

ANDREA MALLUF DABUL DE MELLO

**AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO LASER DE ER:YAG NO
SELAMENTO DE CAVIDADES DE CÁRIE RADICULAR INDUZIDAS *IN*
VITRO E RESTAURADAS COM CIMENTOS DE IONÔMERO DE
VIDRO**

São Paulo

2004

Andrea Malluf Dabul de Mello

**Avaliação da influência do laser de Er:Yag no selamento de
cavidades de cárie radicular induzidas *in vitro* e restauradas com
cimentos de ionômero de vidro**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da
Universidade de São Paulo, para obter o título de
Doutor pelo Programa de Pós-Graduação em
Odontologia.

Área de Concentração: Dentística

Orientador: Prof. Dra. Márcia Martins Marques

São Paulo

2004

FOLHA DE APROVAÇÃO

Mello AMD. Avaliação da influência do laser de Er:Yag no selamento de cavidades de cárie radicular induzidas *in vitro* e restauradas com cimentos de ionômero de vidro [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2004.

São Paulo, ___/___/200__

Banca Examinadora

1) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

2) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

3) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

4) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

5) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

A Deus fonte de todo saber...

Ao meu marido, **Fabiano** todo meu amor, admiração e gratidão por sua colaboração direta, compreensão, carinho, presença e incansável apoio ao longo do período de elaboração deste trabalho.

Também dedico aos meus pais, **Nicolau e Angela**, que com incansáveis conselhos e colaboração fizeram possível o alcance de mais esta etapa.

A minha filha **Vitória**, todo meu amor do mundo.

Um agradecimento especial a minha orientadora **Profa. Dra. Márcia Martins Marques** pela incansável e sábia orientação tanto do trabalho quanto de vida, meus sinceros agradecimentos.

AGRADECIMENTOS

A **Profa. Dra. Márcia Mayer** pela ajuda e orientação durante o trabalho e ainda por ter cedido de forma generosa o convívio em seu laboratório. .

Ao **Prof. Dr. Edmir Matson**, pela confiança depositada em mim, meu maior apreço e estima.

Ao técnico **João**, pelo auxílio e dedicação na elaboração e cuidado dos espécimes.

A minha amiga **Lorena**, pela ótima convivência e companheirismo durante a elaboração do trabalho.

"Acho possível que um indivíduo contemplando a terra se torne ateu. Porém, parece-me inconcebível que esse mesmo indivíduo ao contemplar o céu, possa dizer que o mundo não tem um Criador"

Abrahão Lincoln

Mello AMD. Avaliação da influência do laser de Er:YAG no selamento de cavidades de cárie radicular induzidas *in vitro* e restauradas com cimentos de ionômero de vidro [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2004.

RESUMO

Os insucessos ligados à restauração das cáries radiculares, como a micro-infiltração e cáries secundárias, são muitas vezes causados por fatores como difícil acesso à lesão e ao tipo de substrato. Isto leva à busca de novos materiais restauradores e técnicas de preparo cavitário que possam minimizar ou até mesmo acabar com estes insucessos. Assim, a proposição deste estudo foi induzir cárie radicular *in vitro* e então verificar a capacidade de selamento marginal de dois tipos de cimento de ionômero de vidro (Ketac Fill Plus e Vitremer), a essas cavidades de cárie preparadas com o laser de Er:YAG. Foram utilizados 45 dentes humanos, entre molares e pré-molares, os quais foram submetidos a um desafio cariogênico, *in vitro*, para levar à formação de lesões cariosas nas superfícies radiculares, através de um modelo bacteriano. A remoção da cárie foi realizada com três métodos de preparo diferentes, sendo dois grupos com o laser de Er:YAG, um com energia de preparo (250 mJ, 4 Hz, 80.6 J/cm²) e outro com a associação desta energia com uma energia de condicionamento (60 mJ e 2 Hz, 19,2 J/cm²) e um terceiro grupo com remoção convencional utilizando instrumento cortante rotatório (controle). Três dentes de cada grupo foram separados e preparados para microscopia eletrônica de varredura para observações morfológicas do substrato irradiado com o laser e preparado convencionalmente. Os 36 dentes restantes foram divididos em seis grupos (seis dentes para cada grupo de preparo), de acordo com o material restaurador utilizado. Após o procedimento restaurador os dentes foram submetidos à termociclagem (1.000 ciclos), e preparados para o teste de micro-infiltração. O

selamento, avaliado pelo grau de infiltração do azul de metileno a 2%, foi mensurado e transformado em escores. Os dados em triplicata foram comparados estatisticamente pelo método de Kruskal-Wallis complementado pelo teste de Dunn. Os melhores escores foram dos grupos que utilizaram a associação do laser de Er:YAG com os cimentos de ionômero de vidro e o grupo que obteve o melhor desempenho através da análise estatística foi o que utilizou o laser com a energia de preparo e restaurado com o Vitremer. Baseados nos achados nas condições experimentais utilizadas concluímos que a cárie radicular deve ser tratada pela associação da remoção de tecido cariado com o laser de Er:YAG no parâmetro de preparo com a restauração da cavidade com o cimento de ionômero de vidro modificado.

Palavras-Chave: Cárie radicular, Cimento de ionômero de vidro, Laser de Er:YAG, Micro-infiltração.

Mello AMD. Evaluation of the influence of the Er:YAG laser on the sealing of *in vitro* induced root caries cavities restored with glass ionomer cements [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2004.

ABSTRACT

Failures of root caries restoration such as microinfiltration and secondary caries are mostly due to the difficult to reach the lesions and to the types of substrate. Thus, there is a constant search for new dental materials and caries removal techniques in order to minimize or extinguish these failures. The aim of this study was to induce root caries *in vitro* for testing the marginal sealing capacity of two glass ionomer cements (Ketac Fill Plus e Vitremer) applied these caries cavities prepared with Er:YAG laser irradiation. Forty-five human teeth were used (molars and premolars). After the *in vitro* root caries induction using *S. mutans* the caries lesions were removed by three different methods: Er;YAG laser irradiation at the dentin preparation parameters (250 mJ, 4 Hz, 80.6 J/cm²); or the irradiation with this dentin preparation parameters followed buy a surface conditioning parameters (60 mJ e 2 Hz, 19,2 J/cm²); or by the conventional technique using burs (control). Three teeth of each group were prepared for scanning electron microscopy morphological observation. Thirty-six teeth were divided into six groups (six teeth per group) according to the type of cavity preparation (3) and the cement used in the restoration (2). After the restoration the samples were thermocycled (1,000) cycles and prepared for the microinfiltration test. The sealing was measured by the degree of the 2% methylene blue solution infiltration and these results were transformed into scores. The data in triplicate were compared by statistical test of Kruskall-Wallis complemented by the Dunn's test. The better scores were observed at the groups treated by the Er:YAG laser irradiation and the best result was obtained using the Er:YAG laser at the dentin preparation parameter followed by the restoration of the

cavity with the modified glass ionomer (Vitremer). Based on the results at the experimental conditions used we concluded that dental root caries should be removed by Er:YAG laser irradiation and restored with the modified glass ionomer.

Keywords: Glass ionomer, Er:YAG laser, Micro-infiltration. Root caries.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 4.1 – Seqüência da Indução de Cárie pelo Modelo Bacteriano.....	58
Figura 4.2 - Medida de Micro-infiltração para a Determinação de Escores.....	66
Figura 5.1 - Histologia da Cárie Radicular	71
Figura 5.2 - Representação Gráfica dos Resultados dos Escores Médios (\pm sem) da Micro-infiltração nos Diferentes Grupos Experimentais	68
Figura 5.3 - Eletromicrografias de Varredura das Cavidades	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1 - Composição Cimento de Ionômero Vidro Convencional.....	62
Tabela 4.2 - Composição Cimento de Ionômero de Vidro Modificado	62
Tabela 4.3 - Escores de Infiltração.....	65
Tabela 5.1 - Análise Estatística Descritiva dos Escores de Micro-infiltração.....	68
Tabela 5.2 - Comparações dos Postos Médios (Kruskal-Wallis complementado pelo teste de Dunn)	69

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

Er:YAG	Érbio, Ítrio, Alumínio, Granada
HCl	Ácido Clorídrico
HMDS	Hexametildisilazane
pH	Potencial de Hidrogênio
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MS	Mutans Streptococcus
CO ₂	Dióxido de Carbono

LISTA DE SÍMBOLOS

°C	Graus Celsius
nm	Nanômetro
mJ	Mili Joules
mm	Milímetro
Hz	Hertz
μs	Micro segundos
%	Porcentagem
Cm	Centímetro
ml/min	Mililitro por Minuto
J/cm ²	Joules por centímetro quadrado
M	Mol
P	Fósforo
ml	Mililitro
mW/cm ²	Mili Wats por Centímetro Quadrado
μl	Micro Litro
≤	Menor ou Igual que
>	Maior que

SUMÁRIO

p.99

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DA LITERATURA	18
3 PROPOSIÇÃO	54
4 MATERIAL E MÉTODOS	55
5 RESULTADOS	68
6 DISCUSSÃO	74
7 CONCLUSÕES	81
REFERÊNCIAS	82
APÊNDICES	93
ANEXOS	99

1 INTRODUÇÃO

Com o aumento da expectativa de vida da população, não só no Brasil como no mundo a preocupação com o aumento da incidência e prevalência da cárie radicular também vem aumentando, pois este tipo de lesão está diretamente relacionado com a população idosa.

As lesões cariosas radiculares apresentam alguns aspectos semelhantes aos das cáries coronárias, primeiro podem aparecer na superfície radicular como pequenos pontos, bem como englobar toda a superfície de cimento e dentina exposta; segundo, o seu desenvolvimento envolve ciclos de desmineralização e remineralização; terceiro, a cor da lesão pode determinar se ela está ativa ou inativa. Entretanto, a prevalência da cárie radicular é maior, pois o pH crítico está em torno de 6,2 para a desmineralização do cimento e da dentina, enquanto que o pH crítico necessário para a desmineralização do esmalte na cárie coronária é de 5,5.

Estas lesões têm como características serem rasas e extensas o que facilita o tratamento preventivo e dificulta o curativo, pois muitas vezes o acesso à lesão pode ser dificultado pelo tecido gengival, necessitando muitas vezes uma gengivoplastia ou até mesmo uma gengivectomia da região a ser restaurada.

O primeiro material utilizado para restaurar a cárie radicular foi o amálgama utilizado a mais de 150 anos, por apresentar excelentes propriedades físico-mecânicas e baixo custo. No entanto, para a utilização do mesmo há a necessidade de se realizar o preparo cavitário o que leva à remoção inclusive de tecido sadio, além disso, ele não possui ação cariostática, conduz calor e é pouco estético.

O amálgama vem sendo substituído por materiais restauradores que se aderem à superfície dental, são estéticos e liberam flúor, como os cimentos de

ionômêro de vidro (convencionais e modificados), os sistemas adesivos e as resinas compostas (com ou sem flúor). Apesar destas vantagens, estes materiais estéticos mostram na prática um alto índice de falhas nas restaurações radiculares, pois ocorre infiltração nas margens da restauração levando ao desenvolvimento de cáries secundárias. Isso ocorre porque a adesão ao cemento e à dentina destes materiais estéticos é muito pobre em relação à adesão ao esmalte, devido à composição destes substratos.

Com o intuito de diminuir a incidência das cáries radiculares secundárias, podemos lançar mão atualmente, não só de materiais modernos, mas também de novas tecnologias de preparo dental como o laser de Er:YAG, cuja eficácia para a remoção de tecido cariado vem sendo comprovada desde a década de 90. Assim, seria de importância avaliar o selamento marginal de preparos de cáries radiculares utilizando a associação do laser de Er:YAG e de materiais estéticos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Para melhor entendimento dos assuntos a revista da literatura foi dividida em tópicos por assunto.

2.1 Cárie Radicular

A cárie dental é uma doença infecciosa que causa destruição localizada dos tecidos duros (FRANK, 1990). Esta é induzida por ácidos orgânicos como o láctico, o acético e o propiônico (FEATHERSTONE, 1996; FEATHERSTONE, 2000), sendo o ácido láctico o mais importante. Estes ácidos são produtos do metabolismo de bactérias do biofilme dental (SIMMONDS; TOMPKINS; GEORGE, 2000), as quais utilizam como substrato carboidratos fermentáveis provenientes da dieta (VAN HOUTE, 1980; ZAMBO; KASPRZAK, 1995; WRIGHT et al., 2002). Estes ácidos difundem-se na sub-superfície do esmalte e da dentina dissolvendo os minerais (FEATHERSTONE, 1996, FEATHERSTONE, 2000).

O indivíduo considerado cárie-ativo apresenta um substancial acúmulo de biofilme combinado com uma freqüente ingestão de carboidratos. Mudanças no nível dos carboidratos consumidos pode levar à uma alteração na composição da flora do biofilme, o que conseqüentemente leva à alteração da produção de ácidos e a capacidade de diminuição do pH (VAN HOUTE, 1980).

A cárie dental inicia-se com a perda de íons cálcio da superfície dos cristais de apatita presentes nos três tecidos calcificados do dente, esta perda de íons cálcio (desmineralização) normalmente é compensada pelo ganho destes íons (remineralização) proveniente do meio bucal. Quando o meio se torna desfavorável e o nível de remineralização não é suficiente para neutralizar o de desmineralização, ocorre a cárie dental (BANTING, 2001).

O desenvolvimento da cárie é o resultado da interação de fatores como: fatores intrínsecos do hospedeiro (anatomia, fisiologia e bioquímica), fatores extrínsecos do ambiente (dieta do hospedeiro) e de diversas espécies microbianas e o potencial genético de cada uma das espécies (SIMMONDS; TOMPKINS; GEORGE, 2000; ELIASSON; KRASSE; SOREMARK, 1992).

Um dos aspectos relevantes que devemos salientar em relação ao hospedeiro é o papel da saliva, pois esta além de regular o balanço iônico nos processos de desmineralização e remineralização, fornecendo íons cálcio e fosfato (FEATHERSTONE, 1996), cumpre funções protetoras. Estes se manifestam no balanço ecológico da boca através de: remoção mecânica dos resíduos, inclusive carboidratos; agregação e redução da aderência dos microrganismos através de mecanismos imunológicos; atividades antibacteriana, antifúngica e anti-virótica, deposição da película adquirida (MANDEL, 1987), serve como veículo para o flúor proveniente da água, de dentifrícios e componentes da dieta (FEATHERSTONE, 1996) e neutraliza os ácidos provenientes do metabolismo das bactérias aumentando assim o pH (FEATHERSTONE, 2000).

Em relação aos microrganismos devemos salientar a importância do *S. mutans*. A primeira vez que este estreptococco foi relacionado à etiologia da cárie dental foi em 1924, quando Clark os isolou de lesões cariosas humanas e deu-lhe o nome de *S. mutans* (BALAKRISHNAN; SIMMONDS; TAGG, 2000). Porém, somente na década de 60 surgiram evidências consideráveis mostrando a importância deste microrganismo como agente etiológico da cárie dental (VAN HOUTE, 1980).

Recentemente, organismos classificados como *S. mutans* têm mostrado serem genotipicamente heterogêneos e formam espécies separadas (SOET; TOORS; DE GRAAFF, 1989). Estas espécies são freqüentemente referidas pelo coletivo mutans streptococcus (MS). As sete espécies conhecidas são: *S. mutans*,

S. rattus, *S. cricetus*, *S. sobrinus*, *S. ferus*, *S. macacae* e *S. downei*. O *S. mutans* e o *S. sobrinus* são os MS mais predominantes (FEATHERSTONE, 2000), sendo o *S. mutans* o mais freqüentemente isolado (BALAKRISHNAN; SIMMONDS; TAGG, 2000).

A espécie *S. mutans* possui uma alta cariogenicidade, que depende diretamente de fatores como: acidogenicidade – capacidade de produzir grande quantidade de ácido; potencial acidúrico - são capazes de tolerar grandes quantidades de ácido lático; alta capacidade de adesão e reorganização na superfície dental através da síntese de polissacarídeos extracelulares provenientes da fermentação da sacarose (WRIGHT et al., 2002; ARANIBAR QUIROZ; LINGSTRÖM; BIRKHED, 2003). Adicionalmente os *S. mutans* sintetizam glucanos insolúveis em água, principalmente dextrano e mutano responsáveis pela adesão à superfície do dente e pela síntese de polissacarídeos intracelulares, também a partir da sacarose, formando moléculas de alto peso molecular como o glicogênio e a amilopectina responsáveis pelo suprimento da célula durante o período em que não há substrato proveniente do meio para o seu metabolismo (BALAKRISHNAN; SIMMONDS; TAGG 2000; SIMMONDS; TOMPKINS; GEORGE, 2000, VAN HOUTE, 1980).

Apesar da doença cárie afetar mais comumente a coroa dos dentes, as cáries radiculares também são prevalentes, especialmente em populações mais idosas (BALAKRISHNAN; SIMMONDS; TAGG, 2000).

Atualmente tem havido um aumento notável da prevalência da cárie radicular, provavelmente (DIONYSOPOULOS; KOTSANOS; PAPADOGIANIS, 1996) por causa da expectativa de vida aumentada e pela conservação dos dentes naturais na boca por mais tempo (BANTING; ELLEN; FILLERY, 1980; KATZ et al,

1982; KIDD, 1989; SCHÜPBACK; GUGGENHEIM; LUTZ 1989; CLARKSON, 1995), devido ao aumento da atenção em relação aos dentes oferecida à população, pelo aumento do conhecimento da prevenção e do tratamento de doenças periodontais (NYVAD; FEJERSKOV, 1982). Por estes motivos a cárie radicular é um assunto de interesse crescente em países industrializados (FURE, 1990).

A cárie radicular pode ser descrita como uma doença multifatorial (MCCOMB, 1994), pois além dos fatores idade e da presença dos dentes naturais por mais tempo, outros fatores são considerados relevantes para o seu desenvolvimento. Um dos pré-requisitos para o desenvolvimento desta cárie é a exposição da raiz ao meio bucal (KIDD, 1989; ELIASSON, 1992; MCCOMB, 1994; BURGESS, 1995; CLARKSON, 1995; ETTINGER, 1999) causada pela recessão gengival (NYVAD; FEJERSKOV, 1982; WIDDOP, 1989; JONES 1995; BANTING, 2001). Esta recessão gengival é uma condição necessária para a cárie radicular (KITAMURA; KIYAK; MULLIGAN, 1986), entretanto outros fatores que serão descritos a seguir também são predisponentes para que a cárie radicular ocorra.

