

Carlos da Cunha Oliveira Júnior
Cirurgião-Dentista

**RUGOSIDADE E POTENCIAL ANTICARIOGÊNICO DE
DIFERENTES MATERIAIS RESTAURADORES ADESIVOS COM OU
SEM FLÚOR**

Dissertação apresentada à
Faculdade de Odontologia de
Piracicaba, da Universidade
Estadual de Campinas, para
obtenção do Título de Mestre
em Materiais Dentários

Orientador: **Prof.Dr. Luís Roberto Marcondes Martins**
Co-orientadora: **Prof^a Dr^a Regina Maria Puppim Rontani**

Piracicaba
2011

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**

Bibliotecária: Elis Regina Alves dos Santos – CRB-8ª / 8099

OL4r	<p>Oliveira Júnior, Carlos da Cunha. Rugosidade e potencial anticariogênico de diferentes materiais restauradores adesivos com ou sem flúor / Carlos da Cunha Oliveira Júnior. -- Piracicaba, SP: [s.n.], 2011.</p> <p>Orientadores: Luis Roberto Marcondes Martins, Regina Maria Puppim-Rontani. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.</p> <p>1. Dureza. 2. Polimento dentário. 3. Espectrometria por raios X. I. Martins, Luis Roberto Marcondes. II. Puppim-Rontani, Regina Maria. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. IV. Título.</p> <p>(eras/fop)</p>
------	---

Título em Inglês: Roughness and anticariogenic potential of differents adhesives restoratives materials with or without flouride

Palavras-chave em Inglês (Keywords): 1. Hardness. 2. Dental polishing. 3. Spectrometry, X-ray emission

Área de Concentração: Materiais Dentários

Titulação: Mestre em Materiais Dentários

Banca Examinadora: Luis Roberto Marcondes Martins, Mario Alexandre Coelho Sinhoreti, Glauber Campos Vale

Data da Defesa: 03-03-2011

Programa de Pós-Graduação em Materiais Dentários



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Odontologia de Piracicaba



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de Mestrado, em sessão pública realizada em 03 de Março de 2011, considerou o candidato CARLOS DA CUNHA OLIVEIRA JUNIOR aprovado.

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Luis Roberto Marcondes Martins".

Prof. Dr. LUIS ROBERTO MARCONDES MARTINS

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Gláuber Campos Vale".

Prof. Dr. GLÁUBER CAMPOS VALE

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Mario Alexandre Coelho Sinhoretí".

Prof. Dr. MARIO ALEXANDRE COELHO SINHORETI

DEDICATÓRIA

A **Deus**, por me iluminar e me abençoar nessa caminhada.
A **Nossa Senhora**, por ser minha eterna advogada e mãe.

Aos meus pais, **Carlos Oliveira** e **Ana Cleide**, por serem sempre meu apoio e suporte. Por sempre tomarem minhas batalhas como suas, me darem as mãos para me levantar depois do fracasso e vibrarem com minhas vitórias.

Aos meus irmãos **Thiago** e **Lorena**, por momentos de alegria, felicidade e companheirismo. Aprendo muito com vocês.

A minha irmã **Larissa**, *in memoriam*, mesmo não estando entre nós, ainda é parte dessa família.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao **Prof. Dr. Luís Roberto Marcondes Martins**, por sua paciência, compreensão, disponibilidade e apoio, além de fazer parte dessa caminhada.

A **Prof^a Dr^a Regina Maria Puppim Rontani**, por me ajudar na realização desse trabalho, com paciência, compreensão e orientação.

Muito Obrigado!!

AGREDECIMENTOS

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP – nas pessoas do Diretor, Prof. Dr. **Jacks Jorge Junior** e Diretor Associado, Prof. Dr. **Alexandre Augusto Zaia**, pela oportunidade de realizar este trabalho nesta instituição.

Aos Prof. Dr. **Lourenço Correr Sobrinho**, Titular da Área Materiais Dentários, Departamento de Odontologia Restauradora, da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, pela constante disponibilidade; ensinamentos e oportunidades oferecidas durante todo esse período.

Ao Prof. Dr. **Mário Alexandre Coelho Sinhoreti**, Titular da Área Materiais Dentários, Departamento de Odontologia Restauradora, da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, pelo apoio e disponibilidade constante, contribuindo em minha formação.

Ao Prof. Dr. **Marcelo Gianinni**, Coordenador e Professor do Programa de Materiais Dentários, Departamento de Odontologia Restauradora, da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, pelo incentivo e participação em minha formação.

Ao Prof. Dr. **Mário Fernandes De Góes**, Titular da Área de Materiais Dentários, Departamento de Odontologia Restauradora, da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, pela participação em minha formação.

Aos Professores: Dr. **Simonides Consani**, Dra. **Débora Alves Nunes Leite Lima**, Dr. **Rafael Nobrega Stipp**, por terem participado do meu exame de qualificação e contribuído para a melhoria deste trabalho.

Ao técnico especializado do laboratório da Área de Materiais Dentários, Departamento de Odontologia Restauradora, da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, engenheiro **Marcos Blanco Cangiani**, por toda ajuda que foi de fundamental importância durante o desenvolvimento deste trabalho; pela constante disponibilidade, auxiliando na solução de problemas.

À **Selma Aparecida Barbosa de Sousa Segalla**, secretária da Área de Materiais Dentários, Departamento de Odontologia Restauradora, da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, pelo agradável convívio, por todos os cuidados e amizade.

Aos componentes da banca **Glaúber Campos Vale, Carolina Patrícia Aires e Rafael Leonardo Xediek Consani** por aceitarem o convite e ajudarem a concluir este trabalho.

Aos colegas de Pós-Graduação **Milena Maria Pierre Santos Caldeira, Mayra de Mello Fabião, Priscila Camondy Bertaglia e Bruno de Castro Ferreira Barreto**, pela amizade, apoio em momentos difíceis e pelos conhecimentos compartilhados; fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho.

À **Andréia Bolzan e Eliana Correia** por me ajudarem na realização desse trabalho.

Ao **Marcelo Maistro**, técnico no laboratório de Odontopediatria, pela disponibilidade e auxílio.

A todos os amigos do programa de pós-graduação, nesta e outras áreas, pela amizade e companheirismo, e pelo privilégio de tantos momentos juntos.

Aos amigos, **Karla Michellyne, Renzo Alberto, Cláudia Zamataro, Marília Correia, Luisa Helena e Renato Pereira** pela convivência, companheirismo e cumplicidade de todos os dias, ajudando a superar as dificuldades do dia-a-dia e de estar longe de casa, tornando-se novos irmãos.

A toda minha **família** que mesmo longe nunca se fez ausente em minha vida, sempre torcendo por mim, onde busco minha força para seguir lutando por meus objetivos.

À **CAPES**, pelo apoio financeiro.

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

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do acúmulo de placa na rugosidade e o da liberação de flúor de materiais restauradores na desmineralização do esmalte ao redor das restaurações. As hipóteses testadas foram que materiais liberadores de flúor promovem menor extensão da desmineralização da estrutura dental adjacente e os materiais com monômeros resinosos possuem menor rugosidade de superfície. Para este estudo in vitro, 40 blocos de esmalte dentais bovinos foram divididos aleatoriamente em 4 grupos, cada qual com 10 fragmentos dentais restaurados com diferentes materiais: cimento de ionômero de vidro modificado por resina (Vitremmer), nanoparticulado (Ketac N100), cimento ionomérico convencional (Ketac Molar), compósito resinoso (Filtek Z250). Os blocos dentais foram submetidos a um modelo de desmineralização bacteriano. Em seguida, os blocos restaurados foram levados ao rugosímetro para avaliação da rugosidade a qual foi comparada com discos dos materiais testados, confeccionados como padrões de rugosidade, então, o teste de microdureza foi realizado para se obter a dureza Knoop da estrutura dentaria adjacente ao material restaurador com indentações nos pontos 50, 100 e 150 μm de distância, nas profundidades de 10 a 120 μm , considerando as medidas a partir de 100 μm com valores similares ao do esmalte hígido e os valores foram convertidos em volume mineral pela fórmula de Featherstone (1983). Em seguida, foi feita a análise do conteúdo mineral da interface esmalte/restauração, após a ação dos ácidos bacterianos pela microanálise de raio-x. Os resultados mostraram que todos os grupos submetidos ao desafio cariogênico tiveram aumento significativo de rugosidade superficial. O grupo dos compósitos resinosos sofreu menor aumento significativo de rugosidade, seguida dos cimentos resinosos modificados por resina, o nanoparticulado e o convencional. Os valores de volume mineral no grupo da Z250 foi significativamente menor que os grupos com cimentos ionoméricos. A microanálise revelou conteúdo de cálcio significativamente maior nos grupos

restaurados com cimentos ionoméricos .Isto permitiu concluir que os materiais com conteúdo resinoso possuem melhor polimento superficial e que o esmalte adjacente aos restauradores que liberam flúor sofreu menor desmineralização, além de apresentar maior conteúdo de cálcio.

PALAVRAS-CHAVES: Dureza, Polimento dental, Espectrometria por raio x

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of plaque accumulation on roughness and fluoride release from dental materials on enamel demineralization around restorations. The hypothesis was that fluoride-releasing materials have lower extent of demineralization of adjacent tooth structure. For this in vitro study, 40 bovine dental enamel blocks were randomly divided into four groups, each with 10 dental fragments restored with different materials: resin-modified glass ionomer cement (Vitremer), nanoionomer (Ketac N100), conventional glass ionomer cement (Ketac Molar), resin composite (Filtek Z250). The dental blocks were subjected to a bacterial demineralization model. Then the restored blocks were taken to rugosimeter for evaluation of the roughness which was compared with discs of the tested materials, prepared as roughness patterns, then the microhardness test was performed to obtain the hardness of tooth structure adjacent to the restorative material with indentations at points 50, 100 and 150 μm apart, at depths from 10 to 120 μm , considering the measures from 100 μm with values similar to sound enamel and the values were converted to mineral volume by the formula Featherstone (1983). Next step was to analyze the mineral content of enamel interface / restore, after the action of bacterial acid by x-ray microanalysis. The results showed that all groups submitted to cariogenic challenge significantly increased surface roughness. The group of composite resins has increased significantly lower roughness, followed by resin-modified resin cements, the nanoionomer and conventional. The values of mineral volume in the group of Z250 was significantly lower than groups with ionomer cements. The microanalysis showed calcium content significantly higher in groups restored with glass ionomer cements. It was concluded that materials with resin content have better polishing surface and the enamel adjacent to fluoride releasing restorative suffered less demineralization, as well as the higher calcium content.

KEYWORDS: *Hardness, Dental polishing, spectrometry, X-ray emission*

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO -----	1
2. REVISÃO DE LITERATURA-----	6
3. PROPOSIÇÃO -----	31
4. MATERIAIS E MÉTODOS -----	32
5. RESULTADOS-----	45
6. DISCUSSÃO-----	50
7. CONCLUSÃO -----	60
8. REFERÊNCIAS-----	61

1. INTRODUÇÃO

A Odontologia Restauradora procura restabelecer estruturas dentárias perdidas com o uso de materiais artificiais, que tentam mimetizar características dos dentes naturais, a fim de se conseguir a devolução da anatomia, função e estética (Eide & Tveit, 1990; Graig & Powers, 2004).

No entanto, a indústria vem desenvolvendo materiais facilmente manipuláveis e estéticos para a substituição de estruturas dentárias comprometidas. Vários materiais como o ouro, a cerâmica, o amálgama, a porcelana, os cimentos de óxido de zinco e eugenol, o ionômero de vidro, os compósito resinosos e compômeros (Graig & Powers, 2004; Anusavice, 2005), foram desenvolvidos, eliminando as propriedades negativas e reforçando as positivas de cada material (Santos *et al.*, 2000).

O conhecimento do substrato dentário permitiu o desenvolvimento de novas técnicas restauradoras, dando origem à Odontologia Adesiva, que se baseia na interação de forma eficaz e duradoura do material restaurador com a estrutura dentária (Almeida, 2005), com a adesão, seja por embricamento mecânico, união química ou ambos. A adesão à estrutura dentária é extremamente importante, pois uma vez obtida, a microinfiltração na interface dente/restauração é dificultada, consegue-se uma ótima retenção do material e a saúde do tecido dentário é preservada (Araújo, 2001; Anusavice, 2005).

O cimento de ionômero de vidro desperta grande interesse na Odontologia, desde os trabalhos pioneiros de Wilson & Kent (1972). Este material apresenta adesividade à estrutura dentária, propriedades anticariogênicas conferidas por sua capacidade em liberar flúor para a cavidade bucal e dentes adjacentes, o que protegeria a estrutura dentária periférica do ataque ácido proveniente do metabolismo fermentativo das bactérias que causariam cárie recorrente (Pedrini, *et al.*, 2001; Nakajo, 2009). Materiais liberadores de flúor, como ionômero de vidro, são extensamente utilizados para auxiliar na prevenção de cárie (OkudA, *et al.*,

2003; Kitasato, *et al.*, 2003; Toba, *et al.*, 2003). Além disso, o cimento possui biocompatibilidade e coeficiente de expansão térmica semelhante ao da dentina, resultando em um bom vedamento marginal (Mout, 1999; Nicholson, 2000; Zimehl & Hanning, 2000).

Embora os cimentos ionoméricos tenham grande aceitação, apresentam diversas limitações. Seu tempo de presa final é extremamente longo, ficando susceptível a sinérese e embebição, além de apresentar estética pouco favorável, baixa resistência à compressão e à tração, e grande sensibilidade na manipulação (Andrade *et al.*, 1997; Novaes Jr *et al.*, 1997; Navarro, 1998; Anusavice, 2005).

Assim, desde seu surgimento, os cimentos ionoméricos vêm passando por uma evolução (Meyer *et al.*, 1998). A adição de um componente monomérico à fórmula original, o hidroxietil metacrilato (HEMA), resultou em um grupo de cimentos classificados como ionômero de vidro modificado por resina, unindo as propriedades desejáveis dos cimentos ionoméricos, como a liberação de flúor e união química ao dente, as boas propriedades físicas e a estética das resinas compostas, além de diminuir a sensibilidade do material à umidade e promover presa rápida, através da ativação química ou por luz dos grupos polimerizáveis. Permitem, ainda, que a reação ácido-base transcorra (McClean *et al.*, 1994; Anusavice, 2005).

O mais recente cimento inonomérico introduzido no mercado é o KetacTM N100 (3M ESPE, Alemanha), em que há adição de cargas nanoparticuladas, sendo denominados de nano-ionômero. Esse material possui flúor em sua superfície e recarrega-se com fluoretados, principalmente em meio ácido, sem diferença significativa com Fuji II, VIII, IX e Triage (GC, Japão) (Markovic *et al.*, 2008). Possuem uma boa adesão à estrutura dentária, sem diferença significativa com Supreme Filtek Plus (3M ESPE, Alemanha), força de adesão adequada à dentina e ao esmalte, com superfície que favorece a adesão mecânica, porém, menos efetiva que os ionômeros de vidro modificados por resina convencionais, como Fuji II LC e Fuji GC (Uysal *et al.*, 2009).

Outro material adesivo é o compósito resinoso. Esse material apresenta como vantagens, a fácil manipulação, baixo custo, causa pouco desgaste ao dente antagonista e facilidade de reparo (Carvalho, 1998; Anusavice, 2005). Desde sua introdução no mercado, tem evoluído continuamente na tentativa de melhorar suas propriedades e aumentar sua aplicação clínica (Chinelatti, *et al.*, 2006). Contudo, possui como principal desvantagem a contração de polimerização, o que contribuiria para o aumento da microinfiltração e tensão de contração de polimerização, além de sensibilidade pós-operatória (Aguilar, 2004; Puckett, 2007; Duarte Jr, *et al.*, 2009; Ilie & Hickel, 2009)

Com a finalidade de avaliar o desempenho clínico dos diferentes materiais restauradores, o seu potencial anticárie e aperfeiçoar suas propriedades mecânicas, vários tipos de estudos são realizados na Odontologia, como análise do acúmulo de biofilme, rugosidade superficial, microdureza e avaliação das regiões desmineralizadas adjacentes por espectroscopia de energia dispersa.

A associação entre textura superficial e acúmulo de biofilme tem sido largamente pesquisada (Castellani *et al.*, 1996; Yamamoto *et al.*, 1996; Bollen *et al.*, 1997; Rimondini *et al.*, 1997; Mendonça, 1999; Kawai *et al.*, 2000; Leite Jr., 2001). A adesão de bactérias em superfícies sólidas na cavidade oral está relacionada também ao grau de rugosidade apresentado pelo material restaurador. Superfícies lisas ou polidas dificultam a instalação e desenvolvimento de colônias de bactérias diminuindo o acúmulo de biofilme e conseqüentemente o risco à cárie e à doença periodontal. (Quirenyn & Bollen, 1995; Bollen, 1996; Bollen *et al.*, 1997; Medonça, 2002). Acabamento e polimento de materiais restauradores são passos importantes na Dentística Restauradora, pois permitem otimização da estética da restauração, além de prover superfícies lisas, as quais dificultam a deposição de biofilme. Um bom polimento resulta em superfícies sem rugosidades e ranhuras, que dificultaria o acúmulo de biofilme e influenciaria nas propriedades mecânicas. (Sarac, 2006).

Os cimentos de ionômero de vidro apresentam maior rugosidade que os compósitos resinosos, que apresentam melhor lisura superficial, já o ionômero de

vidro modificado por resina fica entre os dois materiais, sendo mais rugoso que os compósitos resinosos e com maior lisura superficial que o ionômero de vidro convencional (Homdrun & Fernandez Junior, 1997; Araújo, *et al.*, 1998; Sasaki *et al.*, 2000; Carlén *et al.*, 2001). O acúmulo de biofilme pode promover a degradação de superfície do material restaurador, pela queda do pH, levando a um aumento da rugosidade (Turssi, 2002; Francisconi, 2008; Honório, 2008; Rios, 2008; Wang, 2009).

Além disso, a formação do biofilme na margem da restauração pode causar cárie recorrente. Apesar de ser o tecido mais duro do corpo humano, o esmalte está sujeito a ataques ácidos provindos da fermentação de açúcares pelas bactérias. Isso pode causar perda mineral a nível microscópico, relacionada aos hábitos alimentares e biofilme acumulado. Nessas condições, a cárie pode se originar a partir de um desequilíbrio entre desmineralização e remineralização que são modulados por condições que interferem no pH crítico ($\text{pH} < 5,5$). Assim, os cimentos ionomêricos podem proteger o esmalte adjacente por inibir a produção de ácidos pelas bactérias (Forss, *et al.* 1991; Benelli, *et al.*, 1993; Nakajo, *et al.*, 2009) e promover a remineralização da estrutura adjacente pela liberação de flúor (Pereira, *et al.*, 1998; Yamamoto, *et al.*, 2005; Nakajo, *et al.*, 2009).

Tais eventos podem influenciar, também, na dureza superficial do esmalte (Thylstrup & Fejerskov, 1995; Valença, 2004; Sousa *et al.*, 2009; Bambrilla, *et al.*, 2009; Gao, *et al.*, 2009). A dureza superficial é uma das importantes propriedades físicas dos materiais ou substratos dentários, pois funciona como um indicativo indireto do conteúdo mineral. Ela pode ser definida como a resistência oferecida pelos sólidos à penetração de uma ponta (Willems *et al.*, 1993; O' Brien, 2002; Donassolo, *et al.*, 2007; Becker *et al.*, 2009). A microdureza é usada para a mensuração de superfícies mais finas, materiais frágeis ou amostras muito pequenas, como blocos dentais (Estrela, 2005). Um dos métodos utilizado é a microdureza em corte longitudinal que permite avaliar as alterações no esmalte relativo ao conteúdo mineral. De acordo com Featherstone (1983), como esse método não permite uma obtenção direta do conteúdo mineral, é necessário

converter os valores para percentual de volume mineral. O flúor liberado pelo ionômero de vidro pode influenciar na remineralização, tornando a superfície mais dura e resistente ao ataque ácido (Pereira, *et al.*, 1998; Yamamoto, *et al.*, 2005; Nakajo, *et al.*, 2009).

