

VINÍCIUS RANGEL GERALDO-MARTINS

**ANÁLISE DO SELAMENTO MARGINAL DE RESTAURAÇÕES
REALIZADAS APÓS REMOÇÃO DE CÁRIE RADICULAR
COM O LASER DE Er,Cr:YSGG**

São Paulo

2007

Vinícius Rangel Geraldo-Martins

**Análise do selamento marginal de restaurações
realizadas após remoção de cárie radicular
com o laser de Er,Cr:YSGG**

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

Orientadora: Profa. Dra. Márcia Martins Marques

São Paulo

2007

FOLHA DE APROVAÇÃO

Geraldo-Martins VR. Análise do selamento marginal de restaurações realizadas após remoção de cárie radicular com o laser de Er,Cr:YSGG. [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2007.

São Paulo, / /

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

Aos meus pais, **José Francisco e Carminha**. Obrigado, mais uma vez, pelo carinho, incentivo, atenção e, principalmente, pela minha formação pessoal e profissional.

À minha esposa **Ruchele**. Companheira, incentivadora, conselheira e amiga. Obrigado pela paciência, convívio e ajuda neste sacerdócio da pós-graduação.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

À minha orientadora, **Profa. Dra. Márcia Martins Marques**.

Exemplo de conduta ética, científica e profissional. Desprovido de palavras que possam fielmente retratar minha gratidão, desejo retribuir a competência, a sensibilidade e a disponibilidade com que sempre me orientou, contribuindo para o aprimoramento intelectual, profissional e pessoal que acredito ter adquirido através do convívio e do vínculo estabelecido. Muito Obrigado.

AGRADECIMENTOS

À **FAPESP**, pela concessão da bolsa de estudo (Processo 04/00771-8) concedida para o desenvolvimento desta pesquisa e demais trabalhos durante o curso de Doutorado.

À **CAPES**, pela concessão da bolsa de estudo para a realização do estágio no exterior (Processo BEX 1894/05-6) a oportunidade de enriquecer o meu conhecimento através do contato com diferentes filosofias e métodos de estudo.

Ao **CNPq**, pela concessão de auxílio à pesquisa concedido para o desenvolvimento de pesquisas e compra de equipamentos durante o curso de Doutorado (projeto 481991/2004-2)

À **Pró-Reitoria de Pós Graduação da Universidade de São Paulo**, pela concessão de auxílio para a participação de eventos no exterior.

Ao **Programa de Apoio à Pós-Graduação**, pela concessão de auxílio para a participação de eventos científicos no Brasil e no exterior.

À **Universidade de São Paulo**, representada pela Magnífica Reitora **Profa. Dra. Suely Vilela**.

À **Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo**, representada por seu Diretor, Prof. Dr. Carlos de Paula Eduardo.

Ao **Prof. Dr. Reinaldo Brito e Dias**, Coordenador Geral da Pós-Graduação da FOU SP.

À **Profa. Dra. Márcia Martins Marques**, Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Dentística.

Ao **Prof. Dr. Antônio Carlos Bombana**, Chefe do Departamento de Dentística da FO-USP.

Aos professores do departamento de Dentística da FOUSP, pelos ensinamentos adquiridos neste período de minha formação.

Aos funcionários do Departamento de Dentística **David, Ana, Neusa, Arnaldo, Sônia e Aldo** pela compreensão, ajuda e atenção sempre demonstradas.

À **Kátia, Alessandra e Nair**, da Secretaria de Pós-Graduação, pela paciência, ajuda e palavras de conforto diante de todas as dificuldades e conquistas desse período.

Ao **Prof. Dr. Carlos de Paula Eduardo**, por me receber desde os primeiros dias na FOUSP e pelas inúmeras contribuições realizadas, não só nesta pesquisa, mas em minha formação acadêmica e profissional.

Aos amigos **Lili, Joelma e Haroldo**, funcionários do LELO, por toda a ajuda, convívio e amizade durante o período de minha pós-graduação.

Ao **Prof. Dr. Nikolaos S. Soukos**, pelos ensinamentos e pela hospitalidade e gentileza com que me recebeu durante meu estágio no The Forsyth Institute/Harvard School of Dental Medicine.

Ao **Prof. Dr. Sigmund Socransky**, por permitir o desenvolvimento de pesquisas em seu laboratório, no The Forsyth Institute/Harvard School of Dental Medicine

Às queridas **Carla Fontana, Karriann Ruggiero e Stephanie Doucette**, pela colaboração nas pesquisas desenvolvidas no The Forsyth Institute/Harvard School of Dental Medicine.

Ao **Prof. Dr. Norbert Gutknecht**, pelas considerações e discussões sobre este trabalho.

À **Prof. Dra. Márcia Pinto Alves Mayer**, do Instituto de Ciências Biomédicas, pelas considerações sobre o projeto de pesquisa desta tese de Doutorado e por permitir que eu utilizasse seu laboratório de pesquisas.

Ao engenheiro **Isaac Sayeg** e aos funcionários do Laboratório de Petrografia Sedimentar da Faculdade de Geologia da Universidade de São Paulo, pelo auxílio na obtenção das micrografias utilizadas nesta pesquisa.

À amiga **Thais Thomé** que, com paciência, me ensinou as técnicas laboratoriais de indução de cárie.

Aos amigos **Fábio Robles, José Ricardo Archilla, Ciça, Patrícia e Washington**, pela amizade, companheirismo e momentos vividos na pós-graduação.

Aos queridos colegas de Pós-Graduação **Alessandra, Alex, Arlene, Ana del Carmen, Beto, Bia, Kátia, Márcio, Ninoshka, Patrícia Lloret e Sheila**.

Aos meus irmãos, **Anamélia e Bruno**, pelo carinho e incentivo durante toda minha vida.

Aos queridos tios **Roberto e Seide**, pelo constante e sincero incentivo tanto na minha vida pessoal quanto profissional.

Aos queridos sogros **Vitor e Rose**, pela compreensão, palavras de apoio e torcida.

Aos funcionários da Biblioteca da Faculdade de Odontologia da USP, em especial à **Vânia** e à **Cidinha**, pela revisão desta tese.

A todas as pessoas que, de alguma maneira, me ajudaram no desenvolvimento deste trabalho....

.....e a **Deus**. Sem ele, nada é possível.

Geraldo-Martins VR. Análise do Selamento Marginal de Restaurações Realizadas Após Remoção de Cárie Radicular com o Laser de Er,Cr:YSGG [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2007.

RESUMO

Com o objetivo de testar a qualidade das restaurações realizadas após a remoção de cárie de raiz com laser de alta potência, realizamos esse trabalho. Lesões de cárie radicular foram induzidas em fragmentos dentais humanos (n=154) através de contaminação com o *S. mutans*. Obtidas as lesões, essas foram removidas com instrumento cortante rotatório (ICR) em baixa rotação (grupo controle) ou com o laser de Er,Cr:YSGG, ($\lambda=2,78 \mu\text{m}$, taxa de repetição= 20 Hz, duração de pulso na ordem de 140 a 150 μs , energia por pulso de 0 a 300 mJ) em 13 potências diferentes entre 1 e 4 W, em intervalos de 0,25 W entre cada grupo (n=11 por grupo). Para a remoção de cárie, foi utilizada a peça de mão 2415 e a fibra de safira modelo "G" ($\varnothing= 600 \mu\text{m}$) posicionada a 1 mm das amostras (modo não contato). Após a remoção das lesões de cárie e mensuração do tempo necessário para este passo operatório, uma amostra de cada grupo foi preparada para microscopia eletrônica de varredura (MEV). Em seguida, as demais foram condicionadas com Clearfil SE Bond, restauradas com resina composta de baixa viscosidade e submetidas à termociclagem (1.000 ciclos de 5°C e 55°C) e então imersas em solução de azul de metileno a 2 % para teste de microinfiltração. Depois desta etapa, as amostras foram seccionadas e analisadas em microscopia luz para a

obtenção do índice de microinfiltração, assim como de outras características, como a área da interface dente/restauração, a profundidade das cavidades, e a presença de cárie residual sob as restaurações. Os dados foram comparados estatisticamente ($p \leq 0,05$). Os resultados indicaram que o ICR removeu as lesões de cárie mais rapidamente que o laser ($p < 0,05$). As eletromicrografias de varredura mostraram que o grupo controle apresentou as margens cavitárias sem irregularidades e a superfície dentinária coberta pela camada de esfregaço, obliterando os túbulos dentinários. Todas as cavidades preparadas com o laser apresentaram margens irregulares. Quando parâmetros inferiores a 2,0 W foram utilizados, observou-se a presença de material amorfo sobre a superfície dentinária, com pouca exposição dos túbulos dentinários. Já nos parâmetros acima de 2,0 W, as cavidades apresentaram superfícies com aspecto de escamas, ausência da camada de esfregaço, túbulos dentinários abertos e crateras, distribuídas de forma irregular. Quando analisadas em microscopia de luz, as amostras irradiadas com potências superiores a 3,0 W apresentaram cavidades mais profundas em relação às demais. Graças às irregularidades promovidas pelo laser, as amostras irradiadas com potências maiores que 1,5 W apresentaram maior área de interface dente/restauração do que aquelas do grupo controle ou irradiadas com os parâmetros mais baixos. O índice de infiltração foi semelhante entre todos os grupos irradiados, e significativamente maiores que o do grupo controle. Houve correlação fortemente positiva entre a quantidade de cárie residual presente nas

amostras e os índices de microinfiltração. Nas condições deste estudo pôde-se concluir que a remoção de cárie radicular com laser de Er,Cr:YSGG seguida de restauração com resina composta mostrou pobre selamento marginal em função da presença de cárie residual nas paredes das cavidades.

Descritores: Cárie Radicular, Microinfiltração, Laser, Er,Cr:YSGG

Geraldo-Martins VR. Microleakage of Composite Resin Restoration After Root Caries Removal by Er,Cr:YSGG Laser [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2007.

ABSTRACT

The present study aimed to compare the sealing ability of root caries restoration after caries removal with bur or Er,Cr:YSGG laser. Seventy two extracted human carious-free molars and premolars were used. After the *in vitro* root caries induction using *S. mutans*, the carious lesions were removed either by the conventional technique using burs (control), or by the Er,Cr:YSGG laser ($\lambda=2,78 \mu\text{m}$, repetition rate= 20 Hz, pulse duration around 150 μs , energy per pulse of 0 to 300 mJ, non-contact mode), using 13 different parameters, between 1 and 4,0 W. For the irradiation procedures, a 600 μm tip was used. During caries removal, preparation time was recorded for all groups. After that, one sample of each group was observed in scanning electron microscopy (MEV), and the others were conditioned with Clearfil SE Bond and restored with a flowable composite. Then, the samples were thermocycled (1000 Cycles) and immersed into a 2 % methylene blue solution for microleakage analysis. These samples were sectioned and analyzed under light microscopy for microleakage index calculation. Other characteristics, such as the dentin/composite interface area, the cavity depth and the presence of residual caries under the restorations, were also evaluated. The data were statistically analyzed by either ANOVA complemented by the Tukey's test or Kruskal-Wallis

complemented by the Dunn's test ($p = 0.05$). The caries lesions were significantly faster removed by the conventional method ($p < 0.05$). Amongst the lased groups, the caries removal time was inversely proportional to the parameters used. SEM revealed that the surfaces treated by air turbine were smooth, but with debris. When parameters under 2.0 W were used, an amorphous material covering the dentin surface was observed. Using parameters above of 2.0 W, SEM revealed surfaces with smooth undulations, with absence of smear layer, and some irregular-distributed craters. No signs of carbonization were observed. The light microscopy analysis showed that the samples irradiated with power outputs over 3.0 W were deeper than those irradiated with lower parameters and those prepared with bur. The samples irradiated with power outputs higher than 1.5 W presented dentin/composite interface area larger than those of the control group. Finally, the infiltration index was similar in all lased groups, and significantly higher than those of control group ($p < 0.05$). The microleakage index and the presence of residual caries, only detected by light microscopy, at the lateral walls of the cavities obtained by Er, Cr:YSGG laser was significantly higher compared to control cavities. In the conditions of this study, we can conclude that the carious removal by Er, Cr:YSGG laser, independently of the parameters used, creates dentin surfaces characteristics that promotes a poor marginal sealing.

Keywords: Root Caries, Laser, Er,Cr:YSGG, Microleakage

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 4.1 - Esquema de obtenção dos espécimes a partir de uma metade de raiz (JAC–Junção Amelo Cementária) 68
- Figura 4.2 - Etapas do desafio cariogênico. 71
- Figura 4.3 - Método utilizado para medição da profundidade média das cavidades..... 79
- Figura 4.4 - Método utilizado para medição da interface dente/restauração, interface infiltrada e cárie residual 79
- Figura 5.1 - Eletromicrografias de varredura representativas das cavidades preparadas com ICR (A e B) e com laser de Er,Cr:YSGG (C a J). Margens cavitárias bem definidas (A) e parede pulpar coberta pela camada de esfregaço (B) são observadas nas cavidades preparadas com ICR. As cavidades preparadas com laser, com parâmetros de 1,0 W (C e D) apresentaram margens irregulares (C), superfície dentinária regular e coberta por material amorfo (D). Já com 2,0 W, são observadas margens irregulares (E) e parede pulpar com ausência da camada de esfregaço, túbulos dentinários abertos e dentina peritubular protruída (F). As mesmas características são observadas nos parâmetros 3,0 (G e H) e 4,0 W (I e J). Observam-se também, nestes grupos, a presença de crateras na superfícies próximas à margem cavitária (G e I). Aumento original de 500x (A, C, E, G, I) e de 2000x (B, D, F, H e J). 84
- Figura 5.2 - Média \pm o erro padrão das médias dos tempos necessários para remoção das lesões de cárie radicular nos diferentes grupos experimentais. Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significantes 86
- Figura 5.3 - Profundidades médias nos diferentes grupos experimentais \pm o erro padrão das médias. Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significantes..... 88

- Figura 5.4 - Área média da interface dente/restauração \pm o erro das médias nos diferentes grupos experimentais. Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significantes..... 89
- Figura 5.5 - Fotomicrografias representativas das cavidades restauradas após o preparo cavitário com ICR (A) e com laser, com potências de 2,0 W (B), 3,0 W (C) e 4,0 W (D). As setas indicam lesões de cárie residual nas paredes cavitárias. O símbolo (*) identifica a câmara pulpar... 90
- Figura 5.6 - Áreas médias \pm o erro padrão das médias das interfaces infiltradas nos diferentes grupos experimentais. Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significantes..... 91
- Figura 5.7 - Médias \pm o erro padrão das médias dos índices de infiltração nos diferentes grupos experimentais. Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significantes..... 92
- Figura 5.8 - Áreas médias das lesões de cárie residual nos diferentes grupos experimentais. *Significantemente menor que os demais grupos .. 93

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Tabela 4.1 - Parâmetros para o <i>laser</i> de Er,Cr:YSGG para remoção de cárie radicular. *Valor indicado no <i>display</i> do equipamento	73
Quadro 5.1 - Resultados do teste de Kolgomorov-Smirnov (normalidade) realizado previamente ao teste de correlação	86
Quadro 5.2 - Teste de Correlação de Spearman.....	86
Quadro 5.3 - Teste de Normalidade de D'Agostino	94
Quadro 5.4 - Teste de Correlação de Spearman.....	94

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

λ	Comprimento de Onda
\leq	Menor ou Igual
\geq	Maior ou Igual
\pm	Mais ou menos
%	Porcentagem
°C	Grau(s) celsius
Ca	Cálcio
cm	Centímetro(s)
cm ²	Centímetro(s) ao quadrado
CO ₂	Dióxido de Carbono
Er,Cr:YSGG	Erbium, Chromium: Yttrium, Scandium, Gallium, Garnet
Er:YAG	Erbium: Yttrium, Aluminium, Garnet
g	Gramas(s)
HMDS	Hexametildisilazano
Hz	Hertz
J/cm ²	Joule(s) por centímetro quadrado
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
ml	Mililitro(s)
mm	Milímetro(s)
mm ²	Milímetro(s) quadrado(s)
Nd:YAG	Neodymium: Yttrium, Aluminium, Garnet
nm	Nanômetro(s)
OH-	Íon hidroxila
P	Fósforo
pH	Potencial de Hidrogênio
s	Segundo(s)
W	Watt(s)
μm	Micrômetro(s)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	20
2	REVISÃO DA LITERATURA	23
2.1	Cárie Radicular	23
2.2	Indução de Cárie Radicular	41
2.3	Microinfiltração Marginal	47
2.4	O Laser de Er,Cr:YSGG	54
3	PROPOSIÇÃO	66
4	MATERIAL E MÉTODOS	67
4.1	Grupo Amostral	67
4.2	Indução de Cárie Radicular	67
4.3	Grupos Experimentais	71
4.4	Tempo de Remoção de Cárie	74
4.5	Normas de Segurança	75
4.6	Tratamento Térmico das Restaurações	75
4.7	Microscopia Eletrônica de Varredura	76
4.8	Teste de Micro-infiltração	77
4.9	Análise Morfométrica das Restaurações	78
4.10	Análise Estatística	80
4.11	ASPECTOS ÉTICOS	80
5	RESULTADOS	82
5.1	Morfologia das Cavidades Resultantes da Remoção do Tecido Cariado	82
5.2	Tempo de Remoção de Cárie	85
5.3	Morfometria das Restaurações	87
5.4	Análise da Microinfiltração	89
5.5	Detecção de Tecido Cariado sob as Restaurações	92
6	DISCUSSÃO	95

7	CONCLUSÃO	114
	REFERÊNCIAS.....	115
	ANEXO	140

1 INTRODUÇÃO

O aumento da expectativa de vida, associado à crescente difusão de princípios odontológicos preventivos têm contribuído para a manutenção de um maior número dentes nos arcos de indivíduos adultos e idosos. Essa longevidade aumentada vem acompanhada por um aumento da freqüência de superfícies radiculares expostas, que, associada a fatores comuns à senilidade, como a redução do fluxo salivar devido a medicamentos ou à radioterapia, o controle de placa deficiente, aumentam o risco da ocorrência de lesões de cárie radicular.

A formação e o desenvolvimento das lesões de cárie radicular são semelhantes às aquelas que ocorrem na coroa. Para que as cáries radiculares ocorram, existe a necessidade da exposição da raiz dental ao ambiente bucal, da deficiência no controle de placa bacteriana e da adoção de uma dieta cariogênica. O conhecimento desses fatores etiológicos permite intervir no desenvolvimento do processo carioso, através de medidas de promoção de saúde, possibilitando a sua paralisação ou reversão. No entanto, em situações onde a profundidade da lesão impedir uma correta higienização, onde houver grande sensibilidade pulpar, necessidade do restabelecimento da forma e funções dentais, ou ainda em locais de envolvimento estético, o tratamento restaurador se faz necessário.

O método mais utilizado para remoção da cárie radicular é aquele que utiliza instrumento cortante rotatório em baixa rotação. Contudo, esta

técnica, além de ser considerada invasiva, está relacionada ao medo e à dor por parte do paciente. Para contornar estes problemas, foram desenvolvidos sistemas alternativos capazes de realizar preparos mais conservadores, atraumáticos e seletivos, promovendo maior conforto ao profissional e ao paciente. Dentre estes métodos destaca-se a irradiação com laser.

Os primeiros estudos realizados com a finalidade de se obter uma técnica operatória para substituir o método convencional de preparo de cavidades utilizaram os lasers de CO₂ (Dióxido de Carbono) e Nd:YAG (Neodymium: Yttrium, Aluminium, Garnet). Contudo, foi observado que a irradiação com estes lasers provocava danos térmicos tanto no esmalte quanto na dentina, já que os comprimentos de onda utilizados não possuíam desejável interação com os tecidos irradiados. Por esse motivo, outros lasers começaram a ser estudados para a utilização nos tecidos duros dentais. Como a água e a hidroxiapatita, dois dos principais componentes dos tecidos duros dentais, possuem boa absorção de luz nos comprimentos de onda ao redor de 3,0 µm, os lasers de Érbio (Er:YAG e Er,Cr:YSGG) apresentaram melhor indicação para o preparo de cavidades e remoção de cárie.