Kitamura; Kiyak e Mulligan, 1986 afirmou que a permanência destes dentes por mais tempo em indivíduos idosos seria um problema, pois os dentes estariam sujeitos a doenças periodontais que levariam à recessão gengival deixando o cemento vulnerável ao meio bucal. Esse seria um problema mais grave para pessoas idosas que vivem em asilos e em casas de saúde, devido à redução na atividade física e mental (ETTINGER, 1999) e a um estilo de vida mais sedentário; causado pela aposentadoria e doenças que leva a perda de destreza física (MOUNT, 1986) conseqüentemente levando a acúmulo de biofilme e aumento de atividade cariogênica.

Trabalhos têm mostrado que pessoas que vivem em regiões com água fluoretada a prevalência de cárie radicular é menor do que aquelas que não possuem água fluoretada (BURT; ISMAIL; EKLUND, 1986; BECK, 1993), mesmo que a exposição a esta água tenha começado na fase adulta (HUNT; ELDREDGE; BECK, 1989). Este dado comprova o benefício da água fluoretada na prevenção desenvolvimento da cárie radicular, entretanto não há comprovação científica se este benefício é sistêmico ou tópico (BURT; ISMAIL; EKLUND, 1986).

Outro fator importante que devemos salientar, como foi descrito a alguns parágrafos acima, é a importância da saliva na proteção da cavidade bucal contra insultos físicos e microbiológicos (SIMMONS; AL-HASHIMI; HAGHIGHAT, 2000), sendo assim, a redução salivar (xerostomia) contribui muito para o aumento da susceptibilidade à cárie radicular (BANTING; ELLEN; FILLERY, 1980; MOUNT, 1986; WIDDOP, 1989; KIDD, 1989; ELIASSON; KRASSE; SOREMARK, 1992; ETTINGER, 1999; SIMMONS; AL-HASHIMI; HAGHIGHAT, 2000) devido à ausência do efeito tampão, à diminuição dos minerais disponíveis para a remineralização (BURGESS, 1995), ao acúmulo de restos alimentares e um provável aumento da população microbiana total, aumentando conseqüentemente a atividade cariogênica (WIDDOP, 1989).

A xerostomia pode ocorrer fisiologicamente devida à idade (KITAMURA; KIYAK; MULLIGAN, 1986; KIDD, 1989; WIDDOP, 1989) ou devido a uma disfunção das glândulas salivares (KIDD, 1989; BURGESS, 1995; SIMMONS; AL-HASHIMI; HAGHIGHAT, 2000). Esta disfunção pode ocorrer por fatores como: radioterapia (KIDD, 1989; NÄRHI, 1994; BURGESS, 1995; SIMMONS; AL-HASHIMI; HAGHIGHAT, 2000), medicações (MOUNT, 1986; KITAMURA; KIYAK; MULLIGAN, 1986; NÄRHI, 1994) como: anti-depressivos (KIDD, 1989; BURGESS, 1995;

SIMMONS; AL-HASHIMI; HAGHIGHAT, 2000), sedativos (BURGESS, 1995), anti-histamínicos (KIDD, 1989; BURGESS, 1995; SIMMONS; AL-HASHIMI; HAGHIGHAT, 2000), anti-hipertensivos (KIDD, 1989; BURGESS, 1995), diuréticos, anti-Parkinson, supressores de apetite, tranqüilizantes e hipnóticos (KIDD, 1989) e doença auto-imune - Síndrome de Sjögren (MOUNT, 1986; KIDD, 1989; BURGESS, 1995; SIMMONS; AL-HASHIMI; HAGHIGHAT, 2000).

Fatores que também podem estar relacionadas com a xerostomia são: fatores psicológicos, mudanças hormonais como a menopausa (NÄRHI, 1994), diabetes Mielitus, doenças neurológicas, distúrbios do pâncreas, deficiências nutricionais e Lúpus Eritematoso (KIDD, 1989).

Além destes fatores citados acima relacionados ao hospedeiro, para que a cárie radicular ocorra é necessário termos a interação entre os fatores do hospedeiro, a dieta rica em carboidratos e os microrganismos cariogênicos presentes no biofilme dental (ZAMBON; KASPRZAK, 1995).

O hábito dietético está positivamente correlacionado com a cárie radicular, pois a alta ingestão de produtos açucarados e carboidratos fermentáveis influencia a atividade de cárie radicular (RAVALD; BIRKHED, 1991).

Uma grande relação entre a quantidade e a freqüência de ingestão de carboidratos refinados e a cárie radicular tem sido demonstrada (WIDDOP, 1989). O potencial cariogênico do alimento depende não só da presença do açúcar, mas também de suas propriedades retentivas e da freqüência de sua ingestão, sendo assim, alimentos mais pegajosos contendo carboidratos fermentáveis, principalmente a sacarose, são mais cariogênicos (HIX ; O`LEARY, 1976).

A sacarose é considerada altamente cariogênica, pois através da sua fermentação os microrganismos, principalmente o MS, produzem ácidos além de

sintetizarem glucanos extracelulares (VAN HOUTE; LOPMAN; KENT, 1994; ARANIBAR QUIROZ; LINGSTRÖM; BIRKHED, 2003).

Ravald e Birkhed, 1991, demonstrou que os hábitos dietéticos estão diretamente relacionados com a atividade da cárie radicular. Como, por exemplo, idosos que necessitam tomar líquido durante a noite, pois eles ingerem líquidos ácidos ou que contenham açúcar (NÄRHI, 1994).

Se a exposição de açúcar é freqüente, a quantidade de desmineralização do dente vai exceder a de remineralização e a cárie irá ocorrer (BALAKRISHNAN; SIMMONDS; TAGG, 2000).

Entretanto quando falamos de cárie radicular, parece que em alguns casos onde os idosos não utilizam produtos contendo a sacarose e sim adoçantes, o principal agente cariogênico na dieta é o amido (KIDD, 1989; ELIASSON, 1992).

Muitos adoçantes que são utilizados por pessoas idosas possuem em sua composição lactose, a qual pode apresentar um potencial cariogênico menor que o da sacarose, porém é capaz de baixar o pH, não o suficiente para causar cárie de esmalte, mas suficientemente baixo para causar cárie na dentina radicular. Estes resultados são relevantes, pois a população adulta, que possui a dentina radicular exposta quando o cemento está ausente, toma várias xícaras de café por dia utilizando estes adoçantes (AIRES et al., 2002). Balakrishnan; Simmonds e Tagg, 2000, afirmaram que outros açúcares além da sacarose, como a lactose e a glicose, também podem induzir a formação de cárie.

A etiologia microbiana da cárie dental é geralmente discutida levando-se em consideração a relação dinâmica entre a microbiota do biofilme dental, a dieta rica em carboidrato, a queda do pH e o potencial cariogênico do biofilme (VAN HOUTE; LOPMAN; KENT, 1994), pois o processo de desmineralização da superfície radicular

envolve alta concentração de ácidos orgânicos produzidos pelas bactérias do biofilme dental a partir de carboidratos da dieta (ZAMBON; KASPRZAK, 1995).

A microbiologia da cárie de esmalte tem sido extremamente estudada e parece que os microrganismos que estão intimamente ligados a este processo são o *S. mutans* e os *Lactobaccillus* (KIDD, 1989). Em contraste com a cárie de esmalte, a microbiota da cárie radicular tem sido muito menos estudada (ZAMBON; KASPRZAK, 1995) e compreendida (VAN HOUTE; LOPMAN; KENT, 1994; BRAILSFORD et al, 2001), por este motivo menos informação está disponível sobre os aspectos relacionados com a microbiota da cárie radicular (KIDD, 1989).

Estudos sobre a microbiologia da cárie radicular da década de 70 enfatizaram a importância do *Actinomyces* como principal agente etiológico da cárie radicular, principalmente *A. viscosus* e *A. naeslundii*. Porém, estudos mais atuais indicaram que o papel que estes microrganismos desempenham é menor do que o descrito, e mostraram ainda uma grande importância do *S. mutans* e do *lactobaccillus* na cárie radicular (BOWDEN et al, 1990; ZAMBON; KASPRZAK, 1995).

A presença de microrganismos proteolíticos é importante para o início e progressão da cárie radicular, mas ainda não foi demonstrado qual microrganismo específico está relacionado à cárie radicular (ELIASSON, 1992).

Muitos autores relacionam o *S. mutans* e o *Lactobaccillus* à cárie radicular (ELIASSON, 1992), principalmente quando há a associação destes dois microrganismos (BOWDEN, 1990; ZAMBON; KASPRZAK, 1995). Närhi, 1994 demonstrou que a alta contagem de *S. mutans* e *Lactobaccillus* na saliva estava intimamente relacionada com a idade.

Uma grande concentração de *S. mutans* é encontrada na maioria das lesões cariosas avançadas da superfície radicular e em menor quantidade em lesões iniciais e em superfícies radiculares livres de cárie (BOWDEN, 1990; BILLINGS; BROWN; KASTER, 1985; FURE, 1990), isto sugere a importância do *S. mutans* no desenvolvimento da cárie radicular (VAN HOUTE; LOPMAN; KENT, 1994).

Ravald e Birkhed 1991, afirmaram que a alta concentração de *S. mutans* e *Lactobaccillus* na saliva é freqüentemente encontrada em grupos com cárie radicular ativa.

Em contraste com o *S. mutans* e o *Lactobaccillus*, o *Actinomyces* vem sendo isolado com maior freqüência em superfícies radiculares livres de cárie do que em superfícies radiculares cariosas (BILLINGS; BROWN; KASTER, 1985). Em contrapartida, van Houte; Lopman e Kent, 1994 afirmaram que a proporção de *Actinomyces* encontrada em superfícies radiculares cariosas e livres de cárie é semelhante, e sua proporção na biofilme não mostra relação direta com a cárie radicular, pois este microrganismo é menos sensível à presença de carboidratos (MINAH; SOLOMON; CHU, 1985).

Brown; Billings e Kaster, 1986 e Keltjens et al, 1987, afirmaram que mudanças populacionais de microrganismos estão intimamente relacionadas com a evolução da cárie radicular. Estes autores afirmaram, ainda, que a diferenciação da flora entre as lesões é possível e que a presença do *A. viscosus* serovar 2 e do *S. mitis* pode ocorrer em associação com o *S. mutans* e o *Lactobaccillus*. Bowden, 1990, também sugeriu que o *A. viscosus* serovar 2 possuía uma certa relação com a cárie radicular além da associação do *S. mutans* e dos *Lactobaccillus*.

Em outro estudo realizado por Bowden em 1990 ele sugeriu a partir de outros estudos a relação entre lesões radiculares e a alta concentração de microrganismos como *S. mitis 1*, além do *S. mutans* e do *Lactobaccillus* e nenhuma relação com *A. naeslundii*.

Em 1994, van Houte; Lopman e Kent, também encontraram variedade de diferentes microrganismos relacionados a diferentes estágios da cárie radicular. Em superfícies livres de cárie o microrganismos predominantes foram o *S. sanguis II*, a *Veillonella* e o *A. viscosus*, em lesões cariosas incipientes o microrganismos predominantes foram o *S. mutans*, *A. viscosus* e *Lactobaccillus*, e aos microrganismos predominantes em lesões cariosas avançadas foram *S. mutans*, *A. naeslundii*, *Veillonella* e *Clostridium*.

Brailsford et al, 2001, em seu estudo demonstrou que as bactérias acidúricas predominantes nas lesões cariosas radiculares eram *A. israeli* (pH 4.8 e 5.2), *Lactobaccillus* (pH 4.8 e 5.2) e para o pH 7.0 era *A. naeslundii*, enquanto que em superfícies radiculares que estão sujeitas a desenvolver cárie a bactéria predominante em 60 % dos casos era *A. gerencseriae* para os pH 4.8 e 5.2 e para o pH 7.0 a bactéria predominante era *S. salivarius*. Em superfícies radiculares que não estão sujeitas á desenvolver cárie as bactérias mais encontradas foram *S. anginosus* (ph 4.8) e *S. bucalis* (ph 5.2 e 7.0). O *S. mutans* foi, pouco isolado em todos os grupos descritos acima, o que está em concordância com Bowden que em 1990 afirmou que existe uma pequena proporção do *S. mutans* na microflora das lesões cariosas radiculares.

Como se pode demonstrar acima existem ainda muitas controvérsias na literatura sobre a microbiota envolvida no aparecimento e desenvolvimento da cárie radicular.

Em relação ainda aos fatores relacionados à cárie radicular devemos salientar que o pH crítico para que esta lesão ocorra está muito acima do pH crítico para o desenvolvimento da cárie de esmalte. Enquanto que o pH crítico para o esmalte é de 5.2-5.7, o pH crítico para a dentina ou cemento radicular é de 6.0-6.5 (ELIASSON, 1992; WEFEL, 1994).

Além de o pH ser mais alto na cárie radicular, outros fatores também diferem em relação à cárie de esmalte, como as características da superfície e o desenvolvimento, isto ocorre devido a diferenças de localização, anatomia, histologia e natureza química dos tecidos. O cemento e a dentina radicular são constituídos de 30 % de porção orgânica, enquanto o esmalte possui somente 2 % (ELIASSON, 1992).

A cárie radicular comumente está confinada totalmente na raiz, próximo à junção cemento-esmalte e seu primeiro sinal são pequenas áreas descoloradas bem definidas (NYVAD; FEJERSKOV, 1982) que tendem a se estender ao longo da circunferência do dente, coalescendo e formando lesões maiores (MOUNT, 1986; WIDDOP, 1989; SCHÜPBACH; GUGGENHEIM; LUTZ, 1990; ELIASSON, 1992; ZAMBON; KASPRZAK, 1995; BANTING, 2001), a maioria das lesões são rasas (MOUNT, 1986). A progressão da maioria das lesões da superfície radicular é lenta (WIDDOP, 1989).

Fure, 1990, afirmou que as superfícies radiculares dos molares eram as mais afetadas pelas lesões cariosas e a dos incisivos eram as menos afetadas. Entretanto, Banting; Ellen e Fillery em 1980 afirmaram que os dentes mais afetados eram os pré-molares e os anteriores, pois estes são mantidos na boca por mais tempo que os molares.

Em lesões cariosas ativas, o estudo de Fejerskov et al, 1991 demonstrou que as superfícies proximais dos dentes anteriores (BANTING; ELLEN; FILLERY, 1980) superiores e as superfícies vestibulares e proximais dos terceiros molares eram as mais afetadas. Na maxila as superfícies mais afetadas são as proximais e na mandíbula as vestibulares, enquanto que as superfícies linguais de ambas as maxilas são as superfícies menos afetadas (FURE, 1990).

A cárie radicular é uma doença que apresenta vários sinais clínicos, os mais comumente utilizados são o tátil (textura da superfície) e os visuais (contorno, cavitação e cor), para a realização do seu diagnóstico (BANTING, 1993).

O método tradicional de diagnóstico através dos sinais visuais e táteis pode produzir um diagnóstico correto, mas não antes que a doença já esteja em um estágio avançado (BANTING, 2001).

Mesmo havendo na literatura discordâncias sobre o aspecto da cárie radicular, principalmente em relação à cor, muitos autores afirmam que a cárie radicular quando está ativa apresenta uma superfície amolecida quando é sondada (KATZ et al, 1982; BAUER et al., 1988) e cor variando de amarelo a marrom claro e quando está inativa apresenta uma superfície endurecida quando sondada, porém menos dura do que o cemento intacto e cor variando do marrom escuro ao preto (NYVAD; FEJERSKOV, 1982; BILLING; BROWN; KASTER, 1985; KIDD, 1989; RAVALD; BIRKHED, 1991).

Hellyer e Lynch, 1990 afirmaram que não existe nenhuma correlação entre cor da lesão de superfície radicular e sua textura. Lynch; Beighton, 1994, afirmaram, ainda, que vários fatores extrínsecos podem influenciar na aparência da cárie radicular como o fumo, a presença de bactérias cromogênicas na microflora, por isto

a cor das lesões primárias radiculares não deve ser utilizada como único critério de diagnóstico.

Quando realizamos o diagnóstico da cárie radicular não necessariamente encontraremos uma superfície cavitada. A cavitação associada ao processo carioso deve ser distinguido da cavitação causada por erosão, abrasão ou como resultado de um tratamento dental (LYNCH; BEIGHTON, 1994). Provavelmente, o único sinal clínico que pode fazer a diferenciação entre a lesão de cárie ativa e lesões causadas por erosão, abrasão ou trauma, seja a mudança de textura da superfície (HELLYER; LYNCH, 1990).

Quando estudamos a cárie radicular devemos levar em consideração a evolução do processo diretamente na dentina radicular, pois em alguns casos o cemento já não existe mais. Ele pode ter sido removido por abrasão ou fatores iatrogênicos (FRANK, 1990).

Devido a este fato devemos nos preocupar com a composição da matriz orgânica da dentina, pois estudos ultra-estruturais têm mostrado que as cáries radiculares envolvem tanto desmineralização quanto rompimento ou colapso da matriz orgânica (FRANK; STEUER; HEMMERLE, 1989; FRANK, 1990; SCHÜPBACH; GUGGENHEIM; LUTZ, 1990; DUNG; LIU, 1999; VAN STRIJP et al, 2003).

Alguns pesquisadores têm sugerido que as fases orgânica e inorgânica são rompidas simultaneamente nas cáries radiculares (FRANK; STEUER; HEMMERLE, 1989, FRANK, 1990). Outros acreditam que a destruição ocorre em duas fases, que são: dissolução da porção mineral da dentina por ácidos, seguida pela invasão bacteriana e rompimento ou colapso do colágeno (KATZ; PARK; PALENIK, 1987; SCHÜPBACH; GUGGENHEIM; LUTZ, 1989).

A matriz orgânica da dentina é composta de aproximadamente 90% de colágeno tipo I (VAN STRIJP et al, 2003), e o restante é uma mistura de citrato, lipídeos e proteínas não-colágenas. Para que a degradação desta matriz colágena ocorra é necessário termos presente no meio colagenases que podem ter diferentes origens. Entretanto, o papel que a colagenase tem na degradação do colágeno da dentina radicular ainda não está claro (DUNG; LIU, 1999).

A degradação da matriz colágena da dentina é um pré-requisito para que haja cavitação. Enzimas proteolíticas responsáveis por esta degradação podem ser derivadas das bactérias bucais, do hospedeiro ou de leveduras (VAN STRIJP et al, 2003).

O verdadeiro papel dos microrganismos ligados à cárie radicular, não está bem estabelecido, pois o *S. mutans*, *A. viscosus* e *A. naeslundii* apresentam baixa atividade colagenolítica (DUNG et al.,1995; DUNG; LIU, 1999). Entretanto o ácido e proteinases provenientes destes microrganismos podem estar indiretamente ligados na degradação da matriz colágena, através da ativação de proteinases do hospedeiro (VAN STRIJP et al, 2003) ou proteinases da dentina (DAYAN; BIDERMAN; MECHANIC, 1983; KATZ; PARK; PALENIC, 1987). Acredita-se, também, que enzimas proteolíticas, que degradam o colágeno da dentina radicular, podem derivar de bactérias bucais envolvidas na doença periodontal (DUNG et al., 1995).