O conteúdo mineral pode, ainda, ser avaliado pela espectroscopia de dispersão de energia (sigla em inglês, EDS – Energy Dispersive spectroscopy), que permite a quantificação dos elementos em um tecido, mesmo em pequena percentagem (Arnold *et al.*, 2003; Angker *et al.*, 2004; Arnold *et al.*, 2007), possibilitando avaliar o conteúdo mineral dos corpos-de-prova, afim de fazer um paralelo com o volume mineral encontrado no teste de microdureza interna.

As hipóteses testadas nesse estudo foram: materiais liberadores de flúor promovem menor extensão da desmineralização da estrutura dental adjacente e os materiais com monômeros resinosos possuem menor rugosidade de superfície. Assim, é oportuno investigar o desempenho dos materiais restauradores com ou sem flúor em relação sua lisura superficial, assim como seu potencial anticariogênico, frente a um desafio cariogênico em modelo microbiológico.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Acúmulo de placa e adesão de bactérias

Forss *et al.*, pesquisaram em 1991, os níveis de contaminação de *S. mutans* ao redor de restaurações de ionômero de vidro convencional, além de medir a quantidade de flúor na placa em diferentes tempos de tratamento. A pesquisa foi feita em modelo *in vivo*, com os materiais restauradores Ketac-Fil (civ) e Silar (compósito resinoso). Foram usados 21 voluntários adultos, com faixa etária entre 23 e 58 anos. Foram confeccionados túneis cilíndricos, com o auxílio de guta-pecha, na face vestibular de molares superiores escolhidos aleatoriamente, de cada voluntário. Em um dos molares foi confeccionado o túnel com cimento ionomérico e no molar contra-lateral um com o compósito. O biofilme formado foi coletado aos 14, 28 e 42 dias. Os pesquisadores encontraram no ionômero de vidro uma contagem média de *S. mutans* de $0,5 \times 10^3$, $6,7 \times 10^3$ e $8,8 \times 10^3$ UFC nas primeira, segunda e terceira coleta, respectivamente, enquanto nos compósitos, foram coletados $32,1 \times 10^3$, $14,6 \times 10^3$ e $120,6 \times 10^3$ UFC nas coletas correspondentes. Para o ionômero de vidro, a média de concentração de flúor foram de 19.985, 5.788 e 5.019 ppm na primeira, segunda e terceira coletas, enquanto nos compósitos, a média de concentração de flúor foi de 200 ppm no percurso do estudo. Os resultados mostraram que o nível de flúor influenciam no crescimento da placa no ionômero de vidro.

A adesão de bactérias ao dente e ao material restaurador desempenha um importante papel na patogênese da doença. Assim, em 1998, Shahal *et al.*, investigaram a adesão inicial do *Streptococcus mutans* ao esmalte e material restaurador. Três tipos de compósitos (Durafill, Z100 e Herculite) e dois tipos de ionômero de vidro (Fuji tipo II e Fuji II Light Cure) foram usados. As amostras foram cobertas com saliva humana recém coletada. A saliva cobriu as amostras que foram incubadas com glicotransferase livre de células, e depois incubadas com solução de sacarose. Finalmente as amostras foram incubadas com H-

timidina classificando as bactérias. A adesão bacteriana às amostras foi medida com um contador de centilação. Observações em MEV foram feitas em cada amostra. Os resultados mostraram que não houve diferença estatística entre os materiais e o controle. Esses achados podem ser explicados pela película que cobriu todas as amostras. Este biofilme, o qual as bactérias foram aderidas provavelmente mascararam as propriedades superficiais das amostras resultando em adesão bacteriana similar.

Auschill *et al.*, (2002), investigaram a formação de biofilme *in situ*, com voluntários utilizando contenções com blocos de materiais dentários inseridos para acumular placa. Após 5 dias com acúmulo de placa, as amostras foram coradas para análise em microscópio confocal para avaliar a porcentagem de biofilme vital (VF). Além disso, foi analisados a área do material coberto pela placa (cobertura superficial: % SC) e a espessura do biofilme (BH, μm). Os materiais metálicos, tais como amálgama e ouro, os compômeros, bem como os ionômeros de vidro guardaram quase que inteiramente apenas amostras mortas (VF < 8%). Enquanto a resina teve uma taxa de vitalidade entre 4 e 21%, o biofilme acumulado sobre as amostras de cerâmicas mostrou altos valores de vitalidade no biofilme (34-86%). O SC variou de 6% no ionômero a 100% no amálgama. O BH alcançou o maior valor no amálgama e no ouro, com 17 e 11 μm , respectivamente, enquanto a espessura variou de 1 a 6 μm na cerâmica, compósito resinoso, compômero e ionômero de vidro. Os autores puderam concluir amálgama, ouro, compômero e ionômero exercem certa influência na adesão bacteriana.

Badawi *et al.*, em 2003, investigaram o acúmulo e a composição da placa dental formada ao redor de diferentes materiais usados para cimentação ortodôntica, em um modelo *in vitro*. O biofilme cresceu em discos de diferentes materiais em filme fermentador de profundidade constante (CDFF). Este consiste de um recipiente de vidro com um par de placas de aço inoxidável nas extremidades, na parte superior tem uma placa com entradas para a adição de gás e meios, bem como um suporte para as amostras. Uma mesa giratória com 15 cubas de polifluoretileno instaladas e contendo as amostras foram distribuídas

eqüidistantes e entre as placas terminais e giradas a uma velocidade de 3 rpm. O número de bactérias viáveis nos biofilmes foi determinada e os estreptococos presentes foram identificados por níveis de espécies. Os resultados mostraram que não houve diferença no acúmulo de bactérias entre os diferentes materiais de adesivo, entretanto, o crescimento do biofilme nos materiais que liberam flúor, não continham *Streptococcus mutans*. Neste estudo *in vitro* mostraram que o uso de materiais adesivos liberadores de flúor podiam evitar o crescimento de placa supragengival, onde não continha *Streptococcus mutans*.

Em um estudo *in vitro* conduzido por Hayacibara *et al.*, em 2003, procuraram verificar o potencial anticariogênico do flúor e do alumínio liberados pelos cimentos íonoméricos. Para isso, confeccionaram seis amostras cilíndricas de cada material restaurador (Ketac-fil, Vitremer, Fuji-Ortho LC, F-2000 e Z-100) que foram incubados com *S. mutans* GS-5 num meio de cultura com 5% de glicose em peso. Os meios foram trocados diariamente por uma semana, durante a qual as mudanças de pH e concentrações de flúor e alumínio foram determinadas. No final do período experimental, a quantidade de íons e polissacarídeos insolúveis foram registrados, mostrando que o Vitremer liberou uma maior quantidade de alumínio com um efeito mais efetivo na redução da acidogenicidade do biofilme dos *S. mutans*, além da sua formação e composição, o que sugere um importante papel do íon alumínio no efeito anticariogênico do flúor.

Montanaro, *et al.*, em 2003, investigaram e compararam a adesão de *Streptococcus mutans* em materiais restauradores como compósitos resinosos flows (Filtek Flow, Tetric Flow e Arabesk Flow), microhíbridos (Clearfill APX, Solitaire 2, Z250), ormocer (Admira), ionômeros de vidro (Fuji IX e Fuji IX fast), compômero e usando como referência uma superfície tratada de poliestireno. Amostras cilíndricas (4 mm de diâmetro e 1 mm de espessura) dos materiais testados foram preparadas de acordo com especificação dos fabricantes. Depois de 4 semanas, os materiais foram testados. As amostras controle de poliestireno plástico tinham dimensões maiores. Os testes de adesão foram realizados em placas de 24 poços. Medidas quantitativas de turbidometria foram feitas afim de

avaliar a quantidade de bactérias retidas na superfície do material depois da exposição *in vitro* à suspensão. Sob essas condições, com exceção da Admira ormacer e do ionômero de vidro Fuji IX fast, todos os outros materiais mostraram valores de adesão bacteriana similares, que não diferiram significativamente em relação ao controle. Ao se relacionar os materiais dos que apresentaram menor adesividade para o de maior, tem-se compósitos resinosos flows, microhíbridos, ionômero de vidro modificado por partículas resinosas, compômero e ormocer Admira. Os autores concluíram que o material restaurador pode influenciar a adesão e colonização de *S. mutans* e que o processo de formação do biofilme deve ser melhor investigado.

Os compósitos resinosos têm como constituintes monômeros, tais como bis-EMA e o TEGDMA. Este teria a habilidade de modular o crescimento de bactérias orais através dos produtos da sua degradação, como ácido metacrílico (MA) e trietileno glicol (TEG), que são frutos da interação entre as esterases salivares com os compósitos. Assim, em 2004, Khalichi *et al.*, estudaram a influência dos produtos da degradação do TEGDMA no crescimento bacteriano de cerpas: NG8 e JH 1005 de *S. mutans* e AT2 de *S. salivarius*. As cerpas foram coletadas e colocadas para crescer em meio com 10 g de triptone, 5g de extrato de levedura, 5 mM de glicose e 10 mM de fosfato de potássio, esse meio foi denominado de TYEG. Amostras de TYEG foram tamponadas em pH 5,5 ou 7,0. Foram dispensados 650 µL de cada solução em poços de placas de microtitulação estéreis, nas quais foram inoculadas 5% por volume de bactérias em TYEG. Amostras de produtos de degradação MA ou TEG foram adicionadas nos poços nas concentrações finais de 0,0; 0,5; 1,0; 5,0; 10,0; 20,0 e 50,0 mmol/L. Uma concentração de 100 mM foi usada para estudar TEG. Poços controles ficaram sem inóculos a fim de fazer medidas de densidade ópticas de referências para cada condição experimental. As taxas de crescimento foram medidas a 37°C e o pH de 5,5 ou 7,0 nas concentrações de 0 – 50 mmol/L para MA e 0-100 mmol/L para TEG. Observou-se que no pH 5,5 o TEG estimulou significativamente o crescimento bacteriano de ambas as cerpas de *S. mutans* variando na

concentração de 0,5 – 10 mmol/L e estimulou o crescimento de de *S. salivarius* por toda a grade de concentração. TEG (acima de 50 mmol/l) não afetou significativamente *S. salivarius* no pH 7,0 e inibiu o crescimento de ambas as cepas *S. mutans* na concentração acima de 50 mmol/L no mesmo pH. No pH 5,5 o MA inibiu o crescimento de todas as cepas com o aumento de concentração. No pH neutro, o crescimento de *S. mutans* NG8 foi significativamente reduzida acima de 10 mmol/L. Assim, os resultados indicaram que o TEG e o MA modulam o crescimento bacteriano de acordo com a concentração e pH.

Eick *et al.*, em 2004, desenvolveram um sistema fluido, onde há constante nutrição das amostras com caldo para avaliar a adesão de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 em materiais restauradores (Ariston, Tetric, Dyract, Compoglass, Vitremer, Aqua Ionofil, Ketac Fil, amalgama, Galloy e cerâmica como controles). *Streptococcus mutans* foram adicionados a amostras cobertas com saliva, e um caldo nutritivo foi permanentemente fornecido por um período de 48h e então o peso da placa, o número e a viabilidade das bactérias aderidas foi determinada. O peso do biofilme produzido em todos materiais restauradores testados foram maiores que aqueles na cerâmica, os maiores valores foram encontrados nos ionômeros de vidro. A quantidade de placa tem correlação com a rugosidade, enquanto que não há correlação da rugosidade superficial com as unidades formadoras de colônias (UFC) de *Streptococcus mutans*. A UFC de *S. mutans* aderidos ao material também depende da viabilidade das bactérias. O biofilme no Ketac Fil continha alto número de bactérias viáveis. Os fluoretos dos cimentos ionoméricos não preveniram eficientemente a adesão e a viabilidade de *S. mutans*.

Em 2009, com o objetivo de avaliar o efeito inibitório do ionômero de vidro na produção de ácidos pelos estreptococos relacionados à cárie e identificar os componentes responsáveis por essa inibição, Nakajo *et al.*, prepararam um eluato de cimento de ionômero de vidro (Fuji IX), na proporção pó/líquido de 1:3,6 por 30s e depois foi imerso em solução tamponada de fosfato a 37°C por 24h. Fluoretos e outros elementos no eluato foram quantificados por eletrodos e

espectrofotômetro de absorção atômica, respectivamente. *Streptococcus mutans* (NCTC 10449) e sanguinis (NCTC 10556) foram usados para avaliar a queda de pH e a taxa de produção de ácidos depois da adição de glicose na presença ou ausência do eluato. Os produtos ácidos finais da glicose também foram avaliados por analisadores de ácido carboxílico. O eluato continham sílica ($1,24 \pm 0,26$ mM), fluoreto ($0,49 \pm 0,02$ mM) e alumínio ($0,6 \pm 0,00$ mM) e inibiram a queda de pH e a taxa de produção de ácidos nos dois grupos de streptococos, com concomitante diminuição da produção de ácido láctico. Esses efeitos foram comparáveis àqueles das soluções de fluoretos de potássio contendo a mesma concentração de flúor do eluato. Esses resultados indicam que o eluato de ionômero de vidro inibiram a produção de ácido de estreptococos relacionados a cárie dental e seu efeito se deve aos fluoretos derivados do CIV. Assim, nas estruturas dentárias adjacentes a restaurações de ionômero, a produção de ácidos e o crescimento bacteriano sofrem decréscimo, estabelecendo um ambiente bacteriostático.

2.2. Desmineralização

Dionysopoulos *et al.*, em 1994, estudaram, *in vitro*, a capacidade de materiais liberadores de flúor de prevenir a formação de cárie recorrente. Os autores prepararam cavidade classe V nas faces vestibulares e linguais de 18 pré-molares extraídos. Seis materiais foram testados: amálgama com alto conteúdo de cobre (Dispersalloy), amálgama contendo fluoretos (Fluor-alloy), compósito resinoso (Valux) compósito resinoso com flúor (Heliomolar), cimento de ionômero de vidro (Fuji) e ionômero de vidro com partículas de prata (Ketac-Silver). Depois de 15 semanas em gel ácido para simular a formação de cárie, os dentes foram seccionados longitudinalmente e examinados com microscópio de luz polarizada. A análise da profundidade das lesões mostrou que as amostras restauradas com ionômero de vidro auxiliam na prevenção de cáries ao redor das restaurações, exibindo uma zona de inibição de desmineralização.

Dunne *et al* (1996), com o objetivo de comparar a inibição da cárie , *in vitro*, por ionômero de vidro modificado por resina e o convencional, confeccionaram cavidades classe V padronizadas em molares humanos e restaurados com Fuji II LC (n=14) ou Chemfil II (n=14) de acordo as instruções dos fabricantes. Os dentes foram submersos em gel ácido (ácido láctico, gelatina, timol, pH 4,5) por 14 dias e em seguida, embutidos em resina. Fotomicrografias das secções foram examinadas para lesões de esmalte, dentina, parede do preparo cavitário e evidência de inibição de desmineralização. Os resultados mostraram que não houve diferença estatística entre as profundidades das lesões em esmalte ou dentina para os dois materiais. Nenhuma lesão de parede foi encontrada. Assim, os autores concluíram que o Fuji II LC produziu maior zona ácido-resistente que o Chemfil II e ambos materiais inibiram a desmineralização *in vitro*.

Em 1996, Pereira *et al.*, avaliaram a microdureza das estruturas adjacentes ao ionômeros de vidro convencional e modificados por resina. Foram utilizados blocos dentais de dentes bovinos que foram restaurados com Fuji II, Fuji II LC ou Vitremer. Os dentes foram descalcificados em 50 mmol/l de ácido acético com pH de 4,5 por 3 dias. Indentações de microdureza Knoop e triangular foram feitas perpendicular a superfície e paralela à parede cavitária nas lesões desmineralizadas e zona de inibição. Nesse estudo, zonas de inibição são as ácido-resistentes, que tiveram incorporação de flúor, tornando-as menos susceptíveis a lesões por desmineralização. O conteúdo de cálcio e fósforo das lesões mais externas e das zonas de inibição foram comparadas usando um espectrofotômetro de raios x de energia dispersa. Observaram, então, lesões desmineralizadas e zonas de inibição ao longo das paredes cavitárias de todas as amostras. Contudo, a microdureza da zona de inibição adjacente ao ionômero de vidro convencional foi significativamente maior que daquela adjacente ao ionômero modificado por resina. O conteúdo de cálcio e fósforo é grande nas camadas ácido-resistentes e menor nas lesões externas.

Tendo em mente a importância da prevenção pela cárie recorrente pelo material restaurador, em 1997, Tam *et al.*, desenvolveram um modelo inicial

anticariogênico (de liberação de flúor, de ganho de flúor, de resistência ao desafio da cárie artificial), testando a habilidade do ionômero de vidro convencional comparado ao modificado com resina em resistir ao processo de desmineralização. O estudo também se propôs a avaliar o efeito de um agente adesivo de dentina intermediário no desenvolvimento de lesões de cárie de superfície e de parede adjacente à restauração de ionômero de vidro modificado por resina. Assim, a liberação acumulada de flúor foi mensurada na imersão de amostras em forma de disco em água deionizada por 24 horas, 1, 2, 4 e 10 semanas. Para o ganho de flúor e teste de cárie artificial, restaurações padronizadas foram colocadas na junção cimento-esmalte de molares humanos. Espectroscopia de íon de massa secundária foi usada para determinar a profundidade do ganho de flúor na dentina axial adjacente à restauração depois de 1 e 10 semanas. Para os testes de cárie artificial, os dentes foram imersos em gel ácido de pH 4 por 10 semanas. O desenvolvimento da cárie recorrente foi avaliado por microscopia de luz polarizada. No geral, houve uma grande quantidade de flúor liberada, além de ganho do ionômero de vidro convencional, uma quantidade equivalente ou menor no ionômero modificado por resina e nenhuma do compósito resinoso. O uso de condicionador ácido e primer do sistema adesivo dentinário aumentou significativamente a profundidade do ganho de flúor na primeira semana. O uso de uma camada adicional de resina adesiva, entretanto, diminuiu significativamente a profundidade de ganho de flúor. O máximo foi de 300 µm em 10 semanas. Tanto as restaurações com ionômero de vidro convencional e modificado por resina aumentaram a resistência da dentina contra o desenvolvimento de cárie recorrente, por causa do flúor.

Em 1998, Creanor *et al.*, preocupados com a grande freqüência de cárie secundária e as conseqüentes substituições de restaurações, pesquisaram o papel dos cimentos inoméricos como ferramentas de prevenção desse problema. Realizaram, então, um estudo *in vitro* para avaliar a progressão de lesões artificiais ao redor de restaurações de ionômeros de vidro modificado por resina (Vitremer) em superfícies radiculares, através de microradiografias. Foram

preparadas, então, classes V em 28 pré-molares. E as paredes desses preparos foram desmineralizadas para simular lesões de cárie, depois hemiseccionados em duas metades, onde uma delas foi restauradas com ionômero de vidro ou amalgâma, enquanto a outra foi usada como controle negativo. Os pesquisadores submeteram 48 amostras à ciclagem de pH em soluções remineralizadora e desmineralizadora por 20h e 4h, respectivamente, diariamente, por 4 semanas e utilizaram um pequeno grupo controle de 8 espécimes, em que a solução desmineralizadora foi substituída por água deionizada. Os resultados mostraram graus variados de desmineralização e remineralização subsuperficial, com aparência laminada nas lesões adjacentes ao ionômero de vidro. Havia também um alto grau de remineralização nos preparos restaurados com CIV. No grupo com água deionizada, o ionômero mostrou um aumento no conteúdo de mineral do tecido dental adjacente, enquanto nenhuma mudança foi observada nos preparos com amalgâma, mostrando assim, o grande potencial remineralizador dos cimentos ionoméricos.

Para avaliar o ganho de flúor bem como a mineralização na dentina bovina, Hotta, Li e Sekine, em 2001, restauraram experimentalmente cavidades com ionômero de vidro e com resinas modificadas por poliácidos. Cavidades cilíndricas foram preparadas na face vestibular de raízes de dentes bovinos. Os dentes restaurados foram individualmente armazenados em água destilada a 37°C por 30 dias. Depois desse período, os dentes foram seccionados e as paredes dentinárias superficiais foram analisadas quanto a quantidade de flúor, cálcio e fósforo pelo dispositivo EPMA (uma sonda eletrônica de microanálise). Os efeitos de diferentes materiais liberadores de flúor na dureza foram medidos pelas indentações do durômetro, em intervalos de 20 µm abaixo da restauração dentro da camada subsuperficial na dentina sã até uma profundidade de 100 µm. Observaram, então, que o cimento de ionômero de vidro convencional teve um significativo efeito no ganho de flúor, além de revelar, também, a presença de cálcio e fósforo em níveis mais profundos. Já a resina modificada por poliácidos não mostrou zonas de aumento de cálcio e fósforo. A dureza média da dentina

adjacente ao ionômero de vidro convencional variou de 84,3 a 61,3 KHN, entretanto, as paredes adjacentes às resinas modificadas por poliácidos variaram de 62,5 a 64,9 KHN. Houve diferença significativa entre as durezas na profundidade de 20 μm e as outras. O estudo mostrou que a penetração do flúor na dentina através do ionômero de vidro convencional é maior que nas resinas modificadas por poliácidos.

