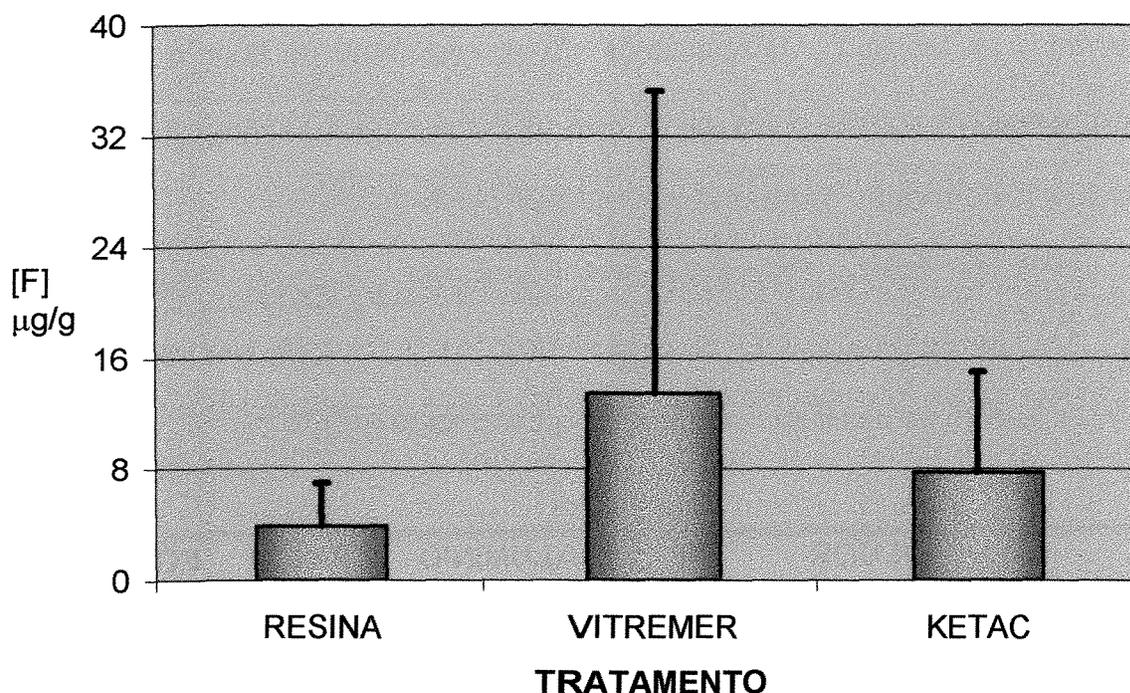


Figura 10. Média (+ desvio-padrão) da concentração de flúor na placa dental em função dos tratamentos.

Para polissacarídeo insolúvel, as médias seguiram uma proporção inversa em relação à concentração de flúor, ou seja, um valor maior foi encontrado na placa formada sobre resina composta, e um menor, sobre ionômero de vidro modificado. A figura 11 ilustra esse resultado.

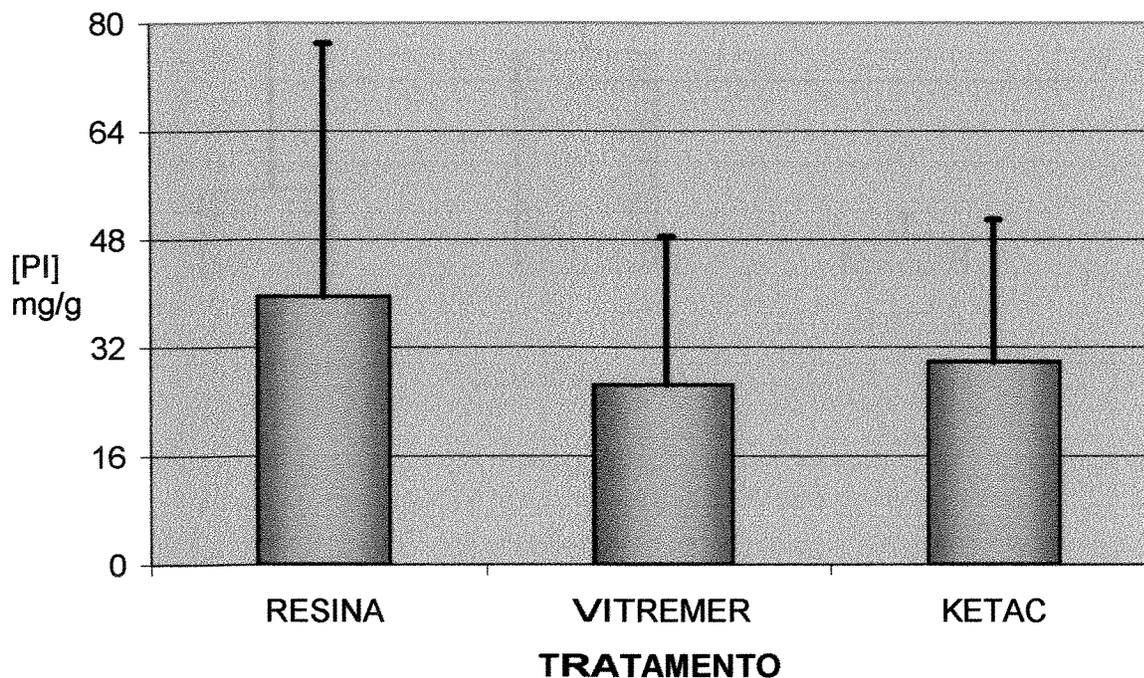


Figura 11. Média (+ desvio-padrão) da concentração de PI na placa dental, em função dos tratamentos.

Em relação ao alumínio, observou-se o mesmo padrão de concentração que o flúor, ou seja, a maior média obtida foi com o material ionômero de vidro modificado (IV MOD.), enquanto que menor média ocorreu com o material resina composta. Estes resultados estão ilustrados na figura 12.

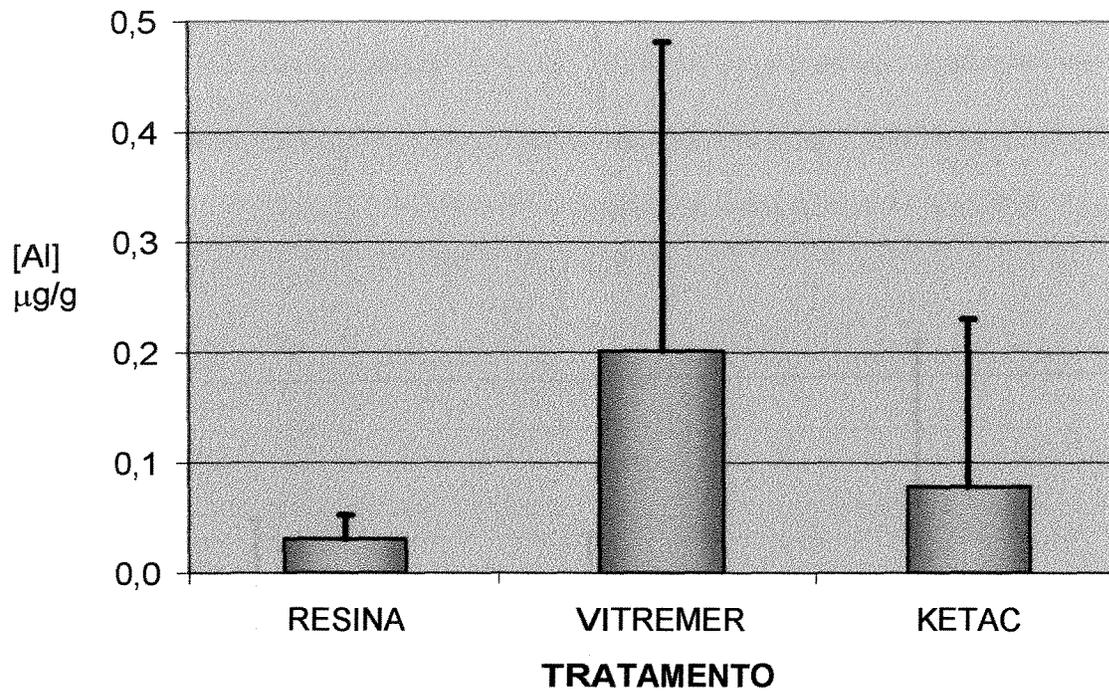


Figura 12. Média (+ desvio-padrão) da concentração de alumínio na placa dental, em função dos tratamentos.

Para cálcio e fósforo, a análise estatística não mostrou diferenças entre os tratamentos, embora uma média um pouco superior tenha sido observada com o cimento convencional. Os resultados estão ilustrados na figura 13.

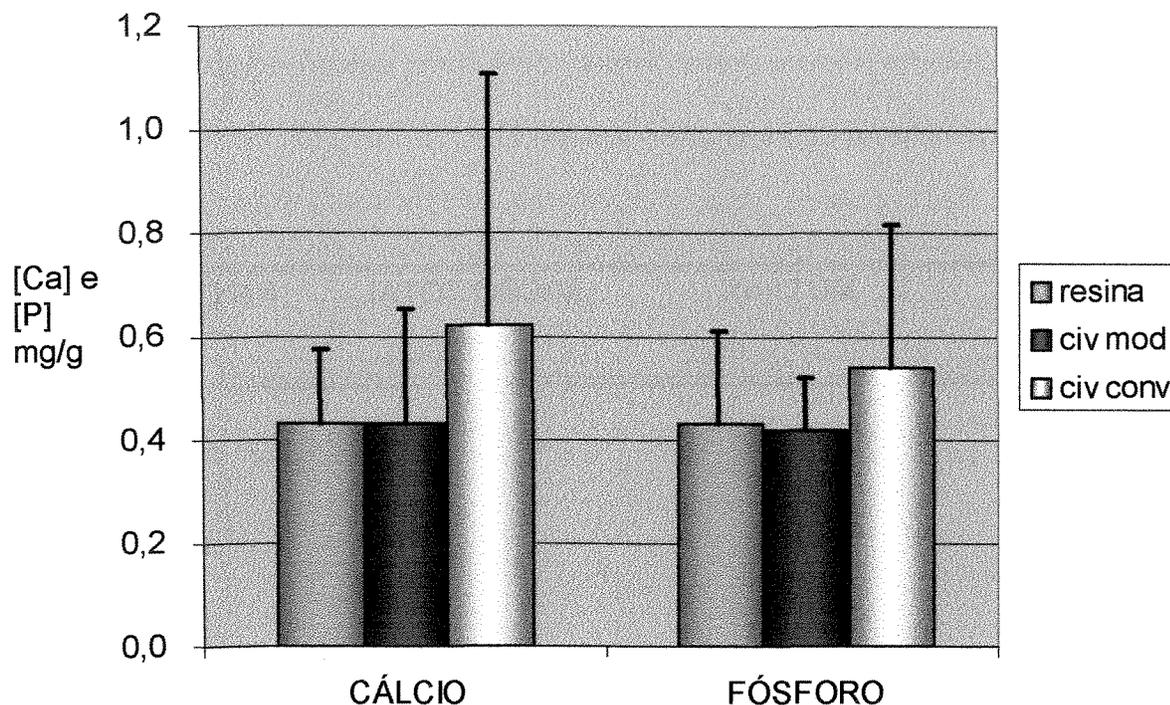


Figura 13. Média (+ desvio-padrão) da concentração de cálcio e fósforo na placa dental, em função dos tratamentos.

5.2. COMPOSIÇÃO MICROBIOLÓGICA DA PLACA DENTAL

Os resultados (média \pm desvio-padrão) relativos às contagens de estreptococos do grupo mutans e de microbiota total na placa dental em termos de unidades formadoras de colônia por peso de placa (UFC/mg) para os três materiais estão expressos na tabela 3. A tabela mostra ainda as proporções de estreptococos do grupo mutans em relação à microbiota total em cada tratamento.

Tabela 3. Médias e desvios-padrão das UFC de estreptococos do grupo mutans e de microbiota total na placa dental, bem como das proporções entre tais contagens, para os três materiais (n=11).