O laser de Er,Cr:YSGG (Erbium, Chromium: Yttrium, Scandium, Gallium, Garnet), remove tecidos duros dentais através de uma tecnologia conhecida como hidrocínética. Quando este método é utilizado em dentina, observa-se uma superfície com aspecto de escama ou em escalas, livre de debris e com túbulos dentinários abertos. Teoricamente,

essas características seriam ideais para a realização de procedimentos adesivos. Contudo, resultados conflitantes têm sido observados na literatura, que aponta valores distintos tanto para a resistência adesiva quanto para a microinfiltração de restaurações realizadas após a remoção de cárie ou o preparo de cavidades com o laser de Er,Cr:YSGG.

Desta forma, previamente à utilização clínica do equipamento, tornam-se necessárias a avaliação das potencialidades do laser de Er,Cr:YSGG e a obtenção de resultados consistentes que aprovelem esta tecnologia para uso nos consultórios odontológicos. Assim, será objetivo desta pesquisa avaliar o uso do laser de Er,Cr:YSGG na remoção de cárie radicular experimentalmente induzida, utilizando parâmetros que variam de 1 a 4 W, em intervalos de 0,25 W. A avaliação da efetividade desse laser será realizada por meio da análise do selamento marginal das cavidades restauradas com resina composta de baixa viscosidade.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Cárie Radicular

A cárie radicular é uma doença bucal significativa que vem ganhando grande importância com o passar do tempo, já sendo considerada uma das principais causas de perda dos dentes no adulto, sendo que o problema se agrava com o envelhecimento do indivíduo (BECK, 1993).

A cárie de raiz, da mesma forma que lesões de cárie em outras superfícies dentais, 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, as quais utilizam como substrato alguns carboidratos fermentáveis provenientes da dieta (VAN HOUTE, 1980). Estes ácidos difundem-se na sub-superfícies do esmalte e da dentina dissolvendo os minerais presentes nestes tecidos (FEATHERSTONE, 1996; FEATHERSTONE, 2000).

O desenvolvimento das lesões de cárie resulta da interação de vários fatores, que incluem o hospedeiro, a dieta (substrato) e a microbiota presente no biofilme dental. Qualquer alteração em um dos

componentes desta tríade pode levar a modificações no processo de cárie (KIDD;FEJERSKOV, 2004; SIMMONDS; TOMPKINS; GEORGE, 2000).

Muitos fatores têm sido associados ao hospedeiro, mas o considerado mais importante é a saliva, que, na cavidade oral, exerce ações mecânicas, químicas e bacteriostáticas. A água é o constituinte principal da saliva e representa 99% da secreção glandular pura, sendo que o restante é composto, em maior ou menor quantidade, por constituintes como sódio, potássio, bicarbonato, cloreto, cálcio e fosfato. O fluxo salivar, que varia de 1 a 2 mL por minuto, auxilia na remoção de resíduos alimentares, removendo ainda microrganismos não aderidos à superfície do dente (FEJERSKOV, 1997; SELWITZ; ISMAIL; PITTS, 2007).

Outro elemento da tríade, a dieta, depende da ingestão e permanência na cavidade bucal de carboidratos fermentáveis, como sacarose, glicose, frutose e amido. A sacarose é muito mais cariogênica que o amido. Este, por sua vez, é o menos cariogênico dos carboidratos, causando duas vezes menos cárie que a frutose e a glicose (BOWEN, 2002; NEWBRUN, 1967; SHEIHAM, 2001;). Quando estes carboidratos estão presentes em alimentos pegajosos, o risco de lesões de cárie aumenta ainda mais, já que estes alimentos se aderem à superfície dental e apresentam maior dificuldade de remoção através da autolimpeza realizada pela saliva e pela ação mecânica da língua.

O último dos três elementos responsáveis pela formação das lesões de cárie diz respeito aos microrganismos presentes no biofilme ou na placa bacteriana. A microbiota desempenha importante papel na saúde

dos seres humanos, contribuindo no desenvolvimento do sistema imunológico e promovendo resistência a microrganismos patogênicos, mas, por outro lado, também constitui um reservatório de bactérias que possuem potencial patogênico capaz de infectar os tecidos do hospedeiro. Com relação à cavidade bucal, a doença periodontal e a cárie são as duas principais doenças associadas às bactérias (MARCOTTE; LAVOIE, 1998).

A cavidade bucal favorece o desenvolvimento de uma variedade de microrganismos, já que se trata de um ambiente úmido, com temperatura relativamente constante, entre 35 e 36 °C, e com o pH em torno de 7, mas que não pode ser considerada um meio homogêneo (MARSH, 2003). Alguns fatores físico-químicos caracterizam vários ambientes diferentes, suportando, assim, o desenvolvimento de diferentes comunidades microbianas (MARCOTTE; LAVOIE, 1998).

O primeiro pesquisador a examinar o biofilme dental humano em microscópio foi Antonie van Leeuwenhoek, no século XVI, que, em suas análises, sugeriu um possível envolvimento bacteriano na formação do biofilme. Atualmente, pode-se afirmar que o biofilme dental é composto por uma diversificada comunidade de microrganismos que se acumula em tecidos duros (dentes) como um filme, embebidos em uma matriz extracelular de polímeros do hospedeiro e de origem microbiana, compreendendo mais de 500 espécies de bactérias (BECKER et al., 2002; MARSH, 2004; ROSAN; LAMONT, 2000).

O grupo de bactérias conhecidas como estreptococcus está entre os predominantes no biofilme bucal. Várias espécies de estreptococcus estão

identificadas, todas associadas exclusivamente a mamíferos (JENKINSON; LAMONT, 1997). Grande parte das espécies de estreptococcus é considerada comensal, organismos que vivem em harmonia com o hospedeiro e são tolerados por este. Os estreptococcus são geralmente encontrados em mucosas e, quando as condições fornecidas por estes sítios são favoráveis, podem desenvolver doenças sistêmicas ou localizadas. O sucesso da colonização por estreptococcus é atribuído a três fatores: a habilidade destes organismos em aderir a quase todas as superfícies presentes em seu ambiente natural; sua capacidade em utilizar rapidamente nutrientes disponíveis sob oscilações nas condições do meio; e sua habilidade em tolerar, resistir ou mesmo destruir as defesas imunológicas do hospedeiro (JENKINSON; LAMONT, 1997).

Entre os estreptococcus envolvidos na formação do biofilme encontra-se o *Streptococcus mutans*, que representa o principal agente etiológico da carie dental em humanos. A associação deste microrganismo, com a cárie dental foi primeiramente descrita por Clarke em 1924, em crianças inglesas (LOESCHE, 1986).

Inúmeros estudos epidemiológicos têm investigado o grau de infecção por *S mutans* em populações de diversas partes do mundo e sua relação com a prevalência de cárie dental (BRATTHAL, 1991). A espécie *Streptococcus mutans* tem sido a mais estudada pela sua mais freqüente relação com o desenvolvimento de cárie, como demonstrado em estudos de detecção destes microrganismos por métodos de cultivo laboratorial (LI et al., 2003) e por métodos moleculares (BECKER et al., 2002).

O *Streptococcus mutans* possui uma grande variedade de mecanismos para colonizar a superfície dentária e se tornar uma espécie numericamente significativa no biofilme dental (BURNE, 1998; KURAMITSU, 2001). Este microrganismo reúne vários fatores de virulência para o desenvolvimento da cárie dental, como a acidogenicidade e aciduricidade, a capacidade de adesão e acúmulo nas superfícies dentárias, a síntese de polissacarídeos intracelulares como forma de armazenamento de substrato e de proteínas extracelulares solúveis e insolúveis em água (HAJISHENGALLIS; MICHALEK, 1999; LOESCHE, 1986). Para colonizar a cavidade oral, o *S. mutans* precisa de superfícies duras, não descamativas, sobre as quais coloniza e se acumula como parte da complexa microbiota do biofilme dentário.

A fase inicial de colonização é dependente da interação específica entre *S. mutans* e proteínas/glicoproteínas de origem salivar e microbiana adsorvidas às superfícies dentárias (película adquirida).

Outro importante mecanismo de patogenicidade do *S. mutans* é a desmineralização do tecido duro dental pelo ácido láctico produzido no seu metabolismo fermentativo (CARLSSON, 1989; AIRES et al., 2006). No entanto, para que haja produção de ácido suficiente para sustentar a desmineralização progressiva do dente, há necessidade de aumento da proporção de *S. mutans* no biofilme dentário (TENUTA et al., 2003), a qual é favorecida pela alta tolerância destas espécies a baixo pH (BURNE, 1998). *Streptococcus mutans* é capaz de se acumular no biofilme através da síntese e interação com uma matriz de extracelular de glucanos

insolúveis (SMITH; TAUBMAN, 1990). Este processo de acúmulo é iniciado pela atividade de glucosiltransferases (Gtf) secretadas por *S. mutans* (HAJISHENGALLIS; MICHALEK, 1999; MICHALEK; KATZ; CHILDERS, 2001). As Gtfs sintetizam várias formas de glucanos extracelulares de alto peso molecular, a partir da sacarose. Estes polímeros de glucanos, por sua vez, possibilitam a agregação de *S. mutans* a outros estreptococos orais, aparentemente através da interação com proteínas ligantes de glucanos associadas à superfície celular (BANAS; VICKERMAN, 2003).

Apesar da doença cárie afetar mais comumente a coroa dos dentes, as cáries radiculares também são prevalentes, especialmente em populações mais idosas. Estudos sobre a microbiologia da cárie radicular da década de 70 enfatizaram a importância do Actinomicetes como principal agente etiológico da cárie de raiz, principalmente os *A. viscosus* e *A. naeslundii*. Porém, estudos mais recentes indicaram que o papel que estes microrganismos desempenham é menor do que o descrito, além de enfatizarem a importância do *S. mutans* e do lactobacillus 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 o microrganismo específico está relacionado à cárie de raiz (ELIASSON; KRASSE; SOREMARK, 1992).

Muitos autores relacionam o *S. mutans* e o *Lactobaccillus* à cárie radicular, principalmente quando há associação destes dois microrganismos (ELLEN; BANTING; FILLERY, 1985; LYNCH; BEIGHTON,

1994; VAN HOUTE, 1994;). Estudos relataram haver quantidades significativamente maiores de *S. mutans* e *Lactobacillus* no biofilme dental de pacientes que apresentavam cárie radicular quando comparados a indivíduos portadores de doença periodontal que não apresentavam lesões de cárie de raiz (BOWDEN et al., 1990; RAVALD; BIRKHED, 1991).

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

Outros microrganismos foram relacionados com a cárie radicular. Em superfícies livres de cárie, os microrganismos predominantes foram o *S. sanguis* II, a *Veillonella* e o *A. viscosus*. Já em lesões de cárie incipiente, o *S. mutans*, o *A. viscosus* e o *Lactobacillus* foram encontrados em maior quantidade, enquanto que em lesões de cárie avançada houve predomínio de *S. mutans*, *A. naeslundii*, *Veillonella* e *Clostridium* (VAN HOUTE; LOPMAN; KENT, 1994).

Por outro lado, Brailsford et al. (2001) estudaram a presença de bactérias em diferentes ambientes na cavidade oral e encontraram que as bactérias acidúricas predominantes nas lesões de cárie radicular eram *A. israeli* (pH 4.8 e 5.2), *Lactobacillus* (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 lesões de 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 a 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.

De acordo com o exposto, observa-se que ainda existem muitas controvérsias na literatura sobre a microbiota envolvida no aparecimento e desenvolvimento da cárie radicular.

As cáries de raiz geralmente estão localizadas próximas à junção cimento-esmalte e ocorrem quando o dente afetado apresenta a gengiva marginal retraída, porém podem também estar localizadas subgengivalmente, associadas com bolsas periodontais. Os primeiros sinais das lesões são caracterizados por pequenas áreas descoloradas e bem definidas, que se estendem ao longo da superfície radicular, coalescendo e formando lesões maiores. A maioria das lesões é rasa e de progressão lenta (BANTING, 2001; NYVAD; FEJERSKOV, 1982; ZAMBON; KASPRZACH, 1995). Com relação à cor, muitos autores afirmam que a cárie radicular, quando está ativa, apresenta colorações amarela e marrom clara, quando as lesões estão inativas, a cor das lesões se torna mais escurecida (KIDD, 1989; NYVAD; FEJERSKOV, 1982; RAVALD; BIRKHED, 1991).

O pH crítico para que esta lesão ocorra está acima daquele observado para o desenvolvimento da cárie de esmalte. Enquanto o pH crítico para o esmalte fica em torno de 5.2-5.7, o pH crítico para a dentina

ou o cimento é de 6.0-6.5. Isto pode ser explicado pela diferente composição dos tecidos envolvidos. O cimento e a dentina são tecidos que possuem maior quantidade de água, carbonatos e matéria orgânica, o que faz com que as lesões se iniciem em um pH mais alto do que para o esmalte (ELIASSON; KRASSE; SOREMARK, 1992; WEFEL, 1994).

Existem controvérsias com relação à distribuição das lesões de cárie de raiz. Para Fure e Zickert (1990), elas ocorrem com maior frequência nos molares do que nos incisivos. Já Banting, Ellen e Fillery (1980) concluíram que os pré-molares e os dentes anteriores eram mais afetados, já que estes são mantidos na boca por mais tempo que os molares.

Fejerskov et al. (1991) demonstraram que as superfícies proximais dos dentes anteriores superiores e as superfícies vestibulares e proximais dos terceiros molares eram mais afetadas. De acordo com Fure e Zickert (1990), as superfícies mais afetadas, na maxila, seriam as proximais, enquanto que as superfícies vestibulares seriam as mais acometidas na arcada inferior.

As lesões iniciais de cárie radicular aparecem como uma zona radiolúcida no cimento. O cimento, no terço cervical da raiz dos dentes, apresenta uma espessura em torno de 30 a 50 μm . Por isso, deve-se notar que, na maioria dos casos, a escovação inadequada dos dentes ou a raspagem imprópria das superfícies da raiz danifica ou remove o cimento radicular, propiciando a presença de dentina exposta (FRANK, 1990).

A dentina radicular é composta por uma matriz calcificada e por túbulos dentinários, os quais estão preenchidos pelos prolongamentos odontoblásticos. De acordo com Linde (1989), a dentina apresenta, em sua composição, aproximadamente 70 % de matéria inorgânica, 18 % de matéria orgânica e 12 % de água. O material inorgânico da dentina é composto principalmente por hidroxiapatita. O conteúdo orgânico é formado por aproximadamente 90 % de colágeno tipo I, sendo o restante composto por uma mistura de citratos, lipídeos e proteínas não colágenas, incluindo as fosfoproteínas e os proteoglicanos. Alguns estudos indicaram que os componentes orgânicos da dentina diferem de acordo com a idade e até mesmo com a localização da dentina (RAHIMA; VEIS, 1988; STEINFORT et al., 1989; WALTERS; EYRE, 1983;).

Pesquisas têm mostrado que as lesões de cárie radicular envolvem tanto a desmineralização quanto a destruição da matriz orgânica da dentina (FRANK, 1990; NYVAD; FEJERSKOV, 1990; SCHUPBACH; GUGGENHEIM; LUTZ, 1990). Alguns pesquisadores sugeriram que as fases orgânica e inorgânica são rompidas simultaneamente nas cáries radiculares (FRANK, 1990; FRANK; STEUER; HEMMERLE, 1989;). Outros acreditam que a destruição ocorre em duas fases: uma, em que há a dissolução da porção mineral da dentina por ácidos, seguida pela invasão bacteriana e rompimento ou colapso do colágeno (KATZ; PARK; PALENIK, 1987; NYVAD; FEJERSKOV, 1990; SCHUPBACH; GUGGENHEIM; LUTZ, 1989).

A degradação da matriz colágena da dentina é um pré-requisito para que haja cavitação. Para que isso ocorra, é necessário que o meio apresente colagenases, que podem ser oriundas do dente, do osso alveolar, do tecido periodontal e de leucócitos. Entretanto, o papel e a significância da colagenase na degradação do colágeno presente na dentina radicular ainda são incertos (DUNG; LIU, 1999).

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; 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 ou da dentina (KATZ; PARK; PALENIK, 1987; VAN STRIJP et al., 2003).

Além dos aspectos abordados anteriormente, outros fatores devem ser lembrados quando se avaliam os riscos do aparecimento das cáries de raiz.

As lesões de cárie radicular têm sido relacionadas aos adultos e idosos, sendo sua prevalência maior em função do aumento da idade (FURE; ZICKERT, 1990; GUSTAVSEN; CLIVE; TVEIT, 1988; KATZ, 1980; VARRELA, 1991). Pacientes parcial ou totalmente incapacitados para realizarem procedimentos de higiene bucal, bem como os sob cuidados médico-hospitalares, são mais propensos ao desenvolvimento das cáries radiculares (MACENTEE; CLARK; GLICK, 1993). A condição sócio-econômico-cultural também parece determinar a maior ou menor

observância da cárie radicular, considerando poder aquisitivo, grau de informação, localização geográfica e acesso ao tratamento odontológico (MESKIN et al., 1990).

Ao se considerar a individualidade do paciente, pode-se definir, com base nos fatores diretamente relacionados à cárie – hospedeiro, substrato cariogênico e microbiota específica – situações onde o risco do seu desenvolvimento é evidenciado. Assim, destacam-se a exposição da superfície radicular (hospedeiro), a dieta cariogênica (substrato) e o controle da placa (microbiota específica) que, ao interagirem em função do tempo, implicam na formação e progressão da cárie. Outros fatores, tais como fluxo e composição salivar, capacidade tampão, contato com fluoretos e história passada de cárie, que influenciam indiretamente o desenvolvimento de cárie radicular, também possibilitam determinar o maior ou menor risco de ocorrência dessa lesão. Considerando a necessidade do controle dessa doença, tornam-se importantes, então, a detecção clínica de tais fatores, e também o conhecimento de suas influências na formação e progressão da lesão cariosa (FEJERSKOV et al., 1991; FEJERSKOV; BAELUM; OSTERGAARD, 1993).

De fácil visualização clínica, a exposição da raiz pode ser causada pela recessão gengival de origem fisiológica, por doença periodontal, ou ainda como consequência de uma terapia periodontal (BAELUM; FEJERSKOV; KARRING, 1986). Embora a recessão gengival seja um pré-requisito para o desenvolvimento das lesões de cárie radicular, a mesma

não é inevitável após a exposição da raiz (FEJERSKOV; BAELUM; OSTERGAARD, 1993).

A quantidade e frequência da ingestão de carboidratos fermentáveis podem ser determinadas por dados obtidos na anamnese. A alta frequência de consumo de carboidratos leva a maiores episódios de desmineralização, pois permite a produção de ácidos orgânicos fracos – ácido láctico, ácido acético e ácido propiônico – resultantes do metabolismo bacteriano, favorecendo a progressão de cárie (FEATHERSTONE, 1994).

Com relação à higienização, deve-se avaliar a capacidade do paciente em remover o biofilme dental. Essa medida constitui-se numa importante forma de controle da doença, pois uma adequada higienização dificultará o acúmulo de biofilme e, conseqüentemente, sua colonização por microrganismos relacionados à cárie radicular. Outros fatores, como pacientes que fazem uso de medicamentos que provocam diminuição do fluxo salivar, possuem maior risco de desenvolver as lesões cariosas (SAUNDERS; HANDELMAN, 1992).

Todos esses fatores ocorrem com maior incidência no paciente idoso, o que os tornam mais susceptível a desenvolver a cárie radicular (FEJERSKOV, 1994; STEELE; WALLS; MURRAY, 2001;). De acordo com trabalho de revisão que avaliou quatro estudos longitudinais realizados nos Estados Unidos, a severidade estimada desta lesão seria, em média, de 1 lesão aos cinquenta anos, 2 lesões aos setenta anos e mais de três lesões para pessoas acima de 75 anos de idade. Esperava-se que apenas

8% da população viesse a adquirir uma ou mais lesões de cárie radicular no período de um ano (LEAKE, 2001).

A indicação de um adequado tratamento para as lesões radiculares depende inicialmente de um correto diagnóstico e também de um conhecimento do processo dinâmico envolvido no desenvolvimento destas lesões. Em algumas situações, é possível paralisar uma lesão ativa pela manutenção de condições satisfatórias de higiene oral e do controle da dieta, associados à fluoroterapia. Em outras, principalmente em lesões cariosas avançadas, de difícil paralisação através de medidas preventivas e/ou que causem um quadro de hipersensibilidade, o tratamento restaurador se faz necessário (FEJERSKOV, 1994; NYVAD; TEN CATE; FEJERSKOV, 1997).