Hara *et al.*, em 2003, afim de verificar a validade do uso de dentes bovinos ao invés de dentes humanos, conduziu um estudo *in situ*. Onze voluntários usaram dispositivos palatinos contendo 4 blocos dentários cada (dois humanos e dois bovinos). Solução de sacarose a 20% foi gotejada em todos os blocos por 4 vezes ao dia, simulando um desafio cariogênico. Suspensões de dentifrícios, fluoretados ou não, foram gotejados sobre blocos específicos de dentina durante 3 vezes ao dia para avaliar a redução de cárie. Depois de duas semanas, o biofilme formado nos blocos de dentina foram coletados para análise microbiológica. Na dentina, a perda mineral (ΔZ) e a profundidade da lesão (LD) foram determinadas pela microdureza longitudinal e luz polarizada. A contagem total de estreptococos e *S. mutans* tanto em blocos humanos como bovinos, com ou sem dentifrício fluoretado, diferiram estatisticamente diferentes. Os valores de ΔZ e LD na dentina tratada com dentifrício fluoretado foram significativamente menores que os valores da dentina tratada sem dentifrício não-fluoretado. As diferenças nos valores do ΔZ e LD entre dentina humana e bovina não foram estatisticamente significantes. Os resultados sugeriram que a dentina bovina pode ser usada no lugar da humana pra avaliar desenvolvimento e inibição de cárie.

Defeitos isolados de esmalte são comumente vistos em primeiros molares permanentemente e, por isso, Mahoney *et al.*, em 2004, estudaram as propriedades mecânicas e morfológicas de primeiros molares hipomineralizados usando o sistema de Ultra-Micro-Indentation (UMIS), o microscópio eletrônico de varredura (MEV), respectivamente. Outras pesquisas utilizando EDS (Espectroscopia de energia dispersiva e difração de raios-x) foram empregadas na tentativa de determinar a composição química, o conteúdo mineral e a estrutura cristalina de

tecidos hipomineralizados, respectivamente de oito primeiros molares com severas hipomineralização de esmalte. A dureza e o módulo de elasticidade encontrados foram significativamente menores (0.53 ± 0.31 e 14.49 ± 7.56 GPa, respectivamente) que do esmalte normal (3.66 ± 0.75 e 75.57 ± 9.98 GPa, respectivamente). Embora, a superfície fraturada do esmalte hipomineralizado tem sido significativamente mais desorganizada e com conteúdo mineral reduzido de aproximadamente 5% em comparação ao esmalte hígido, a fase mineral e a taxa de Ca/P foram similares no esmalte hipomineralizado e hígido. A grande redução nas propriedades mecânicas do primeiro molar permanente torna-se um problema maior quando clínicos restauram esses defeitos de esmalte. A razão para a redução nas propriedades mecânicas do esmalte hipomineralizados de primeiros molares permanentes ainda é desconhecida.

Em 2004, Delbem *et al.*, comparou o efeito de produtos de aplicação tópica de flúor (FFA - fluorfosfato acidulado) ou gel neutro (FN) com os do dentifrício fluoretado (MFP), em relação ao ganho de flúor com o efeito anticariogênico. Cento e vinte e cinco blocos de dentes humanos, separados em 5 grupos de acordo com o tratamento, foram submetidos a ciclagem de pH por 10 dias. Os parâmetros analisados pelos pesquisadores foram o ganho de flúor, antes e depois da ciclagem, e a microdureza superficial e longitudinal dos blocos de esmalte. Os resultados da concentração de flúor no esmalte depois da ciclagem mostraram um aumento no ganho de fluoreto em todos os grupos comparando-se com o controle. Nenhuma diferença estatística entre FFA e MFP foi observada para microdureza superficial, alteração da porcentagem da microdureza e perda mineral. O volume percentual de mineral obtido na microdureza longitudinal demonstrou que FFA tem uma diferente taxa de progressão de lesão registrada na subsuperfície da lesão cáriosa. Os resultados sugerem que o gel fluoretado aplicado profissionalmente ou a aplicação freqüente em baixa concentração são medidas preventivas positivas para o controle de cárie dental.

Arnold *et al.*, em 2007, com o objetivo de investigar a profundidade da lesão cáriosa em dentina de molares humanos combinando microscopia de luz

polarizada, eletrônica de varredura (MEV) e análise de raio-x com energia dispersa (EDS) para a determinação da diferentes zonas da lesão de cárie, sua extensão e o conteúdo químico. Dezesseis dentes extraídos com lesão de cárie profunda na dentina foram embutidos e secções seriadas de 80 µm de espessura foram feitas. Essas secções foram, então, examinadas com o microscópio de luz polarizada para identificar as diferentes zonas da lesão. As linhas mais externas da zona foram traçadas consecutivamente e reconstruídas em 3D para a determinação das diferentes zonas. Da quantidade de dentina desmineralizada e da zona translúcida, um índice de dentina desmineralizada (DDI – dentin demineralization index) foi calculado. Três secções de cada lesão foram cobertas com carbono e estudadas com o microscópio eletrônico de varredura. As reconstruções 3D dos dentes mostraram zonas translúcidas mais estáveis, interrompidas por tratos mortos remanescentes, e diferentes quantidades de dentina desmineralizada. Entretanto, com o acréscimo do tamanho da dentina desmineralizada, o DDI aumentou. O conteúdo químico foi medido usando o EDS em áreas de dentina intertubulares. O conteúdo de Ca, P e C foi significativamente diferente em todas as zona. A proporção de Ca/P foi significativamente diferente entre a dentina hígida e a desmineralizada. Sobre os resultados, os autores concluíram que o conteúdo mineral da dentina intertubular da zona translúcida e da dentina desmineralizada é diferente do conteúdo da dentina hígida, e o único padrão de mineralização da zona translúcida é uma reação biológica à lesão cáries. Por causa da lesão ativa na dentina, túbulos dentinários com a embocadura aumentada foram detectados, o que permitiria a invasão bacteriana, ou, no caso de tratamento dentário, a penetração de agentes de união em direção à polpa.

Dickinson *et al.*, em 2007, estudaram o desenvolvimento de lesões de cárie *in vitro* em esmalte através da nanoindentação e o tempo de flutuação secundária da massa de íons pelo espectrofotômetro (TOF-SIMS). Este é um modo de mapear as propriedades mecânicas e químicas por uma secção cruzada da lesão. Para isso, cáries incipientes foram desenvolvidas nas faces vestibulares de 20 pré-

molares pela exposição ao ácido por 3, 5, 7 ou 14 dias. As lesões foram cortadas em secção cruzada normal para a exposição da superfície. As secções cruzadas das lesões foram então examinadas usando nanoindentação e o TOF-SIMS. As lesões mais precoces (3 dias) mostraram uma pequena evidência de crescimento da lesão, mas as de 5, 7 e 14 dias resultaram em lesões com desgaste, desmineralização interior, mas uma forte zona superficial com menor desmineralização. Essa zona superficial apresenta uma espessura dependente do tempo de exposição ao ácido, contudo, ainda estava presente depois de 14 dias. Os autores concluíram que o desenvolvimento da lesão de cárie e a zona superficial formam um processo conjunto. Mecanicamente as lesões ainda têm uma camada superficial forte, mas uma camada mais fraca no interior da lesão, deixando-a vulnerável a carga mecânica. Entretanto, a presença da zona superficial retém alto conteúdo mineral e é mecanicamente forte, o que sugere que o desenvolvimento da lesão pode ser dificultado por esta zona.

Komatsu *et al.*, (2007), usando a técnica PIGE, na qual é medida a concentração de F nos dentes sem alterar suas condições originais, Assim, os pesquisadores mediram o ganho de flúor no esmalte dental adjacente à materiais restauradores contendo flúor, durante a ciclagem de pH. Cavidades classe I nas faces vestibular de 6 dentes humanos extraídos foram confeccionadas e restauradas com cimentos de ionômero de vidro (Fuji IX). Três secções de 300 µm através dos materiais foram feitas em cada dente. Dois desses foram utilizadas para mensurar a distribuição de F no esmalte adjacente ao material. Um feixe de próton de 1,7 MEV vindo da ponta do acelerador TIARA foi acionado por um aparelho de micro-feixes. O tamanho da espessura do feixe era de cerca de 1 µm com uma corrente de 100 pA. Uma reação nuclear $^{19}\text{F}(p, \alpha\gamma)^{16}\text{O}$ foi usada para medir a concentração de F e as de raios gamas desta reação foi registrada por um detector de NaI de 4". Os raios X induzidos pelos prótons foram detectados com um detector de Si(Li) para medir a concentração de cálcio e a intensidade do feixe foi monitorado com a produção de raios-X de uma folha de cobre para a análise quantitativa. Depois do acúmulo de F ser medido, todos os espécimes foram

polidos até uma espessura de 120µm. A fim de simular os desafios ácidos diários ocorridos diariamente na boca, a ciclagem de pH (pH 6,8 – pH 4,5) foi realizada por 1, 3 e 5 semanas, separadamente. A solução manteve-se no pH 5,5 por 37 minutos por ciclo. Os ciclos foram repetidos 6 vezes por dia com intervalos de 2 horas entre os ciclos. E as amostras foram guardadas em solução remineralizadora pelo resto do ciclo. Depois da ciclagem de pH, a distribuição de flúor e cálcio foi avaliada usando a técnica PIGE. A distribuição de F das amostras antes da ciclagem mostraram claramente o ganho de F dos cimentos ionoméricos pelo esmalte adjacente às restaurações. Depois da ciclagem de pH, a progressão de cárie em todas as amostras foram observadas pela imagem do microscópio de microrradiografia transversal. A profundidade das cáries e perda mineral progrediu com um aumento na duração da ciclagem de pH, embora o esmalte adjacente ao material mantenha uma zona de inibição devido a baixa taxa de desmineralização. Com a progressão da cárie, o flúor é acumulado na subsuperfície das lesões de cárie, enquanto a superfície mais externa das lesões de cárie são gradualmente degradadas com o aumento da ciclagem de pH. Os autores concluíram que os dados obtidos do PIGE permitiram entender o efeito benéfico do flúor na prevenção de cárie pela restauração com material contendo flúor.

Cenci *et al.*, em 2008, avaliaram *in situ*, o efeito da microinfiltração na cárie ao redor de restaurações em esmalte e dentina, na presença ou não de materiais liberadores de flúor, dentifrícios fluoretados ou a combinação de ambos. Para isso, fizeram um estudo randomizado, duplo-cego e cruzado em 4 fases de 14 dias cada. Catorze voluntários usaram dispositivos intra-orais contendo blocos dentais restaurados com compósito resinoso (CR) ou ionômero modificado por resina (GI). Restaurações foram feitas sem infiltração (L-), seguindo os procedimentos adesivos recomendados, ou com infiltração (L+), na ausência de procedimentos adesivos. O biofilme formado sobre os blocos restaurados, que eram expostos a solução de 20% de sacarose 10 vezes ao dia, foi analisado quanto à composição bioquímica. Os voluntários usaram dentifrícios não-fluoretados e fluoretados 3 vezes ao dia, dependendo da fase experimental. Foram medidas as microdurezas

longitudinais tanto em esmalte e dentina, além da microrradiografia. Nenhuma diferença estatística foi encontrada entre as restaurações com ou sem infiltração ($p > 0,05$). Alta desmineralização tanto em esmalte como em dentina foi observada ao redor de restaurações de compósitos, com o uso do dentifrício não-fluoretado. A concentração de flúor foi mais alta no fluido do biofilme para o grupo com dentifrício fluoretado ou formado sobre restaurações de ionômero. Esses resultados sugeriram que enquanto a microinfiltração não afeta o desenvolvimento de cárie, ionômero de vidro ou dentifrícios fluoretados devem manter os níveis de flúor alto na placa, assim como diminui o progresso da cárie.

Francisconi *et al.*, em 2008, avaliaram, *in vitro*, o efeito erosivo da ciclagem de pH no percentual de perda de dureza (%SMHC) e no desgaste de diferentes materiais restauradores e no esmalte bovino restaurado com esses materiais. Oito amostras de esmalte foram aleatoriamente divididos em oito grupos de acordo com o material e o meio de imersão: GI/GV – ionômero modificado por resina; GI/GVI – ionômero de vidro convencional; GIII/GVII – compósito resinoso; GIV/GVIII – amálgama. Por um período de sete dias, os grupos de GI a GIV foram imersos em bebidas tipo cola (ERO) por 5 minutos, 3 vezes ao dia e guardados em saliva artificial entre os ciclos de erosão. Grupos GV a GVIII foram imersos em saliva artificial (SAL) por todo o experimento como controle. Para o %SMHC, considerando-se o material restaurador, não houve diferença entre os materiais e os meios de imersão. Houve maior desgaste no ionômero de vidro modificado por partículas resinosas que no convencional, mas não houve diferença para os outros materiais. Quando analisaram o esmalte ao redor das restaurações, houve mais perda de dureza nos blocos submetidos a ciclagem que o controle, contudo, não houve diferença significativa na perda de dureza e no desgaste no esmalte adjacente aos diferentes materiais restauradores nas distâncias de 50, 150 ou 300 μm . Os autores concluíram que havia sutil diferença entre os materiais.

Okida, *et al.*, em 2008, avaliaram *in vitro* a desmineralização ao redor de restaurações. Foram, então, confeccionadas cavidades classe V nas faces linguais e vestibular de cada dente. Os materiais testados foram TPH (grupo 1),

Fuji II LC (grupo 2), Tetric (grupo 3), Dyract (grupo 4), amalgáma GS 80 (grupo 5) e Chelon Fil (grupo 6), que foram aleatoriamente colocados em cada dente. As dimensões aproximadas das 60 cavidades preparadas foram 1,5 mm em profundidade e 1,2 mm em diâmetro. Antes dos materiais serem submetidos a ciclagem, foram armazenados, durante 48h em ambiente úmido para completar as reações de polimerização, cristalização e geleificação. Segmentos de 4 mm de diâmetro de fita adesiva foram colocadas sobre as restaurações. Todos os dentes foram, então, cobertos com verniz ácido-resistente e as fitas adesivas foram retiradas, tão logo os vernizes secaram. Cada grupo foi imerso em 100 ml de solução desmineralizadora (20 mmol/L Ca; 20 mmol/L P em 75mmol/L de acetato tamponado no pH de 4,3) por 4h. Depois eram imersos em 20 ml de solução remineralizadora (1,5 mmol/L Ca; 0,9 mmol/L P e 0,1 tamponado no pH de 7) por 20h. Os materiais foram submetidos a 28 ciclos. Durante a ciclagem *in vitro* com soluções DES/RE, os grupos também sofreram termociclagem por 100 ciclos, o qual cada ciclo consistia de 90 segundos a 37°C, 90 segundos a 55°C e mais 90 segundo a 5°C. Depois dos 28 dias, os dentes foram preparados para serem levados ao microscópio de luz polarizada, onde se observou redução de desmineralização significativa no grupo 6, Chelon Fil, enquanto houve redução similar nos grupos 2, 4 e 5.

Em 2008, Rios *et al.*, avaliou, *in situ*, o efeito do desafio erosivo em diferentes materiais restauradores e no esmalte restaurado com esses materiais, bem como a habilidade destes materiais de proteger o esmalte adjacente contra a erosão. Assim, dez voluntários usaram dispositivos palatinos com oito blocos de esmalte bovino, aleatoriamente selecionados e divididos em dois tratamentos (erosão e saliva), com os seguintes grupos: GI/GV, ionômero modificado por resina; GII/GVI, ionômero de vidro convencional; GIII/GVII, compósito resinoso; GIV/GVIII, amálgama. Em um dos tratamentos (correspondendo aos grupos GI-GIV), os blocos foram imersos em bebida tipo cola e no outro (grupos GV-GVIII) foram imersos apenas em saliva. Os dispositivos palatinos foram continuamente usados pelos voluntários por sete dias e apenas a metade do dispositivo foi imerso

em bebida tipo cola por 5 min, três vezes ao dia. O estudo das variáveis compreendeu o desgaste (perfilometro, μm) e a porcentagem de variação da microdureza (%SMHC). Os resultados mostraram que, ao se considerar o material restaurador, para %SMHC e o desgaste, não há diferença estatística entre os materiais e entre o desafio da saliva e da erosão. Para a análise do esmalte, o desafio erosivo produziu alto desgaste e variação de microdureza que o produzido pela saliva. Não houve diferença significativa no desgaste e %SMHC do esmalte adjacente aos diferentes materiais restauradores.

Em 2009, Sousa *et al.*, realizaram um estudo com o objetivo de avaliar o efeito de diferentes materiais na composição microbiológica do biofilme dental e na desmineralização do esmalte adjacente à restauração. Para isso, realizaram um estudo *in situ* duplo-cego, randomizado em boca dividida em uma fase de 14 dias com 20 voluntários, utilizando um dispositivo palatino com cinco blocos de esmalte dentais restaurados com um dos materiais pesquisados (compósito resinoso Filtek z-250/Single Bond como grupo controle, amalgâma Permite, ionômero de vidro modificado por resina em capsúla Fuji II, cimento ionomérico modificado por resina Vitremer e ionômero convencional Ketac Molar). Os voluntários usaram dentifrícios fluoretados 3 vezes ao dia, gotejaram solução de sacarose a 20% nos blocos por 8 vezes ao dia. Ao fim dos 14 dias, o biofilme formado foi coletado e analisado, contando-se os estreptococos totais, os *Streptococcus mutans* e lactobacilos, não observando-se diferenças estatísticas na microbiota cariogênica encontrada nos blocos. A desmineralização do esmalte foi determinada através da microdureza interna nas distâncias de 20 e 70 μm da margem da restauração, nas profundidades de 10 a 180 μm , considerando-se as medidas a partir de 100 μm semelhantes ao do esmalte hígido. Na distância de 20 μm , somente Fuji II foi estatisticamente diferentes dos outros grupos e na de 70 μm , Fuji II inibiu significativamente a desmineralização, comparando-se com Permite, Filtek Z-250 e Ketac Molar. Com esse experimento, os autores puderam concluir que o cimento ionomérico encapsulado oferece melhor proteção contra a cárie recorrente.

Em 2009, Carvalho *et al.*, avaliou a formação da zona de inibição e a distribuição mineral na interface de sistemas adesivos com flúor ou antibacteriano (brometo de metacrilóiloxidodecílpiridínio), frente ao desafio químico ou cárie artificial biológica. Para isso, quarenta e oito terceiros molares foram utilizados, que foram distribuídos em dois grupos, de acordo com o sistema adesivo. Foi desenvolvido então, cárie artificial com *S. mutans* na face oclusal da dentina em uma área 4mm X 4mm. A cárie de dentina foi removido e as cavidades foram restauradas com Adper Scotchbond Multi-Purpose (SBM) e o Clearfil Protect Bond (CPB). Em seguida, as amostras foram submetidas à cárie secundária pelo desafio química (C) (gel ácido) ou biológico (B) (cultura de *S. mutans*) por 5 dias. Quatro grupos foram testados, cada um com n=12: (1) SC (SBM + C); (2) SB (SBM + B); (3) CC (CPB + C); (4) CB (CPB + B). A formação da zona de inibição e a lesão externa foram analisadas pela microscopia laser confocal. A distribuição de cálcio (Ca) e fósforo (P) na interface foram analisadas pelo espectrofotômetro fluorescência de micro raio-X por energia dispersiva (μ EDX). A frequência de formação da zona de inibição e o valor médio da espessura da zona de inibição diferiu entre os grupos. O grupo CC apresentou a menor profundidade de lesões externas. A análise μ EDX mostrou que CBP teve uma alta perda mineral pelo método biológico, mas menor perda mineral pelo método químico. Os grupos SC e SB mostraram valores intermediários de perda mineral. Os autores concluíram que a perda mineral na interface dentina/restauração foi afetada pelo método de cárie artificial e a formação da camada híbrida pelo adesivo usado. O sistema adesivo contendo flúor e antibacteriano não preveniram a formação de cárie secundária.