MATERIAL	MUTANS (10 ⁵ UFC/mg)	MICRO TOTAL (10 ⁷ UFC/mg)	PROPORÇÃO (%)
RESINA COMPOSTA IONÔMERO MODIFICADO IONÔMERO CONVENCIONAL	4,68 ± 7,98	3,84 ± 2,50	1,25 ± 2,12
	5,15 ± 15,2	6,04 ± 9,27	0,44 ± 0,50
	3,00 ± 4,06	3,60 ± 2,51	1,06 ± 1,29

*A comparação entre as médias de todas as variáveis de resposta não mostrou diferença significativa entre os tratamentos.

De maneira semelhante ao observado na análise de variância da composição bioquímica da placa, verificou-se que os tratamentos não diferiram estatisticamente entre si, para as três variáveis de resposta analisadas. As figuras 14 e 15 ilustram os resultados das contagens absolutas (estreptococos do grupo mutans e microbiota total).

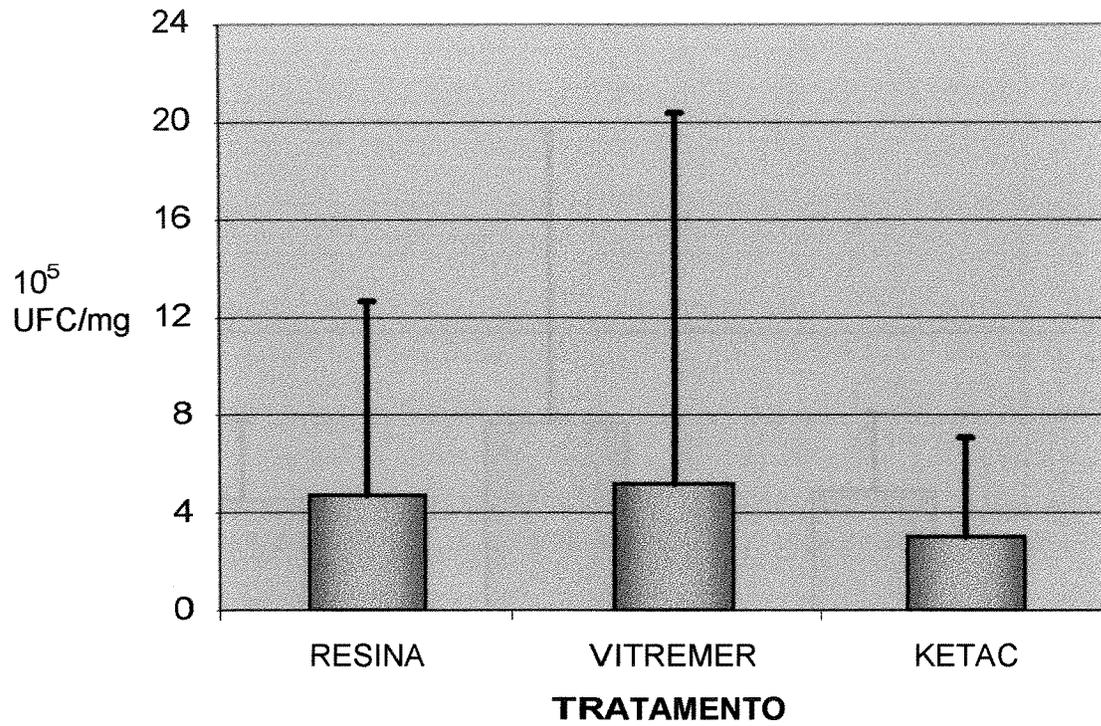


Figura 14. Média (+ desvio-padrão) da contagem de estreptococos do grupo mutans na placa dental (UFC/mg) em função dos tratamentos.

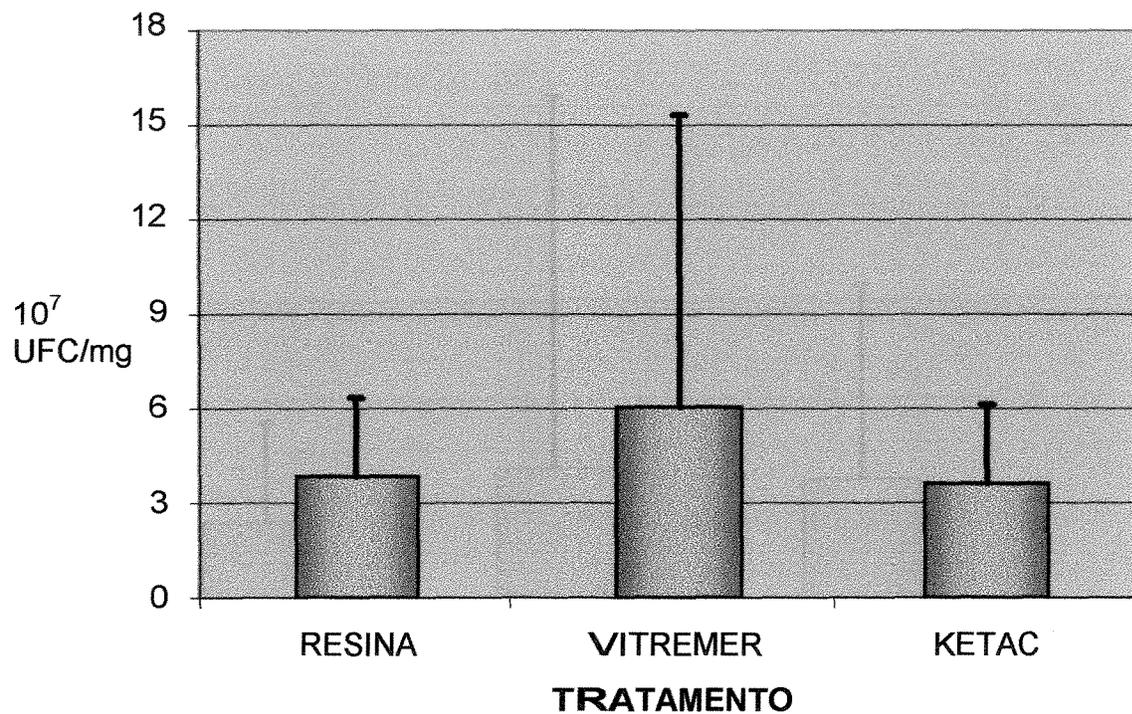


Figura 15. Média (+ desvio-padrão) da contagem de microbiota total na placa dental (UFC/mg) em função dos tratamentos.

Diferenças maiores foram encontradas para a proporção entre estreptococos do grupo mutans e microbiota total. Nesse caso, a maior média observada foi com o material resina composta e a menor média com ionômero de vidro modificado. Esses resultados estão ilustrados na figura 16.

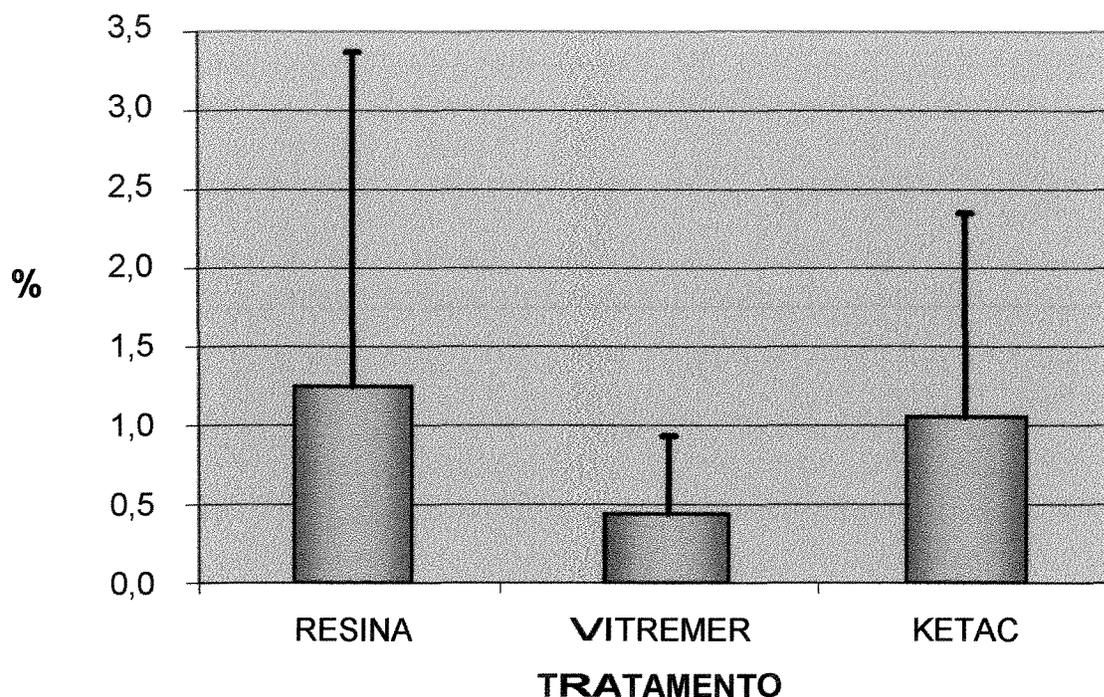


Figura 16. Média (+ desvio-padrão) da proporção entre as contagens de estreptococos do grupo mutans e microrganismos totais (%) em função dos tratamentos.

5.3. ANÁLISE DE MICRODUREZA

A tabela a seguir (tabela 4) mostra as médias e desvios-padrão dos valores de microdureza Knoop nas diferentes distâncias da superfície dental e da margem da restauração. Como já explicado no tópico materiais e métodos, cada identificação recebeu uma codificação com uma letra e um número, de modo que as letras representam as distâncias da superfície (A - 20 μm , B - 40 μm , C - 60 μm , D

- 80 μm) e os números as distâncias da parede oclusal ou cervical da restauração (1- 50 μm , 2 - 100 μm , 3 - 150 μm , 4 - 200 μm).

Tabela 4. Médias (desvios-padrão) dos valores de dureza nas 16 distâncias analisadas (n=11).

MATERIAL	DISTÂNCIA DA SUPERFÍCIE E DA MARGEM															
	A1	A2	A3	A4	B1	B2	B3	B4	C1	C2	C3	C4	D1	D2	D3	D4
RESINA COMPOSTA	191,1 (55,5)	216,0 (52,1)	224,2 (52,4)	213,4 (52,4)	283,7 (58,9)	291,3 (37,5)	314,2 (42,4)	306,1 (32,6)	313,2 (38,3)	340,3 (18,0)	347,5 (20,1)	337,8 (17,5)	338,5 (31,4)	350,3 (19,7)	358,0 (15,4)	357,5 (13,5)
IONÔMERO MODIFICADO	289,2 (24,6)	306,6 (23,0)	310,2 (22,4)	294,7 (31,8)	350,2 (27,0)	354,9 (24,6)	353,4 (24,0)	353,6 (19,8)	358,5 (23,0)	362,6 (23,5)	364,4 (20,8)	357,0 (27,0)	370,7 (19,4)	366,6 (20,7)	368,7 (20,8)	367,9 (21,6)
IONÔMERO CONVENCIONAL	299,4 (32,4)	325,4 (29,8)	322,2 (34,7)	318,3 (37,4)	351,3 (25,2)	354,6 (23,1)	361,4 (24,5)	361,3 (23,1)	370,0 (26,1)	370,2 (23,4)	370,4 (16,4)	372,0 (21,6)	367,6 (19,9)	370,1 (22,2)	371,6 (21,0)	374,9 (18,0)

A análise estatística dos dados de microdureza revelou que há fortes indícios de interação entre os fatores **material e profundidade** e **material e distância da margem**. Como houve indícios de efeito significativo das interações, os fatores principais não foram analisados individualmente, ou seja, a existência de interação fez com que não se considerassem válidas as análises globais.