Dung et al., 1995 e Dung e Liu, 1999 sugeriram que mesmo que as fibras colágenas sejam somente degradadas por colagenases, o colágeno da dentina pode ser modificado ou desnaturado por ácidos provenientes de bactérias durante o processo cariioso, tornando-o mais susceptível à degradação de proteinases não específicas como a tripsina e a papaína.

Dung et al.,1994 afirmou que o colágeno pode ser degradado por proteases não específicas, como a tripsina, após o tratamento com ácidos.

Todos estes aspectos abordados acima são importantes para os cirurgiões dentistas estarem preparados para realizar um correto diagnóstico e tratamento da cárie radicular.

Nos últimos anos tem se dado muita ênfase para a prevenção da cárie radicular e até mesmo a sua inativação e preservação em estágios mais iniciais onde não há cavitação nem envolvimento estético, através do controle de biofilme, uso tópico de flúor e aconselhamento quanto à dieta (MOUNT, 1986; KIDD, 1989; WIDDOP, 1989; ELIASSON, 1992). Entre os métodos prevenção de cárie destaca-se o uso do laser de argônio para tornar a superfície radicular mais resistente frente ao desafio cariogênico, como observou Westerman et al., 1999. Esta resistência se torna mais efetiva quando o laser é associado a aplicação de flúor, o que cria uma superfície mais reativa co depósitos minerais ricos em flúor. Porém, quando temos cavitação devemos remover o tecido contaminado e restaurar a cavidade com algum material restaurador (MCCOMB, 1994).

Um importante fator na seleção do material restaurador para lesões radiculares é a durabilidade do material e sua fácil manipulação (BURGESS, 1995). O amálgama tem sido usado a mais de 100 anos inclusive para restaurar cáries radiculares, devido às suas vantagens como: selamento das margens do preparo através de produtos de corrosão, baixo custo, fácil manipulação e boa resistência. Entretanto, ele atualmente é pouco utilizado, pois possui algumas desvantagens como: cor metálica, nenhuma liberação de flúor e nenhuma adesividade a estrutura dental (BURGESS, 1995). Por estes motivos o amálgama vem sendo substituído por

materiais mais estéticos que possuem adesividade à estrutura dental e liberação de flúor.

O material estético mais utilizado para restaurar cáries radiculares é o cimento de ionômero de vidro, devido às suas características como ser anti-cariogênico, anti-bacteriano, adesão à estrutura dental, cor e mínima alteração dimensional (MCCOMB, 1994). Kidd, 1989 afirmou que o cimento de ionômero de vidro se adere à dentina quimicamente e é o material de escolha para a restauração de cáries radiculares.

Inicialmente foram utilizados os cimentos de ionômero de vidro convencionais, porém estes cimentos possuíam alguns inconvenientes como demorado tempo de presa (KIDD, 1989), o uso de matriz por 5 minutos e proteção com vernizes específicos para evitar contaminações e perda ou absorção de água nos estágios iniciais de presa, o que deixara o cimento mais solúvel e opaco (MCCOMB, 1994; BURGESS, 1995).

Para minimizar os problemas relacionados aos cimentos de ionômero de vidro convencionais começaram a ser utilizados os cimentos de ionômero de vidro modificados por resina, os quais liberam a mesma quantidade de flúor que os convencionais e apresentam ainda maior resistência à degradação superficial (BURGESS, 1995).

As resinas são menos utilizadas, pois a quantidade de flúor que elas liberam é muito menor do que a liberada pelo cimento de ionômero de vidro e devido à contração de polimerização que pode gerar um estresse na margem da restauração levando à falhas nesta margem se o adesivo utilizado não for capaz de suportar a força de polimerização (BURGESS, 1995). As resinas compostas são mais utilizadas em restaurações tipo sanduíche, onde temos a combinação destas com o cimento

de ionômero de vidro, em áreas que requerem uma estética melhor (MOUNT, 1986; WIDDOP, 1989).

Torii et al., 2001 afirmaram que os cimentos de ionômero de vidro modificados possuem um potencial maior para a inibição de cárie secundária que os compômeros e que as resinas compostas que liberavam flúor.

Mesmo com advento de materiais estéticos que liberam flúor e se aderem à estrutura dental, existem ainda muitas falhas nas restaurações realizadas em superfícies radiculares, pois muitas vezes as condições de trabalho estão longe de serem fáceis, como por exemplo, a restauração de lesões proximais e de lesões localizadas nas bifurcações e trifurcações dos dentes posteriores (KIDD, 1989). Além destas dificuldades podemos incluir também a dificuldade de isolamento absoluto para realizarmos materiais estéticos.

As falhas nas restaurações podem levar a micro-infiltrações na interface dente restauração, podendo levar ao desenvolvimento de cáries secundárias, o que segundo Mjör e Toffenetti, 2000 é uma das principais causas para a troca das restaurações. Para tentar diminuir estas falhas, pesquisadores como Aoki et al., 1998, utilizaram o laser de Er:YAG na remoção da cárie radicular e sugeriram que este laser é uma forma promissora de remover dentina cariada em lesões radiculares.

2.2 Indução de Cárie Radicular

Muitos modelos de indução de cárie experimentais vêm sendo desenvolvidos. Featherstone, 1996 dividiu estes modelos em três métodos: *in situ*, *in vivo* e *in vitro*.

O modelo *in situ* utiliza blocos ou fatias de dentes fixados a um aparelho removível mantido na cavidade bucal por um período de tempo determinado. Porém,

o seu custo é alto, além de ter longa duração e necessitar de grande atenção para reduzir a variabilidade presente.

Os modelos *in vivo* podem utilizar animais ou dentes humanos ainda presentes na cavidade bucal, mas com exodontia indicada. Com a utilização do modelo animal existem desvantagens, tais como: alto custo, longa duração, tamanho diminuído da boca e dos dentes dos animais, além da dinâmica bucal diferente. Já o modelo que utiliza dentes humanos presentes na cavidade bucal, é o que mais se assemelha à situação real clínica. Normalmente utiliza-se uma banda ortodôntica que é fixada ao dente de modo a favorecer o acúmulo de biofilme. Muitas variáveis devem ser controladas: dieta, número de amostras, controle de flúor usado, posicionamento dentário e é muito longo.

Os métodos *in vitro* podem provocar desmineralização e remineralização através de:

1- Ciclagem de pH: neste método a solução desmineralizante se assemelha à utilizada no sistema de ácidos tamponados (descrita a seguir) e a solução remineralizante contém cálcio e fosfato. A amostra é submetida a ciclos alternados de imersão nas duas soluções por um período de tempo determinado.

2- Boca artificial: envolve bactérias, saliva, dente, componentes da dieta e um mecanismo de fluxo. Combina, teoricamente, todos os fatores relacionados ao processo de desenvolvimento da cárie, mas na prática é uma metodologia complexa e os resultados obtidos não são tão bons como os alcançados com os métodos *in situ* e *in vivo*.

Outros métodos *in vitro* podem provocar somente desmineralização através de:

1- Ácidos tamponados: este modelo utiliza um gel de gelatina acidificado ou ácido tamponado. Geralmente os ácidos utilizados são o acético ou o lático. O pH utilizado é normalmente entre 4.0 a 5.0. O autor ressalta que neste método não há componentes salivares, estágio de remineralização, renovação do ácido e também não há remoção dos possíveis componentes liberados pelo material na solução. Em 1996, Dionysopoulos; Kotsanos e Papadogianis utilizaram este modelo de indução deixando os dentes imersos por 15 dias em um gel com 10 % de metilcelulose e 0.1 M de ácido lático com um pH ajustado com potássio em 4.5.

2- Ácidos produzidos por bactérias: neste método o espécime é imerso em um meio que contém bactérias que produzem ácidos orgânicos, semelhante ao que ocorre na biofilme bacteriana dental. As ressalvas feitas para o método anteriormente citado devem ser consideradas também aqui. Geralmente os níveis de cálcio e fosfato não são conhecidos e o pH cai continuamente. Além de criar cáries artificiais, este método pode ser usado para estudo de materiais que contém propriedades anti-bacterianas.

Este último modelo, de indução de cárie, chamado de bacteriano tem sido muito utilizado por vários autores para a indução de cárie.

Dummer; Edmunds e Green, 1982 estudaram a desmineralização do esmalte dental submetido à uma cultura de *S. mutans* (NCTC 10832) usando a técnica de banhos seqüenciais. As coroas e as raízes dos dentes foram cobertas com esmalte dental, exceto em pequenas janelas localizadas nas faces vestibular e lingual das coroas. A seguir, um arame foi fixado a cada dente e este conjunto foi imerso em um tubo contendo um meio de cultura inoculado com *S. mutans*, já previamente condicionado com sacarose. A cada 24 horas, o dente foi transferido para um novo meio de cultura inoculado, por um período de tempo que variou de 7 a

26 dias. Após este período, foram realizados cortes de aproximadamente 80 µm de espessura e estes foram analisados em microscopia de luz polarizada com embebição em água e em quinolina. As lesões formadas apresentaram características semelhantes às lesões naturais de cárie de esmalte.

Gilmour e Edmunds, 1990 avaliaram qual tipo de término de preparo seria mais eficiente para evitar a infiltração e formação de cárie secundária ao redor de cavidades preparadas com resina composta de micro-partícula, basearam-se na metodologia descrita acima para produzirem lesões cariosas, *in vitro*. Após a restauração, foi aplicado um esmalte de unha em todo o dente exceto na restauração e 1 mm ao seu redor. Os dentes foram esterilizados com radiação gama. Foram utilizadas amostras de *S. mutans* 10832 que foram transferidas para aguar sangue e incubadas por 48 horas a 37 °C. A seguir, as colônias formadas foram transferidas para um meio de cultura líquido estéril e foram novamente incubadas por 24 horas. Após este período, iniciou-se o condicionamento dos microrganismos em sacarose. Esse procedimento durou 5 dias, com transferência a cada 24 horas para um novo meio de cultura. Finalmente, cada dente foi imerso em um tubo contendo o meio de cultura inoculado com os microrganismos já pré-condicionados com sacarose e foram incubados por 24 horas para um novo tubo com um novo meio de cultura. Esse processo foi repetido 8 vezes, totalizando 10 dias de desafio cariogênico. Após esse período, os dentes foram cortados e lixados até a espessura de aproximadamente 80 µm. Um corte de cada dente foi escolhido para ser analisado em microscopia de luz polarizada com embebição em água e quinolina.

Gilmour e Edmunds, 1990 utilizaram a mesma metodologia de modelo bacteriano em vários outros estudos, como em 1993 para avaliar a formação de

lesões cárias artificiais no esmalte adjacente a restaurações de amálgama e resina composta. Em 1997 estudaram a prevalência e a profundidade das lesões de cárie artificial adjacentes a cavidades preparadas em raízes e restauradas com cimento de ionômero de vidro ou com um material adesivo e, em 1998, verificaram através de microscopia de luz polarizada a aparência das lesões cárias artificiais adjacentes a cavidades restauradas tanto na coroa como na raiz de dentes humanos extraídos.

Hsu et al., 1998 utilizaram em seu estudo um modelo bacteriano para avaliar cáries recorrentes em restaurações antigas de ionômero de vidro em superfícies radiculares. Para o modelo bacteriano o *S. mutans* foi incubado em TSB por 24 hora em uma incubadora de CO₂ à 37 °C. Passado este período, 2ml desta cultura foi inoculado em um frasco contendo 150 ml de TSB com 1% de glucose e 1% de sacarose. A seguir, os dentes foram colocados no meio e incubados a 37 °C em estufa de CO₂. O meio foi trocado a cada 48 horas. Depois de completado o tempo de quatro incubações cada dente foi removido do meio e colocado em tubos contendo 10 ml de solução de hidróxido de sódio 5.0 N para parar a desmineralização.

Gama-Teixeira, 2002 utilizou o modelo bacteriano proposto por Dummer; Edmunds e Green, 1982, com algumas modificações para avaliar através de microscopia de luz polarizada e microscopia de luz convencional a formação de cárie adjacente a diferentes materiais restauradores.

2.3 Cimento de Ionômero de Vidro

O cimento de ionômero de vidro foi desenvolvido por Wilson e Kent na década de 70, com a intenção de desenvolver um material que pudesse ser usado para várias aplicações odontológicas como: restaurações de dentes anteriores e de erosões, cimentação e material de forramento. Estes autores afirmaram que este cimento era um desenvolvimento lógico do cimento de silicato.

Walls, 1986, afirmou que este cimento era derivado dos cimentos de silicato e de poliacrilato de zinco e que ele foi desenvolvido para combinar as vantagens que estes dois cimentos possuíam para produzir um material mais estético e adesivo.

O cimento de ionômero de vidro original consistia de uma solução aquosa de ácido poliacrílico com uma concentração de aproximadamente de 45 % o qual reagia com um pó formado de vidro de cálcio flúbuocaluminiosilicato (WILSON; KENT, 1972, FRUITS et al., 1996). A reação para formar este cimento é uma reação ácido-base, por este motivo estes cimento são chamados de cimentos quimicamente ativados ou cimentos de ionômero de vidro convencional. Esta reação de presa envolve a neutralização do poliácido pelo vidro que tem constituinte básico, formando unidades de metais de poliacrilato (NICHOLSON, 1998).

A reação de presa ácido-base inicia-se pela liberação de íons cálcio, alumínio, sódio e outros íons metálicos, através do ataque do ácido poliacrílico à superfície das partículas do vidro em pó. Posteriormente, o pó de vidro perde todos os íons metálicos e forma um gel de sílica, enquanto o ácido poliacrílico faz ligações cruzadas fracas com os íons metálicos, neste início de presa o cimento começa a entrar na fase gelatinosa devido ao aumento da viscosidade pela formação de poliacrilatos (FRUITS et al., 1996; SMITH, 1998). O cimento completa a sua presa

nas primeiras 24 horas (SMITH, 1998), porém a formação dos sais de poliacrilato pode continuar ocorrendo até um ano (FRUITS et al., 1996).

A reação ácido-base no cimento de ionômero de vidro convencional continua por várias horas até sua conclusão depois do cimento misturado e isto se reflete na presa inicial e final do material (WAN; YAP; HASTING, 1999).

Estes materiais possuem várias características, as quais torna vantajosa a sua utilização, vantagens como: liberação de flúor conferindo-o a função anti-cariogênica, bactericida, adesão química ao dente, mínima alteração dimensional (MCCOMB, 1994), coeficiente de expansão térmica semelhante ao do dente (FRUITS et al., 1996) e biocompatibilidade (MOUNT, 1999). Porém este cimento está longe de ser o material ideal para os fins citados acima, pois como foi descrito o tempo de presa é lento o que torna a técnica muito sensível à contaminação por umidade, o que quando acontece leva a um enfraquecimento do material. O cimento pode, também, sofrer alterações como fraturas quando ocorre sua desidratação nesta fase inicial de presa (FRUITS et al., 1996). Devido a estes fatores o cimento requer cuidados durante a técnica de uso (MCCOMB, 1994) e proteção durante os estágios iniciais de presa.

Além dos inconvenientes da presa o cimento de ionômero de vidro convencional possui como desvantagens a pouca radiopacidade, ser muito opaco e possuir inadequado tempo de trabalho (WILSON, 1989; NICHOLSON, 1998).

Dionysopoulos; Kotsanos e Papadogianis, 1996, relataram que variáveis na manipulação, sensibilidade da técnica e dois estágios químicos durante a reação de presa do cimento de ionômero de vidro convencional eram as maiores desvantagens destes materiais de presa química.

Ao longo dos anos várias mudanças foram realizadas na formulação original destes cimentos (FRUITS et al., 1996; PEREIRA et al., 2002) para melhorar as propriedades físicas e as de manuseio, estas mudanças ocorreram tanto no pó como no líquido (SMITH, 1998) e até mesmo na sua forma de apresentação.

Wilson, 1989 afirmou que o desenvolvimento do cimento de ionômero de vidro foi direcionado para a eliminação dos defeitos citados acima e para aumentar a sua gama de aplicação.

O pó original era composto de um vidro de aluminossilicato com um alto teor de flúor, formado pela fusão do quartzo, alumina, criolite, fluorite, alumínio triflúor, fosfato de alumínio e fluoreto de cálcio (WALLS, 1986; SMITH, 1998). Esta fusão ocorre em temperaturas em torno de 1200 °C a 1500 °C (WALLS, 1986; NICHOLSON, 1998).

Ao pó fora adicionado vários outros componentes com vários intuitos. Para melhorar a radiopacidade vários opacificadores (FRUITS et al., 1996) foram adicionados ao pó como o óxido de zinco e o sulfato de bário, porém estes componentes diminuía a aparência estética dos cimentos (WILSON, 1989). Para solucionar este problema parte do cálcio foi removido e substituído por outro componente terra alcalino como o estrôncio (WILSON, 1989; FORSS, 1993; MOUNT, 1999).

O aumento do tempo de trabalho e a diminuição da sensibilidade de presa do cimento à água podem ser obtidos através da diminuição da parte externa das partículas de cálcio do pó através de um tratamento com ácido, como por exemplo, o HCl (SMITH, 1998).

Para aumentar a resistência do cimento à deteriorização (SMITH, 1998), melhorar as propriedades mecânicas e diminuir a solubilidade do cimento foram adicionados vários metais como a prata (FORSS; SEPPÄ, 1990), ouro, paládio e platina (SMITH, 1998). Algumas vezes a prata é adicionada ao pó formando chamado de cermet, quando a radiopacidade é importante, como quando se constrói núcleos de preenchimento sobre coroas totais (NICHOLSON, 1998).

Entretanto, os cimentos reforçados liberam uma menor quantidade de flúor em comparação com os cimentos não reforçados (FORSS; SEPPÄ, 1990), além disto a adesão à dentina é menor (THORNTON; RETIEF; BRADLEY, 1986) e a cor do cimento torna-se metálica, porém isto pode ser resolvido acrescentando-se a esta mistura o óxido de titânio (WALLS, 1986).

Deschepper et al, 1991, avaliaram várias marcas comerciais de cimentos de ionômero de vidro, eles mostraram que um cimento reforçado com liga de amálgama apresentou liberação de flúor semelhante ou algumas vezes superior aos ionômeros convencionais e muito superior aos outros ionômeros reforçados, os autores atribuíram este fato à formulação deste ionômero onde a liga metálica não se adere quimicamente à matriz do cimento.

