

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS**  
**FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**

**MITSUE FUJIMAKI**

**LIBERAÇÃO DE FLÚOR E ALUMÍNIO POR MATERIAIS ODONTOLÓGICOS  
E SEU EFEITO NA ACIDOGENICIDADE DE *S. mutans*  
E NA FORMAÇÃO E COMPOSIÇÃO DA  
PLACA EXPERIMENTAL**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção de grau de Mestre em Biologia e Patologia Buco-Dental.

PIRACICABA  
- 2000 -



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS**  
**FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**

**MITSUE FUJIMAKI**

**LIBERAÇÃO DE FLÚOR E ALUMÍNIO POR MATERIAIS ODONTOLÓGICOS  
E SEU EFEITO NA ACIDOGENICIDADE DE *S. mutans*  
E NA FORMAÇÃO E COMPOSIÇÃO DA  
PLACA EXPERIMENTAL**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção de grau de Mestre em Biologia e Patologia Buco-Dental.

Orientador: Prof. Dr. Jaime Aparecido Cury

Banca examinadora:

Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Odila Pereira da Silva Rosa

Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Renata Corrêa Pascotto

Prof. Dr. Jaime Aparecido Cury

### Ficha Catalográfica

M 955L Fujimaki, Mitsue.  
Liberação de flúor e alumínio por materiais odontológicos e seu efeito na acidogenicidade de *S. mutans* e na formação e composição da placa experimental. / Mitsue Fujimaki.  
- Piracicaba, SP : [s.n.], 2000.  
146 p. : il.

Orientador : Prof. Dr. Jaime A. Cury.  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Materiais dentários. 2. Flúor. 3. Alumínio 4. Placas dentárias - Composição. 5. Streptococcus mutans. I. Cury, Jaime A. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

## **Folha de aprovação**



*Dedico este trabalho...*

À minha família.

A meus pais **Nagamitsu Fujimaki e Tamae H. Fujimaki**,  
pais maravilhosos, que com muita luta, dedicação, integridade e  
amor, ensinaram os mais nobres valores da vida.

A meus queridos irmãos **Eidi, Hiroji, Kendi e Tunney**  
que sempre foram um exemplo para mim.

Ao **Roberto M. Hayacibara**,  
pelo profundo amor, compreensão e  
apoio que me inspira a ser  
cada vez melhor.

*Minha eterna gratidão.*





## *Agradecimentos Especiais*

Ao meu orientador Prof. Dr. **Jaime A. Cury**,

Agradeço pela participação ativa, direta e segura, mostrando seriedade, dedicação e competência, dando apoio e incentivo não só nas dificuldades, e que foram fundamentais para minha formação científica e crescimento pessoal.

A Profª. Dra. **Odila Pereira da Silva Rosa**,

pela orientação desde a graduação, pelo exemplo de dedicação, seriedade, bondade e pelo inestimável e carinhoso apoio em todos os momentos, principalmente na decisão pela carreira universitária.

*Meu profundo agradecimento, respeito e admiração.*

## *Agradecimentos*

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

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

À Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Altair A. Del Bel Cury, que, com muita seriedade e competência é Coordenadora Geral da Pós-Graduação da FOP – UNICAMP, pela oportunidade de participar da Coordenadoria dos Cursos de Pós-Graduação como representante discente no ano de 1999.

À Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Darcy Tosello, Coordenadora do Curso de Biologia e Patologia Buco-Dental da FOP-UNICAMP.

À Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Cíntia P. M. Tabchoury, Professora da Disciplina de Bioquímica da FOP-UNICAMP, pela boa vontade e pronta ajuda em todos os momentos necessários.

Ao Prof. Dr. Sérgio A. Torres, Professor da Disciplina de Microbiologia e Imunologia da FOB-USP, pelo apoio, ajuda e amizade durante a realização deste trabalho.

À Dr<sup>ª</sup>. Beatriz Costa, pela preciosa ajuda no desenvolvimento deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Rumio Taga, Professor da Disciplina de Histologia da FOB-USP, pela oportunidade de desenvolver trabalho em seu laboratório e sincera amizade.

Aos Prof. Dr. Mário Fernando Góes e Prof. Dr. Simonides Consani, Professores do Departamento de Materiais Dentários da FOP – UNICAMP, pela colaboração.

A Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Maria Fidela de Lima Navarro, Professora da Disciplina de Dentística da FOB-USP, pelo empréstimo de materiais necessários para a realização deste trabalho.

À Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Renata Corrêa Pascotto, Professora do Departamento de Odontologia da Universidade Estadual de Maringá, pelo apoio, incentivo e amizade.

À Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Gláucia Bovi Ambrosano, Professora da Disciplina de Estatística da FOP-UNICAMP, pelo acompanhamento de todo o trabalho, orientando nas análises estatísticas.

Ao Prof. Dr. Pedro Luiz Rosalen, Professor da Disciplina de Farmacologia da FOP – UNICAMP, por estar sempre pronto a ajudar, pelo apoio e amizade.

Aos preciosos técnicos do Laboratório de Bioquímica Oral, FOP-UNICAMP Mariza de Jesus Carlos Soares, Waldomiro Vieira Filho e José Alfredo da Silva, pela ajuda, carinho e amizade.

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

Às técnicas do Laboratório da Disciplina de Histologia da FOB–USP, Tânia e Dany, pela ajuda e pela amizade em todos os momentos.

Aos técnicos do Laboratório de Microbiologia da FOB-USP, Wanderley, S. Osni, pela atenção, e pela valiosa ajuda.

À Sra. Dalva de Oliveira, secretária da Disciplina de Microbiologia da FOB–USP, sempre prestativa, atenciosa e amiga.

À Sra. Sônia e Srta. Érica, funcionárias da Pós-Graduação, pela constante atenção, simpatia e auxílio.

Aos Funcionários da Biblioteca da FOP – UNICAMP, pela orientação e ajuda.

À Sra. Sônia Maria Lichote, Gerente do Desenvolvimento de Mercado da DFL, pela atenção e fornecimento de materiais.

À FAPESP, pelo apoio financeiro para o desenvolvimento desta pesquisa, na concessão da Bolsa de Mestrado (Proc. No. 98/00496-4) e Reserva Técnica (Proc. No. 98/05837-4).

Às amigas Patrícia Ramos Cury e Mariliani Chicarelli, pelo convívio saudável e sincera amizade.

À amiga Marly, pela força e amizade em todos os momentos.

Ao amigo Celso Queiroz, por compartilhar todos os momentos alegres e de dificuldade do dia-a-dia, pelo companheirismo e amizade.

Ao amigo Michel, que mesmo distante, está bastante presente através da internet, sempre pronto a ajudar, pela amizade, companheirismo e pelo futuro projeto em conjunto.

Aos amigos e companheiros de Pós-Graduação Silvana, Ynara, Paulo, Ana Maria, Adriana, Mello e Rose que tornaram o vida em Piracicaba mais alegre, pela força, amizade, ajuda e companheirismo.

Às amigas da Histologia Silvana, Raquel Scarel, Raquel Gerlach, Ana Paula, Paula, pelos bons momentos de descontração, divertimento, pela amizade, carinho e força.

Aos amigos e colegas Carla, Carol Aires, Daniel, Carol Carraro, Danilo, Tatiana, Gustavo, Aline, alunos da Graduação que desenvolvem trabalho de Iniciação Científica no Laboratório de Bioquímica Oral da FOP – UNICAMP, pela amizade e agradável convívio.

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

*Meus sinceros agradecimentos.*

## SUMÁRIO

|                                                                                                                |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>LISTA DE ILUSTRAÇÕES .....</b>                                                                              | <b>12</b> |
| <b>LISTA DE ABREVIATURA.....</b>                                                                               | <b>15</b> |
| <b>RESUMO .....</b>                                                                                            | <b>17</b> |
| <b>ABSTRACT .....</b>                                                                                          | <b>18</b> |
| <b>INTRODUÇÃO .....</b>                                                                                        | <b>19</b> |
| <b>REVISÃO DA LITERATURA.....</b>                                                                              | <b>23</b> |
| 2.1 UTILIZAÇÃO DO FLÚOR .....                                                                                  | 26        |
| 2.2 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO FLÚOR .....                                                                    | 27        |
| 2.3 MATERIAIS IONOMÉRICOS .....                                                                                | 29        |
| 2.4 LIBERAÇÃO DE FLÚOR.....                                                                                    | 32        |
| 2.5 LIBERAÇÃO DE ALUMÍNIO .....                                                                                | 39        |
| 2.6 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE MATERIAIS ODONTOLÓGICOS.....                                                   | 42        |
| <b>PROPOSIÇÃO .....</b>                                                                                        | <b>54</b> |
| <b>METODOLOGIA.....</b>                                                                                        | <b>57</b> |
| 4.1 MATERIAIS.....                                                                                             | 59        |
| 4.2 MÉTODOS.....                                                                                               | 60        |
| 4.2.1 <i>Delineamento Experimental</i> .....                                                                   | 60        |
| 4.2.2 <i>Fase I: Liberação de F e Al pelos materiais estudados em 3 meios de imersão</i> .....                 | 62        |
| 4.2.3 <i>Fase II: Avaliação da acidogenicidade de S. mutans e composição bioquímica da placa experimental.</i> |           |

|                                   |                                                      |            |
|-----------------------------------|------------------------------------------------------|------------|
| 4.2.4                             | <i>Análise estatística</i>                           | 71         |
| <b>RESULTADOS</b>                 |                                                      | <b>73</b>  |
| 5.1                               | FASE I                                               | 75         |
| 5.1.1                             | <i>Liberção de F em diferentes meios</i>             | 75         |
| 5.1.2                             | <i>Liberção de Al em diferentes meios de imersão</i> | 82         |
| 5.2                               | FASE II                                              | 85         |
| 5.2.1                             | <i>Acidogenicidade de S. mutans</i>                  | 85         |
| 5.2.2                             | <i>Liberção de Flúor no meio de cultura</i>          | 89         |
| 5.2.3                             | <i>Liberção de Al no meio de cultura</i>             | 92         |
| 5.2.4                             | <i>Composição da placa experimental</i>              | 95         |
| <b>DISCUSSÃO</b>                  |                                                      | <b>99</b>  |
| 6.1                               | FASE I                                               | 101        |
| 6.1.1                             | <i>Liberção de F</i>                                 | 101        |
| 6.1.2                             | <i>Liberção de Al</i>                                | 106        |
| 6.2                               | FASE II                                              | 108        |
| 6.2.1                             | <i>Teste de fermentação</i>                          | 108        |
| 6.2.2                             | <i>Composição da placa experimental</i>              | 113        |
| <b>CONCLUSÃO</b>                  |                                                      | <b>119</b> |
| <b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> |                                                      | <b>123</b> |
| <b>ANEXOS</b>                     |                                                      | <b>133</b> |

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### TABELAS

|                                                                                                                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1: Materiais odontológicos utilizados neste estudo.....                                                                                              | 59 |
| Tabela 2 - Proporcionamento e manipulação dos materiais odontológicos estudados. ....                                                                       | 62 |
| Tabela 3 - Médias e desvios-padrão da liberação total de F ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) pelos materiais estudados, dentro de cada meio.<br>.....           | 77 |
| Tabela 4 – Médias e desvios-padrão da liberação de F ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) pelos materiais em cada dia no meio de imersão<br>ciclagem de pH. ....   | 78 |
| Tabela 5 - Médias e desvios-padrão da liberação de F ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) pelos materiais em cada dia no meio de imersão<br>saliva artificial..... | 79 |
| Tabela 6 - Médias de liberação de F ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) pelos materiais em cada dia no meio de imersão água deionizada. ....                      | 80 |
| Tabela 7 – Médias e desvios-padrão da liberação de Al ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) em cada dia no meio de imersão ciclagem de pH. ....                     | 82 |
| Tabela 8 - Médias e desvios-padrão da liberação de Al ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) em cada dia no meio de imersão saliva artificial. ..                    | 83 |
| Tabela 9 - Médias e desvios-padrão da liberação de Al ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) pelos materiais em cada dia no meio de imersão<br>água deionizada.....  | 84 |
| Tabela 10 – Médias e desvios-padrão do pH do meio de cultura em cada dia. ....                                                                              | 85 |
| Tabela 11 – Ação dos materiais sobre a fermentação de açúcares pelo <i>S. mutans</i> . ....                                                                 | 86 |
| Tabela 12 –Variação da média de pH entre os meios de cultura inoculado e sem inóculo .....                                                                  | 87 |
| Tabela 13 – Médias e desvios-padrão da liberação de F (ppm) em cada dia em meio de cultura não inoculado. ....                                              | 89 |
| Tabela 14 - Médias e desvios-padrão da liberação de F (ppm) em cada dia em meio inoculado com <i>S. mutans</i> . ....                                       | 90 |
| Tabela 15 - Médias e desvios-padrão da liberação de Al (ppm) em cada dia em meio não inoculado.....                                                         | 92 |
| Tabela 16 – Médias e desvios-padrão da liberação de Al (ppm) em cada dia em meio inoculado.....                                                             | 93 |
| Tabela 17 – Médias e desvios-padrão do peso seco (mg) da placa experimental formada sobre cada material. ....                                               | 95 |
| Tabela 18 – Médias e desvios-padrão da concentração de F ( $\mu\text{g F}/\text{mg}$ ) na placa experimental. ....                                          | 96 |
| Tabela 19 – Médias e desvios-padrão da concentração de Al ( $\mu\text{g Al}/\text{mg}$ ) na placa experimental.....                                         | 96 |

|                                                                                                                                                              |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 20 – Médias e desvios-padrão da concentração de carboidrato solúvel em álcali ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) na placa experimental.....                  | 97 |
| Tabela 21 – Coeficiente de correlação entre as variáveis pH, F e Al do meio de cultura.....                                                                  | 97 |
| Tabela 22 - Correlação entre as variáveis: F e Al total liberado no meio de cultura, peso, F, Al e carboidrato solúvel em álcali da placa experimental. .... | 98 |

## FIGURA

|                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1 –Esquema do delineamento experimental utilizado. .... | 61 |
|----------------------------------------------------------------|----|

## FLUXOGRAMA

|                                                                                          |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Fluxograma 1- Tratamento da placa para análise da composição orgânica e inorgânica. .... | 69 |
|------------------------------------------------------------------------------------------|----|

## GRÁFICOS

|                                                                                                          |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Gráfico 1– Médias da liberação total de F pelos materiais nos meios estudados. ....                      | 77 |
| Gráfico 2 – Liberação de F em Ciclagem de pH. ....                                                       | 81 |
| Gráfico 3 – Liberação de F em saliva artificial ....                                                     | 81 |
| Gráfico 4 –Liberação de F em água deionizada.....                                                        | 81 |
| Gráfico 5 – Liberação de Al em ciclagem de pH.....                                                       | 84 |
| Gráfico 6 – Gráfico da diferença das médias de pH entre os meios de cultura inoculado e sem inóculo..... | 88 |
| Gráfico 7 – Liberação de F (ppm) em meio de cultura inoculado ou sem inóculo de <i>S. mutans</i> .....   | 91 |
| Gráfico 8 – Liberação de Al (ppm) em meio de cultura inoculado e sem inóculo ....                        | 94 |

## ANEXOS

|                                                                                                                  |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Anexo 1 - Liberação de F ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) em Ciclagem de pH .....                                   | 135 |
| Anexo 2 - Liberação de F ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) em saliva artificial.....                                 | 136 |
| Anexo 3 – Liberação de F ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) em água deionizada.....                                   | 137 |
| Anexo 4 – Liberação de Al ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) em Ciclagem de pH .....                                  | 138 |
| Anexo 5 – pH do meio de cultura controle.....                                                                    | 139 |
| Anexo 6 – pH do meio de cultura inoculado com <i>S. mutans</i> .....                                             | 140 |
| Anexo 7 – Liberação de F (ppm) em meio de cultura controle .....                                                 | 141 |
| Anexo 8 – Liberação de F (ppm) em meio de cultura inoculado com <i>S. mutans</i> .....                           | 142 |
| Anexo 9 – Liberação de Al (ppm) em meio de cultura controle.....                                                 | 143 |
| Anexo 10 – Liberação de Al (ppm) em meio de cultura inoculado com <i>S. mutans</i> .....                         | 144 |
| Anexo 11 – Peso de placa (mg) formada ao redor de cada material .....                                            | 145 |
| Anexo 12 – Concentração de F ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) na placa experimental.....                              | 145 |
| Anexo 13 - Concentração de Al ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) na placa experimental.....                             | 146 |
| Anexo 14 – Concentração de carboidrato solúvel em álcali ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) na placa experimental ..... | 146 |



## LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGNIFICADOS

|                    |   |                                              |
|--------------------|---|----------------------------------------------|
| %                  | - | Por cento                                    |
| °C                 | - | Graus Celsius                                |
| ±                  | - | Mais ou menos                                |
| µg                 | - | Micrograma(s)                                |
| µg/cm <sup>2</sup> | - | Micrograma por centímetro quadrado           |
| F                  | - | íon flúor, fluoreto                          |
| cm                 | - | Centímetro(s)                                |
| <i>et al.</i>      | - | e outros (abreviatura de “ <i>et alii</i> ”) |
| g                  | - | Grama(s)                                     |
| h                  | - | Hora(s)                                      |
| TISAB              | - | Total Ionic Strenght Adjustive Buffer        |
| mL                 | - | Mililitro(s)                                 |
| mm                 | - | Milímetro(s)                                 |
| [H <sup>+</sup> ]  | - | Concentração de prótons (H <sup>+</sup> )    |
| ppm                | - | Partes por milhão                            |
| CIV                | - | Cimento de ionômero de vidro                 |
| Al                 | - | Íon alumínio                                 |
| HF                 |   | Ácido fluorídrico                            |
| HEMA               |   | Hidroxietil-metacrilato                      |
| BHI                |   | Brain Heart Infusion                         |



## RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar *in vitro* a liberação de flúor (F) e alumínio (Al) por materiais odontológicos e seu efeito na acidogenicidade de *S. mutans* e na formação e composição da placa experimental. Foram utilizados 5 materiais (I- Fuji Ortho LC; II- Ketac-fil; III- Vitremer; IV- F 2000 e V- Z 100 – como controle) e o estudo consistiu de 2 etapas. Na primeira fase foi avaliada a liberação de F e Al em 3 meios de imersão: água deionizada, saliva artificial e soluções des-remineralizantes, onde corpos de prova foram imersos individualmente em 1,0mL da solução e trocados diariamente, durante 15 dias. Nessas soluções foram analisadas as concentrações de F e Al. Na segunda fase foi analisada a atividade antibacteriana dos materiais sobre a fermentação de açúcar e sobre a formação de placa experimental. Seis corpos de prova foram confeccionados e imersos individualmente em caldo Mitis Salivarius (contendo glicose e sacarose) inoculados com *S. mutans* GS-5 durante 7 dias. Os meios foram trocados a cada 24 horas, nos quais foram feitas determinações de pH e da quantidade de F e Al liberadas. Após 7 dias, a placa formada sobre os corpos de prova foi coletada, pesada e determinadas as concentrações de F, Al e carboidrato solúvel em álcali. Os dados obtidos foram analisados por ANOVA e teste de Tukey (nível de significância de 5%) e os resultados da fase I mostraram que houve variação na liberação de F e Al entre os materiais e a ordem desta liberação não é a mesma quando estudada em diferentes meios de imersão. Além disso, os dados da fase II sugerem que a liberação conjunta de F e Al parece ter um importante significado na inibição da acidogenicidade de *S. mutans* e na formação e composição da placa experimental.

Palavras-chave: Materiais odontológicos, Flúor, Alumínio, *Streptococcus mutans*, Placas dentárias – Composição.

## ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate *in vitro* fluoride (F) and aluminum (Al) release from dental materials and their effect on bacterial sugar fermentation and on plaque test formation and composition. This study was divided into two parts. In phase I, specimens of: I-Fuji Ortho LC; II-Ketac-fil; III- Vitremer, IV- F 2000 and V- Z100 (control) were individually placed in 1.0 mL of each immersion media: deionized water, artificial saliva and de-remineralising solutions for 15 days. All solutions were changed daily in which F and Al released were analysed. For phase II, 6 specimens of each material were placed in Mitis Salivarius broth (containing glucose and sucrose) inoculated with *S. mutans* GS-5 for a period of 7 days. All broths were changed to fresh ones every 24 hours in which pH and the amounts of F and Al released were determined. After 7 days, the plaque test formed around each specimen was collected, weighted and its F, Al and alkali-soluble carbohydrates concentrations were measured. Data were analysed by means of ANOVA and Tukey's test (at 5% level of significance). Results of phase I showed that the capacity of dental materials in releasing fluoride and Al changes when different media are used. Furthermore, data from phase II suggest that the antibacterial activity of F-containing materials may be attributed to the simultaneous release of F and Al.

Key words: Dental materials, fluoride, aluminum, *Streptococcus mutans* and dental plaque.

## **INTRODUÇÃO**

# 1 INTRODUÇÃO

---

Embora tenha havido uma significativa redução de cárie em termos mundiais (W.H.O.<sup>100</sup>, 1994), procedimentos restauradores ainda fazem parte do dia a dia do cirurgião-dentista. Tem sido relatado que 60-70% do tempo dispendido em procedimentos clínicos odontológicos são utilizados para trocas de restaurações (KIDD et al.<sup>53</sup>, 1992), cuja principal causa é a cárie secundária (KIDD<sup>52</sup>, 1989; KIDD et al.<sup>53</sup>, 1992; MJÖR<sup>67</sup>, 1997). Neste particular, cimentos ionoméricos e materiais liberadores de F com propriedades para interferir na progressão da cárie tem sido de grande interesse em pesquisas e principalmente na utilização clínica atual, com o objetivo de tentar controlar cáries secundárias, bem como cáries primárias que continuam prevalentes em pacientes de alto risco à cárie.

Os materiais ionoméricos destacam-se pelo seu potencial anti-cárie, atuando através de 2 mecanismos: com a liberação de F (FORSTEN<sup>35</sup>, 1977; FORSTEN<sup>37</sup> 1998), que atua fisico-quimicamente na dinâmica do desenvolvimento de lesão de cárie, quer seja reduzindo a desmineralização como facilitando a remineralização do esmalte-dentina (SERRA & CURY<sup>83</sup>,

1992; BENELLI et al.<sup>7</sup>, 1993; NAGAMINE et al.<sup>71</sup>, 1997; TANTBIROJN et al.<sup>90</sup>, 1997) e/ou pela sua ação antibacteriana (MEIERS & MILLER<sup>64</sup>, 1996), inibindo a produção de ácido pelas bactérias cariogênicas (SEPPÄ et al.<sup>82</sup>, 1992; COSTA et al.<sup>15</sup>, 1996). Esta propriedade antibacteriana tem sido correlacionada com a liberação de F (SEPPÄ et al.<sup>82</sup>, 1992; FRIEDL et al.<sup>38</sup>, 1997), contudo, dados na literatura não são conclusivos em estabelecer se o efeito antimicrobiano é devido exclusivamente a liberação deste elemento (DESCHEPPER et al.<sup>26</sup>, 1989; SEPPÄ et al.<sup>82</sup>, 1992).

Além do F, outros elementos são liberados pelos materiais ionoméricos, como por exemplo, o Al (ANDERSON & DAHL<sup>1</sup>, 1994, NAKAJIMA et al.<sup>72</sup>, 1997). Estudos *in vitro* tem mostrado que o F inibe a enzima ATPase (isolada de *S. mutans* e *L. casei*) e esta inibição pode ser potencializada na presença de diferentes concentrações de Al (STURR & MARQUIS<sup>86</sup>, 1990). Assim, a liberação simultânea de F e Al, pelos materiais ionoméricos, poderia provocar um efeito inibitório potencializado sobre as bactérias cariogênicas da placa dental, resultando em maior inibição do metabolismo das mesmas com conseqüente maior redução na progressão da lesão de cárie. Deste modo, este seria um efeito desejável na ação antimicrobiana dos materiais ionoméricos.

Por outro lado, sendo o F e Al componentes básicos desses materiais e podendo estes participar de maneira efetiva no potencial anticariogênico e particularmente no efeito antibacteriano, é fundamental o conhecimento da liberação destes elementos para a avaliação de materiais. Tendo em vista que a liberação de F por cimentos ionoméricos depende do meio em que eles são analisados (CARVALHO & CURY<sup>10</sup>, 1999), o mesmo deve ocorrer com a liberação de Al. Desta maneira, a liberação de F e Al deve ser estudada em meios de imersão adequados, para não haver risco de interpretações indevidas com relação ao potencial anti-cárie dos materiais.

Desde a sua introdução clínica, o cimento de ionômero de vidro tem sido crescentemente utilizado e amplamente estudado. No entanto, até o momento, não há na literatura trabalhos avaliando a importância da liberação simultânea F-Al no potencial anticariogênico de materiais odontológicos. Assim, este estudo teve como objetivos avaliar a liberação de F e Al em diferentes meios de imersão e verificar a existência de um efeito somatório do F + Al liberados pelos materiais na acidogenicidade de *S. mutans*.





## **REVISÃO DA LITERATURA**



## 2 REVISÃO DA LITERATURA



Com a finalidade de facilitar a compreensão e discussão do assunto, a revisão da literatura foi subdividida em alguns itens:

- 2.1- Utilização do flúor;
- 2.2- Atividade antimicrobiana do flúor;
- 2.3- Materiais ionoméricos;
- 2.4- Liberação de flúor;
- 2.5- Liberação de alumínio;
- 2.6- Atividade antimicrobiana de materiais odontológicos

Esta revisão não tem como finalidade esgotar o assunto em todos os itens, mas sim, introduzir o leitor nos seus aspectos mais relevantes.

## 2.1 Utilização do flúor

A Odontologia passou por grandes mudanças conceituais no século XX. Entre elas, uma das mais significativas em termos de saúde, foi o entendimento da cárie dental como doença, seu tratamento e prevenção. A medida de maior impacto para o controle do desenvolvimento da cárie tem sido o uso do F. Embora o seu uso isolado não impeça o desenvolvimento da cárie, mas somente reduza a sua progressão, o declínio mundial da manifestação desta doença tem sido atribuído ao uso abrangente de uma ou mais formas de utilização de F (CURY<sup>21</sup>, 2000).

Atualmente, há um consenso de que o F importante é aquele mantido constante na cavidade bucal, o qual é capaz de interferir com a dinâmica do processo cárie, reduzindo a quantidade de mineral perdido quando do fenômeno de desmineralização e ativando a quantidade resposta quando da remineralização salivar. Embora o F não impeça a iniciação da doença, pois não é capaz de eliminar os fatores responsáveis, ele é extremamente eficiente para reduzir sua progressão<sup>21</sup>.

Dentre as armas e opções para o controle da doença cárie que estão disponíveis para o cirurgião-dentista podemos citar os materiais ionoméricos e liberadores de F, que contemplam os conceitos atuais de mecanismo de ação do F, pela propriedade de liberação constante e em pequenas concentrações para interferir com a progressão de cárie<sup>21</sup>. Além de sua ação interferindo nos processos físico-químicos do esmalte (inibindo a desmineralização e ativando a remineralização)<sup>21</sup>, o F é conhecido por reduzir a capacidade da bactéria cariogênica produzir ácidos (acidogenicidade) a partir de carboidratos fermentáveis (MALTZ & EMILSON<sup>60</sup>, 1982). Embora muitos estudos laboratoriais e clínicos mostrem este efeito, ainda não foram apresentadas evidências convincentes e consistentes que relacionem este efeito com a redução da cárie em humanos (CLARKSON et al.<sup>13</sup>, 1996).

Os principais mecanismos de ação do F sobre bactérias bucais serão abordados no próximo item.

## 2.2 Atividade antimicrobiana do flúor

Mais de 50 anos se passaram desde a 1ª demonstração da inibição do metabolismo de carboidrato por concentrações baixas de F, em culturas puras de *S. mutans* e de lactobacilos (HAMILTON & BOWDEN<sup>47</sup>, 1996). Desde então, um significativo número de trabalhos a respeito dos efeitos do F sobre vários processos bioquímicos em bactérias bucais e da placa dental tem sido realizado. Hoje, as evidências indicam que o F possui vários efeitos indiretos e diretos sobre a bactéria, sendo que alguns deles têm uma significativa influência sobre os microrganismos produtores de ácidos na placa dental (HAMILTON<sup>46</sup>, 1990).

O primeiro efeito direto do F é sobre o metabolismo energético de bactérias. Existe uma concordância geral que o F interage com a bactéria rapidamente e este fenômeno é dependente do pH. A entrada do F na bactéria acontece sem gasto de energia e aumenta à medida que o pH diminui. O flúor penetra na forma não ionizada, HF, sendo esta a forma na qual, a membrana da bactéria é permeável. Com a queda do pH ambiental, devido a formação de ácido do metabolismo de carboidratos por bactérias acidogênicas, a diferença de pH intracelular e extracelular aumenta e o F (como HF) vai entrar e se acumular dentro da célula até que não exista mais esta diferença. A entrada do HF num citoplasma mais alcalino resulta na dissociação em  $H^+$  e  $F^-$ . A dissociação do HF dentro da célula tem 2 efeitos principais e distintos na fisiologia da célula: 1- a liberação de  $F^-$  que interage com constituintes celulares, incluindo várias enzimas sensíveis ao F, causando a inibição da atividade destas e 2- liberação de  $H^+$ , que resulta na acidificação do citoplasma. Consequentemente, a diminuição do pH intracelular resultante da entrada do HF vai deixar o citoplasma menos favorável para a atuação de enzimas essenciais. A acidificação do citoplasma provocada pelo F é reconhecida como um fator significativo na inibição do crescimento e do metabolismo das bactérias e, consequentemente, no potencial cariogênico. Normalmente os prótons são jogados para fora da célula através de uma enzima presente na membrana (ATPase) e via efluxo de produtos finais, entretanto, o F também interfere nesses dois processos<sup>46</sup>.

Um outro efeito direto do F é sobre a via glicolítica. O açúcar é a principal fonte de energia da microbiota na placa dental. Esta via utiliza a glicose como fonte de energia para uma cadeia de reações para o crescimento celular, e para os vários processos que mantêm a

integridade celular e a homeostase, tendo como produto final, ácidos, os mesmos que vão fazer com que o pH da placa diminua e ocorra todo o processo de desmineralização do esmalte, resultando num processo de cárie. Então, os produtos da via glicolítica são: ATP para o metabolismo celular e ácidos como produtos finais. O principal e o mais estabelecido objetivo do F na via glicotítica é a inibição da metaloenzima enolase (que catalisa a reação de 2 fosfoglicerato em fosfoenolpiruvato) que requer  $Mg^{++}$  para a sua atividade. O F formando complexos com o  $Mg^{++}$ , remove-o do seu sítio catalítico, inibindo a atividade desta enzima. Consequentemente, esta inibição promoverá a redução da produção de ácidos e também da produção de ATP pela célula<sup>46</sup>.