A análise da interação **material, profundidade e distância da margem** não mostrou efeito significativo, indicando a inexistência de diferenças entre os valores de dureza nas distâncias 1, 2, 3 e 4 referentes a uma mesma profundidade de indentação (A, B, C ou D), para todos os materiais. Sendo assim, optou-se por se representar os dados através de uma média das 4 indentações em cada profundidade. Essas médias e desvios-padrão estão expressos na tabela 5.

Tabela 5. Médias (desvios-padrão) dos valores de dureza nas profundidades de 20, 40, 60 e 80 μm (n=11).

MATERIAL	DISTÂNCIA DA SUPERFÍCIE (μm)			
	20	40	60	80
RESINA COMPOSTA	211,17 ^{aA} (52,70)	298,85 ^{aB} (44,12)	334,68 ^{aC} (27,43)	351,08 ^{aD} (21,93)
IONÔMERO MODIFICADO	300,16 ^{bA} (26,28)	353,05 ^{bB} (23,22)	360,62 ^{bBC} (23,06)	368,49 ^{bC} (19,99)
IONÔMERO CONVENCIONAL	316,30 ^{cA} (34,06)	357,17 ^{bB} (23,57)	370,65 ^{bC} (21,39)	371,06 ^{bC} (19,79)

* Médias seguidas por letras distintas diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$).

** Letras minúsculas indicam comparação entre tratamentos (sentido vertical); letras maiúsculas representam comparação entre profundidades (sentido horizontal).

Os resultados expressos na tabela acima mostram que há diferença estatisticamente significativa entre os valores de microdureza dos blocos restaurados com resina composta e os valores referentes aos cimentos de ionômero de vidro. Para todas as profundidades observou-se uma inibição na perda de dureza pelos materiais ionoméricos, sendo que um melhor comportamento anticariogênico foi exercido pelo cimento convencional, a 20 μm da superfície. Embora haja uma pequena diferença entre os dados dos dois cimentos de ionômero nas outras profundidades, com maiores médias para o cimento convencional, esta não foi estatisticamente significativa.

Os dados da tabela 5 estão expressos graficamente na figura 17.

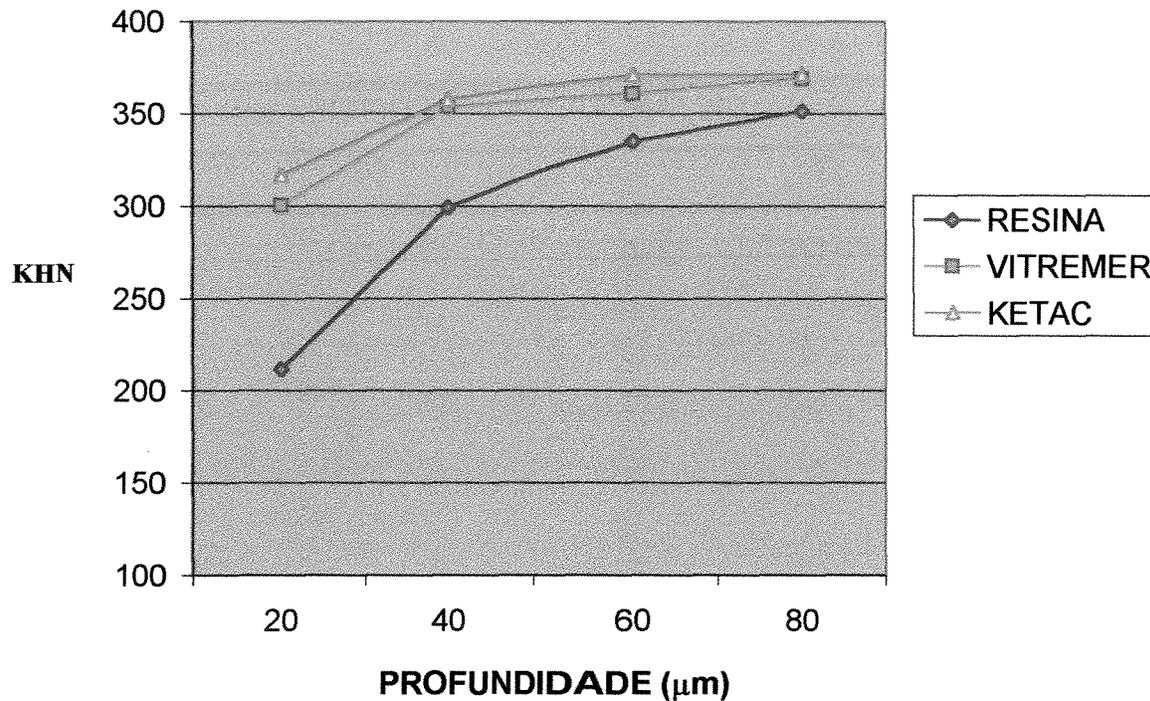


Figura 17. Microdureza nas profundidades de 20, 40, 60 e 80 μm , em função dos tratamentos.

Adicionalmente, os valores de microdureza foram transformados em porcentagem de volume mineral (% VM), para cada profundidade analisada. Esses resultados estão expressos na figura 18.

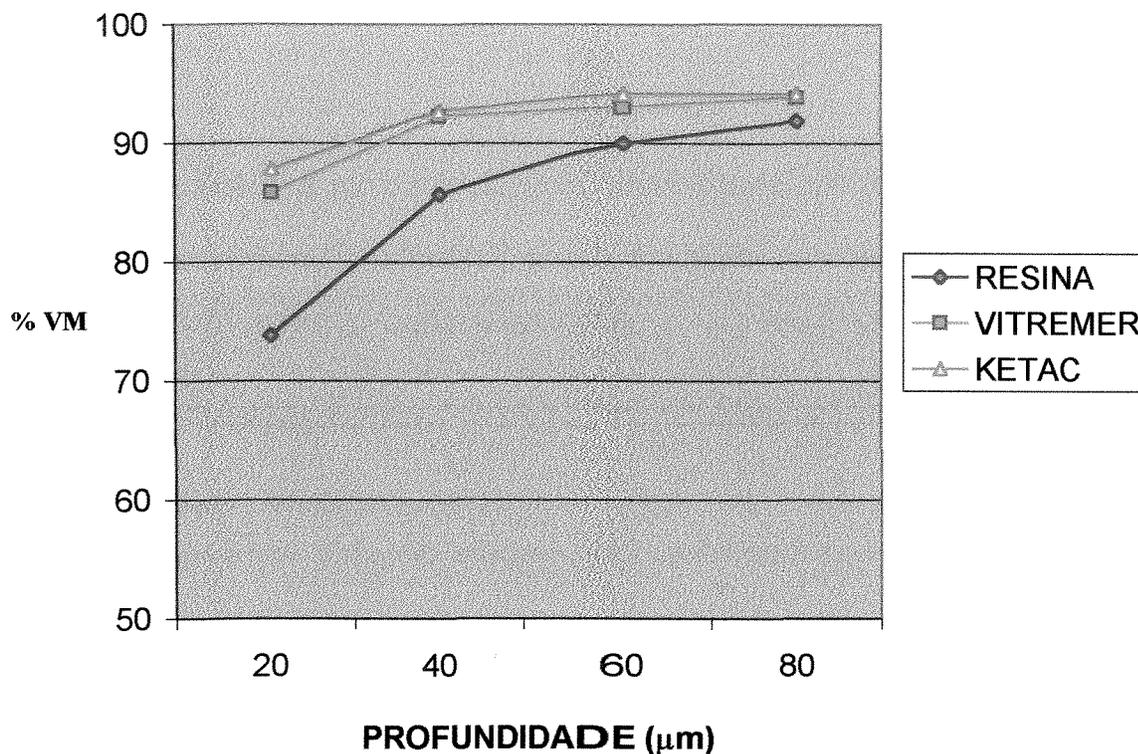


Figura 18. Porcentagem de volume mineral nas profundidades de 20, 40, 60 e 80 μm , em função dos tratamentos.

Observa-se que, de um modo geral, há uma tendência para diminuição da severidade da lesão de cárie, com o aumento da profundidade do esmalte, considerando-se os três materiais. Apesar desse resultado, a resina composta não apresentou a mesma diminuição da progressão da lesão em relação aos materiais ionoméricos.

5.4. ANÁLISE VISUAL

Os resultados dos escores de cárie obtidos com a análise visual dos blocos dentais estão expressos na tabela a seguir (tabela 6). Embora um teste não paramétrico tenha sido utilizado para estimar as diferenças entre os tratamentos, para ilustração, os resultados estão apresentados como média e desvio-padrão.

Tabela 6. Médias (\pm desvios-padrão) dos escores de cárie correspondentes à análise visual, para os três materiais (n=12).

MATERIAL	ESCORE
RESINA COMPOSTA	2,58 \pm 0,60 a
IONÔMERO MODIFICADO	1,29 \pm 0,66 b
IONÔMERO CONVENCIONAL	1,04 \pm 0,81 b

* Médias seguidas por letras distintas diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$).

A análise estatística não-paramétrica dos escores de cárie atribuídos pelos examinadores mostrou haver diferença significativa entre os tratamentos. Ambos os materiais ionoméricos exibiram menor desenvolvimento de cárie secundária em relação à resina composta, como indicado pela figura 19. Mesmo se constatando que menores escores foram atribuídos aos blocos restaurados com o ionômero convencional, não foi verificada diferença estatisticamente significante entre os CIVs.

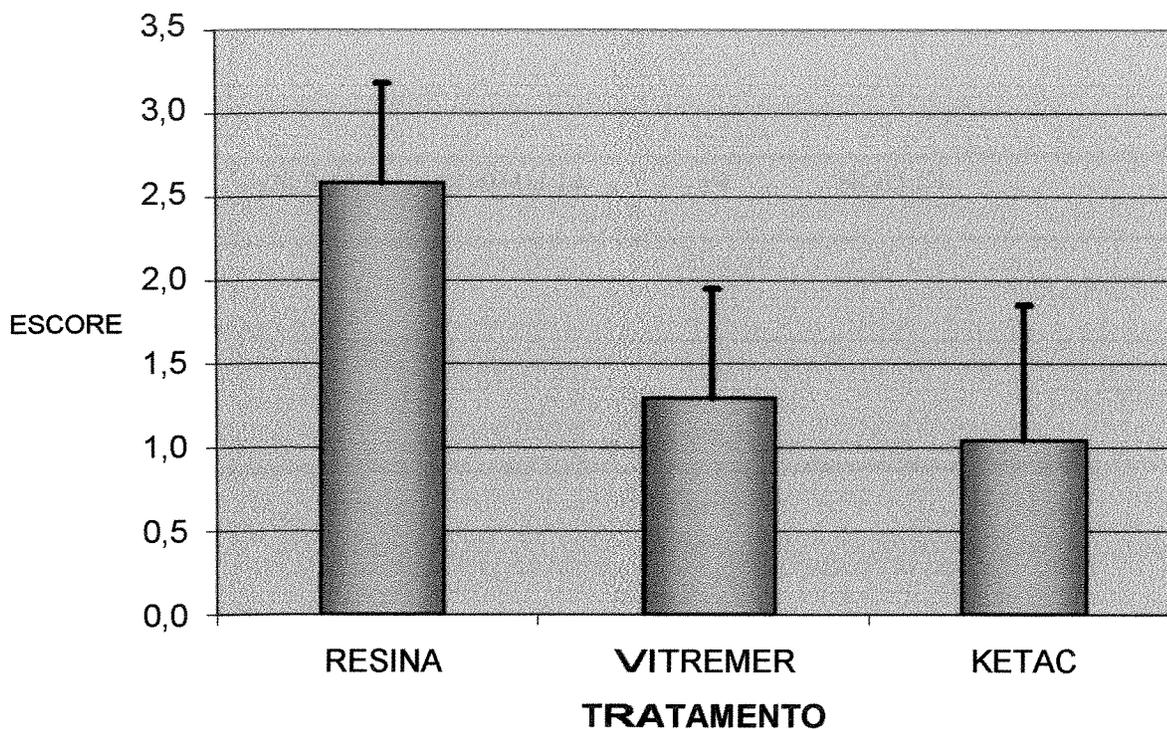


Figura 19. Médias (+ desvios-padrão) dos escores de cárie correspondentes à análise visual, em função dos tratamentos.