O tratamento não invasivo fundamenta-se no rigoroso controle de placa e também no uso de fluoretos, possibilitando que uma lesão de cárie ativa se torne inativa. A paralisação da progressão da lesão está associada à obtenção de um equilíbrio entre os processos físico-químicos de desmineralização e remineralização dental, que é afetado negativamente pelos ácidos gerados pelo biofilme dental e positivamente pelos efeitos da higienização e da fluoroterapia (FEJERSKOV, 1994; NYVAD; TEN CATE; FEJERSKOV, 1997).

É possível, desde que se admitam ótimas condições de higiene oral e dieta pobre em carboidratos, controlar o desenvolvimento de um biofilme cariogênico, responsável pela formação e progressão da lesão cariiosa (BILLINGS; BROWN; KASTER, 1985; VAN HOUTE et al., 1990).

Estudos comprovaram que a adequada higienização pode evitar e tratar não somente gengivites e doenças periodontais, mas também a cárie dental (AXELSSON; LINDHE, 1981).

Clinicamente, é parte do tratamento a conscientização do paciente sobre a cárie e outras doenças bucais, e também a motivação para um efetivo controle da placa dental associado ao uso de fluoretos. As formas existentes mais comuns, de comprovada efetividade, são a água de abastecimento, os dentifrícios fluoretados, as soluções de fluoreto de sódio a 0,2% ou 0,05%, o flúor fosfato acidulado 1,23% ou fluoreto de sódio neutro 1,1% em solução ou gel, os vernizes fluoretados e soluções contendo oxido de zinco (BANTING; IMREY, 1990; BILLINGS; BROWN; KASTER, 1985; BURT; ISMAIL; EKLUND, 1985; JENSEN; KOHOUT, 1988; STAMM; SCHAEKEN; KELTJENS; VAN DER HOEVEN, 1991; TAKATSUKA; TANAKA, IIJIMA, 2005).

Muitas vezes o tratamento não invasivo apresenta um comprometimento estético, já que as lesões paralisadas apresentam coloração marrom escura ou preta (FEJERSKOV, 1994). Nesses casos, após o restabelecimento da saúde bucal, é importante avaliar junto ao paciente a necessidade da realização de procedimentos restauradores estéticos.

A amplitude e profundidade da lesão, o grau de sensibilidade e a estética a ser recuperada influenciam diretamente na indicação do procedimento restaurador (ERICKSON, 1994). É importante observar que as mesmas medidas de controle da dieta, higiene oral e uso de fluoretos

citadas no tratamento não invasivo também devem estar associadas a este tratamento.

Dentre os materiais utilizados para a finalidade restauradora destacam-se o cimento de ionômero de vidro, tanto os convencionais como os modificados por resina, e as resinas compostas microparticuladas e do tipo flow. Pode-se contar ainda com o amálgama de prata, material que vem resistindo ao tempo - utilizado há mais de 150 anos - pois apresenta excelentes propriedades físico-mecânicas e também um baixo custo, porém, o mesmo necessita de preparo cavitário retentivo, é condutor térmico e também anti-estético, características que limitam a sua indicação (BURGESS, 1995; FEJERSKOV, 1994; KAURICH et al., 1991; MINAKUCHI; MUNOZ; JESSOP, 2005).

Os cimentos de ionômero de vidro apresentam liberação de íons flúor, adesão química à superfície dental e coeficiente de expansão térmica linear semelhante ao dente, fácil manipulação, polimerização por luz, estética e bom polimento superficial (BURGESS, 1995; GLADYS et al., 1997).

Para pacientes de alto e médio risco de cárie é coerente o uso de materiais com propriedades cariostáticas. Alguns estudos mostraram, em avaliações laboratoriais, que os cimentos de ionômero de vidro foram superiores aos demais materiais restauradores em relação ao potencial inibitório de lesões cariosas secundárias em esmalte (SERRA; CURY, 1992) e também em cimento ou dentina (McLEAN; NICHOLSON; WILSON,

1994; TORII et al., 2001), contudo esta qualidade ainda é motivo de controvérsias, já que pesquisas recentes não concordam com esta propriedade dos cimentos de ionômero de vidro (HARA et al., 2005, 2006; WIEGAND; BUCHALLA; ATTIN, 2007).

Quanto à estética, os melhores resultados vêm sendo conseguidos com as resinas compostas, pois permitem uma ótima reprodução das características dentais, além de contar com uma ampla variedade de cores. Em superfícies vestibulares de dentes anteriores superiores com envolvimento estético, esse tipo de material deve ser considerado como opção de tratamento (GALLO et al., 2005; KOCZARSKI, 2005).

As resinas de baixa viscosidade ou alto escoamento, conhecidas como *flow*, estão indicadas neste caso (MINAKUCHI; MUNOZ; JESSOP, 2005). Este material possui como características a presença de 37 a 60 % em volume de partículas inorgânicas, são radiopacos, geralmente contém flúor em sua composição e são apresentados em seringas com agulhas para facilitar sua inserção. As aplicações clínicas das resinas flow foram revisadas por Bayne et al. (1998), que, contra-indicaram este material para restaurações de cavidades presentes em áreas de grande força mastigatória, já que as resinas de alto escoamento não possuem propriedades mecânicas que suportariam tal esforço. Contudo, graças ao alto escoamento, estes materiais também estão indicados para restauração de cavidades ultraconservadoras ou de difícil acesso, além de serem utilizados como primeira camada na regularização de paredes de todos os tipos de cavidades a serem restauradas com resina composta

(BAYNE et al., 1998; CARA et al., 2007; TJANDRAWINATA; IRIE; SUZUKI, 2005,). Além disso, sua maior capacidade de escoamento promove maior alívio no estresse de contração, o que pode diminuir o risco de microinfiltração marginal (LEEVAILOJ et al., 2001; MINAKUCHI; MUNOZ; JESSOP, 2005; UNTERBRINK; LIEBENBERG, 1999).

Alguns aspectos relacionados à técnica restauradora devem ser considerados. Para a realização de restaurações estéticas em superfície radicular é necessário o isolamento do campo operatório, conseguido pelo uso de dique de borracha associado a grampos e também por fios retratores e rolos de algodão. Esse passo é de fundamental importância, pois os materiais restauradores apresentam-se sensíveis à umidade durante a execução do procedimento restaurador (KOCZARSKI, 2005; MOUNT; MAKINSON, 1978).

A localização das restaurações radiculares, próximas ao periodonto, torna necessária a realização de acabamento e polimento criteriosos, principalmente quando suas margens se encontram subgingivais (ATTAR, 2007; YALCIN; KORKMAZ; BASEREN, 2006). Quando em áreas proximais, além da atenção à lisura superficial, é extremamente importante a recuperação de uma correta forma anatômica para impedir a impactação alimentar. Assim, ao evitar o acúmulo de biofilme e facilitar a higienização, menores serão as chances de desenvolvimento de cárie secundária e também de doenças periodontais.

As falhas nos procedimentos restauradores podem levar a microinfiltrações na interface dente/restauração, levando ao aparecimento

de cáries secundárias, o que é uma das principais causas para a troca das restaurações (MJÖR; TOFFENETTI, 2000).

2.2 Indução de Cárie Radicular

Muitos modelos de indução de cárie vêm sendo desenvolvidos e, de acordo com Featherstone (1996), eles podem ser classificados em desmineralização *in vitro*, ciclagem de pH, boca artificial, modelo *in vivo* que utiliza animais ou dentes com exodontia indicada, modelo *in situ* e modelo bacteriano.

A desmineralização *in vitro* através da utilização de ácidos tamponados é considerado o método mais simples de indução de cárie, utiliza basicamente um tampão ácido em forma de gel ou ainda uma solução tamponada contendo cálcio e fosfato (FEATHERSTONE; MELLBERG, 1981; HAN et al., 2006; TEN CATE; MUNDORFF-SHRESTHA, 1995). Nesta metodologia, fragmentos de esmalte e dentina permanecem submersos no tampão por alguns dias ou até meses com o objetivo de formar lesões superficiais nestes tecidos que, idealmente, apresentem características histológicas semelhantes às lesões de cárie naturais. É de fundamental importância que se conheçam as quantidades de cálcio, fosfato e flúor presentes nas soluções ou géis tamponados a fim de simular a saliva a ação da saliva humana nos fragmentos dentais (WHITE,

1987). Os ácidos mais indicados neste modelo são o láctico e o acético (FEATHERSTONE; RODGERS, 1981).

A ciclagem de pH é o método sugerido para se testar a eficácia do flúor presente nos materiais odontológicos utilizados em procedimentos restauradores (FEATHERSTONE et al., 1990; FEATHERSTONE, 1994). Este modelo mede simultaneamente a capacidade de inibição da desmineralização no tecido dentário ao redor da restauração e se há um aumento no grau de remineralização deste tecido após desafio cariogênico. Neste método, as amostras são submetidas a ciclos alternados de imersão nas soluções desmineralizadoras e remineralizadoras por um período determinado. A solução desmineralizadora utiliza os mesmos ácidos citados na metodologia anterior, deixando o meio com pH em torno de 4.3. A solução remineralizadora deve conter cálcio e fosfato em quantidades conhecidas, e flúor em baixas concentrações, a fim de mimetizar as propriedades da saliva humana (FEATHERSTONE, 1996; JONES et al., 2006).

O método conhecido com 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 quanto os métodos *in vitro* e *in vivo* (CURZON et al., 1984; FEATHERSTONE, 1996; TANG et al., 2003).

No modelo *in vivo* se utilizam animais de laboratório, nos quais lesões de cárie são induzidas. Quando escolhido este modelo, o pesquisador deve levar em consideração alguns fatores, como o custo e duração do experimento, risco de manipulação de animais, tamanho diminuído da boca e dos dentes, além da dinâmica bucal diferente. De acordo com Featherstone (1996), deve-se ter cuidado ao avaliar os dados obtidos por esta metodologia, já que os resultados obtidos em animais nem sempre podem ser extrapolados ou comparados àqueles obtidos em humanos.

No modelo *in vivo*, que emprega dentes com exodontia indicada, é o que mais se assemelha à situação clínica real. Esta técnica utiliza uma banda ortodôntica fixada ao dente a ser extraído a fim de favorecer a formação e o acúmulo de biofilme. Algumas variáveis devem ser controladas neste modelo, como a dieta, o número de amostras, controle de flúor utilizado, posicionamento dentário e longevidade do estudo.

Estudos *in situ* utilizam blocos ou fatias de dente são fixados a um aparelho removível, que, por sua vez, são mantidos na cavidade bucal de um indivíduo por um período determinado (ITTHAGARUN, 2005; TENUTA et al., 2006). Após esse período, o aparelho removível é retirado da boca do indivíduo e as amostras de tecido dental são avaliadas quanto ao grau de remineralização e desmineralização. Esta metodologia é bastante utilizada para se testar se verificar a eficácia de materiais restauradores que liberam flúor, assim como a capacidade antibacteriana de materiais odontológicos. Este método, além de possuir um alto custo, é de longa

duração e necessita de grande atenção e cooperação dos indivíduos que utilizam os aparelhos removíveis, a fim de se evitar que muitas variáveis interfiram nos resultados (ZERO, 1995).

No modelo que utiliza ácidos produzidos por bactérias, o dente ou fragmento dental é imerso em um meio que contém bactérias que fermentam e produzem ácidos orgânicos, semelhante ao que ocorre no biofilme dental. Novamente, as ressalvas feitas para o método de indução de cárie através da utilização de ácidos tamponados também deve ser considerado para esta metodologia. 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 (FEATHERSTONE, 1996).

O método de indução de cárie com ácidos produzidos por bactérias tem sido amplamente utilizado tanto em esmalte (BORISOVA; UZUNOV; AVRAMOV, 2006; DUMMER; EDMUNDS; GREEN, 1982; FONTANA et al., 1996; GAMA-TEIXEIRA, 2002; GILMOUR et al., 1993; GILMOUR; EDMUNDS, 1998; GILMOUR; EDMUNDS; DUMMER, 1990; GROSSMAN; MATEJKA, 1999; SEEMAN et al., 2005;) quanto em dentina (BORCZYK; PIATOWSKA; KRZEMINSKI, 2006; FONTANA et al., 1996; GILMOUR; EDMUNDS, 1998; HSU et al., 1998; KAUFMAN; POLLOCK; GWINNETT, 1988; KURAMOTO et al., 2005; MELLO et al., 2006; SHEN; SAMARANAYAKE; YIP, 2004;). Diferentes bactérias têm sido empregadas neste modelo, com destaque para o *S. mutans*, que é utilizado tanto isoladamente (DUMMER; EDMUNDS; GREEN, 1982; GAMA-TEIXEIRA,

2002; GILMOUR et al., 1993; GILMOUR; EDMUNDS, 1998; GILMOUR; EDMUNDS; DUMMER, 1990; KURAMOTO et al., 2005; MELLO et al., 2006; SEEMAN et al., 2005;) como em conjunto com outros microrganismos (BORCZYK; PIATOWSKA; KRZEMINSKI, 2006; BORISOVA; UZUNOV; AVRAMOV, 2006; FONTANA et al, 1996; KAUFMAN; POLLOCK; GWINNETT, 1988; SHU et al., 2000; SHEN; SAMARANAYAKE; YIP, 2004). Para o crescimento bacteriano, é necessário manter estes microrganismos em um ambiente favorável para seu desenvolvimento. Por este motivo, os corpos de prova contaminados com as bactérias em estudo são cultivados em estufas de anaerobiose (SEEMAN et al., 2005; SHEN; SAMARANAYAKE; YIP, 2004;) ou ainda em aerobiose, em estufas com ou sem concentração conhecida de gases (DUMMER; EDMUNDS; GREEN, 1982; GILMOUR; EDMUNDS; DUMMER, 1990; GILMOUR et al., 1993; FONTANA et al., 1996; GILMOUR; EDMUNDS, 1998; KURAMOTO et al., 2005; MELLO et al., 2006), à temperatura de 37 °C. Já o meio de cultura deve conter os nutrientes necessários para o crescimento bacteriano. Quando a intenção é a indução de lesões de cárie em fragmentos dentais, alguns autores adicionam sacarose em concentrações que variam de 1 a 10 % (BORCZYK; PIATOWSKA; KRZEMINSKI, 2006; DUMMER; EDMUNDS; GREEN, 1982; FONTANA et al., 1996; GILMOUR et al., 1993; GILMOUR; EDMUNDS; DUMMER, 1990; GILMOUR; EDMUNDS, 1998; KURAMOTO et al., 2005; MELLO et al., 2006; SEEMAN et al., 2005; SHEN; SAMARANAYAKE; SHU et al., 2000; YIP, 2004).

De acordo com o observado na literatura, pode-se destacar o papel da sacarose na formação de um biofilme cariogênico. A relação entre sacarose e a cárie dental foi demonstrada em estudos epidemiológicos experimentais (BIRKHED; FROSTELL; LAMM, 1980; CURY et al., 2001; DOWNER, 1999; ZERO, 2004). A sacarose promove mudanças bioquímicas e fisiológicas durante o processo da formação do biofilme, favorecendo a indução de cárie. Além disso, a sacarose gera um aumento nas proporções de *S. mutans* e lactobacilos e, simultaneamente, uma diminuição dos níveis de *S. sanguinis* em consequência da queda do pH causada durante a fermentação deste carboidrato (DENNIS et al., 1975; MINAH; LOVEKIN; FINNEY, 1981). Isto sugere que a formação de compostos ácidos provenientes do metabolismo da sacarose altera o equilíbrio da microbiota local, favorecendo o desenvolvimento de espécies cariogênicas. Estudos recentes mostraram que os biofilmes formados na presença de sacarose apresentaram contagens maiores de *S. mutans* e lactobacilos e maior potencial cariogênico quando comparados aos biofilmes formados na ausência do açúcar. (PECHARKI et al., 2005; RIBEIRO et al., 2005).

Somado a isso, a cariogenicidade da sacarose foi associada com sua concentração e frequência da exposição (AIRES et al., 2006. DUGGAL et al., 2001; PAES LEME et al., 2004;). Um aumento na frequência de exposição aos carboidratos faz com que o biofilme permaneça com pH abaixo do considerado crítico para a desmineralização do esmalte ou da dentina, sendo que o pH cai ainda mais na medida em que se aumentam

as concentrações do carboidrato, o que favorece o desenvolvimento e a seleção das bactérias cariogênicas, tornando um biofilme saudável em um com alto potencial cariogênico (ZERO, 2004).

Ainda com relação à metodologia de indução de cárie com ácidos formados por bactérias, vale ressaltar os tempos em que as lesões foram observadas. Em esmalte, os trabalhos mostraram que a desmineralização já pode ser observada em 7 dias (DUMMER; EDMUNDS; GREEN, 1982; FONTANA et al., 1996), e em 26 dias a lesão já está bem estabelecida (DUMMER; EDMUNDS; GREEN, 1982). Alguns autores observaram as lesões em menos tempo (GILMOUR; EDMUNDS; DUMMER, 1990; GILMOUR et al., 1993; SEEMAN et al., 2005), enquanto outros chegaram a observar lesões de cárie secundária em até 36 dias (GROSSMAN; MATEJKA, 1999). Para a indução de cárie radicular, o período necessário para a obtenção das lesões varia de 7 a 24 dias (KAUFMAN; POLLOCK; GWINNETT, 1988; MELLO et al., 2006; SHEN; SAMARANAYAKE; YIP, 2004).

2.3 Microinfiltração Marginal

A microinfiltração foi conceituada por Kidd (1976) como sendo a passagem indetectável de bactérias, fluidos, moléculas ou íons entre uma parede cavitária e o material restaurador aplicado. A infiltração marginal

das restaurações estéticas é um problema a ser resolvido, pois falhas marginais podem causar a colonização bacteriana e conseqüentemente favorecer a estados patológicos na polpa dentária (MJÖR; TOFFENETTI, 2000; TYAS, 1996).

A microinfiltração marginal depende de vários fatores como, por exemplo, das características físicas dos materiais restauradores, da unidade fotopolimerizadora utilizada, do fator de configuração da cavidade, das características histológicas e morfológicas do tecido dental, correta utilização do sistema adesivo, habilidade profissional para a realização dos procedimentos adesivos, dentre outros (OWENS; JOHNSON; HARRIS, 2006).

A literatura não é conclusiva a respeito da técnica adesiva que resultaria em menor infiltração marginal em restaurações estéticas. Enquanto alguns autores encontraram diferenças no grau de infiltração quando compararam sistemas adesivos de gerações diferentes (ALAVI; KIANIMANESH, 2002; KOLINIOTOU-KOUMPIA; DIONYSOPOULOS; KOUMPIA, 2004; PRADELLE-PLASSE et al., 2001;), outros reportaram não haver diferenças na qualidade do selamento marginal de restaurações estéticas quando sistemas adesivos de condicionamento total ou autocondicionantes foram utilizados (GAGLIARDI; AVELAR, 2002; OWENS; JOHNSON; HARRIS, 2006; PONTES, DE MELO; MONNERAT, 2002; SANTINI et al., 2004).

Com relação ao material restaurador, sabe-se, atualmente, que a contração de polimerização das resinas compostas varia em torno de 2 a

6% em volume (LABELLA et al., 1999). Se a resina estiver no interior da cavidade previamente condicionada por um sistema adesivo, forças de contração serão geradas no sentido de tracionar o agente adesivo na estrutura dental em direção à resina. Vale lembrar que essas forças não são uniformemente distribuídas (KINOMOTO; TORII; 1998) e que a resistência adesiva sofre variações ao longo das paredes cavitárias (SHONO et al., 1999). Com isso, nas áreas onde a contração de polimerização for maior do que a força de adesão entre o substrato dental condicionado e a resina, fendas irão se desenvolver, aumentando a chance do aparecimento de sensibilidade pós-operatória e cáries recorrentes (EICK; WELCH, 1986).

O primeiro relato deste fenômeno de desenvolvimento de forças de contração em compósitos foi descrito por Bowen (1967). Neste estudo, o autor discutiu a influência da inserção do material na cavidade, sendo este um dos principais fatores associados às forças de contração. Atualmente, é bem estabelecido que a magnitude das forças de contração depende de fatores relacionados à geometria da cavidade preparada, assim como da composição e tipo de presa da resina composta (BRAGA; FERRACANE; 2004).