As bactérias acidogênicas possuem um importante mecanismo de manter a homeostase do pH intracelular durante o metabolismo que gera ácido. As enzimas celulares normalmente trabalham numa faixa estreita de pH e a acidificação do citoplasma reduziria severamente a atividade metabólica necessária para o crescimento e viabilidade. Um dos mecanismos que os estreptococos orais possuem é o bombeamento de prótons para fora da célula através da bomba ATPase (uma proteína de membrana que bombeia os prótons para fora da célula energizada pela hidrólise do ATP) e pelo efluxo do produto final<sup>46</sup>. Pesquisadores tem mostrado que a enzima ATPase é importante na manutenção da tolerância ácida de bactérias bucais, permitindo que bactérias acidúricas, como o *S. mutans*, metabolizem carboidratos em baixo pH sobre a superfície do dente (HAMILTON & BUCKLEY<sup>48</sup>, 1991). A ATPase de bactérias bucais é diretamente inibida pelo F (SUTTON et al.<sup>87</sup>, 1987), e como consequência, a homeostase do pH celular vai ser comprometida principalmente em ambientes com valores baixos de pH. Esta quebra da regulação intracelular de pH é um significativo fator no efeito antimicrobiano do F e ilustra seus múltiplos efeitos na fisiologia da célula<sup>46</sup>. Em acréscimo, estudos sobre a ATPase têm indicado que a ação do F na inibição desta enzima é potencializada por diferentes concentrações de Al (STURR & MARQUIS<sup>86</sup>, 1990). O segundo mecanismo pelo qual a célula bombeia os prótons para fora da célula é o chamado efluxo do produto final, processo no qual os prótons são expulsos da célula juntamente com produtos metabólicos finais, como o ácido láctico<sup>94</sup>.

O bombeamento de prótons para fora da célula promove um gradiente de pH entre o meio interno e externo, assim como um gradiente elétrico. A energia potencial nesses gradientes conhecida como força próton motora, pode ser utilizada para fazer trabalhos biológicos, como a

síntese de ATP, movimento flagelar, ou transporte de glicose para dentro da célula. Essas reações contribuem significativamente para a conservação da energia metabólica na bactéria e para a manutenção da homeostase do pH da célula. Além da energia, esses processos requerem a presença de íons potássio. Assim, o F<sup>-</sup> aumentado a permeabilidade da membrana celular a prótons e dissipando o gradiente de pH, inibe os processos dependentes da força próton motora<sup>46</sup>.

Dentre os efeitos indiretos podemos destacar a inibição do transporte de açúcar para dentro da bactéria pelo Sistema Fosfotranferase. *Streptococos* orais e bactérias acidogênicas transportam glicose e outros mono e dissacarídeos via Sistema Fosfotransferase, que é um sistema de transporte ativo, que utiliza-se da energia fornecida pelo fosfoenolpiruvato para promover o transporte e fosforilação do açúcar na superfície interna da bactéria, resultando na formação de glicose-6-P intracelular. Em um estudo com *S. salivarius* e *S. mutans*, adicionando-se F<sup>-</sup> a estas células, foi observada uma severa redução de glicose-6-P intracelular. Uma vez que as enzimas envolvidas no Sistema Fosfotranferase não são inibidas pelo F<sup>-</sup>, atribuiu-se a inibição da formação da glicose-6-P à redução de fosfoenolpiruvato disponível, devido à inibição da enolase. Entretanto, esta inibição depende da concentração de F<sup>-</sup><sup>46</sup>.

Outros efeitos sobre as bactérias tem sido relatados, como por exemplo, inibição da síntese de glicogênio, inibição da síntese de outras metaloenzimas (fosfatases, pirofosfatases e fosforilases), entre outros<sup>46</sup>.

### 2.3 Materiais ionoméricos

Neste item, uma breve descrição desses materiais será dada, com o objetivo de mostrar as características básicas bem como padronizar uma classificação para a utilização neste trabalho.

A constante busca de um material que fosse compatível com as estruturas dentárias e que restabelecesse as funções e a estética perdidas por lesões de cárie levou ao desenvolvimento, na década de 70, do cimento de ionômero de vidro (CIV).

WILSON & KENT<sup>103</sup> (1972) idealizadores do material, consideraram-no um cimento que associava as boas características do pó do cimento de silicato (resistência e capacidade de liberar flúor) às do líquido do cimento de poliacrilato (biocompatibilidade e aderência às estruturas dentárias). Apesar de ser considerado um material biocompatível, adesivo e anticariogênico, o

cimento de ionômero de vidro original apresentava qualidades físicas pobres, sendo, por isto, indicado unicamente para restaurações produzidas por abrasão ou por erosão localizadas na região cervical do dente.

As principais vantagens do uso dos cimentos de ionômero de vidro são as suas propriedades de adesividade ao esmalte e à dentina, biocompatibilidade pulpar e liberação de flúor. Talvez a maior vantagem seja o seu potencial de liberar flúor<sup>66</sup>. Em contrapartida, a principal desvantagem deste material, é a baixa resistência ao desgaste.

Os cimentos de ionômero de vidro foram inicialmente comercializados na Europa, em 1975 e desde então vem sofrendo inúmeras alterações, com a finalidade de melhorar as suas propriedades. A fórmula original do material era um pó constituído por partículas de vidro formadas de  $\text{SiO}_2$  (30,1%),  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (19,9%),  $\text{CaF}_2$  (34,5%),  $\text{AlF}_3$  (2,6%),  $\text{NaF}$  (3,7%) e  $\text{AlPO}_4$  (10%) e uma solução aquosa de ácido poliacrílico. Hoje, diferentes tipos de CIV estão disponíveis e com amplas indicações (WILSON & McLEAN<sup>104</sup>, 1988).

Os cimentos de ionômero de vidro convencionais são compostos de pó (cujos componentes essenciais são: sílica, alumina e fluoreto de cálcio) e de líquido (solução aquosa de ácidos polialcenólicos), que, quando misturados, iniciam-se uma reação de presa do tipo ácido/base para formar um sal de hidrogel, que atua como uma matriz de ligação (NAVARRO & PASCOTTO<sup>73</sup>, 1998).

O CIV continuou a ser aprimorado e surgiram os chamados cimentos anidros, nos quais os poliácidos foram liofilizados e agregados ao pó. Assim, o líquido passou a ser água ou então, solução aquosa a 10% de ácido tartárico (acelerador de presa)<sup>73</sup>.

Em meados da década de 80, foi sugerida a inclusão de liga de amálgama na proporção de 1:1 por peso ou 1:7 por volume de liga e pó de ionômero, visando um aumento na resistência final do cimento e foi chamado de cermet<sup>73</sup>.

A última inovação foi a inclusão de componentes resinosos que resultou nos CIVs modificados por resina. As principais vantagens em relação ao CIV convencional são: as características de endurecimento melhoradas, obtenção de alta resistência inicial, maior resistência total e melhor estética inicial. Por outro lado, também apresentam desvantagens como maior contração de polimerização e mudança de cor após 1 a 2 anos de inserção das restaurações em estudos clínicos<sup>73</sup>.



Em 1994, McLEAN et al.<sup>63</sup> sugeriram a seguinte denominação para os materiais:

- Cimentos de ionômero de vidro – reservado exclusivamente para os materiais que consistem de um vidro ácido-decomponível e ácido solúvel em água, os quais sofrem uma reação de neutralização. O termo cimento de ionômero de vidro engloba dois subgrupos: os polialcenoatos de vidro e os polifosfonatos de vidro;
- Cimentos de ionômero de vidro modificados por resina – esses materiais além das partículas de vidro e ácidos polialcenóicos incluem monômeros de resina que polimerizam através de uma ativação por luz para uma reação inicial que é seguida pela reação ácido-base, que também acontecerá mesmo na ausência de luz. Retêm uma significativa reação ácido-base, além de um processo de fotopolimerização;
- Resina composta modificada por poliácido – materiais que apresentam componentes essenciais do cimento de ionômero de vidro, mas em níveis insuficientes para promover uma reação ácido-base no escuro, conhecidos por compômeros.

Em 1998, de maneira mais abrangente, NAVARRO & PASCOTTO<sup>73</sup> sugeriram uma classificação dos CIVs quanto à natureza química, em 3 categorias principais:

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

As mesmas autoras<sup>73</sup> sugerem a existência de outras categorias de materiais, que são erroneamente chamados de ionômero de vidro, já que não apresentam a reação ácido-base típica dos cimentos ionoméricos, que são:

- ◆ Resina composta modificada por poliácido, também conhecida como compômero;
- ◆ Resina composta modificada por ionômero.

## 2.4 Liberação de flúor

O flúor é um elemento essencial na formulação do cimento de ionômero de vidro. Dois tipos de F ( $\text{CaF}_2$  e  $\text{Na}_3\text{AlF}_6$ ) são incluídos na formulação deste material e estes agem reduzindo a temperatura de fusão. Além disso, o F aumenta significativamente a resistência do cimento, melhora as características de trabalho e aumenta a translucidez do cimento (WILSON & McLEAN<sup>104</sup>, 1988). CRISP & WILSON<sup>18</sup> (1974), estudando as reações químicas que ocorrem no CIV relataram que o nível de fluoreto é importante e este deve estar na forma cristalina (como fluorita) para ser eficientemente extraído pelo poliácido. Se isto não ocorresse, a temperatura do sistema aumentaria rapidamente e o cimento não seria viável para a manipulação clínica. De acordo com VERBEECK et al.<sup>98</sup> (1998), o F liberado pelo cimento endurecido teria origem de quatro fontes: 1- partículas de vidro contendo F que ainda não foi atacado pelo ácido; 2- a fase de gel de sílica resultante da reação ácido-base e que recobre as partículas de vidro; 3- a matriz de polissais onde os íons F podem estar ligados fortemente a íons metálicos, especialmente ao alumínio; e 4- o líquido, no qual os íons F estão fracamente unidos e livres para se mover.

Estudos têm demonstrado que a liberação de F pode ser influenciada por uma série de variáveis relacionadas ao preparo do material, ao meio de imersão, modelo experimental e método de análise. Ao avaliar alguns fatores relacionados com a liberação de F por CIVs, CRANFIELD et al.<sup>16</sup> (1982) verificaram que a proporção pó/líquido, o pH do meio e a geometria do corpo de prova utilizado nos testes *in vitro* poderiam interferir na liberação. Por outro lado, FUKAZAWA et al.<sup>39</sup> (1987) avaliando os mecanismos de erosão de CIVs em solução tampão ácida mostraram que a eluição de F, Al, Si e Ca por esses materiais é proporcional à raiz quadrada do tempo de imersão, não depende da forma ou volume do corpo de prova, e sim da sua área superficial e não é afetada pela agitação da solução. Utilizando outro modelo de estudo, o modelo de cavidade, que consiste de uma simulação da condição *in vivo* onde somente uma superfície do material testado está em contato com o meio, o qual não é trocado através de um filtro permeável, enquanto que uma camada de pó de dentina simula a dentina *in vivo*, MERYON & SMITH<sup>65</sup> (1984) demonstraram existir diferenças entre as diferentes marcas comerciais de CIV

(Aspa, Chem Fil e Chem Bond) em relação aos níveis de liberação de F, a despeito da similaridade na composição dos materiais. Além disso, os autores concluíram que a liberação de F não parece estar relacionada com a proporção pó:líquido, e nem com o conteúdo de F extraído do pó do material.

MESU<sup>66</sup> (1982) estudou fatores que podem interferir na resistência à dissolução e à desintegração de CIV. Este autor mostrou que a degradação parece ser um processo que segue a sequência de absorção, desintegração e dissolução. Fatores tais como o cimento, a molaridade e o pH do meio e na maior parte, a interação destes, afetam a velocidade de degradação dos materiais. Segundo CRISP et al.<sup>19</sup> (1980) a dissolução de materiais é definida como a quantidade de material que passa para a solução (material solúvel em água) e a desintegração como quantidade de produtos de decomposição insolúveis formados. Assim, a erosão total do material é a soma da dissolução mais a desintegração. Os autores estudando alguns materiais, entre eles, os CIVs Aspa I, II, III e IV, verificaram que a taxa de dissolução em água no primeiro dia é maior e que o F é liberado para a solução em meio ácido e neutro, sendo maior em condição ácida.

Outro fator que pode interferir na liberação de F é o processo de mistura do cimento. VERBEECK et al.<sup>99</sup> (1993) estudaram a liberação de F de CIVs restauradores espatulados manualmente (Fuji II) e encapsulados (Fuji CapII), em água destilada e deionizada a 37°C, sob agitação. Para os dois cimentos os autores observaram uma alta taxa de F liberados no início e, após, uma drástica queda tendendo à estabilização. Além disso, os autores observaram que no processo de liberação ocorrem duas reações: a primeira é uma erosão que ocorre rapidamente a curto prazo, cessando após certo tempo, e a segunda é através de troca iônica, mais vagarosa e prolongada. Foi concluído neste estudo que o processo de mistura do CIV influencia drasticamente na liberação de F, tanto a curto como a longo prazo.

De acordo com VERBEECK et al.<sup>98</sup> (1998) o F liberado depende do tempo de maturação que é definido como o tempo corrido entre o início da reação ácido-base e reação de presa e o momento em que o cimento entra em contato com a solução aquosa. Esse efeito ocorre provavelmente devido à perda de formas relativamente solúveis de F durante o endurecimento do cimento e as fases de maturação, além das mudanças nos constituintes da matriz.

Vários estudos tem mostrado que a liberação de F ocorre tanto por CIVs convencionais ou modificados por resina, como por outros materiais liberadores de F. A maioria dos trabalhos é

realizada em laboratório, confeccionando corpos de prova de diferentes dimensões e colocando-os em um meio de imersão, que na maioria dos trabalhos é a água deionizada.

CRISP et al.<sup>20</sup>, em 1976, avaliaram pela primeira vez a liberação de F por 2 CIVs: Aspa I e Aspa II, em água deionizada, durante 13 semanas. Os resultados mostraram que embora a liberação de F tenha diminuído com o tempo, esta não cessou durante o período testado. Os autores verificaram ainda que as principais espécies químicas liberadas dos CIVs foram a sílica e íons sódio e F, os quais não são importantes para a estrutura do cimento e não afetam sua desintegração.

Estudos comparando a liberação de F entre cimento de silicato e CIV (Aspa) mostraram que este último liberou mais F (FORSTEN<sup>35</sup>, 1977; MALDONADO et al.<sup>59</sup>, 1978) em todo o período experimental. Para FORSTEN<sup>35</sup> (1977), o maior conteúdo de F do CIV poderia explicar a maior liberação. MALDONADO et al.<sup>59</sup> (1978) sugeriu que o CIV poderia ser tão efetivo quanto o cimento de silicato em inibir cáries secundárias.

HÖRSTED-BINDSLEV & LARSEN<sup>49</sup> (1990) determinaram a liberação de F de CIVs convencionais (Fuji II e GC Fuji II) e reforçados com prata (Chelon Silver, Ketac-silver e Miracle Mix). A liberação de F foi determinada em água destilada nos períodos de 15, 30 e 45 minutos, 24 horas e 100 dias após a espatulação. Foi observado que até os 30 minutos, a liberação dos CIV convencionais foi superior à dos reforçados. Além disso, após 100 dias, o Miracle Mix e o Fuji II liberaram significativamente mais F que o Ketac-silver, o qual, por sua vez liberou mais que o GC Fuji II e Chelon Silver. Os autores admitem que a determinação da liberação de F por CIVs em água deionizada não representa o que realmente acontece no ambiente oral, e que nem mesmo a saliva artificial é ideal para isto pois assim, não há o efeito da película e placa que podem agir como uma barreira de difusão.

CREANOR et al.<sup>17</sup> (1994) investigaram a liberação de F por 5 CIV (Ketac-fil, Chem-fil Superior, Fuji II LC, Aquacem e Vitrebond) em água deionizada por um período de 60 dias. Verificaram uma ampla faixa de liberação no primeiro dia (15,3 – 155,2 ppm). No segundo dia houve uma queda brusca da liberação por todos os materiais, sendo que todos liberaram F até o fim do experimento, porém em menor proporção.

COSTA<sup>14</sup> (1995) realizou um trabalho para avaliar a liberação de F por CIV convencionais (Chelon-fil e Chelon-silver) e modificados por resina (Variglass e Vitremer) em água destilada

deionizada. A liberação foi avaliada diariamente por 14 dias. Os resultados mostraram que neste período o Chelon-fil liberou maiores quantidade totais de F, seguido pelo Vitremer, Chelon-silver e Variglass. Todos os materiais apresentaram o mesmo padrão de liberação de F, sendo esta maior nas primeiras 24 horas.

DE ARAÚJO et al.<sup>24</sup> (1996) estudaram a liberação de F por materiais ionoméricos (Chelon-fil, Chelon-silver, Variglass, Dyract, Vitremer, Vitremer + Scotchbond Multi-Purpose e Fuji II LC em água deionizada. Os resultaram mostraram que todos os materiais liberaram F em todo o período experimental, com variações quantitativas entre os materiais. A liberação de F nos dias 1 e 2 foi significativamente maior que no resto dos dias para todos os materiais, exceto para o Chelon-silver, que liberou quantidades similares de F nos dias 2, 3, 4 e 5.

MUSA et al.<sup>70</sup> (1996) avaliaram a liberação de F por 4 CIVs modificados por resina (Variglass, Vitremer, Fuji II LC e Chemfil Superior) e um CIV convencional (Photacfil) em água deionizada. Os resultados mostraram que a formulação de materiais modificados por resina influenciaram a liberação de F. Photacfil liberou mais F que todos os demais, enquanto que Vitremer, Fuji II LC e Chemfil Superior liberaram quantidades semelhantes. Variglass liberou as menores quantidades de F. Isso sugere que existe uma variação considerável na liberação de F entre materiais de origem genérica similar.

BALA et al.<sup>3</sup> (1997) avaliaram a liberação de F por 6 materiais (Ionofil, Vivaglass Liner, Fuji II LC, Tetric, Dyract e Compoglass) e 1 resina composta (Heliomar RO) durante o período de 90 dias, em água deionizada. Os resultados mostraram que a quantidade de F liberado variou entre os materiais estudados. Os CIVs convencionais e modificados por resina liberaram mais F que as resinas e os compômeros ( $p < 0,05$ ) e estes liberaram mais F que a resina composta.

SHAW et al.<sup>84</sup> (1998) investigaram a liberação de F diária por 2 CIVs (Ketac-fil e Chemfil Superior) e dois compômeros (Compoglass e Dyract) durante 6 meses em água deionizada. Os resultados mostraram que os corpos de prova imersos em água atingem um equilíbrio rapidamente, sugerindo que a taxa na qual o meio de imersão é trocado pode alterar a taxa de liberação relativa de F desses materiais. A liberação de F por CIV é inicialmente maior que os compômeros e esta cai rapidamente aproximando-se dos níveis liberados pelos compômeros. Além disso, os compômeros não produziram uma alta liberação de F inicial e os níveis mantiveram-se relativamente constantes.

Todos os estudos relatados anteriormente foram realizados utilizando a água como meio de imersão. De acordo com EL MALLAKH & SARKAR<sup>28</sup> (1990), este meio não representaria o processo de liberação *in vivo*, considerando a composição química da saliva natural e a complexidade do meio bucal. Então, esses autores compararam a quantidade e o padrão de liberação de F por CIV em água deionizada e saliva artificial por 60 dias. Foram utilizados os materiais Ketac-fil, Ketac-silver, Fuji Type II e Miracle Mix. Os autores observaram maior liberação de F destes materiais em água deionizada que em saliva artificial e que os CIVs convencionais liberam mais F que os reforçados com prata. Da mesma maneira, GLOCKMANN et al.<sup>42</sup> (1997), avaliando a liberação de F por um período de 96 semanas, encontraram que a liberação em água foi significativamente maior que em saliva, para todos os materiais. Além disso a liberação variou com o tempo, sendo os maiores valores encontrados no primeiro dia. Os autores observaram também que a liberação de F por compômeros foi significativamente menor comparados com os CIVs convencionais e modificados por resina. WANDERA et al.<sup>101</sup> (1996) compararam 5 materiais odontológicos quanto à liberação de F, durante nove semanas, em água destilada e saliva artificial. Os autores também encontraram valores inferiores de liberação de F para todos os materiais no meio saliva artificial.

Considerando que os meios água e saliva artificial não simulem da melhor maneira a condição bucal *in vivo*, outros autores propuseram o estudo com outros meios de imersão. CURY et al.<sup>23</sup> (1993) avaliaram a liberação de F de selantes em água destilada e desmineralizada, saliva artificial (pH 7,0) e num modelo de ciclagem de pH com soluções desmineralizante (Des)- pH 4,3 e remineralizante (Re)- pH 7,0, onde os corpos de prova permaneciam 6 horas na solução Des e 18 horas na Re, durante 14 dias. Os resultados mostraram liberação maior em Des-Re do que em água e saliva. Os autores concluíram que a liberação de F é diferente nos meios estudados, sendo observadas concentrações cariostáticas significantes. Em 1999, utilizando os mesmos meios de imersão CARVALHO & CURY<sup>10</sup> (1999) avaliaram a liberação de F por 5 materiais restauradores (Chelon-fil, Vitremer, Variglass, Dyract e Tetric). Os resultados mostraram que houve maior liberação no meio des-remineralizante e a menor liberação no meio saliva artificial. Além disso, o comportamento de liberação de F de cada material variou dentro de cada meio estudado. Assim, os autores concluíram que a liberação de F de cada material depende do meio de avaliação estudado.

LAVIS et al.<sup>56</sup> (1997) avaliaram a liberação de F pela resina composta modificada por poliácido (Dyract) após a imersão em soluções com pH 3,0, pH 5,0 e pH 7,0 por um período de 16 semanas. A maior liberação de F foi encontrada no meio de pH 3,0 após uma semana, mantendo-se alto por 7 semanas e reduzindo para cerca de 50 % da liberação inicial após esse período. A liberação em água deionizada com pH 5,0 foi aproximadamente 5 ppm após uma semana.

GILMOUR et al.<sup>41</sup> (1994) investigaram a liberação de F por 3 materiais restauradores após a imersão em um sistema bacteriano. Foram confeccionados 6 corpos de prova de amálgama (Dispersaloy), uma resina composta contendo F (Heliomolar RO) e um CIV (Chem-fil II) que foram suspensos em um caldo enriquecido com sacarose inoculado com *S. mutans*, por um período de 7 dias. Os resultados mostraram que o CIV liberou quantidades de F ( $3,95 \pm 0,95 \mu\text{M/L}$ ) significativamente maiores que os demais materiais. Os autores sugeriram que a quantidade de F liberada pelo CIV pode exercer um papel protetor, o que não ocorre com o amálgama e a resina composta que contém F.

A liberação de F também tem sido estudada *in vitro* utilizando dentes e não corpos de prova. FORSS & SEPPÄ<sup>32</sup> (1990), utilizando três CIVs (Fuji II, Ketac-fil, Ketac-silver) e uma resina composta (Silar) submeteram os dentes restaurados a tratamento de des/remineralização e quantificaram o F liberado pelos materiais na solução remineralizante (saliva artificial), após 1, 3, e 9 dias. Paralelamente à análise de liberação de F, os autores avaliaram também o conteúdo de F adjacente às cavidades inicialmente e após a des/remineralização, realizando biópsias da região. A concentração de F inicial foi de 2200 ppm. Após o tratamento, foram detectadas concentrações estatisticamente diferentes, de 1922, 1690, 1693, 1337 e 888, respectivamente para os grupos com o Fuji II, Ketac-fil, Ketac-silver, Silar e controle (sem restauração). Em concordância com esses achados, verificaram menor amolecimento do esmalte superficial em dentes restaurados com Fuji II e Ketac-fil que nos restaurados com Ketac-silver. Através deste modelo experimental, as autores concluíram que as restaurações de CIVs podem prevenir a desmineralização do esmalte adjacente.

MODESTO et al.<sup>68</sup> (1997) quantificaram a liberação de F por restaurações proximais e a incorporação pelo esmalte do dente adjacente. Neste estudo utilizaram 60 molares divididos em 3 grupos: C- controle, dentes sem restauração; RC- dentes com restauração de resina composta; e

RCMP- dentes restaurados com resina composta modificada por poliácido. Os grupos foram submetidos a um alto desafio cariogênico em soluções desmineralizantes e remineralizantes por 14 dias. O F liberado para as soluções e o F incorporado pelo esmalte do dente adjacente foram determinados. Os resultados mostraram que as maiores concentrações de F foram encontradas nas soluções des e remineralizantes do grupo RCMP ( $p < 0,01$ ), sendo os maiores valores na solução desmineralizante. Ao longo dos 14 dias, a média de liberação gradualmente diminuiu. Além disso, o grupo PMRC também mostrou as maiores médias de incorporação de F, que gradualmente diminuiu em maior profundidade do esmalte. Os autores concluíram que as restaurações de resina composta modificadas por poliácido são capazes de liberar F que é capaz de ser incorporado pelo dente adjacente, sugerindo que o uso deste material pode controlar a cáries em dentes adjacentes.

ASHCRAFT et al.<sup>2</sup> (1997) avaliaram a liberação de F por 3 CIVs modificados por resina quando utilizados na fixação de braquetes ortodônticos em dentes extraídos durante um período de 42 dias *in vitro*. Os resultados mostraram que os CIVs estudados apresentaram padrão de liberação de F semelhantes, com valores altos no primeiro dia de imersão.

FORSTEN<sup>37</sup> (1998) em recente publicação a respeito da liberação de F por CIVs e materiais relacionados e seu efeito clínico, relata que a liberação de F a longo prazo por CIVs convencionais têm mostrado manter-se em níveis constantes por pelo menos 8 anos. Da mesma maneira os CIVs modificados por resina liberaram F na mesma proporção e de maneira similar, enquanto que os compômeros não apresentaram um efeito inicial explosivo de liberação.

Além da liberação de F, uma outra característica de troca iônica do CIV é a absorção de F, o qual pode ser liberado subsequentemente. FORSTEN<sup>36</sup> (1991) estudou a liberação e incorporação de F por CIV, após manter os corpos de prova em solução tamponada (pH 7,0) 50 ppm de F, por 7 dias. Foi observado que esses materiais conseguem incorporar o F, o que não ocorre com a resina composta. Da mesma maneira, CREANOR et al.<sup>17</sup> (1994), estudando a características de liberação e incorporação de F de CIV, expondo os corpos de prova a solução de F a 1.000 ppm por 2 minutos, encontraram resultados favoráveis de incorporação de F.

BILGIN & OZALP<sup>8</sup> (1998) avaliaram a liberação de F de 3 tipos diferentes de CIVs e após a exposição a solução de NaF e gel de flúor fosfato acidulado. Após a exposição a solução de NaF e APF gel, todos os CIVs foram recarregados mas os corpos de prova expostos a APF gel



foram estatisticamente mais recarregados que a solução de NaF. Os autores concluíram que CIVs podem agir como um recarregador e ao mesmo tempo liberar lentamente o F, podendo ser recomendados como uma medida preventiva em pacientes com cáries ativas.

Os estudos de ASHCRAFT et al.<sup>2</sup> (1997) e YOUNG et al.<sup>109</sup> (1996) mostraram que materiais utilizados para cimentação de aparatos ortodônticos também mostraram a capacidade de incorporação de F e posterior liberação. O recarregamento de F foi realizado utilizando para o primeiro trabalho, gel de fluoreto estanhoso por 30 segundos e para o último, solução de NaF 1.000 ppm por 10 minutos. ASHCRAFT et al.<sup>2</sup> sugeriram que esta propriedade pode ajudar a reduzir ou possivelmente até prevenir as descalcificações vistas ao redor de braquetes ortodônticos.

Segundo VERBEECK et al.<sup>98</sup> (1998), tanto o ionômero convencional quanto o modificado por resina apresentam aumento de liberação de F após uma recarga em solução de fluoreto de sódio, mas esta concentração decresce aos níveis normais em 4 ou 5 dias. Entretanto, existe uma diferença marcante entre os dois tipos de materiais: enquanto o ionômero de vidro convencional tem uma quantidade acumulada de F liberado quase independente do tempo em que houve o recarregamento, no material modificado por resina, as quantidades de F liberado aumentam a cada recarregamento.

## **2.5 Liberação de alumínio**

Relativamente poucos estudos em relação à liberação de Al foram encontrados na literatura. Os primeiros trabalhos que relataram que o Al era liberado pelo CIV foram estudos sobre a erosão. CRISP et al.<sup>20</sup>, em 1976, em um estudo de 3 meses sobre a erosão de 2 tipos de cimentos ASPA, avaliaram a eluição de diferentes íons, entre eles o Al. Corpos de prova foram colocados em 50 mL de água desmineralizada por 13 semanas. Neste estudo a liberação de Al foi detectada somente nas primeiras 23 horas do experimento. Após esse tempo a liberação não foi mais detectada.

FORSS<sup>31</sup> (1993) também com o objetivo de verificar a erosão, comparou a liberação de F, Na, Si, Ca, Sr e Al por 5 CIVs modificados por resina (Baseline VLC thick mix, Baseline VLC thin mix, Fuji Lining LC, Vitrebond e XR Ionomer) com 2 CIVs convencionais (Ketac-fil Aplicap e Ketac-silver). Os corpos de prova foram primeiramente imersos em água deionizada

por 16 dias, seguido de mais 16 dias em ácido láctico 0,01M (pH 4,0). Após esse tempo, os corpos de prova foram imersos novamente em água por 122 dias. Durante o primeiro dia, foi liberada alta quantidade de Al pelo XR Ionomer ( $63,68 \mu\text{g Al /cm}^2$ ), menor quantidade por Baseline VLC (thick- $13,04$  e thin-  $21,32 \mu\text{g Al /cm}^2$ ), Vitrebond ( $8,48 \mu\text{g Al /cm}^2$ ) e Ketac-fil Aplicap ( $23,04 \mu\text{g Al /cm}^2$ ). XR Ionomer e Ketac-fil Aplicap liberaram Al até o último dia do estudo. Além disso, no ácido láctico, todos os materiais liberaram Al, sem exceção.