A análise da concordância entre os examinadores mostrou que os mesmos concordaram em 73% dos escores atribuídos. Além disso, essa boa concordância foi confirmada pelo teste Kappa, cujo valor médio de k foi 0,63.

5.5. CORRELAÇÃO E REGRESSÃO

Na tabela 7 estão listados os coeficientes de correlação entre as variáveis estudadas.

Tabela 7. Coeficientes de correlação de Pearson e valores de p para teste da hipótese de nulidade (n=11).

	FLÚOR	PI	ALUMÍNIO	CÁLCIO	FÓSFORO
PROPORÇÃO	0,17	-0,25	0,11	0,17	0,17
	0,38	0,18	0,56	0,37	0,41
MUTANS	0,19	-0,41	0,38	0,30	0,33
	0,30	0,02	0,04	0,11	0,09

Para que se conclua que exista associação entre variáveis, o valor de p deve ser inferior ao limite de significância previamente estabelecido (5%). Sendo assim, os resultados da análise estatística demonstram que não há indícios de que alguma variável esteja associada à proporção de estreptococos do grupo mutans.

Os resultados da análise de regressão, expressos pelos valores de p concernentes às variáveis em estudo, estão indicados na tabela a seguir:

Tabela 8. Valores de p referentes ao estudo de regressão dos dados originais, para cada variável (n=11).

	FLÚOR	PI	ALUMÍNIO	CÁLCIO	FÓSFORO
PROPORÇÃO	0,20	0,92	0,78	0,23	0,74
MUTANS	0,29	0,44	0,77	0,35	0,90

O estudo de regressão linear múltipla, envolvendo as mesmas variáveis analisadas pelo coeficiente de correlação de Pearson, indicou que não são detectados indícios de que qualquer uma das variáveis preditoras afete significativamente os níveis de estreptococos do grupo mutans e a proporção de microrganismos na placa dental.

Sendo assim, ambos os testes mostraram que nenhuma das variáveis em estudo se apresentou significativa para explicar os diferentes valores de mutans e de proporção encontrados com as análises dos materiais testados.

6. DISCUSSÃO

6.1. UTILIZAÇÃO DE MODELOS DE ESTUDO “IN SITU”

A cárie dental é uma conseqüência do desequilíbrio entre os processos de desmineralização e remineralização que ocorrem constantemente na interface dente-placa dental. O estudo do mecanismo de trocas minerais entre meio e esmalte/dentina e do perfil de determinado produto sobre a perda e o ganho desses minerais tem conquistado cada vez mais espaço dentro da odontologia, em especial da cariologia (WHITE, 1992). Sendo assim, diversos tipos de estudos *in vitro*, *in situ* e *in vivo* têm sido introduzidos e utilizados com a finalidade de avaliar o efeito preventivo de agentes supostamente anticariogênicos, entre eles materiais restauradores com capacidade de interferir na dinâmica do processo de cárie.

Vários trabalhos na literatura (BENELLI et al., 1993; DONLY et al., 1999; KOTSANOS, 2001) – bem como o presente experimento - valeram-se de um delineamento de estudo *in situ* com o objetivo de verificar o potencial cariostático dos cimentos de ionômero de vidro, dada a sua reconhecida propriedade de liberação de flúor. Os modelos de cárie *in situ* envolvem o uso de aparelhos ou dispositivos intra-orais que criam condições definidas na boca

humana, a fim de simular o processo de cárie dental. Idealmente, tais estudos servem como uma ponte entre uma situação clínica não controlada e uma condição laboratorial altamente controlada (ZERO, 1995). Além de contemplar os efeitos de agentes terapêuticos sobre a perda e o ganho de minerais pelos tecidos dentais, os estudos *in situ* englobam outros fatores envolvidos na dinâmica do processo de cárie, dada a natureza multifatorial da doença. Dessa maneira, tal delineamento deve incluir: um substrato dental (esmalte ou dentina); a formação e a presença de placa dental; um desafio cariogênico – experimentalmente controlado ou provido pela própria dieta dos sujeitos; e tempo, determinado pela extensão do período experimental (ZERO, 1995).

Como tais estudos são capazes de abordar vários fatores relacionados à doença cárie, é possível, a partir de um delineamento específico, verificar tanto o potencial cariostático de determinado material (avaliando a perda mineral do substrato dental), como também a capacidade deste agente em modificar a composição bioquímica e microbiológica da placa formada. Por conseguinte, modelos *in situ* têm ampla aplicação em Cariologia e particularmente na avaliação de materiais restauradores, como demonstrado por BENELLI et al., em 1993. Sendo assim, através da utilização de aparelhos palatinos contendo blocos de esmalte dental humano restaurados e cobertos por uma tela plástica, o presente trabalho pôde estudar não somente o potencial cariostático dos cimentos, como também sua capacidade em interferir com a formação de uma microbiota cariogênica, relacionando tais efeitos com a composição orgânica e inorgânica da

placa dental. A formação de uma placa dental cariogênica foi conseguida com a exposição dos blocos a uma solução de sacarose a 20%, oito vezes ao dia, por um período de 21 dias.

A extração dos componentes orgânicos e inorgânicos da placa permitiu a mensuração das concentrações de F, Al, Ca, P e polissacarídeo insolúvel em água, de modo que se pudesse correlacionar tal composição com o potencial antimicrobiano e anticariogênico dos materiais testados. Os itens que se seguem discutem os resultados encontrados com a análise bioquímica e microbiológica da placa, e com as análises visual e de microdureza dos blocos de esmalte.

6.2. ANÁLISE BIOQUÍMICA DA PLACA DENTAL

O principal mecanismo cariostático do flúor é a sua capacidade de interferir no processo físico-químico de formação da lesão, promovendo mudanças na saturação iônica do meio, quando presente de maneira constante na fase aquosa ao redor dos dentes (saliva e fluido da placa) e no fluido do esmalte. Dentro desse contexto, a incorporação de flúor em materiais restauradores proporciona um reservatório potencial desse elemento a ser liberado no ambiente bucal. Dessa maneira, a principal razão para o uso dos cimentos de ionômero de vidro tem sido a liberação duradoura de flúor, sendo que parte desse flúor liberado pode ser incorporado aos tecidos dentários adjacentes, tornando-os mais resistentes ao ataque de cárie secundária (FORSS & SEPPÄ, 1990).

Embora vários estudos *in vitro* mostrem concentrações elevadas de flúor nos diferentes meios de avaliação, os dados da literatura ainda não conclusivos sobre a qualidade da placa dental formada *in vivo* sobre CIVs, principalmente quanto à capacidade desses materiais em manter uma alta concentração de flúor na placa, por prolongados períodos de tempo. Sendo assim, apesar de alguns trabalhos terem detectado concentrações maiores desse elemento na placa formada sobre cimentos de ionômero de vidro convencional e modificado (FORSS et al., 1991; JOKINEN et al., 1991; BENELLI et al., 1993; HALLGREN et al., 1993; PASCOTTO et al., 1999), estudos de FORSS et al. (1991 e 1995) e VAN DIJKEN et al. (1997) mostram uma tendência para o decréscimo das concentrações desse elemento na placa formada sobre cimentos envelhecidos.

No modelo experimental adotado no presente trabalho, as análises bioquímicas de placa dental foram realizadas somente 22 dias após a confecção das restaurações e 21 dias do início de uso do aparelho pelos voluntários. Dessa maneira, o fato de as concentrações de flúor na placa formada sobre os CIVs não terem diferido estatisticamente daquelas sobre a resina pode ser devido à própria duração da fase clínica, já que a capacidade de liberação de flúor pelos ionômeros é bastante reduzida 24/48 h após a sua manipulação (FORSTEN, 1998). Sendo assim, o flúor lixiviado do material neste período de alta liberação pode ter sido progressivamente liberado para o meio bucal, resultando em baixas concentrações do elemento na placa dental.

Em acréscimo, diferentemente da metodologia empregada no presente trabalho, alguns estudos como os de HALLGREN et al. (1993), FORSS et al. (1995) e VAN DIJKEN et al. (1997) analisaram flúor em amostras de placa com menores tempos de formação - 48 horas, 2 dias e 1 semana, respectivamente. Sendo assim, embora estes estudos tenham encontrado concentrações superiores de flúor na placa dental, em relação à resina composta, os mesmos não podem ser diretamente comparados com o presente trabalho, dadas as diferenças metodológicas entre os experimentos.

Por outro lado, a ausência de diferença significativa na concentração de flúor na placa pode ser explicada pela incorporação desse elemento no esmalte adjacente às restaurações (BENELLI et al., 1993), por ocasião da dinâmica do processo de cárie (TEN CATE, 1990). Sendo assim, durante os períodos de desmineralização o material liberaria flúor para a placa dental e, durante a remineralização, este elemento seria incorporado pelo esmalte. Este fator torna-se ainda mais relevante, se levarmos em consideração que as sucessivas quedas de pH induzidas pelo alto desafio cariogênico tanto aumentam a liberação de flúor pelo material (FORSTEN, 1990), quanto a incorporação deste elemento ao esmalte dental (CURY et al., 2000).

Adicionalmente, diferentes tamanhos de restauração podem levar a mudanças na concentração de flúor nos meios de análise, já que a liberação desse elemento pelos CIVs é proporcional à área exposta do material (FUKAZAWA et al., 1987). No presente estudo, as restaurações apresentavam

dimensões pequenas (1,5 mm de diâmetro), se comparadas com as restaurações (no caso de estudos *in vivo* ou *in situ*) ou com os corpos de prova (em estudos *in vitro*) de outros trabalhos envolvendo análises de liberação de flúor (FORSTEN, 1990; FORSS et al., 1991; NAKAJIMA et al., 1997; CARVALHO & CURY, 1998; FUJIMAKI, 2000). Sendo assim, é possível que placas dentais formadas sobre restaurações de dimensões maiores contenham quantidades mais elevadas de flúor, e por períodos mais longos do que o empregado neste estudo, como observado nos trabalhos clínicos de FORSS et al. (1995) e VAN DIJKEN et al. (1997).

Além disso, o desafio cariogênico provocado pela alta frequência de exposição à sacarose leva à formação de uma placa rica em polissacarídeos extracelulares e pobre em cálcio e fósforo (CURY et al., 1997). Desta forma, a placa dental com tal composição pode ter possíveis locais de ligação do íon flúor suprimidos, fazendo com que este elemento fosse "perdido" para o meio bucal. Segundo SEPPÄ et al. (1993), a liberação de flúor por CIVs para a placa é suficiente para a formação de CaF_2 , que poderia atuar como um reservatório de F. Além disso, o cálcio pode funcionar como uma "ponte" de ligação do flúor com a parede das bactérias presentes na placa dental (ROSE et al., 1996). Dessa maneira, concentrações diminuídas de cálcio na placa - como as que são encontradas com uma alta frequência de administração de sacarose - provavelmente limitam a formação desses complexos entre F e Ca e, conseqüentemente, a fixação do fluoreto.

Adicionalmente, sabe-se que os ionômeros possuem a propriedade de incorporar fluoreto a partir de aplicações tópicas, mantendo, assim, a característica de liberação deste elemento (FORSS et al., 1993). Como os voluntários deste estudo privaram-se de quaisquer fontes externas de aplicação tópica de F, a falta de possíveis “recargas” desse elemento às restaurações pode ter contribuído para que não se encontrassem maiores quantidades do mesmo na placa dental.

Em relação ao alumínio, os resultados mostraram que as concentrações do elemento na placa formada sobre os ionômeros não diferiram daquelas encontradas sobre a resina. Levando-se em consideração que o padrão de liberação de Al é semelhante ao de F (SAVARINO et al., 1990), espera-se que o Al também tenha sido liberado nas primeiras horas após a exposição do material à cavidade bucal. Este fato poderia explicar as baixas concentrações deste elemento encontradas na placa formada sobre os cimentos de ionômero, já que os resultados de CIVs e resina foram estatisticamente semelhantes.