Em 2009, Ribeiro, *et al.*, estudaram *in vitro* a microdureza do esmalte para avaliar a sua desmineralização pela indução de lesões artificiais de cárie adjacentes a materiais restauradores. Foram utilizados dois cimentos de ionômero de vidro convencionais (MAXXION R e VIDRION R), um cimento de ionômero de vidro modificado por resina (VITREMER) e uma resina composta sem flúor (Z-250). Cavidades padronizadas foram confeccionadas em 160 blocos de esmalte bovino, divididos aleatoriamente em 4 grupos experimentais (n=40) de acordo com

o material utilizado. Após ser realizado o ensaio de microdureza inicial, os blocos de esmalte foram restaurados e submetidos à ciclagem térmica e de pH, simulando o desafio cariogênico. Os blocos foram então submetidos a novos ensaios de microdureza. A partir dos dados obtidos, foi calculada a perda de dureza superficial (PDS) do esmalte, a qual foi comparada através da análise de variância e teste de Tuckey ($\alpha=0,05$). A ordem decrescente de perda de dureza superficial do esmalte adjacente foi: Z-250 = VITREMER > VIDRION R > MAXXION R. Com isso, os autores concluíram que a desmineralização foi menor no esmalte adjacente aos cimentos de ionômero de vidro convencionais do que no esmalte adjacente aos materiais resinosos.

2.3. Rugosidade e Degradação de Superfície

Em 1997, Bollen *et al.*, realizaram uma revisão que avaliou a rugosidade superficial de muitos materiais “duros” na boca, bem como as mudanças na rugosidade de superfície como consequência de diferentes modalidades de tratamento. Para isso, foram selecionados artigos através do Medline. Os critérios de inclusão foram: 1) valores de rugosidade limite já estabelecidos e suas mudanças na rugosidade devido a diferentes técnicas de manipulação; 2) condições de superfície padronizadas que poderiam ser comparadas com a superfície tratada. Observaram, então, que alguns estudos in vivo sugerem um limiar de rugosidade superficial para a retenção bacteriana de $R = 0.2\mu\text{m}$, abaixo do qual, nenhuma redução no acúmulo bacteriano poderia ser esperado. Um aumento na rugosidade de superfície acima do limiar, entretanto, resultou em acréscimo no acúmulo de biofilme, bem como o risco à cárie e inflamação periodontal. A rugosidade inicial de diferentes materiais (por exemplo, dentes, pilares, ouro, amalgâma, resina acrílica, compósito resinoso, ionômero de vidro ou compômero e cerâmicas) e o efeito de diferentes modalidades de tratamento (polimento, raspagem, escovação, condensação, glazeamento ou acabamento) na rugosidade inicial foram analisados e comparados com o limiar de $0,2 \mu\text{m}$. Os

efeitos microbiológicos dessas modalidades de tratamento, se relatados, também são estudados *in vivo*. A revisão permitiu mostrar que a variação na rugosidade superficial de diferentes superfícies duras orais é bem grande e que o impacto de tratamentos dentais na rugosidade superficial é material-dependente. Algumas técnicas clínicas resultam em uma superfície muito lisa (compressão dos compósitos contra as matrizes), enquanto outros a superfície fica mais rugosa (aplicação de instrumentos manuais no ouro). No caso do ionômero de vidro, observou-se que se ele fosse comprimido contra uma lâmina de vidro durante a presa, conseguir-se-ia superfícies mais lisas, comparando-se com técnicas como polimento e glazeamento. Estes achados indicam que cada material dental precisa de sua própria modalidade de tratamento a fim de obter e manter a superfície mais lisa possível.

Em 2001, Carlén *et al.*, compararam a rugosidade e composição química do ionômero de vidro (Ketac Fil) e compósitos resinosos (TPH SpectrumTM) antes e depois do polimento, além da adsorção de proteínas salivares e aderência bacteriana nas superfícies desses materiais. Os teste foram realizados com cilindros (10 X 1,5mm) de cada material. Os grupos de materiais polidos e não-polidos foram levados a um TopScan 3D que registrou os parâmetros S_a , S_{cx} e S_{dr} , onde S_a oferece uma descrição tridimensional da altura, correspondendo ao parâmetro bem conhecido em duas dimensões R. O S_{cx} corresponde ao parâmetro S, o que registra em três dimensões o espaço horizontal médio entre as irregularidades da superfície. Já S_{dr} é uma proporção entre o aumento da superfície média e a área total. Para o estudo da composição da superfície, os pesquisadores utilizaram o ESCA em áreas aleatoriamente escolhidas, um espectrofotômetro foi utilizado para registrar presença de C, O, N, Si, Al, Ba, P, F, Ca, Cl e Na. Além disso, foi medido a energia livre de superfície. As proteínas salivares foram avaliadas através de imunoblotagem com anticorpos específicos. Observaram que cimentos ionoméricos não-polidos possuem maior rugosidade, além de conter maior quantidade de matéria inorgânica acumulando mais proteínas e permitindo melhor adesão das bactérias. Contudo, o polimento teve

pronunciado efeito sobre a superfície do compósito, dando a ele maior rugosidade e mais características inorgânicas, o que facilitou a adesão bacteriana.

Turssi, *et al.*, em 2002 investigou o efeito de diferentes meios de armazenamento na superfície de materiais restauradores resinosos, incluindo a ciclagem em pH. Os materiais testados foi um ionômero de vidro modificado por resina (Fuji II LC), um compósito resinoso modificado por poliácidos (Dyract AP), um compósito resinoso microparticulado (Durafill VS) e outro híbrido (Filtek Z250). Para cada material, 45 espécimes cilíndricos padronizados foram confeccionados. Depois de 24h, as amostras foram acabadas polidas e a rugosidade inicial foi medida. Quinze amostras de cada material foram, então, armazenadas a $37 \pm 1^\circ\text{C}$, por 24h, tanto em água destilada, saliva artificial ou submetido a ciclagem de pH. Saliva artificial consistia em 1,5 mM de cálcio, 0,9mM de fosfato em uma solução tamponada de 0,1 mM de Tris (hidroximetil-aminometano) no pH de 7,0. A solução ácida continha 2,0mM de cálcio e 2,0 mM de fosfato em solução tamponada de 74mM de acetato a pH de 4,3. No fim de dez dias de armazenamento, as leituras finais da rugosidade superficial foram obtidas. Os resultados mostraram que a rugosidade superficial dos materiais resinosos submetidos a ciclagem de pH foi significativamente maior comparando-se com a água destilada e a saliva artificial. Nenhuma diferença estatisticamente significativa foi observada na rugosidade superficial entre os espécimes armazenados em água destilada e saliva artificial.

Em 2007, Bagheri, *et al.*, pesquisaram o quanto o ácido láctico degrada a subsuperfície de compósitos dentais. Para isso, observaram a penetração de solução de AgNO_3 . As amostras foram confeccionadas com 4 compósitos resinosos: Point 4 (Kerr), Premisse (Kerr), Filtek Supreme (3M/ESPE), Ceram X (Dentsply) e mais duas resinas modificadas por poliácidos; Dyract (Dentsply) e F2000 (3M/ESPE). Os espécimes foram imersos em água destilada por uma semana, transferidos para uma solução aquosa a temperatura média de 60°C por 2 semanas; água destilada, 0,01 mol/L de ácido láctico ou 0,1 N de NaOH, lavados e imersos em solução aquosa de nitrato de prata 50% em peso por dez dias a 60°C , lavados por 5 minutos em água corrente e colocados na solução reveladora

sob luz fluorescente por 8 horas. As amostras foram lavadas em água corrente por 3 minutos, depois incluídos em resina epóxica e depois de 24h, seccionados horizontalmente em 3 fatias, polidos, coberto com carbono e examinados por microscópio eletrônico de varredura, onde a profundidade de penetração da prata na área degradada foi mensurada. A análise da energia de raio X foi usada para confirmar a presença de prata. Nesse estudo, os pesquisadores observaram que o NaOH produziu maior degradação que o ácido láctico. O Premisse mostrou maior profundidade de penetração da prata quando submetido a NaOH, a Filtek Supreme apresentou a superfície “descascada”, além de fendas, considerando-se que F2000 e Point 4 mostraram a menor efeito sob a solução de NaOH e ácido láctico.

Os monômeros polimerizados e os não-polimerizados foram relacionados à aceleração do crescimento bacteriano. Nas restaurações resinosas, in vivo, há maior acúmulo de placa que em outros materiais restauradores. Assim, Beyth *et al.*, em 2008, investigaram a interação entre a degradação dos compósitos resinosos e o crescimento bacteriano. Os materiais testados foram Z250, Tetric Ceram e Heliomar Foram produzidos discos de compósitos resinosos, polimerizados entre duas lâminas de vidros, formando 45 discos, cada grupo com 15 discos. *Streptococcus mutans* foram inoculados nos discos e incubados por um dia, uma semana e um mês. Os discos foram analisados no microscópio de força atômica. Os espécimes com um mês de armazenagem foram avaliados quanto à mudanças na microdureza e no crescimento bacteriano. O microscópio de força atômica revelou que há um aumento na rugosidade de superfície dos compósitos. Os *S. mutans* tiveram seu crescimento acelerado em contato com os compósitos envelhecidos, não havendo nenhuma alteração significativa na micro-dureza. Os resultados mostraram que o crescimento de *S. mutans* na superfície dos compósitos resinosos aumenta a rugosidade de superfície, sem afetar a micro-dureza. A mudança na integridade da superfície deve acelerar o acúmulo de biofilme.

Em 2008, Fúcio *et al.*, avaliaram os efeitos do biofilme com *Streptococcus mutans* na superfície dos materiais restauradores, quanto à rugosidade, dureza e morfologia. Os materiais testados foram Empress 2 (E2), Filtek Supreme (FS), Vitremer (V) e Ketac Molar Easymix (KM). Foram feitos vinte e cinco discos de cada material e divididos em 3 grupos com diferentes meios de armazenagem: (1) 100% de umidade (n=5); (2) meio com BHI e 1% de sacarose (n=5); (3) meio com *S. mutans* (n=15). Antes da armazenagem, medidas de dureza foram obtidas para o grupo 1. Depois de 30 dias, as amostras foram limpas para se obter os valores de rugosidade e dureza, além da análise morfológica pelo microscópio eletrônico de varredura. Os resultados mostraram que os valores de dureza e rugosidade das amostras de E2 e FS não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre os grupos 1, 2 e 3 e entre as medições feitas imediatamente e após 30 dias. Entretanto, o grupo 3 das amostras de V e KM mostraram maiores valores de rugosidade estatisticamente significativas que os outros grupos. Amostras do grupo 1 de V e KM também mostraram valores de dureza mais altos que os medidos imediatamente. O grupo 3 de espécimes de V apresentaram valores de dureza menores em comparação com os outros grupos. A microscopia eletrônica de varredura mostrou um aumento na degradação da superfície do grupo 1 ao 3 para FS, V e KM. Com esse resultados, os autores puderam concluir que o período de 30 dias promove efeitos negativos na morfologia da superfície dos materiais V, FS e KM, na rugosidade de V e KM e na dureza de V.

Em 2008, Markovic *et al.*, estudaram o conteúdo de flúor e a habilidade de recarga de cinco cimentos ionoméricos depois da imersão em NaF em diferentes meios de armazenagem e pH, além de avaliar as mudanças morfológicas na superfície do material através do microscópio eletrônico de varredura (MEV) e técnica de espectroscopia dispersiva (EDS). Para isso, cinco materiais ionoméricos foram selecionados: Fuji Triage (FT), Fuji II LC (FII), Fuji VIII (FVIII), Fuji IX GP (FIX) e Ketac N100 (KN). Um material resinoso liberador de flúor (Helioseal – HSF) foi utilizado para comparação. Foram confeccionados 120 discos de cimentos (n=20 para cada material testado, com medidas de 10 X 1,5mm). Cinco

discos de cada material foram armazenados em 4 diferentes meios de estocagem (I- solução salina, II- solução ácida pH=2,5, III- solução ácida pH=5,5, IV- solução de NaF com concentração de 500/106). Depois de 7 dias, dois discos de cada material foram transferidos do meio I, II, III para uma solução de NaF por 3 min. Análises de EDS foram realizadas em 3 pontos aleatoriamente selecionados de cada amostra. O MEV foi usado para determinar as características morfológicas da superfície do material. Diferenças entre os grupos experimentais foram analisadas pelo teste-t de Students como o nível de significância de $p < 0,001$. Os autores observaram que o FT mostrou o maior conteúdo de flúor na superfície do material. A menor quantidade de flúor foi detectada nas superfícies do disco FT armazenados em baixo pH. Os cimentos ionoméricos mostraram maior concentração de flúor, comparando-se ao HSF. Depois da imersão em solução de NaF, concentrações de flúor na superfície dos discos aumentou quando comparado com o meio de armazenagem (FT>FVIII>KN>FII>FIX). As análises da morfologia da superfície revelou inúmeros espaços vazios, fendas e microporosidades em todos os grupos experimentais, exceto para o KN e HSF. A estrutura mais homogênea do material com fendas mais discretas foi observado nas amostras armazenadas em pH neutro, comparando-se com os discos em solução ácida. Isso permitiu aos autores concluir, que os materiais testados poderiam ser considerados como promissores com características de potencial profilático devido ao alto conteúdo de flúor, além de sua capacidade de reabsorção de fluoretos no meio, especialmente em ambientes ácidos.

Levando em consideração que a produção de ácido láctico pelas bactérias cariogênicas leva a desmineralização do substrato dental, e que o flúor, tem importante papel na minimização desse efeito deletério, em 2009, Wang, *et al.*, avaliaram a interação dos cimentos ionômeros usados no tratamento restaurador atraumático com soluções aquosas de ácido láctico, testando a hipótese nula de que não ocorreria nenhuma mudança no pH da solução ou na rugosidade superficial e na massa do ionômero de vidro quando exposto à solução de aquosa de ácido láctico por um período de 6 semanas. Para isso, os materiais utilizados

foram o Ketac Molar, Fuji IX, Vitro Molar e Magic Glass, além da Filtek Z250 e a Ketac Fil Plus como controles. Seis espécimes de cada material foram feitos de acordo com as instruções do fabricante. O pH da solução, a rugosidade e a mudança de massa dos espécimes foram determinados por 6 semanas. Cada espécime foi individualmente armazenado em 2ml de 0,02M de solução de ácido láctico, que era trocada semanalmente. O pH da solução e a massa de cada amostra foram monitoradas semanalmente, a rugosidade de superfície foi avaliada antes e depois das seis semanas de desafio ácido. Os dados do pH e massa foram analisados estatisticamente usando o ANOVA um critério e o teste de Tuckey para cada material. Os testes pareados foram usados para análise da rugosidade. Teste de Tuckey foi aplicado para verificar as rugosidades finais entre os materiais. O nível de significância foi de 5%. Os resultados encontrados fizeram os autores rejeitarem a hipótese nula parcialmente. Todos materiais estava aptos a aumentar o pH da solução de ácido láctico e apresentaram rugosidade depois da imersão aumentada, enquanto a perda de massa foi mínima e no geral, estatisticamente insignificante. Os achados permitiram concluir que é possível prever o desempenho dos materiais estudados sob condições clínicas. Um ação protetora contra o processo cariioso poderia reduzir os danos superficiais.

3. PROPOSIÇÃO

O objetivo no presente estudo foi avaliar, através de modelo *in vitro* o desempenho de materiais restauradores com ou sem flúor em relação à sua rugosidade superficial e o seu potencial anticariogênico. A hipótese testada foi que a estrutura dental adjacente aos cimentos ionoméricos sofreria menor desmineralização em desafio cariogênico. Os objetivos específicos investigados foram:

- Avaliar a rugosidade superficial de diferentes materiais restauradores;
- Verificar a influência da liberação de flúor na microdureza e volume mineral do esmalte adjacente à restauração;
- Quantificar íons Cálcio e Fósforo no esmalte adjacente às restaurações.

4. MATERIAIS E MÉTODO

4.1. Preparação dos espécimes dentais

Foram utilizados 40 dentes bovinos armazenados em solução de timol a 0,1%, íntegros, com pelo menos dois terços de raiz formada. Dentes bovinos com fraturas, trincas ou hipoplasia no esmalte foram excluídos através de exame visual com auxílio de lupa. Os dentes foram limpos com curetas periodontais e realizada profilaxia com pasta de pedra-pomes, com auxílio de escova de Robinson para total remoção dos debris. Para a confecção dos blocos dentais, foi utilizada a cortadeira elétrica Isomet (Isomet 1000 – Buehler Ltda., Lake Bluff, IL, USA), aparelhada com disco diamantado de alta concentração (Extec, Enfield, CT, USA), previamente ajustados para cortar os blocos de esmalte. As raízes de todos os dentes foram seccionadas através de um corte transversal localizado dois milímetros acima da junção amelo-dentinária e descartada. As coroas foram fixadas em placas de acrílico com a face vestibular voltada para cima com auxílio de cera pegajosa. Este fragmento foi fixado à peça acrílica e cortado no sentido transversal, sob refrigeração, para obtenção de 40 blocos dentais medindo 4 mm x 4 mm x 2 mm, verificando-as as dimensões com um paquímetro digital.

4.2. Confecção dos preparos cavitários e procedimento restaurador

Os fragmentos dentais foram fixados em cera utilidade para facilitar a execução dos preparos cavitários e, então, armazenados na estufa, em ambiente úmido a 37°C ($\pm 2^\circ$), por 24 horas.

Cavidades quadrangulares (2mm x 2mm x 1mm) foram confeccionadas no centro dos fragmentos, utilizando-se pontas diamantadas n°1034 (KG Sorensen, Cotia, SP), em alta rotação, sob refrigeração com *spray* ar/água, tendo as

dimensões da ponta ativa como referência. As pontas diamantadas foram trocadas a cada oito cavidades.

Após a execução dos preparos, os fragmentos foram avaliados em lupa estereoscópica, com aumento de 25 vezes, para a observação de eventuais trincas ou alterações superficiais no esmalte dental.

Os blocos dentais foram esterilizados com radiação gama na dose de 14,5 Kgy por 33 horas e 24 minutos, numa taxa de 0,434 nas datas do dia 13 a 15/08/2010.

Os blocos foram distribuídos nos seguintes grupos de acordo com os materiais restauradores (Quadro 1):

Quadro 1: Materiais restauradores estudados e seus respectivos grupos (n=10)

MATERIAL RESTAURADOR	GRUPO
Compósito Resinoso Micro-híbrido Z250 (controle)	Grupo 01
Cimento de ionômero de vidro - Ketac Molar EasyMix	Grupo 02
Cimento de ionômero de vidro nanoparticulado – Ketac N100	Grupo 03
Cimento de ionômero de vidro modificado por resina - Vitremer	Grupo 04

Todos os materiais testados são comercializados pela 3M ESPE (figuras 4.1 a 4.4) e as restaurações foram feitas de acordo com as instruções do fabricante. Os procedimentos restauradores foram feitos na capela de fluxo laminar (Filtracom, Guarulhos, SP) para diminuir a contaminação ou evitar, com os instrumentos e um campo estéreis.



Figura 4.1: Compósito resinoso e adesivo utilizado no estudo



Figura 4.2: Ionômero de vidro modificado por Resina- Vitremer



Figura 4.3: Ionômero de vidro convencional – Ketac Molar



Figura 4.4: Ionômero de vidro com nanopartículas

Na capela de fluxo laminar (Figura 4.5), os blocos dentais foram depositados em uma placa petri descartável e estéril sobre o campo. Cada bloco foi coletado e manipulado com uma pinça estéril. Um auxiliar colocou ácido fosfórico a 37% (Dentsply, Catanduva, SP) no preparo, sem tocar a ponta da agulha no bloco dental.