Preocupados com a citotoxicidade do CIV, podendo provocar sensibilidade dental, BAPNA & MUELLER<sup>4</sup> (1994) estudaram a liberação de F, Ca, Al e Si e o pH do meio, por 4 CIV, em 3 condições diferentes em relação à presa do material: 1- corpos de prova após a reação de presa (após 15 minutos da manipulação); 2- cimento sem ter tomado presa (após 2 minutos da manipulação) e 3- cimento sem ter tomado presa (a menos de 1 minuto da manipulação). Todas as amostras foram colocadas em 5 mL de água destilada, por 15 minutos e as amostras analisadas. Os resultados mostraram que a liberação dos íons em cimento sem ter tomado presa, mostraram valores mais altos e esses valores diminuíram à medida que se aproximaram da condição 1, exceto para o pH, que mostrou uma tendência oposta. Todos os materiais liberaram Al nas 3 condições, sendo que a média variou de 12 a 23 ppm de Al para a condição 1 e 450 a 1.375 ppm Al para a condição 3.

Com o objetivo de estudar a liberação de Al por CIVs convencionais e modificados por resina, quando são expostos à água, em estágios precoces de presa do material, ANDERSSON & DAHL<sup>1</sup> (1994) verificaram que os CIVs convencionais liberaram maior quantidade de Al, quando imersos em solução de NaCl 0,7% por 60 minutos. Em acréscimo, os autores mostraram valores consideráveis de liberação de Al, quantidades variando entre 200-450 ppm em 5 mL de solução para alguns materiais.

NAKAJIMA et al.<sup>72</sup> (1997), avaliaram a interferência da liberação de alumínio por 5 cimentos ionoméricos convencionais (GC Lining Cement, Dentin Cement, Shofu Base Cement, Ketac-fil e Ketac-silver) sobre a determinação da concentração de F. Para tanto, foram confeccionados corpos de prova que foram imersos em 8 mL de água deionizada após 1 hora do início da manipulação. As concentrações de F e Al foram determinadas no meio de imersão, sendo a dosagem do F realizada utilizando diferentes soluções tampão, contendo diferentes descomplexantes. Os autores encontraram uma liberação de F e Al diferente para cada material e

uma correlação positiva ( $r^2=0,812$ ) entre a liberação de F e Al liberados pelos materiais estudados. Além disso, as concentrações de F medidas sem agente descomplexante foram significativamente inferiores às com este agente, dependendo da quantidade de Al na solução. Assim, concluíram que quando a liberação de F é determinada através de eletrodo específico, deve-se tomar cuidado com os procedimentos analíticos para evitar interferências do alumínio.

WILLIAMS et al.<sup>102</sup> (1997) avaliaram a liberação de íons por CIV reforçado por metais (Miracle-mix, Chelon-silver e Opus-silver), com tempos diferentes de maturação em água. Os resultados mostraram que o Al foi liberado por todos os materiais, em níveis prontamente detectáveis e foi confirmado que a imersão dos corpos de prova após curto período de maturação provoca uma alta liberação de íons para o líquido.

CHUNG et al.<sup>12</sup> (1998) identificaram e avaliaram a liberação de diferentes íons por CIV convencional. Corpos de prova foram imersos em 30 mL de água deionizada, em temperatura de 37°C após 3 minutos de sua manipulação. Foram determinadas as concentrações cumulativas de Al, Ca, Si, Sr, P e F nas soluções, desde 1 minuto até 168 dias. Foi observado uma diminuição acentuada de Al entre 30 e 60 minutos de imersão, entretanto, somente após 84 dias, observou-se a concentração cumulativa em um nível estável. Em relação ao F, Ca, Si, Sr foi encontrado este nível estável em 7 dias.

## 2.6 Atividade antimicrobiana de materiais odontológicos

A maioria dos trabalhos sobre atividade antimicrobiana de materiais odontológicos *in vitro* tem sido demonstrada em estudos utilizando o teste de difusão em ágar, que trata-se de uma prova de susceptibilidade a antimicrobianos, essencialmente qualitativa.

McCOMB & ERICSON<sup>62</sup> (1987) investigaram a atividade antimicrobiana de CIV (GC Lining) e outros materiais forradores (Prisma VLC Dycal, Dycal fórmula avançada e Life). A atividade antimicrobiana e a hemólise em ágar, foram medidas em placas de ágar-sangue inoculadas com *S. mutans*, *L. casei* e saliva estimulada, incubadas por 24 horas, 48 horas e 72 horas. Os materiais também foram avaliados 48 horas após o seu preparo. No estado fresco, o GC Lining produziu os maiores halos de inibição sobre os microrganismos testados, sendo capaz de inibir o crescimento de *S. mutans* inclusive após 48 horas do preparo. Os autores atribuíram a maior ação antimicrobiana do CIV ao baixo pH antes da presa e ao alto conteúdo de F do material.

SCHERER et al.<sup>79</sup> (1989) analisaram e compararam as propriedades antimicrobianas de 14 materiais odontológicos, sendo 4 CIVs restauradores (Ketac-fil, Ketac-silver, Fuji tipo II e Shofu tipo II) e 5 CIVs base/forradores (Ketac-bond, GC Lining, Shofu Lining, Shofu Base e Ziommer Lining). Os materiais foram expostos a 4 tipos de bactérias (*S. mutans*, *A. viscosus* e *S. salivarius*). Após a inoculação de placas de ágar sangue com os microrganismos testados, os materiais foram introduzidos em cavidades e incubados por 48 horas a 37°C em atmosfera necessária para cada bactéria. Todos os CIV restauradores analisados produziram zonas de inibição microbiana para todos os microrganismos testados, exceto o Fuji tipo II e o Shofu tipo II para o *S. salivarius*. Os CIVs restauradores exibiram as maiores zonas de inibição em relação ao *A. viscosus*, comparados com os cimentos forradores/base (exceto para o Ziommer). Ao discutir as razões para a atividade antimicrobiana dos CIVs, os autores consideraram importante, para os materiais restauradores, o baixo pH durante a reação de presa e a liberação de F, e para os materiais forradores, o conteúdo de óxido de zinco, além da liberação de F.

BARKHORDAR et al.<sup>5</sup> (1989) avaliaram a atividade antimicrobiana de 6 CIV forradores (Classic, Shofu Lining, GC Lining, Ever bond, Gingiva Seal e Ketac bond) sobre *S. mutans* e *S.*

*sanguis* em placas de ágar "triptic soy"-sangue semeadas. Os resultados mostraram que o GC Lining e o Ever bond produziram inibição significativamente maior do que os outros materiais testados e que todos os cimentos forradores foram significativamente mais tóxicos para o *S. sanguis* do que para o *S. mutans*. Os autores sugeriram que o grau de atividade antimicrobiana esteja relacionado ao baixo pH dos cimentos durante a reação de presa e ao F liberado pelos materiais.

DESCHEPPER et al.<sup>26</sup> (1989) avaliaram a atividade antimicrobiana de 11 CIVs, seus componentes individuais de pó e líquido e uma resina contendo ionômero de vidro e F sobre *S. mutans*, utilizando o teste de difusão em ágar "triptic soy". Os autores verificaram que todos os CIVs recém-preparados provocaram inibição para o *S. mutans*. A atividade antimicrobiana dos componentes líquidos que foi testada para mudanças de pH, foi totalmente perdida quando o pH foi ajustado para 5,0. A resina fotopolimerizável para forramento não mostrou atividade contra o *S. mutans* e não liberou concentrações inibitórias de F. Com base nesses resultados, os autores atribuíram a atividade antimicrobiana dos CIVs à acidez do meio ( $\text{pH} \leq 4,0$ ) provocada pelos compostos polialcenólicos e a liberação de F em concentrações superiores ao limite considerado inibitório para o crescimento de *S. mutans* (20 ppm). Sugeriram também que fatores adicionais estejam envolvidos no mecanismo de ação da atividade antimicrobiana dos CIVs.

DESCHEPPER et al.<sup>25</sup> (1989) avaliaram através do teste de difusão em ágar a atividade dos materiais forradores fotopolimerizáveis (Zionomer pó/líquido, Zionomer pasta/pasta, XR Ionomer, Vitrabond, Timeline e Cavalite) contra *S. mutans*. Foram também determinados o pH e a liberação de F no meio de cultura. Os resultados indicaram que a atividade antibacteriana foi dependente do baixo pH. Os autores concluíram que a liberação de F não deve ser tão importante para o mecanismo de ação, entretanto não pode ser descartada do papel antibacteriano desses materiais.

PALENIK et al.<sup>76</sup> (1992) avaliaram a inibição *in vitro* do crescimento e aderência de 5 bactérias (*A. viscosus*, *S. mitis*, *S. mutans*, *L. casei* e *S. sanguis*) por CIVs forradores (Vitrabond e XR Ionomer) e restauradores (Fuji Cap II, Ketac-silver e Miracle Mix). Os estudos sobre a inibição direta bacteriana foram realizados através do teste de difusão em ágar. Para os testes de inibição indireta, os corpos de prova foram colocados em ágar não inoculados por 48 horas, removidos e descartados e, a seguir, realizou-se a semeadura bacteriana. Para o teste de inibição

da aderência bacteriana foram restaurados incisivos bovinos esterilizados com os materiais em estudo e incubados em caldo de cultura contendo sacarose e inoculado com *S. mutans* por três dias. Os materiais aderidos foram corados e quantificados. Na tentativa de correlacionar a inibição do crescimento bacteriano e/ou formação de placa com a liberação de íons inorgânicos dos corpos de prova, quantificou-se o F liberado em solução salina estéril, por períodos de 8 horas, e 1, 3 e 7 dias. Os resultados do teste de inibição direta do crescimento bacteriano mostraram que em relação ao *S. mutans*, o Miracle Mix exibiu as maiores zonas de inibição enquanto que o Ketac-fil e o Ketac-silver, as menores. No teste de inibição indireta, nenhum material exibiu zona de inibição do crescimento bacteriano. Todos os 4 materiais restauradores reduziram significativamente o acúmulo bacteriano sobre a superfície do esmalte bovino quando comparados ao grupo controle não restaurado. Segundo os autores, as elevações dos níveis de F liberado a curto prazo estariam possivelmente correlacionadas com a inibição do crescimento bacteriano. A redução da aderência estaria relacionada à liberação de F e/ou prata ou a um pH inicial baixo dos materiais.

GARIB et al.<sup>40</sup> (1993) utilizando a metodologia de difusão em ágar, estudaram o efeito antimicrobiano de 5 CIVs restauradores (Ceram fil, Chelon fil, Chelon silver, Shofu Glassionomer e Vidrion R) frescos e após a presa contra *S. mutans* e a liberação de F no ágar. Os resultados mostraram que todos os CIVs frescos e após a polimerização, exceto Ceram-fil inibiram o crescimento bacteriano e em ambas condições também liberaram F em concentrações suficientes para produzir efeito antibacteriano contra *S. mutans* GS-5. Em ambas as situações ocorreu alta liberação de F pelo Vidrion, seguido pelo Chelon-fil, Shofu, Chelon-silver e Ceram-fil. Entretanto, não foi encontrada correlação entre a atividade antimicrobiana determinada pelo tamanho da zona de inibição no ágar e a liberação de F.

LOYOLA-RODRIGUEZ et al.<sup>57</sup> (1994) realizaram um estudo para identificar os fatores envolvidos na atividade antimicrobiana de vários CIVs forradores (Ketac cem, Photac bond, Fuji lining LC e Vitrabond) e restauradores (Fuji II tipo II, Fuji II LC, Miracle Mix, Ketac-fil, Ketac-silver, Variglass e Vitremer) sobre os estreptococos mutans. A atividade antimicrobiana foi avaliada em placas de ágar semeadas com 5 cepas de *S. mutans* e 3 cepas de *S. sobrinus* sobre as quais foram depositados os espécimes de cimentos recém-preparados. O efeito do pH e da liberação de F do cimento sobre os estreptococos mutans foi estudado em condição de pH ácido e

neutro. Os resultados mostraram que *S. sobrinus* foi mais sensível à atividade antibacteriana dos CIVs e a atividade inibitória estava associada com a liberação de F. No entanto, a atividade antimicrobiana não estava associada às mudanças de pH após a presa desses materiais.

FISCHMAN & TINANOFF<sup>30</sup> (1994) determinaram a liberação de F e de ácidos de CIVs (Shofu, Ketac Protech e TP) em água e a relação desta com os efeitos antimicrobianos apresentados por esses materiais. O efeito antimicrobiano contra *S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. sanguis* e *A. viscosus* foi avaliado através do teste de difusão em ágar, com cimentos frescos e envelhecidos em água deionizada por 1, 3 e 7 dias. Os resultados mostraram uma maior atividade antimicrobiana para os cimentos frescos e observou-se uma maior liberação de F e ácidos no início do período experimental. Os corpos de prova frescos provocaram a redução consistente do pH em mais do que uma unidade, comparados aos envelhecidos. Os autores sugeriram que a intensidade e a duração da atividade antimicrobiana do CIV deva estar mais relacionada com a acidez do meio do que à liberação de F.

MEIERS & MILLER<sup>64</sup> (1996) estudaram o efeito antibacteriano de sistemas adesivos, CIVs modificados por resina (Photac fil, Fuji Lining LC e Fuji II LC) e resina composta modificada por poliácido (Variglass, Geristore e Infinity) contra *S. mutans*, *L. salivarius*, *L. casei* e *A. viscosus*, através do teste de difusão em ágar. Os resultados encontrados mostraram que todos os CIVs exibiram vários graus de atividade antibacteriana contra a maioria dos microrganismos testados.

Em estudo recente, YAP et al.<sup>108</sup> (1999) mostraram resultados contraditórios em relação a atividade antibacteriana de materiais odontológicos. Os autores avaliaram a quantidade e padrão de liberação de F e relacionaram com a propriedade antibacteriana de materiais liberadores de F (Tetric, Experimental X, Dyract e Compoglass), CIV modificado por resina (Fuji II LC) e CIV (Fuji II Cap) convencional. A liberação de F foi avaliada em água deionizada, por 35 dias. Os testes de inibição bacteriana foram conduzidos utilizando o teste de difusão em ágar avaliados no início do experimento (1 hora após a polimerização) e semanalmente até 35 dias. Na análise inicial, foi quantificada a liberação de F para o meio, removendo ágar da região abaixo do corpo de prova. Nenhum dos materiais utilizados afetou o crescimento de *L. casei*, *S. mutans* ou *S. sobrinus*, em todos os períodos, inclusive na análise inicial. Os autores concluíram que não foi

possível observar correlação entre o potencial de liberar F e as propriedades antibacterianas destes materiais.

Outras metodologias *in vitro* tem sido utilizadas para a avaliação da atividade antibacteriana de CIV. SEPPÄ et al.<sup>82</sup> (1992) com a finalidade de estudar os efeitos de diferentes CIVs sobre a produção de ácidos e metabolismo eletrolítico do *S. mutans*, utilizaram corpos de prova recém-preparados de CIV convencional (Fuji Cap II), CIV com partículas de prata (Ketac-silver) e resina composta (Silux), além de corpos de prova envelhecidos por 14 dias (Fuji Cap II). Os corpos de prova foram adaptados na parte inferior de tubos e uma camada de *S. mutans* foi centrifugada sobre eles sendo posteriormente incubados por 20 horas em uma solução contendo sacarose. Após a incubação foram determinados o pH, conteúdo de F e Ca da fase líquida e o conteúdo celular de F, Mg, P e de Ag para o CIV reforçado. Os resultados mostraram que o CIV recém-preparado afeta a produção de ácidos e o metabolismo eletrolítico do *S. mutans*. Entretanto, o efeito do CIV convencional parece desaparecer após poucas semanas. Os autores sugeriram maiores estudos em relação aos efeitos antimicrobianos do Ca e da Ag liberados pelos CIVs reforçados.

SEPPÄ et al.<sup>80</sup> (1993) realizaram um estudo com o objetivo de investigar se a liberação de F e o efeito antimicrobiano de CIV recém-manipulado poderiam ser prolongados pela aplicação de F no material envelhecido. Utilizando a mesma metodologia do estudo relatado anteriormente, foram avaliados: CIV convencional recém-manipulado e envelhecido (14 dias em água); CIV reforçado com prata e resina composta. Após a incubação dos corpos de prova, foram determinados o pH, a concentração de F, Ca na fase fluida e de F, Mg, P e K das células. As amostras de CIV envelhecido foram então recobertas por dentifrícios fluoretados (0,1%) ou F gel (1,25%), e as amostras de resina composta, com F gel. Após a lavagem abundante, as células de *S. mutans* foram incubadas sobre as amostras. Após a aplicação do F gel, o conteúdo de F na fase fluida e células foi tão elevado quanto nas amostras de CIVs recém-manipulados, e o efeito inibitório sobre a queda do pH e metabolismo eletrolítico, foi até mais pronunciado que inicialmente. Os autores concluíram que a liberação de F pelos CIVs envelhecidos e seu efeito antimicrobiano podem ser significativamente aumentados pela aplicação do F gel no material.

Num outro trabalho utilizando a mesma metodologia, SEPPÄ et al.<sup>81</sup> (1995) avaliaram o efeito do tratamento com gel de F sobre a liberação de F e inibição da produção de ácidos por *S.*



*mutans* por diferentes CIVs. Foram utilizados corpos de prova com o material fresco, envelhecido (29 dias), envelhecido com tratamento de gel de F, envelhecido e tratado com F e somente envelhecido. Após cada incubação, o pH e a concentração de F da fase fluida foram determinados. As amostras de CIVs frescas liberaram altas quantidades de F e a queda de pH foi significativamente inibida. Nas amostras envelhecidas, o F liberado diminuiu fortemente e não houve nenhum efeito inibitório sobre a produção de ácido pelos microrganismos. Após a aplicação do gel de F, a liberação de F e o efeito inibitório foram significativamente maiores do que o início para todos os CIVs. Os autores concluíram que todos os CIVs conseguem incorporar o F e subsequentemente liberá-lo, o que resultou no restabelecimento do seu efeito antibacteriano. O padrão de liberação de F e o efeito antibacteriano foram virtualmente os mesmos para os CIVs convencionais e reforçados por resina.

COSTA et al.<sup>15</sup> (1996) avaliaram a atividade antimicrobiana de CIVs restauradores convencionais (Chelon-fil e Chelon-silver) e modificados por resina (Variglass e Vitremer) por 7 dias, pelos testes de fermentação e formação de placa em caldo de cultura inoculado com *S. mutans*. O pH do meio foi medido diariamente e o conteúdo de carboidratos e proteínas da placa acumulada sobre os corpos de prova foi determinado no final do período. Na avaliação do pH dos meios de cultura semeados, somente o Vitremer reduziu significativamente a produção de ácidos nas primeiras 24 horas do experimento. Em relação ao controle, houve um menor acúmulo de carboidratos sobre todos os cimentos, porém com quantidades significativamente menores apenas sobre o Vitremer. Não houve diferença significativa nas quantidades de proteínas depositadas sobre os CIVs e o controle.

BENDERLI et al.<sup>6</sup> (1997) investigaram o efeito de diferentes materiais odontológicos na composição de *S. mutans* da placa dental. Foram utilizados 5 cimentos de ionômero de vidro (Vitrebond, XR Ionomer, Ketac Bond, Shofu Base Cement, Shofu Lining Cement) e 2 materiais resinosos (Heliomar-RO e Concise). Seis corpos de prova de cada material foram confeccionados e imersos em caldo de cultura inoculado com *S. mutans*. Após 5 dias a placa foi raspada, pesada e as colônias foram contadas. A menor quantidade de placa formada foi ao redor do Vitrebond. Não houve diferença entre os XR Ionomer, Heliomar-RO e Ketac Bond. Concise obteve melhores resultados que alguns materiais que liberam F, já que maiores quantidades de placa foram encontradas no Shofu Lining Cement e Shofu Base Cement. Os autores sugerem que a

presença do HEMA no Vitrebond que possui propriedades antimicrobianas, somado a liberação do F, poderiam explicar porque este material obteve o maior efeito anti-placa.

FRIEDL et al.<sup>38</sup> (1997) avaliaram a liberação de F de 1 CIV convencional, 1 reforçado por resina, 3 modificados por resina e 1 compômero e correlacionaram com a inibição do crescimento bacteriano. Os corpos de prova foram imersos em solução salina para a liberação do F, durante 180 dias. A cada 2 dias os corpos de prova foram transferidos para frascos contendo solução salina fresca e o conteúdo de F foi medido. Os frascos com a solução eluída após 4 horas, 14 dias e 180 dias foram inoculados com *S. mutans* e o crescimento bacteriano foi avaliado. A liberação de F diminuiu significativamente com o tempo para cada material. Cada material reduziu o crescimento microbiano em cada período de avaliação. Os materiais testados mostraram uma boa correlação entre a liberação de F e a influência sobre o crescimento bacteriano. Porém, esse efeito reduziu drasticamente no período de 180 dias.

Através dos estudos *in vitro* pode-se verificar e estudar a propriedade antibacteriana, entretanto, os achados clínicos, na verdade, são aqueles que realmente comprovam a efetividade do material. Estudos analisando a composição da placa dental formada sobre materiais restauradores tem mostrado uma maior concentração de F sobre CIV, e em decorrência disto, tem sido sugerida uma possível inibição da microbiota cariogênica na placa.

JOKINEN et al.<sup>51</sup> (1991) avaliaram a quantidade F presente em amostras de placa por CIV através de um modelo experimental para a formação de placa dental no qual braquetes ortodônticos são fixados em molares superiores e um espaço é mantido para que ocorra o acúmulo de placa. Foram fixados braquetes ortodônticos em 16 voluntários com Ketac-fil e resina composta em dentes opostos. Após 6 semanas, amostras de placa foram retiradas e analisadas. Apesar da quantidade de proteína ter sido igual no grupo do CIV e da resina composta, a proporção de F/proteína na placa foi 80 vezes maior no grupo do CIV, sugerindo que este material pode agir como uma fonte de F para a placa.

HALLGREN et al.<sup>44</sup> (1993) investigaram a concentração de F na placa dental adjacente a braquetes ortodônticos cimentados com CIV (Aqua Cem) ou resina composta (Concise), utilizando o modelo da boca dividida, modelo no qual utilizam-se áreas contralaterais da boca de um indivíduo para os tratamentos teste e controle. Foram coletadas amostras de placa com 48 horas de formação no 3<sup>o</sup>, 8<sup>o</sup> e 28<sup>o</sup> dias e 6 meses após o início do tratamento ortodôntico. Os

resultados mostraram concentrações significativamente maiores de F nas amostras de placas coletadas adjacentes aos braquetes retidos com o CIV do que nas amostras de placa dos braquetes retidos com resina composta, em todos os períodos de amostragem. Os autores sugeriram que a colagem de braquetes com CIV durante o tratamento ortodôntico pode atuar como um sistema local de liberação de F a longo prazo, exercendo um efeito cariostático próximo ao aparelho, onde o desafio cariogênico provavelmente é maior.

BENELLI et al.<sup>7</sup> (1993) compararam a quantidade de F na placa formada sobre o cimento de ionômero de vidro ou resina composta e avaliaram os efeitos da liberação de F sobre o crescimento da microbiota cariogênica, incorporação de F e formação de cárie secundária em condições de alto desafio cariogênico, num estudo *in situ*. Participaram do estudo 10 voluntários adultos, que utilizaram dispositivos intra-bucais contendo blocos de esmalte restaurados com os materiais em estudo, consistindo de 2 fases de 28 dias. A placa dental formada sobre os blocos de esmalte foi removida e determinados os níveis de F, *S. mutans* e lactobacilos (1º período experimental) enquanto que no esmalte ao redor das restaurações, foram determinados o F incorporado e o perfil de microdureza (2º período experimental). Os resultados mostraram maior quantidade de F na placa sobre o ionômero de vidro e um nível menor de *S. mutans*. Além disso, a incorporação de F no esmalte adjacente à restauração de CIV foi maior e a perda mineral significativamente menor. Os autores concluíram que o CIV apresenta amplo efeito anticariogênico e pode ser valioso na prevenção de cáries secundárias, interferindo não somente no mecanismo de des-remineralização do esmalte, mas também na ecologia da microbiota, mesmo sob condições de alto risco de cárie.

VAN DIJKEN et al.<sup>97</sup> (1997) compararam a concentração de F na placa dental sobre restauração de ionômero de vidro modificado por resina de 1 ano, compômero, resina composta e relacionaram com a ocorrência de bactérias relacionadas com a cárie. Foram encontradas baixas concentrações de F nas amostras de placa, com exceção das amostras sobre o ionômero de vidro modificado por resina que apresentaram quantidades significativamente maiores. Os resultados indicaram que a concentração de F liberada por restaurações de 1 ano de idade não são suficientemente altas para os níveis de estreptococos mutans e lactobacilos da placa.

PASCOTTO et al.<sup>77</sup> (1999) avaliaram a liberação de F na placa dental *in vivo* ao redor de braquetes ortodônticos cimentados com CIV Fuji Ortho LC ou com a resina Concise, e a

capacidade de manutenção do F na placa com o uso de agentes fluoretados. Trinta dias antes do início da terapia ortodôntica, 20 adolescentes foram instruídos a utilizar um dentifrício sem F. Os braquetes foram fixados em quadrantes opostos na maxila e na mandíbula com Fuji Ortho LC ou com Concise. A placa bacteriana foi coletada antes da fixação dos acessórios, 2, 15 e 30 dias após a instalação do aparelho fixo, 2 e 15 dias após a aplicação tópica de F gel fosfato acidulado 1,23% por 1 minuto e 15 dias após o início do uso de 1 dentifrício fluoretado (1500 ppm F como MFP). Na placa ao redor do CIV houve um aumento significativo na concentração de F após a instalação do aparelho fixo, sendo esta concentração mantida elevada ao redor deste material após a aplicação tópica profissional de F ou uso de dentifrício fluoretado.

SVANBERG et al.<sup>89</sup> (1990) estudaram os níveis de *S. mutans* em amostras de placa dental de 51 crianças, com o primeiro molar restaurado com amálgama, resina composta e CIV, fazendo comparações inter e intra-individualmente. A porcentagem de *S. mutans* na placa foi maior na amostra coletada sobre a resina composta e amálgama que sobre o ionômero de vidro inter-individualmente e maior porcentagem em resina composta do que sobre ionômero de vidro intra-individualmente.

Em outro estudo clínico, SVANBERG et al.<sup>88</sup> (1990) analisaram amostras de placa interproximal formadas sobre restaurações de amálgama Classe II (Dispersalloy) e sobre restaurações tipo túnel com cimento de ionômero de vidro (Ketac silver) recém realizadas. As amostras de placa foram coletadas de cada um dos 20 adolescentes que receberam os dois tipos de restaurações, após uma e cinco semanas do tratamento e foram semeadas em ágar sangue e ágar Mitis Salivarius bacitracina. Observaram que tanto o número total de microrganismos como o de estreptococos mutans foram significativamente menores na placa adjacente às restaurações de Ketac silver. Os autores sugeriram que os íons de F e prata liberados pelo Ketac silver foram os responsáveis pelo seu melhor desempenho, uma vez que ambos podem reduzir a acidogenicidade da placa e o crescimento bacteriano. Consequentemente, a placa formada sobre tais restaurações apresentaria um menor potencial para induzir cáries secundárias.

FORSS et al.<sup>34</sup> (1991), utilizando a metodologia empregada no estudo de JOKINEN et al.<sup>51</sup> (1991), compararam os níveis de F e de estreptococos mutans na placa bacteriana formada sobre o CIV (Ketac-fil) e sobre uma resina composta (Silar). Amostras de placa formada por períodos de 14 dias foram coletadas dos túneis deixados sob os braquetes fixados com os

materiais estudados, 14, 28 e 42 dias após a colagem. As contagens médias de estreptococos mutans nas três coletas da placas formadas sobre o CIV foram significativamente menores do que nas placas formadas sobre a resina composta. Os resultados mostraram que o nível de F na placa adjacente ao CIV é muito mais alto do que o observado sobre a resina composta, o que parece afetar o nível de estreptococos mutans na placa bacteriana.

HALLGREN et al.<sup>43</sup> (1992) analisaram a microbiota da placa dental formada sobre CIV (Aqua Cem) ou sobre resina composta (Concise), usando o modelo da boca dividida, modelo no qual utilizam-se áreas contralaterais da boca de um indivíduo para os tratamentos teste e controle. As coletas das amostras de placa foram realizadas no 3º, 8º e 28º dias após a instalação de aparelho ortodôntico. Observou-se um aumento na prevalência de estreptococos mutans e lactobacilos na placa bacteriana formada sobre ambos os materiais de cimentação utilizados e maior tendência de colonização pelos dois tipos de bactérias ao redor de braquetes retidos com resina composta. Um mês após o início do tratamento a proporção de estreptococos mutans em relação à contagem bacteriana total, foi significativamente maior nos braquetes retidos com resina comparados com CIV. Os resultados mostraram que quando o CIV é utilizado como agente cimentante na clínica ortodôntica pode-se desenvolver uma microbiota menos cariogênica na placa bacteriana formada sobre esse material

WRIGHT et al.<sup>106</sup> (1996) avaliaram o efeito do CIV modificado por resina Geristore para colagem de braquetes ortodônticos sobre microrganismos associados à cárie. Foi utilizado um modelo de boca-dividida, com 716 braquetes cimentados em 40 pacientes e o controle foi uma resina composta. Amostras de placa foram recolhidas da área onde o material adesivo foi utilizado antes, em 1 semana e 5 meses após a colocação dos braquetes e foram feitas contagens de estreptococos mutans e Lactobacilos. Os resultados mostraram que as proporções dos microrganismos na placa ao redor do Geristore foi reduzida em 1 semana e 5 meses, quando comparadas com as da resina composta, e esta redução foi estatisticamente significativa para 1 semana. Os autores sugerem que Geristore deve ser utilizado especialmente em pacientes com alto risco à cárie.

VAN DIJKEN et al.<sup>96</sup> (1991) quantificaram *S. mutans*, estreptococos totais e lactobacilos em placas de 14 dias sobre restaurações de ionômero de vidro e resina composta de 1 ano e compararam com o número de bactéria na saliva. Estes autores concluíram que os níveis de F na

placa adjacente a restauração de ionômero de vidro não se tornará alto o suficiente para inibir o acúmulo das bactérias.