As forças de contração também são determinadas pelas características do material restaurador, como conteúdo de carga e composição da matriz (LABELLA et al., 1999). O modo de ativação e o tipo e a concentração do iniciador regulam o grau de conversão e a velocidade de cura do material (VENHOVEN; DE GEE; DAVIDSON, 1996), sendo que

quanto maior o grau de conversão, maior serão a contração e o módulo de elasticidade da resina, contribuindo para o aumento de tensões no material (BRAGA; FERRACANE, 2002). Similarmente, uma polimerização mais rápida faz com que a matriz polimerizadora se mova mais rapidamente ao ponto gel, provocando o rápido endurecimento do material e reduzindo sua capacidade de escoamento (FEILZER; DE GEE; DAVIDSON, 1993).

Baseado em estudos anteriores, diferentes condutas tem sido propostas com o objetivo de reduzir a magnitude e os efeitos da contração de polimerização nas resinas compostas, que incluem a técnica incremental de inserção das resinas compostas nas cavidades (LUTZ KREJCI; OLDENBURG, 1986), uso de unidades fotoativadoras pulsadas ou que aumentam sua potência gradativamente (KANCA III; SUH, 1999), e a utilização de camadas intermediárias nas restaurações com materiais de baixo módulo de elasticidade (LIEBENBERG et al., 1999).

Outros fatores podem influenciar no grau de microinfiltração de restaurações estéticas como, por exemplo, a habilidade do operador em realizar restaurações adesivas. Alguns estudos sugerem que a performance de um adesivo dentinário é mais dependente de sua técnica de aplicação do que de sua composição química (FRANKENBERGER; KRAMER; PETSCHILT, 2000; FRANKENGERGER et al., 2001; ERNST et al., 2004). Giachetti et al. (2007), afirmaram que a utilização de sistemas adesivos de condicionamento total apresenta melhor desempenho quando é aplicado na cavidade por profissionais experientes, ao contrário dos

adesivos autocondicionantes que, por ser menos sensível à técnica, possibilita que resultados satisfatórios de adesão sejam obtidos por profissionais com pouca experiência na clínica odontológica. De acordo com os autores, os erros na aplicação dos sistemas adesivos não estariam na quantidade dos passos de aplicação, mas sim nas etapas de condicionamento ácido, na lavagem e na secagem do tecido dental (MIYAZAKI; ONOSE; MOORE, 2000; SANO et al., 1998;).

De acordo com a literatura pesquisada, existe controvérsia se o tipo de preparo influencia no grau de infiltração de uma restauração. Alguns estudos mostram que o grau de infiltração em cavidades preparadas com o laser de Er:YAG é maior quando comparado com métodos convencionais de preparo cavitário, que utilizam instrumentos rotatórios cortantes em alta ou baixa rotação (BORSATTO et al., 2006; DE MUNCK et al., 2002; PALMA-DIBB et al., 2002; VAN MEERBEEK et al., 2003;). De acordo com De Munch et al. (2002), a efetividade da hibridização é comprometida pela ablação seletiva dos componentes orgânicos do tecido dentinário, pois esta faz com que uma menor quantidade de fibras colágenas fique exposta e disponível para serem hibridizadas. Além disso, os autores afirmaram que o laser promoveu micro fendas na dentina localizada sob a camada híbrida, o que prejudicaria a adesão de materiais restauradores no substrato dentinário.

Aranha et al. (2007) observaram a formação de fendas na interface dente/sistema adesivo após o preparo da dentina tanto com o laser de Er,Cr:YSGG quanto com o laser de Er:YAG, o que poderia determinar o

insucesso de restaurações estéticas realizadas sobre o substrato dentinário.

Contudo, outros estudos têm mostrado que algumas características das cavidades preparadas com laser, como a ausência da camada de esfregaço e a presença de superfícies irregulares, seriam ideais para o procedimento adesivo. Acredita-se que a exposição dos túbulos dentinários após o preparo cavitário com laser facilitaria a formação da camada híbrida, já que o primer e o adesivo poderiam penetrar na superfície com mais facilidade (KOHARA et al., 2002). Já as irregularidades observadas após a irradiação aumentariam a microretentividade da superfície, o que poderia ser benéfico para a adesão dentinária (CORONA et al., 2003). Desta forma, observa-se que ainda não existe um consenso a respeito do método de preparo da cavidade e a qualidade do selamento marginal.

Um procedimento que melhora a performance e a longevidade das restaurações é o polimento do material, que, usualmente, é realizado 24 horas depois de finalizada a restauração (LOPES; FRANKE; MAIA, 2002; YALCIN; KORKMAZ; BASEREN, 2006). As etapas de acabamento e polimento melhoram as propriedades estéticas da resina, e proporcionam maior lisura da restauração, facilitando a higienização e dificultando o acúmulo de biofilme sobre a superfície restaurada. Caso o polimento seja realizado imediatamente após o término do procedimento restaurador, a resina composta, ainda não totalmente polimerizada, poderá sofrer deformações plásticas devido ao calor gerado durante o polimento, o que

pode causar o aparecimento de fendas na interface dente/restauração. (LOPES; FRANKE; MAIA, 2002;).

A microinfiltração marginal diminui a longevidade da restauração, além de ser responsável pela formação de manchas nas margens da restauração, pelo aparecimento de cáries secundárias, inflamação pulpar e sensibilidade pós operatória, geralmente causados pela passagem de bactérias pela fenda marginal (CAMPS et al., 2000; TRIADAN, 1987).

Algumas técnicas têm sido utilizadas para pesquisar a permeabilidade marginal na interface do elemento dental com o material restaurador, São elas, o uso de corantes, isótopos radioativos, bactérias, análise de ativação de nêutrons e indução de cárie artificial (ODA, 2004).

A técnica mais utilizada de avaliação da integridade marginal é a imersão das restaurações artificialmente envelhecidas, através da utilização de ciclagem térmica, em corantes ou evidenciadores ou também como são chamados, marcadores não radioativos. Dentre os evidenciadores mais utilizados, destacam-se o azul de metileno, utilizado em concentrações que variam de 0,25 a 10 %, fucsina básica a 0,5 %, rodamina a 1 % e nitrato de prata a 50 % (ODA, 2004).

Após a imersão em corantes por um tempo determinado, as amostras podem ser avaliadas através de métodos qualitativos, por meio de observação em lupa estereoscópica e atribuição de escores crescentes realizada por examinadores calibrados, ou então através de análise quantitativa, na qual as amostras são avaliadas em equipamentos mais

sofisticados, como espectrofotômetros e microscópios conectados a computadores (AGUIAR et al, 2003; FRANCA et al, 2005).

2.4 O Laser de Er,Cr:YSGG

O principal laser utilizado atualmente para preparos cavitários é o laser de Érbio (Er:YAG – Érbio:Ítrio-Alumínio-Granada). No ano de 1997, a FDA (Food and Drug Administration), órgão responsável pelo controle médico nos Estados Unidos, aprovou a utilização do laser de Érbio em tecidos duros e em preparos cavitários. Este laser emite radiação no comprimento de onda de 2,94 μm , coincidindo com um dos picos de absorção da água e da hidroxiapatita, dois dos principais constituintes dos tecidos duros dentais. Atualmente, este equipamento tem sido utilizado com grande êxito em Dentística e em Odontopediatria, para a realização de preparos cavitários conservadores, graças à ausência de ruídos, vibração, pressão e, muitas vezes, por não exigirem anestesia, o deixam extremamente atrativos na conduta da criança, quando submetida ao tratamento odontológico.

O processo pelo qual o laser de Er:YAG promove remoção de tecido duro dental é chamado de ablação, isto é, a remoção explosiva de tecido mediada pela água. Este processo pode ser explicado pela explosão provocada pela expansão de uma pequena quantidade de água confinada

abaixo da superfície do tecido. O impacto da energia causa uma vaporização instantânea da água, o que gera um volume de expansão, com conseqüente explosão do material circundante. Esse rápido aumento de temperatura só é conseguido quando se utilizam comprimentos de onda fortemente ressonantes com o tecido alvo, principalmente com a água. A remoção do tecido mediado pela explosão da água tem demonstrado ser a mais eficiente forma de remoção tecidual, enquanto transfere um aquecimento mínimo para os remanescentes teciduais (KELLER; HIBST, 1989; PAGHDIWALA, 1993).

Outro laser que apresenta comprimento de onda adequado para remoção de tecidos duros é o Er,Cr:YSGG (erbium, chromium:yttrium-scandium-gallium-garnet) Poucos estudos foram realizados com este laser, porém, da mesma forma que o laser de Er:YAG, o laser de Er,Cr:YSGG (2.78 μm) tem se mostrado efetivo e seguro para a realização de preparos cavitários e remoção de cárie (HADLEY et al., 2000; HOSSAIN et al., 2002a; 2002b). A maioria das pesquisas utiliza o equipamento "Waterlase"TM (BiolaseTM Technology Inc., San Clemente, CA, EUA), que opera no regime pulsado, com taxa de repetição fixada em 20 Hz, duração de pulso na ordem de 140 a 150 μs , energia por pulso de 0 a 300 mJ e potência média de 0 a 6 W. O modo de entrega dos feixes laser se dá, do equipamento até a peça de mão 2415, por fibra óptica. Na saída da peça de mão 2415 uma fibra de cristal de safira é utilizada para entregar o laser ao tecido alvo (SUNG et al., 2005).

O mecanismo de corte deste laser requer a presença de um spray de água banhando a superfície da fibra que entrega a energia laser no tecido alvo, sendo esta interação laser/tecido conhecida como efeito hidrocínético (hydrokinetic system). Esse efeito hidrocínético refere-se ao processo de remoção de material biológico através da utilização de micropartículas de água altamente energizadas. Como comprimento de onda do laser é ressonante com a água, ele é altamente absorvido pelo spray, ativando o grupo hidroxila das micropartículas de água, resultando em uma violenta microexplosão, produzindo grandes forças mecânicas na superfície do tecido alvo. Essas forças hidrocínéticas resultantes promovem a separação mecânica da superfície tecidual calcificada, resultando em uma rápida e limpa remoção do tecido alvo (RIZOIU et al., 1998; SUNG et al., 2005).

A ablação de tecido duro dental utilizando-se o laser de Er,Cr:YSGG tem sido estudada por diversos autores (EVERSOLE; RIZOIU, 1995; HOSSAIN et al., 1999; KINOSHITA; MINURA; MATSUMOTO; 2003; YU et al., 2000) e, para ser considerado uma ferramenta eficaz para esta função, alguns aspectos devem ser considerados antes da sua utilização clínica.

Quando lasers são utilizados para preparos cavitários, a geração de calor durante a irradiação do tecido duro pode provocar alguns efeitos térmicos indesejáveis, como carbonizações, rachaduras e fusões no esmalte ou na dentina e até mesmo danos pulpares.

Os primeiros estudos realizados no início da década de 90 mostravam que a ablação do tecido dental pelo Er,Cr:YSGG era eficaz,

mas os autores observaram, em cortes histológicos, algumas microrrachaduras no esmalte e pequenas zonas de necrose e carbonização na dentina irradiada. Eversole e RizoIU (1995), realizaram cavidades classe I, II e V em dentes extraídos e depois avaliaram os preparos por microscopia eletrônica de varredura. O exame microscópico revelou que o esmalte irradiado sob refrigeração apresentou-se liso e com a morfologia dos prismas de esmalte conservada, e a dentina mostrou-se com os túbulos dentinários preservados. Estes resultados foram complementados por outros estudos, que desta vez irradiavam o tecido dentário com e sem refrigeração. Quando a refrigeração foi utilizada, o preparo cavitário em esmalte apresentou os prismas visíveis e paralelos entre si, com margens e superfícies lisas enquanto a dentina mostrava-se com aspecto rugoso, sem evidências de danos térmicos, com as superfícies irregulares, ausência da camada de esfregaço e túbulos dentinários abertos e claramente visíveis. Quando a refrigeração não foi utilizada, notaram-se carbonizações e fusões nas superfícies de esmalte e dentina, sendo que a superfície dentinária mostrou-se com aspecto de lava derretida e com aparência de bolhas, margens e paredes cavitárias irregulares com a presença de várias microfendas. Estes resultados sugerem que a utilização do spray de água no momento da irradiação pode prevenir danos térmicos nos tecidos duros dentais (HOSSAIN et al., 1999; HOSSAIN et al., 2002a, 2002b; ISHIZAKI et al., 2004; KIMURA et al., 2001; KINOSHITA; KIMURA; MATSUMOTO, 2003; YU et al., 2000).

É de conhecimento científico que o aumento de temperatura pode alterar a quantidade e a relação entre alguns componentes teciduais. Por este motivo, em algumas destas pesquisas, também foram realizadas análises atômico-analíticas através da espectroscopia por energia dispersiva de raios X para se verificar a quantidade e a relação de cálcio (Ca) e fósforo (P) presente nos tecidos irradiados com o laser de Er,Cr:YSGG. Estes estudos mostram que as quantidades de Ca e P (% peso) nos tecidos duros irradiados aumentaram quando comparados ao grupo controle, sem irradiação. Contudo, não houve diferenças na relação Ca/P (por peso e molar) entre os grupos irradiados e não irradiados, não havendo, assim, alterações químicas nos tecidos irradiados (YU et al., 2000). Segundo Hossain et al. (2002a), o aumento da quantidade de Ca e P ocorre devido à evaporação de componentes orgânicos no tecido decorrente do aumento de temperatura durante a irradiação.

Talvez a maior preocupação em relação ao aumento de temperatura durante preparos de cavidade com laser seja em relação à polpa dental. Zach e Cohen (1965) avaliaram a resposta pulpar frente a estímulos externos. Nesta pesquisa, um ferro de solda aquecido era aplicado no lado vestibular dos dentes de macacos. Após análise histológica, observou-se que um aumento de temperatura do tecido pulpar a partir de 5,5 °C promoveria alterações neste tecido e, se este calor fosse aplicado por um intervalo tempo maior, poderia levar à necrose pulpar. Inúmeras pesquisas neste sentido já aprovaram o uso do laser de Er:YAG em

preparos cavitários (GERALDO-MARTINS et al., 2005; KELLER; HIBST, 1992) e algumas foram realizadas com o laser de Er,Cr:YSGG.

A primeira delas foi realizada por Eversole e Rizoiu (1995), que prepararam cavidades em incisivos centrais de coelhos albinos para se verificar a condição pulpar após os preparos, todos realizados sob refrigeração. Dentre as condições estudadas, uma delas previa exposição proposital da polpa utilizando-se o laser, com 4 W de potência, comparando-o à exposição promovida por instrumento cortante rotatório (ICR). Os resultados indicaram que a exposição com o instrumento cortante rotatório resultou em pulpite e que o laser não causou inflamação pulpar. Dois anos mais tarde um estudo semelhante foi realizado, desta vez comparando a resposta pulpar, em diferentes períodos de tempo, frente a alguns parâmetros do laser para preparo cavitário e, da mesma forma que no estudo anterior, provocando exposições pulpares em cães e coelhos com o Er,CR:YSGG e instrumento cortante rotatório. Os resultados apontaram que, após o preparo das cavidades em diferentes profundidades, nenhum parâmetro (2 - 6 W e 6 segundos de irradiação) foi capaz de promover alterações pulpares nos dentes de ambos os animais. Já quando ocorreu a exposição pulpar nos dentes dos coelhos, que erupcionam continuamente e por este motivo apresentam os ápices abertos, foram observadas inflamações pulpares moderadas (laser) e severa (ICR) em até 24 horas após o preparo cavitário. Após 48 horas, em ambas as situações, foi observada ausência de inflamação do tecido conjuntivo pulpar. Quanto aos cães, os resultados apontaram normalidade

do tecido pulpar em todos os parâmetros utilizados, ou seja, segurança no uso do laser quando este não entra em contato com a polpa dental. Nos casos onde houve exposição pulpar, os dentes preparados com laser (6 W) e o grupo controle (ICR) apresentaram resultados semelhantes: infiltrado inflamatório intenso nas primeiras 48 pós preparo e necroses pulpares e inflamações periapicais maioria dos dentes 7 dias após o preparo das cavidades (EVERSOLE; RIZOIU, 1998).

Todas as reações inflamatórias citadas anteriormente são decorrentes do contato direto de instrumentos odontológicos e, muitas vezes, do aumento de temperatura intrapulpar. O estudo realizado por RizoIU et al. (1998) comparou a temperatura no interior da câmara pulpar durante preparos realizados *in vivo* e *in vitro* com ICR (com e sem refrigeração) e com laser (6 W, 20 Hz, 68,2 J/cm²). Após análise dos resultados, os autores observaram aumentos de temperatura nos preparos *in vivo* de 14,2, 3,4 e -0,5 °C, e de 14,1; 4,4 e -1,9 °C para os preparos *in vitro* nos grupos ICR sem refrigeração, ICR com refrigeração e laser respectivamente. De posse destes dados, o autor sugeriu que o laser de Er,Cr:YSGG pode ser utilizado para preparos cavitários e remoção de tecido cariado sem induzir danos pulpares.

Outros estudos avaliaram o aumento de temperatura decorrente da irradiação de tecidos duros, todos eles encontrando valores abaixo de 5,5 °C, valor este preconizado por Zach e Cohen (1965) como sendo crítico para o aparecimento de danos pulpares. Contudo, valores mais intensos de temperatura foram encontrados para os dentes irradiados em

comparação aos preparados de modo convencional sob refrigeração, mas ambos não atingindo 5,5 °C. Segundo a literatura científica atual, o sistema hidrocínético impede o avanço da temperatura dentro da câmara pulpar, o que torna o laser de Er,Cr:YSGG uma ferramenta segura para uso odontológico (HOSSAIN et al., 2002a, 2002b).

A geração de calor durante o preparo de cavidades depende também da escolha correta de parâmetros para cada procedimento a ser realizado com laser. Como a maioria dos estudos é realizada com o mesmo equipamento, a comparação dos parâmetros utilizados é realizada com maior facilidade. Com o Waterlase, é possível variar os parâmetros alterando-se a potência (W), o sistema de refrigeração do equipamento e o diâmetro da ponta de safira, contudo, a taxa de repetição é fixada em 20 Hz. A potência pode ser variada entre 0 e 6 W, com intervalos de 0,25 W. No sistema de refrigeração, pode-se alterar a quantidade de ar e/ou água que formarão o spray durante a irradiação. As fibras possuem diversos diâmetros, sendo que as mais utilizadas para preparos cavitários são a de 600 e 750 µm.

Os parâmetros indicados pelo fabricante para preparo cavitário e remoção de cárie em dentina, variam de 3 a 4,5 W, com refrigeração ajustada em 70-86 % de água e 60-100 % de ar. Já para o esmalte, os valores são um pouco maiores, variando de 4,5 a 6 W, com *spray* de ar/água ajustado para 61-100 % e 64 – 80 % respectivamente.

Por possuir menor quantidade de água e composição diferente, os parâmetros utilizados para preparos em esmalte são maiores em relação

aos da dentina (EVERSOLE et al., 1997; HOSSAIN et al., 1999; RIZOIU et al., 1998). A literatura científica apresenta valores de 6 W para preparos cavitários em esmalte, com diferentes condições em relação ao spray de ar/água, sendo estes de 70 % e 20 % respectivamente. Apenas no estudo de Hossain et al. (2002b) foi utilizado ar com 100 % de pressão e 32 % de água. Para a dentina ainda não há um consenso sobre os protocolos, mas a literatura consultada indica que estes variam de 3 a 6 W, usando-se pressão ar/água de, respectivamente, 70 e 20 %. Em lesões de cárie, os parâmetros são semelhantes a esses citados para a dentina. É importante citar que, nos protocolos testados, os autores não observaram danos térmicos nas estruturas de esmalte e dentina (EVERSOLE; RIZOIU, 1995; EVERSOLE et al., 1997; HADLEY et al., 2000; HOSSAIN et al., 1999; 2002a, 2002b; KIMURA et al., 2001; KINOSHITA; KIMURA; LIN et al., 1999; MATSUMOTO, 2003; MATSUMOTO et al., 2002; RIZOIU et al., 1998; YU et al., 2000).