Após 30 segundos, o ácido foi retirado com um jato de água provindo de seringa estéril por 15 segundos (± 4 ml), depois a água na cavidade foi removida com bolinhas de algodão estéreis. Em seguida, foi aplicado o sistema adesivo Scotch Bond (3M) e o excesso retirado com bolinha de algodão. O sistema adesivo foi polimerizado pelo aparelho fotopolimerizador Vip Junior (BISCO) por 20 segundos, em seguida, com uma espátula estéril, um incremento de cerca de um milímetro de Z250 foi colocado na cavidade, adaptada ao preparo e uma lâmina de vidro foi posta sobre a resina, e então fotopolimerizada por 20 segundos. Este procedimento foi feito com todos os blocos (n=10) que seriam restaurados com resina.

Para os corpos-de-prova com ionômero de vidro convencional, o material foi aglutinado com espátula plástica em uma placa de vidro, ambas estéreis. A gota de ácido poliácrilico foi dispensada sobre a placa, próxima ao pó, que foi dividido em 2 e logo em seguida aglutinado por 30 segundos. Então, foi colocado nos preparos de cada bloco em um incremento único, colocado uma lâmina de vidro estéril sobre o material enquanto este geleificava por 5 minutos.



Figura 4.5: Capela de fluxo laminar

O mesmo ocorreu com o ionômero modificado por resina, que foi aglutinado por 40 segundos, inserido na cavidade e depois fotopolimerizado por 40 segundos com a interposição de uma lâmina de vidro.

Para o cimento ionomérico com nanopartículas, comprimentos iguais de cada pasta foi colocados sobre a placa de vidro e manipulados até serem homogeneizados. Em seguida, foi inserido sobre a cavidade e fotopolimerizado por 20 segundos através de uma lâmina de vidro. Após as restaurações, os fragmentos dentais foram armazenados numa estufa, em ambiente úmido, com temperatura de 37°C.

4.3. Preparo dos meios de cultura

Foram utilizada *S. mutans* UA159, pois sua sequência gênica é conhecida. Primeiramente, as cerpas de *S. mutans* cresceram em placas de vidro com ágar mitis salivarius, que foram incubadas a 37°C por 48h em ambiente microaerófilo com 5% de CO₂. Em seguida, as colônias formadas foram inoculadas em 5ml de caldo de brain-heart infusion (BHI) com extrato de levedura e colocado na estufa a 37°C por 18h (Figura 4.6).

A cultura foi ajustada para a densidade óptica de 0.6 a 550nm (aproximadamente $8,0 \times 10^{10}$ CFU/ml). O teste foi feito em placas de 24 poços. Os blocos restaurados foram exposto a 20 µl de suspensão de caldo de BHI com sacarose a 1% para formação de biofilme nas superfícies a serem testadas. Depois de duas horas a temperatura ambiente, as células não-aderidas foram removidas com lavagem por três vezes de solução estéril de 0,9% de NaCl. Esse tempo de exposição foi usada, pois o tempo de formação de biofilme na cavidade oral gira em torno de 2-4h (Marsh e Bradshaw, 1995). Logo em seguida, cada bloco foi colocado em um poço da placa com 2 mL de caldo de BHI com 1% de açúcar. O conjunto foi armazenado por 7 dias a 37°C em atmosfera com 5% de CO₂. O meio foi renovado a cada 48 horas e recolocados nas condições de incubação (Figura 4.7).

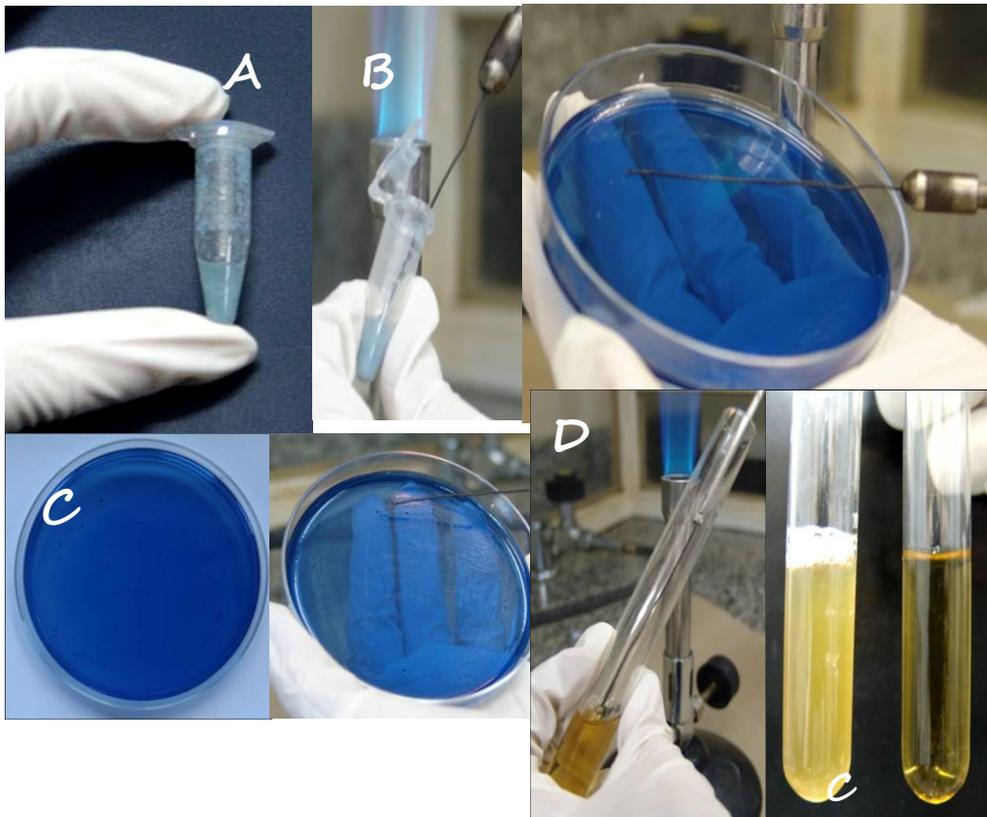


Figura 4.6: Reativação do *S. mutans* e desenvolvimento do biofilme: A. seleção da Cepa de *S. mutans* UA159; B. semeadura de inóculo em placa com MSA; C. coleta de colônias crescidas após incubação a 37°C / 10% CO₂ / 48 horas em estufa de CO₂; D. inoculação em BHI caldo e incubação a 37°C / 10% CO₂ / 18 horas em estufa de CO₂ (Imagens cedidas por Andréia Bolzan)



Figura 4.7: Desenvolvimento do biofilme: A. Inóculo de 20 µL sobre a superfície do material para adesão inicial de células B. Placa de cultura de 24 poços contendo o disco com o biofilme aderido imerso em meio de BHI com 1% sacarose. Troca do meio a cada 48 horas. C. Estufa de CO₂, na qual as amostras foram armazenadas

4.4. Análise da rugosidade de superfície dos materiais restauradores

Quarenta discos dos materiais restauradores testados foram feitos e distribuídos em 4 grupos,. Foi utilizado uma matriz de silicona, com um orifício em seu centro com as dimensões de 5 mm e 2 mm de espessura. Foram confeccionados em condições similares aos corpos-de-prova que foram armazenados com as bactérias. Contudo, não foram utilizados instrumentais estéreis e também não houve polimento, assim como as amostras que foram submetidas ao desafio cariogênico microbiológico. Os materiais foram colocados em um só incremento na matriz, e logo em cima, fotopolimerizados com o Vip Junior (BISCO), com uma placa de vidro não estéril interposta entre a ponta do fotopolimerizador e o material. Para a resina, Z250 um incremento de cerca de um milímetro colocado no orifício, adaptado à matriz e uma lâmina de vidro foi posta sobre a resina, e então fotopolimerizada por 20 segundos. Este procedimento foi feito com todos os blocos (n=10) que seriam restaurados com resina.

Para os corpos-de-prova com ionômero de vidro convencional, o material foi aglutinado com espátula plástica em uma placa de vidro. A gota de ácido poliácrilico foi dispensada sobre a placa, próxima ao pó, que foi dividido em 2 e logo em seguida aglutinado por 30 segundos. Então, foi colocado na matriz em um incremento único, colocado uma lâmina de vidro sobre o material enquanto este geleificava por 5 minutos.

Já o ionômero modificado por partículas resinosas (Vitremer – 3M), foi aglutinado por 40 segundos, inserido na matriz e depois fotopolimerizado por 40 segundos com a interposição de uma lâmina de vidro.

Com o cimento ionomérico com nanopartículas, comprimentos iguais de cada pasta foi colocados sobre a placa de vidro e manipulados até serem homogeneizados. Em seguida, foi inserido na matriz e fotopolimerizado por 20 segundos através de uma lâmina de vidro.

Estes discos foram aleatorizados, afim de comparar com a rugosidade dos matérias submetidos à incubação com *S.mutans*. Após a confecção dos corpos-

de-prova, estes foram armazenados numa estufa, em ambiente úmido, com temperatura de 37°C.

Cada amostra foi levada até o rugosímetro Surfscorder SE 1700 (Japão) – Figura 4.8, onde se foi feita a verificação da rugosidade nas superfícies dos materiais restauradores. A leitura considerada foi a média aritmética entre picos e vales (Ra) percorrido pelo perfilômetro num trecho de medição calibrado previamente, com um percurso de 1,64 mm e 0,08 mm de *cut-off* para ambas as medições (controle e grupo mutans).

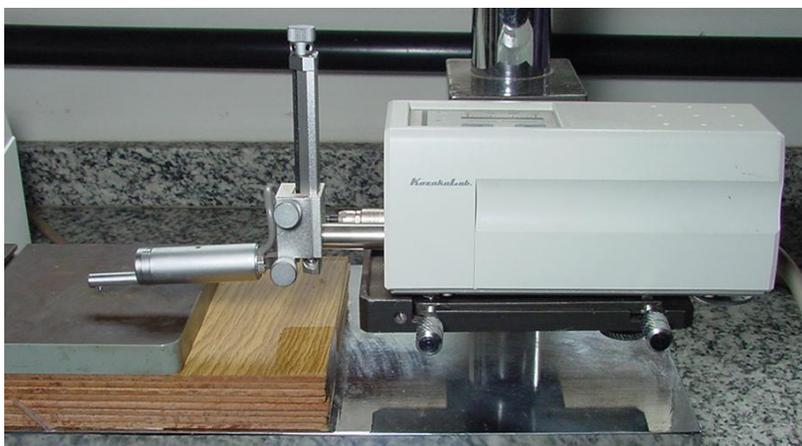


Figura 4.8: Rugosímetro Surfscorder SE1700 (Kosaka Corp, Tokyo, Japan)

Cada leitura foi obtida com a agulha do perfilômetro pelo centro geométrico da amostra em três posições diferentes. Foram realizadas três leituras para cada corpo-de-prova dos diferentes grupos. A primeira foi ao longo do diâmetro da restauração, depois perpendicular à primeira e a terceira oblíqua a primeira. A rugosidade média foi obtida nos corpos-de-prova do grupo controle e correlacionada com a obtida nas amostras submetidas ao desafio cariogênica microbiológico.

4.5. Análise da microdureza interna

Após a verificação da rugosidade dos blocos dentais, estes foram levados ao aparelho microdurômetro Future-Tech (Figura 4.9), afim de avaliar as alterações através de microdureza interna, na região do esmalte adjacente a margem da restauração, ao fim dos 7 dias de incubação *in vitro*, a 37°C em atmosfera com 5% de CO₂.

Todos os blocos foram seccionados por corte longitudinal central com discos diamantados dupla face, acoplado a uma cortadeira elétrica. Em seguida, os blocos colocados em resina acrílica. Os espécimes foram fixados em uma placa de acrílico com cera pegajosa e cortados longitudinalmente no centro das amostra com a ISOMET (Bulher Ltda) sobre refrigeração com água deionizada. Após a secção dos blocos de esmalte, uma das metades foi incluída em uma máquina embutidora em 5 g de resina acrílica sob pressão de 150 kgf/cm². Em seguida, a superfície do esmalte foi polida de acordo com a seqüência: lixas de granulação 320, 600, 800 e 1200 respectivamente, com 2 pesos, tempo de 1 a 4 minutos sob baixa rotação e refrigeração. Na seqüência, o esmalte foi polido com papel feltro e suspensão de diamante de 1 µm durante 1 minuto. A seguir, os blocos foram lavados com jato de água deionizada e submetidos ao ultra-som, durante 2 minutos, imersos em solução de limpeza (Extex Lubricant & Extender Remover QT, CT, USA) diluída na proporção 20:1 em água destilada. Os corpos de prova foram, então, levados ao microdurômetro para a realização das indentações (Figura 4.10).



Figura 4.9: Microdurômetro Future-Tech

O aparelho foi calibrado para a carga de 50 gramas, atuando por 5 segundos. Nestas amostras seccionadas, foram realizadas penetrações nos pontos de medição de 50, 100 e 150 μm de distância da margem do material restaurador, em profundidades variando de 10 a 120 μm , com intervalos de 10 μm . Para se obter microdureza média, o valor de dureza Knoop em cada profundidade citada foi obtido, em seguida, os valores de dureza de cada bloco foram comparados. Esses valores foram determinados com o auxílio de um microscópio mensurador acoplado ao aparelho, onde dimensões das penetrações foram medidas. Os valores de microdureza obtidos na profundidade a partir de 100 μm foram os correspondentes ao esmalte hígido (Featherstone, 1983; Rodrigues, 2007; Sousa, 2009). Os valores obtidos do teste, foram convertidos em conteúdo mineral (%volume mineral), segundo a fórmula de Featherstone (1983): $4,3 \times \text{KHN}^{1/2} + 11,3$.

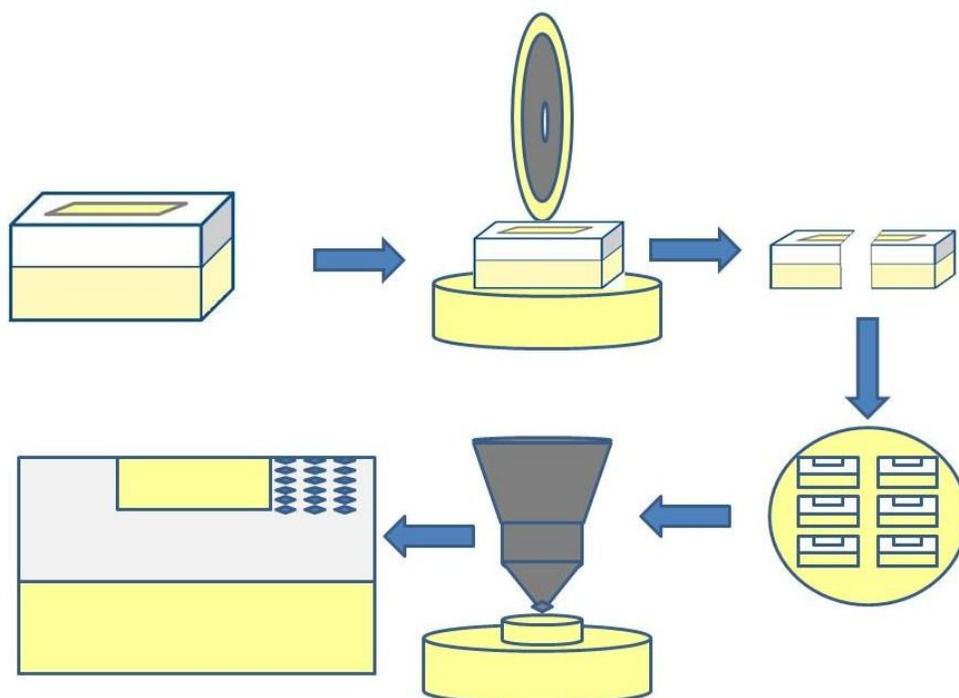


Figura 4.10: Esquema gráfico da microdureza em corte longitudinal

4.6. Espectroscopia Por Energia Dispersiva

O sistema de microanálise Vantage, fabricado pela NORAN Instruments (Middleton, WI. USA), operando em associação com o MEV (Figura 4.11), possibilitou a quantificação de Cálcio (Ca) e Fósforo (P), obtida em porcentagem por peso de cada elemento em três áreas diferentes. O tempo de contagem em cada área foi de 100 segundos, com PHA deadtime variando entre 20 e 25%. Estes resultados foram comparados entre si para determinar se existiu diferença no conteúdo mineral de Cálcio e Fósforo do esmalte adjacente a cada material testado.



Figura 4.11: Microscópio Eletrônico de Varredura

A microanálise permite a quantificação dos elementos em um tecido, mesmo em pequena porcentagem (Arnold *et al.*, 2003; Angker *et al.*, 2004; Arnold *et al.*, 2007), o que pode corroborar na investigação da suposta remineralização que ocorre no esmalte adjacente ao ionômero. Esse teste é feito nem um equipamento de espectroscopia de dispersão de energia (sigla em inglês, EDS – Energy Dispersive spectroscopy). O elétron da amostra é arrancado de sua órbita e o elétron orbital imediatamente externo deve preencher a órbita vazia, perdendo energia, que pode ser em forma de fóton de raio-x ou como outro elétron ejetado. Os raios-x podem ser captados por uma sonda próxima à amostra, analisados e convertidos em informações a respeito da composição química do espécime. Como cada elemento emite raios-x característicos, o EDS pode identificar a composição química da amostra. Esse estudo é mais utilizado para análise de lesões de cárie (Goldstein *et al.*, 1991, Kitajima, Leite, 1999; Arnold *et al.*, 2003).

4.7. Análise Estatística

Os dados obtidos com os testes de rugosidade, microdureza interna e foram submetidos aos testes estatísticos ANOVA two way e para Espectroscopia de energia dispersa ANOVA one way e Tukey ($p < 0,05$).

5. RESULTADOS

A Tabela 5.1 mostra os valores médios e desvios padrões das rugosidades dos grupos controle e mutans nos diferentes materiais testados.

Tabela 5.1: Rugosidade média (μm) e desvios padrões dos grupos controle e mutans para os diferentes materiais testados (n=10)

MATERIAL	GRUPO CONTROLE	GRUPO MUTANS
COMPÓSITO RESINOSO (Grupo 01)	0,22 ^{aA} \pm 0,05	0,91 ^{aB} \pm 0,67
IONÔMERO DE VIDRO CONVENCIONAL (Grupo 02)	2,80 ^{bA} \pm 0,96	4,37 ^{bB} \pm 1,26
IONÔMERO DE VIDRO COM NANOPARTÍCULAS (Grupo 03)	0,60 ^{cA} \pm 0,35	1,26 ^{cB} \pm 1,07
IONÔMERO DE VIDRO MODIFICADO POR RESINA (Grupo 04)	0,70 ^{cA} \pm 0,34	1,00 ^{cA} \pm 0,75

Letras minúsculas distintas indicam diferença em cada coluna; letras maiúsculas distintas indicam diferença em linha pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

No grupo controle observa-se menores valores de rugosidade média nos diferentes materiais ao se comparar com o grupo submetido ao desafio cariogênico microbiológico. Os materiais restauradores que possuem partículas resinosas apresentaram menor rugosidade e houve menor degradação de superfície, além de não diferirem estatisticamente entre si. Não houve diferença estatisticamente significativa no ionômero de vidro modificado por resina no grupo controle e mutans.