O padrão de liberação de alumínio, bem como de vários outros elementos presentes na composição do ionômero, é explicado pela própria química do material. Sabe-se que o cimento endurecido possui uma estrutura composta de duas fases: partículas de vidro não reagidas embebidas em uma matriz gel que contém policarboxilatos e complexos de flúor. Como a reação de presa dos ionômeros continua por um longo período, a estrutura da matriz pode alterar com o tempo de envelhecimento. Visto que o íon alumínio continua a reagir

com o ácido poliacrílico por um longo período, e o F também necessita de um tempo maior para formar complexos insolúveis na matriz, é de se esperar que a maturação da matriz dificulte a eluição desses elementos. Dessa maneira, a liberação de Al e F vai decrescendo com o envelhecimento do material (FUKAZAWA et al., 1987).

No presente estudo, esperou-se 24 horas até que o cimento tivesse sua presa completada, para que depois as restaurações fossem polidas e levadas à boca dos voluntários. No estudo de FUKAZAWA et al. (1987), um tempo de envelhecimento de 24 horas foi suficiente para reduzir à metade a liberação *in vitro* de alumínio, em um período de avaliação de 5 dias. Dessa maneira, é possível que neste experimento *in situ* menores concentrações de Al com potencial de liberação para a placa estivessem disponíveis na matriz do material no início do estudo.

Esses mesmos autores relataram ainda que íons H^+ podem se difundir do meio para o cimento e substituir o Al na matriz. O alumínio se difundiria, então, para a superfície do material, sendo liberado do mesmo. Sendo assim, a taxa de liberação inicial do Al neste estudo poderia ter sido aumentada pela constante exposição do cimento aos episódios de queda do pH da placa, o que causaria (de maneira semelhante ao flúor) uma depleção do elemento na matriz do material. Adicionalmente, a falta de sítios de ligação do alumínio com a placa rica em polissacarídeo (inclusive com os íons flúor), pode ter contribuído para que este elemento fosse perdido para o meio bucal.

Um fator que não pode ser ignorado é o de que tanto as concentrações de alumínio quanto as de flúor situam-se no limite inferior de sensibilidade dos métodos utilizados nas análises - eletrodo para a dosagem de flúor e espectrofotometria para alumínio. Além disso, observou-se que a dosagem de duplicatas das soluções obtidas com a extração mostrou uma alta variabilidade, para um mesmo voluntário. Dessa maneira, há que se considerar que os resultados podem carregar um erro inerente à metodologia de análise, contribuindo para que a diferença entre os resultados não atingisse níveis de significância estatística.

Embora esses níveis não tenham sido atingidos, as dosagens de flúor e alumínio mostram uma tendência para a presença de maiores concentrações desses elementos na placa formada sobre o cimento de ionômero modificado. Esses resultados absolutos estão de acordo com o recente trabalho de FUJIMAKI (2000), que verificou maior liberação *in vitro* de flúor e alumínio pelo cimento Vitremer, nos meios água, saliva e ciclagem de pH. Além disso, maiores concentrações desses elementos também foram verificadas na placa bacteriana experimental formada sobre o CIV modificado por resina. Como já discutido anteriormente, é possível que neste experimento *in vitro* as maiores dimensões do corpo de prova e a colocação imediata dos mesmos no caldo de cultura (logo após a manipulação do material) tenham concorrido para que diferenças fossem observadas nas concentrações de F e Al na placa. Por outro lado, a ausência de substrato dental durante a formação *in vitro* da placa experimental impede a

ocorrência dos processos de trocas iônicas típicas de estudos *in situ* e *in vivo* que contemplam um desafio cariogênico. Sendo assim, é mais provável que o flúor liberado tenha se acumulado na placa, já que não havia substrato dental para a incorporação desse elemento.

6.3. ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DA PLACA DENTAL

Além do já conhecido efeito de alguns materiais restauradores sobre os processos de cárie secundária, a composição da placa dental também pode ser afetada pelas propriedades químicas de diferentes cimentos odontológicos (VAN DIJKEN et al., 1990). Sendo assim, o efeito cariostático dos CIVs também tem sido atribuído à sua capacidade de interferir com a microbiota cariogênica, principalmente através da ação antibacteriana do flúor liberado (FORSS et al., 1991; HALLGREN et al., 1992; BENELLI et al., 1993; FORSS et al., 1995).

No presente trabalho, apesar da tendência evidente de que um efeito antimicrobiano seja observado com o cimento modificado, não houve diferença estatisticamente significativa entre os materiais. Uma justificativa para tal fato poderia ser o alto desafio cariogênico, que não permitiu evidenciar diferenças na composição microbiológica da placa dental, nos três materiais. É possível que as sucessivas quedas de pH geradas pela freqüente exposição da placa à sacarose tenha induzido uma forte seleção de microrganismos cariogênicos, aumentando a

patogenicidade da placa e dificultando, dessa maneira, a atuação dos elementos F e Al.

De acordo com MARSH & BRADSHAW (1990), uma concentração de 19 ppm de flúor (1 mmol/L) é suficiente para inibir a produção de ácidos por *Streptococcus mutans*, sendo que essa inibição pode gerar um ambiente mais propício ao crescimento de bactérias não-cariogênicas, alterando a ecologia da placa bacteriana. Além dos efeitos desse elemento sobre os microrganismos cariogênicos, sabe-se que o Al pode formar complexos de AlF_3 com o íon flúor, potencializando a ação desse elemento em inibir a $H^+ATPase$ de membrana de *S. mutans* e tornando as bactérias menos aptas para sobreviver em ambientes ácidos (STURR & MARQUIS, 1990).

A concentração citada acima de 19 ppm de F não foi encontrada nas análises desse estudo, referentes a uma placa dental de 21 dias formada em presença de sacarose. Esse fato também pode representar uma explicação para a ausência de inibição microbiana observada pelas contagens estatisticamente semelhantes de estreptococos do grupo mutans e de microrganismos totais nos 3 tratamentos. Adicionalmente, as concentrações de Al encontradas nas placas foram extremamente pequenas e também não diferiram estatisticamente para os três materiais, o que pode ter sido mais um fator concorrente para a ausência de diferença nas contagens verificada neste estudo. Corroborando esses achados, BERG et al. (1990) não observaram diferenças nas contagens de estreptococos do grupo mutans na placa bacteriana formada sobre restaurações de classe II de

um cimento de ionômero de vidro ou uma resina composta, um mês após a realização do tratamento restaurador.

O período de duração do presente estudo também deve ser levado em consideração. Sabe-se que a alta liberação inicial de F é consideravelmente reduzida após semanas ou meses, sendo este o principal motivo pelo qual as restaurações de CIV envelhecidas perdem a capacidade de interferir no metabolismo eletrolítico de *S. mutans* (SEPPÄ et al., 1992; SEPPÄ et al., 1993) e, conseqüentemente, na cariogenicidade do biofilme formado sobre o material (VAN DIJKEN et al., 1991; VAN DIJKEN et al., 1997). Esses achados estão de acordo com o presente trabalho, que não mostrou diferenças na concentração de flúor e na composição microbiológica da placa dental.

Um fator de virulência bacteriana que também deve ser levado em consideração é a produção de polissacarídeos extracelulares (PEC). Os PEC insolúveis de ligação $\alpha \rightarrow 1-3$ formam a matriz da placa dental, beneficiando a adesão de microrganismos e aumentando a difusão de açúcares através dessa matriz. Neste trabalho não foram verificadas diferenças nas concentrações de polissacarídeos insolúveis formadas sobre os três materiais, o que pode ser explicado pelo alto desafio cariogênico imposto pelo delineamento, bem como pelas baixas (e estatisticamente não-diferentes) quantidades de F e Al encontradas na placa. Embora tais elementos não tenham efeito direto sobre as enzimas responsáveis pela produção dos PEC (glicosiltransferases), são capazes

de inibir o metabolismo bacteriano e alterar a ecologia da placa, diminuindo o crescimento dos microrganismos – consequentemente reduzindo de maneira indireta a formação de PECs.

Comparando-se os resultados de flúor, alumínio e polissacarídeo insolúvel com os dados microbiológicos, observa-se uma coincidência no desempenho do ionômero modificado por resina, como no trabalho de FUJIMAKI (2000). Neste experimento *in vitro*, os resultados dos testes microbiológicos indicaram maior inibição de acidogenicidade de *S. mutans* e menor formação de polissacarídeos na placa experimental encontrada sobre o ionômero modificado. No presente trabalho, embora os resultados não tenham indicado diferença entre os materiais, em termos absolutos a placa dental formada sobre o Vitremer apresentou maiores concentrações de flúor e alumínio, menores concentrações de polissacarídeo insolúvel e menores proporções de estreptococos do grupo *mutans*.

É possível que o melhor desempenho deste material não tenha sido estatisticamente significativo em virtude do próprio delineamento utilizado. A grande variabilidade inerente aos estudos clínicos e *in situ*, associada à inviabilidade de se trabalhar com grande número de voluntários, contribui para que um alto desvio-padrão seja encontrado. Sendo assim, do ponto de vista estatístico, há uma menor probabilidade de se obter resultados significantes, o que foi evidenciado pela ausência de associação entre as variáveis nos testes de regressão e correlação. Além disso, como já discutido anteriormente, as próprias

características do desafio cariogênico e do tempo de formação de placa do presente estudo colaboram para o estabelecimento de uma microbiota mais cariogênica e para uma menor atuação de F e Al.

6.4. ANÁLISE DA FORMAÇÃO DE CÁRIE SECUNDÁRIA

Os resultados das análises de microdureza demonstraram que ambos os CIVs foram capazes de interferir com a progressão das lesões de cárie, sob condições de alto desafio cariogênico, embora não tenham prevenido seu completo desenvolvimento. Analisando-se os valores de microdureza em todas as profundidades, observa-se que tanto o ionômero convencional, quanto o ionômero modificado mostraram-se superiores à resina composta. De maneira semelhante aos resultados globais encontrados neste estudo, vários trabalhos têm evidenciado o potencial anticariogênico de cimentos modificados e de cimentos convencionais (HATIBOVIC-KOFMAN & KOCH, 1997; NAGAMINE et al., 1997; PASCOTTO, 1999; KOTSANOS, 2001).

A transformação do número de dureza Knoop em porcentagem de volume mineral revelou que, neste estudo, o esmalte adjacente ao cimento convencional exibiu uma perda de minerais de aproximadamente 6,4%, ao cimento modificado, uma perda de 8% e à resina composta, de 20%. O valor de perda mineral do esmalte adjacente à resina está de acordo com o trabalho *in vitro* de SERRA & CURY (1992), em que também foram observados valores de perda

em torno de 20% para o compósito. No entanto, o valor para o cimento convencional foi de apenas 3%, em contraste com a perda de 6,4% encontrada no presente trabalho. Essa comparação é apenas ilustrativa, já que o emprego de metodologias bem diferentes impede que os trabalhos sejam diretamente confrontados.

Embora um resultado melhor tenha sido encontrado para o Ketac-fil na profundidade de 20 μm , essa superioridade não se repetiu nas outras profundidades. Esse fato leva a crer que a diferença observada, embora estatisticamente significativa, não apresenta significado clínico, dada a alta variabilidade inerente às leituras de microdureza na camada mais desmineralizada.

A análise visual da formação de cárie secundária também mostrou que os CIVs foram efetivos em impedir a progressão das lesões, embora cáries incipientes tenham sido encontradas ao redor dos materiais ionoméricos. Os exames sensoriais por inspeção visual possuem como vantagem a identificação de diferenças no potencial cariostático de determinado agente a partir de uma metodologia mais próxima à que ocorre em situações clínicas de diagnóstico de lesões de mancha branca. Representam ainda a possibilidade de condução de pesquisas em menor tempo e com menor custo (SERRA, 1999). Além disso, o estudo de SERRA (1999) demonstrou haver correlação entre inspeção visual e microdureza.