Uma vantagem apresentada pelo laser de Er,Cr:YSGG, de acordo com Türkun et al. (2006), seria a de promover uma redução bacteriana na superfície dental durante o preparo cavitário ou remoção de cárie. Segundo os autores, essa descontaminação ocorre devido ao aumento de temperatura no tecido dental irradiado, que seria letal para as bactérias, e porque o laser, quando interage com a água presente nas bactérias, promove uma rápida expansão das moléculas de água, causando ruptura da membrana celular bacteriana, o que, conseqüentemente, elimina o microrganismo. Esse efeito antibacteriano já havia sido previamente

comprovado por Moritz et al. (1999), que utilizaram com sucesso os lasers de Nd:YAG, Ho:YAG e Er:YAG para descontaminação bacteriana intracanal.

Além de preparos cavitários, o laser de Er,Cr:YSGG também é avaliado em sua capacidade de preparar as superfícies de esmalte e dentina para procedimentos adesivos.

Lin et al. (1999) acreditam que as irregularidades provocadas no tecido duro dental pelo laser, assim como a ausência da camada de esfregaço, foram os motivos pelo qual não encontraram diferenças significantes nos resultados do estudo que comparou a força de cisalhamento no esmalte e na dentina preparados e/ou condicionados com laser e de modo convencional.

Hossain et al. (2002b) estudaram a microinfiltração de restaurações de resina composta em cavidades preparadas com laser de Er,Cr:YSGG e ICR, sendo que apenas nas cavidades realizadas de modo convencional foi realizado condicionamento com ácido fosfórico 30 % previamente à aplicação do sistema adesivo. Os autores não observaram diferenças nos valores de infiltração dos dois métodos analisados, sugerindo ainda que o condicionamento ácido em cavidades preparadas pelo laser deve ser evitado. Esta sugestão também foi dada por Sung et al. (2005), que compararam a resistência adesiva de restaurações realizadas em cavidades preparadas com laser de Er,Cr:YSGG e condicionadas ou não com ácido fosfórico a 37 %, com aquelas preparadas de modo

convencional. Os resultados mostraram maior força adesiva nas cavidades preparadas com laser e que não receberam o condicionamento ácido.

Estudando os efeitos de diferentes agentes de condicionamento de esmalte para cimentação de peças protéticas, Usumez e Aykent (2003) não encontraram diferenças significantes nos resultados do ensaio de microtração entre restaurações indiretas cimentadas em superfícies tratadas com laser, ácido fosfórico a 37 % e ácido maleico a 10 %.

Os resultados promissores destas pesquisas laboratoriais motivaram alguns pesquisadores para a realização estudos clínicos, que avaliaram principalmente questões como presença de dor ou desconforto e a aceitação do paciente a este novo método de tratamento da cárie.

Hadley et al. (2000) realizaram um estudo que envolveu 68 pacientes com lesões de cárie, os quais, após remoção de cárie e preparo cavitário, utilizando potências de 5,5 a 6,0 W para o esmalte e 4,0 a 5,0 W na dentina, foram avaliados quanto ao grau de desconforto durante e após o tratamento. Dentre os pacientes avaliados, 98,5 % deles não relataram nenhum desconforto durante o tratamento e no dia seguinte a este. No segundo dia pós-operatório e nos seis meses seguintes, nenhum deles relatou dor nos dentes tratados. Além disso, todos os dentes apresentaram vitalidade pulpar, ausência de cáries secundárias e restaurações sem manchamento marginal e rachaduras. Os autores concluíram que o laser de Er,Cr:YSGG foi efetivo, preciso e seguro para remoção de tecido cariado e preparo cavitário, ressaltando o grande índice de satisfação e conforto dos pacientes tratados.

O estudo de Matsumoto et al. (2002), também avaliou o grau de aceitação do paciente frente ao laser, assim como o tempo necessário para o preparo de cavidades, utilizando potências que variaram de 3 a 6 W, de acordo com o tecido a ser removido. Neste caso, 68 % não relataram sensação dolorosa, sendo que a principal queixa dos pacientes foi em relação ao ruído do equipamento laser. O tempo de preparo foi considerado longo pelos pesquisadores, que acreditam que o tempo total de tratamento pode ser reduzido com o laser, já que, na opinião dos autores, o passo do condicionamento ácido das cavidades nas restaurações adesivas pode ser excluído.

Rosenberg (2003) faz algumas sugestões para a utilização do laser em procedimentos minimamente invasivos, como a utilização da fibra de menor diâmetro possível para o procedimento a ser realizado, remover apenas o tecido cariado, mover a fibra lentamente sobre a lesão e realizar treinamento para aprimorar as técnicas de preparo cavitário.

De acordo com a literatura pesquisada, constatou-se que os parâmetros utilizados para o preparo de cavidades em tecidos duros dentais e remoção de cárie com o laser de Er,Cr:YSGG ainda não estão completamente estabelecidos, assim como a eficácia de restaurações realizadas sobre estas cavidades, o que justifica o estudo neste tema.

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo da presente pesquisa foi avaliar a qualidade do selamento marginal de restaurações de resina composta em cavidades preparadas após remoção de cárie radicular, previamente induzida *in vitro* com método bacteriano, com o laser de Er,Cr:YSGG em diferentes parâmetros, comparando-os com o método convencional de tratamento das lesões.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Grupo Amostral

Para este estudo foram utilizados 77 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 Humanos (BDH) da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FOUSP através do parecer número 175/04 (Anexo A).

Os dentes foram examinados com lupa no intuito de detectar presença de lesão de cárie prévia, mesmo que incipiente. Os dentes que apresentaram essa condição foram devolvidos ao BDH.

4.2 Indução da Cárie Radicular

A indução de cárie foi realizada seguindo a metodologia previamente utilizada por Mello et al. (2006), com pequenas modificações.

Após a limpeza, os dentes tiveram as coroas separadas das raízes, a 1 mm da junção amelo-cementária com o auxílio da máquina de cortes

Labcut 1010 (EXTEC – Division of Excel Technologies INC, Einfeld -CT, EUA) (Figura 4.1A). Em seguida, as raízes foram cortadas no sentido mesio-distal, obtendo-se assim duas metades. Cada metade radicular foi novamente seccionada, obtendo-se um bloco de 5 mm de altura por 5 mm de largura (Figura 4.1B). Para a indução de cárie, foram criadas janelas em todos os fragmentos, com o tamanho de 3 x 3 mm (Figura 4.1C). Para a padronização destas janelas, foram recortadas etiquetas de embalagens no tamanho calculado, que foram posicionadas sobre a superfície da dentina radicular.

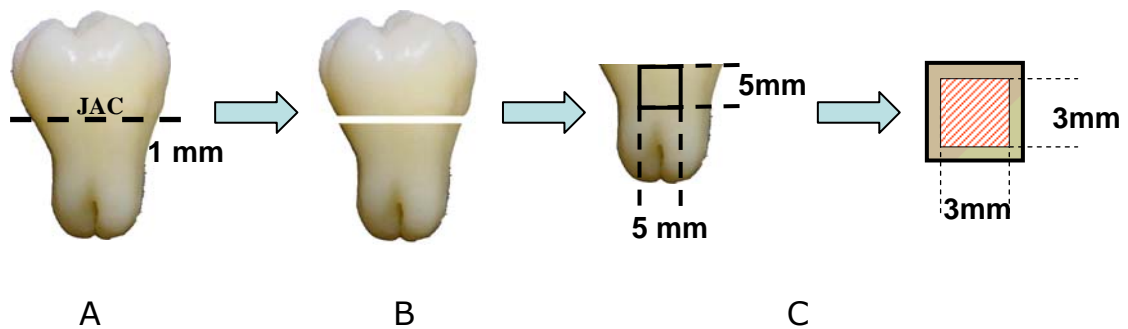


Figura 4.1 - Esquema de obtenção dos espécimes a partir de uma metade de raiz (JAC – Junção Amelo-Cementária)

Em seguida, as amostras foram incluídas em resina acrílica autopolimerizável (Orto Cril – Vipi Produtos Odontológicos, Pirassununga - SP) e impermeabilizadas com esmalte de unha, para que a indução de cárie ocorresse somente nos locais onde as etiquetas foram posicionadas. Após isso, as etiquetas foram removidas, expondo a superfície da dentina radicular e as amostras foram colocadas em placas de cultivo celular de 24 poços (Nunc, Wiesbaden, Alemanha).

Antes da indução de cárie, todo o conjunto foi esterilizado com radiação gama, pois, para utilizarmos um sistema bacteriano, os espécimes têm que estar livres de contaminação. Este processo foi realizado no IPEN (Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares), utilizando o aparelho modelo Gamacell 220 (Atomic Energy of Canadá Ltd.), o qual utiliza uma fonte de cobalto que irradia a amostra por todos os lados. A irradiação Gama (dose 25 KGY) mostrou ser o método mais aceitável para teste cariogênico (AMAECHEA; HIGHAM; EDGAR, 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 os meio de cultura BHI (Brain Heart Infusion – Difco (BD) Sparks –MD, EUA) ágar e caldo, acrescidos com 5 % de sacarose, pois o microrganismo utilizado é sacarose-dependente.

Nesse experimento foram utilizadas cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), com cariogenicidade estabelecida e conhecida, obtidas de uma amostra mantida congelada em glicerol 20 % (MONTANARO et al., 2004; SEEMANN et al., 2005).

Após descongelamento do estoque da cepa de *S. mutans*, com o auxílio de uma micropipeta, 100 µl dessa amostra foram semeados em quatro placas petri contendo BHI ágar, através da técnica de esgotamento, fazendo-se uma série de estrias para distribuir melhor os microorganismos e assim obter colônias isoladas, além de se verificar o grau de pureza das cepas. Estas placas foram incubadas em estufa de CO₂

a 10 % e a 37°C durante 48 horas. Após o crescimento bacteriano, algumas colônias foram removidas das placas e inoculadas em quatro tubos de ensaio contendo, cada um, 10ml de BHI estéril (Figura 4.2 A). Em seguida, os tubos foram incubados sob as mesmas condições descritas anteriormente. Todos os procedimentos foram realizados dentro do fluxo laminar para se evitar contaminação do meio de cultura.

Após 6 horas de incubação, a análise de crescimento bacteriano foi realizada através da leitura da densidade óptica do caldo em espectrofotômetro ($\lambda = 550 \text{ nm}$), sendo que a absorbância intrínseca do meio de cultura foi descontada. Para a obtenção de uma concentração de aproximadamente $8,8 \times 10^7$ de UFC/ml, utilizou-se como densidade óptica $A_{550} = 0,7 \pm 0,05$.

Em seguida, 150 μl da cultura foram inoculados em tubo contendo 150 ml de BHI obtendo-se, desta forma, uma solução diluída em 1:1000 (Figura 4.2 B). Dois mililitros dessa solução foram aplicados em cada um dos poços das placas de cultivo celular que continham as amostras de dentina. Essas placas foram incubadas em estufa de CO_2 a 37 °C (Figura 4.2 C).

Nos 4 dias subseqüentes à inoculação das bactérias nas placas de cultivo celular, o meio de cultura foi trocado a cada 24 horas. A partir do quinto dia, o meio foi trocado a cada 48 horas, sendo esse procedimento repetido por 20 dias.

A cada 48 horas era feita a verificação quanto à contaminação dos caldos por outro tipo de bactéria. Para o controle de ausência de

contaminação o caldo inóculo era semeado pela a técnica de esgotamento, para a obtenção de colônias isoladas, em placa contendo BHI. Após 24 ou 48 horas de incubação 37 °C, era verificado se todas as colônias crescidas apresentavam aspectos semelhantes entre si, assim como características do *S. mutans*. Também foram realizados exames microscópicos de esfregaços corados em algumas culturas pelo método de Gram. As lâminas foram observadas ao microscópio de luz com objetiva de imersão para poder observar se houve crescimento de culturas puras.

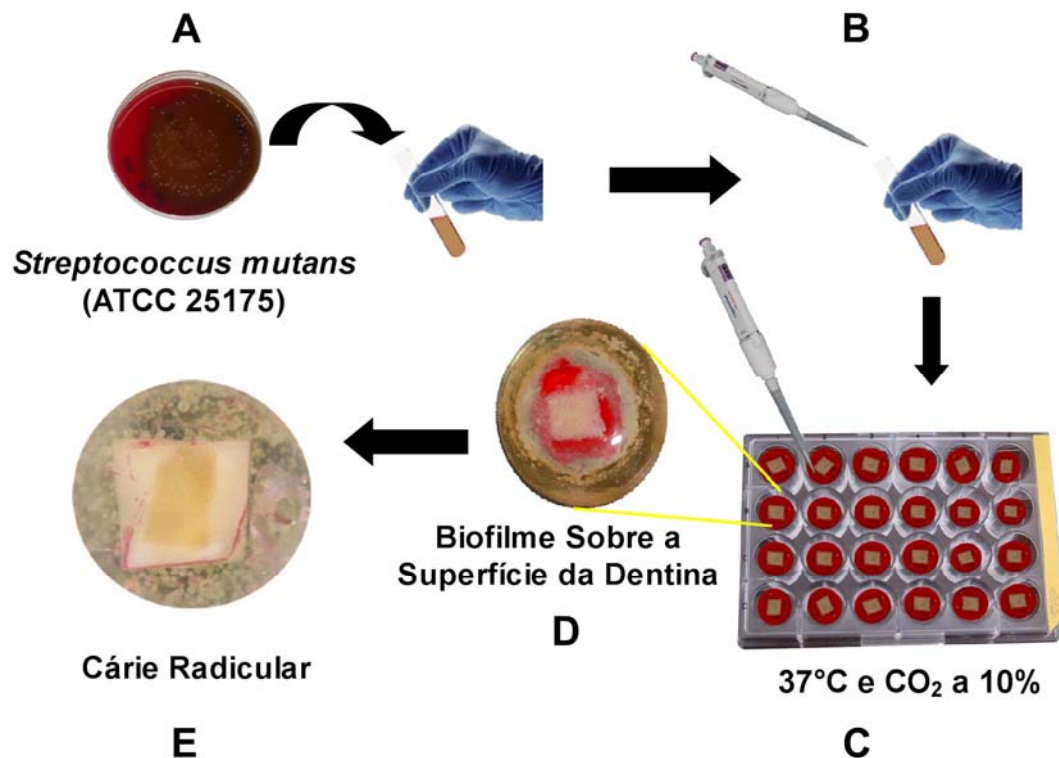


Figura 4.2 - Etapas do desafio cariogênico.

4.3 Grupos Experimentais

Após a obtenção das lesões de cárie (Figura 4.2 E), as 154 amostras (conjunto fragmento/dente/resina) foram retiradas dos poços.

As amostras (11 por grupo) foram divididas nos seguintes grupos experimentais:

Grupo 1: (Controle) Remoção da lesão de cárie com instrumento cortante rotatório (ICR).

A remoção da cárie foi realizada com caneta de baixa rotação KaVo (KaVo do Brasil, Joinville, Brasil) e ICR esférico de número 4 compatível com o tamanho da lesão cariada.

Grupos 2 ao 14: Remoção da lesão de cárie com o laser de Er,Cr:YSGG modelo "Waterlase"TM (BiolaseTM Technology Inc., San Clemente, CA, EUA).

Esse equipamento, de propriedade do LELO (Laboratório Especial de Laser em Odontologia), adquirido através do projeto CEPOF-FAPESP (98/14270-8), opera no regime pulsado, emite luz no comprimento de onda de 2,78 μm , com frequência fixada em 20 Hz, duração de pulso na ordem de 140 a 150 μs , energia por pulso de 0 a 300 mJ e potência média de 0 a 6 W. O modo de entrega dos feixes laser se dá, do equipamento até a peça de mão 2415, por fibra óptica. Na saída da peça de mão 2415, uma fibra de safira, modelo "G", com 600 μm de diâmetro e 4 mm de comprimento foi utilizada. De acordo com o fabricante, o foco ideal para preparos cavitários utilizando a fibra proposta é de 1 mm, ou seja, praticamente com a ponta da fibra encostada no dente (modo não contato). A tabela 4.1 descreve os parâmetros utilizados em cada grupo:

Tabela 4.1 - Parâmetros para o *laser* de Er,Cr:YSGG para remoção de cárie radicular.
*Valor indicado no *display* do equipamento

Grupos	Taxa de Repetição (Hz)	Potência* (W)	Energia por pulso (mJ)	Densidade de Energia (J/cm²)
2	20	1,0	50	17.86
3	20	1,25	62,5	22.32
4	20	1,5	75	26.79
5	20	1,75	87,5	31.25
6	20	2,0	100	35.71
7	20	2,25	112,5	40.18
8	20	2,5	125	44.64
9	20	2,75	137,5	49.11
10	20	3,0	150	53.57
11	20	3,25	162,5	58.04
12	20	3,5	175	62.50
13	20	3,75	187,5	66.96
14	20	4,0	200	71.43

Para todos os grupos, a refrigeração foi realizada com *spray* de ar/água, regulados, de acordo com as especificações do equipamento, em 55 % de ar e 65 % de água.

A remoção de cárie foi cessada assim que, visualmente e por exame de inspeção com sonda exploradora, não se observou tecido cariado na cavidade.

Após o tratamento das lesões de cárie, 1 espécime de cada grupo (14 espécimes) foi processado para microscopia eletrônica de varredura com o objetivo de se realizar observação morfológica da superfície das paredes cavitárias. O preparo para a microscopia será descrito posteriormente.

Após o preparo cavitário, foi realizada a aplicação do sistema adesivo autocondicionante Clearfil SE Bond (Kuraray, Japão) de acordo

com as recomendações do fabricante. Em seguida, foi realizada a fotopolimerização do adesivo dentinário, com o aparelho fotopolimerizador XL 3000 (3M, St. Paul, MN, EUA), por 10 segundos. A restauração das cavidades foi efetuada com a resina composta de baixa viscosidade Palfique Estelite LV (J. Morita Inc., CA - EUA), através da técnica incremental de inserção da resina. A fotopolimerização dos incrementos de resina foi realizada com o fotopolimerizador XL 3000 por 30 segundos. Vinte e quatro horas após o procedimento restaurador foi realizado o acabamento e o polimento destas restaurações com discos Soft-lex (3M).

4.4 Tempo de Remoção de Cárie

O tempo necessário para remoção de cárie, em cada grupo, foi avaliado com a utilização de um cronômetro (modelo SL928M - Oregon Scientific, Portland - OR, EUA). O cronômetro era disparado no momento em que o laser ou instrumento rotatório entrava em contato com a cavidade, assim como era parado ao final do preparo cavitário ou quando havia a necessidade de inspeção da cavidade quanto à remoção do tecido cariado.

4.5 Normas de Segurança

Para os experimentos com os lasers, foram seguidas 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 avisos de advertência na porta da sala onde o laser foi utilizado.

4.6 Tratamento Térmico das Restaurações

Nesse estudo, antes da realização do teste de microinfiltração, todos os espécimes com cavidades restauradas foram termociclados com 1000 ciclos alternando entre 5 °C e 55 °C, com 3 segundos de intervalo e 1 minuto de imersão.

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

4.7 Microscopia Eletrônica de Varredura

Para a microscopia eletrônica de varredura, os espécimes foram imersos em solução de glutaraldeído a 2,5 % (SPI – CHEN – Spi supplies, PA, EUA), tamponada com solução de fosfato de sódio 0,1M, pH 7,4 (Sigma, St. Louis, MO, EUA), por 12 horas a 4°C, para fixação. Em seguida, os espécimes foram lavados três vezes por 10 minutos cada com água destilada. A pós-fixação foi feita com solução de 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 0,1M. A seguir, os espécimes 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, sob capela, secas no ar sobre um papel filtro dentro de um recipiente de vidro, para que ocorresse 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.

Em seguida, os espécimes foram fixados nos *stubs* de alumínio (Electron Microscopy Sciences, EUA) com éster de cianoacrilato em gel (Super Bonder, Loclite 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 120 nm.

A microscopia eletrônica de varredura foi realizada no microscópio eletrônico de varredura Leo 430.

4.8 Teste de Micro-infiltração

Para o teste de microinfiltração os espécimes foram imersos em solução de azul de metileno 2 % (pH=7) por 4 horas a 37 °C (ARANHA & PIMENTA, 2004; CALHEIROS et al., 2004). Decorrido este período os espécimes foram lavados em água corrente e seccionados na máquina Labcut 1010, onde duas metades foram obtidas para análise do grau de microinfiltração das restaurações.