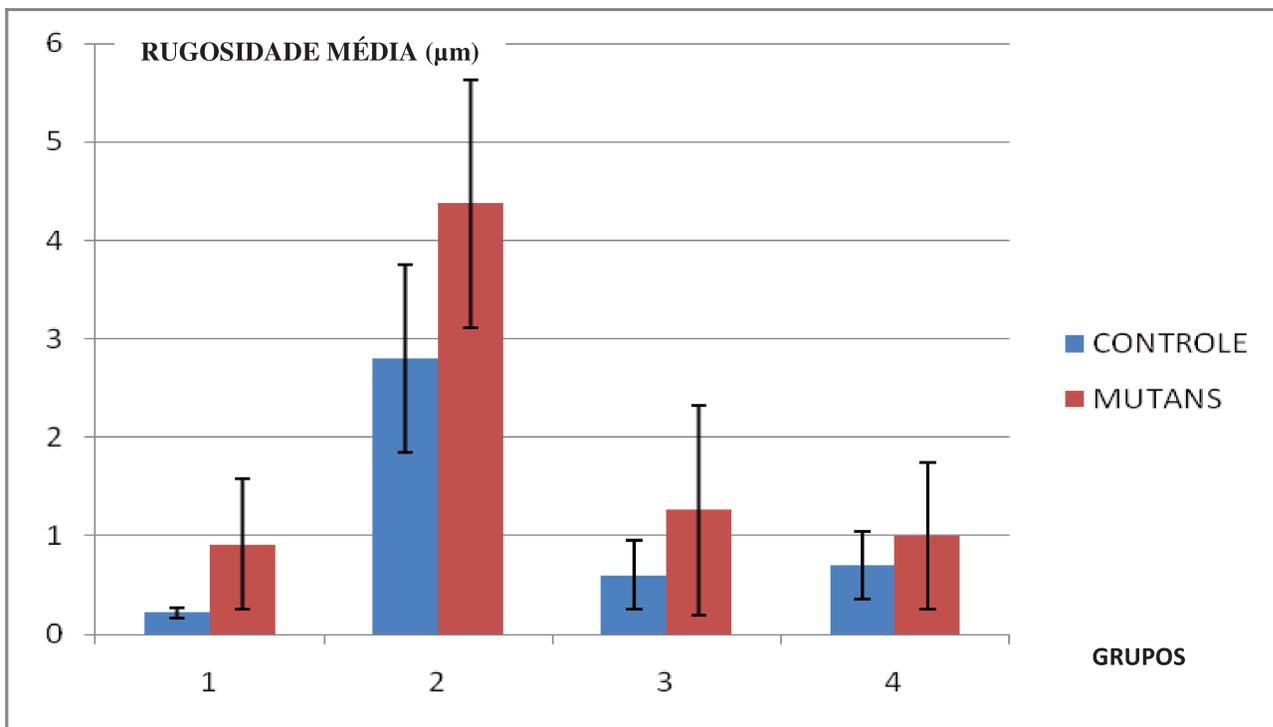


Figura 5.1: Comparação entre as médias e desvios padrões das rugosidades médias do grupos controle e mutans

Os valores de volume mineral médio quanto a profundidade e os diferentes materiais encontram-se discriminados na Tabela 5.2 e Figuras 5.2 e 5.3.

Tabela 5.2: Valores médios de volume mineral e desvios padrões de acordo com os grupos estudados e as profundidades de indentações (n=10)

PROFUNDIDADE (µm)	COMPÓSITO RESINOSO (GRUPO 01)	IONÔMERO DE VIDRO CONVENCIONAL (GRUPO 02)	IONÔMERO DE VIDRO COM NANOPARTÍCULAS (GRUPO 03)	IONÔMERO DE VIDRO MODIFICADO POR RESINA (GRUPO 04)
10	52,80 ^{aA} ±5,39	65,06 ^{aBC} ±5,41	76,00 ^{aB} ±27,06	62,20 ^{aC} ±10,16
20	56,03 ^{aA} ±5,59	64,95 ^{aBC} ±6,83	77,63 ^{aB} ±18,17	64,42 ^{aC} ±9,09
30	59,59 ^{aA} ±4,20	68,74 ^{aBC} ±4,62	77,00 ^{aB} ±17,32	66,20 ^{aC} ±8,041
40	62,20 ^{aA} ±5,05	70,60 ^{aBC} ± 6,24	79,45 ^{aB} ±16,43	68,58 ^{aC} ±8,49
50	64,48 ^{aA} ±5,97	71,99 ^{aBC} ±6,65	76,43 ^{aB} ±7,70	70,91 ^{aC} ±7,79
60	65,87 ^{bA} ±6,47	75,18 ^{bBC} ±7,62	75,95 ^{bB} ± 7,31	73,05 ^{bC} ±8,37
70	69,19 ^{bA} ±7,84	76,25 ^{bBC} ±8,18	77,95 ^{bB} ± 8,38	75,72 ^{bC} ±6,46
80	71,38 ^{bA} ±7,27	77,82 ^{bBC} ±8,51	79,56 ^{bB} ± 15,95	77,04 ^{bC} ±4,55
90	72,68 ^{bA} ±7,04	79,24 ^{bBC} ±7,38	86,86 ^{bB} ± 37,53	78,33 ^{bC} ±6,36
100	77,88 ^{cA} ±7,83	80,52 ^{cBC} ±8,20	89,62 ^{cB} ± 36,25	80,01 ^{cC} ±5,37
110	81,90 ^{cA} ±6,62	80,23 ^{cBC} ±7,13	85,84 ^{cB} ± 30,74	80,27 ^{cC} ±5,59
120	84,48 ^{cA} ± 8,18	82,59 ^{cBC} ±7,11	89,62 ^{cB} ± 36,25	82,60 ^{cC} ±3,76

Letras minúsculas distintas indicam diferença em cada coluna; letras maiúsculas distintas indicam diferença em linha pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

O volume mineral do grupo controle (grupo 01) é estatisticamente diferente dos grupos com cimentos ionoméricos. O grupo controle apresentou menor volume mineral, o grupo 2 e 3 não apresentaram diferença estatisticamente significativa, assim como o grupo 02 e 04. Nas profundidades de indentações não houve diferença até a profundidade 50 µm em todos os grupos. A partir da profundidade 60 µm, o valor mineral aumentou, não apresentando diferença estatística até 90 µm. Em 100 µm, os valores de volume mineral voltam a aumentar sem diferir estatisticamente até a profundidade 120 µm.

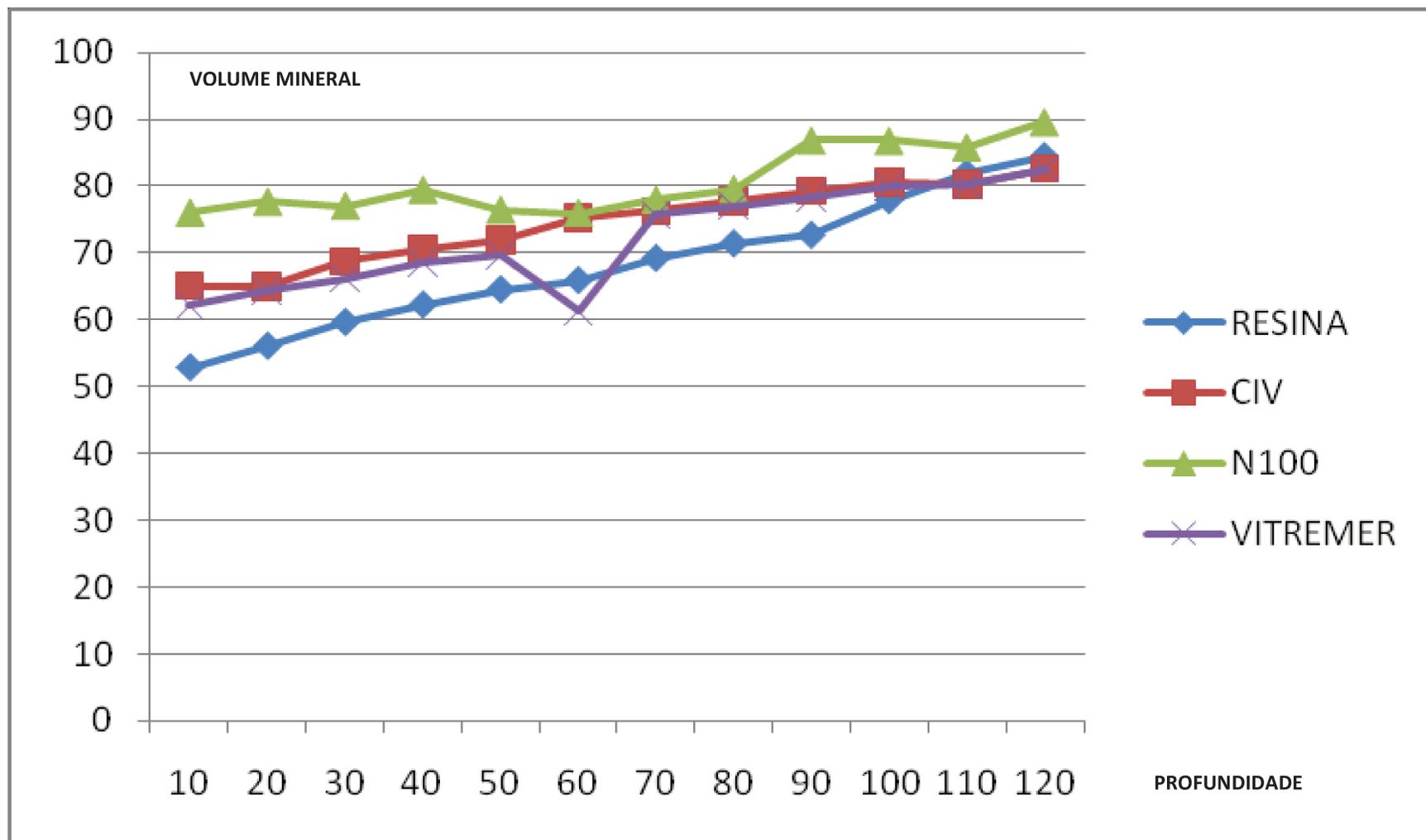


Figura 5.2: Curvas com as médias dos volumes minerais dos materiais estudados em relação a profundidade de indentação

Tabela 5.3: Médias e desvios padrões da percentagem em peso de Cálcio e Fósforo (n=10)

GRUPO	CÁLCIO	FÓSFORO
COMPÓSITO RESINOSO	23,08 ^B ± 1,12	23,85 ^B ± 1,60
IONÔMERO DE VIDRO CONVENCIONAL	36,65 ^A ± 3,77	28,46 ^A ± 1,37
IONÔMERO DE VIDRO COM NANOPARTÍCULAS	33,53 ^A ± 1,86	28,47 ^A ± 0,81
IONÔMERO DE VIDRO MODIFICADO POR RESINA	35,05 ^A ± 3,49	29,00 ^A ± 1,11

Letras maiúsculas distintas indicam diferença em cada coluna pelo teste de Tukey (p<0,05).

O grupo com os compósitos resinosos apresentou menor percentagem de Ca e P. Os grupos com materiais ionoméricos não apresentaram diferenças estatisticamente significantes em relação ao P, já em relação ao Ca, não houve diferença estatística entre os grupos 2 e 3.

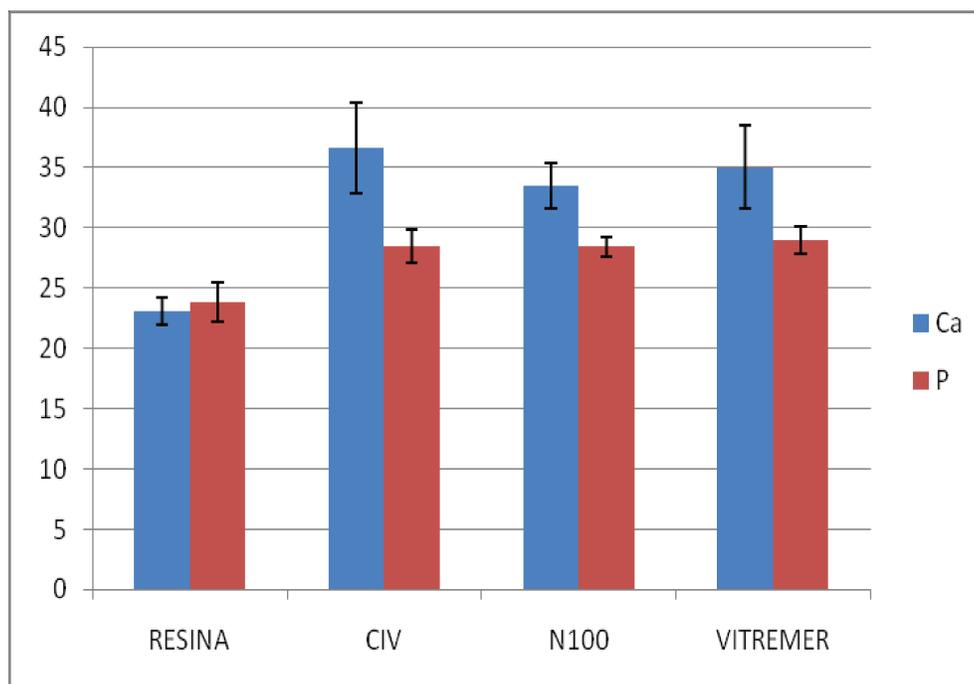


Figura 5.3: Colunas com médias e desvios padrões das médias de Ca e P na interface dos materiais estudados

6. DISCUSSÃO

A hipótese testada de que a estrutura dental adjacente aos cimentos ionoméricos sofreria menor desmineralização frente a um desafio cariogênico foi aceita nesse estudo.

O efeito cariostático de vários materiais restauradores têm sido estudado com modelos de cárie *in vitro*, que simulam os desafios da doença cárie e visam desenvolver lesões artificiais comparáveis às que ocorrem *in vivo* (Paradella *et al*, 2009)

Um dos aspectos dos materiais restauradores de grande importância clínica é a lisura superficial, pois uma superfície rugosa e irregular serve de retenção mecânica para pigmentos e microrganismos (Pozzobom, 2005), facilitando o acúmulo de placa, e através da produção de ácidos promover a degradação superficial do material restaurador (Quirenyn & Bollen, 1995; Bollen, 1996; Bollen *et al.*, 1997; Medonça, 2002, Sarac, 2006).

O compósito resinoso apresentou as menores médias de rugosidade, mesmo sem acabamento e polimento (Tabela 5.1 e Figura 5.1). O compósito Z250 é um material microhíbrido que possui os monômeros Bis-GMA, UDMA e Bis-EMA, além de TEG-DMA e partículas de carga que variam de 0,01 a 3,5 μm de zircônia/sílica, que permite ótimo polimento superficial. O grupo submetido ao desafio cariogênico de natureza microbiológica sofreu degradação de superfície, alterando a textura de superfície. Isso resultou em aumento estatisticamente significativo da rugosidade nos grupos 1, 2 e 3, o que não ocorreu com o grupo 4, os corpos-de-prova restaurados com cimento de ionômero de vidro modificado por resina, o que provavelmente se deu, pela soma de sua capacidade de se obter bom polimento superficial, além da atividade bacteriostática do flúor liberado. Os cimentos ionoméricos fotopolimerizáveis, devido ao conteúdo resinoso, oferecem propriedades superficiais aprimoradas, o que diminui a retenção de biofilme e, por

consequente, a ocorrência ou exacerbação de gengivite ou periodontite (Pedrini *et al.*, 2001).

Como não houve polimento, a degradação superficial dos materiais pode ser explicada com base na composição química. Nas amostras restauradas com os materiais ionoméricos, houve dissolução da matriz de polisais (El-Bradrawy & McComb, 1998; Turssi *et al.*, 2002; Rios, *et al.*, 2008). No caso dos ionômeros que possuem partículas resinosas como o modificado por resina e o de nanopartículas, houve também um ataque dos ácidos bacterianos aos monômeros presentes, que pode ter causado a lixiviação dos monômeros residuais (Lee *et al.*, 1998). No compósito resinoso, a ação deletéria dos ácidos degradou a matriz resinosa, expondo as partículas de carga inorgânica. Os ácidos bacterianos ao entrarem em contato com os polímeros dos compósitos, substituem as ligações covalentes (C=C) e diminuem a interação entre ela, aumentando a rugosidade e diminuindo a dureza do material (Souza *et al.*, 2005)

A formação da cárie recorrente, que se dá, em volta das restaurações dentárias é uma das principais razões para a substituição do material restaurador (Dionysopoulos *et al.*, 1994 ; Okida *et al.*, 2008; Cenci *et al.*, 2008; Mjör, 2005) Para a prevenção da cárie recorrente seria necessário a conservação da integridade marginal, boa adesão, material restaurador com propriedades físicas adequadas, além de boa higiene bucal e dieta não-cariogênica.

Muitos trabalhos sugerem que a liberação de flúor pode prevenir a formação de lesões de cárie na margem das restaurações. Os cimentos ionoméricos são apontados como materiais que podem prevenir a ocorrência de cárie recorrente, por liberar flúor, além de serem capazes de recarregar o seu reservatório de fluoretos (Dionysopoulos *et al.*, 1994 , Pereira, 1996; Gama-Teixeira *et al.*, 2007; Ribeiro *et al.*, 2008; Yaman *et al.*, 2004)

A mudança na dureza da estrutura dentária pode indicar o grau e a extensão da lesão cariiosa. Há menor redução da dureza do esmalte adjacente aos cimentos ionoméricos (Hotta *et al.*, 2001). A habilidade dos materiais restauradores ionoméricos em reduzir a desmineralização na interface

esmalte/restauração é de grande importância na prevenção da cárie recorrente. Nos grupos restaurados com diferentes tipos de ionômero de vidro pode-se observar menor redução na dureza da interface, se comparada com a do grupo restaurado com compósito resinoso (Tabela 5.2 e Figuras 5.2). Observa-se que nas faixas de 10 a 50 μm e de 60 a 90 μm , os compósitos resinosos possuem menor volume mineral, que os grupos com cimentos ionoméricos. Contudo, nas profundidade de 90 a 120 μm , as amostras já possuem microdureza semelhante aos de dente hígido (Rodrigues, 2007; Sousa, 2009).

Vários estudos atestaram a capacidade dos cimentos de ionômero de vidro de serem cariostáticos, além de relatar maior inibição de cárie pelos ionômeros convencionais em comparação com os materiais híbridos e/ou resinosos, pois eles são capazes de liberar e captar mais fluoretos. Nos cimentos de ionômero de vidro convencionais essa habilidade é justificada pela maior degradação devido à sua alta solubilidade, liberando mais íons flúor em condições de desafio cariogênico (Ribeiro *et al.*, 2008). Uma pequena concentração de flúor (aproximadamente 0,03 – 0,08 ppm) em soluções remineralizadoras é necessária para deslocar o equilíbrio de desmineralização para remineralização. A concentração média de flúor liberada por uma amostra de 1,5 mm de espessura e 6 mm de diâmetro de uma cimento de ionômero de vidro modificado por resina, em água deionizada, nas primeiras 6 h após a presa é de 22-65 ppm e 3-20 ppm para 18-24h. As taxas de liberação caem de 8-15 ppm (média) no primeiro dia para 1-2 ppm dentro da primeira semana (Creanor *et al.*, 1994; Yap *et al.*, 2002; Attar & Turgut *et al.*, 2003) e continua a liberar mais íons flúor a partir da recarga que sofre.

Os ionômeros de vidro convencionais, nas primeiras 4h após a aglutinação liberam cerca de 1,6-1,8 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ (Karantakis *et al.*, 2000). Uma amostra de 1,5x6 mm libera em média de 1-15 ppm nas primeiras 24h e num período de 24-48h, a concentração chega de 5 a 115ppm (Hörsted-Bindslev & Larsen, 1990; Creanor *et al.*, 1994; de Araujo *et al.*, 1996; Bell *et al.*, 1999; Attar & Turgut, 2003).

A adição de monômeros ao cimento de ionômero de vidro modificado por resina (Vitremer) resulta em menor liberação de flúor, em consequência de uma menor reação ácido-base e uma movimentação iônica diminuída no interior do cimento devido à reação de polimerização. A adição de monômeros resinosos aos cimentos ionoméricos aumentaram a tenacidade e contração do material, mas diminuíram a fragilidade e solubidade deles, contudo, houve diminuição da liberação de flúor. Isso ocorre porque a difusão de H^+ e F^- pelas trocas na matriz do cimento são limitadas pela presença da matriz resinosa (Gladys *et al.*, 1997). Isto deve explicar o menor volume mineral encontrado no grupo 4 com ionômero de vidro modificado por resina. Entretanto, efeitos cariostáticos similares entre cimentos de ionômero de vidro convencionais e modificados por resina também têm sido observados. Da mesma forma, esses estudos afirmaram que os materiais ionoméricos em geral (convencionais e resinosos) possuem maior capacidade de inibição de cárie em relação àqueles que possuem majoritariamente componentes resinosos (Mathis *et al.*, 1989; Gladys *et al.*, 1997; Hotta *et al.*, 2001).