Neste estudo, foi utilizada uma escala ordinal de 4 pontos - como descrito por SERRA & RODRIGUES JR. (1998) - para avaliar não só a presença e ausência, mas também a atividade e severidade de lesões de cárie, considerando que a opacidade da lesão de mancha branca aumenta em função da diminuição do conteúdo de minerais (RODRIGUES, 2001). Os resultados do presente trabalho estão de acordo com a avaliação clínica de RODRIGUES (2001), que não encontrou diferenças entre um CIV convencional e um modificado, sendo que ambos foram mais efetivos que a resina composta. SERRA & RODRIGUES JR. (1998) também verificaram maior potencial cariostático para os cimentos de ionômero, em relação a um compósito.

A similaridade entre este e outros trabalhos *in vitro* e *in situ* – a despeito das diferenças de delineamento e de metodologias para avaliar cárie secundária - é a constatação de que tanto ionômeros convencionais quanto modificados podem inibir o processo de cárie (FORSS & SEPPÄ, 1990; SERRA & CURY, 1992; KOTSANOS, 2001). Essa inibição pode se manifestar através de uma diminuição na perda mineral ao redor das restaurações (BENELLI et al., 1993) ou em dentes vizinhos (DONLY et al., 1999), ou a partir da remineralização de lesões pré-existentes (HATIBOVIC-KOFMAN et al., 1997).

É importante ressaltar que o presente trabalho confirmou a capacidade dos CIVs em prevenir a formação de cáries secundárias, embora a análise estatística não tenha mostrado diferenças nas concentrações de flúor e alumínio

na placa dental entre os tratamentos. Esse resultado pode ser explicado pela própria discussão já abordada sobre a concentração de flúor na placa. O flúor liberado pelo material pode ter sido progressivamente incorporado pelo esmalte dental adjacente às restaurações, durante o processo de remineralização da estrutura dental. Dessa maneira, pode-se sugerir que a formação de complexos entre o flúor e o cristal de hidroxiapatita, principalmente fluorapatita, aumentou a resistência da estrutura dental a ataques subseqüentes, diminuindo a perda mineral do esmalte.

Além disso, os melhores resultados absolutos de flúor, alumínio e proporção de estreptococos do grupo mutans encontrados com o cimento modificado não se confirmaram com a microdureza. Os dados indicam que essa tendência na mudança de composição microbiológica da placa não foi suficiente para intervir com a formação de cárie, sugerindo que o principal mecanismo cariostático dos CIVs é sua capacidade de interferir com as trocas minerais no entrelaçado de hidroxiapatita.

Sendo assim, o presente trabalho demonstrou que os CIVs possuem a capacidade de limitar o desenvolvimento do processo de cárie, mesmo em condições de alto desafio cariogênico. Levando-se em consideração que a substituição de restaurações devida ao desenvolvimento de cárie secundária ainda permanece um problema na odontologia, a utilização de materiais com habilidade para resistir a tais processos poderia ser mais um fator a concorrer para o sucesso da restauração a longo prazo.

7. CONCLUSÃO

Diante dos dados obtidos neste trabalho, pode-se concluir que, nas condições do presente estudo *in situ*:

- Os cimentos de ionômero de vidro não modificaram a composição bioquímica da placa dental formada sobre as restaurações;
- Adicionalmente, esses materiais não inibiram o crescimento microbiano na placa;
- Os CIVs foram efetivos em reduzir a progressão das lesões de cárie, embora não tenham impedido seu completo desenvolvimento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS⁴

ANDERSSON, Ö.H.; DAHL, J.E. Aluminum release from glass ionomer cements during early water exposure *in vitro*. **Biomaterials**, Oxford, v. 15, n. 11, p. 882-888, 1994.

BAPNA, M.S.; MUELLER, H.J. Leaching from glass ionomer cements. **J Oral Rehabil**, Oxford, v. 21, n. 5, p. 577-583, Sept. 1994.

BELTRÃO, A.C.P.; MANFIO, A.P.; NAVARRO, M.F.L. Clinical evaluation of conventional versus light-cured restorative glass ionomer cements. **J Dent Res**, Washington, v. 75, Special Issue, 1996. Abstract, 383.

BENELLI, E.M. *et al.* *In situ* anticariogenic potencial of glass ionomer cement. **Caries Res**, Basel, v. 27, n. 4, p. 280-284, June/July 1993.

BERG, J.H.; FARREL, J.E.; BROWN, L.R. Class II glass ionomer/silver cermet restorations and their effect on interproximal growth of mutans streptococci. **Pediatr Dent**, Chicago, v. 12, n. 1, p. 20-23, Feb. 1990.

CARVALHO, A.S.; CURY, J.A. Fluoride release from some dental materials in different solutions. **Oper Dent**, Seattle, v. 24, n. 1, p. 14-19, Jan./Feb. 1999.

⁴ Baseada na NBR-6023 de ago. de 2000, da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). Abreviatura dos títulos dos periódicos em conformidade com o MEDLINE.

CARVALHO, A.S.; CURY, J.A. Liberação de flúor de materiais restauradores. **Rev Odontol Univ São Paulo**, São Paulo, v. 12, n. 4, p. 367-373, out./dez. 1998.

CHUNG, K.H.; CHAN, D.C.N.; BERRY, T.G. An *in vitro* study of ions release from glass ionomer materials. **J Dent Res**, Washington, v. 77, p. 177, 1998. Abstract, 95.

COSTA, B. **Avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana e liberação de flúor de cimentos de ionômero de vidro restauradores químico e fotoativados.**

Bauru, 1995. 121p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.

COSTA, B. *et al.* Atividade antimicrobiana de cimentos de ionômero de vidro restauradores convencionais e modificados com resina "in vitro". **Rev Fac Odontol Bauru**, Bauru, v. 4, n. 1/2, p. 25-31, jan./jun. 1996.

CRANFIELD, M; KUHN, A. T.; WINTER G. B. Factors relating to the rate of fluoride-ion release from glass-ionomer cement. **J Dent**, Oxford, v. 10, n. 4, p. 333-341, Dec. 1982.

CREANOR, S.L. *et al.* Fluoride uptake and release characteristics of glass ionomer cements. **Caries Res**, Basel, v. 28, n. 5, p. 322-328, Sept./Oct. 1994.

CRISP, S.; LEWIS, B.G.; WILSON, A.D. Glass ionomer cements: chemistry of erosion. **J Dent Res**, Washington, v. 55, n. 6, p. 1032-1041, Nov./Dec. 1976.

CURY, J.A. Uso do flúor e o controle de cárie como doença. *In*: BARATIERI, L.A. *et al.* **Dentística**: procedimentos preventivos e restauradores. 2. ed. São Paulo: Santos, 2001. cap. 2, p. 33-68.

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**, Basel, v. 31, p. 356-360, 1997.

CURY, J.A.; SAAD, J.R.C.; RODRIGUES JR., A.L. Liberação de flúor do selante na água, saliva e soluções desmineralizante-remineralizante. **RGO**, Porto Alegre, v. 41, n. 5, p. 273-275, set./out. 1993.

DEAN, H.T. *et al.* Domestic water and dental caries, including certain epidemiological aspects of oral *L. acidophilus*. **Public Health Rep**, Washington, v. 54, p. 862-888, 1939.

DESCHEPPER, E.J.; WHITE, R.R.; von der LEHR, W. Antibacterial effects of glass ionomers. **Am J Dent**, San Antonio, v. 2, n. 2, p. 51-56, Apr. 1989.

DIONYSOPOULOS, P. *et al.* Artificial secondary caries around two new F-containing restoratives. **Oper Dent**, Seattle, v. 23, n. 2, p. 81-86, Mar./Apr. 1998.

DONLY, J.K. *et al.* Evaluating the effects of fluoride-releasing dental materials on adjacent interproximal caries. **J Am Dent Assoc**, Chicago, v. 130, p. 817-825, June 1999.

DUBOIS, M. *et al.* Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Anal Chem**, Washington, v. 28, p. 350-356, 1956.

FEATHERSTONE, J.D.B. *et al.* Comparison of artificial caries-like lesions by quantitative microradiography and microhardness profiles. **Caries Res**, Basel, v. 17, n. 5, p. 385-391, Sept./Oct. 1983.

FISKE, C.H.; SUBBAROW, Y. The colorimetric determination of phosphorus. **J Biol Chem**, Bethesda, v. 66, p. 375-400, 1925.

FORSS, H. Release of fluoride and other elements from light-cured glass ionomers in neutral and acidic conditions. **J. Dent. Res.**, Washington, v. 72, n. 8, p. 1257-1262, Aug. 1993.

FORSS, H.; SEPPÄ, L. Prevention of enamel demineralization adjacent to glass ionomer filling materials. **Scand J Dent Res**, Copenhagen, v. 98, n. 2, p. 173-178, Apr. 1990.

FORSS, H.; NÄSE, L.; SEPPÄ, L. Fluoride concentration, mutans streptococci and lactobacilli in plaque from old glass ionomer fillings. **Caries Res**, Basel, v. 29, n. 1, p. 29-50, Jan./Feb. 1995.

FORSS, H. *et al.* Fluoride and mutans streptococci in plaque grown on glass ionomer and composite. **Caries Res**, Basel, v. 25, n. 6, p. 454-458, Nov./Dec. 1991.

FORSTEN, L. Fluoride release and uptake by glass ionomers. **Scand J Dent Res**, Copenhagen, v. 99, n. 3, p. 241-245, June 1991.

FORSTEN, L. Fluoride release and uptake by glass-ionomers and related materials and its clinical effect. **Biomaterials**, Oxford, v. 19, n. 6, p. 503-508, Mar. 1998.

FORSTEN, L. Fluoride release from a glass ionomer cement. **Scand J Dent Res**, Copenhagen, v. 85, n. 6, p. 503-504, Sept. 1977.

FORSTEN, L. Short and long-term fluoride release from glass ionomers and other fluoride containing filling materials in vitro. **Scand J Dent Res**, Copenhagen, v. 98, n. 2, p. 179-185, Apr. 1990.

FRIEDL, K.H. *et al.* Resin-modified glass ionomer cements: fluoride release and influence on *Streptococcus mutans* growth. **Eur J Oral Sci**, Copenhagen, v. 105, n. 1, p. 81-85, Feb. 1997.

FRUITS, T.J. *et al.* Uses and properties of current glass ionomer cements: a review. **Gen Dent**, Chicago, v. 44, n. 5, p. 410-418, Sept./Oct. 1996.

FUJIMAKI, M. **Liberação de flúor e alumínio por materiais odontológicos e seu efeito na acidogenicidade de *S. mutans* e na formação e composição da placa experimental.** Piracicaba, 2000. 144p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas.

FUKAZAWA, M.; MATSUYA, S.; YAMANE, M. Mechanism for erosion of glass-ionomer cements in an acidic buffer solution. **J Dent Res**, Washington, v. 66, n. 12, p. 1770-1774, Dec. 1987.

GARCIA-GODOY, F. Dentin surface treatment and shear bond strength of a light-cured glass ionomer. **Am J Dent**, San Antonio, v. 5, p. 283-285, 1992.

GARIB, T.; ROSA, O.P.S.; ROCHA, R.S.S. Ação antimicrobiana de ionômeros de vidro restauradores. **Rev Fac Odontol Bauru**, Bauru, v. 1, n. 1/4, p. 1-5, jan./dez. 1993.

GILMOUR, A.S.M.; EDMUNDS, D.H.; NEWCOMBE, R.G. Prevalence and depth of artificial caries-like lesions adjacent to cavities prepared in roots and restored with a glass ionomer or a dentin-bonded composite material. **J Dent Res**, Washington, v. 76, n. 12, p. 1854-1861, Dec. 1997.

GOLD, O.D.; JORDAN, H.V.; van HOUTE, J.V. A selective medium for *Streptococcus mutans*. **Arch Oral Biol**, Oxford, v. 18, p. 1357-1364, 1973.