4.9 Análise Morfométrica das Restaurações

Realizados os cortes, estes foram observados em lupa estereoscópica (Zeiss – Stemi SV11) e a hemisseção com maior quantidade de corante foi escolhida para ser fotografada com o auxílio de uma câmera de vídeo (CCD Sony Color Vídeo – Sony, Japão). As imagens obtidas foram analisadas quanto ao grau de microinfiltração no *software* PowerPoint (Microsoft Corporation, Mountain View – CA, EUA), no qual foi elaborado um gabarito para se verificar o índice de infiltração.

Este gabarito (figura 4.3) era constituído por uma grade de linhas verticais e horizontais que se entrecruzavam formando quadrados com 100 µm de lado (0,01 mm² de área). Essa grade era posicionada sobre as imagens das amostras e, em seguida, fazia-se a morfometria das cavidades. Desta forma, foi possível calcular a profundidade média das cavidades (figura 4.3), a área da interface dente/restauração, a área da interface infiltrada e quantidade de cárie não removida das paredes cavitárias (figura 4.4). O índice de infiltração foi calculado dividindo-se a área da interface que foi infiltrada pelo corante pela área total da interface adesiva (dente/restauração). Este método já foi previamente utilizado para a contagem de células e demais estudos morfométricos (FEIST et al., 2003; JAEGER; DODANE; KACHAR, 1994).

Profundidade

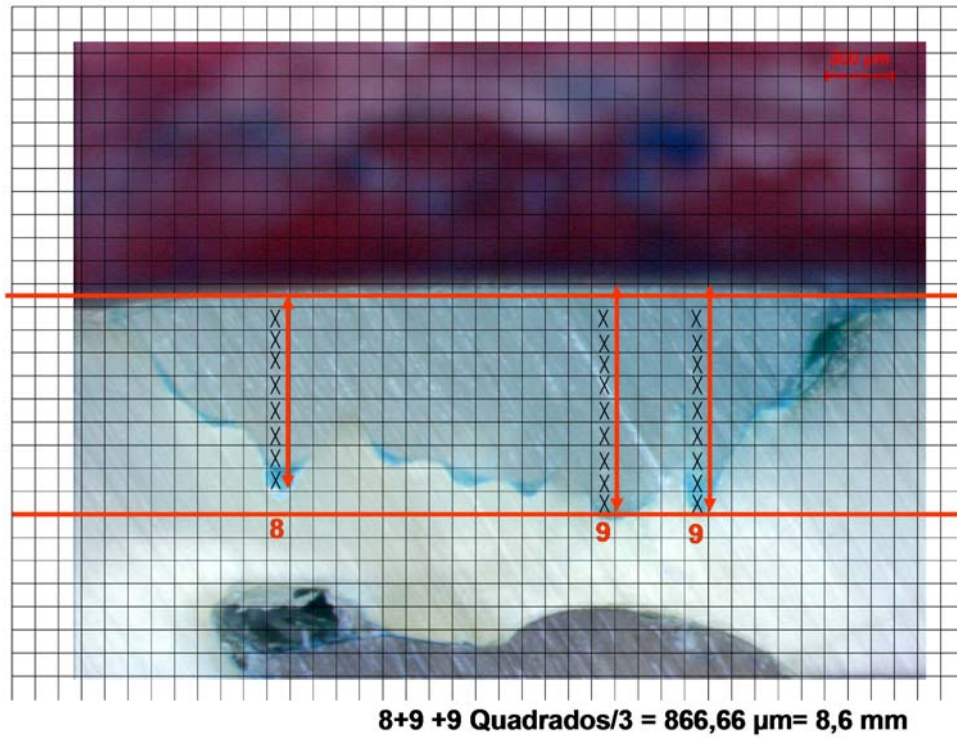


Figura 4.3 - Método utilizado para medição da profundidade média das cavidades

Interface Dente-Restauração

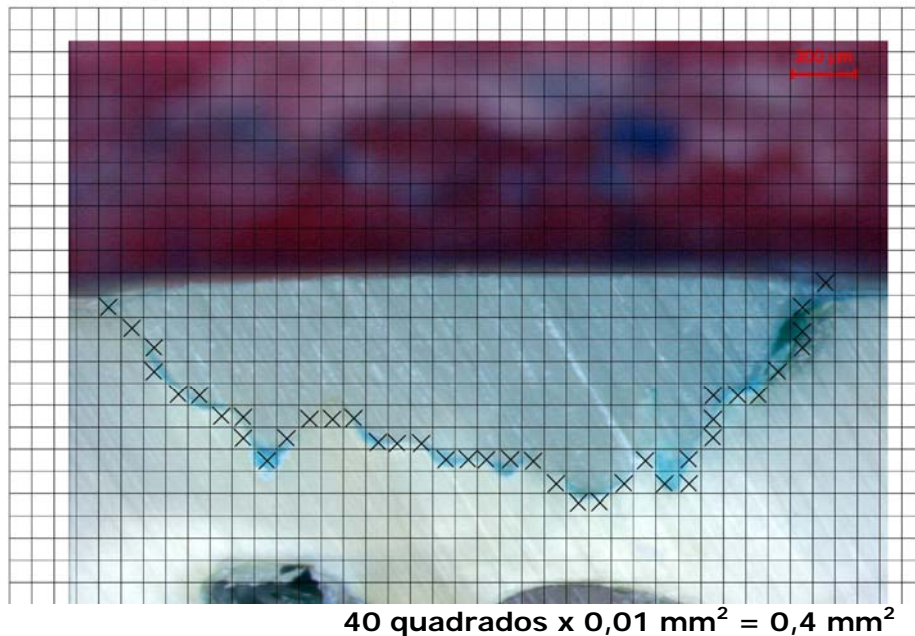


Figura 4.4 - Método utilizado para medição da interface dente/restauração, interface infiltrada e cárie residual

4.10 Análise Estatística

Os dados obtidos serão apresentados como médias \pm o erro padrão da média dos resultados obtidos de dez espécimes para cada grupo experimental. A escolha do teste em cada quesito analisado foi realizada após análise de aderência à curva normal dos dados, utilizando o teste de Kolgomorov-Smirnov. Para os dados não-paramétricos, optou-se pelo teste de Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Dunn. Para os paramétricos, foi realizada a análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de Tukey. Foi realizado o teste de correlação para comparar o tempo de utilizado para a remoção de cárie e a potência do laser de Er,Cr:YSGG dos diferentes grupos experimentais, assim como a relação entre o índice de infiltração e a quantidade de cárie residual. Para tal, o teste de escolha foi o de D'Agostino seguido pela análise de Spearman. A análise estatística foi realizada com o software BioEstat 3.0 (BioEstat LTDA., Goiânia, GO, Brasil), sendo que o nível de significância adotado foi o de 5% ($p \leq 0,05$).

4.11 ASPECTOS ÉTICOS

A pesquisa foi realizada em dentes humanos, extraídos por motivos não relacionados a esta pesquisa, obtidos no banco de dentes da FOU SP,

não envolvendo experimentação em seres humanos. O projeto foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da USP e o parecer consta nos itens em anexo desta tese.

5 RESULTADOS

5.1 Morfologia das Cavidades Resultantes da Remoção do Tecido Cariado

A Figura 5.1 apresenta eletromicrografias de varredura representativas das cavidades preparadas tanto com instrumento cortante rotatório (ICR) quanto com laser de Er,Cr:YSGG.

As cavidades preparadas pelo método convencional mostraram margens bem definidas (Figura 5.1A), superfícies lisas ou com poucas irregularidades e com a camada de esfregaço obliterando os túbulos dentinários (Figura 5.1B).

Independentemente dos parâmetros utilizados, as cavidades preparadas com laser apresentaram margens visíveis, porém mais irregulares do que aquelas observadas no grupo controle (Figuras 5.1 C, E, G e I).

Diferenças morfológicas entre as superfícies dentinárias dos grupos irradiados foram notadas quando a parede pulpar das cavidades obtidas foi observada (Figuras 5.1 D, F, H e J). Amostras irradiadas com 1,0 W de potência apresentaram superfície dentinária coberta por um material amorfo, que obliterava a maioria dos túbulos dentinários (Figura 5.1 D). Quando a potência foi aumentada para 2,0 W, a parede pulpar apresentou

ausência da camada de esfregaço e exposição dos túbulos dentinários. Também foi possível observar a presença de um colar de dentina peritubular protruindo da superfície dentinária (Figura 5.1 F).

Nos grupos experimentais onde as lesões de cárie foram removidas com irradiação com laser de Er,Cr:YSGG utilizando os maiores parâmetros, como 3,0 e 4,0 W (Figuras 5.1 H e J, respectivamente), observou-se, de maneira geral, uma superfície em escamas, com ausência da camada de esfregaço e túbulos dentinários abertos. Esses túbulos apresentavam diâmetros menores do que aqueles observados nas amostras irradiadas com parâmetros mais baixos (Figura 5.1 F), assim como crateras, distribuídas de forma irregular. Durante as análises das amostras irradiadas não foram observadas rachaduras nem sinais de carbonização.

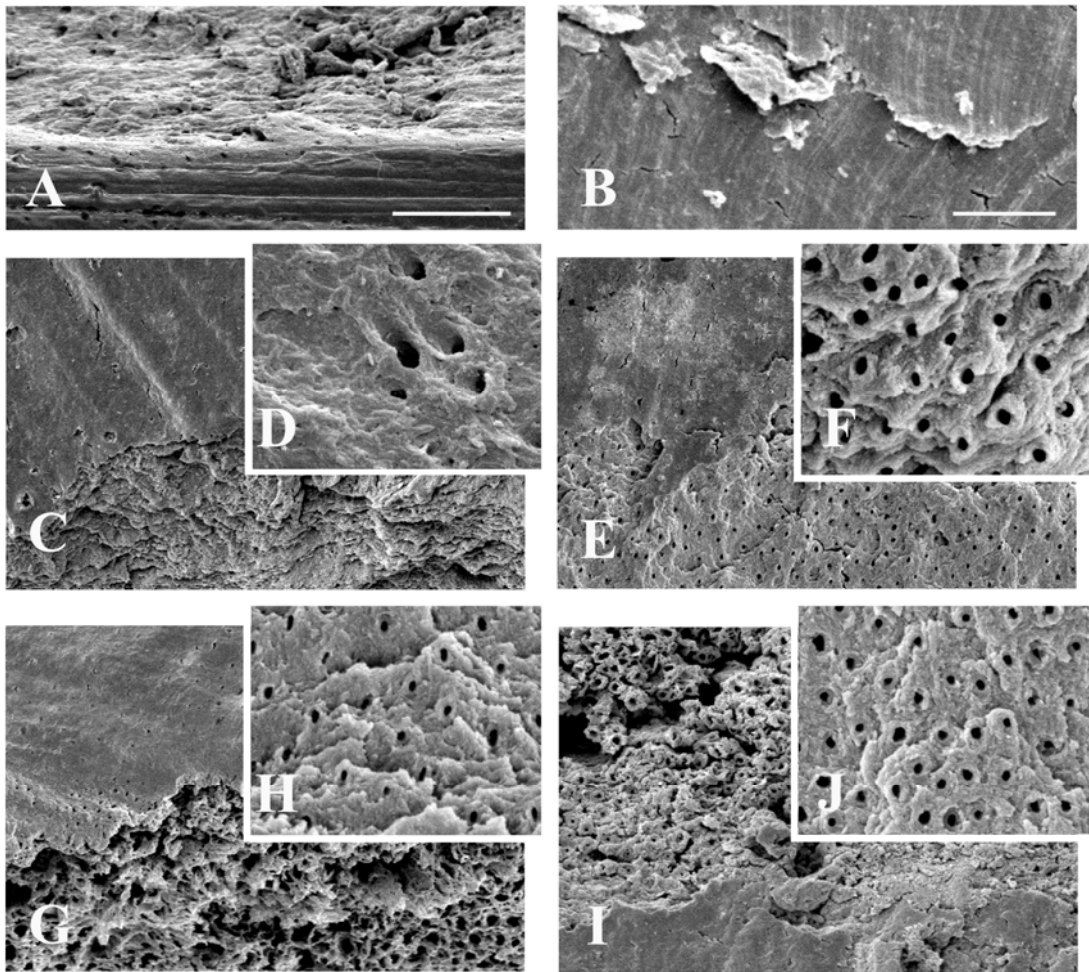


Figura 5.1 - Eletromicrografias de varredura representativas das cavidades preparadas com ICR (A e B) e com laser de Er,Cr:YSGG (C a J). Margens cavitárias bem definidas (A) e parede pulpar coberta pela camada de esfregaço (B) são observadas nas cavidades preparadas com ICR. As cavidades preparadas com laser, com parâmetros de 1,0 W (C e D) apresentaram margens irregulares (C), superfície dentinária regular e coberta por material amorfo (D). Já com 2,0 W, são observadas margens irregulares (E) e parede pulpar com ausência da camada de esfregaço, túbulos dentinários abertos e dentina peritubular protruída (F). As mesmas características são observadas nos parâmetros 3,0 (G e H) e 4,0 W (I e J). Observam-se também, nestes grupos, a presença de crateras na superfícies próximas à margem cavitária (G e I). Aumento original de 500x (A, C, E, G, I) e de 2000x (B, D, F, H e J).

5.2 Tempo de Remoção de Cárie

A remoção das lesões de cárie foi realizada em tempos diferentes em função da utilização dos diferentes métodos. Esse tempo variou de $17,95 \pm 2,59$ s para o grupo onde as lesões foram removidas pelo método convencional, ou seja, com ICR (Grupo 1) até $124,44 \pm 3,43$ s para o grupo tratado com irradiação com o laser de Er,Cr:YSGG com o parâmetro mais baixo, ou seja 1,0 W (G2). A representação gráfica destes resultados está apresentada na Figura 5.2.

Os tempos utilizados para a remoção das cáries de raiz realizada por irradiação com laser de Er,Cr:YSGG (G2 a G14) foram estatisticamente superiores ($p > 0,05$) aos utilizados para a remoção de cárie pelo método convencional (G1), independentemente dos parâmetros de irradiação utilizados. Diferenças estatísticas também foram observadas nos tempos utilizados para a remoção das cáries de raiz entre os grupos tratados com laser, sendo que houve uma forte correlação ($r_s=0,98$ e $p < 0,01$) inversa entre esses tempos e as potências aplicadas, ou seja, quanto menor a potência maior o tempo necessário para remoção do tecido cariado (Quadros 5.1 e 5.2).

Resultados	Tempos (s)	Parâmetros
Tamanho da amostra =	130	130
D (Desvio) =	0,2858	0,2878
Valores críticos 5%	0,2755 a 0,2857	0,2755 a 0,2857
Valores críticos 1%	0,2730 a 0,2866	0,2730 a 0,2866
p =	p < 0,05	p < 0,01

Quadro 5.1 - Resultados do teste de Kolmogorov-Smirnov (normalidade) realizado previamente ao teste de correlação

	Resultados
Coeficiente de Spearman (rs)=	-0,9833
t =	-61,1085
(p)=	0,0000
Número de pares =	130

Quadro 5.2 - Teste de Correlação de Spearman

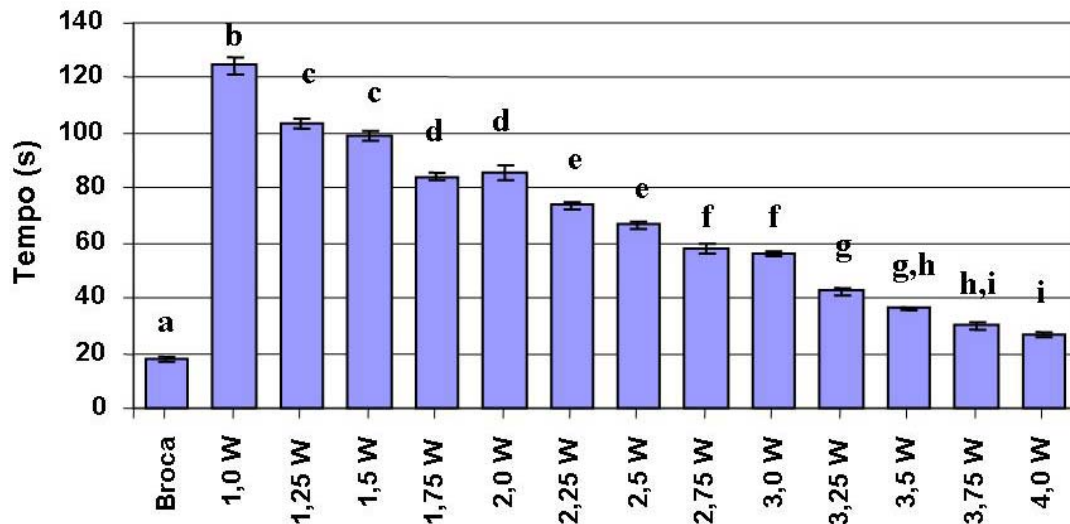


Figura 5.2 - Média \pm o erro padrão das médias dos tempos necessários para remoção das lesões de cárie radicular nos diferentes grupos experimentais. Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significantes

5.3 Morfometria das Restaurações

Utilizando microscopia de luz foi realizada a morfometria das restaurações. Foram mensuradas: a profundidade média, a área de interface dente-restauração, a área destas interfaces microinfiltradas pelo corante, além disso também foram mensuradas as áreas onde tecido cariado estava presente nos bordos das restaurações.

Os valores de profundidade média das restaurações de cada um dos grupos experimentais estão representados graficamente na Figura 5.3. Os dados, expressos em média \pm erro padrão da média, foram avaliados estatisticamente pelo teste de Kruskal-Wallis, já que a análise da normalidade dos dados dos grupos estudados não apresentou aderência à curva normal. Foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre as profundidades médias das cavidades em função dos grupos experimentais. Estas profundidades variaram entre $0,65 \pm 0,01$ mm (G3) até $1,04 \pm 0,05$ (G13).

De acordo com os resultados obtidos, foi possível observar que as amostras do grupo controle e aquelas irradiadas com potências inferiores a 2,75 W apresentaram menores profundidades em relação aos grupos irradiados com potências mais elevadas ($p < 0,05$). As amostras irradiadas com 1,25 e 1,5 W, apresentaram as menores profundidades ($0,65 \pm 0,01$ mm e $0,67 \pm 0,03$ mm respectivamente), e nos grupos 11 e

13, estavam as cavidades mais profundas ($1,03 \pm 0,05$ mm e $1,04 \pm 0,05$ mm, respectivamente).

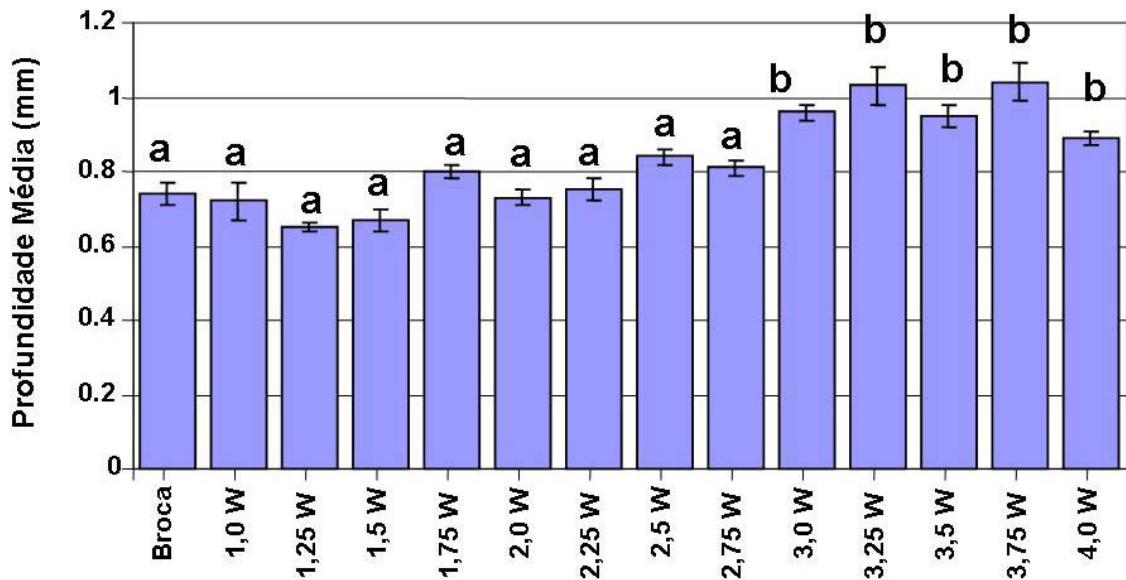


Figura 5.3 - Profundidades médias nos diferentes grupos experimentais \pm o erro das médias. Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significantes

A figura 5.4 mostra a área da interface dente/restauração (mm^2) das amostras dos 14 grupos estudados. Os dados, expressos em média \pm o erro padrão das médias, foram avaliados estatisticamente pela análise de variância (ANOVA), utilizando-se um critério, já que houve aderência dos dados à curva normal, seguido pelo teste de Tukey.