Dados *in vivo* mostram que a cárie incipiente adjacente aos cimentos ionoméricos mostraram hipermineralização (Tem Cate & van Duinen, 1997). Assim, espera-se que a liberação de flúor do ionômero de vidro reduza a cárie recorrente nas suas margens da restauração. A alta e baixa taxa de mineralização do esmalte adjacente aos materiais restauradores foram comparados em termos de microdureza interna e concentração de cálcio, fósforo. Houve aumento da mineralização no esmalte adjacente aos cimentos ionoméricos, o que não ocorreu com o adjacente aos compósitos, já que não houve trocas iônicas entre o material restaurador e o esmalte, como pode ser observado na Tabela 5.2 e Figura 5.2 e 5.3. Nestes, pode-se observar que houve maior diminuição de volume mineral no grupo 1, os demais grupos apresentaram menor perda. Pela diferença de liberação de flúor apresentada em alguns espécimes, pode-se observar diferença entre os grupos restaurados por cimentos ionoméricos. (Markovic *et al.*, 2008). O grupo 4 apresentou diferença estatística

nos valores de redução mineral em relação aos grupos 2 e 3. Sabe-se que, o ionômero de vidro convencional, libera mais íons flúor que o modificado por partículas resinosas. No caso do ionômero de vidro resinoso nanoparticulado (grupo 3), a liberação de íons flúor é maior que o ocorrido no cimento ionômero modificado com partículas resinosas (3M ESPE, Alemanha), mas um terço da observada nos convencionais (Garcia Júnior, 2009). Supõe-se que o tamanho nanométrico das partículas devem dá maior grau de liberdade à difusão de íons, permitindo maior liberação de fluoretos pelo nanoionômero que o modificado por partículas resinosas.

O presente estudo mostrou menor desmineralização do esmalte adjacente aos cimentos ionoméricos, o que seria um benefício para prevenir ou diminuir a cárie recorrente ao redor das restaurações, apesar de não se determinar a concentração adequada para inibi-la. O aumento da dureza e de minerais como cálcio e fósforo se deve à formação da zona de inibição de cárie na interface restauração/esmalte, que pode ser atribuída à liberação de flúor pelos ionômeros de vidros (Donly, 1994; Tam *et al.*, 1997). Isso se deve a difusão do flúor através do esmalte adjacente à interface das restaurações ionoméricas, fazendo com haja menor desenvolvimento de cárie nos corpos-de-prova com ionômero de vidro que aqueles com compósito resinoso.

O íon flúor presente nos cimentos ionoméricos favorece a remineralização do esmalte e forma uma superfície mineral mais resistente a uma eventual subsequente desmineralização. Os grupos 2, 3 e 4 (ionômeros – CIV, N100, Vitremer) apresentaram evidência de zona de inibição de cárie, mais resistentes aos ataques ácidos da bactérias e mais mineralizada que a interface das restaurações resina/esmalte, como atesta os resultados da Espectrografia de energia Dispersiva (EDS), onde se observa maior quantidade de Ca e P, em relação ao grupo controle. Essa zona bem mineralizada de esmalte apresenta maior dureza, como pode ser observado nas distâncias de 50, 100 e 150 µm. De

acordo com Rodrigues (2007) e Sousa (2009), até a distância de 150 μm , não foi possível observar diferença estatística, esta se daria a partir de 300 μm .

A menor dureza observada no grupo 01, dos compósitos resinosos, demonstra que o material não possui capacidade cariostática, apesar de possuir bom polimento (Tabela 5.1 e 5.2). O desenvolvimento de cárie recorrente ao redor dos materiais restauradores se dá, entre outros motivos, pelas propriedades físico-químicas desses materiais (como contração, corrosão, solubilidade, permeabilidade e conteúdo de flúor) e seu desempenho clínico (como selamento, microinfiltração e adesão) (Dionysopoulos, *et al.*, 1994). Uma das formas de se evitar cárie recorrente em volta de compósitos, é seguir adequadamente os passos operatórios, para diminuir a contração de polimerização, que pode resultar em microinfiltração, além de boa higiene (Dionysopoulos, *et al.*, 1994; Cenci *et al.*, 2008). Alguns estudos atestam que os compósitos resinosos liberam substâncias que podem favorecer o crescimento e o depósito de *S. mutans* (Krasse, 1989, Svanberg *et al.*, 1990; Khalichi *et al.* 2004), resultado da degradação da superfície do material.

Alguns autores reportam as propriedades antimicrobianas dos cimentos ionoméricos (Bowden, 1990; Hamilton, 1990; Tatevossian, 1990; Wiegand *et al.*, 2007). O mecanismo pelo qual isso ocorre se deve à interferência do flúor no metabolismo das bactérias e a acidogenicidade da placa, pela inibição da enzima enolase glicolítica e a ATPase próton-extrusão bem como a colonização e competição das bactérias. Além disso, outras enzimas associadas ao metabolismo intracelular ou ao biofilme pode ser afetadas pela presença de íons flúor, tais como fosfatase ácida, pirofosfatase, peroxidase e catalase (Hamilton, 1990; Wiegand *et al.*, 2007). A concentração de flúor, para se obter efeitos antimicrobianos, supera a necessária para reduzir a solubilidade da apatita. Entretanto, alguns autores reportam que mesmo em pequenas concentrações os íons flúor pode reduzir o crescimento bacteriano, formação do biofilme e produção de ácidos (Palenik, *et al.*, 1992; Seppä *et al.*, 1993; 1995; Friedl *et al.*, 1997; Kan *et al.*, 1997; Hayacibara *et al.*, 2003).

A microdureza avaliada por meio de corte longitudinal apresenta resultados onde há uma forte correlação entre os valores de microdureza e percentual de volume mineral, tanto em esmalte hígido como desmineralizado (Featherstone *et al.*, 1983). No entanto, não permite medida direta do conteúdo mineral, como na micro-radiografia, método mais prático e preciso (Arends & Tem Bosch, 1993). Assim, faz-se necessário a conversão da microdureza em valores de porcentagem de volume mineral, preconizado por Featherstone *et al.* (1983). Esses valores expressam melhor o estado do esmalte após o desafio cariogênico que o valor real de microdureza. No teste de microdureza em secção longitudinal, pôde-se observar o quanto a liberação de íon flúor pelo material, no meio e incorporado pelo esmalte, produz maior valor de volume mineral. A liberação de íon flúor de materiais restauradores e as conseqüentes alterações no conteúdo de flúor do esmalte foram avaliadas por Norman *et al.* (1960) que mostrou que nem sempre os materiais que liberaram mais flúor aumentaram a incorporação do mesmo no esmalte e Martins *et al.* (2006), demonstrou que nas camadas mais profundas, a incorporação de flúor ao esmalte parece ser independente da concentração deste no ambiente.

Os materiais que liberam íon flúor têm maior efetividade em áreas mais próximas das margens da restauração (Featherstone, 1992, Serra & Cury, 1992). Comparando os resultados de volume mineral, foi possível perceber que não houve diferenças estatística entre os materiais que liberam flúor para cada ponto de medição, indicando que a remineralização ocorreu de forma similar.

Os valores de dureza são produzidos pela combinação do material inorgânico e matriz orgânica, e podem ser medidos pelo teste de microdureza em secção longitudinal que já é uma técnica estabelecida para o esmalte, promovendo uma avaliação detalhada das condições das lesões, pois analisa a lesão em profundidade (Featherstone, 1992, Serra & Cury, 1992). A realização deste teste fornece dados que contribuem para comprovação da disponibilidade e ação do flúor presente nos materiais. No presente estudo, pôde-se observar diferenças entre os materiais que liberam flúor e um maior ganho mineral nos

grupos 2 e 3, sem mostrar diferença entre os três diferentes pontos de medição a partir da margem da restauração (50, 100 e 150 μm), o que pode ser confirmado em estudo feito por Rodrigues (2007) e Sousa *et al.*, (2009). Contudo, observou-se na Tabela 5.2 e Figura 5.2 maior perda mineral a partir das profundidades de 60 μm da superfície externa do esmalte. As camadas mais superficiais não mostram diferenças estatísticas (10 a 50 μm), porém, demonstram crescimento na dureza, que vai aumentando até atingir valores similares a de um esmalte hígido (Featherstone, 1983), na profundidade 120 μm , que não tem diferença estatística com as de 100 e 110 μm .

Nos resultados do EDS (Tabela 5.3 e Figura 5.3), observa-se que a porcentagem mineral das amostras do grupo 2 e 3 não possuem diferença estatística em relação a quantidade de cálcio. Isto é um dos fatores que explica valores de volumes minerais sem diferença estatística entre esses grupos. Os resultados no presente estudos mostram um conteúdo de Ca maior que o encontrado por Moshonov *et al* (2005), em que há variação de 33.8 (± 2.3) a 35 (± 4.3) em peso. As amostras com ionômero de vidro apresentaram maior conteúdo de Ca que o grupo controle, o que explica maiores valores de volume mineral encontrados nesse grupo. Em relação ao conteúdo de P, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos com cimentos ionoméricos (grupo 2, 3 e 4).

O maior teor de minerais na zona de inibição, corresponde ao conteúdo de cálcio e fósforo, no esmalte adjacente aos cimentos ionoméricos. O flúor presente nesses cimentos, ao difundir-se para o esmalte adjacente, forma um composto relativamente insolúvel, de fluoreto de cálcio, que poderia estar coberto por fosfatos ou proteínas. Estes fluoretos são importantes para potencializar o processo de remineralização e permitir, apenas uma dissolução parcial (tem Cate, 1997; Itthagarum *et al.*,2001).

O flúor provindo dos materiais ionoméricos pode ser incorporado à estrutura dentária adjacente, resultando em uma zona de inibição de cárie ou ácido-

resistente. O maior conteúdo de cálcio e fósforo apresentado nessas regiões é um indicativo da menor taxa de desmineralização ocorrida (Komatsu, 2007).

Evidências da desmineralização são encontradas na interface dente/restauração de todos o grupos, porém observa-se que nos grupos com os cimentos ionoméricos há maior conteúdo de Ca e P, por ter havido uma remineralização causada pelo fluoreto liberado por esses cimentos. A visualização das diferenças de conteúdo feita pelo EDS mostra menor quantidade de Ca e P nas amostras do grupo 1. Nesse grupo, a ausência de flúor não permitiu remineralização dos espécimes, mostrando uma menor percentagem desses minerais, ao se comparar com os grupo 2, 3 e 4. Rodrigues *et al.* (2005) relataram que a resina composta Z250 convencional mostrou alto grau de desmineralização no esmalte adjacente em restaurações de classe V submetidas a um modelo químico de cárie, quando analisados através de exame visual.

Yamazaki *et al.*, (2007) afirmaram que a cinética de desmineralização do esmalte é controlada por reações de superfície. A produção de ácido por *S. mutans* funciona como fator desmineralizante. Sugere-se que as interações específicas com ácido das espécies nos minerais do esmalte podem modificar a taxa de demineralização e a morfologia do esmalte (Margolis *et al.*, 1999). O flúor inibe a desmineralização do esmalte, reforçando a deposição de fluoridroxiapatita que é menos solúvel na superfície do esmalte. Quando a taxa desta deposição ultrapassa a taxa de desmineralização, ocorre como se não houvesse perda do conteúdo mineral do esmalte (Paradella *et al.*, 2009). Além disso, o flúor pode afetar a adesão da bactéria (*S. mutans*, no presente estudo), alterando seu metabolismo e no processo de cárie influenciando no desenvolvimento de cáries recorrentes (Franci *et al.*, 1999; Sá *et al.*, 2004; Wiegand *et al.*, 2007).

O EDS é uma técnica semi-quantitativa que permite analisar o espécime com lesão de cárie e pode ser usado em adição a outros testes como microscopia de luz polarizada, microrradiografia e microdureza para informações adicionais quanto ao conteúdo mineral ou nível de desmineralização da amostra (Paradella *et al.*, 2009).

A menor perda de volume mineral e o maior teor de cálcio e fósforo no esmalte adjacentes aos restauradores ionoméricos permitem inferir que a capacidade de liberar flúor pelo cimento de ionômero de vidro auxilia na redução da desmineralização que ocorre na estrutura dentária devido a queda de pH por causa dos ácidos bacterianos. Os monômeros resinosos, adicionados a alguns cimentos ionoméricos permitiram maior resistência à degradação superficial dos materiais restauradores, além de melhor polimento superficial.

7. CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, pôde-se concluir:

1. Os materiais restauradores com monômeros resinosos permitria uma melhor rugosidade superficial. O compósito resinoso Z250 mostrou menor rugosidade, seguido do ionômero de vidro com nanopartículas e modificado por resina;
2. O esmalte adjacente aos materiais ionoméricos tiveram menor desmineralização;
3. Houve maior quantidade de cálcio e fósforo no esmalte adjacente ao cimentos de ionômero de vidro, mesmo após o desafio cariogênico.

REFERÊNCIAS

Aguiar Fh, Braceiro At, Ambrosano Gm, Lovadino Jr. Hardness and diametral tensile strength of a hybrid composite resin polymerized with different modes and immersed in ethanol or distilled water media **Dent Mater.** 2005; Dec; 21(12):1098-103.

Almeida, J. B. **Resistência à microtração, espessura da camada híbrida e tipo de falha com sistemas adesivos em dentina humana.** [Tese]. Piracicaba: UNICAMP/FOP; 2005

Andrade, M.F.; Porto Neto, S.T.; Sena, C.L.B.; Campos, E. A.. Estudo “in vitro” da microinfiltração marginal em cavidades de classe V restauradas com ionômero de vidro e resina composta. **Odonto 2000** 1997 Araraquara, 1(1): 32-6,

Anusavice, K.J. Cimentos odontológicos In: Phillips, Materiais Dentários, 11ª edição, Elsevier, Rio de Janeiro, 2005.

Araújo, M.A.M.; Torres, C.R.G. Adesivos dentinários. In: BOTTINO, M.A **Estética em reabilitação oral metal free.** São Paulo: Artes Médicas, p.27-65, 2001.

Arnold WH, Cerman M, Neuhaus K, Gaengler P. Volumetric assessment and quantitative element analysis of the effect of fluoridated milk on enamel demineralization. **Arch Oral Biol.** 2003 Jun;48(6):467-73.

Arnold, W.H., Vera Bietau, Philipp O. Renner, Peter Gaengler Micromorphological and micron analytical characterization of stagnating and progressing root caries lesions **Arch Oral Biol.** 2007 Jun;52(6):591-7.

Arends, J. Ten Bosch, Jj. Demineralization and remineralization evaluation techniques. **J Dent Res.** 1992, 71 (1): 924-33.

Attar N, Turgut Md. Fluoride release and uptake capacities of fluoride-releasing restorative materials. **Oper Dent** 2003;28:395–402.

Auschill Tm, Arweiler Nb, Brex M, Reich E, Sculean A, Netuschil L. The effect of dental restorative materials on dental biofilm. **Eur J Oral Sci** 2002;110(1):48–53.

Brambilla E, Gagliani M, Ionescu A, Fadini L, García-Godoy F. The influence of light-curing time on the bacterial colonization of resin composite surfaces. **Dent Mater.** 2009 Sep;25(9):1067-72. Epub 2009 Apr 17.

Badawi H, Evans Rd, Wilson M, Ready D, Noar Jh, Pratten J. The effect of orthodontic bonding materials on dental plaque accumulation and composition in vitro **Biomaterials** 24 (2003) 3345–3350

BAGHERI, R. TYAS M.J., BURROW M. F. Subsurface degradation of resin-based composites. **Dental Materials** 2007; 23 944–951

Becker, A.B; Costa, Sx.S; Rastelli, A.N.S; Andrade, M.F; Bagnato, V.S; Bier, C.A.S. Influência dos agentes clareadores na microdureza de resinas compostas nanoparticuladas. **RGO** 2009, Porto Alegre. 57(1):27-3.

Bell A, Creanor SI, Foye Rh, Saunders Wp. The effect of saliva on fluoride release by a glass-ionomer filling material. **J Oral Rehabil** 1999; 26:407–12.

Benelli Em, Serra Mc, Rodrigues Jr Al, Cury Ja. In situ anticariogenic potential of glass ionomer cement. **Caries Res** 1993; 27:280–4.

Beyth N, Bahir R, Matalon S, Domb AJ, Weiss El. Streptococcus mutans biofilm changes surface-topography of resin composites. **Dent Mater.** 2008 Jun;24(6):732-6. Epub 2007 Sep 25.

Bollen, C.M.L.; Lambrechts, P.; Quirynen, M. Comparison of surface roughness of oral hard materials to the threshold surface roughness for bacterial plaque retention: a review of the literature. **Dent Mater.** 1997, Washington, 13(4): 258-69.

Bowden Gh. Effects of fluoride on the microbial ecology of dental plaque. **Journal of Dental Research** 1990;69:653–9.

Burgess, R.C. Dental Caries. **Can. Fam. Physician** Vol. 34: june 1988

Carlén A, Nikdel K, Wennerberg A, Holmberg K, Olsson J. Surface characteristics and in vitro biofilm formation on glass ionomer and composite resin. **Biomaterials.** 2001 Mar;22(5):481-7.

Carvalho, A.S. **Influência da escovação sobre a dureza Knoop e rugosidade de superfície de materiais restauradores estéticos.** [Tese]. Piracicaba: UNICAMP/FOP; 1998

de Carvalho FG, Puppim-Rontani RM, Soares LE, Santo AM, Martin AA, Nociti-Junior FH. Mineral distribution and CLSM analysis of secondary caries inhibition by fluoride/MDPB-containing adhesive system after cariogenic challenges. **J Dent.** 2009 Apr;37(4):307-14. Epub 2009 Jan 24.

Castellani D, Bechelli C, Tiscione E, Lo Nostro A, Pierleoni PP. In vivo plaque formation on cast ceramic (Dicor) and conventional ceramic. **Int J Prosthodont.** 1996 Sep-Oct;9(5):459-65.

Cenci, M.S., Tenuta, L.M.A. Pereira-Cenci,T., Del Bel Cury, A.A. Tem Cate, J.M. Cury, J.A. Effect of microleakage and fluoride on enamel-dentin demineralization around restorations. **Caries Res** 2008; 42: 369-379.

Chinelatti MA, Chimello DT, Ramos RP, Palma-Dibb RG. Evaluation of the surface hardness of composite resins before and after polishing at different times. **J Appl Oral Sci.** 2006 Jun;14(3):188-92.

Creanor SI, Carruthers Lm, Saunders Wp, Strang R, Foye Rh. Fluoride uptake and release characteristics of glass ionomer cements. **Caries Res** 1994;28:322–8.

Creanor SI, Awawdeh La, Saunders Wp, Foye Rh, Gilmour Wh. The effect of a resin-modified glass ionomer restorative material on artificially demineralised dentine caries in vitro. **J Dent** 1998;26:527–531.

de Araujo FB, Garcia-Godoy F, Cury JA, Conceicao EN. Fluoride release from fluoride-containing materials. **Oper Dent** 1996;21:185–90.

Delbem, A.C.B. Brighenti, F.L., Viera, A.E.M., Cury, J.A. In vitro comparison of cariostatic effect between topical application of fluoride gels and fluoride toothpaste. **J Appl Oral Sci** 2004; 12 (2): 121-6.

Dickinson M.E., Wolf K.V., Manna A.B. Nanomechanical and chemical characterization of incipient in vitro carious lesions in human dental enamel. **Archives of oral biology.** 2007; 52: 753 – 760.

Dionysopoulos, P., Kotsanos, N., Koliniotou-Koubia, E. Y. Papagodiannis, Y. Secondary caries formation in vitro around fluoride-releasing restorations. **Oper Dent.** 1994, 19, 183-188.

Dionysopoulos,P.; Kotsanos, N.; Papadogiannis, Y.; Kostantinidis, A. Artificial secondary caries around two new F-containing restoratives. **Oper Dent**, 23 (2): 81-6, 1998.

Donassolo, T.A., Romano, A.R. Demarco, F.F. Alváro, D.. Avaliação da microdureza superficial do esmalte e da dentina de dentes bovinos e humanos (permanentes e decíduos). **Rev. Odonto. Ciênc.** 2007; 22 (8): 311-316.

Donly, K. Enamel and dentin demineralization inhibition of fluoride-releasing materials. **Am J Dent.** 1994, 7: 275-278.

Duarte S Jr, Phark JH, Varjão FM, Sadan A. Nanoleakage, ultramorphological characteristics, and microtensile bond strengths of a new low-shrinkage composite to dentin after artificial aging. **Dent Mater.** 2009 May;25(5):589-600. Epub 2008 Dec 20.

Dunne Sm, Goolnik Js, Millar Bj, Seddon Rp. Caries inhibition by a resin-modified and a conventional glass ionomer cement, invitro. **J Dent** 1996;24:91–4.

Eick S, Glockmann E, Brandl B, Pfister W. Adherence of Streptococcus mutans to various restorative materials in a continuous flow system. **J Oral Rehabil.** 2004 Mar;31(3):278-85.