Devido a escassez de dados a respeito do efeito a longo prazo das restaurações com CIVs sobre a placa bacteriana *in vivo*, FORSS et al.<sup>33</sup> (1995) procuraram determinar se restaurações com CIVs envelhecidas tem efeito sobre a quantidade de F na placa, bem como sobre a microbiota e se esse efeito pode ser aumentado pela aplicação tópica de F sobre as restaurações de CIV *in vivo*. Participaram deste estudo, 27 adultos que apresentavam pelo menos, 3 restaurações de CIV com cerca de 3 anos. Para a análise do conteúdo de F e bactérias, foram coletadas amostras de placa bacteriana ao redor das restaurações e nos dentes contralaterais (controle). A seguir foi realizada uma aplicação tópica de F em todos os dentes, fazendo-se uma nova coleta da placa nos mesmos locais determinados anteriormente 3 dias após o tratamento com F. Os resultados mostraram que nenhum dos pacientes apresentou níveis elevados de F na saliva antes ou após o tratamento com F. A concentração de F foi de 0,51µg/mg de proteína na placa sobre as restaurações de CIV e 0,35 µg/mg de proteína na placa dos dentes contralaterais. Após o tratamento com F, as concentrações de F foram: 0,59µg e 0,75µg, respectivamente para a placa sobre as restaurações e nos dentes contralaterais. Não foi observada diferença significativa na proporção de estreptococos e lactobacilos na placa sobre as restaurações ou nos dentes contralaterais. Os resultados sugerem que a concentração de F na placa sobre restaurações antigas de CIV foi ligeiramente aumentada. Neste estudo, porém, não houve efeito significativo sobre a microbiota cariogênica, já que a porcentagem de *S. mutans* e lactobacilos adjacentes às restaurações de CIV após 3 anos com relação ao total de bactérias viáveis foi de 9,5 e 0,8, respectivamente e nas superfícies controle de 7,3 e 1,1, respectivamente. Além disso, a aplicação de F sobre as restaurações envelhecidas de CIV não aumentou significativamente a concentração de F na placa.

Sendo o objetivo final dos estudos sobre CIVs verificar o potencial benéfico desses materiais de atuar sobre o desenvolvimento de cárie e prevenindo cárie secundária, estudos clínicos têm sido conduzidos na tentativa de demonstrar este efeito. Entretanto, estes estudos não são conclusivos em relação ao efeito preventivo do CIV.

TYAS<sup>95</sup> (1991) avaliou 65 restaurações Classe V com CIV e 67 com resina composta. As restaurações foram acompanhadas a cada ano e avaliada a presença de cárie e pigmentação

marginal. Após 5 anos 1% das restaurações com CIV e 5% com resina composta cariaram e aproximadamente o dobro das restaurações com resina apresentou com pigmentação marginal que o CIV. Os autores concluíram que parece existir um significativo benefício no uso de CIV em restauração Classe V.

FORSTEN<sup>37</sup> (1998) em uma revisão recente sobre o efeito clínico do F liberado pelos ionômeros de vidro, citou 2 pesquisas realizadas com 954 clínicos dos países nórdicos e da Austrália, durante os anos de 1991 e 1992, em que cáries e inflamação gengival raramente ou nunca foram observadas em associação com restaurações de CIV.

No entanto, MJÖR<sup>67</sup> (1997), apresentou dados de um estudo transversal na Escandinávia em que quase metade das 538 restaurações falhas de ionômero de vidro foram substituídas devido ao diagnóstico de cárie secundária. Neste trabalho, foram acompanhadas restaurações de amálgama, de resina composta e de ionômero de vidro realizadas por 177 clínicos gerais particulares.

## **PROPOSIÇÃO**



### 3 PROPOSIÇÃO

---

A proposta deste estudo for verificar *in vitro*, em diferentes materiais odontológicos de atual uso clínico:

- ◆ a taxa e padrão de liberação de F e Al em diferentes meios de imersão;
- ◆ o efeito da liberação de F-Al na:
  - inibição da acidogenicidade de *S. mutans* GS-5 e
  - composição bioquímica da placa experimental.



## **METODOLOGIA**



## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Materiais

Foram utilizados cinco materiais odontológicos diferentes neste estudo: 1 ionômero de vidro convencional, 2 ionômeros de vidro modificados por resina, 1 resina composta modificada por poliácido (conhecida também por compômero) e uma resina composta. Os materiais são apresentados na tabela 1.

**Tabela 1: Materiais odontológicos utilizados neste estudo**

| <b>Material</b> | <b>Fabricante</b>                                   | <b>Lote</b> | <b>Classificação<br/>(McLean et al.<sup>63</sup>)</b> |
|-----------------|-----------------------------------------------------|-------------|-------------------------------------------------------|
| Ketac-fil       | ESPE- Germany, FDL Ind. e Com. Ltda.                | n°F0043052  | Cimento de ionômero de vidro                          |
| Vitremer        | 3M – Dental Products Division, St. Paul, Minn., USA | N°19960904  | Ionômero de vidro modificado por resina               |
| Fuji Ortho LC   | G.C. Corporation – Tokyo, Japan                     | n°260971    | Ionômero de vidro modificado por resina               |
| F 2000          | 3M – Dental Products Division, St. Paul, Minn., USA | N°19970819  | Resina Composta modificada por poliácido              |
| Z 100           | 3M – Dental Products Division, St. Paul, Minn., USA | n°6HL       | Resina Composta                                       |

## 4.2 Métodos

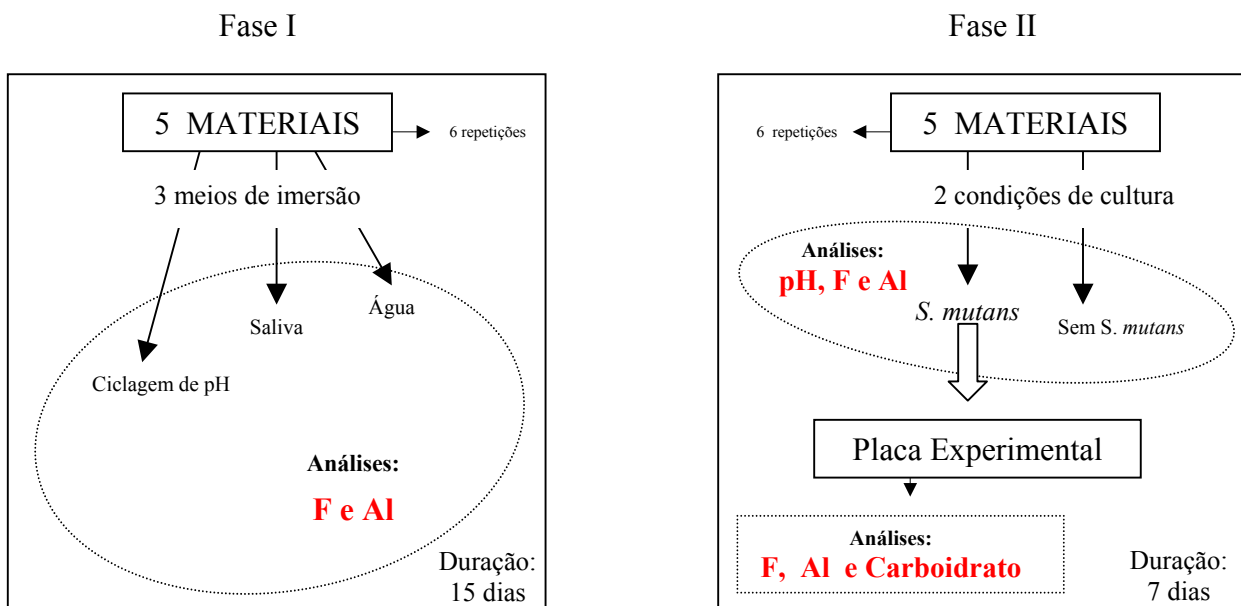
### 4.2.1 Delineamento Experimental

O estudo consistiu de 2 fases:

- Fase I: Liberação de F e Al pelos materiais estudados em 3 meios de imersão.
- Fase II: Avaliação da acidogenicidade de *S. mutans* e composição bioquímica da placa experimental.

Para a realização da Fase I deste trabalho, foram confeccionados 6 corpos de prova de cada material testados em três meios de imersão, totalizando 90 corpos de prova (6 repetições, 5 materiais e 3 meios de imersão). Nesta etapa, foi avaliada a liberação de F e Al pelos materiais por um período de 15 dias.

Para a realização da Fase II, foram confeccionados 6 corpos de prova de cada material os quais foram imersos em meio de cultura contendo *S. mutans*, sendo o controle negativo o meio de cultura sem o microrganismo, totalizando 60 corpos de prova. Foi avaliada a liberação de F e Al para os meios, o efeito dos materiais sobre a fermentação de açúcares e sobre a composição da placa dental experimental formada sobre os corpos de prova no período de 7 dias.



**Figura 1 –Esquema do delineamento experimental utilizado.**

#### 4.2.2 Fase I: Liberação de F e Al pelos materiais estudados em 3 meios de imersão

##### 4.2.2.1 OBTENÇÃO DOS CORPOS DE PROVA

Foram confeccionadas 90 matrizes a partir de tubos de polipropileno cortados em espessura de 2,5cm e tendo aproximadamente 10,5mm de diâmetro interno, totalizando uma área de cerca de 250 mm<sup>2</sup>. Para a obtenção dos corpos de prova em forma de disco utilizaram-se 2 tiras de poliéster, uma de cada lado (superior e inferior) da matriz e este conjunto, juntamente com o material inserido, foi prensado entre duas placas de vidro. O corpo de prova foi suspenso no tubo através de um pedaço de fio de nylon fixado à tampa e incorporado ao material durante a inserção do mesmo na matriz.

Os materiais foram proporcionados, manipulados e polimerizados seguindo as recomendações do fabricante, de acordo com a Tabela 2, em ambiente controlado (temperatura de 23±1°C e umidade relativa de 50±5%), seguindo especificação n° 7489 da ISO.

**Tabela 2 - Proporcionamento e manipulação dos materiais odontológicos estudados.**

| Material      | Proporção pó/líquido | Tempo de espatulação | Tempo de polimerização |
|---------------|----------------------|----------------------|------------------------|
| Ketac-fil     | 0,4800g/0,1500g      | 60s                  | -                      |
| Vitremer      | 0,1287g/0,0440g      | 45s                  | 40s*                   |
| Fuji Ortho LC | =3,000g/1,000g       | 25s                  | 40s*                   |
| F 2000        | -                    | -                    | 40s*                   |
| Z 100         | -                    | -                    | 40s*                   |

\* tempo de polimerização utilizado para cada lado do corpo de prova.

O pó e líquido de cada material foram pesados em balança analítica de alta precisão (0,0001g) - CHYO, modelo JK – 180.

Os corpos de prova do material Ketac-fil foram deixados sob carga (1/2Kg) durante dez minutos após sua espatulação. Para a polimerização dos materiais fotopolimerizáveis, foi utilizado o aparelho de luz visível Visilux II (3M), com intensidade de luz de 520mW/cm<sup>2</sup>, expondo o corpo de prova por 40 segundos de cada lado (superior e inferior) à ação da luz.



Após a remoção do corpo de prova da matriz, este foi levado a uma estufa a 37°C e 100% de umidade relativa do ar por 24 horas, para que houvesse a maturação da reação de geleificação dos cimentos de ionoméricos e polimerização da resina. Todos os corpos de prova foram codificados em suas tampas e colocados nos 3 meios de imersão.

#### 4.2.2.2 MEIOS DE IMERSÃO

Os meios de imersão utilizados para a avaliação da liberação de F e Al foram:

I- **Água deionizada;**

II- **Solução de saliva artificial**, que tenta simular a composição inorgânica da saliva: Tampão Tris 20 mM, contendo 1,5 mM de cálcio, 0,9 mM de fosfato e 150 mM de cloreto de potássio (pH 7,0).

III- **Ciclagem de pH**, que simula *in vitro* um alto desafio cariogênico *in vivo*. Esta ciclagem é realizada com uma solução desmineralizante (DES) e uma solução remineralizante (RE) onde um ciclo ocorre a cada 24 horas, a solução DES é utilizada durante 6 horas e a solução RE por 18 horas (FEATHERSTONE, 1986)<sup>29</sup>. A composição das soluções é a seguinte:

DES - Tampão acetato 75mM, contendo 2,0mM de cálcio e 2,0 mM de fosfato (pH 4,3);

RE – mesma solução descrita acima como saliva artificial.

#### 4.2.2.3 TRATAMENTO DAS AMOSTRAS EM DIFERENTES SOLUÇÕES

Os corpos de prova foram imersos individualmente em 1 mL das soluções de tratamento contidas em tubos de ensaio plásticos e colocados em banho-maria com agitação (Banho Dubnoff - Nova Técnica, Piracicaba/SP, Brasil) a 37°C, tentando simular as condições de temperatura da cavidade bucal, por um período de 15 dias. Cada corpo de prova foi retirado do meio de imersão, lavado, seco com papel toalha e colocado em nova solução, sendo a troca realizada nas seguintes condições:

- 1- para os meios água e saliva artificial, a cada 24 h;
- 2- para o meio ciclagem de pH, os espécimes ficaram imersos em solução desmineralizante por 6 horas e em solução remineralizante por 18 horas, sendo então a troca realizada duas vezes ao dia.

As soluções referentes aos dias 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11, 13, e 15 foram armazenadas para análise e as demais desprezadas, pois desta maneira pode-se estimar a liberação nos dias não determinados através da análise de regressão dos dados.

Todas as soluções foram armazenadas em frascos individuais e mantidas em refrigerador até o momento da análise da concentração de F e Al.

#### 4.2.2.4 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE FLÚOR

Inicialmente foi realizado um estudo piloto com o objetivo de verificar qual o melhor método de análise para as amostras obtidas. Assim, foram comparadas as leituras da liberação de F pelos materiais através de 3 métodos distintos: técnica da Microdifusão facilitada por HMDS (TAVES<sup>91</sup>, 1968), utilização de TISAB II e TISAB III (Orion Research, Inc.), diluindo as amostras 30 e 60 vezes. Observou-se que utilizando o TISAB II houve uma menor leitura da concentração de F das amostras em relação aos outros 2 métodos e não houve diferença entre os resultados obtidos com a técnica de TAVES e com TISAB III. Desta maneira, este último método foi escolhido para todas as dosagens realizadas nesta fase.

A análise de flúor foi realizada utilizando-se eletrodo específico para flúor modelo 96-09 (Orion Research, Inc., Boston, MA, USA) e um analisador digital de íon Orion modelo EA-940 (Orion Research, Inc.) adicionando 0,1 mL de TISAB III (Orion Research, Inc.) para 1 mL da amostra com diluição necessária para que estas estivessem entre os limites da curva de calibração (0,0625 – 0,125 – 0,250 – 0,500, - 1,00 ppm F). As soluções da ciclagem de pH (DES e RE) de cada dia foram juntadas para completarem um período de 24 h e possibilitar a comparação com os demais meios, totalizando um volume de 2 mL.

Os resultados da concentração de flúor obtidos nos meios de imersão foram transformados em quantidade liberada por área de material ( $\mu\text{g F/ cm}^2$ ).

#### 4.2.2.5 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE ALUMÍNIO

A concentração de Al nas amostras foi determinada utilizando espectrofotômetro de absorção atômica modelo AA-50 (Varian Australia Pty Ltd, Mulgrave Victoria, Australia) sendo a leitura realizada a 309,3 nm. As concentrações das soluções padrão para a curva de

calibração foram: 0,5 – 1,0 – 2,0 – 5,0 – 25,0 ppm Al. A cada leitura de 10 amostras uma nova curva foi feita para a manutenção da calibração do aparelho. Os resultados da concentração de alumínio obtidos foram transformados em quantidade liberada por área de material ( $\mu\text{g Al/cm}^2$ ).

#### **4.2.3 Fase II: Avaliação da acidogenicidade de *S. mutans* e composição bioquímica da placa experimental.**

##### **4.2.3.1 OBTENÇÃO DOS CORPOS DE PROVA**

Foram confeccionados 60 corpos de prova em forma de disco com 11 mm de diâmetro e 1,5 mm de espessura utilizando matrizes de aço inoxidável, totalizando uma área de 241,78 mm<sup>2</sup>. Para a confecção dos corpos de prova foram seguidas as mesmas condições descritas no item 4.2.2.1 sendo que a manipulação foi realizada sob condições assépticas, ou seja, todo o instrumental utilizado foi esterilizado com exceção dos materiais odontológicos em estudo. O corpo de prova foi suspenso no tubo através de um pedaço de fio de algodão fixado à tampa de borracha e incorporado ao cimento ou resina durante a inserção da mesma na matriz.

##### **4.2.3.2 OBTENÇÃO DO INÓCULO**

Para o preparo do inóculo, foi feita a reativação da cultura de estoque do *S. mutans* GS-5 em caldo BHI (Brain Heart Infusion) 48 h anteriormente ao início do experimento. Uma alçada desta cultura foi semeada em ágar BHI com 5% de sangue de carneiro e incubada em anaerobiose em jarra GasPak por 24 h a 37°C. Desta cultura, três a quatro colônias foram removidas e transferidas para um tubo de ensaio de 120 X 15 mm, contendo 3 mL de caldo BHI novo, o qual foi incubado por 24 h, em aerobiose a 37°C. Este foi o inóculo utilizado para a formação da placa experimental.

##### **4.2.3.3 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS MATERIAIS**

Para este teste foi empregado o caldo MS – Mitis Salivarius (OLIVEIRA & ARAÚJO<sup>74</sup>, 1968), cuja composição é: 1,5 g de peptona de caseína (Merck, Rio de Janeiro/RJ, Brasil); 0,5 g de thiotone (Difco Laboratories, Detroit, Mich., USA); 0,1 g de dextrose (Resagen Quimibrás Indústrias Químicas S. A., Rio de Janeiro/RJ); 5,0 g de sacarose (Difco Laboratories); 0,4 g de fosfato dipotássico (Merck) e água destilada q.s.p. 100 mL, em pH 7,2.

Foram distribuídos 4 mL de caldo de cultura em tubos de ensaio de 100 x 15 mm, vedados com tampão de algodão. Os tubos foram esterilizados em autoclave a 120°C por 20 minutos e submetidos a teste de esterilidade mantendo-os a 37°C por 24 horas em aerobiose. No momento do experimento cada tubo recebeu 50 µL de inóculo de *S. mutans*.

Foram confeccionados 12 corpos de prova de cada material, sendo 6 utilizados no meio contendo o inóculo de *S. mutans* e 6 utilizados como controle negativo (sem o inóculo). A resina composta foi considerada o controle positivo neste teste. Imediatamente após a reação de presa inicial dos materiais, estes foram imersos no caldo de cultura, de maneira que ocupassem a altura central do meio de cultura, mantidos afastados das paredes do tubo. A incubação dos tubos foi feita a 37°C e em atmosfera convencional, durante o período de 7 dias.

A cada 24 horas todos os corpos de prova foram transferidos para um novo caldo de cultura e neste momento foram avaliados o crescimento do microrganismo, a formação de placa e a presença de contaminação pela existência de turbidez. Após a transferência, o caldo remanescente foi analisado.

#### 4.2.3.4 ANÁLISE DO CALDO REMANESCENTE

Em cada dia, imediatamente após a transferência, foi medido o pH (com pHmetro digital ANALION - precisão de 0,01) resultante do metabolismo bacteriano no caldo de cultura, com o objetivo de verificar a influência dos materiais sobre a fermentação dos açúcares. Após a leitura do pH, este caldo foi armazenado em tubos plásticos individuais e congelado até o momento das análises de F e Al.

As concentrações de F e Al foram analisadas após o descongelamento e centrifugação (Centrífuga EXCELSA Baby II - Modelo 206-R a 2.500 rpm – Fanem, São Paulo/SP, Brasil) das amostras utilizando a mesma metodologia descrita nos itens 4.2.2.4 e 4.2.2.5.

#### 4.2.3.5 COLETA DE PLACA

Após 7 dias, os corpos de prova do grupo com *S. mutans* foram removidos do caldo de cultura e lavados com 10 mL de água destilada para a remoção do meio e de material fracamente

aderido. A seguir, os espécimes foram transferidos para tubos de ensaio secos para escorrer a água de lavagem.

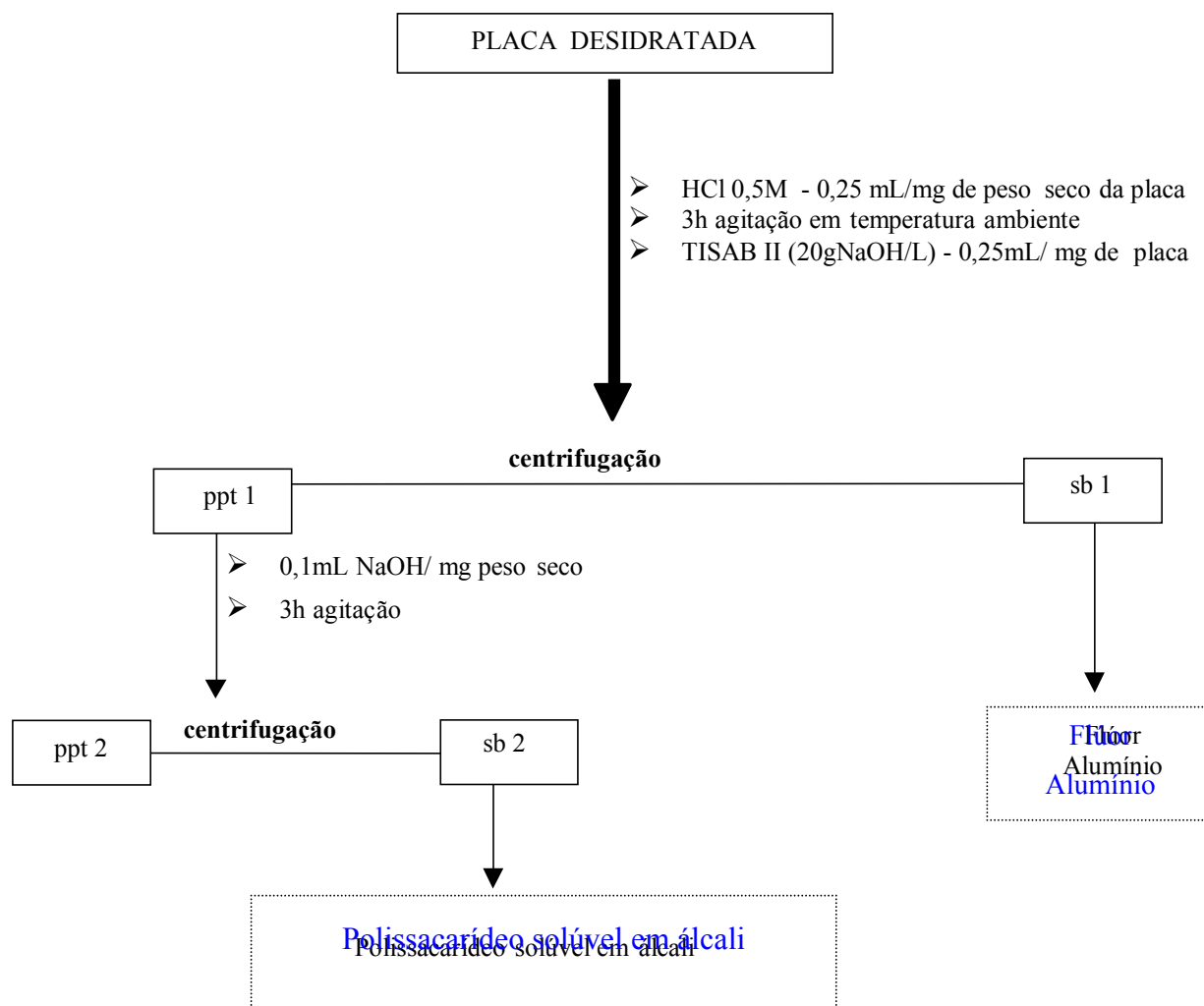
A coleta de placa foi realizada com espátula plástica (JON, São Paulo/SP, Brasil), segurando o fio de seda com um porta-agulha. Para padronização da coleta, foram raspadas as superfícies superior e inferior do cilindro, deixando as laterais, uma vez que a ponta do porta-agulha tocava a lateral e impedia que se coletasse placa desta área. As placas foram colocadas em tubos de microcentrifuga pré-pesados e congeladas até o momento da análise.

#### *4.2.3.6 DETERMINAÇÃO DE PESO SECO DA PLACA*

Anteriormente às análises das placas, estas foram desidratadas colocando em dessecador contendo pentóxido de fósforo por 24 horas. As placas foram então pesadas em balança de alta precisão (precisão 0,0001 - Analytical Plus OHAUS, Cambridge, England, UK), sendo o peso seco da placa expresso em mg.

#### *4.2.3.7 TRATAMENTO DA PLACA*

Para a análise dos componentes inorgânicos (F e Al) e orgânico (carboidratos solúveis em álcali), as placas desidratadas foram tratadas com 0,25mL de HCl 0,5M/mg de peso seco, durante 3 horas, em temperatura ambiente, sob agitação. Em seguida, o ácido foi neutralizado com 0,25 mL de TISAB II pH 5,0 (contendo 20g NaOH/L) por mg de placa. As amostras foram centrifugadas em centrífuga (INCIBRÁS, São Paulo/SP, Brasil) durante 1 minuto, 11.000g, sendo então no sobrenadante (sob 1) determinadas as concentração de flúor e alumínio. Ao precipitado (ppt 1) adicionou-se 0,1 mL NaOH N/mg de placa deixando por 3 horas em temperatura ambiente sob agitação. O Fluxograma 1 resume este tratamento, que segue basicamente o trabalho de CURY et al.<sup>22</sup> (1997):



**Fluxograma 1- Tratamento da placa para análise da composição orgânica e inorgânica.**

#### *4.2.3.8 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE FLÚOR NA PLACA EXPERIMENTAL*

A concentração de flúor no sobrenadante (sb 1) foi determinada utilizando-se eletrodo específico para íon flúor (ORION 96-09) e analisador de íons (ORION EA-940). Os padrões da curva de calibração foram preparados com TISAB II pH 5,0 contendo 20g NaOH/L a 50% de HCl M. As leituras das amostras foram transformadas em  $\mu\text{g F/ mL}$  através da regressão linear da curva de calibração. O resultado foi expresso em  $\mu\text{g F/mg}$  de peso seco de placa.

#### *4.2.3.9 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE ALUMÍNIO NA PLACA EXPERIMENTAL*

A concentração de Al no sobrenadante (sb 1) foi determinada como descrito anteriormente no item 4.2.2.5. O resultado foi expresso em  $\mu\text{g/mg}$  de peso seco de placa.

#### *4.2.3.10 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE CARBOIDRATO SOLÚVEL EM ÁLCALI*

A concentração de carboidratos solúveis em álcali no sobrenadante 2 (sb 2) do fluxograma foi determinada pelo Método Fenol-Sulfúrico (DUBOIS et al.<sup>27</sup>, 1956), que se baseia na reação de um açúcar, quando na presença de um ácido forte ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), formar compostos furfúricos a partir de uma pentose ou hexose. Os compostos furfúricos na presença de fenol obtêm uma coloração laranja, cuja intensidade é proporcional ao teor de açúcar na amostra. As leituras da intensidade de cor foram realizadas em espectrofotômetro modelo DU-70 (Beckman Instruments, Palo Alto, Califronia, USA) a 490nm. Os resultados foram expressos em  $\mu\text{g/mg}$  de peso seco de placa.



#### 4.2.4 *Análise estatística*

Para os dados de liberação de F, Al (Fase I e II) e valores de pH (Fase II), utilizou-se um modelo de parcelas subdivididas no tempo. Foram considerados os seguintes fatores:

- material (1- Fuji Ortho LC; 2- Ketac-fil; 3-Vitremer; 4-F 2000 e 5-Z100);
- meio (Fase I : 1-água deionizada; 2-saliva artificial e 3-ciclagem de pH  
Fase II : 1- Grupo com *S. mutans* e 2- Grupo controle)
- tempo (Fase I : dias 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11, 13 e 15  
Fase II : dias 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7).

Para a comparação das médias dos resultados de peso de placa, concentração de F, Al, carboidrato solúvel em álcali foi utilizada análise de variância e o teste de Tukey ao nível de significância de 5%.

As variáveis da Fase II foram submetidas a análise de correlação de Pearson.



## **RESULTADOS**



## 5 RESULTADOS

---

O resultado da análise de variância para as variáveis estudadas apresentou significância estatística para as variáveis material, meio e tempo e para todas as interações: material x meio, material x tempo, material x meio x tempo. Assim, as médias de material e tempo foram analisadas pelo teste de Tukey ao nível de significância 5%.

Os resultados obtidos estão dispostos da Tabela 3 até a Tabela 22 e subdivididos dentro das respectivas fases do estudo.

Todas as tabelas deste capítulo apresentam os dados expressos na forma de médias e desvios-padrão. Para qualquer esclarecimento, no capítulo dos anexos existem planilhas correspondentes às tabelas de resultado deste capítulo, contendo os valores de cada repetição (Anexo 1 a 14).

### 5.1 Fase I

#### 5.1.1 Liberação de F em diferentes meios

A liberação de F foi determinada nos dias 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11, 13 e 15. Para o cálculo da liberação total de F pelos materiais estudados foram feitas estimativas dos demais dias (dias: 6, 8, 10, 12, 14) através da determinação da equação da reta ( $y = a\ln(x) + b$ ) por regressão linear, de cada corpo de prova. Os valores estimados e os determinados foram somados para se obter a quantidade total liberada nos 15 dias do experimento. Os resultados estão expressos em quantidade de flúor liberada por área de material ( $\mu\text{gF}/\text{cm}^2$ ) e estão apresentados na Tabela 3.

Todos os materiais ionoméricos e a resina modificada por poliácido liberaram quantidades significantes de F. A resina composta (Z 100), como esperado, liberou quantidades desprezíveis, sendo este material utilizado como controle neste estudo.

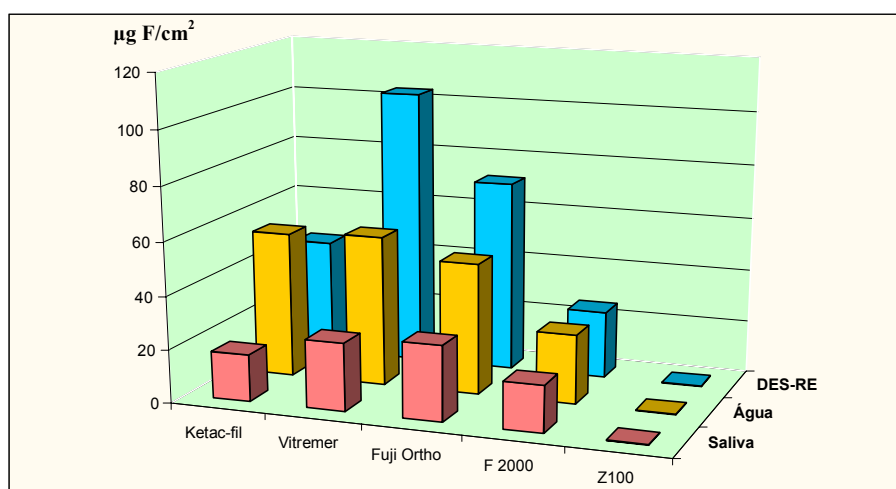
Dentro de cada meio, ocorreu uma diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os materiais (meio ciclagem: Vitremer > Fuji > Ketac > F2000 > Z 100; meio saliva artificial: Vitremer = Fuji > Ketac = F 2000 > Z100 e meio água: Vitremer = Ketac = Fuji > F 2000 > Z 100) e observa-se uma inversão na ordem de liberação nos diferentes meios. Além disso, quando comparamos o mesmo material dentro dos 3 meios observamos que o comportamento de cada um é alterado em função do meio utilizado.