O grupo controle foi o que apresentou menor área de interface dente/restauração ($0,33 \pm 0,015 \text{ mm}^2$), seguido pelos grupos 2 e 3, que apresentaram área de interface com valores de $0,44 \pm 0,015 \text{ mm}^2$ e $0,44 \pm 0,009 \text{ mm}^2$ respectivamente. Esses três primeiros grupos foram

estatisticamente diferentes dos demais grupos, que apresentaram maiores áreas de interface ($p < 0,05$), com destaque para o grupo 10 ($0,52 \pm 0,019 \text{ mm}^2$), onde a potência utilizada foi de 3,0 W.

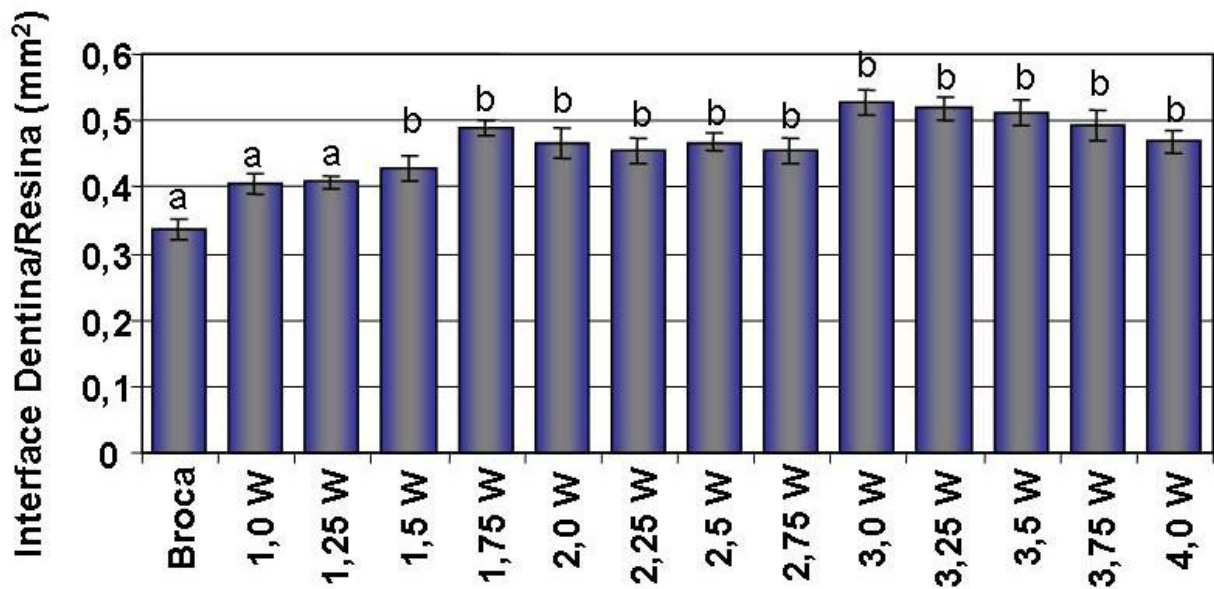


Figura 5.4 - Área média da interface dente/restauração \pm o erro das médias nos diferentes grupos experimentais. Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas

5.4 Análise da Microinfiltração

Para a análise da microinfiltração nas cavidades restauradas, foi utilizado um índice de infiltração que correspondia à razão da área da interface infiltrada pela área da interface dente/restauração.

A figura 5.5 mostra algumas imagens das cavidades após o corte das amostras. É possível observar em uma cavidade preparada com instrumento cortante rotatório (Figura 5.5 A) que não ocorreu infiltração

do corante nas paredes da cavidade. Já nas demais imagens (Figuras 5.5 B, C e D), onde as cavidades foram preparadas com o laser de Er,Cr:YSGG, pode-se observar infiltração do azul de metileno ao longo da interface dente/restauração, além da presença de cárie residual nas paredes cavitárias. Nas imagens das figuras 5.5 A, B e C ainda é possível verificar a proximidade da parede pulpar dos preparos com a câmara pulpar.

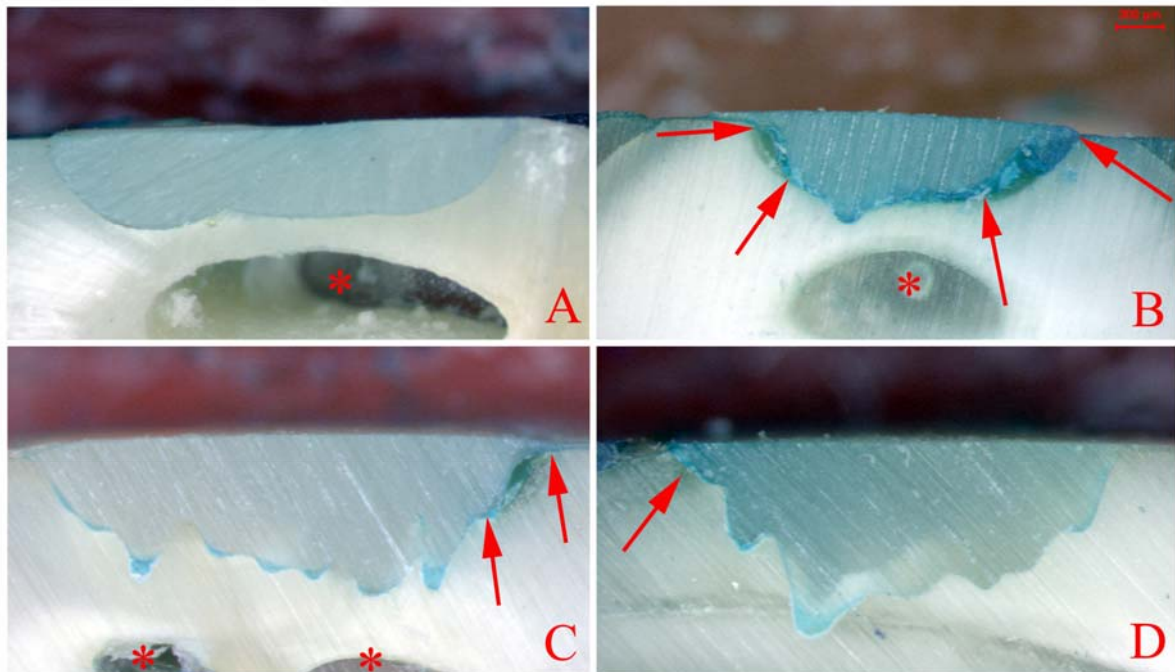


Figura 5.5 –Fotomicrografias representativas das cavidades restauradas após o preparo cavitário com ICR (A) e com laser, com potências de 2,0 W (B), 3,0 W (C) e 4,0 W (D). As setas indicam lesões de cárie residual nas paredes cavitárias. O símbolo (*) identifica a câmara pulpar

A figura 5.6 ilustra graficamente a área da interface infiltrada (mm^2) das amostras dos 14 grupos estudados. Os dados, expressos em média \pm o erro padrão das médias, foram avaliados estatisticamente pela análise

de variância (ANOVA), utilizando-se um critério, seguido pelo teste de Tukey. De acordo com este gráfico, foi possível observar que as amostras do grupo controle e aquelas irradiadas com 1,5 W de potência apresentaram menor área de infiltração em relação aos demais grupos ($p < 0,05$), onde a área infiltrada variou de $0,26 \pm 0,062$ a $0,45 \pm 0,016$ mm² nos grupos 7 e 8, respectivamente.

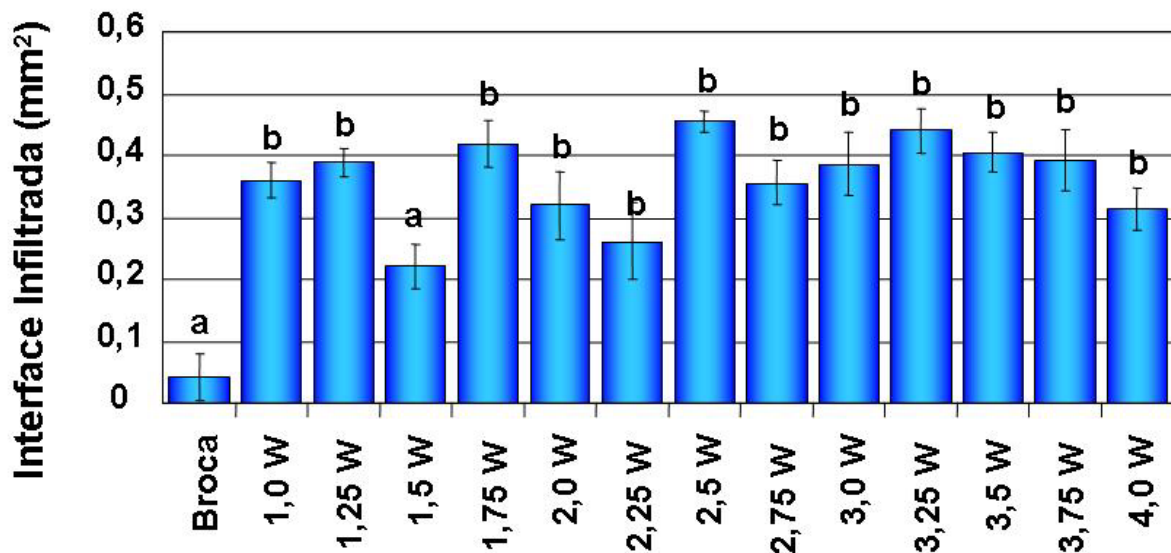


Figura 5.6 – Áreas médias \pm o erro das médias das interfaces infiltradas nos diferentes grupos experimentais. Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas

Após a obtenção da área infiltrada e da área da interface dente/restauração, foi calculado o índice de infiltração, cuja fórmula foi descrita anteriormente. No gráfico da Figura 5.7, onde os valores estão expressos em média \pm o erro padrão das médias, e os dados foram avaliados pela análise de variância (ANOVA), seguido pelo teste de Tukey ($p = 0,05$), observou-se que o grupo controle apresentou grau de

infiltração significativamente menor que os dos grupos onde as amostras foram tratadas com o laser de Er,Cr:YSGG ($p < 0,05$). Os índices de microinfiltração dos grupos tratados com o laser de Er, Cr:YSGG variaram entre $0,54 \pm 0,1$ (G4) até $0,95 \pm 0,04$ (G3), porém sem diferenças significantes entre eles ($p > 0,05$).

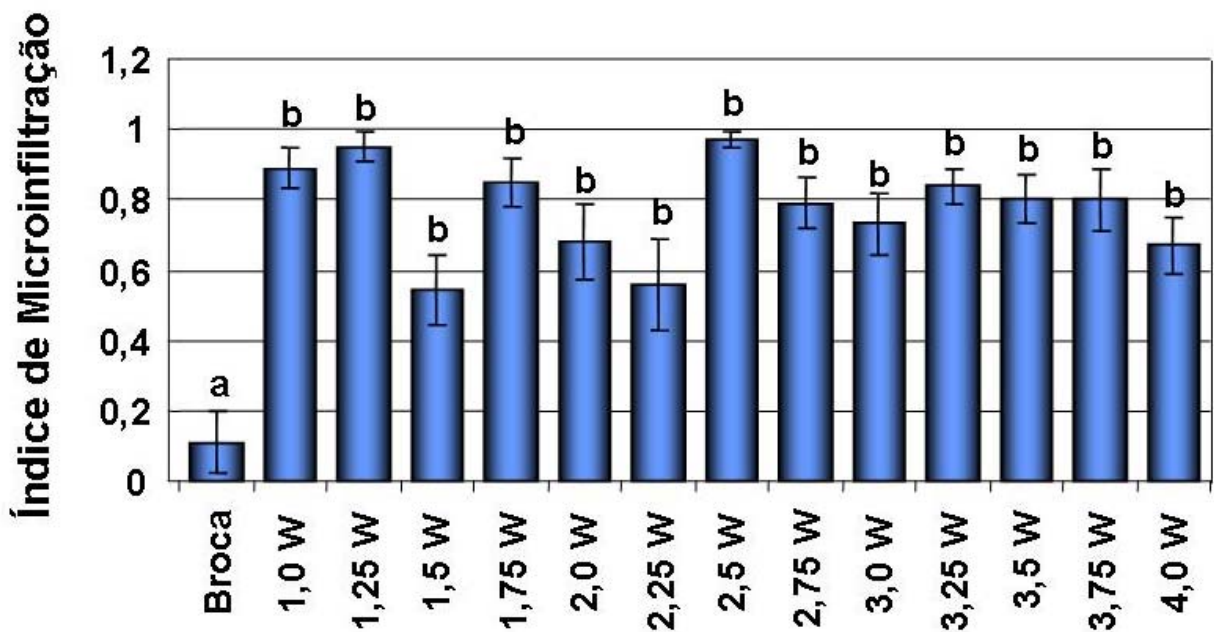


Figura 5.7 - Médias \pm o erro das médias dos índices de infiltração nos diferentes grupos experimentais. Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significantes

5.5 Detecção de Tecido Cariado sob as Restaurações

Durante a observação das amostras em lupa estereoscópica foi possível verificar, sob as restaurações, a presença de cárie residual nas paredes cavitárias, como ilustrado na Figura 5.5 (B, C e D).

Assim, com a finalidade de se avaliar a quantidade de tecido cariado remanescente em cada grupo, foi elaborado o gráfico da figura 5.8, no qual se pode notar a ausência deste remanescente no grupo controle, enquanto que em todos os grupos tratados com laser a cárie residual esteve presente, em maior quantidade nas amostras irradiadas com os menores (1,0 e 1,25 W) e com os maiores parâmetros (3,75 e 4,0 W), com diminuição da área afetada nos parâmetros intermediários.

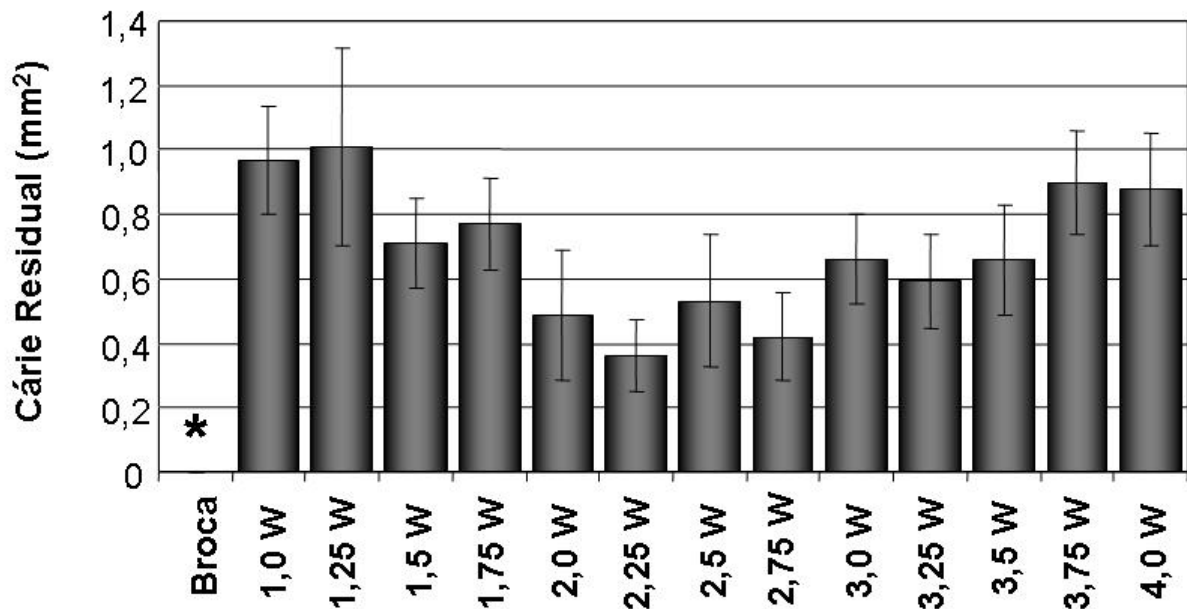


Figura 5.8 – Áreas médias das lesões de cárie residual nos diferentes grupos experimentais. *Significativamente menor que os demais grupos

Para se avaliar se a quantidade de tecido cariado remanescente teve influência no grau de infiltração, foi realizado o teste não paramétrico de correlação de Spearman, já que os dados de origem apresentaram-se não normais (Quadro 5.3). De acordo com Quadro 5.4, houve forte correlação

entre a quantidade de cárie residual e o grau de infiltração, sendo um diretamente proporcional ao outro.

Resultados	Col 1	Col 2
Tamanho da Amostra	140	140
D (desvio)	0,2735	0,2609
Valores Críticos 5 %	0,2758 a 0,2856	0,2758 a 0,2856
Valores Críticos 1 %	0,2734 a 0,2865	0,2734 a 0,2865
p	p <0,05	p <0,01

Quadro 5.3 – Teste de Normalidade de D’Agostino

	Resultados
Coeficiente de Spearman (rs)	0,2229
T	2,6861
P	0,0081
Número de Pares	140

Quadro 5.4 – Teste de Correlação de Spearman

6 DISCUSSÃO

Este estudo teve como objetivo avaliar a qualidade do selamento marginal de restaurações de resina composta realizadas após remoção de lesões de cárie radicular. Desta forma, lesões de cárie radicular foram experimentalmente induzidas em fragmentos de raízes dentais humanas, utilizando-se um modelo bacteriano, e depois removidas ou pelo método convencional, utilizando-se turbina de baixa rotação e instrumento cortante rotatório (ICR) esférico, ou pelo laser de Er,Cr:YSGG em diferentes potências (1 a 4 W) ou densidades de energia (17,86 a 71,43 J/cm²). As cavidades foram restauradas com resina composta de baixa viscosidade e, em seguida, as amostras foram submetidas ao teste de microinfiltração. Durante a realização da parte experimental e da leitura da microinfiltração das cavidades, alguns dados auxiliares foram coletados, como o tempo necessário para remoção das lesões de cárie, a profundidade das cavidades, a área da interface dente/restauração e a presença de cárie residual sob as restaurações. Além disso, as superfícies das cavidades preparadas pelos dois métodos em questão foram avaliadas em microscopia eletrônica de varredura.

De acordo com os resultados obtidos, pode-se notar que as lesões de cárie são removidas com maior velocidade pelo ICR quando comparado ao laser de Er,Cr:YSGG, mesmo quando os maiores parâmetros foram utilizados. A análise das superfícies dentinárias remanescentes, em

microscopia eletrônica de varredura, revelou que as margens das cavidades preparadas com ICR eram mais regulares em comparação àquelas preparadas com o laser, e que as paredes cavitárias apresentavam-se lisas e com a camada de esfregaço obliterando a abertura dos túbulos dentinários. Já as superfícies dentinárias preparadas com laser apresentaram padrões diferentes, principalmente em relação aos parâmetros utilizados. Quando as lesões de cáries foram removidas com potências inferiores a 2,0 W, observou-se que a superfície dentinária estava coberta por um material amorfo, obliterando a maioria dos túbulos dentinários. Já nos maiores parâmetros, a superfície da cavidade apresentou ausência da camada de esfregaço, exposição dos túbulos dentinários e a presença de um colar de dentina peritubular protruindo da superfície dentinária.