Quanto à diminuição da solubilidade, Oilo, 1988, mostrou que a inclusão da prata no pó não é eficiente para alterar esta característica do cimento.

O líquido do cimento de ionômero de vidro também sofreu alterações ao longo dos anos. O líquido original era composto de uma solução aquosa de ácido poliacrílico de baixo peso molecular, em razão disto ele era utilizado em alta concentração para que o líquido não passasse para um estado de gel, porém este ácido era muito instável e se tornava gel durante a estocagem de 10-30 semanas (SMITH, 1998). Para solucionar este problema vários ácidos carboxílicos foram sugeridos, entretanto, os mais utilizados são o polimaléico (MOUNT, 1999), o ácido maléico e o itacônico (WALLS, 1986; SMITH, 1998). A adição destes ácidos também pôde melhorar as propriedades físicas do cimento (SMITH, 1998; WILSON, 1989), pois estes ácidos possuem um alto peso molecular. Porém este alto peso molecular também levava a um aumento da viscosidade do líquido, para diminuir esta viscosidade parte do ácido poliacrílico ou dos outros ácidos citados acima foram

convertidos a pó e adicionados ao pó do cimento. Para obter-se este cimento o pó é misturado com água ou com solução de ácido tartárico tornando a sua manipulação mais fácil (PROSSER et al, 1984; WALLS, 1986; WILSON, 1989; SMITH, 1998). A utilização do ácido tartárico melhora a manipulação do cimento e aumenta o tempo de presa (NICHOLSON, 1998).

Recentemente, os cimentos de ionômero de vidro vêm passando por uma mudança importante, que é a adição de ingredientes que permitem que ele seja fotoativado (FRUITS et al.,1996). Os ionômeros fotopolimerizáveis ou cimentos de ionômero de vidro modificados por resina são materiais que combinam as melhores propriedades do cimento de ionômero de vidro e da resina composta (WAN; YAP; HASTING, 1999), estes materiais possuem características de manuseio e estética melhoradas (MCCOMB, 1994).

Os cimentos de ionômero de vidro modificados por resina possuem em sua composição monômeros fotopolimerizáveis como o HEMA (hidróxido-etil-metacrilato) e fotoiniciadores (WILSON, 1990; DYONISOPOULOS; KOTSANOS; PAPADOGIANIS, 1996; NICHOLSON, 1998; WAN, 1999) como a canforoquinina (SMITH, 1998; MOUNT, 1999). Ambos adicionados ao líquido e fotosensibilizadores adicionados ao pó (SMITH, 1998), permitem que estes materiais tomem presa quando expostos à luz azul (WAN, 1999).

Os cimentos modificados apresentam dois tipos de presa e por este motivo a sua presa é chamada de dual. O primeiro tipo de presa ocorre quando o material é exposto a uma luz com um comprimento de onda em torno de 470 nm e o segundo tipo ocorre através de uma reação ácido-base que começa quando o pó e o líquido são misturados e continua depois da fotoativação, o que vai levar à maturação completa do material (WILSON, 1990; BOURKE; WALLS; MC CABE, 1992).

Este material apresenta vantagens frente aos cimentos convencionais, como: rápido endurecimento devido à polimerização dos metacrilatos, maior resistência à dissolução (MCCOMB, 1994), boa estética, bom tempo de trabalho, maior resistência à perda ou absorção de água (WILSON, 1990; HINOURA et al, 1990; FRUITS et al., 1996) não necessitando assim proteção por vernizes (WILSON, 1990).

Mesmo os cimentos modificados apresentando vantagens em relação aos convencionais, os dois cimentos apresentam propriedades semelhantes, como adesão química ao dente, liberação de flúor, anti-bactericida e anti-cariogênica.

O mecanismo provável de adesão do cimento de ionômero de vidro é baseado nos fenômenos de difusão e adsorção (MOUNT, 1999). A adesão do cimento de ionômero de vidro ao dente ocorre através de uma atração iônica entre íons carboxílicos do cimento e os íons cálcio da superfície do dente (PACHUTA; MEIERS, 1995). Acredita-se que esta adesão ocorre quando há a adsorção do ácido poliacrílico do cimento na superfície da hidroxiapatita (WILSON, 1989), este fenômeno faz com que haja a liberação de íons fosfato e cálcio. Estes íons irão se combinar com a superfície do cimento e formar uma camada intermediária, a qual está firmemente aderida na superfície do dente (GEIGER; WEINER, 1993).

Akimade, 1994, em seu estudo observou fortes evidências de que além da conhecida adesão à hidroxiapatita, o cimento pode, também, aderir nas fibras colágenas.

Sidhu, 1992, concluiu que a adesão do cimento modificado por resina era semelhante à adesão do cimento convencional, porém Mitra em 1991 já havia afirmado que esta adesão seria superior. Esta melhora da adesão à dentina provavelmente seja resultante da combinação da adsorção do ácido poliacrílico pela

estrutura dental e penetração do HEMA ou outro monômero hidrofílico (SMITH, 1998).

Mitra, em 1991, afirmou que os cimentos de ionômero modificados por resina liberam uma significativa quantidade de flúor durante um período de tempo prolongado e esta quantidade liberada é semelhante àquela dos cimentos convencionais. Além disto, a liberação de flúor dos cimentos de ionômero de vidro é muito superior à dos amálgamas que contem flúor na composição (FORSTEN, 1990; CREANOR et al., 1998) e à de outros materiais estéticos como resinas compostas (FORSTEN, 1990) e compômeros (VERBEECK et al., 1998).

A liberação de flúor após a presa do cimento pode se originar de várias fontes, como: das partículas de vidro que contém flúor que permaneceram intactas; da fase de sílica gel; da matriz composta por vários sais onde os íons flúor podem estar aderidos a íons metálicos e de poros existentes no cimento onde os íons flúor estão livres para se mover (VERBEECK et al., 1998).

A liberação de flúor dos cimentos de ionômero de vidro está intimamente ligada à sua capacidade anti-cariogênica e bactericida, pois vários trabalhos demonstraram que este cimento é capaz de prevenir cáries secundárias (CARVALHO et al, 1990; FORSTEN, 1994). Tam; Chan e Yim, 1997, afirmaram que tanto o cimento convencional como o modificado por resina quando utilizados em restaurações, aumentam a resistência da dentina contra o desenvolvimento de cáries recorrentes, assim como aumenta a remineralização da superfície do esmalte adjacente ao cimento (FORSTEN, 1998).

O cimento é capaz de absorver grande quantidade de flúor proveniente de restaurações de cimento de ionômero de vidro (RETIEF et al., 1984), por este motivo este material é geralmente recomendado para o tratamento de pessoas idosas (FORSTEN, 1994).

Outros trabalhos demonstraram que a ação bactericida pode ocorrer pela inibição da colonização e crescimento de microrganismos responsáveis pela cárie como o *S. mutans* entre a restauração e as paredes da cavidade (SCHERER; LIPPMAN; KAIM, 1989; TYAS, 1991; FORSTEN, 1994 e 1998; LUZ et al., 2001) e pela redução da produção ácida destes microrganismos (KAUFMANN; BARTHOLMES, 1992; HSU et al., 1998).

A maior parte destes benefícios se dá pela massiva liberação de flúor durante o período de presa do cimento (FORSTEN, 1990 e 1994). Esta maior liberação nos estágios iniciais de presa pode ser explicada pelo fato de que a reação de presa do cimento de ionômero de vidro se processa de maneira gradual dentro de um tempo de aproximadamente 12 a 24 horas, assim neste período, a movimentação iônica na massa é grande, facilitando a liberação de elementos ionicamente ativos, como o flúor (CARVALHO et al., 1990). Mount, 1999, afirmou em sua revisão sobre o ionômero de vidro que após esta considerável liberação de flúor durante os primeiros dias de presa, a liberação continua ocorrendo em níveis consideráveis durante alguns meses ou mais. A liberação então irá diminuir e se estabilizar (FORSTEN, 1994;). Esta liberação de flúor por períodos prolongados, mantém a resistência do dente à cárie secundária, mantendo assim a ação anticariogênica por um período prolongado através da liberação de pequenas quantidades de flúor (FORSTEN, 1998)

Alguns autores afirmaram que há um rápido declínio na quantidade de flúor liberado após 48 horas e uma semana (CARVALHO et al., 1990; DESCHEPPER et al., 1991; VERMEERSCH; LELOUP; VREVEN., 2001).

Estudos laboratoriais mostraram que o cimento de ionômero de vidro além de liberar flúor é capaz também de absorver flúor de diferentes origens como pastas

e soluções fluoretadas (KOCH; HATIBOVIC-KOFMAN, 1990), este flúor absorvido é armazenado e pode ser subsequente liberado (CREANOR et al, 1994; FORSTEN, 1995; VERBEECK et al., 1998), como por exemplo quando temos períodos de baixa no pH (FORSTEN, 1994).

Forsten, 1994, afirmou, que até mesmo ionômeros mais antigos têm esta capacidade de absorver e liberar flúor, o que mostra que a atividade anti-cariogênica destes materiais permanece até quando eles estiverem presentes na cavidade bucal.

Os cimentos de ionômero de vidro têm uma vasta utilização em todos os campos da odontologia. Podemos tomar como exemplo a restauração tipo “sanduíche” (FORSTEN, 1994), onde se associa característica dos ionômeros como a adesão, a biocompatibilidade e a liberação de flúor as características de melhor dureza de superfície e estética das resinas compostas (WILSON, 1989; HINOURA et al., 1990).

Além do tipo de restauração “sanduíche” estes materiais podem ser usados em: restauração de lesões cervicais como erosão e abrasão (WALLS, 1986) que se estendem para a dentina radicular (FORSTEN, 1994), restauração de lesões cariosas radiculares (DYONISOPOULOS;KOTSANOS; PAPADOGIANIS, 1999). Além podem ser utilizado como selantes, núcleos de preenchimento, procedimentos endodônticos, cimentação de peças protéticas, como forradores em restaurações de amálgama e resina composta e em restaurações chamadas de ART (Atraumatic Restoration Treatment) (FORSTEN, 1998).

Atualmente pesquisas vêm sendo feitas com cimentos de ionômero de vidro associados a cavidades preparadas com laser. Meda em 2002 utilizou, em sua pesquisa cimentos de ionômero de vidro convencional e modificado por resina em cavidades preparadas com o laser de Er:YAG e com broca e concluiu que cavidades

preparadas com o laser de Er:YAG ou com brocas, e restauradas com ionômeros de vidro modificados apresentaram melhores resultados de resistência adesiva à tração que aquelas restauradas com o cimento convencional.

2.4 Laser de Er:YAG

A turbina associada à broca é o método mais utilizado para a realização do preparo cavitário e remoção da cárie. Estas cavidades são compatíveis para acomodar qualquer tipo de material como o amálgama e restaurações indiretas (BURNETT et al., 2001). No entanto, para realização destes preparos há a necessidade de se administrar anestésicos levando muitos pacientes a possuir aversão ao tratamento dental, pelo entorpecimento provocado pela anestesia que demora a passar (BENJAMIN, 2002) e pelo uso de alta e baixa rotação para o preparo cavitário o que envolve barulho irritante, vibrações desconfortáveis e dor ao paciente (ARMENGOL; JEAN; MARION, 2000; SHIGETANI; TATE; OKAMOTO, 2002).

Do ponto de vista dos cirurgiões-dentistas, a espera pelo efeito da anestesia, o desconforto do paciente percebido durante o ato operatório, a possível dor pós-operatória causada pela vibração e aquecimento das peças de mão e a excessiva remoção de tecido sadio durante a remoção do tecido cariado (BANERJEE; KIDD; WATSON, 2000) tem levado ao aumento das pesquisas pela procura de técnicas alternativas para a remoção e condicionamento (COZEAN et al., 1997) dos tecidos duros do dente, como os lasers (CORONA et al., 2001; ARMENGOL; JEAN; MARION, 2000; BENJAMIN, 2002), para se tentar reduzir estes feitos adversos (BURNETT et al., 2001).

Segundo Banerjee; Kidd e Watson, 2000, o instrumento de corte ideal deve possuir alguns fatores que satisfaçam tanto o operador quando o paciente.

Estes fatores devem incluir: conforto e fácil utilização no ambiente clínico, a habilidade de discriminar e remover somente o tecido cariado, ser silencioso, necessitar a menor pressão possível para o seu uso, não gerar calor e nem vibrações durante o ato operatório e fácil manutenção.

O uso do laser para o preparo cavitário geralmente não requer o uso de anestesia, o que diminui a ansiedade do paciente assim como as agressões sensitivas causadas pelo preparo convencional. Este mínimo desconforto é devido a: diminuição do calor gerado durante o preparo, eliminação da vibração e do barulho (BENJAMIN, 2002). O tratamento realizado com o laser permite a remoção seletiva do tecido cariado preservando assim a estrutura dental (PEGALLI et al., 1997).

Se usados corretamente os lasers minimizam a perda do tecido sadio e promovem conforto ao paciente durante o procedimento clínico. A falta de barulho e da vibração mecânica resulta na redução da dor, fazendo com que o tratamento se torne mais tolerável para maioria dos pacientes (LIZARELLI et al, 2004).

Diferentes tipos de lasers vêm sendo avaliados quanto à sua habilidade de remover os tecidos duros do dente com o intuito de substituir as brocas de alta-rotação (VISURI; WALSH; WIGDOR, 1996). Desde 1989, quando Hibst e Keller demonstraram que o laser de Er:YAG poderia ser utilizado para a remoção do esmalte e da dentina, tem-se afirmado que este laser é o instrumento mais promissor para ser utilizado nos tecidos duros do dente. Isto se deve ao seu comprimento de onda (2,94 μm) que coincide com os picos de absorção da água e da hidroxiapatita (ROEBUCK; SAUNDERS; WRITTERS, 2000; DOSTÁLOVA et al., 1998; BENJAMIN, 2002), o que resulta em uma boa absorção pelos tecidos biológicos, como o esmalte e a dentina (KELLER; HIBST, 1995). A aplicação do laser de Er:YAG na dentina e no esmalte leva à uma expansão volumétrica das moléculas da água e a micro-explosões que resultam na ablação dos tecidos duros

(JAYAWARDENA et al., 2001). Além disto, em comparação com outros lasers, o laser de Er:YAG é preferido devido à sua variedade de indicações. Estudos *in vitro* e em animais mostraram que este laser pode ser utilizado para remover tanto tecido sadio como cariado com grande eficiência sem causar danos aos tecidos adjacentes (KELLER; HIBST, 1995). Isto ocorre porque o calor gerado pela ablação obtida com o laser de Er:YAG é liberado durante a vaporização da água e das micro-explosões, deixando relativamente pouco calor para ser absorvido pelo dente (HOKE et al., 1990).

Apesar de Yazici; Frentzen e Dayangac, 2001, ter relatado que o calor gerado durante a irradiação com o laser possa ter causado “melting” e a fusão de micro estruturas cristalinas na superfície, o que limitaria a quantidade de íons cálcio disponíveis, comprometendo a adesão do cimento de ionômero de vidro a dentina, muitos outros autores já relataram que se o laser for usado corretamente com irrigação de água e ar, o que minimiza o calor gerado, as observações morfológicas não mostram áreas de carbonização ou trincas (VIZURI; WALSH; WIGDOR, 1996; HOSSAIN et al., 2003; CURTI et al., 2004).

Para evitar danos térmicos na aplicação da irradiação, as repetições de 2 a 5 Hz, a densidade de energia deve girar em torno de 80 J/cm^2 para esmalte e 74 J/cm^2 para a dentina (LI; CODE; VAN DE MERWE, 1992). Autores observaram um aumento médio de apenas $2,2^\circ\text{C}$ quando foi utilizado o laser com refrigeração a água durante o procedimento e que um fino jato de água aumenta a eficiência da ablação do Er:YAG laser (HOKE et al., 1990). Portanto, análises de cavidades irradiadas com laser com refrigeração a água não causa danos térmicos aos tecidos duros dentais e às camadas adjacentes a estes tecidos (HOSSAIN et al., 1999).

O uso do *spray* de água durante a irradiação do laser é imprescindível, pois o *spray* pode controlar possíveis efeitos deletérios causados à polpa pelo aumento de temperatura (VISURI; WALSH; WIGDOR, 1996; MATSUMOTO,1998). Se o *spray* de água não for utilizado, a seqüência de pulsos do laser resseca a superfície do dente, há redução da eficiência de corte do laser de Er:YAG (ARMENGOL; JEAN; MARION, 2000) e ocorre um aumento exacerbado de temperatura na câmara pulpar.

Observações feitas ao microscópio eletrônico de varredura, por diversos autores, mostraram que o laser de Er:YAG, cria na dentina um padrão morfológico em escamas, com grande irregularidade superficial semelhante a flocos, evidenciando a ação da ablação no tecido dentinário, criando um padrão micro-retentivo (GROSS et al., 1992), ausência da camada de esfregaço, exposição dos túbulos dentinários e ausência de carbonização e fraturas (KELLER; HIBST, 1989; KELLER, HIBST, 1995; TANJI, MATSUMOTO; EDUARDO, 1996; KATAUMI et al, 1998; ARMENGOL et al, 1999; PELINO, 2002; HOSSAIN et al., 2003; ROBLES, 2003). Estas retenções micromecânicas possivelmente são benéficas para a realização de um procedimento adesivo (LI; CODE; VAN DE MERWE, 1992)

Visuri; Walsh e Wigdor, 1996, notaram através da microscopia eletrônica de varredura, a presença de uma grande quantidade de dentina peritubular nos grupos irradiados com o laser de Er:YAG, o que influenciaria na adesão dos materiais, pois a dentina peritubular possui uma maior quantidade de minerais em relação à dentina intertubular. Observaram ainda que após a dentina ser tratada com o laser, as regiões peritubulares e intertubulares ficaram mais pronunciadas, porém existiam áreas preferenciais para a ablação, o que significa que os dois tipos de dentina reagem de maneira diferente à energia de ablação do laser.

Curti et al, 2004, observaram que a dentina intertubular é seletivamente mais sujeita a ablação que a dentina peritubular pois, a dentina intertubular possui uma maior quantidade de água e componentes da hidroxiapatita (SCHRODER1985; FRANK, 1990). O aumento da área da superfície intertubular pode ser responsável pelo aumento da força de adesão quando as cavidades são preparadas com o laser de Er:YAG, pois há um maior contato entre o material restaurador e a estrutura dental (CURTI et al., 2004). A ausência de *smear layer* associada às irregularidades observadas na superfície dentinária provocada pelo laser, parece ser um substrato vantajoso quando comparado com cavidades preparadas com a broca, para a adesão de materiais restauradores até mesmo quando são realizados testes de micro-infiltração (NIU et al., 1998).