**Tabela 3 - Médias e desvios-padrão da liberação total de F ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) pelos materiais estudados, dentro de cada meio.**

| Meio            | Fuji Ortho            | Ketac-fil             | Vitremer              | F 2000               | Z100                   |
|-----------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|------------------------|
| <b>Ciclagem</b> | 71,75 $\pm$ 2,43 B, a | 43,57 $\pm$ 9,64 C, a | 103,58 $\pm$ 6,17A, a | 25,38 $\pm$ 3,28D, a | 0,21 $\pm$ 0,05 E,a    |
| <b>Saliva</b>   | 28,32 $\pm$ 1,43 A, c | 17,61 $\pm$ 1,64 B, b | 25,61 $\pm$ 1,95 A, c | 17,60 $\pm$ 1,27B, b | 0,09 $\pm$ 0,02 C, b   |
| <b>Água</b>     | 49,25 $\pm$ 5,88 A b  | 54,77 $\pm$ 20,75A,a  | 56,32 $\pm$ 8,06 A, b | 26,03 $\pm$ 2,92B, a | 0,14 $\pm$ 0,06 C, a,b |

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

O Gráfico 1 ilustra os resultados obtidos, mostrando que a liberação de F por diferentes materiais é alterada quando estudada em diferentes meios de imersão.



**Gráfico 1– Médias da liberação total de F pelos materiais nos meios estudados.**

Fazendo a análise do fator tempo interferindo na liberação de flúor pelos materiais durante o período do experimento, verificamos que este foi significativo ( $p<0,05$ ). Desta maneira, foram comparadas as médias de liberação de F por cada material dentro de cada meio de imersão, em função do tempo e os dados analisados estão apresentados nas tabelas: 4, 5 e 6.

**Tabela 4 – Médias e desvios-padrão da liberação de F ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) pelos materiais em cada dia no meio de imersão ciclagem de pH.**

| DIA | Fuji Ortho LC        | Ketac-fil           | Vitremer             | F 2000              | Z 100               |
|-----|----------------------|---------------------|----------------------|---------------------|---------------------|
| 1   | 14,247 $\pm$ 1,293 B | 9,402 $\pm$ 2,148 C | 22,791 $\pm$ 1,835 A | 8,699 $\pm$ 1,432 C | 0,043 $\pm$ 0,029 D |
| 2   | 8,961 $\pm$ 0,443 B  | 5,237 $\pm$ 1,106 C | 11,931 $\pm$ 1,329 A | 2,790 $\pm$ 0,394 D | 0,018 $\pm$ 0,004 E |
| 3   | 6,878 $\pm$ 0,352 B  | 3,878 $\pm$ 0,803 C | 9,265 $\pm$ 0,831 A  | 1,913 $\pm$ 0,166 D | 0,017 $\pm$ 0,005 E |
| 4   | 5,874 $\pm$ 0,205 B  | 2,865 $\pm$ 0,367 C | 8,042 $\pm$ 0,636 A  | 1,507 $\pm$ 0,135 D | 0,017 $\pm$ 0,003 E |
| 5   | 5,141 $\pm$ 0,162 B  | 3,004 $\pm$ 0,657 C | 7,410 $\pm$ 0,663 A  | 1,350 $\pm$ 0,140 D | 0,014 $\pm$ 0,004 E |
| 7   | 3,878 $\pm$ 0,153 B  | 2,340 $\pm$ 0,581 C | 5,609 $\pm$ 0,403 A  | 0,969 $\pm$ 0,098 D | 0,010 $\pm$ 0,005E  |
| 9   | 3,279 $\pm$ 0,173 B  | 2,152 $\pm$ 0,524 C | 4,904 $\pm$ 0,372 A  | 1,157 $\pm$ 0,190 D | 0,014 $\pm$ 0,006 E |
| 11  | 2,767 $\pm$ 0,182 B  | 1,726 $\pm$ 0,408 C | 3,963 $\pm$ 0,215 A  | 1,036 $\pm$ 0,143 D | 0,010 $\pm$ 0,002 E |
| 13  | 2,654 $\pm$ 0,113 B  | 1,688 $\pm$ 0,418 C | 3,987 $\pm$ 0,203 A  | 0,984 $\pm$ 0,125 D | 0,008 $\pm$ 0,002 E |
| 15  | 2,331 $\pm$ 0,091 B  | 1,496 $\pm$ 0,362 C | 3,493 $\pm$ 0,121 A  | 0,901 $\pm$ 0,118 D | 0,008 $\pm$ 0,002 E |

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

C.V. (parcela): 9,251%

C.V. (subparcela): 5,837%

No meio de imersão Ciclagem de pH o material Vitremer foi capaz de liberar maiores quantidades de F em todos os dias do experimento, seguido pelo Fuji Ortho, Ketac, F2000 e Z 100 ( $p<0,05$ ). Esta ordem foi mantida em quase todos os dias, com exceção do primeiro dia quando o Ketac e o F 2000 apresentaram médias estatisticamente iguais ( $p<0,05$ ).



Os resultados de liberação de F no meio de imersão saliva artificial mostraram que todas as médias foram inferiores às da ciclagem de pH, além disso, os materiais apresentaram comportamento diferente ao longo do tempo. No primeiro dia, o Vitremer liberou mais F que Fuji, mas esta diferença não foi significativa para os demais dias, enquanto que o F 2000, que não diferiu do Vitremer no primeiro dia, foi estatisticamente menor até o quinto dia e novamente não diferiu no tempo restante.

**Tabela 5 - Médias e desvios-padrão da liberação de F ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) pelos materiais em cada dia no meio de imersão saliva artificial**

| DIA | Fuji Ortho LC        | Ketac-fil             | Vitremer              | F 2000                | Z 100               |
|-----|----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|---------------------|
| 1   | 5,169 $\pm$ 2,035B,C | 4,026 $\pm$ 0,395 C   | 6,572 $\pm$ 1,259 A   | 5,784 $\pm$ 0,332 A,B | 0,021 $\pm$ 0,009 D |
| 2   | 3,732 $\pm$ 0,225 A  | 2,303 $\pm$ 0,243 B   | 4,471 $\pm$ 0,373 A   | 2,530 $\pm$ 0,193 B   | 0,010 $\pm$ 0,00 C  |
| 3   | 2,717 $\pm$ 0,121 A  | 1,599 $\pm$ 0,151 B   | 2,774 $\pm$ 0,199 A   | 1,716 $\pm$ 0,167 B   | 0,006 $\pm$ 0,002 C |
| 4   | 2,246 $\pm$ 0,066 A  | 1,195 $\pm$ 0,324 B   | 1,924 $\pm$ 0,077 A   | 1,292 $\pm$ 0,113 B   | 0,006 $\pm$ 0,001 C |
| 5   | 1,796 $\pm$ 0,067 A  | 1,184 $\pm$ 0,126 B   | 1,499 $\pm$ 0,082 A   | 1,058 $\pm$ 0,128 B   | 0,004 $\pm$ 0,002 C |
| 7   | 1,279 $\pm$ 0,086 A  | 0,809 $\pm$ 0,083A,B  | 0,968 $\pm$ 0,035A,B  | 0,681 $\pm$ 0,068 B   | 0,006 $\pm$ 0,008 C |
| 9   | 1,381 $\pm$ 0,060 A  | 0,913 $\pm$ 0,071 A,B | 0,973 $\pm$ 0,047 A,B | 0,706 $\pm$ 0,082 B   | 0,006 $\pm$ 0,001 C |
| 11  | 1,115 $\pm$ 0,062 A  | 0,710 $\pm$ 0,078 A,B | 0,797 $\pm$ 0,110 A,B | 0,537 $\pm$ 0,059 B   | 0,005 $\pm$ 0,002 C |
| 13  | 1,042 $\pm$ 0,045 A  | 0,624 $\pm$ 0,070 A,B | 0,698 $\pm$ 0,047 A,B | 0,450 $\pm$ 0,037 B   | 0,001 $\pm$ 0,001 C |
| 15  | 0,981 $\pm$ 0,079 A  | 0,614 $\pm$ 0,050 A,B | 0,655 $\pm$ 0,035 A,B | 0,436 $\pm$ 0,027 B   | 0,003 $\pm$ 0,001 C |

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

C.V. (parcela): 9,251%

C.V. (subparcela): 5,837%

Os materiais também se comportaram de maneira diferente ao longo do tempo no meio água deionizada como pode ser observado na Tabela 6.

**Tabela 6 - Médias de liberação de F ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) pelos materiais em cada dia no meio de imersão água deionizada.**

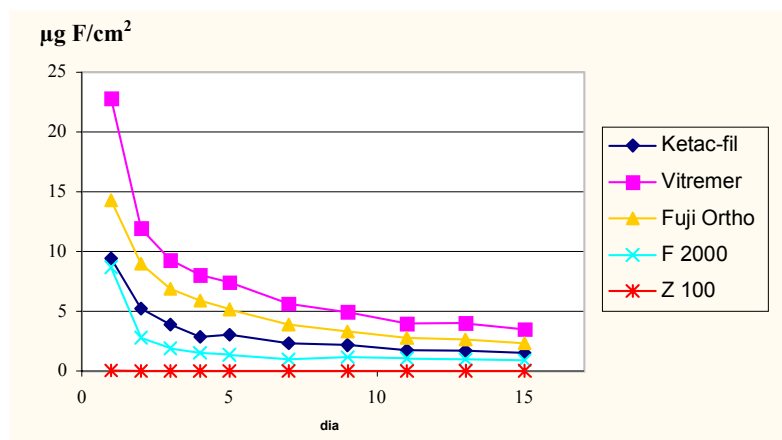
| DIA | Fuji Ortho LC        | Ketac-fil            | Vitremer             | F 2000              | Z 100               |
|-----|----------------------|----------------------|----------------------|---------------------|---------------------|
| 1   | 10,552 $\pm$ 1,895 C | 13,517 $\pm$ 3,789 B | 15,859 $\pm$ 2,592 A | 7,732 $\pm$ 0,854 D | 0,050 $\pm$ 0,021 E |
| 2   | 5,481 $\pm$ 0,666 B  | 7,060 $\pm$ 2,511 A  | 7,334 $\pm$ 1,002 A  | 2,698 $\pm$ 0,356 C | 0,017 $\pm$ 0,006 D |
| 3   | 4,202 $\pm$ 0,392 B  | 5,418 $\pm$ 2,009 A  | 5,315 $\pm$ 0,732 A  | 2,108 $\pm$ 0,222 C | 0,011 $\pm$ 0,006 D |
| 4   | 3,647 $\pm$ 0,484 A  | 4,322 $\pm$ 1,788 A  | 4,174 $\pm$ 0,607 A  | 1,673 $\pm$ 0,185 B | 0,009 $\pm$ 0,004 C |
| 5   | 3,325 $\pm$ 0,390 A  | 3,737 $\pm$ 1,554 A  | 3,438 $\pm$ 0,559 A  | 1,568 $\pm$ 0,165 B | 0,008 $\pm$ 0,004 C |
| 7   | 2,593 $\pm$ 0,328 A  | 2,597 $\pm$ 1,007 A  | 2,758 $\pm$ 0,455 A  | 1,336 $\pm$ 0,163 B | 0,004 $\pm$ 0,002 C |
| 9   | 2,544 $\pm$ 0,341 A  | 2,455 $\pm$ 1,104 A  | 2,416 $\pm$ 0,306 A  | 1,247 $\pm$ 0,175 B | 0,013 $\pm$ 0,007 C |
| 11  | 2,033 $\pm$ 0,250 A  | 1,876 $\pm$ 0,857 A  | 1,842 $\pm$ 0,261 A  | 1,019 $\pm$ 0,120 B | 0,006 $\pm$ 0,004 C |
| 13  | 1,977 $\pm$ 0,257 A  | 1,716 $\pm$ 0,768 A  | 1,730 $\pm$ 0,234 A  | 0,981 $\pm$ 0,121 B | 0,004 $\pm$ 0,002 C |
| 15  | 1,943 $\pm$ 0,220 A  | 1,613 $\pm$ 0,670 A  | 1,634 $\pm$ 0,208 A  | 0,887 $\pm$ 0,098 B | 0,004 $\pm$ 0,002 C |

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

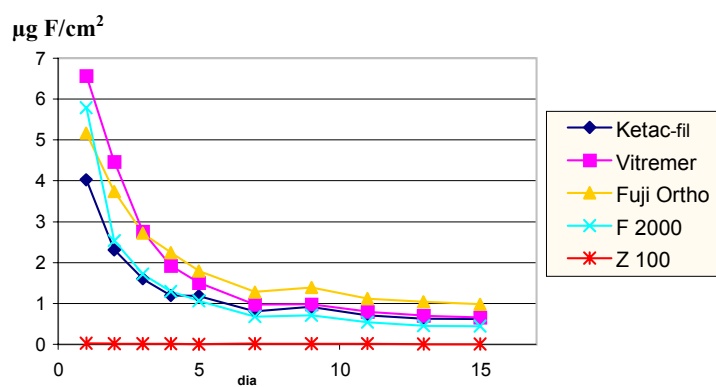
C.V. (parcela): 9,251%

C.V. (subparcela): 5,837%

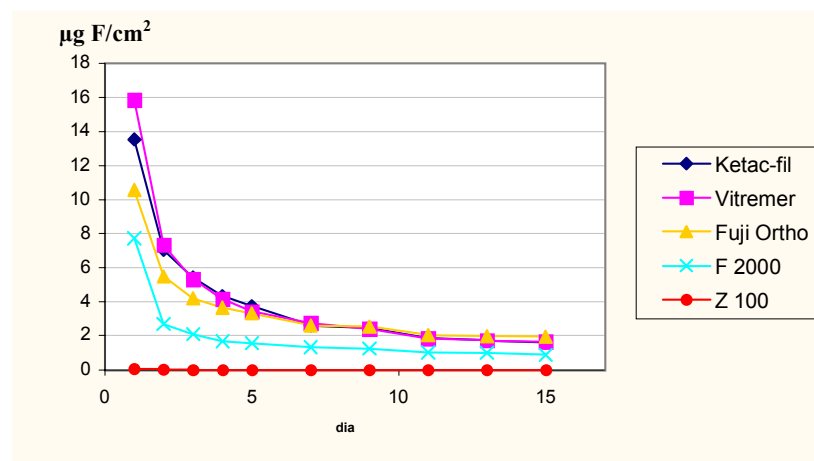
Os dados de liberação de F apresentados ao longo do tempo mostraram que todos os materiais ionoméricos apresentaram em cada meio estudado, o mesmo padrão qualitativo de liberação de F. A concentração de F foi maior nas 24 horas, declinou rapidamente no segundo e terceiro dia e gradualmente diminuiu até um nível constante, como mostram os Gráficos 2, 3 e 4.



**Gráfico 2 – Liberação de F em Ciclagem de pH.**



**Gráfico 3 – Liberação de F em saliva artificial**



**Gráfico 4 – Liberação de F em água deionizada.**

### 5.1.2 Liberação de Al em diferentes meios de imersão

Os resultados da liberação de Al nos 3 meios de imersão estão apresentados nas Tabelas 7, 8 e 9. Pode-se observar que para os meios saliva e água (Tabelas 8 e 9) a maioria dos dados foi comprometida pela baixa sensibilidade do método de dosagem utilizado. Assim, a análise estatística não pode ser realizada de maneira completa, sendo que somente os dados do meio de imersão ciclagem de pH possibilitaram a comparação entre os materiais, ao longo do tempo (Tabela 7).

**Tabela 7 – Médias e desvios-padrão da liberação de Al ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) em cada dia no meio de imersão ciclagem de pH.**

| DIA | Fuji Ortho LC       | Ketac-fil            | Vitremer             | F 2000              | Z 100 |
|-----|---------------------|----------------------|----------------------|---------------------|-------|
| 1   | 7,245 $\pm$ 1,187 b | 6,467 $\pm$ 0,740 b  | 15,347 $\pm$ 1,577 a | 6,782 $\pm$ 1,303 b | - c   |
| 2   | 5,271 $\pm$ 0,644 b | 2,889 $\pm$ 0,840 c  | 8,714 $\pm$ 1,271 a  | 2,177 $\pm$ 0,691 c | - d   |
| 3   | 2,830 $\pm$ 0,295 b | 1,399 $\pm$ 0,528 c  | 5,780 $\pm$ 1,155 a  | 0,678 $\pm$ 0,261 d | - e   |
| 4   | 2,660 $\pm$ 0,371 b | 1,818 $\pm$ 0,610 c  | 4,209 $\pm$ 1,043 a  | 0,530 $\pm$ 0,317 d | - e   |
| 5   | 2,299 $\pm$ 0,334 b | 1,181 $\pm$ 0,610 c  | 4,240 $\pm$ 0,777 a  | 0,331 $\pm$ 0,121 d | - e   |
| 7   | 1,107 $\pm$ 0,217 b | 0,373 $\pm$ 0,060 c  | 3,447 $\pm$ 0,578 a  | 0,304 $\pm$ 0,180 c | - d   |
| 9   | 0,578 $\pm$ 0,091 b | 0,227 $\pm$ 0,15 b,c | 1,567 $\pm$ 0,291 a  | 0,187 $\pm$ 0,117 c | - d   |
| 11  | 0,549 $\pm$ 0,415 b | 0,223 $\pm$ 0,15 b,c | 1,474 $\pm$ 0,156 a  | 0,033 $\pm$ 0,064 c | - d   |
| 13  | 0,383 $\pm$ 0,117 b | 0,195 $\pm$ 0,18 b,c | 1,079 $\pm$ 0,163 a  | 0,015 $\pm$ 0,024 c | - c   |
| 15  | 0,330 $\pm$ 0,123 b | 0,191 $\pm$ 0,148 b  | 1,060 $\pm$ 0,152 a  | -c                  | - c   |

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

- Concentrações abaixo do limite de sensibilidade do método.

C.V. (parcela): 5,457%

C.V. (subparcela): 7,111%

Verificou-se que no meio ciclagem de pH os materiais diferiram estatisticamente ( $p < 0,05$ ) entre si e o Vitremer mostrou-se significativamente superior em todos os dias do experimento. No primeiro dia Ketac liberou mais Al que Fuji, entretanto, o inverso aconteceu a partir do segundo dia. F 2000 para a maioria dos dias ocupou a última posição na liberação de Al, porém com quantidades detectáveis até o décimo terceiro dia, o que não ocorreu com Z 100, que mostrou concentrações de Al abaixo do limite de sensibilidade do método em todos os dias.

Para o meio saliva artificial (Tabela 8), a dosagem da concentração de Al nas amostras analisadas foi possível somente no primeiro dia, sendo a liberação dos demais dias inferior à concentração detectável pelo método de dosagem.

Para o meio água deionizada, foi possível a análise dos 3 primeiros dias como mostra a Tabela 9.

**Tabela 8 - Médias e desvios-padrão da liberação de Al ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) em cada dia no meio de imersão saliva artificial.**

| DIA | Fuji Ortho LC     | Ketac-fil         | Vitremer         | F 2000            | Z 100 |
|-----|-------------------|-------------------|------------------|-------------------|-------|
| 1   | 0,104 $\pm$ 0,041 | 0,072 $\pm$ 0,065 | 0,37 $\pm$ 0,025 | 0,227 $\pm$ 0,105 | -     |
| 2   | -                 | -                 | -                | -                 | -     |
| 3   | -                 | -                 | -                | -                 | -     |
| 4   | -                 | -                 | -                | -                 | -     |
| 5   | -                 | -                 | -                | -                 | -     |
| 7   | -                 | -                 | -                | -                 | -     |
| 9   | -                 | -                 | -                | -                 | -     |
| 11  | -                 | -                 | -                | -                 | -     |
| 13  | -                 | -                 | -                | -                 | -     |
| 15  | -                 | -                 | -                | -                 | -     |

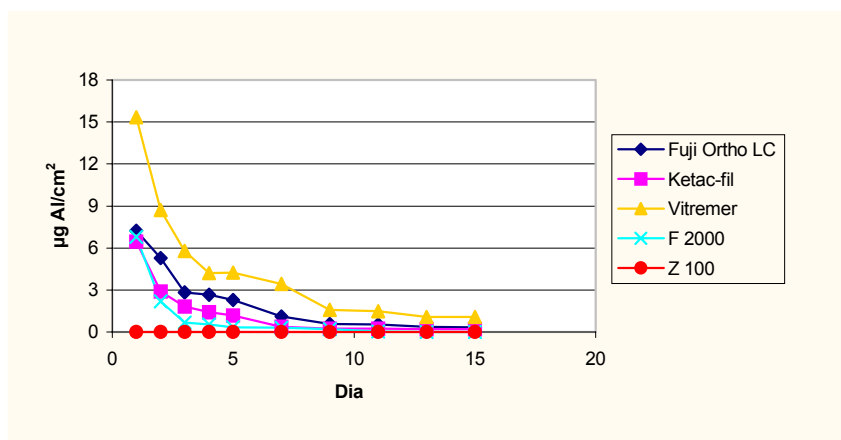
- Concentrações abaixo do limite de sensibilidade do método.

**Tabela 9 - Médias e desvios-padrão da liberação de Al ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) pelos materiais em cada dia no meio de imersão água deionizada.**

| DIA | Fuji Ortho LC     | Ketac-fil         | Vitremer          | F 2000            | Z 100             |
|-----|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| 1   | 1,869 $\pm$ 0,469 | 1,216 $\pm$ 0,241 | 1,811 $\pm$ 0,252 | 1,820 $\pm$ 0,250 | 0,276 $\pm$ 0,053 |
| 2   | 0,704 $\pm$ 0,154 | 0,771 $\pm$ 0,049 | 0,857 $\pm$ 0,088 | 0,840 $\pm$ 0,057 | -                 |
| 3   | 0,474 $\pm$ 0,107 | 0,496 $\pm$ 0,041 | 0,505 $\pm$ 0,060 | 0,490 $\pm$ 0,041 | -                 |
| 4   | -                 | -                 | -                 | -                 | -                 |
| 5   | -                 | -                 | -                 | -                 | -                 |
| 7   | -                 | -                 | -                 | -                 | -                 |
| 9   | -                 | -                 | -                 | -                 | -                 |
| 11  | -                 | -                 | -                 | -                 | -                 |
| 13  | -                 | -                 | -                 | -                 | -                 |
| 15  | -                 | -                 | -                 | -                 | -                 |

- Concentrações abaixo do limite de sensibilidade do método.

O padrão de liberação do Al, observado no meio ciclagem de pH, foi semelhante ao F, tendo maiores valores no primeiro dia, com um declínio rápido no segundo e terceiro dias, tendendo a uma constante nos dias seguintes, ilustrado na Gráfico 5.



**Gráfico 5 – Liberação de Al em ciclagem de pH.**

## 5.2 Fase II

### 5.2.1 Acidogenicidade de *S. mutans*

Este teste de fermentação em meio de cultura teve como objetivo verificar a ação dos materiais odontológicos sobre a acidogenicidade de *S. mutans* através da leitura de pH do meio após a incubação por 24 horas. Como controle negativo foi utilizado meio de cultura não semeado com *S. mutans*. Os resultados de pH diários estão apresentados na Tabela 10 (controle) e Tabela 11, com o inóculo do microrganismo.

Os meios de cultura não semeados (Tabela 10) exibiram valores médios entre 6,51 e 7,12, durante todo o experimento. Observa-se que os materiais resinosos (F 2000 e Z 100) apresentaram valores maiores e homogêneos durante os 7 dias, enquanto que os cimentos ionoméricos (Ketac, Vitremer e Fuji Ortho) apresentaram diferença estatística entre si e entre F 2000 e Z 100 nos 3 primeiros dias e a partir daí obtiveram valores de pH estatisticamente iguais entre todos os materiais.

#### 5.2.1.1 Meio de cultura sem inóculo de *S. mutans*

**Tabela 10 – Médias e desvios-padrão do pH do meio de cultura em cada dia.**

|              | <b>Fuji Ortho</b> | <b>Ketac-fil</b> | <b>Vitremer</b> | <b>F 2000</b>  | <b>Z 100</b> |
|--------------|-------------------|------------------|-----------------|----------------|--------------|
| <b>Dia 1</b> | 6,74±0,04 b       | 6,77±0,07 b      | 6,51±0,03 c     | 7,07±0,01 a    | 7,12±0,01 a  |
| <b>Dia 2</b> | 7,02±0,04 a, b    | 6,98±0,03 b,c    | 6,92±0,03 c     | 7,08±0,03 a    | 7,08±0,02 a  |
| <b>Dia 3</b> | 7,03±0,01 a, b    | 7,03±0,03 a, b   | 7,01±0,02 b     | 7,05±0,02 a, b | 7,08±0,02 a  |
| <b>Dia 4</b> | 7,04±0,01 a       | 7,05±0,02 a      | 7,04±0,02 a     | 7,06±0,03 a    | 7,06±0,04 a  |
| <b>Dia 5</b> | 7,02±0,00 a       | 7,02±0,01 a      | 7,00±0,01 a     | 7,04±0,02 a    | 7,04±0,01 a  |
| <b>Dia 6</b> | 7,06±0,02 a       | 7,05±0,01 a      | 7,06±0,02 a     | 7,08±0,05 a    | 7,08±0,03 a  |
| <b>Dia 7</b> | 7,05±0,02 a       | 7,05±0,02 a      | 7,04±0,02 a     | 7,05±0,02 a    | 7,09±0,03 a  |

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

C.V. (parcela): 0,453%

C.V. (subparcela): 0,800%

### 5.2.1.2 Meio de cultura inoculado com *S. mutans*

Todos os materiais ionoméricos foram capazes de reduzir a acidogenicidade de *S. mutans* em relação ao controle (Z 100), sendo o Vitremer o material que mostrou maior ação durante os 7 dias. Observa-se que esta inibição é mais acentuada nos primeiros dias e vai sendo diluída ao longo do tempo, embora mesmo no último dia, Vitremer e Ketac diferiram estatisticamente ( $p<0,05$ ) de Z 100.

Fazendo uma comparação entre os valores de pH obtidos de cada material entre o meio semeado com *S. mutans* e o meio sem inóculo em cada dia obtivemos uma diferença estatisticamente significativa ( $p<0,05$ ) em todos os dados, ou seja, a presença de *S. mutans* foi responsável pela metabolização de açúcares e conseqüente queda do pH.

**Tabela 11 – Ação dos materiais sobre a fermentação de açúcares pelo *S. mutans*.**

|              | Leitura do pH |             |             |             |             |
|--------------|---------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|              | Fuji Ortho    | Ketac-fil   | Vitremer    | F 2000      | Z 100       |
| <b>Dia 1</b> | 4,94±0,06 c   | 5,06±0,13 b | 5,31±0,15 a | 4,69±0,05 d | 4,29±0,03 e |
| <b>Dia 2</b> | 4,66±0,04 c   | 4,78±0,09 b | 4,98±0,06 a | 4,53±0,03 d | 4,35±0,04 e |
| <b>Dia 3</b> | 4,58±0,04 b   | 4,60±0,04 b | 4,89±0,07 a | 4,46±0,03 c | 4,23±0,04 d |
| <b>Dia 4</b> | 4,51±0,07 b   | 4,58±0,06 b | 4,77±0,04 a | 4,43±0,02 c | 4,28±0,06 d |
| <b>Dia 5</b> | 4,40±0,06 c   | 4,53±0,05 b | 4,70±0,04 a | 4,38±0,04 c | 4,27±0,04 d |
| <b>Dia 6</b> | 4,48±0,06 b,c | 4,52±0,07 b | 4,70±0,07 a | 4,42±0,05 c | 4,29±0,04 d |
| <b>Dia 7</b> | 4,38±0,08 b,c | 4,46±0,06 b | 4,57±0,10 a | 4,37±0,04 c | 4,33±0,08 c |

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

C.V. (parcela): 0,453%

C.V. (subparcela): 0,800%

Observando os resultados da Tabela 10 que mostram uma queda de pH por alguns materiais (Vitremer, Ketac e Fuji) principalmente no primeiro dia, mesmo na ausência de microrganismo, pensou-se que esses valores poderiam interferir na comparação com o meio de cultura inoculado. Desta maneira, para uma melhor avaliação da ação destes materiais foi



calculada a variação dos valores médios do pH entre os dois meios de cultura (inoculado e sem inóculo) durante os 7 dias como mostra a Tabela 12. A menor variação de pH reflete a maior capacidade do material em inibir a queda de pH pela metabolização dos açúcares pelas bactérias.

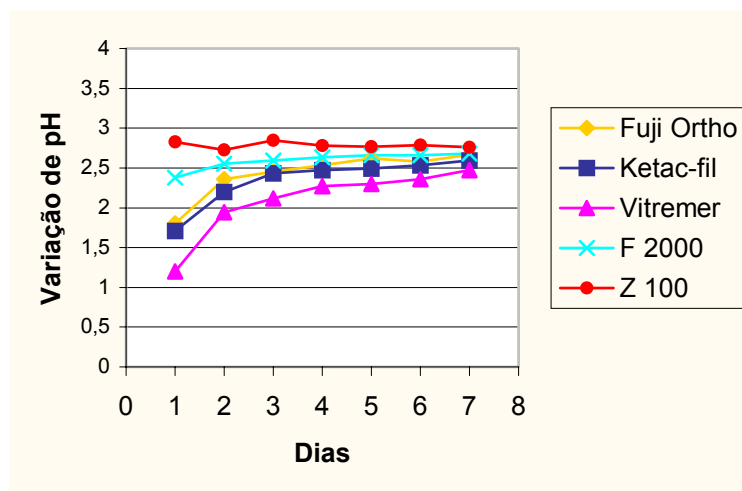
**Tabela 12 –Variação da média de pH entre os meios de cultura inoculado e sem inóculo**

|              | <b>Fuji Ortho</b> | <b>Ketac-fil</b> | <b>Vitremer</b> | <b>F 2000</b> | <b>Z 100</b> |
|--------------|-------------------|------------------|-----------------|---------------|--------------|
| <b>Dia 1</b> | 1,8               | 1,71             | 1,2             | 2,38          | 2,83         |
| <b>Dia 2</b> | 2,36              | 2,2              | 1,94            | 2,55          | 2,73         |
| <b>Dia 3</b> | 2,45              | 2,43             | 2,12            | 2,59          | 2,85         |
| <b>Dia 4</b> | 2,53              | 2,47             | 2,27            | 2,63          | 2,78         |
| <b>Dia 5</b> | 2,62              | 2,49             | 2,3             | 2,66          | 2,77         |
| <b>Dia 6</b> | 2,58              | 2,53             | 2,36            | 2,66          | 2,79         |
| <b>Dia 7</b> | 2,67              | 2,59             | 2,47            | 2,68          | 2,76         |

A menor variação de pH ocorreu principalmente no primeiro dia e o material com o melhor desempenho foi o Vitremer, seguido do Ketac, Fuji e F 2000.