Eide R. & Tveit A.B. Finishing an polishing glass ionomer cement. **Act Odontol Stand**, Oslo, 48 409-13, 1990.

El-Badrawy Wa, McComb D. Effect of home-use fluoride gels on resin-modified glass-ionomer cements. **Oper Dent** 1998;23:2–9.

Estrela, C. Metodologia Científica. 2^a ed. Artes Médicas. São Paulo, 2005.

Feathrstone J.D.B, ten Cate J.M., Shariati, M., Arends, J. Comparison of artificial caries-like lesions by quantitative microradiography and microhardness profiles. **Caries Res.** 1983,17: 385-391

Featherstone J.D.B, Zero D.T. An in situ model for simultaneous assessment of inhibition of demineralization and enhancement of remineralization. **Journal of Dental Research** 1992; 71:804-10.

Forss H, Jokinen J, Spets-Happonen S, Seppä L, Luoma H. Fluoride and mutans streptococci in plaque grown on glass ionomer and composite. **Caries Res** 1991;25:454–8.

Francci C, Deaton TG, Arnold RR, Swift EJ Jr, Perdigaño J, Bawden JW. Fluoride release from restorative materials and its effects on dentin demineralization. **J Dent Res** 1999;78:1647–1654.

Francisconi, L.F., Honório, H.M., Rios, D. Magalhães, A.C. Machado, M.A.A.M, Buzalaf, M.A.R. Effect of erosive pH cycling on different restorative materials and on enamel restored with these materials. **Oper Dent**, 2008, 33-2, 203-208.

Friedl Kh, Schmalz G, Hiller Ka, Shams M. Resin-modified glass ionomer cements: fluoride release and influence on Streptococcus mutans growth. **Eur J Oral Sci** 1997;105:81–5.

Fúcio SB, Carvalho FG, Sobrinho LC, Sinhoretí MA, Puppín-Rontani RM. The influence of 30-day-old Streptococcus mutans biofilm on the surface of esthetic

restorative materials—An in vitro study. **J Dent.** 2008 Oct;36(10):833-9. Epub 2008 Jul 14..

Ilie, N. E Hickel, R. Macro, micro and nano-mechanical investigations on silorane and methacrylate-based composites. **Dent Mater.** 2009 Jun;25(6):810-9. Epub 2009 Mar 16.

Itthagarun A, King NM, Wefel JS, Tay FR, Pashley DH. The effect of fluoridated and non-fluoridated rewetting agents on in vitro recurrent caries. **J Dent.** 2001 May;29(4):255-73.

Gama-Teixeira, A. Simionato, M.R.L., Elian, S.N., Sobral, M.A.P., Luz, M.A.A.C. Streptococcus mutans-induced secondary caries adjacent to glass ionomer cement, composite resin and amalgam restorations in vitro. **Braz Oral Res** 2007;21(4):368-74

Gao SS, Qian LM, Huang SB, Yu HY. Wear behavior of early carious enamel before and after remineralization. **Biomed Mater.** 2009 Jun;4(3):034101. Epub 2009 Jun 5..

Garcia Júnior, E. **Ionômero de vidro resinoso nanoparticulado: avaliação de propriedades físico-químicas e biológicas.** [Dissertação]. Ribeirão Preto: USP, 2009.

Gladys S, Van Meerbeek B, Braem M, Lambrechts P, Vanherle G. Comparative physicommechanical characterization of new hybrid restorative materials with conventional glass-ionomer and resin composite restoration materials. **J Dent Res.** 1997 Apr;76(4):883-94.

Graig, RG. & Powers, JM. Alcance e Histórico dos Materiais Dentários In: Materiais Dentários Restauradores. 11 ed. Santos, São Paulo, 1-15, 2004.

HAMILTON, IR Biochemical effects of fluoride on oral bacteria. **J Dent Res** 1990, v. 69, p. 660-667,

Hara, A.T., Queiroz, C.S. Paes Leme, A.F. Serra, M.C. Cury, J.A. Caries Progression and Inhibition in human and bovine root dentine in situ. **Caries Res.** 2003; 37: 339-344.

Hayacibara MF, Rosa OPS, Koo H, Torres SA, Costa B, Cury JA. Effects of fluoride and aluminum from ionomeric materials on S. mutans biofilm. **J Dent Res.** 2003 Apr;82(4):267-71.

Hondrum, S O, Fernandez Junior, R. Contouring, finishing and polishing class 5 restorative materials. **Oper Dent.** 1997 Jan-Feb;22(1):30-6.

Hörsted-Bindslev P, Larsen Mj. Release of fluoride from conventional and metal-reinforced glass-ionomer cements. **Scand J Dent Res** 1990;98:451–5.

Hotta M, Li Y, Sekine I. Mineralization in bovine dentin adjacent to glass-ionomer restorations **J Dent**. 2001 Mar;29(3):211-5.

Kan Kc, Messer Lb, Messer Hh. Variability in cytotoxicity and fluoride release of resin-modified glass-ionomer cements. **J Dent Res** 1997;76:1502–7.

Karantakis P, Helvatjoglou-Antoniades M, Theodoridou-Pahini S, Papadogiannis Y. Fluoride release from three glass ionomers, a compomer, and a composite resin in water, artificial saliva, and lactic acid. **Oper Dent** 2000;25:20–5.

Kawai, K.; Urano, M.; Ebisu, S. Effect of surface roughness of porcelain on adhesion of bacteria and their synthesizing glucans. **J Prosthet Dent**. 2000 Jun;83(6):664-7.

Khalichi P., Cvitkovitch D.G., Santerrea, J.P. Effect of composite resin biodegradation products on oral streptococcal growth. **Biomaterials**. 2004; 25 5467–5472

Krasse BG. Prediction and prevention of recurrent caries based on microbiological assays. In: Anusavice KJ. Quality evaluation of dental restorations. Chicago: **Quintessence**; 1989. p. 199-209.

Kitasako Y, Nakajima M, Foxton Rm, Aoki K, Pereira Pnr, Tagami J. Physiological remineralization of artificially demineralized dentin beneath glass ionomer cements with and without bacterial contamination in vitro. **Oper Dent** 2003;28:274-280.

KOMATSU H. *et al.* Fluorine uptake into human enamel around a fluoride-containing dental material during cariogenic pH cycling. **Nucl. Instr. and Meth. in Phys. Res. B** 2007; 260 201–206

Lee SY, Huang HM, Lin CY, Shih YH. Leached components from dental composites in oral simulating fluids and the resultant composite strengths. **Journal of Oral Rehabilitation** 1998;25:575–88.

Leite Jr, FHC. **Avaliação do acúmulo de placa in situ e da rugosidade superficial in vitro em resinas compostas modificadas por poliácidos submetidas a acabamento e polimento.** [Dissertação]. Piracicaba:UNICAMP/FOP; 2001

Mahoney EK, Rohanizadeh R, Ismail FS, Kilpatrick NM, Swain MV.. Mechanical properties and microstructure of hypomineralised enamel of permanent teeth. **Biomaterials**. 2004 Sep;25(20):5091-100.

Margolis HC, Zhang YP, Lee CY, Kent RL, Moreno EC. Kinetics of enamel demineralization in vitro. **J Dent Res** 1999;78:1326–1335.

Markovic D, Petrovic BB, Peric TO. Fluoride content and recharge ability of five glassionomer dental materials. **BMC Oral Health** 2008, 8:21

Martins, LRM., Silva, ALF, Cury, JA. Franchone, CE. Liberação De Flúor de Restaurações de Ionômero de Vidro e a sua Incorporação ao Esmalte Dental Após Ciclos de Desmineralização/Remineralização. **Revista Odonto Ciência** v. 21, n. 51, jan./mar. 2006

Mathis Rs, Ferracane Jc. Properties Of A Glass-Ionomer/Resin-Composite hybrid material. **Dental Materials** 1989;5:355-8.

Mclean, JW, NICHOLSON, JW, WILSON, A.D. Proposed nomenclature for glass ionomer dental cements and related materials. **Quintessence Int**, Berlin 25(9): 587-9, 1994.

Mendonça, CCL. **Avaliação da rugosidade superficial in vitro, e da formação de placa in situ, em superfícies cerâmicas submetidas a acabamento e polimento**. [Dissertação]. Piracicaba: UNICAMP/FOP; 1999.

Medonça, CCL. **Avaliação da formação de placa bacteriana in situ sobre a superfície de dois materiais estéticos indiretos**. [Tese]. Piracicaba: UNICAMP/FOP; 2002.

Meyer, JM, Cattani-Lorente, MA, Dupuis, V. Compomers: between glass ionomer cements and composites. **Biomaterials**, Stoneham 19(6):529-39, 1998.

Mjör, IA, Fejerskov, O. **Histology of the human tooth**. 2.ed. Munksgaard: Copyright, 1979

Montanaro L, Campoccia D, Rizzi S, Donati ME, Breschi L, Prati C, Arciola CR.. Evaluation of bacterial adhesion of *Streptococcus mutans* on dental restorative materials **Biomaterials**. 2004 Aug;25(18):4457-63.

Moshonov, J., Stabholz, A., Bar-Hilel, R., Peretz, B. Chemical analysis and surface morphology of enamel and dentin following 9.6 μm CO² laser irradiation versus high speed drilling. **J Dent** 2005, 33, 427–432

Mount, GJ. Glass ionomer: a review of their current status. **Open Dent**, Seattle, 24: 115-24, 1999.

Nakajo K, Imazato S, Takahashi Y, Kiba W, Ebisu S, Takahashi N. Fluoride released from glass-ionomer cement is responsible to inhibit the acid production of caries-related oral streptococci. **Dent Mater**. 2009 Jun;25(6):703-8. Epub 2009 Jan 15.

Navarro, MFL, Pascotto, RC. Cimentos de Ionômero de Vidro, Artes Médicas: Série EAP-APCD, São Paulo, 1998.

Nicholson, J.W.; Aggarwal, A.; Czarnecka, B.; Limanowska-Shaw H. The rate of change of PH of latic acid exposed to glass ionomer dental cements. **Biomaterials**. 2000 Oct;21(19):1989-93.

Norman Rd, Phillips Rw & Swartz MI Fluoride uptake by enamel from certain dental materials **J Dent Res**. 1960 Jan-Feb;39:11-6.

Novaes Jr. J.B.; Nagem Filho H.; Araújo P.A.; Bonachela, V. Avaliação de resistência ao cisalhamento de união à dentina, dos cimentos de ionômero de vidro fotoativados, variando a intensidade de luz e o período de armazenamento. **Rev. FOB**, 1997, Bauru, 5(1/2):9-14.

Okida RC, Mandarino F, Sundfeld RH, de Alexandre RS, Sundefeld ML In vitro evaluation of secondary caries formation around restouration. *Bull Tokyo Dent Coll*. 2008 Aug;49(3):121-8

O'brien Wj. Dental materials and their selection. 3rd ed. Chicago: **Quintessence**; 2002.

Okuda M, Pereira Pnr, Nikaido T, Tagami J. Evaluation of in vitro secondary caries using confocal laser scanning microscope and X-ray analytical microscope. **Am J Dent** 2003;16:191-196.

Pereira PN, Inokoshi S, Yamada T, Tagami J.. Microhardness of in vitro caries inhibition zone adjacent to conventional and resin-modified glass ionomer cements. **Dent Mater**. 1998 Jun;14(3):179-85.

Paes Leme AF, Tabchoury CP, Zero DT, Cury JA. The effect of fluoridated dentifrice and/or acidulated phosphate fluoride application on early artificial carious lesion – an in vitro study. **Am J Dent**. 2003 Apr;16(2):91-5.

Am J Dent. 2003 Apr;16(2):91-5. Inhibition of microbial adherence and growth by various glass ionomers in vitro. **Dent Mater** 1992;8:16–20.

Paradella, T.C., Sousa, F.A.C.G., Koga-Ito, C.Y., Jorge, A.O.C. Microbiological or Chemical Models of Enamel Secondary Caries Compared by Polarized-Light Microscopy and Energy Dispersive X-ray Spectroscopy. **J Biomed Mater Res B Appl Biomater**. 2009, 635-640.

Pedrini, D.; Gaetti-Jardim Jr., E.; Mori, G. G. Influência da aplicação de flúor sobre a rugosidade superficial do ionômero de vidro Vitremer e adesão microbiana a este material. **Pesqui Odontol Bras**, v. 15, n. 1, p. 70-76, jan./mar. 2001.

Pozzobon, R, Candido, MSM, Rodrigues, JRAL. Análise da rugosidade superficial de materiais restauradores estéticos. Efeito de agentes clareadores e tempo. **Revista Odonto Ciência – Fac. Odonto/PUCRS**, v. 20, n. 49, jul./set., 2005.

PUCKETT, A.D. *et al.*, Direct Composite Restorative Materials. **Dent Clin N Am** 51, 659–675, 2007.

Ribeiro, TR, Duarte, RM, Medeiros e Silva, FDSC, Forte, FDS, Sampaio, FC, Barbosa, JKG., Avaliação in vitro da microdureza do esmalte adjacente a restaurações após desafio cariogênico. **Rev. odonto ciênc**. 2009;24(1):49-53

Rimondini, L.; Fare, S.; Brambilla, E. Felloni, A. The effect of surface roughness on early in vivo plaque colonization on Titanium. **J Periodontol.**, Chicago, 68: 556-62, 1997.

Rios D, Honório H M, Francisconi L F, Magalhães AC, Machado MAAM, Buzalaf MAR. In situ effect of an erosive challenge on different restorative materials and on enamel adjacent to these materials. **J Dent** 2008, 36: 152–157.

Rodrigues, E. **Validação de um modelo de ciclagem de Ph para verificar a relação dose-resposta de materiais que liberam flúor na desmineralização e remineralização in vitro**. [Tese]. Araçatuba, UNESP, 2007.

Rodrigues JA, Marchi GM, Serra MC, Hara AT. Visual evaluation of in vitro cariostatic effect of restorative materials associated with dentifrices. **Braz Dent J** 2005;16:112–118.

Sa´ LT, Gonza´lez-Cabezas C, Cochran MA, Fontana M, Matis BA, Moore BK. Fluoride releasing materials: Their anticariogenic properties tested in in vitro caries model. **Oper Dent** 2004;29:524–531.

Saito, S.K., Lovadino, J.R. & Kroll, L.B. Rugosidade E Pigmentação superficial de materiais ionome´ ricos. **Pesq Odonto Bras** 2000 14, 351.

Santos, LA, Turbino, ML, Youssef, M N, Matson, E. Microdureza de resina composta: efeito de aparelhos e tempos de polimerização em diferentes profundidades. **Pesq Odont Bras**, 2000 jan/mar v. 14, n. 1, p. 65-70.

Sarac D, Sarac YS, Kulunk S, Ural C, Kulunk T.. The effect of the polishing techniques on surface roughness and color change of composite resin **J Prosthet Dent**. 2006 Jul;96(1):33-40.

Sasaki, M, Silva, RCSP, Araújo, MAM, Krabbe, FM, Damião, AJ. Avaliação da rugosidade superficial de cimentos de ionômero de vidro com diferentes sistemas de acabamento e polimento. **Rev. Odontol. UNESP**, São Paulo, 29(n.1/2): 81-92, 2000

Segura A, Donly Kj, Quackenbush B. In vitro dentin demineralization inhibition effects of an experimental fluoridated HEMA and water wetting agent. **J Oral Rehab** 2000;27:532-537.

Seppä L, Salmenkivi S, Forss H. Enamel and plaque fluoride following glass ionomer application in vivo. **Caries Res** 1992;26:340-4.

Seppä L, Forss H, Øgaard B. The effect of fluoride application on fluoride release and the antibacterial action of glass ionomers. **J Dent Res** 1993;72:1310-4.

Serra Mc & Cury Ja. The in vitro effect of glass-ionomer cement restoration on enamel subjected to a demineralization and remineralization model **Quintessence Int** 1992, 23(2) 143-147.

Shahal Y, Steinberg D, Hirschfeld Z, Bronshteyn M, Kopolovic K. In vitro bacterial adherence onto pellicle-coated aesthetic restorative materials. **J Oral Rehabil**. 1998;25:52.

Sousa RP, Zanin IC, Lima JP, Vasconcelos SM, Melo MA, Beltrão HC, Rodrigues LK. In situ effects of restorative materials on dental biofilm and enamel demineralisation. **J Dent**. 2009 Jan;37(1):44-51. Epub 2008 Nov 20.

Souza, C.N., Pozzobom, R.T. Susin A.H., Jaeger, F. Avaliação da Rugosidade Superficial de uma Resina Composta. **RGO**. 2005 jan/mar v.53, n.01. p 01-84.

Svanberg M, Mjör Ia, Orstavik D. Mutans streptococci in plaque from margins of amalgam, composite, and glass-ionomer restoration. **J Dent Res**. 1990;69(3):861-4.

Tam, L.E., Chan, G.P-L., Yim, D. In vitro caries inhibition effects by conventional and resin-modified glass ionomer restorations. **Oper. Dent**. 1997, 22: 4-14.

Tatevossian A. Fluoride in dental plaque and its effects. **J Dent Res** 1990;69:645–52

ten Cate JM, van Duinen RN.. Hypermineralization of dental lesions adjacent to glass-ionomer cement restorations. **J Dent Res**. 1995 Jun;74(6):1266-71.

ten Cate JM. Review on fluoride, with special emphasis on calcium fluoride mechanisms in caries prevention. **Eur J Oral Sci** 1997;105:461-5.

Thylstrup, A. & Fejerskov, O. *Cariologia Clínica*, 2.ed., São Paulo, Santos livraria editora Ltda., 1995. 71p.

Toba S, Pereira Pnr, Nikaido T, Tagami J. Effect of topical application of fluoride gel on artificial secondary caries inhibition. **Int Chin J Dent** 2003;3:53-61.

Turssi CP, Hara AT, Serra MC, Rodrigues Jr AI. Effect of storage media upon the surface micromorphology of resin-based restorative materials. **J Oral Rehabil** 2002;29:864–71.

Uysal T, Yagci, A, Uysal, B, Akdogan G. Are nano-composites and nano-ionomers suitable for orthodontic bracket bonding? **Europ J Orthod** 32 (2010) 78–82

Valença, AMG, Souza, ROA, Pessoa, CN, Soares Filho, PJ. Avaliação em microscopia de luz polarizada do efeito remineralizador de materiais restauradores fluoretados. **Pesq Bras Odontoped Clin Integr**, João Pessoa,. 4(3): 221-234, 2004.

Wang L, Cefaly DFG, Santos J L, Santos J R, Lauris JRP, Mondelli R F L, Atta M T. In Vitro Interactions Between Lactic Acid Solution And Art Glass-Ionomer Cements **J Appl Oral Sci**. 2009;17(4):274-9

Wiegand A, Buchalla W, Attin T. Review on fluoride-releasing restorative materials—Fluoride release and uptake characteristics, antibacterial activity and influence on caries formation. **Dent Mater**. 2007 Mar;23(3):343-62

Willems G, Celis JP, Lambrechts P, Braem M, Vanherle G. Hardness and Young's modulus determined by nanoindentation technique of filler particles of dental restorative materials compared with human enamel. **J Biomed Mater Res**. 27(6): 747-55. 1993.

Wilson, AD & Kent BE A new translucent cement for dentistry: the glass ionomer cement. **Br Dent J**, London, 132:133-5, 1972.

Yap AU, Tham SY, Zhu LY, Lee HK. Short-term fluoride release from various aesthetic restorative materials. **Oper Dent** 2002;27:259–65.

Yaman SD, Özgür ER, Yetmez M, Karabay GA. In vitro inhibition of caries-like lesions with fluoride-releasing materials. **J Oral Sci** 2004;46:45-50

Yamamoto K, Arai K, Fukazawa K, Fukui K, Nagamatsu K, Kato K, Effect of plaque fluoride released from a glass-ionomer cement on enamel remineralization in situ. **Caries Res** 2005;39:157–60.

Yamazaki H, Litman A, Margolis HC. Effect of fluoride on artificial caries lesion progression and repair in human enamel: Regulation of mineral deposition and dissolution under in vivo-like conditions. *Arch Oral Biol* 2007;52:110–120.

Zimehl, R & Hanning, M. Non metallic restorative materials based on glass ionomer cements: recent trends and developments. **Colloids Surf**, 163: 55-62, 2000.