HALLGREN, A.; OLIVEBY, A.; TWETMANS, S. Caries associated microflora in plaque from orthodontic appliances retained with glass ionomer cement. **Scand J Dent Res**, Copenhagen, v. 100, n. 3, p. 140-143, June 1992.

HALLGREN, A.; OLIVEBY, A.; TWETMANS, S. Fluoride concentration in plaque adjacent to orthodontic appliances retained with glass ionomer cement. **Caries Res**, Basel, v. 27, n. 1, p. 51-54, Feb. 1993.

HAMILTON, I.R. Biochemical effects of fluoride on oral bacteria. **J Dent Res**, Washington, v. 69, Special Issue, p. 660-667, Feb. 1990.

HAMILTON, I.R.; BOWDEN, G.H.W. Fluoride effects on oral bacteria. In: FEJERSKOV, O.; EKSTRAND, J.; BURT, B. **Fluoride in dentistry**. 2nd ed. Copenhagen: Munksgaard, 1996. cap. 13, p. 230-251.

HAMILTON, I.R.; BUCKLEY, N.D. Adaptation of *Streptococcus mutans* to acid tolerance. **Oral Microbiol Immunol**, Copenhagen, v. 6, n. 2, p. 65-71, Apr. 1991.

HATIBOVIC-KOFMAN, S.; SULJAK, J.P.; KOCH, G. Remineralization of natural carious lesions with a glass ionomer cement. **Swed Dent J**, Jönköping, v. 21, n. 1-2, p. 11-17, Jan./Feb. 1997.

HATTAB, F.N.; MOK, N.Y.C.; AGNEN, E.C. Artificially formed caries-like lesions around restorative materials. **J Am Dent Assoc**, Chicago, v. 118, p. 193-202, 1989.

HICKS, M.J.; FLAITZ, C.M.; SILVERSTONE, L.S. Secondary caries formation in vitro around glass ionomer restorations. **Quintessence Int**, Berlin, v. 17, p. 527-532, 1986.

HÖRSTED-BINDSLEV, P.; LARSEN, M.J. Release of fluoride from conventional and metal-reinforced glass-ionomer cements. **Scand J Dent Res**, Copenhagen, v. 98, n. 5, p. 451-455, Oct. 1990.

JOKINEN, J. *et al.* A new method for studying the effect of glass ionomer on plaque *in vivo*. **Proc Finn Dent Soc**, Helsinki, v. 87, n. 3, p. 339-342, 1991.

KIDD, E.A.M. Cavity sealing ability of composite and glass ionomer cement restoration. **Br Dent J**, London, v. 144, n. 5, p. 139-142, Mar. 1978.

KIDD, E.A.M.; TOFFENETTI, F.; MJÖR, I.A. Secondary caries. **Int Dent J**, London, v. 42, n. 3, p. 127-138, June 1992.

KNIBBS, P.J.; PEARSON, G.J. Finishing glass ionomer cement. **Br Dent J**, London, v. 157, n. 12, p. 398-400, Dec. 1984.

KOCH, G.; HATIBOVIC-KOFMAN, S. Glass ionomer cements as a fluoride release system *in vivo*. **Swed Dent J**, Jönköping, v. 14, n. 6, p. 267-273, Nov./Dec. 1990.

KOTSANOS, N. An intraoral study of caries induced on enamel in contact with fluoride-releasing restorative materials. **Caries Res**, Basel, v. 35, p. 200-204, 2001.

KREULEN, C.M. *et al.* In vivo cariostatic effect of resin modified glass ionomer cement and amalgam on dentine. **Caries Res**, Basel, v. 31, p. 384-389, 1997.

LOYOLA-RODRIGUEZ, J.P.; GARCIA-GODOY, F.; LINDQUIST, R. Growth inhibition of glass ionomer cements on mutans streptococci. **Pediatr Dent**, Chicago, v. 16, n. 5, p. 368-370, Sept./Oct. 1994.

MAKINEN, K.K. *et al.* Biochemical, microbiologic and clinical comparisons between two dentifrices that contain different mixtures of sugar alcohols. **J Am Dent Assoc**, Chicago, v. 111, p. 745-751, 1985.

MALDONADO, A.; SWARTZ, M.L.; PHILIPS, R.W. An *in vitro* study of certain properties of a glass ionomer cement. **J Am Dent Assoc**, Chicago, v. 96, n. 5, p. 785-791, May 1978.

MARQUIS, R.E. Antimicrobial actions of fluoride for oral bacteria. **Can J Microbiol**, Ottawa, v. 41, p. 955-964, 1995.

MARSH, P.D.; BRADSHAW, D.J. The effect of fluoride on the stability of oral bacterial communities *in vitro*. **J Dent Res**, Washington, v. 69, Special Issue, p. 668-671, Feb. 1990.

McLEAN, J.W. Cermet cements. **J Am Dent Assoc**, Chicago, v. 120, n. 1, p. 43-47, Jan. 1990.

McLEAN, J.W.; NICHOLSON, J.W.; WILSON, A.D. Proposed nomenclature for glass-ionomer dental cements and related materials. **Quintessence Int**, Berlin, v. 25, n. 9, p. 587-589, Sept. 1994.

McLEAN, J.W.; WILSON, A.D. The clinical development of the glass-ionomer cement. I. Formulations and properties. **Aust Dent J**, St Leonards, v. 22, n. 1, p. 31-36, Feb. 1977.

MITRA, S.B. *In vitro* fluoride release from light-cured glass-ionomer liner/base. **J Dent Res**, Washington, v. 70, n.1, p. 75-78, Jan. 1991.

MOMOI, Y.; McCABE, J.F. Fluoride release from light-activated glass ionomer cements. **Dent Mat**, Oxford, v. 9, n. 3, p. 151-154, May 1993.

MOUNT, G.J. Restoration with glass ionomer cement. Requirements for clinical success. **Oper Dent**, Seattle, v. 6, p. 59-65, 1981.

NAGAMINE, M. *et al.* Effect of resin-modified glass ionomer cements on secondary caries. **Am J Dent**, San Antonio, v. 10, n. 4, p. 173-178, Aug. 1997.

NAKAJIMA, H.; KOMATSU, H.; OKABE, T. Aluminum ions in analysis of released fluoride from glass ionomers. **J Dent**, Oxford, v. 25, n. 2, p. 137-144, Mar. 1997.

NAVARRO, M.F.L.; PASCOTTO, R.C. **Cimentos de ionômero de vidro**. São Paulo: Artes Médicas, 1998. 179 p.

PALENIK, C.J. *et al.* Inhibition of microbial adherence and growth by various glass ionomers *in vitro*. **Dent Mater**, Oxford, v. 8, n. 1, p. 16-20, Jan. 1992.

PASCOTTO, R.C. **Avaliação das propriedades anticariogênicas do cimento de ionômero de vidro utilizado na fixação de braquetes ortodônticos – estudo *in vivo***. Bauru, 1999, 126p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.

PHILLIPS, R.W. **Skinner materiais dentários**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. 334 p.

RODRIGUES, J. A. **Análise visual do potencial cariostático *in vitro* de materiais restauradores associados à aplicação de dentifrício**. Piracicaba, 2001. 69p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas.

ROSALEN, P. L.; BOWEN, W. H.; PEARSON, S. K. Effect of copper co-crystallized with sugar on caries development in desalivated rats. **Caries Res**, Basel, v. 30, p. 367-372, 1996

ROSE, R.K.; SHELLIS, R.P.; LEE, A.R. The role of cation bridging in microbial fluoride binding. **Caries Res**, Basel, v. 30, p. 458-464, 1996.

SAVARINO, L. *et al.* In vitro investigation of aluminum and fluoride release from compomers, conventional and resin-modified glass ionomer cements: a standardized approach. **J Biomater Sci Polym Ed**, Utrecht, v. 11, n. 3, p. 289-300, 2000.

SEPPÄ, L.; FORSS, H.; OGAARD, B. The effect of fluoride application on fluoride release and the antibacterial action of glass ionomers. **J Dent Res**, Washington, v. 72, n. 9, p. 1310-1310, Sept. 1993.

SEPPÄ, L.; TORPPA-SAARINEN, E.; LUOMA, H. Effect of different glass ionomers on the acid production and electrolyte metabolism of *Streptococcus mutans* Ingbritt. **Caries Res**, Basel, v. 26, n. 6, p. 434-438, Nov./Dec. 1992.

SERRA, M. C. **Análises sensorial e quantitativa do potencial cariostático de materiais restauradores contendo flúor**. Piracicaba, 1999. Tese (Livre Docência) – Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas.

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**, Berlin, v. 23, n. 2, p. 143-147, Feb. 1992.

SERRA, M. C. & RODRIGUES JR, A. L. Potencial cariostático de materiais restauradores contendo flúor. **Rev Assoc Paul Cir Dent**, São Paulo, v. 52, p. 359-363, set./out. 1998.

SMALES, R.J. & GAO, W. In vitro caries inhibition at the enamel margins of glass ionomer restoratives developed for the ART approach. **J Dent**, Oxford, v. 28, p. 249-256, 2000.

SMITH, D.C. Polyacrylic-based cements: adhesion to enamel and dentin. **Oper Dent**, Seattle, v. 5, Supplement, p. 177-183, 1992.

SMITH, D.C.; RUSE, N.D. Acidity of glass ionomer cements during setting and its relation pulp sensitivity. **J Am Dent Assoc**, Chicago, v. 112, p. 654, 1986.

STURR, M.G.; MARQUIS, R.E. Inhibition of proton-translocating ATPases of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus casei* by fluoride and aluminum. **Arch Microbiol**, Berlin, v. 155, n. 1, p. 22-27, 1990.

SUTTON, S.V.W.; BENDER, G.R.; MARQUIS, R.E. Fluoride inhibition of proton-translocating ATPases of oral bacteria. **Infect Immun**, Washington, v. 55, n. 11, p. 2597-2603, Nov. 1987.

SVANBERG, M.; MJÖR, I. A.; ØRSTAVIK, D. Mutans streptococci in plaque from margins of amalgam, composite and glass-ionomer restorations. **J Dent Res**, Washington, v. 69, n. 3, p. 861-864, Mar. 1990.

TANTBIROJN, D.; DOUGLAS, W.H.; VERLUIJS, A. Inhibitive effect of a resin-modified glass ionomer cement on remote enamel artificial caries. **Caries Res**, Basel, v. 31, p. 275-280, 1997.

TEN CATE, J.M. Current concepts on the theories of the mechanism of action of fluoride. **Acta Odontol Scand**, Oslo, v. 57, p. 325-329, 1999.

TEN CATE, J.M. *In vitro* studies on the effect of fluoride on the de and remineralization. **J Dent Res**, Washington, v. 69, n. 2, p. 614-619, Feb. 1990.

THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O. **Cariologia clínica**. 2. ed. São Paulo: Santos, 1995.

TYAS, M.J. Cariostatic effect of glass ionomer cement: a five-year clinical study. **Aust Dent J**, St Leonards, v. 36, n. 3, p. 236-239, June 1991.

VAN DIJKEN, J.; PERSSON, S.; STÖSTRÖM, S. Presence of *Streptococcus mutans* and lactobacilli in saliva and on enamel, glass ionomer cement, and composite resin surfaces. **Scand J Dent Res**, Copenhagen, v. 99, n. 1, p. 13-19, Feb. 1991.

VAN DIJKEN, J.W.V. *et al.* Fluoride and mutans streptococci level in plaque on aged restorations of resin-modified glass ionomer cement, compomer and resin composite. **Caries Res**, Basel, v. 31, n. 5, p. 379-383, Sept./Oct. 1997.

VERBEECK, R.M.H. *et al.* Fluoride release process of (resin-modified) glass-ionomer cements versus (polyacid-modified) composite resins. **Biomaterials**, Oxford, v. 19, n. 6, p. 509-520, Mar. 1998.

WHITE, D.J. The comparative sensitivity of intra-oral, *in vitro*, and animal models in the "profile" evaluation of topical fluorides. **J Dent Res**, Washington, v. 71, Special Issue, p. 884-894, Apr. 1992.