Esses dados foram calculados a partir da média e não utilizando os dados individualizados pois cada repetição não correspondia ao mesmo corpo de prova em ambos os meios estudados. Assim, a análise estatística não foi realizada por não termos número de repetição adequado.

A Gráfico 6 ilustra a variação de pH que ocorreu ao longo dos dias provocada por cada material.



**Gráfico 6 – Gráfico da diferença das médias de pH entre os meios de cultura inoculado e sem inóculo.**

É possível observar neste gráfico que o Vitremer, sem dúvida, foi o material que melhor conseguiu evitar a queda de pH. Em seguida observamos o Ketac, Fuji, F 2000 e Z 100, que praticamente não mostrou alteração nos 7 dias.

### 5.2.2 Liberação de Flúor no meio de cultura

Todos os materiais liberaram F em ambos os meios de cultura estudados, com e sem inóculo de *S. mutans*, com exceção da resina composta, que liberou quantidades desprezíveis.

Os resultados estão apresentados nas Tabelas 13 e 14, expressos em ppm F no meio de cultura, em cada dia. Foram feitas comparações entre os materiais dentro de cada dia. A liberação total de F nos 7 dias, por cada conjunto de corpo de prova, foi calculada somando a liberação de cada dia e está apresentada na última linha de cada tabela.

A liberação de F no meio de cultura sem *S. mutans* (Tabela 13) variou entre os materiais, em todos os dias, sendo que a ordem de liberação também variou, principalmente nos 3 primeiros dias.

#### 5.2.2.1 Meio de cultura sem inóculo de *S. mutans*

**Tabela 13 – Médias e desvios-padrão da liberação de F (ppm) em cada dia em meio de cultura não inoculado.**

|              | <b>Fuji Ortho</b> | <b>Ketac-fil</b> | <b>Vitremer</b> | <b>F 2000</b> | <b>Z 100</b>   |
|--------------|-------------------|------------------|-----------------|---------------|----------------|
| <b>Dia 1</b> | 7,853±0,526 a     | 5,101±1,015 b    | 4,189±0,693 c   | 1,921±0,311 d | 0,239±0,171 e  |
| <b>Dia 2</b> | 4,136±0,760 a     | 1,977±0,338 b    | 3,575±0,614 a   | 1,595±0,246 b | 0,134±0,037 c  |
| <b>Dia 3</b> | 1,181±0,075 b     | 1,520±0,248 b    | 2,346±0,418 a   | 0,748±0,146 c | 0,141±0,014 d  |
| <b>Dia 4</b> | 0,995±0,048 b,c   | 1,308±0,258 a,b  | 1,815±0,335 a   | 0,691±0,154 c | 0,102±0,022 d  |
| <b>Dia 5</b> | 0,930±0,095 b,c   | 1,360±0,337 a,b  | 1,856±0,435 a   | 0,735±0,180 c | 0,106±0,024 d  |
| <b>Dia 6</b> | 0,881±0,099 b     | 1,457±0,405 a    | 1,857±0,369 a   | 0,369±0,241 c | 0,075±0,027 d  |
| <b>Dia 7</b> | 0,786±0,047 b     | 1,343±0,254 a    | 1,646±0,327 a   | 0,138±0,068 c | 0,009±0,0012 c |
| <b>Total</b> | 16,763±0,485      | 14,065±2,373     | 17,286±2,997    | 6,199±1,035   | 0,805±0,246    |

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

C.V. (parcela): 6,201%

C.V. (subparcela): 7,760%

A liberação de F no meio de cultura inoculado com *S. mutans* apresentou médias mais altas que no meio não inoculado. Na liberação total de F, a ordem foi: Ketac, Vitremer, Fuji F 2000 e Z100, diferente do que ocorreu no meio não inoculado.

#### 5.2.2.2 Meio de cultura inoculado com *S. mutans*

**Tabela 14 - Médias e desvios-padrão da liberação de F (ppm) em cada dia em meio inoculado com *S. mutans*.**

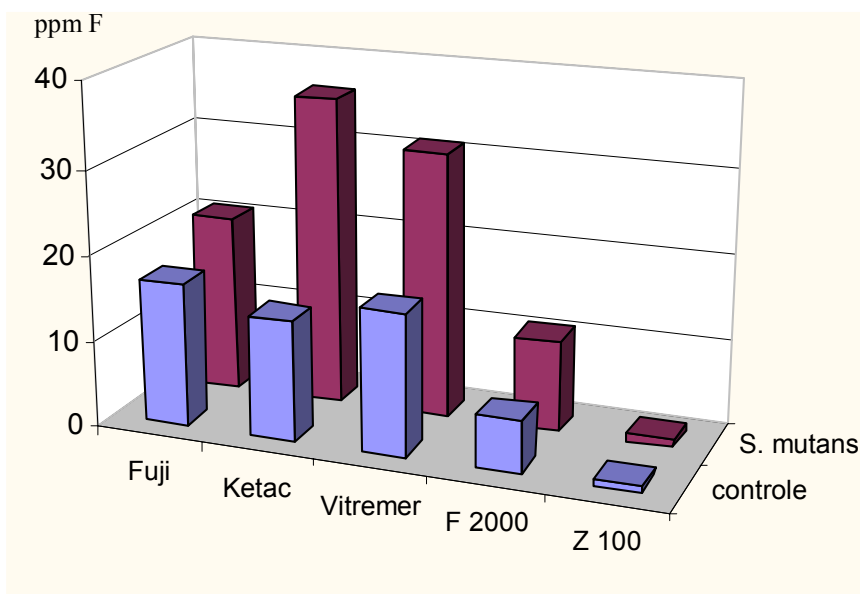
|              | <b>Fuji Ortho</b> | <b>Ketac-fil</b> | <b>Vitremer</b> | <b>F 2000</b> | <b>Z 100</b>  |
|--------------|-------------------|------------------|-----------------|---------------|---------------|
| <b>Dia 1</b> | 8,326±1,203 c     | 10,766±1,412 a   | 9,207±1,433 b   | 3,152±0,562 d | 0,276±0,172 e |
| <b>Dia 2</b> | 4,729±0,699 b     | 4,903±0,947 b    | 8,220±1,526 a   | 2,529±0,615 c | 0,146±0,035 d |
| <b>Dia 3</b> | 2,059±0,459 b     | 4,798±0,700 a    | 4,246±0,890 a   | 1,468±0,278 b | 0,139±0,020 c |
| <b>Dia 4</b> | 1,611±0,297 c     | 4,258±0,725 a    | 3,407±0,716 b   | 1,124±0,224 c | 0,131±0,044 d |
| <b>Dia 5</b> | 1,619±0,267 c     | 4,349±0,695 a    | 2,944±0,535 b   | 1,305±0,303 d | 0,131±0,044 e |
| <b>Dia 6</b> | 1,236±0,212 c     | 3,567±0,545 a    | 2,539±0,480 b   | 0,962±0,145 c | 0,078±0,019 d |
| <b>Dia 7</b> | 1,227±0,192 c     | 3,472±0,569 a    | 1,949±0,296 b   | 0,119±0,059 d | 0,004±0,002 d |
| <b>Total</b> | 20,807±3,234      | 36,112±4,052     | 32,513±5,334    | 10,658±1,986  | 0,905±0,162   |

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

C.V. (parcela): 6,201%

C.V. (subparcela): 7,760%

O gráfico abaixo ilustra a liberação total de F nos meios com e sem *S. mutans*. Todos os materiais ionoméricos liberaram mais F no meio inoculado com *S. mutans*. Além disso, os materiais se comportaram de maneira diferente em cada meio.



**Gráfico 7 – Liberação de F (ppm) em meio de cultura inoculado ou sem inóculo de *S. mutans*.**

### 5.2.3 Liberação de Al no meio de cultura

Não foi possível fazer a dosagem da concentração de Al no meio de cultura não semeado em todas as amostras, pelo mesmo motivo já anteriormente explicado. Entretanto, Vitremer apresentou maior liberação de Al, comparado com os demais materiais, sendo a liberação analisada até o sétimo dia em concentrações detectáveis pelo método utilizado, como mostra a Tabela 15.

#### 5.2.3.1 Meio de cultura sem inóculo de *S. mutans*

**Tabela 15 - Médias e desvios-padrão da liberação de Al (ppm) em cada dia em meio não inoculado.**

|              | <b>Fuji Ortho</b> | <b>Ketac-fil</b> | <b>Vitremer</b> | <b>F 2000</b> | <b>Z 100</b> |
|--------------|-------------------|------------------|-----------------|---------------|--------------|
| <b>Dia 1</b> | 0,492± 0,27       | 1,334±0,467      | 10,854±2,190    | 0,458±0,141   | -            |
| <b>Dia 2</b> | -                 | -                | 2,663±0,776     | -             | -            |
| <b>Dia 3</b> | -                 | -                | 1,983±0,600     | -             | -            |
| <b>Dia 4</b> | -                 | -                | 1,977±0,803     | -             | -            |
| <b>Dia 5</b> | -                 | -                | 1,923±0,776     | -             | -            |
| <b>Dia 6</b> | -                 | -                | 1,592±0,732     | -             | -            |
| <b>Dia 7</b> | -                 | -                | 1,498±0,775     | -             | -            |
| <b>Total</b> | 0,492±0,277       | 1,334±0,334      | 22,490±4,800    | 0,458±0,141   | -            |

- Concentrações abaixo do limite de sensibilidade do método.

C.V. (parcela): 7,619%

C.V. (subparcela): 11,444%

### 5.2.3.2 Meio inoculado com *S. mutans*

Em relação ao meio de cultura inoculado, podemos observar que todos os materiais que liberam F liberaram quantidades significativas de Al durante os 7 dias de experimento. A Tabela 16 mostra os resultados encontrados onde Vitremer se destacou pela maior liberação em todos os dias, além do maior valor de liberação total de Al.

**Tabela 16 – Médias e desvios-padrão da liberação de Al (ppm) em cada dia em meio inoculado.**

|              | <b>Fuji Ortho</b> | <b>Ketac-fil</b> | <b>Vitremer</b> | <b>F 2000</b> | <b>Z 100</b>  |
|--------------|-------------------|------------------|-----------------|---------------|---------------|
| <b>Dia 1</b> | 2,903± 0,478 c    | 4,154±1,125 b    | 7,509±1,067 a   | 3,414±0,934 c | 0,626±0,475 d |
| <b>Dia 2</b> | 2,754±0,844 b     | 3,176±0,464 b    | 6,923±0,718 a   | 2,860±0,961 b | -c            |
| <b>Dia 3</b> | 2,727±0,950 b     | 3,440±0,615 b    | 5,162±1,115 a   | 2,842±0,917 b | -c            |
| <b>Dia 4</b> | 2,483±0,747 b     | 3,575±0,554 b    | 5,012±0,997 a   | 2,582±0,579 b | - c           |
| <b>Dia 5</b> | 2,331±0,824 b     | 3,598±0,688 b    | 4,353±1,087 a   | 2,677±0,463 b | - c           |
| <b>Dia 6</b> | 1,764±0,360 b     | 3,230±0,390 b    | 4,150±0,939 a   | 1,957±0,697 b | -c            |
| <b>Dia 7</b> | 1,687±0,410 b     | 3,112±0,512 b    | 3,334±0,963 a   | 1,670±0,517 b | -c            |
| <b>Total</b> | 16,649±3,806      | 24,285±2,873     | 36,442±5,550    | 18,001±4,224  | 0,626±0,475   |

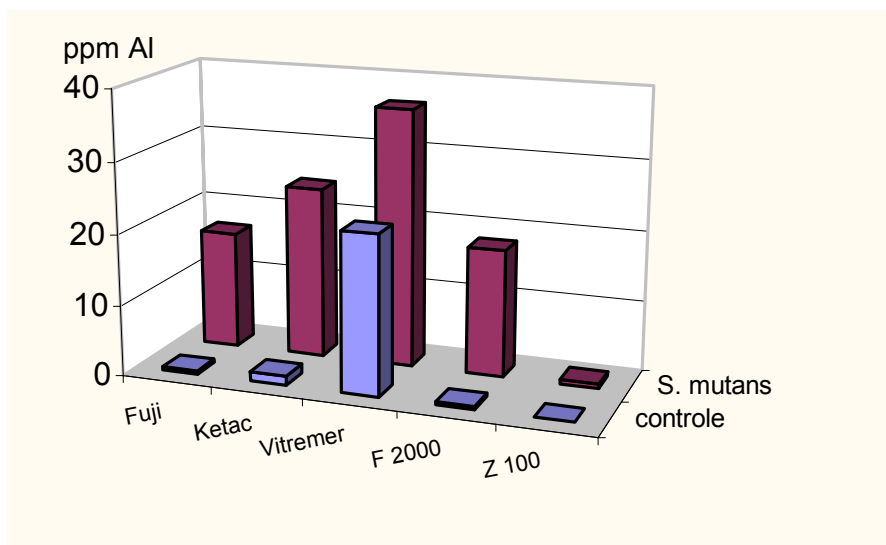
Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

- Concentrações abaixo do limite de sensibilidade do método.

C.V. (parcela): 7,619%

C.V. (subparcela): 11,444%

O gráfico abaixo apresenta a liberação total de Al por material em cada meio de cultura. Observa-se uma maior liberação de Al no meio inoculado.



**Gráfico 8 – Liberação de Al (ppm) em meio de cultura inoculado e sem inóculo de *S. mutans*.**



#### 5.2.4 Composição da placa experimental

A seguir estão apresentadas as médias e desvios-padrão do peso seco, concentração de F, Al e carboidrato solúvel em álcali da placa experimental nas Tabelas 17, 18, 19 e 20, respectivamente.

Observa-se que os materiais que mais formaram placa foram os materiais resinosos (F 2000 e Z 100) sendo estes estatisticamente diferentes ( $p < 0,05$ ) dos demais. Considerando o peso da placa formada, uma variável que mostra claramente a inibição do metabolismo das bactérias, os materiais que apresentaram os melhores resultados na inibição da formação da placa foi o Vitremer com a maior inibição e em seguida o Ketac, ambos não apresentando diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 17 – Médias e desvios-padrão do peso seco (mg) da placa experimental formada sobre cada material.**

| MATERIAL   | PESO SECO (mg)  |
|------------|-----------------|
| Fuji Ortho | 3,632±0,495 b   |
| Ketac-fil  | 3,357±0,436 b,c |
| Vitremer   | 2,762±0,332 c   |
| F 2000     | 4,485±0,341 a   |
| Z 100      | 4,590±0,632 a   |

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Com relação à concentração de F na placa, o maior valor foi encontrado para o material Vitremer, diferindo estatisticamente ( $p < 0,05$ ) dos demais materiais. Em seguida, com concentrações intermediárias de F na placa, os materiais Fuji Ortho, Ketac e F 2000 não diferiram entre si significativamente. ( $p < 0,05$ ). A resina composta (Z 100) apresentou quantidades desprezíveis de F, como esperado.

**Tabela 18 – Médias e desvios-padrão da concentração de F ( $\mu\text{g F/mg}$ ) na placa experimental.**

| MATERIAL   | Flúor ( $\mu\text{g/mg}$ ) |
|------------|----------------------------|
| Fuji Ortho | 0,532 $\pm$ 0,216 b        |
| Ketac-fil  | 0,513 $\pm$ 0,147 b        |
| Vitremer   | 1,056 $\pm$ 0,426 a        |
| F 2000     | 0,573 $\pm$ 0,140 b        |
| Z 100      | 0,053 $\pm$ 0,021 c        |

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p<0,05$ ).

Em relação à concentração de Al na placa (Tabela 19) verificou-se que os materiais que obtiveram concentrações significativamente maiores ( $p<0,05$ ), foram em ordem decrescente o Vitremer, Ketac, e F 2000. Em seguida, com concentrações intermediárias de Al na placa, o material Fuji Ortho, que não diferiu significativamente ( $p<0,05$ ) do Ketac e F 2000. A resina composta (Z 100) apresentou quantidades desprezíveis de Al, como esperado.

**Tabela 19 – Médias e desvios-padrão da concentração de Al ( $\mu\text{g Al/mg}$ ) na placa experimental.**

| MATERIAL   | Alumínio ( $\mu\text{g/mg}$ ) |
|------------|-------------------------------|
| Fuji Ortho | 0,30 $\pm$ 0,09 b             |
| Ketac-fil  | 0,35 $\pm$ 0,16 a,b           |
| Vitremer   | 0,60 $\pm$ 0,21 a             |
| F 2000     | 0,35 $\pm$ 0,09 a,b           |
| Z 100      | 0,05 $\pm$ 0,05 c             |

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p<0,05$ ).

Na Tabela 20 estão apresentados os resultados da análise da concentração de carboidrato solúvel em álcali da placa. Verificou-se que os materiais Vitremer e Ketac não diferiram significativamente entre si ( $p < 0,05$ ) e apresentaram as menores médias sendo que somente o Vitremer mostrou-se estatisticamente diferente ( $p < 0,05$ ) de Fuji Ortho, F 2000 e Z 100.

**Tabela 20 – Médias e desvios-padrão da concentração de carboidrato solúvel em álcali ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) na placa experimental.**

| MATERIAL   | $\mu\text{g}/\text{mg}$ |
|------------|-------------------------|
| Fuji Ortho | 481,40 $\pm$ 36,24 a    |
| Ketac-fil  | 404,59 $\pm$ 93,97 a,b  |
| Vitremer   | 303,03 $\pm$ 80,63 b    |
| F 2000     | 498,11 $\pm$ 32,69 a    |
| Z 100      | 454,00 $\pm$ 62,20 a    |

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 21 – Coeficiente de correlação entre as variáveis pH, F e Al do meio de cultura.**

|                  | <b>pH</b> | <b>F (meio)</b> | <b>Al (meio)</b> |
|------------------|-----------|-----------------|------------------|
| <b>pH</b>        | -         | 0,882           | 0,796            |
| <b>F (meio)</b>  | -         | -               | 0,741            |
| <b>Al (meio)</b> | -         | -               | -                |

( $p < 0,0001$ )

A correlação das variáveis foi realizada utilizando os valores individuais de pH, liberação de F e Al nos dois meios de cultura. Observa-se uma correlação positiva entre o pH do meio de cultura x liberação de F ( $r=0,882$ ) e pH x Al ( $r=0,796$ ). Além disso, existe também uma correlação entre liberação de F e Al ( $r=0,741$ ).

**Tabela 22 - Correlação entre as variáveis: F e Al total liberado no meio de cultura, peso, F, Al e carboidrato solúvel em álcali da placa experimental.**

|                   | <b>F (meio)</b> | <b>Al (meio)</b>    | <b>Peso</b>          | <b>F (placa)</b>     | <b>Al (placa)</b>    | <b>PSA</b>           |
|-------------------|-----------------|---------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| <b>F (meio)</b>   | -               | 0,828<br>(p<0,0001) | -0,756<br>(p<0,0001) | 0,508<br>(p<0,0041)  | 0,588<br>(p<0,0006)  | -0,485<br>(p<0,0066) |
| <b>Al (meio)</b>  | -               | -                   | -0,724<br>(p<0,0001) | 0,780<br>(p<0,0001)  | 0,794<br>(p<0,0001)  | -0,566<br>(p<0,0011) |
| <b>Peso</b>       | -               | -                   | -                    | -0,549<br>(p<0,0017) | -0,632<br>(p<0,0002) | 0,507<br>(p<0,0042)  |
| <b>F (placa)</b>  | -               | -                   | -                    | -                    | 0,761<br>(p<0,0001)  | -0,517<br>(p<0,0034) |
| <b>Al (placa)</b> | -               | -                   | -                    | -                    | -                    | -0,295<br>(p<0,1136) |

A correlação das variáveis foi realizada utilizando valores médios da liberação total de F e Al no meio de cultura semeado com *S. mutans* e os valores da composição da placa dental experimental. Pode-se observar principalmente uma correlação positiva entre F (meio) e Al (meio), Al (meio) e F (placa), Al (meio) e Al (placa), Al (placa) e F (placa) e correlação negativa entre peso e F (meio) e peso e Al (meio). Para as outras comparações observou-se correlação mediana.

## **DISCUSSÃO**



## 6 DISCUSSÃO

Os resultados das fases I e II deste estudo foram discutidos separadamente.

### 6.1 Fase I

#### 6.1.1 *Liberação de F*

Entre as propriedades dos materiais ionoméricos, grande destaque tem sido dado à liberação de F. Inúmeros estudos que avaliam esta característica têm sido realizados desde o seu surgimento, na década de 70 (WILSON & KENT<sup>103</sup>, 1972). A capacidade dos materiais ionoméricos de liberar F para o ambiente bucal, particularmente para a interface entre tecido dentário saudável e material restaurador é de grande interesse pois, ao mesmo tempo que poderia inibir a desmineralização e ativar a remineralização do esmalte adjacente, também poderia alterar a estrutura da placa formada sobre eles, pela inibição dos microrganismos cariogênicos, reduzindo a progressão da lesão de cárie.

Todos os materiais ionoméricos testados neste estudo liberaram F nos 15 dias do período experimental da Fase I (Tabelas 4, 5 e 6). Esses resultados estão de acordo com CRISP et al.<sup>20</sup> (1976), FORSTEN<sup>35</sup> (1977), FUKAZAWA et al.<sup>39</sup> (1987), FORSTEN<sup>36</sup> (1991), VERBEECK et

al.<sup>99</sup> (1993), DE ARAUJO et al.<sup>24</sup> (1996), GLOCKMANN et al.<sup>42</sup> (1997), ASHCRAFT et al.<sup>2</sup> (1997), BALA et al.<sup>3</sup> (1997), BAPNA & MUELLER<sup>4</sup> (1994), SHAW et al.<sup>84</sup> (1998), CARVALHO & CURY<sup>10</sup> (1999), que avaliaram a liberação de F por materiais ionoméricos. Entretanto, a quantidade de F liberada variou significativamente entre os materiais (Tabela 3). Considerando as diferenças quantitativas observadas entre os materiais dentro de um único meio de imersão ao longo do tempo (Tabela 6), como por exemplo, a água deionizada, meio que tem sido mais utilizado nos estudos *in vitro*, verificamos que os materiais se comportaram de maneira diferente ao longo do tempo. No primeiro dia, o Vitremer apresentou maior liberação, em seguida, Ketac, Fuji Ortho, Ketac, F2000 e Z 100, sendo todos estatisticamente diferentes. No segundo dia, Vitremer não diferiu de Ketac e a partir do quarto dia Vitremer, Fuji Ortho e Ketac apresentaram médias estatisticamente iguais. A razão para uma ampla faixa de liberação tem sido considerada incerta. As explicações giram em torno de alguns fatores que devem ser destacados: tipo de material (CIV convencional, CIV modificado por resina, reforçado por metal, resina composta modificada por políácido, modificada por ionômero e resina composta), composição (concentrações e fontes diferentes de F), solubilidade dos materiais (MERYON & SMITH<sup>65</sup>, 1984; YOUNG et al.<sup>109</sup>, 1996), difusão do F através do material (FORSTEN<sup>35</sup>, 1977), energia superficial, porosidade do material, proporção pó:líquido utilizada (CRISP et al.<sup>20</sup>, 1976; CRANFIELD et al.<sup>16</sup>, 1982; MERYON & SMITH<sup>65</sup>, 1984; BALA et al.<sup>3</sup>, 1997), tempo decorrido entre a manipulação e a imersão do material no meio aquoso (VERBEECK et al.<sup>98</sup>, 1998). Muitos estudos tem sido realizados na tentativa de se conseguir maior liberação de F sem perder outras propriedades benéficas, entretanto, este mecanismo ainda não está totalmente esclarecido.

A liberação de F dos cimentos ionoméricos se dá por dissolução do material nos primeiros dias e por troca iônica nos dias seguintes, já nas resinas, essa liberação se dá apenas por troca iônica, pois o grau de solubilidade desse material é muito baixo (CARVALHO & CURY<sup>11</sup>, 1998). Tentando explicar o mecanismo de liberação, de acordo com KOMATSU & SHIMOKOBE<sup>55</sup> (1993) à medida que o ácido reage com o pó de vidro, o F é liberado para a matriz para formar sal, complexos com íons positivos ou manter-se na forma ionizada. Acredita-se que a primeira reação para a liberação de F vem da superfície do cimento que está tomando presa e depois, da migração de F para a superfície, vindo da região subsuperficial da matriz. O



processo de presa do material continua por cerca de um ano e a liberação de F tem sido documentada por até 8 anos após o início da presa do material (FORSTEN<sup>37</sup>, 1998).

Alguns trabalhos (FORSTEN<sup>35</sup>, 1977; CREAMOR, et al.<sup>17</sup> 1994) consideram que a quantidade de F incorporada ao material durante sua fabricação poderia exercer um papel importante no resultado final de liberação. Foi descrita uma quantidade de F em diferentes pós de cimentos de ionômero de vidro variando entre 62 µg/mg e 156 µg/mg, enquanto que na resina composta Concise apenas 0,2 µg/mg de F (KOMATSU & SHIMOKOBE<sup>55</sup>, 1993). Por outro lado, SHEN & BAN<sup>85</sup> (1990) relatam de forma conclusiva que uma grande quantidade de F no pó de um determinado material não indica necessariamente que sua taxa de liberação será alta porque na verdade, a taxa de F liberada aumenta com o conteúdo de sódio, diminui com o conteúdo de cálcio e não depende de alumínio e fósforo. Outros componentes presentes na composição é que ajudam a controlar a taxa de F liberada.

Este trabalho mostra bons resultados do cimento de ionômero de vidro convencional e também do ionômero de vidro modificado por resina, ambos apresentando altos valores de liberação de F (Tabela 3). Dentre os materiais estudados, o F 2000 foi o que liberou menor quantidade de F, confirmando achados de GLOCKMANN et al.<sup>42</sup> (1997). De acordo com BILGIN & OZALP<sup>8</sup>, (1998) nas resinas compostas modificadas por poliácido, o F deve estar firmemente aprisionado na matriz da resina e sua liberação deve ser inferior e mais lenta que nos ionômeros de vidro convencionais. Assim, FORSTEN<sup>36</sup> (1991) chama a atenção para o fato de existir um interesse em se adicionar F às resinas compostas e selantes. O autor menciona que tal tentativa não parece ser muito promissora visto que nos cimentos de ionômero de vidro, o F é um dos principais componentes e já no caso das resinas, o F é adicionado à parte e se for colocado nas mesmas proporções, as propriedades do material serão totalmente prejudicadas. Segundo WILSON & McLEAN<sup>104</sup> (1988), o F é um constituinte essencial dos cimentos de ionômero de vidro pois além do efeito terapêutico proporcionado pela liberação de F, ele diminui a temperatura de fusão para obtenção do vidro, melhora as características de trabalho pela diminuição do pH, aumenta consideravelmente a resistência do cimento endurecido e em quantidades moderadas, ainda melhora a translucidez do material.

A grande maioria dos trabalhos utiliza a água como meio de imersão para a liberação de F. Entretanto, este não parece ser o melhor meio para esta avaliação pois não simula condições

ambientais *in vivo* como a composição inorgânica, força iônica, grau de saturação, interações na superfície e pH do meio, fundamentais no equilíbrio de reações e portanto, diretamente implicados com a velocidade de dissolução da parte inorgânica de materiais (CURY et al.<sup>23</sup>, 1993). Desta maneira, para melhor simular as condições reais da cavidade bucal, a liberação de F foi avaliada em saliva artificial (Tabela 5) e confirmando os dados encontrados na literatura (CURY et al.<sup>23</sup>, 1993; WANDERA et al.<sup>101</sup>, 1996; GLOCKMAN et al.<sup>42</sup>, 1997; WILLIAMS et al.<sup>102</sup>, 1997; CARVALHO & CURY<sup>10</sup>, 1999) a liberação na saliva é significativamente menor que na água. EL-MALLAKH & SARKAR<sup>28</sup> (1990) explicam este fato pela presença de cátions e ânions na saliva artificial que provocam um efeito iônico na solubilidade dos materiais. WANDERA et al.<sup>101</sup> (1996) sugerem a hipótese de que os elementos presentes na saliva artificial como o sódio, hidrogênio, fósforo, cálcio e carbonato, têm o potencial para reagir com o F ou ser adsorvidos pelo material, assim, agindo como uma barreira que reduz a disponibilidade do F.

A saliva natural é rica em íons, entre eles o Ca (THYLSTRUP & FEJERSKOV<sup>94</sup>, 1995), e, da mesma maneira, a saliva artificial (contém 1,5 mM de Ca e simula a composição inorgânica da saliva natural). Os íons Ca podem formar complexos insolúveis com o F, assim como outros cátions bi e trivalentes presentes na saliva (Ex:  $Mg^{++}$ ). Todas as dosagens das amostras, inclusive as do meio saliva e ciclagem, foram realizadas utilizando eletrodo específico para F que detecta a presença deste elemento na sua forma ionizada. Desta maneira, utiliza-se para análise uma solução tampão (TISAB – Total ionic Strength Adjustive Buffer) com o objetivo de ajustar o pH, força iônica e descomplexar interferentes. Dentro dessas informações, poderíamos pensar que a alta concentração de íons presentes na saliva somada com os íons liberados pelos materiais, como o Ca e o Al (FUKAZAWA et al.<sup>39</sup>, 1987; ANDERSSON & DAHL<sup>1</sup>, 1994) poderiam complexar o F de maneira que a solução tampão (TISAB) não fosse suficiente para deixar todos os íons F disponíveis para a leitura, resultando em dosagens subestimadas. Para averiguar esta dúvida, foi realizado o estudo piloto, com o objetivo de comparar as leituras da liberação de F através de 3 métodos distintos: técnica da Microdifusão facilitada por HMDS (TAVES<sup>91</sup>, 1968) – método de extração de F que permite concentrar as amostras e eliminar a interferência de outros íons; utilização de TISAB II e TISAB III, diluindo as amostras 30 e 60 vezes. Observou-se que utilizando TISAB II houve menor leitura da concentração das amostras em relação aos outros 2 métodos e não houve diferença entre os resultados obtidos com a técnica de TAVES (que reflete

o conteúdo real de F na amostra) e com TISAB III, mostrando que o descomplexante do TISAB III foi suficiente para a permitir a leitura do F presentes, sendo, por isso, este método escolhido. A diferença entre os tampões TISAB II e III se encontra no descomplexante de sua composição: para o TISAB II utiliza-se o CDTA (ciclohexilenodiaminotetracético) e para o TISAB III utiliza-se o citrato. Uma possível explicação para esses resultados poderia ser a liberação de Al pelos próprios materiais ionoméricos, podendo interferir nos procedimentos analíticos da liberação de F, dados esses encontrados por NAKAJIMA et al.<sup>72</sup>, (1997).