Quanto ao teste de micro-infiltração relacionando o laser de Er:YAG e diferentes ionômeros de vidro, Quo et al., 2002, mostraram que de acordo com seus resultados o laser quando comparado com o alta rotação promove uma superfície mais apropriada para a adesão dos cimentos de ionômero de vidro. Entretanto, Ceballo et al, 2002 e Chinelatti et al., 2004, concluíram que a cavidade preparada e condicionada com o laser de Er:YAG pode afetar desfavoravelmente o selamento marginal das restaurações de cimento de ionômero de vidro modificado por resina.

Além do preparo cavitário, o condicionamento com laser tem se tornado uma alternativa ao condicionamento ácido do esmalte e da dentina, pois não provoca dor, não envolve vibração ou calor o que torna este tipo de tratamento atrativo para a prática diária. A superfície produzida pelo condicionamento laser é também ácido resistente (MARTINEZ-INSUA et al., 2000).

3 PROPOSIÇÃO

Este trabalho se propõe a induzir *in vitro* a formação de cárie em raízes de dentes humanos e a seguir responder os seguintes questionamentos:

1. Diferentes métodos de remoção de cárie radicular influenciam no grau de infiltração marginal de restauração de ionômero de vidro?
2. O tipo de ionômero de vidro tem influência nesse grau de infiltração?

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Grupo Amostral

Para este estudo foram utilizados 45 dentes humanos, incluindo molares e pré-molares, que foram limpos e armazenados em soro fisiológico a 4 °C até serem utilizados. Estes dentes foram obtidos através de documento de doação por parte do Banco de Dentes da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo que possuíam indicação para exodontia, por motivos ortodônticos ou impactação. A doação foi feita sob consentimento livre e esclarecido dos pacientes. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FOUSP através do parecer nº 217/02.

Os dentes foram examinados com lupa para detectar presença de lesão de cárie prévia, mesmo que incipientes. Os dentes que apresentaram essas condições foram descartados.

4.2 Indução da Cárie Radicular

Um fio de aço de 0,9 mm foi fixado com resina acrílica incolor (Dencor, São Paulo, Brasil) na porção radicular de cada dente.

Para o início da pesquisa foram criadas janelas em todos os dentes, nas faces vestibulares das raízes, no limite esmalte-cimento, com o tamanho de 5 x 3 mm. Para a padronização destas janelas foram confeccionados decalques com etiquetas de embalagens (5 x 3 mm) e esmalte de unha que foi aplicado após o posicionamento dos decalques em toda a superfície dental, para que a indução de cárie só ocorresse na janela, que após a remoção do decalque ficou exposta.

Em seguida, os dentes sofreram um processo de esterilização com radiação gama, pois para utilizarmos um sistema bacteriano os dentes tinham que estar livres de contaminação. Este processo foi realizado no IPEN, utilizando o aparelho modelo Gamacell 220 (Atomic Energy of Canada Ltd.), o qual utiliza uma fonte de cobalto que irradia a amostra por todos os lados. A irradiação Gama (dose 25 KGY) mostrou ser um método mais aceitável para teste cariogênico (AMAECHA; HIGHAM; EDGAR, 1998 e 1999).

Para o desenvolvimento das cáries artificiais foi utilizado um modelo bacteriano, pois é o que mais se assemelha à formação de cárie no meio bucal (DUMMER; EDMUNDS; GREEN, 1982; GILMOUR et al, 1993). Para este trabalho foram utilizados dois meios de cultura, para *S. mutans*: BHI (Brain Heart Infusion – Difco (BD) Sparks, EUA) e TSA (sólido - Tryptic Soy Agar – Synth, diadema, Brasil).

Para este experimento o meio BHI foi acrescido de 1% de sacarose, pois o microorganismo que foi utilizado é sacarose-dependente e no TSA foi acrescidos 5% de sacarose, telurito de potássio e bacitracina para tornar o meio mais seletivo. O preparo dos meios BHI e TSA foi realizado de acordo com instruções do fabricante.

Nesse experimento foram utilizadas cepas de *S. mutans*, com cariogenicidade estabelecida e conhecida (GS-5), obtidas de uma amostra mantida congelada em glicerol 20 %.

Com o auxílio de uma micropipeta, 100 µl dessa amostra de *S. mutans* e glicerol foram semeados em quatro placas de Petri contendo TSA, através da técnica de esgotamento, fazendo-se uma série de estrias para distribuir melhor os microorganismos e assim obter colônias isoladas. Estas placas foram incubadas a 37 °C durante 48 horas.

Todas as incubações foram executadas em estufa a 37 °C, criando uma atmosfera de microaerofilia com o uso de um dispositivo para gerar anaerobiose (AnaeroGem[™], Oxoid, Hampshire, Inglaterra) dentro de um jarra para anaerobiose, favorável ao desenvolvimento do *S. mutans*.

Após o período de 48 horas, quando houve crescimento bacteriano, foram colocados em cada placa 2 ml de BHI e as colônias foram removidas das placas com o auxílio de uma alça de Trigalski, o caldo com as colônias foi transferido para um tubo de ensaio contendo 10 ml de BHI.

A turvação deste caldo inóculo foi determinada através da medição da absorbância, em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 550 nm e apresentou densidade óptica de 0,75. O meio de cultura sem o inóculo foi considerado como parâmetro zero. Esta medição do caldo inóculo foi realizada para termos uma padronização em todos os quarenta e cinco tubos de ensaio.

Cada tubo de ensaio contendo 20 ml de BHI e 1% de sacarose, num total de quarenta e cinco, foi inoculado com 200 µl do caldo inóculo preparado. Cada dente, previamente esterilizado, foi imerso em um destes tubos de ensaio. Os tubos foram vedados com tampões de algodão e a seguir, encubados em estufa a 37 °C. Dessa forma, todos os dentes foram imersos em meio de cultura com microorganismos provenientes de um mesmo caldo inóculo.

A cada 72 horas, cada dente foi transferido para um novo tubo de ensaio, contendo um novo meio de cultura. Os dentes foram submetidos a esta indução por 15 dias.

A cada 72 horas foi feita verificação quanto à contaminação, através do exame microscópico de esfregaço corado pelo método de Gram. As lâminas foram observadas ao microscópio de luz com objetiva de imersão para poder observar se

houve o crescimento de culturas puras. Se houvesse alguma contaminação o espécime era descartado.



Seqüência da indução de cárie pelo modelo bacteriano:

Em (A) o dente com a janela preparada e o fio de aço fixado no ápice para o manuseio do espécime; (B) mostra o dente embalado para ser esterilizado com irradiação gama; (C) aspecto do caldo com microorganismos antes da colocação dos dentes e da incubação; (D) tubos de ensaio condicionados na Jarra de Anaerobiose com sachê de anaerobiose; (E) sachê de anaerobiose utilizado para diminuir a taxa de oxigênio na Jarra de Anaerobiose; (F) Jarra de Anaerobiose no interior da estufa; (G) aspecto de dente e do caldo após o período de 21 dias de incubação; (H) aspecto do dente depois de removido do caldo, ao término da incubação.

FIGURA 4.1

4.3 Grupos Experimentais

Após a obtenção de cáries radiculares nos dentes incubados com o *S. mutans* esses foram divididos em três grupos para a remoção da cárie que foi feita ou pelo método convencional utilizando-se cortante rotatório (grupo 1 e 2) ou pelo uso do laser de Er:YAG em duas densidades de energia diferentes (grupos 3, 4, 5 e 6), a saber:

Grupos 1 e 2 (15 dentes): Remoção da cárie com broca— para a remoção da cárie foi utilizado equipamento KaVo – modelo Amadeus (KaVo do Brasil, Joinville, Brasil), com caneta de baixa rotação KaVo e broca carbide esférica compatível com o tamanho da lesão cariiosa (Sorensen, Barueri, SP, Brasil). Onde o grupo 1 foi restaurado com cimento de ionômero de vidro convencional Ketac Fill Plus - 3M Espe (6 dentes) em incremento único e com proporção dada pelo fabricante e o grupo 2 pelo modificado Vitremer - 3M Espe (6 dentes) com técnica incremental, com incrementos de 2 mm cada e fotopolimerização de cada incremento por 40 segundos com o aparelho fotopolimerizador XL 3000 (3M, St. Paul, MN, EUA), com intensidade de luz acima de 400 mW/cm^2 , que foi aferida por um radiômetro de cura analógica de alta precisão (Demetron, Kerr, CT, EUA).

Para os grupos que foram irradiados com o laser foi utilizado o laser de Er:YAG, modelo KaVo Key Laser 2 (KaVo Co., Biberach, Alemanha). O equipamento emite um comprimento de onda de $2,94 \mu\text{m}$, energia por pulso

variando de 60-500 mJ, taxa de repetição de 1-15 Hz, pulso variáveis de 250-500 μ s e diâmetro de feixe na região de focalização de 0,63 mm.

O sistema de entrega do feixe de fibra óptica encontra-se acoplado a uma peça de mão número 2051 (KaVo Co.). Quando utilizamos esta ponta, o laser trabalha na forma de não contato, e o foco ideal é conseguido a uma distância de 12-15 mm de entre a lente de saída e a superfície dental a ser trabalhada (KELLER; HIBST, 1993).

Este laser possui um sistema de refrigeração através de *spray* de ar/água, que atua no processo de ablação (VISURI; WALSH; WIGDOR, 1996). O fluxo de água pode ser regulado, através de uma válvula que está localizada na porção posterior do contra-ângulo.

Para o experimento foram seguidas à risca as Normas de Segurança Internacionais, que incluem a utilização de óculos de proteção com densidade óptica apropriada, uso de sugador de alta potência para a remoção do excesso de água e da pluma de ablação e adesivos de advertência na porta da sala onde o laser foi utilizado.

Os parâmetros utilizados para este experimento foram:

Para os grupos 3 e 4 (15 dentes) a cárie foi removida com uma energia de preparo de 250 mJ e 4 Hz (80.6 J/cm²). A aplicação foi feita varrendo toda a superfície cariada, e de maneira tal que o feixe laser incidisse perpendicularmente a esta superfície. Onde o grupo 3 foi restaurado com cimento de ionômero de vidro convencional Ketac Fill Plus - 3M Espe (6 dentes) em incremento único e com proporção dada pelo fabricante e o grupo 4 pelo modificado Vitremer - 3M Espe (6 dentes) com técnica incremental, com incrementos de 2 mm cada e

fotopolimerização de cada incremento por 40 segundos com o aparelho fotopolimerizador XL 3000 (3M), com intensidade de luz acima de 400 mW/cm^2 , que foi aferida por um radiômetro de cura analógica de alta precisão (Demetron, Kerr).

Para os grupos 5 e 6 (15 dentes), além desta energia de preparo citada no grupo 2 foi utilizada uma energia de condicionamento de 60 mJ e 2 Hz ($19,2 \text{ J/cm}^2$). A aplicação foi feita varrendo toda a superfície da cavidade previamente preparada com o laser de Er:YAG na mesma energia utilizada nos grupos 3 e 4, e de maneira tal que o feixe laser incidisse perpendicularmente a esta superfície. Onde o grupo 5 foi restaurado com cimento de ionômero de vidro convencional Ketac Fill Plus – 3M Espe (6 dentes) em incremento único e com proporção dada pelo fabricante e o grupo 6 pelo modificado Vitremer - 3M Espe (6 dentes) com técnica incremental, com incrementos de 2 mm cada e fotopolimerização de cada incremento por 40 segundos com o aparelho fotopolimerizador XL 3000 (3M), com intensidade de luz acima de 400 mW/cm^2 , que foi aferida por um radiômetro de cura analógica de alta precisão (Demetron, Kerr).

Nesta pesquisa foram utilizadas as taxas de repetição de 2 – 4 Hz, as quais são parâmetros seguros para a utilização na clínica odontológica, prevenindo injúrias aos tecidos adjacentes (LI et al., 1992), além da refrigeração com *spray* de ar/água com uma velocidade de saída e 24 ml/min. (VISURI; WALSH; WIGDOR, 1996).

Após a remoção da cárie foram separados 3 dentes de cada método de preparo cavitário (9 dentes) para serem utilizados para a análise superficial por microscopia eletrônica de varredura.

A composição dos dois cimentos de ionômero de vidro está descrita nas tabelas 4.1 e 4.2 de acordo com o fabricante.

Após o procedimento restaurador foi realizado o acabamento e o polimento destas restaurações com discos Soft-lex.

Tabela 4.1 - Composição cimento de ionômero vidro convencional

CIV	Pó	Líquido
Ketac Fill Plus – 3M ESPE	Lote 145151 Frasco: 10 g Composição: vidro de fluorsilicato de alumínio, lantânio e estrôncio, vidro de fluorsilicato de alumino e cálcio e pigmentos (cor A3)	Lote 150374 Frasco: 8,3 ml Composição: água copolímero de ácido acrílico e maleico, ácido tartárico e ácido benzóico.

Tabela 4.2 - Composição cimento de ionômero de vidro modificado

CIV	Pó	Líquido	Primer	Finishing Gloss
Vitremer – 3M ESPE (lote 20030114)	Frasco: 5 g Composição: cristais de fluoraminosilicato	Frasco: 2,5 ml Composição: solução aquosa de ácido poliaquenóico modificado, Bis-GMA e HEMA (sensível à luz)	Frasco: 2 ml Composição: HEMA	Frasco: 2 ml Composição: resina fotopolimerizável unifásica sem carga

4.4 Tratamento Térmico das Restaurações

Nesse estudo, antes de ser realizado o teste de microinfiltração, todos os dentes (36 dentes, 6 de cada grupo) foram termociclados com 1000 ciclos alternando entre 5 °C e 55 °C, com 3 segundos de intervalo e 1 minuto de imersão por aproximadamente 72 horas.

A termociclagem tem sido utilizada por vários autores, com a intenção de simular condições bucais de variação de temperatura e provocar um envelhecimento

das amostras (GILMOUR et al., 1993; DIONYSOPOULOS; KOTSANOS; PAPADOGIANIS, 1996; HSU et al., 1998).

4.5 Microscopia Eletrônica de Varredura

Para a microscopia eletrônica de varredura os dentes foram seccionados perpendicularmente no sentido méso-distal, obtendo-se duas metades, onde somente a metade onde foi desenvolvida e removida a cárie foi utilizada. Além deste corte parte da coroa e da raiz também foram removidas para ser isolada somente a região onde foi desenvolvida a cárie. Os espécimes foram imersos em solução de glutaraldeído a 2,5 % (SPI – CHEN – Spi supplies, PA, EUA), tamponada com solução de fosfato de sódio 0,1 M (Sigma, St. Louis, MO, EUA), por 12 horas a 4 °C, para fixação. Posteriormente, os espécimes foram lavados três vezes por 10 minutos cada com água destilada. A pós-fixação foi feita com tetróxido de ósmio a 1% no mesmo tampão por 20 minutos em capela. Decorrido esse tempo, os espécimes foram novamente lavados três vezes por 5 minutos cada com uma solução de fosfato de sódio 0,1 M. A seguir, foram desidratados em etanol em série crescente de concentração: 30 % por 10 minutos, 50 % por 10 minutos, 70 % por 10 minutos, 90 % por 10 minutos, 96 % por 10 minutos e 100 % por 20 minutos. Em seguida foi realizada a secagem química dos espécimes, através da imersão dos mesmos em uma solução de hexadimetil disilazona – HMDS - (Sigma) por 20 minutos, em capela à temperatura ambiente.

As amostras foram então secas no ar sobre um papel filtro dentro de um recipiente de vidro, para que houvesse a evaporação da substância química. Esta secagem foi realizada com o objetivo de minimizar as alterações da superfície a ser examinada, favorecendo a deposição do ouro.

A seguir, os espécimes foram fixados nos *stubs* de alumínio (Electron Microscopy Sciences) com éster de cianoacrilato em gel (Super Bonder, Loclite Brasil, Brasil) e por último foi realizada a cobertura com ouro em aparelho de metalização Sputter Coater, modelo FL 9496 (Balzers Union, Liechtenstein), em atmosfera de argônio puro, com pressão de 0,05 Mbar, distância de trabalho de 50 mm, tempo de cobertura de 1 minuto e espessura média de deposição de 20-30 nm.

A microscopia eletrônica de varredura foi realizada no microscópio eletrônico de varredura Shimadzu SSX 550 (Shimadzu Ltd., Osaka, Japão)

4.6 Teste de Micro-Infiltração

Para o teste de micro-infiltração os dentes tiveram seus ápices seccionados com discos diamantados e selados com cimento de ionômero de vidro e após este procedimento foram imersos em solução de azul de metileno 2 % por 24 horas a 37 °C. Decorrido este período os dentes foram lavados em água corrente por 24 horas e incluídos em cilindros de resina acrílica para a realização dos cortes, que foram feitos no aparelho da EXTEC – (Division of Excel Technologies INC – Model 1010 Labcut Low Speed Diamond Saw). Após a realização dos cortes cada metade do espécime foi fotografada com uma máquina digital Sony, Cybershot 717, com uma lente macro.

4.7 Análise de Micro-Infiltração

A avaliação foi realizada através da comparação dos graus de infiltração utilizando o programa de computador Adobe Photoshop. Através deste programa foram utilizadas duas barras de marcação entre o início da restauração até o final da penetração do corante, em cada hemi dente essa distância foi mensurada em milímetros e a seguir, esses dados foram transformados em escores (Tabela 4.3).

Tabela 4.3 - Escores de infiltração

ESCORES	GRAU DE INFILTRAÇÃO
0	Sem infiltração
1	Até 1 mm
2	Maior que 1mm
3	Envolvimento da parede axial

4.8 Análise Estatística

Os dados foram apresentados como médias \pm o erro padrão da média dos escores de infiltração resultantes de triplicata de experimentos para cada grupo experimental. A análise estatística foi feita pelo método de Kruskal-Wallis complementado pelo teste de Dunn. O nível de significância foi de 5%, ou seja, $p \leq 0,05$.



Ilustração representativa das micro-infiltrações para a determinação dos escores:
A e B – determinação de escore 0, ausência de micro-infiltração;
C e D - determinação de escore 1, micro-infiltração \leq 1 mm;
E e F- determinação de escore 2, micro-infiltração $>$ 1 mm;
G e H - determinação de escore 3, micro-infiltração até parede axial.

5 RESULTADOS

5.1 Obtenção da Cárie *in vitro*

Após o período de incubação dos dentes no meio contendo *S.mutans*, observou-se a formação de uma lesão na raiz semelhante com a cárie *in vivo*. Microscopicamente essas lesões se apresentavam como perda do cemento e alterações da dentina subjacente (Figura 5.1). A dentina se tornava amorfa e somente alguns túbulos dilatados podiam ser observados. (Figura 5.1 A). As lesões se localizavam logo abaixo do limite amelo-cementário e se estendiam no sentido da raiz e em profundidade na dentina (Figura 5.1 B). Essas alterações eram rasas e na profundidade se observava aumento dos diâmetros dos túbulos dentinários, porém a dentina continuava estruturada (Figura 5.1 C).