WILLIAMS, J.A.; BILLINGTON, R.W.; PEARSON, G. Silver and fluoride ion release from metal reinforced glass-ionomer filling materials. **J Oral Rehabil**, Oxford, v. 24, n. 5, p. 369-375, May 1997.

WILSON, A.D.; KENT, B.E. A new translucent cement for dentistry: the glass ionomer. **Br Dent J**, London, v. 132, n. 4, p. 133-135, Feb. 1972.

WILSON, A.D.; McLEAN, J.W. **Glass - ionomer cement**. Baden-Baden: Quintessence, 1988.

WILSON, A.D.; PROSSER, H.J.; POWIS, D.M. Mechanism of adhesion of polyelectrolite cements to hidroxyapatite cements. **J Dent Res**, Washington, v. 62, p. 590-592, 1983.

YAP, A.V.; KHOR, E.; FOO, S.H. Fluoride release and antibacterial properties of new-generation tooth-colored restoratives. **Oper Dent**, Seattle, v. 24, p. 297-305, 1999.

ZERO, D.T. In situ caries model. **Adv Dent Res**, Washington, v. 9, p. 214-230, 1995.



UNICAMP



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto de pesquisa intitulado "Liberação de flúor e alumínio e potencial anticariogênico dos materiais restauradores – estudo in situ", sob o protocolo nº **77/2000**, da Pesquisadora **ROBERTA DALCICO**, sob a responsabilidade da Profa. Dra. **Cíntia Pereira Machado Tabchoury**, está de acordo com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde/MS, de 10/10/96, tendo sido aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa – FOP.

Piracicaba, 07 de novembro de 2000

We certify that the research project with title "Fluoride and aluminum release and anticariogenic potential of restorative materials – in situ study", protocol nº **77/2000**, by Researcher **ROBERTA DALCICO**, responsibility by Prof. Dr. **Cíntia Pereira Machado Tabchoury**, is in agreement with the Resolution 196/96 from National Committee of Health/Health Department (BR) and was approved by the Ethical Committee in Resarch at the Piracicaba Dentistry School/UNICAMP (State University of Campinas).

Piracicaba, SP, Brazil, November 07 2000


Prof. Dr. Pedro Luiz Rosalen
Secretário - CEP/FOP/UNICAMP


Prof. Dr. Antonio Bento Alves de Moraes
Coordenador - CEP/FOP/UNICAMP

ANEXO 2**CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO PARA PESQUISA CLÍNICA**

Nome do voluntário: _____

As informações contidas neste prontuário foram fornecidas por Roberta Dalcico (aluna de mestrado na Área de Cariologia) e por Cíntia Tabchoury (orientadora) objetivando firmar acordo escrito mediante o qual o voluntário da pesquisa autoriza sua participação, com pleno conhecimento da natureza dos procedimentos e riscos a que se submeterá, com a capacidade de livre arbítrio e sem qualquer coação.

1-Título do Trabalho Experimental

Liberação de flúor e alumínio e potencial anticariogênico dos materiais restauradores – estudo *in situ*

2-Objetivo

Vários trabalhos na literatura confirmam o efeito anticariogênico dos cimentos de ionômero de vidro, principalmente sua capacidade de diminuir ou eliminar cáries recorrentes. Mais recentemente alguns autores têm relacionado a ação antimicrobiana dos ionômeros não somente ao flúor, mas também ao alumínio liberado por esses materiais restauradores. Desta maneira, o objetivo deste estudo é comparar as quantidades de F e Al na placa formada sobre dois

cimentos de ionômero de vidro e um compósito, bem como avaliar os efeitos da liberação simultânea desses dois elementos no crescimento da microbiota cariogênica e na formação de cáries secundárias sob condições “in situ” de alto desafio cariogênico

3-Justificativa

Os dados da literatura não são conclusivos em estabelecer se o potencial antimicrobiano dos ionômeros de vidro está ou não relacionado com a liberação de flúor apresentada por esses materiais. Dessa maneira, outros íons, por exemplo o alumínio, podem estar envolvidos nessa ação sobre os microrganismos cariogênicos. Em virtude da falta de estudos que analisem essa possível associação, e em virtude de os estudos *in situ* simularem de maneira mais apropriada os acontecimentos que ocorrem na cavidade oral, a pesquisa a ser conduzida com esses voluntários é necessária para a elucidação das questões acima expostas.

4-Procedimento da fase experimental

O estudo será do tipo cruzado, consistindo de três grupos de tratamento, nos quais doze voluntários utilizarão dispositivos intra-orais palatinos contendo quatro blocos de esmalte restaurados, a saber:

Grupo 1: blocos de esmalte restaurados com resina composta Z-100 (3M) – controle

Grupo 2: blocos de esmalte restaurados com cimento de ionômero de vidro modificado por resina Vitremer (3M)

Grupo 3: blocos de esmalte restaurados com cimento de ionômero de vidro Ketac-fil (Espe).

O período total do estudo compreenderá três etapas de vinte e oito dias (28), com um intervalo de pelo menos dez dias entre cada etapa. Em cada etapa participarão os doze voluntários, sendo quatro em cada tratamento, de tal modo

que, ao final de todos os cruzamentos, todos os voluntários sejam submetidos a todos os tratamentos.

5- Desconforto ou riscos esperados e benefícios

Os voluntários poderão apresentar discreta halitose durante o período experimental, o que poderá ser atenuado com adequada higiene bucal bem como limpeza do dispositivo. O uso da sacarose será apenas como gotas sobre os blocos de esmalte presentes nos dispositivos intra-orais, não implicando em qualquer aumento de cárie dental nos voluntários. O dispositivo intra-oral pode causar um leve desconforto, que é, entretanto, semelhante ao desconforto causado por um aparelho ortodôntico móvel. Os voluntários utilizarão durante o período da pesquisa dentifício não-fluoretado de acordo com o tratamento, porém os mesmos serão orientados para consumirem uma dieta com menos açúcar, realizarem uma melhor higiene bucal e, além disso, continuarão ingerindo água de abastecimento de Piracicaba, que é fluoretada. Em adição, os voluntários são altamente conscientizados por serem estudantes de Odontologia e entenderem a importância deste trabalho. O benefício será um auxílio indireto, contribuindo para a realização do presente projeto e para a ciência como um todo.

6- Forma de acompanhamento e assistência

Haverá aconselhamento quanto à diminuição do consumo de açúcar e melhora da higienização bucal. Os pesquisadores envolvidos na pesquisa estarão à disposição dos voluntários para qualquer ajuste no aparelho intra-oral, a fim de minimizar um possível desconforto.

7- Garantia de esclarecimentos

O voluntário tem garantia de que receberá respostas a qualquer pergunta ou esclarecimento de qualquer dúvida quanto aos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados com a pesquisa. Também os pesquisadores supracitados assumem o compromisso de proporcionar informação

atualizada obtida durante o estudo, ainda que esta possa afetar a vontade do indivíduo em continuar participando. Qualquer dúvida ou problema com o dispositivo intra-oral, por favor comunicar-nos com a maior brevidade possível.

Tel: 430-5303 (Laboratório de Bioquímica)

434-4869 (Profa. Cíntia)

432-8763 (Roberta)

8- Retirada do consentimento

O voluntário tem a liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo sem prejuízo de ordem pessoal - profissional com os responsáveis pela pesquisa.

9- Garantia de sigilo

Os pesquisadores asseguram a privacidade dos sujeitos quanto aos dados confidenciais envolvidos na pesquisa.

10- Formas de ressarcimento

Como a remoção dos blocos de esmalte deve ser feita em jejum, será oferecido um café da manhã. Os voluntários serão ressarcidos de eventuais despesas com o transporte para a retirada dos blocos dentais contidos nos dispositivos.

11- Formas de indenização

Não há danos previsíveis decorrentes desta pesquisa.

Eu, _____, certifico que, tendo lido as informações acima e suficientemente esclarecido(a) de todos os itens pela aluna de mestrado Roberta Dalcico e pela professora. Cíntia Pereira Machado Tabchoury, estou plenamente de acordo com a realização do experimento. Assim, eu autorizo a execução do trabalho de pesquisa, exposto acima, em mim.

Piracicaba, ____ de _____ de 2000

Nome (por extenso): _____

Assinatura: _____

ANEXO 3

**DESCRIÇÃO DAS RECOMENDAÇÕES DOS FABRICANTES PARA A
MANIPULAÇÃO DOS MATERIAIS RESTAURADORES**

MATERIAL	INSTRUÇÕES
KETAC FIL	Aplicar o <i>Ketac conditioner</i> por 10 segundos, lavar e secar suavemente com jatos de ar. Agitar o frasco para afofar o pó. Dispensar o material lado a lado em uma proporção pó-líquido de 3,2/1. Separar em duas porções e misturar o material rapidamente até obter uma consistência homogênea. Inserir o material na cavidade com uma seringa <i>Centrix</i> . Proteger durante os 5 minutos de presa inicial com lâmina de chumbo, e durante a presa final com <i>Ketac-glaze</i> .
VITREMER	Aplicar o <i>primer</i> durante 30 segundos, não lavar, secar por 15 segundos e fotopolimerizar por 20 segundos. Agitar o frasco de pó antes de utilizar. Dispensar o material em uma proporção pó-líquido de 2,5/1. Espatular bem o pó e o líquido. A incorporação deve ser feita em menos de 45 segundos. Inserir o material na cavidade com ajuda de uma seringa aplicadora. Fotopolimerizar por 40 segundos. Proteger com o <i>gloss</i> .
Z- 100	Aplicar o <i>3M Scotch Bond Ácido</i> de Ataque ao esmalte e dentina. Esperar por 15 segundos. Enxaguar por 10 segundos. Retirar o excesso de água com papel absorvente, deixando a superfície úmida. Aplicar duas camadas consecutivas de <i>3M Single Bond</i> com pincel saturado de adesivo para cada camada. Secar levemente por 2-5 segundos. Fotopolimerizar por 20 segundos. Colocar o material restaurador e fotopolimerizar por 40 segundos.

ANEXO 4

**RESULTADOS DAS ANÁLISES DE FLÚOR NA ÁGUA DE ABASTECIMENTO
DE PIRACICABA, REALIZADAS NO LABORATÓRIO DE BIOQUÍMICA ORAL –
FOP – UNICAMP, NO PERÍODO DO ESTUDO**

DATA DA DOSAGEM	RESULTADO (ppm F)
23.04.2001	0,84
02.05.2001	0,75
22.05.2001	0,74
05.06.2001	0,76
07.06.2001	0,67
12.06.2001	0,69
25.06.2001	0,72
20.07.2001	0,69
07.08.2001	0,69
28.08.2001	0,68

ANEXO 5**INSTRUÇÕES AOS VOLUNTÁRIOS**

- 1- O estudo será dividido em 3 etapas, sendo cada etapa de 21 dias e com um intervalo entre elas de aproximadamente 7 dias.
- 2- A água ingerida deverá ser necessariamente de abastecimento público de Piracicaba.
- 3- Durante o período do experimento e uma semana antes de cada etapa, não utilizar nenhum produto contendo flúor, exceto água.
- 4- Os dispositivos intra-orais deverão ser utilizados todo o dia, inclusive para dormir, exceto durante as refeições e higiene oral, sendo nestes períodos os aparelhos acondicionados na caixa plástica fornecida, contendo no seu interior um algodão umedecido.
- 5- A escovação habitual deverá ser feita apenas com o dentifrício fornecido por nós. Os dispositivos devem ser higienizados, escovando-se somente sua parte interna.
- 6- Será fornecida aos participantes uma solução de sacarose a 20% em frasco conta-gota. O voluntário deverá colocar uma gota, da solução que receber, sobre cada bloco de esmalte contido no dispositivo intra-oral, esperar 05 minutos e recolocá-lo na boca. Este procedimento deverá ser feito 08 vezes ao dia, nos seguintes horários: 8:00 h, 9:30 h, 11:00 h, 14:00 h, 15:30 h, 17:00 h, 19:00 h e 21:00 h.