Embora a saliva artificial simule o meio ambiente bucal, ela tem pouca relação de como e quando o F age no controle do desenvolvimento da cárie. Sendo a cárie um processo dinâmico com alternância de fenômenos de desmineralização e remineralização (CURY et al.<sup>23</sup>, 1993), o sistema de ciclagens de pH é o mais indicado para simular *in vitro* essas alternâncias que ocorrem no ambiente bucal (TEN CATE<sup>93</sup>, 1990). Além disso, este modelo, sugerido por FEATHERSTON et al.<sup>29</sup> (1986) mostrou correlação com o desenvolvimento *in vivo* de cárie em situações de alto desafio cariogênico. Assim, utilizou-se este modelo de ciclagem de pH para simular a dinâmica do processo de cárie, momento no qual a presença de F é realmente importante. Os resultados encontrados neste meio de imersão quanto comparados com a água, mostraram uma maior liberação para o Vitremer e Fuji Ortho (Tabela 4), estando de acordo com o trabalho de FORSS & SEPPÄ<sup>32</sup> (1990), FORSTEN<sup>36</sup> (1991), MODESTO et al.<sup>68</sup> (1997), LAVIS et al.<sup>56</sup> (1997) que mostraram que em pH mais ácido maior quantidade de F é liberada. MESU<sup>66</sup> (1982) sugere dentre outros fatores, que o pH pode afetar a velocidade de degradação do material. Dentro deste mesmo raciocínio, FORSS & SEPPÄ<sup>32</sup> (1990) atribuíram este fato provavelmente a erosão química. Entretanto, Ketac e F 2000 não diferiram estatisticamente quando comparou-se o meio ciclagem com água, ou seja, a liberação de F por esses materiais não foi afetada pelo pH, resultado este para o qual não encontramos uma explicação.

Parece que diferentes mecanismos governam a liberação de íon e muitas forças devem estar agindo. A diminuição observada da liberação de íons em saliva artificial confirma a hipótese que um dos mecanismos de controle deste fenômeno pode ser a concentração de íons do meio que circunda (WILLIAMS et al.<sup>102</sup>, 1997). TAY & BRADEN<sup>92</sup> (1988) sugeriram que a liberação de F é um processo de difusão, um mecanismo susceptível a gradientes de concentração. De acordo com SHEN & BAN<sup>85</sup> (1990), outros componentes presentes na composição do material é

que ajudam a controlar a liberação de F. Provavelmente isto esteja acontecendo para regular a saída ou não de F do material ionomérico para o meio estudado. Assim, pode-se entender os resultados da Tabela 3 que mostram as alterações na liberação de F entre os materiais nos meios de imersão estudados, onde verifica-se que a ordem desta não é a mesma quando estudada em diferentes meios de imersão.

Apesar das diferenças encontradas entre os materiais dentro de cada meio estudado pode-se observar que os 4 materiais liberadores de F exibiram em cada meio de imersão avaliado o mesmo padrão qualitativo de liberação de F durante os 15 dias de experimento (Gráficos 2 a 4). A concentração de F liberada foi maior nas primeiras 24 horas, estando de acordo com (FUKAZAWA et al.<sup>39</sup>, 1987; CRISP et al.<sup>19</sup>, 1980; MERYON & SMITH<sup>65</sup>, 1984; EL MALLAKH & KARKAR<sup>28</sup>, 1990), declinou rapidamente no segundo e terceiro dias e então gradualmente diminuiu até um nível constante para cada material, estando de acordo com FUKAZAWA et al.<sup>39</sup> (1987), FORSTEN<sup>37</sup>, (1998) que verificaram que esta liberação atinge um nível constante após alguns meses e se mantém no mesmo nível por pelo menos 8 anos.

### **6.1.2 Liberação de Al**

O Al é um constituinte substancial do cimento de ionômero de vidro, responsável pela estabilidade de presa do cimento. Este participa em grandes proporções da composição básica deste material que é: sílica (30,1%), alumina (19,9%) e fluorita (34,5%) – composição do cimento de ionômero de vidro original, G-200 (WILSON & McLEAN<sup>104</sup>, 1988). Alguns estudos tem mostrado que este elemento pode ser liberado por materiais ionoméricos (CRISP et al.<sup>20</sup>, 1976; FUKAZAWA et al.<sup>39</sup>, 1987; FORSS<sup>31</sup>, 1993; ANDERSSON & DAHL<sup>1</sup>, 1994; BAPNA & MUELLER<sup>4</sup>, 1994; NAKAJIMA et al.<sup>72</sup>, 1997; WILLIAMS et al.<sup>102</sup>, 1997; CHUNG et al.<sup>12</sup>, 1998). Na manipulação do material, o alumínio é liberado das partículas de vidro para a fase aquosa do ácido polialcenóico devido ao pH baixo. O pH da solução de ácido polialcenóico aumenta quando o vidro funciona como um acceptor de prótons e o líquido como um doador. Durante a manipulação e a reação de presa, o Al é liberado do vidro para a solução de ácido

polialcenóico. Entretanto parte deste não deve se combinar com o ácido polialcenóico mas deve ser liberado do cimento (ANDERSSON & DAHL<sup>1</sup>, 1994). E isto deve ocorrer principalmente durante os primeiros minutos (CRISP et al.<sup>20</sup> 1976). O aumento do pH durante a presa do material e a formação de polialcenoato de Al reduz a solubilidade do material.

Todos os materiais ionoméricos liberaram Al no meio de imersão ciclagem de pH e isto ocorreu nos 15 dias do estudo, com exceção da resina composta Z 100 (Gráfico 5). Os resultados mostraram que as médias de liberação de Al foram estatisticamente diferentes entre os materiais, estando de acordo com os dados da literatura (FORSS<sup>31</sup>, 1993, ANDERSSON & DAHL<sup>1</sup>, 1994; NAKAJIMA et al.<sup>72</sup>, 1997), sendo a média encontrada para o Vitremer significativamente maior que os demais (Tabela 7). FORSS<sup>31</sup> (1993) encontrou maior liberação para o material XR Ionomer, que é um CIV modificado por resina, comparando com CIV convencional, quando imerso em água deionizada por 16 dias, entretanto, isto não ocorreu, quando os mesmos corpos de prova foram em seguida imersos em ácido láctico, por mais 16 dias. Não foi possível comparar com os dados de ANDERSSON & DAHL<sup>1</sup>, (1994) pois o tempo decorrido até a colocação do corpo de prova no meio de imersão de cada estudo foi muito diferente, não permitindo uma comparação.

É provável que o pH da solução possa ter influenciado na liberação de Al, uma vez que somente no meio ciclagem de pH foi possível fazer as dosagens, estando de acordo com resultados de FORSS<sup>31</sup> (1993) que avaliou a liberação de Al em água deionizada e ácido láctico e a mudança no pH afetou a liberação deste elemento.

Por outro lado, CHUNG et al.<sup>12</sup>, 1998 acompanharam a liberação de Al, entre outros íons, por 168 dias em meio de imersão água deionizada e observaram que após 84 dias os materiais ionoméricos atingiram um nível estável de liberação de Al. Vale ressaltar que estes autores realizaram as dosagens através de espectrometria de massa e analisaram as concentrações cumulativas, ou seja, com o passar dos dias, a concentração da solução aumentou, ao contrário deste estudo que devido a troca diária das soluções, a cada dia foi menor a leitura.

Devido à baixa sensibilidade do método utilizado para a análise de Al, onde grande parte das leituras foi comprometida, houve a tentativa de se utilizar métodos mais sensíveis como no estudo de NAKAJIMA et al.<sup>72</sup> (1997) que utilizam o forno de grafite acoplado ao espectrofotômetro de absorção atômica, entretanto devido ao custo elevado não foi possível ser

realizado. Em acréscimo, a liberação de Al ocorre principalmente nos primeiros dias, e diminui com o tempo. Assim, tendo as leituras dos dias iniciais, pode-se prever para os dias subsequentes.

O padrão de liberação de Al encontrado neste trabalho está de acordo com os dados de FUKAZAWA et al.<sup>39</sup> (1987) e NAKAJIMA et al.<sup>72</sup> (1997) que encontraram um decréscimo acentuado do primeiro dia ao sétimo dia do estudo. Os autores relatam que a quantidade de Al disponível para ser liberado da matriz diminui ao mesmo tempo que a maturação da matriz progride e o Al perto da área superficial é liberado nos períodos iniciais de imersão.

Assim, considerando os poucos estudos encontrados a respeito da liberação de Al, mais investigações são necessárias para se esclarecer o mecanismo de liberação, se esta liberação permanece realmente por maior tempo, se apesar do mecanismo de liberação ser diferente do F, este apresenta a capacidade de incorporação.

## 6.2 Fase II

### 6.2.1 Teste de fermentação

O objetivo deste teste foi avaliar o grau de inibição da acidogenicidade de *S. mutans* pela liberação conjunta de F e Al. Os resultados (Tabelas 10 a 16) mostraram que a atividade antibacteriana dos materiais ionoméricos está relacionada com a liberação de F e Al para o meio de cultura. Isto foi observado quantitativamente através das análises de liberação de F e Al para o meio de cultura e a determinação do pH resultante da fermentação de açúcares por *S. mutans*. Muitos trabalhos, avaliando a atividade antimicrobiana destes materiais, têm sido realizados utilizando variadas metodologias, entretanto nenhum trabalho avaliou a importância da liberação conjunta de F e Al na inibição de microrganismos relacionados à cárie.

No teste de fermentação, todos os materiais ionoméricos inibiram o metabolismo bacteriano durante todo o período do experimento comparados com o material controle (resina composta), fato observado pelos valores significantemente maiores do pH no meio de cultura semeado com *S. mutans*, com exceção do Fuji e F 2000 que somente no sétimo dia não diferiram do controle (Tabela 11). Este efeito que persistiu pelos 6 ou 7 dias do estudo foi

significativamente maior ( $p < 0,05$ ) para o Vitremer, seguido pelo Ketac, Fuji e F 2000. Os maiores valores de pH refletem uma menor metabolização dos açúcares presentes no meio de cultura, resultando em menor queda do pH devido a inibição da produção de ácido pelas bactérias, dados esses (Tabela 11) que estão de acordo com os achados de GARIB<sup>40</sup> (1993) que encontrou inibição do metabolismo de *S. mutans* avaliada através de valores de pH do meio de cultura. Estão também de acordo com os achados de SEPPÄ et al.<sup>82</sup> (1992) que verificaram uma menor queda do pH durante a fermentação da sacarose em presença de cimentos de ionômero de vidro recém-preparados.

Observando os valores de pH no controle negativo (Tabela 10), verifica-se que até o terceiro dia alguns materiais provocaram uma queda no pH, provavelmente pela liberação de ácidos após a imersão dos corpos de prova no meio de cultura, sendo o Vitremer, Ketac e Fuji os materiais que apresentaram valores significativamente menores de pH nos primeiros dias. PALENIK et al.<sup>76</sup> (1992) relatam que CIV apresentam baixos valores de pH por períodos de até 7 dias após serem manipulados. WOOLFORD & CHADWICK<sup>105</sup> (1992) concluíram em seu estudo que os polialcenoatos de vidro mantêm um baixo pH na superfície nos primeiros 60 minutos de reação de presa. Este fato foi constatado por MURGEL<sup>69</sup> (1999) que, estudando cimentos obturadores, encontraram uma desmineralização na dentina adjacente ao CIV, sendo este fenômeno atribuído ao ácido livre na superfície do material.

Assim, a variação de pH entre o meio inoculado e o controle negativo (esta variação é calculada pela diferença entre o pH do meio de cultura inoculado e o não inoculado), na verdade, é o valor que mostra a real inibição da fermentação dos açúcares pois desta forma, leva-se em conta um fator interferente dos dados coletados que é a queda de pH proveniente do material. A variação de pH resultante dos diferentes materiais pode ser melhor visualizada no Gráfico 6. Como foi explicado no capítulo de resultados, não foi possível fazer a análise estatística desses dados, entretanto, os dados da Tabela 11 por si só já mostram as diferenças existentes entre todos os materiais ionoméricos e o controle.

Analizando a queda de pH proveniente de cada material por outro ângulo, poder-se-ia pensar que o próprio ácido exerceria um efeito antimicrobiano, como afirmam DESCHEPPER et al.<sup>25</sup> (1989). Por outro lado, LOYOLA-RODRIGUES et al.<sup>57</sup> (1994) encontraram efeito antibacteriano de 11 diferentes materiais ionoméricos e esta inibição não estava associada com o

baixo pH após a reação de presa do material. Em acréscimo, isto só explicaria os resultados do primeiro dia.

Vale lembrar que  $\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$ , ou seja, o valor de pH é função logarítmica da concentração de prótons no meio. Isto quer dizer que variações de 1 unidade no pH do meio equivale a alteração de 10 vezes na  $[\text{H}^+]$ , alterações de 2 unidades, significam uma diferença de 100 vezes na  $[\text{H}^+]$  e assim sucessivamente. Variações aparentemente discretas no valor de pH, como ocorreu nos meios de cultura, refletem uma mudança significativa na concentração de prótons do meio.

Em relação à liberação de F ocorrida no meio de cultura, observou-se liberação por todos os materiais ionoméricos nos meios estudados, porém com comportamentos diferentes nos meios de cultura inoculado e não inoculado. No meio sem *S. mutans*, cujo pH permaneceu perto de 7, o Fuji foi o que apresentou maior liberação no primeiro dia, seguido pelo Ketac, Vitremer, F 2000 e Z 100 (Tabela 13). Comparando esses dados com a liberação no meio inoculado (Tabela 14), percebe-se que houve uma inversão na ordem de liberação: Ketac, Vitremer, Fuji, F 2000 e Z 100. O mesmo acontece com a liberação total em ambos os meios, ilustrado no Gráfico 7. Além disso, dentro dos valores quantitativos totais de liberação de F por cada material, observou-se que o meio de cultura com maior pH (controle negativo) apresentou os menores valores. Os dados de liberação de F estão de acordo com o trabalho de GILMOUR et al.<sup>41</sup> (1994), que utilizaram um caldo de cultura rico em sacarose. Outros trabalhos tem sido realizados analisando a liberação de F para o meio de cultura sólido (ágar) (DESCHEPPER et al.<sup>25</sup>, 1989; DESCHEPPER et al.<sup>26</sup>, 1989; GARIB<sup>40</sup> et al., 1993) e outros meios inoculados com microrganismo (SEPPÄ et al.<sup>82</sup>, 1992; SEPPÄ et al.<sup>81</sup>, 1995).

Não foi possível relacionar os dados de liberação de F do meio de cultura com os dos meios de imersão da Fase I, pois não foi utilizada a mesma metodologia no preparo dos corpos de prova. Na Fase I do experimento, todos os corpos de prova foram mantidos em estufa 37°C e 100% umidade relativa do ar por 24 horas antes de serem colocados nos meios, o que não aconteceu na fase II, onde os corpos de prova foram imediatamente imersos no meio de cultura após sua confecção. Isto aconteceu pela necessidade de se trabalhar de maneira asséptica e evitar qualquer contaminação durante a manipulação dos corpos de prova. De acordo com VERBEECK et al.<sup>98</sup> (1998), a liberação de F depende do tempo de maturação, o qual é definido como o tempo



entre o início da reação ácido-base e presa do material e o momento no qual o material entra em contato com o meio aquoso. Assim, enquanto que na fase I o corpo de prova foi imerso no meio após 24 horas da manipulação, os corpos de prova da fase II foram imediatamente colocados no meio de cultura. Neste caso, o Ketac foi particularmente prejudicado pela exposição precoce a água, pois os CIVs convencionais apresentam maior sensibilidade à umidade que os CIVs modificados por resina (VERBEECK et al.<sup>98</sup>, 1998). Este efeito da maturação é mais provavelmente o resultado da perda de formas relativamente solúveis do F durante as fases de endurecimento e maturação, assim, alterando a constituição da matriz. Este efeito, entretanto, não é observado para a resina composta modificada ou não por poliácido (VERBEECK et al.<sup>98</sup>, 1998).

Em relação a liberação de Al, analisando o meio não semeado, a maioria das amostras obteve resultados abaixo do limite de sensibilidade do método, com exceção do Vitremer que liberou quantidades de Al significativas durante os 7 dias do experimento (Tabela 15). No meio inoculado, todos os materiais liberaram Al, em quantidades mensuráveis nos 7 dias, sendo o Vitremer o que apresentou maior liberação em todos os dias e em quantidade total liberada (Tabela 16). Assim, o pH do meio de cultura parece influenciar de maneira significativa a liberação de Al por esses materiais. Estes resultados não podem ser comparados com o de outros estudos pois até o momento nenhum trabalho avaliou a liberação de Al em meio de cultura.

Para verificar se existe alguma relação entre os dados encontrados de F, Al e pH do meio de cultura inoculado, é importante que sejam considerados os valores diários, já que o fator tempo foi significativo na análise dos dados. Dando uma maior atenção ao primeiro dia, no qual ocorre o pico de liberação de F e Al (Tabelas 14 e 16), correlacionando a análise de pH (Tabela 11) e de F no meio de cultura, pode-se notar que o material que mais liberou F no primeiro dia, sendo estatisticamente diferente dos demais, foi o Ketac, mas, este não foi o que mais apresentou ação no teste de fermentação. Este dado é bastante interessante e está de acordo com outros estudos *in vitro* que também encontraram o material Ketac com maior valor de liberação de F e não resultando em maior inibição da queda de pH em meio de cultura (GARIB et al.<sup>40</sup>, 1993; COSTA<sup>14</sup>, 1995; SEPPÄ et al.<sup>81</sup>, 1995), mostrando que a atividade antimicrobiana de materiais ionoméricos não é devida exclusivamente a liberação de F (DESCHEPPER et al.<sup>25,26</sup>, 1989). Em adição, verificando a liberação de Al e ao mesmo tempo a de F no primeiro dia do experimento, e

relacionando com os valores de pH, observa-se que o Vitremer, mesmo não tendo liberado a maior quantidade de F (Tabela 14), mas liberando maiores de Al (Tabela 16), foi o que apresentou maior inibição no teste de fermentação (Tabela 11). Esta condição manteve-se praticamente pelos 7 dias do experimento, onde o Vitremer apresentou maiores valores de pH, com valores de liberação de F inferiores ao Ketac na maioria dos dias e maiores valores de Al, todos estatisticamente significantes. De acordo com a Tabela 21, os dados deste estudo sugerem que existe uma correlação positiva entre liberação de F e inibição da fermentação de açúcar ( $r=0,882$ ), bem como existe uma correlação positiva entre liberação de Al e pH ( $r=0,796$ ). Assim, pode-se sugerir que o Al possa estar agindo sinergicamente com o F na inibição de *S. mutans*.

PALENIK et al.<sup>76</sup> (1992); FISCHMAN & TINANOFF<sup>30</sup> (1994); LOYOLA-RODRIGUES et al.<sup>57</sup> (1994), na tentativa de determinar a liberação de F e correlacionar com o efeito antibacteriano de materiais ionoméricos, têm utilizado diferentes meios de avaliação: utilizam, por exemplo, água ou salina para a avaliação da liberação de F e meio de cultura para a atividade antimicrobiana. Nesses trabalhos não tem sido encontrada correlação entre essas 2 variáveis, com exceção de PALENIK et al.<sup>76</sup> que encontraram correlação positiva entre a alta liberação de F em salina com a inibição do crescimento bacteriano.

Outros autores, mesmo analisando a liberação de F para o próprio meio de cultura utilizado na análise microbiológica para a avaliação da liberação de F, tem encontrado resultados não conclusivos a respeito da atividade antimicrobiana destes materiais. DESCHEPPER et al.<sup>25,26</sup> (1989), MALDONADO et al.<sup>59</sup> (1978), McCOMB & ERICSON<sup>62</sup> (1987), sugerem mecanismos antibacterianos adicionais ao F como: pH (BARKHORDAR et al.<sup>5</sup> (1989), ácido polialcenóico, óxido de zinco (SCHERER et al.<sup>79</sup>, 1989) e outras substâncias liberadas pelos materiais. OPPERMANN & RÖLLA<sup>75</sup> (1980) mostraram que alguns cátions como o  $Zn^{++}$ ,  $Sn^{++}$ ,  $Al^{+3}$  e  $Fe^{+3}$  inibiram a atividade metabólica da placa dental. É possível que a liberação de qualquer desses elementos, pelos materiais odontológicos, possa exercer um efeito antibacteriano na placa dental. No entanto, num estudo de ROSAS & CHAN<sup>78</sup> (1996) estudando a liberação de Zn e F por CIV, não encontraram boa correlação entre as zonas de inibição do crescimento bacteriano e a liberação de F e Zn. SEPPÄ et al.<sup>82</sup> (1992) sugeriram que o efeito antimicrobiano não deve ser somente pelo F, sugerindo que, por exemplo, a prata poderia influenciar neste efeito. Esta mesma pesquisadora, num estudo um ano depois (SEPPÄ et al.<sup>80</sup>, 1993), avaliando o efeito

antibacteriano de ionômero de vidro após recarregamento de F verificaram que o mesmo material que liberou alta quantidade de prata não mostrou atividade antimicrobiana, negando a hipótese de seu trabalho anterior. SEPPÄ et al.<sup>81</sup> (1995) não encontraram maior inibição da queda de pH do meio pelo material com maior liberação de F. Um estudo recente, bastante controverso, mostra que não houve correlação entre a liberação de F e o efeito antimicrobiano de materiais ionoméricos. YAP et al.<sup>108</sup> (1999) não encontraram nenhuma inibição do crescimento de *S. mutans*, *S. sobrinus* e *L. casei* em testes de difusão em ágar por materiais ionoméricos restauradores, mesmo em presença de diferentes concentrações de F que foi analisado em áreas do ágar abaixo do material. A partir desses resultados, os autores concluíram que não foi encontrada correlação entre o potencial de liberar F e a propriedade antibacteriana desses materiais.

Assim, muitos pesquisadores já verificaram que o efeito antibacteriano dos materiais ionoméricos não é devido exclusivamente ao F. De acordo com os resultados do presente trabalho, o Al pode estar relacionado com esta inibição.

Continuando a discussão dos resultados, ao fim de 7 dias de experimento, houve a formação de uma placa experimental sobre todos os corpos de prova. Os resultados da análise da placa são discutidos a seguir.

### **6.2.2 Composição da placa experimental**

Os resultados da análise bioquímica da placa experimental mostraram que a placa formada em presença de maiores concentrações de F e Al mostrou melhores resultados para as seguintes análises: peso (Tabela 17), concentração de F e Al na placa experimental (Tabelas 18 e 19). Esta maior inibição da formação da placa foi observada pelo material Vitremer, que embora não tenha diferido estatisticamente do Ketac para peso e Al, apresentou os menores valores médios para peso e maiores para concentração de F e Al na placa.

Deste modo, a Tabela 17 mostra que as diferenças começam com a quantidade de placa formada. Os materiais que mostraram melhor desempenho na inibição da formação foram o Vitremer e o Ketac, sendo o primeiro o que apresentou a menor média de peso de placa. O material controle mostrou a maior média, como esperado. Observou-se que os cimentos de

ionômero de vidro (convencional e modificado por resina) apresentaram um desempenho superior aos materiais resinosos (compômero e o controle – Z 100). Correlacionando-se os resultados da formação de placa com os da liberação total de F e de Al no meio de cultura (Tabela 22), pode-se perceber que existe uma correlação negativa entre esses parâmetros. Talvez esta inibição possa ser resultado da presença de F e Al no meio de cultura ao longo dos 7 dias de experimento, onde o F potencializado pelo Al, inibiu o metabolismo dos microrganismos. BENDERLI et al.<sup>6</sup> (1997) também sugerem a ação de outra substância na atividade antimicrobiana de materiais ionoméricos. Num estudo investigando a formação de placa experimental de *S. mutans*, encontraram diferentes resultados para diferentes tipos de materiais ionoméricos, sendo o Vitrebond o material com menor peso em suas amostras de placa. Os autores sugerem que pode existir uma correlação entre liberação de F e acúmulo de placa, e em acréscimo, o HEMA que possui efeito antibacteriano, pode explicar o melhor efeito anti-placa do Vitrebond. Entretanto, estes autores não avaliaram a liberação de HEMA para o meio, nem mesmo a de F. Esta conclusão foi tirada a partir de dados obtidos de outros trabalhos.

Os resultados da concentração de F na placa experimental (Tabela 18) mostraram que o Vitremer apresentou concentrações significativamente mais altas em relação aos outros materiais ionoméricos. Este resultado, a princípio não deveria ser esperado, uma vez que outros materiais também liberaram F para o meio. Outros fatores que interfiram nesta condição devem ser considerados para a concentração de F na placa experimental. SEPPÄ et al.<sup>80</sup> (1993) acreditam que a liberação de F pelos materiais ionoméricos pode ser suficiente para a formação de  $\text{CaF}_2$  na placa dental, esta funcionando como um reservatório de F. Assim, a concentração de Ca também seria importante para que isto ocorresse. *In vivo* o Ca poderia vir da saliva, mas no presente estudo o Ca poderia ter vindo do próprio material odontológico, que possui Ca em sua composição e também tem a capacidade de liberá-lo (FUKAZAWA et al.<sup>39</sup>, 1987; BAPNA & MUELLER<sup>4</sup>, 1994; CHUNG et al.<sup>12</sup>, 1998). Seguindo o mesmo raciocínio, poderia-se pensar também na formação de  $\text{AlF}_3$ , pela liberação comprovada de Al e F pelos materiais, e esta forma se acumular na placa. Assim, analisando os dados do Vitremer, que apresentou quantidade significativamente maior de F na placa (Tabela 18) e ao mesmo tempo, a maior média de concentração de Al (Tabela 19), poderia-se sugerir que o  $\text{AlF}_3$  também funcionaria como um reservatório de F na placa.

Está bem estabelecido que o F por si só reduz a formação de ácido pelas bactérias bucais (WRIGHT & JENKINS<sup>107</sup>, 1954; JENKINS<sup>50</sup>, 1959) e este efeito pode ser particularmente pronunciado quando o pH cai, por causa da alta incorporação de F pela bactéria nessa condição (HAMILTON<sup>46</sup>, 1990). O papel do F na placa dental sobre os microrganismos vai depender de sua concentração. Ainda é indefinida a concentração mínima necessária presente na placa para que ocorra a inibição das bactérias. Estudos *in vitro* tem sido realizados e de acordo com MARSH & BRADSHAW<sup>61</sup> (1990), 19 ppm de F foram suficientes para reduzir a produção de ácido pelos microrganismos estudados e reduzir a queda no pH final em presença de glicose.

A ação antimicrobiana do F ocorre sobre a capacidade metabólica das bactérias, provocando uma redução da produção de ácido. Além disso, a habilidade do F em reduzir a produção de ácidos pode também estar indiretamente ligada a uma diminuição da patogenicidade da população bacteriana da placa, uma vez que a redução de ácidos anula a vantagem ambiental dos microrganismos acidúricos (BOWDEN<sup>9</sup>, 1990).

Os resultados do presente trabalho mostraram concentrações de Al na placa dos materiais ionoméricos superiores às do controle, sendo observado um valor médio para o Vitremer 41% superior ao Ketac e F 2000 (Tabela 19). É provável que este elemento possa ter algum significado na inibição da formação da placa. OPPERMANN & RÖLLA<sup>75</sup> (1980) estudaram *in vivo* o efeito de diferentes metais sobre a acidogenidade da placa dental e encontraram que bochechos com soluções de 20mM de  $AlCl_3$  inibiram a atividade metabólica da placa dental por 2 horas. STURR & MARQUIS<sup>86</sup> (1990) mostraram que interações entre F e Al inibiram a atividade da enzima ATPase de *S. mutans* GS-5. KLEBER & PUTT<sup>54</sup> (1984), em uma revisão da literatura sobre Al e cárie dental, concluíram que os dados disponíveis indicaram que o Al é um agente anticárie, que está presente frequentemente em quantidades significativas na placa dental e que pode agir sinergicamente com o F, na redução de cáries. A interpretação dada para este sinergismo, foi que a deposição de F no esmalte é aumentada devido ao Al. Alternativamente, ou em acréscimo, STURR & MARQUIS<sup>86</sup> (1990) sugerem que o Al pode aumentar o potencial anticárie do F através de efeitos sobre a tolerância ácida das bactérias. LUNARDI et al.<sup>58</sup> (1988) sugerem que provavelmente o mecanismo de ação do F + Al envolva formação de complexos de  $ADP-Al-F_3^-$  nos sítios catalíticos da enzima. Sendo esta enzima responsável pelo bombeamento de prótons para fora da célula, condição esta necessária para manter o metabolismo interno em baixo pH,

quando a ATPase é inibida, as bactérias acidúricas perdem a vantagem sobre outras espécies de viver em ambientes ácidos. Sendo assim, numa situação *in vivo*, esta inibição não só ocorreria em termos de inibição do metabolismo da célula, com diminuição da produção de ácido, mas também favoreceria outros microrganismos presentes no biofilme.

Em relação à concentração de carboidrato solúvel em álcali (Tabela 20), foi observada uma menor produção desses polissacarídeos extracelulares pelo material Vitremer, que apresentou alta liberação de F e significativamente maiores quantidades de Al no meio de cultura. Este efeito poderia ser explicado pela inibição do metabolismo bacteriano, e assim, menor crescimento bacteriano, demonstrado pelo menor peso seco de placa (Tabela 17), uma vez que esta não é uma inibição direta, pois o F não possui efeito sobre as enzimas responsáveis pela formação de polissacarídeos extracelulares, as glicosiltransferases (HAMILTON<sup>46</sup>, 1990). Embora o Vitremer tenha apresentado a maior média, este não diferiu estatisticamente de Ketac. Por outro lado, foi observado que o Fuji Ortho e o F 2000 apresentaram resultados semelhantes ao controle (resina composta), mesmo tendo liberado F e Al em quantidades significativamente maiores. Isto também foi observado em relação ao peso de placa, sendo F 200 e Z 100 estatisticamente iguais. Em realidade, o resultado de peso e da composição da placa refletem as condições do meio durante os 7 dias do experimento. É possível que, com a queda acentuada na liberação de F e Al apresentada pelos materiais nos primeiros dias, a concentração destes elementos no meio, com o passar do tempo, tenha deixado de atingir um nível capaz de inibir as bactérias, a ponto de apresentar um resultado no peso de placa e na concentração de polissacarídeos extracelulares.