5.2 Análise da Micro-Infiltração

Os valores originais dos escores das micro-infiltrações de cada dente analisado estão expressos nos apêndices A, B e C. Estes dados foram analisados e comparados pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis.

A Figura 5.2 ilustra os resultados da micro-infiltração. Os escores de micro-infiltração do grupo 4 (Laser + Vitremer) foram significativamente (*, $p < 0.05$) menores que os dos demais grupos. As maiores infiltrações ocorreram nos grupos 2 (Broca + Vitremer) e 3 (Laser + ketac), porém sem diferenças significantes com os resultados dos demais grupos.

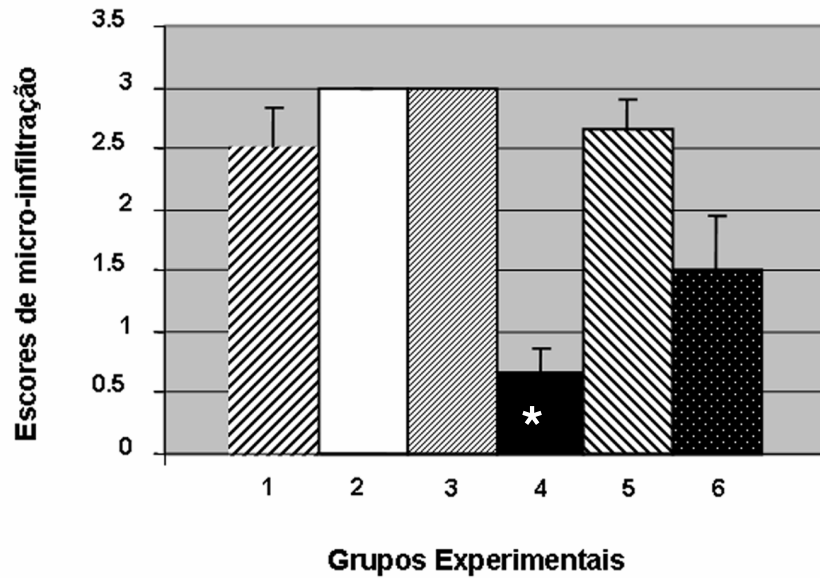


Figura 5.2: Representação gráfica dos resultados dos escores médios (\pm sem) da micro-infiltração nos diferentes grupos experimentais

A análise estatística dos escores de micro-infiltração estão expressos nas tabelas 5.1 (análise descritiva) e 5.2 (comparações dos postos médios).

Tabela 5.1 – Análise estatística descritiva dos escores de micro-infiltração

Grupos	1	2	3	4	5	6
Tamanho da amostra	12	12	12	12	12	12
Mediana	3.000	3.000	3.000	1.000	3.000	1.500
Media Aritmética	2.500	3.000	3.000	0.6667	2.6667	1.500
Variância	1.3636	0.000	0.000	0.4242	0.6061	2.4545
Desvio Padrão	0.1677	0.000	0.000	0.6513	0.7785	1.5667
Erro Padrão	0.3371	0.000	0.000	0.1880	0.2247	0.4523
Postos médios	40.7500	47.5000	47.5000	13.5000	42.5000	27.2500

Tabela 5.2 Comparações dos Postos Médios (Kruskal-Wallis complementado pelo teste de Dunn)

Postos Médios	Dif. Postos	Z calculado	Z critico	p
1 e 3	6.7500	0.7900	2.935	ns
1 e 4	27.2500	3.1894	2.935	< 0.05
1 e 5	1.7500	0.2048	2.935	ns
1 e 6	13.5000	1.5801	2.935	ns
2 e 3	0.0000	0.0000	2.935	ns
2 e 4	34.000	3.9794	2.935	< 0.05
2 e 5	5.0000	0.5852	2.935	ns
2 e 6	20.2500	2.3701	2.935	ns
3 e 4	34.0000	3.9794	2.935	< 0.05
3 e 5	5.0000	0.5852	2.935	ns
3 e 6	20.2500	2.3701	2.935	ns
4 e 5	29.0000	3.3942	2.935	< 0.05
4 e 6	13.7500	1.6093	2.935	ns
5 e 6	15.2500	1.7849	2.935	ns

5.3 Microscopia Eletrônica de Varredura

A Figura 5.3 ilustra a morfologia das cavidades obtidas com a broca nos grupos 1 e 2 (Figuras 5.3 A, B, C), nos grupos 2 e 3 com o laser nos parâmetros de preparo (Figuras 5.3 D, E, F) e nos grupos 4 e 5 com o laser seguido de condicionamento com o laser (Figuras 5.3 G, H, I).

Os dentes onde a cárie foi removida com instrumento cortante rotatório apresentaram uma linha entre preparo e esmalte regular, com pequenas ondulações, porém nítida (Figura 5.3 A). No centro do preparo observou-se uma superfície caracterizada pela presença de linhas ou ranhuras características do uso de instrumento cortante rotatório em tecido mineralizado (Figuras 5.3 B). Essa

superfície apresentou-se recoberta por *smear-layer* e túbulos dentinários abertos não foram observados (Figura 5.3 C).

Os limites das cavidades obtidas com o laser de Er:YAG nos parâmetros de preparo eram irregulares e de aspecto rendilhado (Figura 5.3 D). A superfície ablacionada com esse laser mostrou-se rugosa e irregular, com aspecto semelhante a escamas de dimensões variadas (Figuras 5.3 E, F). Essa superfície estava livre de *smear layer* e os túbulos dentinários se mostravam abertos, uniformemente distribuídos na dentina e com a dentina peritubular protruída e evidente (Figuras 5.3 E, F)

Os limites das cavidades do grupo com uso do condicionamento a laser apresentaram-se similares aos do grupo laser (Figura 5.3 G). A superfície tratada com o laser seguido de condicionamento a laser apresentou micro-cavidades de diâmetros e profundidades variadas e distribuídas de forma irregular. Presença de túbulos dentinários abertos não foi evidenciada. Essa superfície apresentou áreas de fusão e solidificação representadas por dentina de aspecto amorfo (Figuras 5.3 H e I).

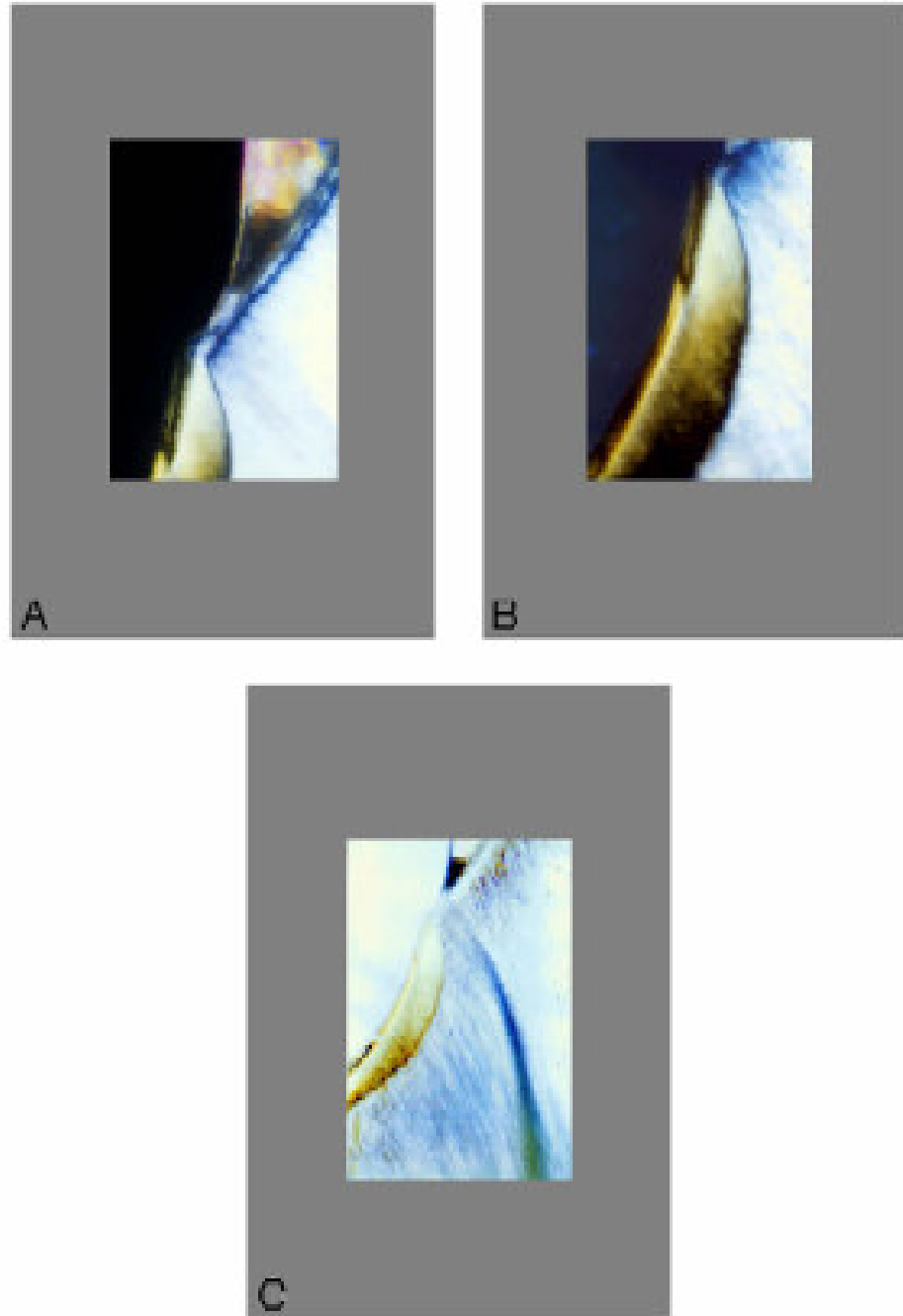
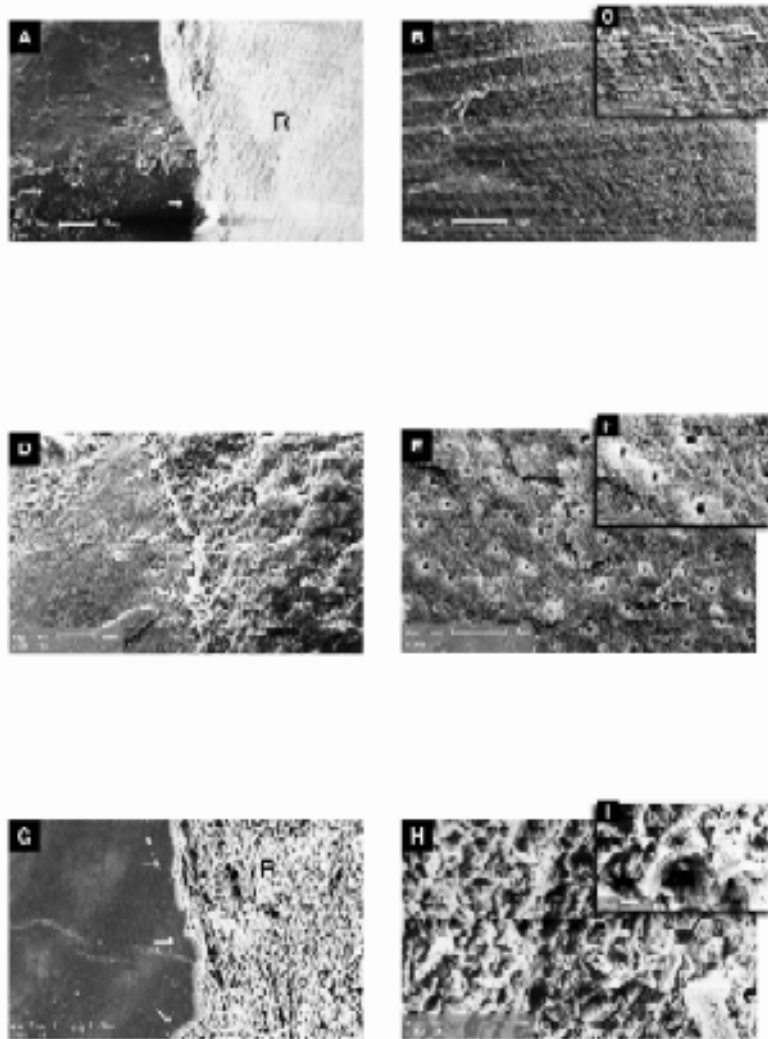


FIGURA 5.1



Eletromicrografias de varredura dos dentes onde as cáries de raiz foram removidas com: Instrumento cortante rotatório (A-C) ou com o Laser de Er:YAG nos parâmetros de preparo (D-F: 250 mJ e 4 Hz e densidade de energia de 80,6 J/cm²) ou com o Laser de Er:YAG nos parâmetros de preparo seguido de parâmetros de condicionamento (G-I: 60 mJ e 2 Hz e densidade de energia de 19,2 J/cm²):

A – as setas mostram limite da cavidade da raiz (R); B e C – Detalhes da superfície do preparo; D - as setas mostram limite da cavidade da raiz (R); E e F- detalhes da superfície ablacionada; G - as setas mostram limite da cavidade da raiz (R); H e I – Detalhe da superfície ablacionada e condicionada. (Aumentos originais A, D, G: 500X; B, E, H: 1500X e C, F, I: 5000X).

6 DISCUSSÃO

O selamento marginal de restaurações de superfícies radiculares cariadas é dependente do tipo de preparo cavitário, bem como do material utilizado para preencher a cavidade. Neste trabalho, após a indução de cárie radicular utilizando um modelo bacteriano, testamos o selamento de restaurações realizadas com dois tipos de cimento de ionômero de vidro aplicados a cavidades obtidas de maneira convencional com instrumentos cortantes rotatórios ou através do uso do laser de Er:YAG em dois parâmetros diferentes. Infiltrações de corante significativamente menores foram obtidas quando o tecido cariado foi removido com o laser de Er:YAG, nos parâmetros de preparo, seguido da restauração com o ionômero de vidro modificado ou resinoso (Vitremer).

A indução da cárie teve sua importância porque almejou aproximar esse modelo de estudo *in vitro* com a situação clínica *in vivo*. Se o trabalho fosse realizado sobre dentina e cimento sadios, seria mais difícil traçar um paralelo entre os resultados observados com a aplicação clínica futura dessas observações. A cárie poderia ter sido induzida por modelo químico ou por bacteriano. O modelo químico para o desenvolvimento da cárie permite um bom controle do meio experimental e é relativamente simples, porém, não é capaz de simular a cárie *in vivo* tão bem quanto o modelo bacteriano (GILMOUR et al., 1993; GILMOUR; EDMUNDS; NEWCOMBE, 1997). Por essa razão, nesta pesquisa optou-se pelo uso de um modelo bacteriano para a indução de lesões cariosas radiculares.

Entre os vários microorganismos envolvidos no desenvolvimento de cárie radicular o *S. mutans* foi escolhido por se tratar de um microorganismo encontrado neste tipo de cárie por diversos autores (BILLINGS; BROWN; KASTER 1985;

BOWDEN, 1990; ELIASSON, 1992; VAN HOUTE; LOPMAN; KENT, 1994). Mesmo não tendo uma grande ação proteolítica, o que segundo Eliasson (1992) parece ser importante para o início e progressão da lesão radicular, o *S. mutans* possui uma alta cariogenicidade devido ao seu alto potencial acidogênico e acidúrico e uma alta capacidade de adesão e reorganização na superfície dental (WRIGHT et al., 2002; ARANIBAR QUEIROZ; LINGSTRÖM; BIRKHED, 2003).

Após o período de incubação dos dentes no meio contendo *S. mutans*, observou-se macroscopicamente a formação de lesão semelhante à cárie *in vivo*, com as mesmas características observadas nos relatos de Gilmour e Edmund, 1998. Microscopicamente também foi possível evidenciar alterações na dentina e no cimento compatíveis com a lesão de cárie.

Nesta pesquisa optou-se pelo uso dos cimentos de ionômero de vidro como materiais restauradores para as superfícies radiculares, porque são os materiais de escolha para restaurar lesões cervicais que se estendam até a dentina radicular (ELIASSON et al., 1992; FORSTEN, 1994). Esse material apresenta adesão química à dentina; capacidade de liberação de flúor que lhe confere um potencial anti-cariogênico (SCHERER; LIPPMAN; KAIM, 1989); necessitam de um mínimo preparo cavitário (MOUNT, 1986), além de possuir uma contração de polimerização menor do que as resinas para restauração (DIONYSOPOULOS; KOTSANOS; PAPADOGIANIS, 1996). Além disso, apresentam coeficiente de expansão térmica semelhante ao da estrutura dental (FRUITS et al., 1996) o que levaria a uma diminuição da micro-infiltração na interface dente-restauração.

Como método para a avaliação da capacidade de selamento marginal dos materiais restauradores utilizou-se a micro-infiltração com corante, por ser um método que vem sendo amplamente descrito e utilizado com eficiência na literatura

(CEBALLOS et al., 2002; CHINELATTI et al., 2004). A micro-infiltração é governada pela adaptação marginal do material restaurador ao dente e é influenciada pela contração de polimerização e os diferentes coeficientes de expansão térmica dos materiais e do dente, que ocorrem durante mudanças de temperatura na cavidade bucal criando lacunas na interface dente restauração (QUO et al., 2002).

Nenhum dos materiais restauradores atualmente disponíveis é capaz de evitar deformações permanentes como porosidades e rachaduras, devido à contração de polimerização. Para minimizar essa alta força de contração dos materiais, faz-se importante à avaliação de novas configurações para as cavidades, bem como de novas tecnologias para o preparo cavitário. Assim, nos interessamos em utilizar o laser de Er:YAG para a remoção das cáries. Esse laser apresenta comprimento de onda que é amplamente absorvido pela água e pela hidroxiapatita, maiores constituintes da dentina. Assim, esse é um laser adequado para a realização de preparos cavitários e, quando utilizado dentro de parâmetros seguros e sob refrigeração removem o tecido cariado com eficácia favorecendo a preservação de tecidos dentais sadios (KELLER; HIBST, 1989; KELLER; HIBST, 1995).

Para a remoção das cáries radiculares experimentalmente induzidas utilizou-se o laser de Er:YAG em duas configurações de parâmetros, uma de preparo (250 mJ e 4 Hz, 80,6 J/cm²) seguida ou não de uma de condicionamento superficial (60 mJ e 2 Hz, 19,2 J/cm²). Esses parâmetros executam com eficiência a ablação do tecido cariado, uma vez que apresentam energia maior que 200 mJ para preparo e de menos que 100 mJ para condicionamento de superfícies. Energias maiores poderiam diminuir o tempo dos preparos, no entanto, energias acima de 500 mJ e

taxas de repetição acima de 8Hz podem causar danos irreversíveis à polpa (DOSTALOVÁ et al., 1998).

Os menores escores de micro-infiltração foram observados nas cavidades preparadas com laser ou com laser seguido do condicionamento a laser quando associados à restauração com o cimento de ionômero de vidro resinoso (Vitremer). Em contraste, os grupos onde o preparo foi feito com instrumentos cortantes rotatórios foram os que apresentaram maiores escores de micro-infiltração.

Os resultados mais satisfatórios obtidos pelos grupos que utilizaram o laser em relação àqueles que utilizaram instrumentos cortantes rotatórios podem estar relacionados ao padrão morfológico obtido na superfície dentinária após a irradiação. Essas superfícies apresentaram-se rugosas, livres de *smear layer* e com túbulos dentinários abertos como já descrito anteriormente por outros autores que utilizaram parâmetros similares de irradiação do laser de Er:YAG (KELLER; HIBST, 1995; PELAGALLI et al., 1997; KATAUMI et al., 1998; AOKI et al., 1998; ARMENGOL et al., 1999; HOSSAIN et al., 2003). Essa topografia superficial da dentina favorece a adesão de materiais restauradores resinosos, proporcionando um embricamento material-dentina, que em última instância dificulta a infiltração de corantes através dessa interface. Por outro lado, a adesão dos cimentos de ionômero de vidro com a dentina tratada por instrumentos cortantes rotatórios não foram eficiente em prevenir a micro-infiltração, porque a superfície dentinária apresentou-se lisa com rugosidades regulares e não muito profunda causadas pelas lamina dos instrumentos rotatórios, presença de *smear layer* e ausência de túbulos abertos. Essas características não favorecem a adesão de cimentos resinosos e também de cimentos convencionais.

O padrão morfológico encontrado na dentina após a irradiação com o laser de Er:YAG é favorável para a adesão de materiais estéticos, como os cimentos de ionômero de vidro (QUO et al., 2002) e as resinas compostas (KATAUMI et al., 1998; AOKI et al., 1998; CURTI et al., 2004), pois teoricamente as rugosidades da superfície irradiada aumentariam a área de contato (VISURI; WALSH; WIGDOR, 1996) entre o material restaurador e a superfície dentinária. Baseado em investigação morfológica este aumento da área de contato pode ocorrer pelo maior índice de ablação da dentina intertubular do que da peritubular levando ao aumento da área da dentina intertubular (CURTI et al., 2004).

Os melhores resultados observados nos grupos onde a remoção da cárie foi realizada com laser e a restauração com cimento resinoso, poderiam ser não só devidos ao aumento da superfície de contato a, mas também à exposição de fibras colágenas (AKIMADE, 1994), que certamente participam da formação da camada híbrida que estaria funcionando como barreira para a entrada do corante. Além disso, essa melhor adesão à dentina pode ser resultante da combinação da absorção do ácido poliacrílico pela estrutura dental e a penetração do HEMA ou outro monômero hidrofílico (SMITH, 1998), fazendo com que a adesão além de química seja micro-mecânica.

Quando comparamos os dois grupos que utilizaram o laser de Er:YAG associados ao cimento de ionômero de vidro modificado por resina, observamos que os grupos onde o laser foi somente utilizado para remoção da cárie obteve melhores resultados no teste de micro-infiltração do que aqueles onde além da cárie ser removida com o laser a cavidade foi condicionada com o mesmo. Este resultado talvez possa ser compreendido através da observação das imagens morfológicas. A dentina que foi preparada e condicionada com o laser apresentava um aspecto

amorfo com grandes irregularidades e ausência de definição dos túbulos dentinários. Este aspecto morfológico pode ter ocorrido devido à energia utilizada para condicionamento, pois esta é uma energia sub-ablativa onde temos uma pequena geração de calor, o que pode ter levado a uma desorganização da superfície dentinária e a deposição da pluma de ablação sobre os túbulos dentinários, como relatado por Yazici et al., 2001

Existem controvérsias em relação à qualidade do selamento marginal de cavidades realizadas com laser de Er:YAG, enquanto neste estudo, quando a cavidade era restaurada com ionômero de vidro resinoso, essa qualidade foi superior àquela obtida com instrumento cortante rotatório, outros autores observaram exatamente o oposto, ou seja, a irradiação do laser de Er:YAG não produziu uma interface resistente à infiltração marginal levando aos maiores índices de micro-infiltração (CEBALOS et al., 2002; CHINELLATI et al., 2004). No entanto, ainda existem autores que demonstraram que o laser de Er:YAG pode ser usado para o preparo cavitário sem influenciar negativamente a integridade marginal das restaurações de cimento de ionômero de vidro modificado por resina (QUO et al., 2002).

Os resultados desta pesquisa mostraram que mesmo não havendo um completo selamento marginal em nenhum dos grupos avaliados, os grupos que utilizaram o cimento de ionômero de vidro modificado (Vitremer) por resina obtiveram os melhores resultados frente o desafio da micro-infiltração do que aqueles que utilizaram o cimento de ionômero de vidro convencional (Ketac).

Apesar de autores terem relatado que o cimento de ionômero de vidro convencional libera uma quantidade de flúor igual ou menor que cimentos de ionômero de vidro modificado por resina (MITRA, 1991) por um período de tempo

prolongado (VERMEERSCH; LELOUP; VREVEN, 2001), neste estudo a liberação de flúor não deve ser computada uma vez que não houve diferença entre os escores de micro-infiltração nos grupos restaurados com ambos os cimentos após remoção da cárie com instrumentos cortantes rotatórios.

Os resultados dessa pesquisa demonstraram que a irradiação com o laser de Er:YAG é capaz de remover a cárie radicular de forma efetiva e seletiva e que a posterior restauração desta cavidade com cimento de ionômero de vidro modificado leva à melhor adesão ao substrato dentinário diminuindo a micro-infiltração marginal. Foram empregados apenas dois parâmetros do laser de Er:YAG e portanto, futuros estudos *in vitro* e *in vivo* devem ser realizados para se esgotar todas as possibilidades de combinações entre técnicas de preparo e matérias restauradores para a obtenção de selamento marginal eficaz nas restaurações de cáries radiculares, que seja capaz de diminuir ou até mesmo de acabar com a infiltração marginal que leva a falhas na restauração e o surgimento de cáries secundárias.

7 CONCLUSÃO

A partir dos resultados *in vitro* obtidos nesta pesquisa concluiu-se que:

1. Os diferentes métodos de remoção de cárie radicular influenciaram no grau de infiltração marginal das restaurações dos cimentos de ionômero de vidro utilizados. Os grupos que utilizaram o laser de Er:YAG apresentaram menores graus de micro-infiltração dos que aqueles que utilizaram a broca para a remoção do tecido cariado.
2. O tipo de ionômero de vidro influenciou no grau de micro-infiltração. Os grupos que foram restaurados com cimento de ionômero de vidro modificado apresentaram os menores graus de micro-infiltração
3. Baseados nos achados nas condições experimentais utilizadas concluímos que a cárie radicular deve ser tratada pela associação da remoção de tecido cariado com o laser de Er:YAG no parâmetro de preparo com a restauração da cavidade com o cimento de ionômero de vidro modificado.

Referências¹

Aires CP, Tabchoury CPM, Del Bel Cury AA, Cury JA. Effect of lactose-containing sweetener on root dentine demineralization in situ. *Caries Research* 2002; 36: 167-169.

Akimade A. The adhesion of glass polyalkenoate cements to collagen [abstract 633]. *J Dent Res* 1994; 73: 181.

Amaecha BT, Higham SM, Edgar WM. Effect of sterilization methods on the structural integrity of artificial enamel caries for intra-oral cariogenicity tests. *J Dent* 1999; 27(4): 313-316.

Amaecha BT, Higham SM, Edgar WM. Efficacy of sterilization methods and their effect on enamel demineralization. *Caries Res* 1998; 32(6): 441-446.

Aoki A, Ishikawa I, Yamada T, Otsuki M, Watanabe H, Tagami J, Ando Y, et al. Comparison between Er:YAG laser and conventional technique for root caries treatment in vitro. *J Dent Res* 1998; 77 (6): 1404-1414.

Aranibar Quiroz EM, Lingström P, Birkhed. Influence of short-term sucrose exposure on plaque acidogenicity and cariogenic microflora in individuals with different levels of mutans streptococci. *Caries Research* 2003; 37: 51-57.

Armengol V, Jean A, Marion D. Temperature rise during Er:YAG and Nd:YAP laser ablation of dentin. *Journal of Endodontics* 2000; 26 (3): 138-141.

Armengol V, Jean A, Rohanizadeh R, Hamel H. Scanning electron microscopic analysis of diseased and healthy dental hard tissue after Er:YAG laser irradiation: in vitro study. *Journal of Endodontics* 1999; 25 (8): 543-546.

Balakrishnan M, Simmonds RS, Tagg JR. Dental caries is a preventable infectious disease. *Australian Dental Journal* 2000; 45 (4): 235-245.

Banerjee A, Kidd EA, Watson TF. In vitro evaluation of five alternative methods of carious dentine excavation. *Caries Res* 2000; 34 (2): 144-150.

Banerjee A, Kidd EA, Watson TF. Scanning electron microscopic observations of human dentine after mechanical caries excavation. *J Dent* 2000; 28 (3): 179-186.

Banting DW, Ellen RP, Fillery ED. Prevalence of root surface caries among institutionalized older persons. *Community Dent Oral Epidemiol* 1980; 8: 84-88

Banting DW. Diagnosis and prediction of root caries. *Adv Dent Res* 1993; 7 (2): 80-86.

Banting DW. The diagnosis of root caries. *Journal of Dental Education* 2001; 65 (10) 991-996.

- Bauer JG, Cretin S, Schweitzer SO, Hunt RJ. The reliability of diagnosing root caries using oral examinations. *Journal of Dental Education* 1988; 52 (11) 622-629.
- Beck JD. The epidemiology of root surface caries: North American studies. *Adv Dent Res* 1993; 7 (1): 42-51.
- Benjamin SD. Dental laser: part 3. Use of dental lasers on hard tissue. *Pract Proced Aesthet Dent* 2002; 14 (5): 422-424.
- Billings RJ, Brown LR, Kaster AG. Contemporary treatment strategies for root surface dental caries. *Gerodontology* 1985; 1: 20-27.
- Bourke AM, Walls AW, McCabe JF. Light-activated glass Polyalkenoate (ionomêro) cements: the setting reaction. *J Dent* 1992; 20: 115-120.
- Bowden GHW, Ekstrand J, McNaughton B, Challacombe SJ. The association of selected bacteria with the lesions of root surface caries. *Oral Microbiol Immunol* 1990; 5: 346-351.
- Bowden GHW. Microbiology of Root Surface Caries in Humans. *J Dent Res* 1990; 69 (5): 1205-1210.
- Brailsford SR, Shah B, Simons D, Gilbert S, Clark D, Ines I, et al. The predominant aciduric microflora of root-caries lesions. *J Dent Res* 2001; 80 (9): 1828-1833.
- Brown LR, Billings RJ, Kaster AG. Quantitative comparisons of potentially cariogenic microorganisms cultured from noncarious and carious root and coronal tooth surfaces. *Infect Immun* 1986; 51(3):765-770.
- Burgess JO. Dental materials for the restoration of root surface caries. *American Journal of dentistry* 1995; 8 (6): 341-350.
- Burnett LH, Conceição EN, Pelino JE, Eduardo CP. Comparative study of influence on tensile bond strength of a composite to dentin using Er:YAG laser, air abrasion, or air turbine for preparation of cavities. *Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery* 2001; 19 (4): 199-202.
- Burt BA, Ismail AI, Eklund SA. Root caries in an optimally fluoridated and a high-fluoride community. *J Dent Res* 1986; 65 (9): 1154-1158.
- Burt BA, Ismail AI. Diet, nutrition, and food cariogenicity. *J Dent Res* 1986; 65 (Spec Iss) 1475-1484.
- Carvalho RM, Navarro MF, Albuquerque MVP, Pinheiro CE. Padrão de liberação de flúor de cimentos odontológicos. *RGO* 1990; 38(5): 346-348.
- Ceballo L, Toledano M, Osorio R, Tay Fr, Marshall GW. Bonding to Er:YAG-Laser-treated dentin. *J Dent Res* 2002; 81(2): 119-122.

- Chinelatti MA, Ramos RP, Chimello DT, Borsatto MC, Pécora JD, Palma-Dibb RG. Influence of the use of Er: YAG laser for cavity preparation and surface treatment in Microleakage of resin-modified glass ionomêro restorations. *Operative Dentistry* 2004; 29(4): 430-436.
- Clarkson JE. Epidemiology of root caries. *AM J Dent* 1995; 8; 329-334.
- Corona S, Borsatto MC, Palma-Dibb Rg, Ramos RP, Jr Brugnera A, Pécora JD. Microleakage of class V resin composite restorations after bur, Air-abrasion or Er:YAG laser preparation. *Operative Dentistry* 2001; 26(5):491-497.
- Cozean C, Arcoria CJ, Pegalli J, Powel MGL. Dentistry for the 21th century? Erbuim:YAG laser forteeth. *J Am Dent Assoc* 1997; 128(8): 1080-1087.
- Creanor SL, Awawdeh LA, Saunders WP, Foye RH, Gilmour WH. The effect of a fluoride-releasing restorative material on the progression of dentine caries: An in vitro study. *Care Res* 1998; 32(4): 272.
- Creanor SL, Carruthers LM, Saunders WP, Strang R, Foye RH. Fluoride uptake and release characteristic of flass ionomer cements. *Caries Res* 1994; 28(5): 322-328.
- Curti M, Rocca JP, Bertrand MF, Nammour S. Morpho-structural aspect of Er: YAG-prepared class V cavities. *Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery* 2004; 22(2): 119-123.
- Dayan D, Binderman I, Mechanic GL. A preliminary study of activation of collagenage in carious human dentine matrix. *Archs oral Biol* 1983; 28(2): 185-187.
- DeSchepper EJ, Berry Ebb A, Cailleateau JG, Tate Wh. A comparative study of fluoride release from glass-ionomer cements. *Quintessence internacional* 1991; 22(3); 215-219.
- Dionysopoulos P, Kotsanos N, Papadogianis Y. Secondary caries formation in vitro around glass ionomerlined amalgam and composite restorations. *J Oral Rehalitation* 1996; 23(8): 511-519.
- Dostálová T, Jelínková H, Kucerová H, Krejsa O, hamal K, Kubelka J, et al. Noncontact Er: YAG laser ablation: clinical evaluation. *Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery*. 1998; 16(5); 273-282.
- Dummer Pm, Edmunds DH, Green RM. Demineralisation of human enamel by streptococcus mutans NCTC 10832 Using a sequential batch culture technique. *Caries Res* 1982; 16(2) 193-196.
- Dung SZ, Gregory RL, Li Y, Stookey GK. Effectt of lactic acid and proteolytic enzymes on the release of organic matrix components from human root dentin. *Caries Res* 1995; 29: 483-489.
- Dung SZ, Li Y, Dunipace AJ, Sootkey GK. Degradation of insoluble bovine collagen and human dentine collagen pretreated in vitro with lactic acid, pH 4.0 and 5.5. *Archs oral Biol* 1994; 39(10): 901-905.

Dung TSZ, Liu AHH. Molecular pathogenesis of root dentin caries. *Oral Diseases* 1999; 5(2): 92-99.

Eliasson S, Krasse Bo, Soremark R. Root caries. *Swed Dent J* 1992; 16: 21-25.

Ettinger RL. Epidemiology of dental caries. *Dental Clinics of North America* 1999; 43(4): 679-694.

Featherstone JD. The science and practice of caries prevention. *J Am Dent Assoc* 2000; 131 (7): 887-899.

Featherstone JDB. Modeling the caries-inhibitory effects of dental materials. *Dent Mater* 1996; 12: 194-197.

Fejerskov O, Luan WM, Nyvad B, Budtz-Jorgensen E, Holm-Pedersen P. Active and inactive root surface caries lesion in a selected group of 60-to-80 year-old danes. *Caries Res* 1991; 25:385-391.

Forss H, Seppa L. Prevention of enamel demineralization adjacent to glass ionomer filling materials. *Scand J Dental Res* 1990; 98(2): 173-178.

Forss H. Release of fluoride and other elements from light-cured glass ionomers in neutral and acidic conditions. *J Dent Res* 1993; 72(8): 1261-1262.

Forsten L, Fluoride release of glass ionomers. *Journal of Esthetic Dentistry* 1994; 6(5): 216-222.

Forsten L, Short-and Long-term fluoride release from glass ionomers and other fluoride-containing filling materials in vitro. *Scan J Dent Res* 1990; 98(2): 180-182.

Forsten L. Fluoride release and uptake by glass-ionomers and related materials and its clinical effect. *Biomaterials* 1998; 19(6): 503-508.

Frank RM, Steuer P, Hemmerle J. Ultrastructural study on human root caries. *Caries Res* 1989; 23(4): 209-217.

Frank RM. Structural events in the caries process in enamel, cemental, and dentin. *J Dent Res* 1990; 69: 559-566.

Fruits TJ, Coury TL, Miranda FJ, Junior DMG. Uses and properties of current glass ionomer cements: A review. *General Dentistry* 1996; 44(5): 410-418.

Fure SZ. Prevalence of root surface caries in 55, 65, and 75- year-old Swedish individuals. *Community Dent Oral Epidemiol* 1990; 18(2):100-105.

Gama-Teixeira A. Avaliação comparativa, in vitro, da formação de lesões cáries adjacentes a diferentes materiais restauradores. [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2002.

Geiger SB, Weiner S. Fluoridated carbonatoapatite in the intermediate layer between glass ionomer. *Dent Mater.* 1993; 9 (1): 33-36.

Gilmour ASM, Edmunds DH, Newcombe RG, Clark MF. An in vitro study into effect of a bacterial artificial caries system on the enamel adjacent to restorations. *Caries Res* 1993; 27: 169-171.

Gilmour ASM, Edmunds DH, Newcombe RG. Prevalence and depth of artificial caries-like lesions adjacent to cavities prepared in roots and restored with a glass ionomer or a dentin-bonded composite material. *J Dent Res* 1997; 76(12): 1854-1861.

Gilmour ASM, Edmunds DH. The polarized light microscopic appearance of caries-like lesion adjacent to restored cavities in the crowns and roots of extracted human teeth. *Journal of Oral Rehabilitation* 1998; 25(12): 929-939.