Os resultados deste trabalho não podem ser comparados diretamente à situação clínica, devido a complexidade do ambiente bucal, nem mesmo podem ser generalizados para outros microrganismos da boca. Diferentes bactérias variam consideravelmente quanto à resposta a um mesmo material, assim como para diferentes tipos de materiais (BARKHORDAR et al.<sup>5</sup>, 1989; McCOMB & ERICSON<sup>62</sup>, 1987; SCHERER et al.<sup>79</sup>, 1989). Porém, os achados dão fortes indicações dos efeitos inibitórios que devem ser confirmados através de estudos clínicos. Por outro lado, os estudos laboratoriais são de grande importância e de grande valor pois quando estuda-se cárie, principalmente em estudos *in situ* ou *in vivo* não é possível avaliar isoladamente apenas uma determinada variável envolvida no processo de cárie, como por exemplo, a ação

antimicrobiana do F, sem que este esteja interferindo ao mesmo tempo no processo físico-químico do esmalte. A cárie é um fenômeno que acontece em função de vários fatores associados ao mesmo tempo e quando há o isolamento de algum deles, já não é mais uma simulação do processo em si. Por isso, ainda não está estabelecida a importância clínica do efeito antimicrobiano do F na prevenção de cárie. Se pensarmos que o desenvolvimento de cárie envolve os processos físico-químicos na estrutura mineral, sendo o grau de dissolução dos cristais dependente do pH local, a presença de F na inibição dos microrganismos será sempre benéfica (entretanto, não mensurável) pela sucessão dos eventos que culminarão na menor perda mineral pois: a presença de F inibe o metabolismo de bactéria que gera menor produção de ácido, consequentemente menor queda do pH, as bactérias acidúricas perdem a sua vantagem ambiental gerando ainda menor queda de pH e assim, menor perda mineral. Por outro lado, trabalhos da literatura têm mostrado um efeito inibitório do Al sobre bactérias e sobre a cárie, isoladamente ou associado ao F. Assim, é esperado que o efeito somatório de F + Al, naturalmente, em uma situação *in vivo* resulte em redução da lesão de cárie.

Inúmeros estudos clínicos tem demonstrado um efeito cariostático na utilização de materiais ioméricos (TYAS<sup>95</sup>, 1991), quando colocados em pacientes ortodônticos (WRIGHT et al.<sup>106</sup> 1996), mostrando menores contagens de microrganismos na placa (SVANBERG et al.<sup>89</sup> 1990; SVANBERG et al.<sup>88</sup> 1990; HALLGREN et al.<sup>43</sup> 1992), maior concentração de F na placa (JOKINEN et al.<sup>51</sup> 1991; FORSS et al.<sup>34</sup> 1991; HALLGREN et al.<sup>44</sup> 1993; PASCOTTO et al.<sup>77</sup> 1998) e menor perda mineral com maior incorporação de F (BENELLI et al.<sup>7</sup> 1993).

A literatura tem relatado que os CIVs modificados por resina possuem algumas propriedades superiores ao CIV. As vantagens incluem maior adesividade, menor friabilidade, menor sensibilidade a umidade e solubilidade, maior resistência ao desgaste e fratura (HAMID et al.<sup>45</sup>, 1998) e melhor estética inicial (NAVARRO & PASCOTTO<sup>73</sup>, 1998). Além dessas propriedades, pode-se comprovar, no presente estudo, que a liberação de F e a atividade antimicrobiana também mostraram-se favoráveis nesses materiais, não perdendo em nenhum aspecto para o CIV convencional. Assim, é provável que a utilização clínica desta classe de material continue a crescer, mesmo ainda apresentando algumas desvantagens como maior contração de polimerização e alteração na cor após 1 e 2 anos<sup>73</sup>. Além disso, estudos, que visam não só elucidar o mecanismo de ação antimicrobiana destes materiais, mas também aprimorar

outras propriedades, são de grande significado para o desenvolvimento de materiais com propriedades melhoradas.

Fazendo uma análise global dos resultados obtidos nesta fase, pode-se verificar que em praticamente todas as análises observou-se um comportamento favorável para o material que apresentou alta liberação de F e Al, tanto para o teste de fermentação quanto para a formação e composição inorgânica da placa experimental. Assim, este trabalho mostra dados bastante interessantes que abrem novas perspectivas para estudos *in vitro*, *in situ* e *in vivo* com o objetivo de esclarecer e estabelecer o papel do Al no mecanismo antimicrobiano de materiais ionoméricos.



## **CONCLUSÃO**



## 7 CONCLUSÃO

---

Diante dos resultados obtidos neste estudo, pode-se concluir que:

- Os materiais ionoméricos estudados liberaram F e Al e a ordem de liberação foi alterada nos meios água, saliva artificial, ciclagem de pH e meio de cultura.
- O padrão de liberação de F e Al foi semelhante para todos os materiais.
- A liberação conjunta de F e Al parece ter um importante significado na inibição da acidogenicidade de *S. mutans* e na formação e composição da placa experimental.



**REFERÊNCIAS**  
**BIBLIOGRÁFICAS**



## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS\*

1. ANDERSSON, Ö.H., DAHL, J.E. Aluminium release from glass ionomer cements during early water exposure *in vitro*. **Biomaterials**, Stoneham, v. 15, n. 11, p. 882-888, 1994.
2. ASHCRAFT, D.B., STALEY, R.N., JAKOBSEN, J.R. Fluoride release and shear bond strength of three light-cured glass ionomer cements. **Am. J. orthod. Dentofac. Orthop.**, Saint Louis, v. 111, n. 3, p. 260-265, Mar. 1997.
3. BALA, O. *et al.* Fluoride release from various restorative materials. **J. Nihon. Univ. Sch. Dent.**, Tokyo, v. 39, n. 3, p. 123-127, Sept. 1997.
4. BAPNA, M.S., MUELLER, H.J. Leaching from glass ionomer cements. **J. oral Rehabil.**, Oxford, v. 21, n. 5, p. 577-583, Sept. 1994.
5. BARKHORDAR, R.A. *et al.* Technical note: antimicrobial action of glass-ionomer lining cement on *S. sanguis* and *S. mutans*. **Dent. Mater.**, Washington, v. 5, n. 4, p. 281-282, July 1989.
6. BENDERLI, Y. *et al.* *In vitro* plaque formation on some dental filling materials. **J. oral Rehabil.**, Oxford, v. 24, n. 1, p. 80-83, Jan. 1997.
7. BENELLI, E.M. *et al.* *In situ* anticariogenic potencial of glass ionomer cement. **Caries Res.**, Basel, v. 27, n. 4, p. 280-284, June/July 1993.
8. BILGIN, Z., OZALP, N. Fluoride release from three different types of glass ionomer cements after exposure to NaF solution and APF gel. **J. clin. Pediatr. Dent.**, Birmingham, v. 22, n. 3, p. 237-241, Spring 1998.
9. BOWDEN, G.H.W. Effects of fluoride on the microbial ecology of dental plaque. **J. dent. Res.**, Washington, v. 69, p. 653-659, Feb. 1990 [Special Issue]
10. CARVALHO, A.S., CURY, J.A. Fluoride release from some dental materials in different solutions. **Operative Dent.**, Seattle, v. 24, n. 1, p. 14-19, Jan./Feb. 1999.
11. \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_. Liberação de flúor de materiais restauradores. **Rev. Odont. Univ. São Paulo**, São Paulo, v. 12, n. 4, p. 367-373, out./dez. 1998.
12. CHUNG, K.H., CHAN, D.C.N., BERRY, T.G. An *in vitro* study of ions release from glass ionomer materials. **J. dent. Res.**, Washington, v. 77, p. 177, 1998. [Abstract, 95]
13. CLARKSON, B.H. *et al.* Rational use of fluorides in caries control. In: FEJERSKOV, O., EKSTRAND, J., BURT, B.A. **Fluoride in dentistry**. 2<sup>nd</sup> ed. Copenhagen: Munksgaard, 1996. p. 347-355.

---

\* De acordo com a NBR-6023, da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), de 1989.

Abreviatura dos periódicos conforme o "World List of Scientific Periodicals".

14. COSTA, B. **Avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana e liberação de flúor de cimentos de ionômero de vidro restauradores químico e fotoativados.** Bauru, 1995. 121p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Bauru – Universidade de São Paulo.
15. \_\_\_\_\_. *et al.* Atividade antimicrobiana de cimentos de ionômero de vidro restauradores convencionais e modificados com resina "in vitro". **Revta FOB**, Bauru, v. 4, n. 1/2, p. 25-31, jan./jun. 1996.
16. CRANFIELD, M., KUHN, A.T., WINTER, G.B. Factors relating to the rate of fluoride-ion release from glass-ionomer cement. **J. Dent.**, Bristol, v. 10, n. 4, p. 333-341, Dec. 1982.
17. CREANOR, S.L. *et al.* Fluoride uptake and release characteristics of glass ionomer cements. **Caries Res.**, Basel, v. 28, n. 5, p. 322-328, Sept./Oct. 1994.
18. CRISP, S, WILSON, A.D. Reaction in glass ionomer cements: I. Decomposition of the powder. **J. dent. Res.**, Washington, v. 53, n. 6, p. 1408-1413, Nov./Dec. 1974.
19. \_\_\_\_\_, LEWIS, B.G., WILSON, A.D. Characterization of glass-ionomer cements. A study of erosion and water absorption in both neutral and acidic media. **J. Dent.**, Bristol, v. 8, n. 1, p. 68-74, Mar. 1980.
20. \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_. Glass ionomer cements: chemistry of erosion. **J. dent. Res.**, Washington, v.55, n.6, p.1032-1041, Nov./Dec. 1976.
21. CURY, J.A. Uso do flúor e o controle de cárie como doença. *In*: BARATIERI, L.A. et al. **Dentística: Procedimentos preventivos e restauradores.** 2.ed. São Paulo: Santos, 2000. Cap. 2. [no prelo]
22. \_\_\_\_\_, REBELLO, M.A.B., DEL BEL CURY, A.A. *In situ* relationship between sucrose exposure and the composition of dental plaque. **Caries Res.**, Basel, v. 31, p. 356-360, 1997.
23. \_\_\_\_\_, SAAD, J.R.C., RODRIGUES Jr., A.L. Liberação de flúor do selante na água, saliva e soluções desmineralizante-remineralizante. **RGO**, Porto Alegre, v. 41, n. 5, p. 273-275, set./out. 1993.
24. DE ARAÚJO, F.B. *et al.* Fluoride release from fluoride-containing materials. **Operative Dent.**, Seattle, v. 21, n. 5, p. 186-190, Sept./Oct. 1996.
25. DESCHEPPER, E.J., THRASHER, M.R., THURMOND, B.A. Antibacterial effects of light-cured liners. **Am. J. Dent.**, San Antonio, v. 2, n. 3, p. 74-76, June 1989.
26. \_\_\_\_\_, WHITE, R.R., von der LEHR, W. Antibacterial effects of glass ionomers. **Am. J. Dent.**, San Antonio, v. 2, n. 2, p. 51-56, Apr. 1989.
27. DUBOIS, M. *et al.* Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analyt. Chem.**, Washington, v. 28, p. 350-356, 1956.
28. EL MALLAKH, B.F., SARKAR, N.K. Fluoride release from glass-ionomer cements in deionized water and artificial saliva. **Dent. Mater.**, Washington, v. 6, n. 2, p. 118-122, Apr. 1990.
29. FEATHERSTONE, J.D.B. *et al.* Enhancement of remineralization *in vitro* and *in vivo*. *In*: LEACH, S.A. **Factors relating to demineralization and remineralization of the teeth.** Oxford: IRL Press., 1986. p. 23-24.
30. FISCHMAN, S.A., TINANOFF, N. The effect of acid and fluoride release on the antimicrobial properties of four glass ionomer cements. **Pediat. Dent.**, Chicago, v. 16, n. 5, p. 368-370, Sept./Oct. 1994.



31. FORSS, H. Release of fluoride and other elements from light-cured glass ionomers in neutral and acidic conditions. **J. dent. Res.**, Washington, v. 72, n. 8, p. 1257-1262, Aug. 1993.
32. \_\_\_\_\_, SEPPÄ, L. Prevention of enamel demineralization adjacent to glass ionomer filling materials. **Scand. J. dent. Res.**, Copenhagen, v. 98, n. 2, p. 173-178, Apr. 1990.
33. \_\_\_\_\_, NÄSE, L., SEPPÄ, L. Fluoride concentration, mutans streptococci and lactobacilli in plaque from old glass ionomer fillings. **Caries Res.**, Basel, v. 29, n. 1, p. 29-50, Jan./Feb. 1995.
34. \_\_\_\_\_. *et al.* Fluoride and mutans streptococci in plaque grown on glass ionomer and composite. **Caries Res.**, Basel, v. 25, n. 6, p. 454-458, Nov./Dec. 1991.
35. FORSTEN, L. Fluoride release from a glass ionomer cement. **J. dent. Res.**, Washington, v. 85, n. 6, p. 503-504, Sept. 1977.
36. \_\_\_\_\_. Fluoride release uptake by glass ionomer. **Scand. J. dent. Res.**, Copenhagen, v. 99, n. 3, p. 241-245, June 1991.
37. \_\_\_\_\_. Fluoride release and uptake by glass-ionomers and related materials and its clinical effect. **Biomaterials**, Stoneham, v. 19, n. 6, p. 503-508, Mar. 1998.
38. FRIEDL, K.H. *et al.* Resin-modified glass ionomer cements: fluoride release and influence on *Streptococcus mutans* growth. **Eur. J. oral. Sci.**, Copenhagen, v. 105, n. 1, p. 81-85, Feb. 1997.
39. FUKAZAWA, M., MATSUYA, S., YAMANE, M. Mechanism for erosion of glass-ionomer cements in na acidic buffer solution. **J. dent. Res.**, Washington, v. 66, n. 12, p. 1770-1774, Dec. 1987.
40. GARIB, T., ROSA, O.P.S., ROCHA, R.S.S. Ação antimicrobiana de ionômeros de vidro restauradores. **Revta FOB**, Bauru, v. 1, n. 1/4, p. 1-5, jan./dez. 1993.
41. GILMOUR, A.S.M., EDMUNDS, D.H., SHELLIS, R.P. Fluoride release from three restorative materials in a bacterial artificial caries system. **Caries Res.**, Basel, v. 28, n. 3, p. 201, May/June 1994. [Abstract, 72]
42. GLOCKMANN, E. *et al.* Fluoride release of different types of glass ionomer cements. **J. dent. Res.**, Washington, v. 76, p. 316, 1997. [Abstract, 2421]
43. HALLGREN, A., OLIVEBY, A., TWETMANS, S. Caries associated microflora in plaque from orthodontic appliances retained with glass ionomer cement. **Scand. J. dent. Res.**, Copenhagen, v. 100, n. 3, p. 140-143, June 1992.
44. \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_. Fluoride concentration in plaque adjacent to orthodontic appliances retained with glass ionomer cement. **Caries Res.**, Basel, v. 27, n. 1, p. 51-54, Feb. 1993.
45. HAMID, A. *et al.* Component release from light-activated glass ionomer and compomer cements. **J. oral Rehabil.**, Oxford, v. 25, n. 2, p. 94-99, Feb. 1998.
46. HAMILTON, I.R. Biochemical effects of fluoride on oral bacteria. **J. dent. Res.**, Washington, v. 69, p. 660-667, Feb. 1990. [Special Issue].
47. \_\_\_\_\_, BOWDEN, G.H.W. Fluoride effects on oral bacteria. *In*: FEJERSKOV, O.; EKSTRAND, J.; BURT, B. **Fluoride in Dentistry**. 2<sup>nd</sup> ed. Copenhagen:Munksgaard, 1996. Cap. 13, p. 230-251.

48. \_\_\_\_\_, BUCKLEY, N.D. Adaptation of *Streptococcus mutans* to acid tolerance. **Oral microbiol. Immunol.**, Copenhagen, v. 6, n. 2, p. 65-71, Apr. 1991.
49. HÖRSTED-BINDSLEV, P., LARSEN, M.J. Release of fluoride from conventional and metal-reinforced glass-ionomer cements. **Scand. J. dent. Res.**, Copenhagen, v. 98, n. 5, p. 451-455, Oct. 1990.
50. JENKINS, G.N. The effect of pH on the fluoride inhibition of salivary acid production. **Archs oral Biol.**, Oxford, v. 1, p. 33-41, 1959.
51. JOKINEN, J. *et al.* A new method for studying the effect of glass ionomer on plaque *in vivo*. **Proc. Finn. Dent. Soc.**, Helsink, v. 87, n. 3, p. 339-342, 1991.
52. KIDD, E.A.M. Caries diagnosis within restored teeth. **Operative Dent.**, Seattle, v. 14, n. 3, p. 149-158, 1989.
53. \_\_\_\_\_, TOFFENETTI, F., MJÖR, I.A. Secondary caries. **Int. dent. J.**, Guildford, v. 42, n. 3, p. 127-138, June 1992.
54. KLEBER, C.J., PUTT, M.S. Aluminum and dental caries a review of the literature. **Clin. Prevent. Dent.**, v. 6, p. 14-25, 1984.
55. KOMATSU, H., SHIMOKOBE, H. Fluoride release and the strengthening of tooth structure. *In* : KATSUYAMA, S., ISHIKAWA, T., FUJII, B. (Ed.). **Glass ionomer dental cement.**, St. Louis: Ishiyaku EuroAmerica, 1993. p. 16-24.
56. LAVIS, J.F. *et al.* Changes to Dyract restorative resin immersed in various media. **Am. J. Dent.**, San Antonio, v. 10, n. 3, p. 133-136, June 1997.
57. LOYOLA-RODRIGUEZ, J.P., GARCIA-GODOY, F., LINDQUIST, R.. Growth inhibition of glass ionomer cements on mutans streptococci. **Pediat. Dent.**, Chicago, v. 16, n. 5, p. 368-370, Sept./Oct. 1994.
58. LUNARDI, J. *et al.* Inhibition of H<sup>+</sup>-transporting ATPase by formation of a tight nucleoside diphosphate-fluoroaluminate complex at the catalytic site. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, Washington, v. 85, p. 8958-8962, Dec. 1988.
59. MALDONADO, A., SWARTZ, M.L., PHILLIPS, R.W. An *in vitro* study of certain properties of glass ionomer cement. **J. Am. Dent. Ass.**, Chicago, v. 96, n. 5, p. 785-791, May 1978.
60. MALTZ, M., EMILSON, C.G. Susceptibility of oral bacteria to various fluoride salts. **J. dent. Res.**, Washington, v. 61, n. 6, p. 786-790, June 1982.
61. MARSH, P.D., SHAW, D.J. The effect of fluoride on the stability of oral bacterial communities *in vitro*. **J. dent. Res.**, Washington, v. 69, p. 668-671, Feb. 1990 [Special Issue]
62. McCOMB, D., ERICSON, D. Antimicrobial action of new, proprietary lining cements. **J. dent. Res.**, Washington, v. 66, n. 5, p. 1025-1028, May 1987.
63. McLEAN, J.W., NICHOLSON, J.W., WILSON, A.D. Proposed nomenclatura for glass-ionomer dental cements and related materials. **Quintessence. int.**, Berlin, v. 25, n. 9, p. 587-589, Sept. 1994.
64. MEIERS, J.C., MILLER, G.A. Antibacterial activity of dentin bonding systems, resin-modified glass ionomers, and polyacid-modified composite resins. **Operative Dent.**, Seattle, v. 21, n. 6, p. 257-264, Nov./Dec. 1996.

65. MERYON, S.D., SMITH, A.J. A comparison of fluoride release from three glass ionomer cements and a polycarboxylate cement. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 17, n. 1, p. 16-24, Jan. 1984.
66. MESU, F.P. Degradation of luting cements measured *in vitro*. **J dent Res**, Washington, v. 61, n. 5, p. 665-72, May 1982.
67. MJÖR, I.A. The reasons for replacement and the age of failed restorations in general dental practice. **Acta odont. scand.**, Oslo, v. 55, n. 1, p. 58-63, Jan. 1997.
68. MODESTO, A. *et al.* Variglass fluoride release and uptake by an adjacent tooth. **Am. J. Dent.**, San Antonio, v. 10, n. 3, p. 123-127, June 1997.
69. MURGEL, C.A.F. **Estudo *in vitro* da liberação de flúor pelo cimento endodôntico ionomérico Ketac-endo e efeito na desmineralização de dentina radicular.** Piracicaba, 1999. 177p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de Piracicaba – Universidade Estadual de Campinas.
70. MUSA, A., PEARSON, G.J., GELBIER, M. *In vitro* investigation of fluoride ion release from four resin-modified glass polyalkenoate cements. **Biomaterials**, Stoneham, v. 17, n. 10, p. 1019-1023, May 1996.
71. NAGAMINE, M. *et al.* Effect of resin-modified glass ionomer cements on secondary caries. **Am. J. Dent.**, San Antonio, v. 10, n. 4, p. 173-178, Aug. 1997.
72. NAKAJIMA, H., KOMATSU, H., OKABE, T. Aluminum ions in analysis of released fluoride from glass ionomers. **J. Dent.**, Bristol, v. 25, n. 2, p. 137-144, Mar. 1997.
73. NAVARRO, M.F.L., PASCOTTO, R.C. **Cimentos de ionômero de vidro.** São Paulo: Artes Médicas, 1998.
74. OLIVEIRA, C.M., ARAUJO, W.C. Formação de placa *in vitro* em culturas puras de *Streptococcus* isoladas de pacientes. **Revta bras. Odont.**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 153, p. 270-276, 1968.
75. OPPERMAN, R.V., RÖLLA, G. Effect of some polyvalent cations on the acidogenicity of dental plaque *in vivo*. **Caries. Res.**, Basel, v. 14, n. 6, p. 422-427, Nov./Dec. 1980.
76. PALENIK, C.J. *et al.* Inhibition of microbial adherence and growth by various glass ionomers *in vitro*. **Dent Mater.**, Washington, v. 8, n. 1, p. 16-20, Jan. 1992.
77. PASCOTTO, R.C. *et al.* Liberação de flúor na placa dental por cimento ionomérico ortodôntico. In: REUNIÃO ANUAL DA SBPqO, 16., 1999, Águas de São Pedro. **Anais ...** Águas de São Pedro: SBPqO, 1999. p. 81. [Resumo, A303.]
78. ROSAS, M.I., CHAN, D.C.N. Effect of zinc and fluoride released from glass ionomer on bacterial growth. **J. dent. Res.**, Washington, v. 75, p. 68, 1996. [Abstract, 404]
79. SCHIERER, W., LIPPMAN, N., KAIM, J. Antimicrobial properties of glass-ionomer cements and other restorative materials. **Operative Dent.**, Seattle, v. 14, n. 2, p. 77-81, Spring 1989.
80. SEPPÄ, L., FORSS, H., OGAARD, B. The effect of fluoride application on fluoride release and the antibacterial action of glass ionomers. **J. dent. Res.**, Washington, v. 72, n. 9, p. 1310-1310, Sept. 1993.
81. \_\_\_\_\_, KORHONEN, A., NUUTINEN, A. Inhibitory effect on *S. mutans* by fluoride-treated conventional and resin-reinforced glass ionomer cements. **Eur. J. oral Sci.**, Copenhagen, v. 103, n. 3, p. 183-185, June 1995.

82. SEPPÄ, L., TORPPA-SAAFINEN, E., LUOMA, H. Effect of different glass ionomers on the acid production and eletrolyte metabolism of *Streptococcus mutans* Ingbritt. **Caries Res.**, Basel, v. 26, n. 6, p. 434-438, Nov./Dec. 1992.
83. SERRA, M.C., CURY, J.A. The *in vitro* effect of glass-ionomer cement restoration on enamel subjected to a demineralization and remineralization model. **Quintessence int.**, Berlin, v. 23, n. 2, p. 143-147, Feb. 1992.
84. SHAW, A.J., CARRICK, T., McCABE, J.F. Fluoride release from glass-ionomer and compomer restorative materials: 6-month data. **J. Dent.**, Bristol, v. 26, n. 4, p. 355-359, May 1998.
85. SHEN, C., BAN, S. Effect of composition in fluoride release from glass ionomer cements. **J. dent. Res.**, Washington, v. 69, p. 343, 1990. [Abstract, 1874]
86. STURR, M.G., MARQUIS, R.E. Inhibition of proton-translocating ATPases of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus casei* by fluoride and aluminum. **Archs Microbiol.**, Berlin, v. 155, n. 1, p. 22-27, 1990.
87. SUTTON, S.V.W., BENDER, G.R., MARQUIS, R.E. Fluoride inhibition of proton-translocating ATPases of oral bacteria. **Infect. Imm.**, Washington, v. 55, n. 11, p. 2597-2603, Nov. 1987.
88. SVANGBERG, M., KRASSE, B., ÖRNERFELDT, H.O. Mutans Streptococci in interproximal plaque from amalgam and glass ionomer restorations. **Caries Res.**, Basel, v. 24, n. 2, p. 133-136, Mar./Apr. 1990.
89. ———, MJÖR, I.A., ØRSTAVIK, D. Mutans Streptococci in plaque from margins of amalgam composite, and glass-ionomer restorations. **J. dent. Res.**, Washington, v. 69, n. 3, p. 861-864, Mar. 1990.
90. TANTBIROJN, D., DOUGLAS, W.H., VERLUIJS, A. Inhibitive effect of a resin-modified glass ionomer cement on remote enamel artificial caries. **Caries Res.**, Basel, v. 31, p. 275-280, 1997.
91. TAVES, D.R. Separation of fluoride by rapid diffusion using hexamethyldisiloxane. **Talanta**, London, v. 15, p. 969-974, 1968.
92. TAY, W.M., BRADEN, M. Fluoride ion diffusion from polyalkenoate (glass ionomer) cement. **Biomaterials**, Stoneham, v. 9, n. 5, p. 454-456, Sept. 1988.
93. TEN CATE, J.M. *In vitro* studies on the effect of fluoride on the de and remineralization. **J. dent. Res.**, Washington, v. 69, p. 614-619, Feb. 1990. [Special Issue]
94. THYLSTRUP, A., FEJERSKOV, O. **Cariologia clínica**. 2. ed. São Paulo: Santos, 1995.
95. TYAS, M.J. Cariostatic effect of glass ionomer cement: a five-year clinical study. **Aust. dent. J.**, Saint Leonards, v. 36, n. 3, p. 236-239, June 1991.
96. VAN DIJKEN, J., PERSSON, S., STÖSTRÖM, S. Presence of *Streptococcus mutans* and lactobacilli in saliva and on enamel, glass ionomer cement, and composite resin surfaces. **Scand. J. dent. Res.**, Copenhagen, v. 99, n. 1, p. 13-19, Feb. 1991.
97. VAN DIJKEN, J.W.V. *et al.* Fluoride and mutans streptococci level in plaque on aged restaurations of resin-modified glass ionomer cement, compomer and resin composite. **Caries Res.**, Basel, v. 31, n. 5, p. 379-383, Sept./Oct. 1997.
98. VERBEECK, R.M.H. *et al.* Fluoride release process of (resin-modified) glass-ionomer cements versus (polyacid-modified) composite resins. **Biomaterials**, Stoneham, v. 19, n. 6, p.509-520, Mar. 1998.

99. VERBEECK, R.M.H. *et al.* The short-term fluoride release of a hand-mixed vs. Capsulated system of a restorative glass-ionomer cement. **J. dent. Res.**, Washington, v. 72, n. 3, p. 577-581, Mar. 1993.
100. W.H.O. **Fluorides and oral health**. Geneva, 1994. 37p. [WHO Technical reports series, 846]
101. WANDERA, A., SPENCER, P., BOHATY, B.S. *In vitro* comparative fluoride release, and weight and volume change in light-curing and self-curing glass ionomer materials. **Pediat. Dent.**, Chicago, v. 18, n. 3, p. 210-214, May/June 1996.
102. WILLIAMS, J.A., BILLINGTON, R.W., PEARSON, G. Silver and fluoride ion release from metal reinforced glass-ionomer filling materials. **J. oral Rehabil.**, Oxford, v. 24, n. 5, p. 369-375, May 1997.
103. WILSON, A.D., KENT, B.E. A new translucent cement for dentistry: the glass ionomer. **Br. Dent. J.**, London, v. 132, n. 4, p. 133-135, Feb. 1972.
104. \_\_\_\_\_, McLEAN, J.W. **Glass-ionomer cement**. Baden-Baden: Quintessence, 1988.
105. WOOLFORD, M.J., CHADWICK, R.G. Surface pH of resin-modified glass polyalkenoate (ionomer) cements. **J. Dent.**, Bristol, v. 20, p. 359-364, Dec. 1992.
106. WRIGHT, A.B. *et al.* Clinical and microbiologic evaluation of a resin modified glass ionomer cement for orthodontic bonding. **Am. J. Orthod. dentofac. Orthop.**, Saint Louis, v. 110, n. 5, p. 469-475, Nov. 1996.
107. WRIGHT, E.E., JENKINS, G.N. The effect of fluoride on the acid production of saliva glucose mixtures. **Br. Dent. J.**, London, v. 96, n. 5, p. 30-33, Jan. 1954.
108. YAP, A.V., KHOR, E., FOO, S.H. Fluoride release and antibacterial properties of new-generation tooth-colored restoratives. **Operative Dent.**, Seattle, v. 24, p. 297-305, 1999.
109. YOUNG, A. *et al.* Fluoride release and uptake in vitro from a composite and two orthodontic adhesives. **Acta odont. scand.**, Oslo, v. 54, n. 4, p. 223-228, Aug. 1996.



**ANEXOS**





## **9 ANEXOS**

### **Anexo 1 - Liberação de F ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) em Ciclagem de pH**

**Anexo 2 - Liberação de F ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) em saliva artificial**

**Anexo 3 – Liberação de F ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) em água deionizada**

**Anexo 4 – Liberação de Al ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) em Ciclagem de pH**

**Anexo 5 – pH do meio de cultura controle**

**Anexo 6 – pH do meio de cultura inoculado com *S. mutans***

**Anexo 7 – Liberação de F (ppm) em meio de cultura controle**

**Anexo 8 – Liberação de F (ppm) em meio de cultura inoculado com *S. mutans***



**Anexo 9 – Liberação de Al (ppm) em meio de cultura controle**

**Anexo 10 – Liberação de Al (ppm) em meio de cultura inoculado com *S. mutans***

**Anexo 11 – Peso de placa (mg) formada ao redor de cada material**

**Anexo 12 – Concentração de F ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) na placa experimental**

**Anexo 13 - Concentração de Al ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) na placa experimental**

**Anexo 14 – Concentração de carboidrato solúvel em álcali ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) na placa experimental**