Gilmour ASM, Edmunds DH. The production of secondary caries-like lesions on cavity walls and the assessment of microleakage using an in vitro microbial caries system. *Journal of Oral Rehabilitation* 1990; 17: 573-578.

Gross D, Raab WHM, Keller U, Hibst R. Surface morphology of dental hard tissues after Er: YAG laser treatment. In: *International Congress on laser in Dentistry 1992, Salt Lake City. Proceeding...* Salt Lake City: International society of Laser in Dentistry, 1992; 133-134.

Hellyer P, Lynch E. The diagnosis of root caries- A review. *Gerodontology* 1990; 9(4): 95-102.

Hinoura K, Suzuchi H, Yoshimura J, Onose H. Factors of glass-ionomer cements influencing the bond strength to resin composites. *Dent Mater* 1990; 6:94-98.

Hix JO, O'Leary TJ. The relationship between cemental caries, oral hygiene status and fermentable carbohydrate intake. *J Periodontol* 1976; 398-403.

Hoke J, Burkes E, Gomes E, Wolbarsht ML. Erbium: YAG (2,94um) laser effects on dental tissues. *J Laser Appl* 1990; 61-65.

Hossain M, Nakamura Y, Murakami Y, Yamada Y, Matsumoto K. A comparative study on compositional changes and knoop hardness measurement of the cavity floor prepared by: Er: YAG laser irradiation and mechanical bur cavity. *Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery* 2003; 21: 29-33.

Hossain M, Nakamura Y, Yamada Y, Kimura Y, Matsumoto N, Matsumoto K. Effects of Er: SIG Laser irradiation in human enamel and dentin: ablation and morphological studies. *Journal of Clinical Medicine & Surgery* 1999; 17: 155-159.

Hossain M, Nakamura Y, Yamada Y, Kimura Y, Nakamura G, Matsumoto K. Ablation depths and morphological changes in human enamel and dentin after Er:YAG laser irradiation with or without water mist. *J Clin Laser Med Surg.* 1999; 17 (3): 105-109.

- Hsu CYS, Donly KJ, Drake DR, Wefel JS. Effects of aged fluoride-containing restorative materials on recurrent root caries. *J Dent Res* 1998; 77(2): 418-425.
- Hunt RJ, Eldredge JB, Beck JD. Effects of residence in a fluoridated community on the incidence of coronal and root caries in an older adult population. *Journal of public Health Dentistry* 1989; 49(3): 138-141.
- Jayawardena JA, Kato j, Moriya K, Takagi Y. Pulpal response to exposure with Er: YAG laser. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology* 2001; 91(2): 222-223, 227-229.
- Jones JA. Root caries: Prevention and chemotherapy. *Journal of Dentistry* 1995; 8(6): 353-357.
- Kataumi M, Nakanjima M, Yamada T, Tagami J. Tensile bond strength and SEM evaluation of Er:Yag laser irradiated dentin using dentin adhesive. *Dental Materials journal* 1998; 17(2): 125-138.
- Katz RV, Hazen SP, Chilton NW, Junior RDM. Prevalence and intraoral distribution of caries in an adult population. *Caries Res* 1982; 16(3): 265-271.
- Katz RV, Park KK, Palenik Cj. In-vitro root surface caries studies. *Journal of Oral Medicine* 1987; 42(1): 40-48.
- Kaufmann M, Bartholmes. Purification, characterization and inhibition by fluoride of enolase from streptococcus mutans DSM 320523. *Caries Res* 1992; 26: 110-116.
- Keller U, Hibst R. Er: YAG laser effects on oral hard and soft tissues. *Lasers in Dentistry* 1995; 161-172.
- Keller U, Hibst R. Experimental studies of the application of the Er: YAG laser on dental hard substances: II. Light microscopic and SEM investigations. *Lasers in Surgery and Medicine* 1989; 9: 345-351.
- Keltjens HM, Schaeken MJ, van der Hoeven JS, Hendriks JC. Microflora of plaque from sound and carious root surfaces. *Caries Res.* 1987; 21 (3):193-199.
- Kidd EAM. Root caries. *Dental Update* 1989; 93-99.
- Kitamura M, Kiyak KM, Mullingan K. Predictors of root caries in the elderly. *Community Dent Oral Epidemiol* 1986; 14: 34-38.
- Koch G, Hatibovic-Kofman S. Glass ionomer cements as a fluoride release system in vivo. *Swed Dent J.* 1990;14 (6): 267-273.
- Li ZZ, Code JE, Van De Merwe WP. Er: Yag laser ablation of enamel dentin of human teeth: determination of ablation rates at various fluences and pulse repetition rates. *Lasers Surg Med* 1992; 12(6): 625-630.

Lizarelli RFZ, Silva PCG, Neto STP, Bagnato VS. Study of microleakage at class V prepared by Er: YAG laser using rewetting surface treatment. *Journal Of Clinical Laser Medicine & Surgery* 2004; 22(1): 51-55.

Luz MAAC, Ciaramicoli-Rodrigues MT, Garrone-Neto n, Lima ACP. Long-term clinical evaluation of fracture and pulp injury following glass-ionomer cement or composite resin applied as a base filling in teeth restored with amalgam. *Journal of Oral Rehabilitation* 2001; 28: 634-639.

Lynch E, Beighton D. A comparison of primary root caries lesions classified according to colour. *Caries Res* 1994; 28(49): 233-239.

Mandel ID. Calculus formation and prevention: an overview. *Compend Suppl.* 1987; (8): 235-241.

Martínez-Insua A, Domingues LS, Rivera FG, Santana-Penín UA. Differences in bonding to acid-etched or Er: YAG-laser-treated enamel and dentin surfaces. *The Journal of Prosthetic Dentistry* 2000; 84(3): 280-288.

Matsumoto K. Basic and clinical research on Er: YAG laser in dentistry. In: *Proceeding of the 6th International on laser in dentistry, ISLD, Maui, 1998:235-236.*

McComb D. Operative dentistry considerations for the elderly. *J Prosthet Dent* 1994; 72 (5): 517-524.

McIntyre JM, Featherstone JDB, Fu J. Studies of dental root surface caries. 1: Comparison of natural and artificial root caries lesions. *Australian Dental Journal* 2000;45(1): 24-30.

Meda EM. Avaliação da resistência adesiva á tração dos cimentos de ionômero de vidro em dentina irradiada com laser de Er:YAG [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2002.

Mijör IA, Toffenetti. Secondary caries: A literature review with case reports. *Quintessence International* 2000; 31(3): 165-179.

Minah GE, Solomon ES, Chu K. The association between dietary sucrose consumption and microbial population shifts at six oral sites in man. *Arch Oral Biol.* 1985;30(5):397-401.

Mitra SB. Adhesion to dentin and physical properties of a light-cured glass-ionomer liner/ base. *J Dent Res* 1991; 70(1): 72-78.

Moritz A, Schoop U, Goharkhay K, Szakacs S, Sperr, W, Scweidler E. Et al. Procedures for enamel and dentin conditioning: A comparison of conventional and innovative methods. *Journal of Esthetic Dentistry* 1998; 10(2): 84-93.

Mount GJ. Glass ionomers: A review of their current status. *Operative Dentistry* 1999; 24: 115-124.

Mount GJ. Root surface caries: a recurrent dilemma. *Australian Dental Journal* 1986; 31(4): 288-290.

Närhi TO. Prevalence of subjective feelings of dry mouth in the elderly. *J Dent Res* 1994; 73: 20-25.

Nicholson JW. Chemistry of glass-ionomer cements: a review. *Biomaterials* 1998; 19: 485-494.

Niu W, Eto JN, Kimura Y, Takeda FH, Matsumoto K. A study on microleakage after resin filling of Class V cavities prepared by Er:YAG laser. *J Clin Laser Med Surg*. 1998; 16 (4): 227-231.

Nyvad B, Fejerskov O. Root surface caries: clinical, histopathological and microbiological features and clinical implications. *Int. Dent Journal* 1982; 32(4): 312-326.

Oilo G. Characterization of glass ionomer filling materials. *Dent Materials* 1988; 4:129-130, 132-133.

Pachuta SM, Meiers JC. Dentin surface treatments and glass ionomer microleakage. *Am J Dent*. 1995; 8 (4): 187-190.

Pelagalli J, Gimbel CB, Hansen RT, Swett A, Winn DW. Investigational study of the use of Er: YAG laser versus dental drill for caries removal and cavity preparation. *Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery* 1997; 15(3): 109-115.

Pelino JEP. Análise morfológica e espectrofotométrica do esmalte e dentina irradiados com lasers de Nd:YAG e Er:YAG-Estudo in vitro [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2002.

Pereira LC, Nunes MC, Dibb RG, Powers JM, Roulet JF, Navarro MF. Mechanical properties and bond strength of glass-ionomer cements. *J Adhes Dent*. 2002; 4 (1): 73-80.

Prati C, Cherson S, Cretti L, Mongiorgi R. Marginal morphology of class V composites restorations. *American Journal of Dentistry* 1997; 10(5): 231-236.

Prosser HJ, Powis DR, Brant P, Wilson AD. Characterization of glass-ionomer cements. The physical properties of current materials. *Journal of Dentistry* 1984; 2(3): 231-238-239.

Quo BC, Drummond JL, Koerber A, Fadavi A, Punwani I. Glass ionomer microleakage from preparations by an Er/YAG laser or a high-speed handpiece. *Journal of Dentistry* 2002; 30(4): 141-146.

Ravald N, Birkhed D. Factors associated with active and inactive root caries in patients with periodontal disease. *Caries Res* 1991; 25 (5): 377-384.

Retief DH, Bradley EL, Denton JC, Switzer P. Enamed and cementum fluoride uptake a glass ionomer cement. *Caries Res* 1984; 18(3): 250-255-257.

Robles FRP. Avaliação da resistência á tração da dentina bovina irradiada com laser de Er:YAG combinada a diferentes tratamentos. Análise das superfícies pela microscopia eletrônica de varredura [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2003.

Roebuck EM, Saunders WP, Writers CJ. Influence of Erbium: YAG laser energies on the microleakage of class V resin-based composite restorations. *American Journal of Dentistry* 2000; 13(5): 280-284.

Scherer W, Lippman N, Kaim J. Antimicrobial properties of glass-ionomer cements and other restorative materials 1989; 14:77-81.

Schroeder L. High-resolution transmission electron microscopy of adult human peritubular dentin. *Cell Tissue Res* 1985; 242:449-451.

Shigetani Y, Tate Y, Okamoto A. A study of cavity preparation by Er:YAG laser effects on the marginal leakage of composite resin restoration. *Dental Materials Journal* 2002; 21(3): 238-249.

Shüpbach P, Guggenheim B, Lutz F. Histopathology of root surface caries. *J Dent Res* 1990;69(5):1195-1204.

Shüpbach P, Guggenheim B, Lutz F. Human root caries histopathology of initial lesions in cementum and dentin. *J Oral Pathol Med* 1989; 18:146-156.

Sidhu SK. Sealing effectiveness of light-cured glass ionomer cement liners. *J Prosthet Dent*. 1992; 68 (6): 891-894.

Simmons DD, Al-Hashimi I, Haghghat N. Effect of xerostomic medications on stimulated salivary flow rate in patients with Sjögren's syndrome. *Quintessence International* 2000; 31(3): 196-197.

Simmonds RS, Tompkins GR, George RJ. Dental caries and the microbial ecology of dental plaque: a review of recent advances. *N Z Dent J*.2000; 96 (424): 44-49.

Smith D. Developed of glass-ionomer cements system. *Biomaterials* 1998;19(6): 467-478.

Soet JJ, Toors FA, de Graaff J. Acidogenesis by oral streptococci at different pH values. *Caries Res*. 1989; 23 (1): 14-17.

Swartz ML, Phillips RW, Clark HE. Long-term F release from glass ionomer cements. *J Dent Res* 1984; 63(2): 158-160.

Tam LE, Chan GPL, Yim D. In vitro caries inhibition effects by conventional and resin-modified glass-ionomer restorations. *Operative Dentistry* 1997; 22(1): 4-14.

Tanji EY, Matsumoto K, Eduardo CP. Estudo do condicionamento da superfície dentinária com o Er: YAG laser. In Reunião da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica 1996. Águas de São Paulo. Anais... São Paulo: SBPqO, 1996;12:142.

Thornton JB, Retief DH, Bradley EI. Fluoride release from and tensile bond strength of ketac-bond and ketac-bond to enamel and dentin. Dent Mater 1986; 2:241-245.

Torii Y, Itota T, Okamoto M, Nakabo S, Nagamine M, Inoue K. Inhibition of artificial secondary caries in root by fluoride-releasing restorative materials. Operative Dentistry 2001; 26(1): 36-43.

Tyas MJ. Cariostatic effect of glass ionomer cements: a five-year clinical study. Australian Dent Journal 1991; 36(3): 236-239.

Walls AWG. Glass polyalkenoate (glass-ionomer) cements: a review. J Dent 1986; 14: 231-246.

Wan ACA, Yap AUJ, Hasting GW. Acid-base complex reaction in resin-modified and conventional glass ionomer cements. J Biomedical Material Research 1999; 98(5): 700-704.

Wefel JS. Root caries histopathology and chemistry. Am J Dent. 1994;7 (5): 261-265.

Westerman GH, Hicks MJ, Flatz CM, Blankenau RJ, Powell GL. Combined effects of acidulated phosphate fluoride and argon laser on sound root surface morphology: An in vitro scanning electron microscopy study. Journal of Clinical Medicine & Surgery 1999; 17(2): 63-68.

Widdop FT. Caring for the dentate elderly. International Dental Journal 1989; 39: 85-94.

Wilson AD, Kent BE. A new translucent cement for dentistry. British Dental Journal 1972; 132(4): 133-135.

Wilson AD. Development in glass-ionomer cements. Int J Prosthodont 1989; 2:438-446.

Wilson AD. Resin-modified glass-ionomer cements. Int J prosthodont 1990; 3(5): 425-429.

Wright WG, Thelwell C, Svensson B, Russell RR. Inhibition of catalytic and glucan-binding activities of a streptococcal GTF forming insoluble glucans. Caries Res. 2002; 36 (5): 353-359.

Yamada Y, Hossain M, Suzuki N, Kinoshita J-I, Nakamura Y, Matsumoto K. Removal of carious dentin by Er: YAG laser irradiation with and without carisolvtm. Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery 2001; 19(1): 127-1331.

Yazici AR, Frentzen M, Dayangac B. In vitro analysis of the effects of acid or laser etching on microleakage around composite resin restoration. *J Dent.* 2001; 29 (5): 355-361.

Zambom JJ, Kasprzak SA. The microbiology and histopathology of human root caries. *American Journal of Dentistry* 1995; 8(6): 323-357.

Apêndice

APÊNDICE A – Tabelas originais das mensurações da profundidade das micro-infiltrações e de seus respectivos escores dos Grupo 1.

Nome do Projeto: Tese Andrea Mello Doutorado FOUSP		
Grupo: Grupo 1 Broca + Ketac		
Espécime	Medida 1 (mm)	Escore
1 A	1,0	3
1 B	0,8	3
2 A	--	0
2 B	--	0
3 A	1,3	3
3 B	1,7	3
4 A	1,7	3
4 B	1,8	3
5 A	1,6	3
5 B	1,4	3
6 A	1,5	3
6 B	1,6	3

A e B são as designações das hemi faces do dente analisadas.

APÊNDICE B – Tabelas originais das mensurações da profundidade das micro-infiltrações e de seus respectivos escores dos Grupo 2.

Nome do Projeto: Tese Andrea Mello Doutorado FOUSP		
Grupo: Grupo 2 Broca + Vitremer		
Espécime	Medida 1 (mm)	Escore
1 A	1,3	3
1 B	1,4	3
2 A	1,4	3
2 B	1,3	3
3 A	1,8	3
3 B	1,5	3
4 A	1,2	3
4 B	1,3	3
5 A	2	3
5 B	1,8	3
6 A	1,3	3
6 B	1,1	3

A e B são as designações das hemi faces do dente analisadas.

APÊNDICE C – Tabelas originais das mensurações da profundidade das micro-infiltrações e de seus respectivos escores dos Grupo 3.

Nome do Projeto: Tese Andrea Mello Doutorado FOUSP		
Grupo: Grupo 3 Laser + Ketac		
Espécime	Medida 1 (mm)	Escore
1 A	1,4	3
1 B	1,8	3
2 A	1,4	3
2 B	0,8	3
3 A	1,2	3
3 B	1,4	3
4 A	0,8	3
4 B	0,7	3
5 A	1,5	3
5 B	1,0	3
6 A	0,9	3
6 B	0,8	3

A e B são as designações das hemi faces do dente analisadas.

APÊNDICE D – Tabelas originais das mensurações da profundidade das micro-infiltrações e de seus respectivos escores dos Grupo 4.

Nome do Projeto: Tese Andrea Mello Doutorado FOUSP		
Grupo: Grupo 4 Laser + Vitremer		
Espécime	Medida 1 (mm)	Escore
1 A	1,5	2
1 B	0,5	1
2 A	0,7	1
2 B	0,7	1
3 A	--	0
3 B	0,02	1
4 A	--	0
4 B	--	0
5 A	--	0
5 B	--	0
6 A	0,6	1
6 B	0,5	1

A e B são as designações das hemi faces do dente analisadas.

APÊNDICE E – Tabelas originais das mensurações da profundidade das micro-infiltrações e de seus respectivos escores dos Grupo 5.

Nome do Projeto: Tese Andrea Mello Doutorado FOUSP		
Grupo: Grupo 5 Laser + Condicionamento + Ketac		
Espécime	Medida 1 (mm)	Escore
1 A	1,6	3
1 B	1,4	3
2 A	0,9	1
2 B	0,7	1
3 A	1,2	3
3 B	1,2	3
4 A	1,3	3
4 B	1,2	3
5 A	1,9	3
5 B	0,9	3
6 A	0,9	3
6 B	0,9	3

A e B são as designações das hemi faces do dente analisadas.

APÊNDICE F – Tabelas originais das mensurações da profundidade das micro-infiltrações e de seus respectivos escores dos Grupo 6.

Nome do Projeto: Tese Andrea Mello Doutorado FOUSP		
Grupo: Grupo 6 Laser + Condicionamento + Vitremer		
Espécime	Medida 1 (mm)	Ecore
1 A	--	0
1 B	--	0
2 A	1,5	3
2 B	1,6	3
3 A	--	0
3 B	--	0
4 A	2,0	3
4 B	1,2	3
5 A	--	0
5 B	--	0
6 A	1,2	3
6 B	1,4	3

A e B são as designações das hemi faces do dente analisadas.