Também foi possível notar que as cavidades preparadas com laser, com potências a partir de 3,0 W, apresentaram-se mais profundas em relação àquelas preparadas com parâmetros inferiores e pelo método convencional. As cavidades preparadas com laser também apresentaram maior área de interface dente/restauração do que aquelas do grupo controle, assim como o índice de infiltração, que apontou mais de 50 % das áreas infiltradas em todos os grupos tratados pelo laser, sendo que essa infiltração marginal esteve intimamente relacionada com a presença de cárie residual sob as restaurações.

A cárie radicular é uma doença cuja ocorrência está intimamente relacionada com a população adulta e idosa (FURE; ZICKERT, 1990).

Dessa maneira, ao se considerar o fenômeno de envelhecimento populacional observado no Brasil, onde se estima que a expectativa média de vida tenha aumentado de 43,3, em 1950, para 60,1 anos, em 1980 e para 68,1 anos em 1998 (IBGE), torna-se previsível um aumento da prevalência e incidência das lesões de cárie radicular, como observado em países desenvolvidos.

Entretanto, o aumento da expectativa de vida não pode ser considerado um fator determinante para o desenvolvimento da cárie radicular. É necessário existir uma interação de condições específicas que levem à formação e progressão dessa doença, tais como manutenção do dente e subsequente exposição de sua superfície radicular ao ambiente bucal, uso de dieta cariogênica e colonização por um biofilme patogênico específico (FEJERSKOV, 1994).

Na busca de tornar esta pesquisa *in vitro* o mais fiel possível às condições de aparecimento das lesões de cárie de raiz *in vivo*, foi realizada a indução de cárie em amostras de dentina radicular humana através da contaminação por bactéria cariogênica (*S. mutans*), cultivadas em meio de cultura rico em sacarose. Caso a pesquisa tivesse sido realizada sobre tecido dental sadio, seria mais difícil comparar os resultados observados com a aplicação clínica futura dessas observações.

A opção pelo modelo bacteriano deveu-se ao fato de este ser o modelo que mais se aproxima das condições de formação de cárie no meio bucal (GILMOUR et al., 1993; GILMOUR; EDMUNDS; NEWCOMBE, 1997), assim como a escolha do *S. mutans*, que possui alta

cariogenicidade devido ao seu alto potencial acidogênico e acidúrico, além de ter sido encontrado em lesões de cárie radicular por diversos autores (ARANIBAR-QUIROZ; LINGSTROM; BIRKHED, 2003; BILLINGS; BROWN; KASTER, 1985; BOWDEN, 1990; ELIASSON; KRASSE; SOREMARK, 1992; VAN HOUTE; LOPMAN; KENT, 1994).

O método utilizado neste trabalho foi baseado nos experimentos de Dummer, Edmunds e Green (1982), que pesquisaram a desmineralização do esmalte dental submetido a uma cultura de *S. mutans*, em um meio suplementado por 5 % de sacarose, e no trabalho de Mello et al. (2006), que induziram lesões de cárie radicular para, posteriormente, avaliar o selamento marginal de restaurações de ionômero de vidro realizadas após o tratamento da cárie com laser de Er:YAG.

Com o passar dos anos, algumas modificações foram realizadas nesta metodologia, como, por exemplo, a adição de menor quantidade de sacarose no caldo (KAUFMAN; POLLOCK; GWINNETT, 1988, LIMA et al., 2005), a adição de mais de um tipo de açúcar no meio de cultura (LIMA et al., 2005), a incubação das amostras em estufa contendo dióxido de carbono (GAMA-TEIXEIRA, 2002; HSU et al., 1998; MELLO et al., 2006), dentre outros, as quais promoveram melhorias na técnica de indução de cárie nos fragmentos dentais.

Para o tratamento da cárie radicular, dois métodos foram utilizados: o convencional, que utiliza instrumento cortante rotatório esférico em baixa rotação, e o laser de Er,Cr:YSGG.

O método convencional foi escolhido como tratamento controle, já que se trata de uma técnica de eficácia consagrada na literatura e, desta forma, serve de parâmetro de comparação para novas técnicas de remoção de cárie (BARROS et al., 2005; SILVA et al., 2006). Já o laser de Er,Cr:YSGG, por se tratar de uma técnica recente, ainda necessita de estudos para avaliar sua possibilidade de utilização clínica e, por acreditarmos ser esta uma ferramenta promissora de tratamento da cárie, foi utilizado na presente pesquisa.

Os primeiros relatos sobre a utilização do laser de Er,Cr:YSGG em Odontologia surgiram no início da década de 90, quando os efeitos deste laser no esmalte e na dentina foram avaliados. A partir daí diversas pesquisas foram realizadas na intenção de se introduzir esta tecnologia na clínica odontológica. A maioria dos estudos tem sido realizada com o equipamento Waterlase, onde é possível variar os parâmetros alterando-se a potência (W), o sistema de refrigeração do equipamento e o diâmetro da ponta de safira na saída da peça de mão. Para remoção do tecido dental, este equipamento utiliza um mecanismo conhecido com sistema hidrocínético, que, basicamente, refere-se ao processo de remoção de material biológico através da utilização de micropartículas de água altamente energizadas. Como o comprimento de onda do laser é ressonante com a água, ele é altamente absorvido pelo *spray*, ativando o grupo hidroxila das micropartículas de água, resultando em uma violenta microexplosão, produzindo grandes forças mecânicas na superfície do tecido alvo. Essas forças hidrocínéticas resultantes promovem a separação

mecânica da superfície tecidual calcificada, resultando em uma remoção limpa do tecido alvo (RIZOIU et al., 1998; SUNG et al., 2005).

A utilização desta tecnologia resulta em maior conforto para o paciente, com diminuição de ruídos, vibrações e pressões no paciente durante o ato operatório, além de reduzir ou mesmo eliminar a necessidade de anestesia (MATSUMOTO et al., 2002).

Contudo, apesar destas vantagens, o tempo operatório é maior quando comparado ao das turbinas de alta e baixa rotação, o que pode ser inconveniente para o paciente e para o cirurgião-dentista.

De fato, nossos resultados mostraram que o método convencional de remoção de cárie foi significativamente mais rápido que o laser de Er,Cr:YSGG até nas potências mais altas (4 W). Os dados apontaram ainda que o tempo de tratamento das lesões de cárie com o laser foi inversamente proporcional à potência utilizada. No entanto, até a máxima potência testada não foi capaz de remover as lesões de cárie no mesmo tempo do ICR.

Hossain et al. (2002a, 2002b) e Matsumoto et al. (2002) também relataram que o tratamento com o laser foi mais lento que o tratamento convencional para preparo cavitário, porém, salientaram que as vantagens aqui já citadas, como diminuição da dose anestésica, diminuição dos ruídos e o conforto do paciente superam a desvantagem do tempo de tratamento.

Apenas Kinoshita et al. (2003) encontraram resultados diferentes. De acordo com os autores, que compararam três métodos de remoção de

tecido cariado (ICR, Carisolv e laser de Er,Cr:YSGG), o laser foi o método mais rápido dentre os avaliados. Isso pode ser explicado pelo fato dos autores não terem padronizado o tamanho das lesões de cárie, possibilitando que lesões menores fossem tratadas por um determinado grupo, no caso o laser, o que explicaria o fato do Er,Cr:YSGG ter sido a técnica de tratamento da cárie executado com maior rapidez. Logo, a padronização do tamanho das lesões é de fundamental importância nestes estudos. Na presente pesquisa, esta padronização foi realizada com a indução das lesões de cárie em uma área específica, com a utilização de janelas de tamanho pré-determinado, que ficaram expostas ao *S. mutans*.

Uma informação a ser levada em consideração, quando se aumenta a potência do equipamento, diz respeito à dificuldade de preparo. O aumento da potência de irradiação leva ao aumento da rapidez do preparo, e isso também aumenta a dificuldade no manuseio da peça de mão do equipamento. Operadores inexperientes podem, neste caso, causar carbonizações no tecido irradiado (HOSSAIN et al., 2002b; KINOSHITA et al., 2003; ROSENBERG, 2003) ou mesmo promover aumentos de temperatura intrapulpar acima de 5,5 °C, o que pode, muitas vezes, levar à necrose do tecido pulpar (ZACH; COHEN, 1965). Por este motivo, a potência máxima utilizada nos grupos experimentais na presente pesquisa foi restringida a 4 W. Acima deste valor, os inconvenientes citados anteriormente poderiam ocorrer.

Com relação à morfologia das cavidades preparadas durante o tratamento das cáries de raiz, o laser de Er,Cr:YSGG promoveu algumas

modificações na superfície dentinária diferentes daquelas obtidas com o instrumento cortante rotatório.

Quando analisadas em microscopia eletrônica de varredura, as cavidades preparadas de modo convencional apresentaram o assoalho coberto por camada de esfregaço, o que impediu a visualização dos túbulos dentinários. Essas características se devem à utilização de brocas esféricas para a remoção de cárie, que induz tensões pela pressão aplicada e pela sua própria atuação de corte e abrasão (GILBOE et al., 1980).

As amostras preparadas com o laser apresentaram características diferentes, tanto em relação ao método convencional quanto em relação aos diferentes parâmetros utilizados. De acordo com a observação das eletromicrografias de varredura, quanto maior a potência utilizada, mais limpa, ou seja, mais livre de debris era a superfície dentinária.

Nestas superfícies irradiadas foi possível observar a presença de um colar de dentina peritubular protruindo da superfície dentinária, indicando que esta região do tecido dentinário foi mais resistente à ação do laser, ao contrário da dentina intertubular, onde a ablação ocorreu mais facilmente. Isso pode ser explicado pelo fato da dentina peritubular possuir maior teor inorgânico e menor quantidade de matriz orgânica, ao contrário do que ocorre na dentina intertubular. A matriz orgânica da dentina intertubular, por sua vez, possui grande quantidade de água, o que a torna atrativa à ação do laser, e, desta forma, facilita a ablação desta dentina (EKWORAPOJ; SIDHU; MCCABE, 2007).

Durante a análise das amostras irradiadas não foram observadas rachaduras nem sinais de danos térmicos. Isso indicou que a técnica de preparo foi adequada e que as potências utilizadas foram apropriadas para a utilização do laser no tecido dentinário. A escolha de parâmetros seguros é de fundamental importância, já que estudos mostraram que a utilização dos lasers de érbio com altas densidades de potência, ou ainda com uma inadequada refrigeração, levam a formação de danos na estrutura dental, como rachaduras e carbonizações, além de aumentarem o risco de dano pulpar (ALTUNDASAR et al., 2006; GERALDO-MARTINS et al., 2005; HOSSAIN et al., 1999). Na verdade, quanto maior a potência, maiores foram as irregularidades como, por exemplo, a observação de crateras na dentina. Além disso, a área de interface dente/restauração nos grupos irradiados foram maiores que a do grupo convencional.

De acordo com alguns autores, essas características promovidas pelo laser de Er,Cr:YSGG são ideais para a realização de procedimentos adesivos no tecido dental, a ponto de alguns sugerirem a eliminação do condicionamento ácido do dente na técnica do condicionamento total (HOSSAIN et al., 2002a, 2002b; LIN et al., 1999; SUNG et al., 2005). Os grupos irradiados com as maiores potências foram os que apresentaram a morfologia superficial que indicaria a possibilidade de uma melhor adesão desta superfície a um sistema adesivo. Os resultados obtidos na presente pesquisa, onde o teste de microinfiltração mostrou piores resultados para as amostras irradiadas, não permitem concordar com essas afirmações, já que o grupo controle, preparado com ICR, onde havia camada de

esfregaço e menor área de interface dente/restauração, apresentou menor índice de infiltração quando comparados aos grupos onde o laser foi utilizado, indicando, portanto, uma melhor adesão e um melhor selamento marginal.

A durabilidade da adesão dos sistemas adesivos e materiais restauradores aos tecidos dentais pode ser avaliada de várias formas, como em testes de tração, cisalhamento e microinfiltração (DE MUNCK et al., 2005). A microinfiltração é definida como a passagem indetectável de bactérias, fluidos, moléculas ou íons entre uma parede cavitária e o material restaurador aplicado (KIDD et al., 1976). Todo o material resinoso, quando fotoativado, sofre contração e produz estresses na interface adesiva, o que pode levar a formação de espaços nesta interface caso a adesão do sistema adesivo ao substrato dentinário não seja adequada. Até o presente momento, nenhum sistema adesivo foi comprovadamente eficiente em eliminar a microinfiltração das restaurações, o que justifica estudos nesta área (HILTON, 2002a, 2002b; DE MUNCK et al., 2005).

Uma possível razão pela qual o laser não promoveu um adequado selamento marginal das restaurações seria a incapacidade do laser de Er,Cr:YSGG em remover os cristais de hidroxiapatita sem causar algum dano na rede de fibrilas colágenas, o que prejudicaria a formação da camada híbrida.

Ceballos et al. (2001) relataram a presença de uma camada de aproximadamente 3 a 4 μm abaixo da superfície dentinária que, após a

irradiação da dentina com laser de Er:YAG, apresentou fibrilas colágenas denaturadas e fusionadas, com os espaços interfibrilares reduzidos, o que prejudicaria procedimentos adesivos no substrato dentinário. Embora os efeitos do laser de Er,Cr:YSGG na matriz de colágeno não estarem totalmente esclarecidos, o mesmo fenômeno descrito acima pode ter acontecido na presente pesquisa, já que comprimento de onda destes dois lasers são bem próximos. Em outras palavras, as características superficiais promovidas pelo laser, como uma superfície em escamas, com ausência da camada de esfregaço, túbulos dentinários abertos e protrusão da dentina peritubular poderia aumentar a área adesiva e, conseqüentemente, aumentar os valores de união, porém não permitiu a formação de uma camada híbrida satisfatória, o que poderia interferir decisivamente na qualidade da adesão deste tecido.

Outra situação que pode ter ocorrido nas amostras tratadas com laser seria a formação de espaços na interface adesiva. De acordo com o estudo realizado por Aranha et al. (2007), que avaliou a interface adesiva de cavidades preparadas com instrumento cortante rotatório e laser, as amostras irradiadas tanto com o laser de Er:YAG como aquelas tratadas pelo laser de Er,Cr:YSGG apresentaram espaços entre a dentina irradiada e o sistema adesivo, o que não ocorreu com as amostras tratadas com ICR foram analisadas.

Um fator intimamente ligado às falhas no selamento marginal das amostras tratadas com laser seria o fato de este equipamento não ter removido todo o tecido cariado presente nas amostras. De acordo com os

dados obtidos, houve uma correlação fortemente positiva entre o índice de infiltração e a quantidade de cárie residual sob as restaurações.

A cárie residual esteve presente principalmente nas paredes circundantes da cavidade. Devido ao formato do instrumento cortante rotatório utilizado, estas lesões puderam ser removidas com maior eficiência e facilidade em comparação ao laser, já que o corte do tecido ocorre em praticamente todo o diâmetro da broca. Além disso, o método convencional permite que o operador tenha um controle táctil do tratamento, facilitando o julgamento subjetivo de remoção do tecido cariado. O laser, além de não permitir esse controle táctil, possui ângulo de corte em torno de 90 graus em relação ao tecido alvo, o que dificulta a remoção do tecido cariado nas superfícies presentes nas paredes circundantes da cavidade. Caso a fibra fosse movimentada em direção a estas paredes, poderia ocorrer a remoção de tecido dentinário sadio, o que não vem de encontro com a proposta do tratamento a laser, que propõe a realização de preparos minimamente invasivos.

A análise da cavidade preparada quanto à presença de tecido cariado remanescente foi realizada pelas técnicas de inspeção e de palpação indireta, com auxílio de sonda exploradora. Estes métodos, apesar de subjetivos, são amplamente utilizados na clínica odontológica pela grande maioria dos dentistas (BANERJEE; KIDD; WATSON, 2000; ARVIDSSON et al., 2002; STEINBERG, 2007). Utilizando estes métodos clínicos, não foi possível notar a presença de tecido cariado após a utilização tanto do instrumento cortante rotatório como do laser. Essas

lesões só foram observadas após análise das cavidades em microscopia de luz, já que o tamanho das lesões era da ordem de micrometros, o que as tornam clinicamente imperceptíveis, mas que comprometem a qualidade das restaurações.

A utilização de outros métodos de detecção de cárie foi cogitada, como, por exemplo, a utilização de evidenciadores de cárie. O corante consiste de vermelho ácido 52 a 1 % em propilenoglicol (FUSAYAMA, 1979) ou rodamina B ácida (ZACHARIA; MUNSHI, 1995). Segundo Fusayama (1979), o corante tem a propriedade de corar substância orgânica deteriorada pela ação de ácidos e enzimas, ou seja, fibras colágenas denaturadas da dentina infectada. Entretanto, existe muita controvérsia a respeito de sua ação sobre os tecidos, já que estudos mostram que este evidenciador é capaz de corar até mesmo tecidos saudáveis, principalmente a dentina circumpulpar localizada próxima à junção amelodentinária, rica em matriz orgânica (YIP; STEVENSON; BEELEY; 1994). Isso poderia levar à remoção de tecido sadio, o que contradiz os princípios da dentística restauradora.

A dentina cariada apresenta características diferentes daquelas encontradas em dentina sadia, o que pode levar a resultados diferentes de adesão quando comparada a estudos realizados em dentina sadia. A dentina afetada pela cárie é mais mole que a dentina sadia, graças ao processo de desmineralização que ocorre durante a formação das lesões (MARSHALL et al., 2001a). Por esse motivo, a dentina cariada intertubular apresenta maior porosidade em relação à dentina intertubular sadia, o que

afeta a formação da camada híbrida durante os procedimentos adesivos, tornado-a mais espessa em relação a uma camada formada em um tecido sadio, sugerindo que possa ocorrer uma difusão mais fácil do condicionador ácido e dos monômeros adesivos na dentina intertubular (NAKAJIMA et al., 1995; YOSHIYAMA et al., 2000, 2002). Contudo, a infiltração da resina no interior dos túbulos dentinários é prejudicada pela presença de minerais ácido-resistentes no interior dos túbulos da dentina cariada, o que leva a um prejuízo nos procedimentos adesivos, principalmente quando *primers* autocondicionantes são utilizados (MARSHALL et al., 2001a; YOSHIYAMA et al., 2002). Segundo Nakajima et al. (1995), a dentina afetada por cárie pode conter substâncias, talvez glicoproteínas ou mucopolissacarídeos, que interferem no molhamento e penetração do sistema adesivo nas microporosidades da dentina e/ou em sua polimerização. Deste modo, as fibras colágenas da base da camada híbrida não são completamente envolvidas pelo *primer* e adesivo, configurando uma área fragilizada e com baixos valores de adesão.

De acordo com Yoshiyama et al. (2002), a dentina afetada pela cárie apresenta menores valores de dureza Knoop, assim como menores valores de resistência à tração quando comparados aos resultados obtidos em dentina sadia. Os autores ressaltaram ainda que, durante a análise do modo de fratura dos corpos de prova, as falhas coesivas de dentina predominaram na dentina afetada pela cárie aderida ao material restaurador, sugerindo que este substrato não é o ideal para a realização de procedimentos adesivos.

Esses resultados concordam com aqueles obtidos por Tachibana (2005), que realizou um estudo para verificar influência de diferentes métodos de remoção de cárie na resistência de união de um sistema adesivo autocondicionante. Dentre os métodos estudados, estavam o ICR e o laser de Er,Cr:YSGG. Após análise dos resultados, o autor concluiu que a força de adesão em dentina remanescente de amostras irradiadas foi similar aquela dos grupos onde não houve a remoção do tecido cariado.

Com relação ao aspecto morfológico dos preparos cavitários, pode-se notar que a área da interface adesiva foi significativamente maior nos grupos preparados com o laser, principalmente nos parâmetros superiores a 1,5 W. Isso pode ser explicado pelas irregularidades promovidas pelo laser durante o preparo das cavidades. Nos parâmetros mais baixos, onde ocorre a remoção do tecido dental mais vagarosamente, já que o volume de tecido ablacionado por segundo é menor do que em parâmetros mais elevados (EKWORAPOJ; SIDHU; MCCABE, 2007), o preparo da cavidade pode ser mais bem controlado, fazendo com que a superfície apresentasse menos irregularidades. Na medida em que se aumentou a potência do laser, a velocidade e o volume de ablação também aumentaram, dificultando um controle mais preciso da área ablacionada, fazendo com que a superfície da cavidade ficasse mais irregular.

Isso também explica a maior profundidade encontrada nos grupos onde as cavidades foram preparadas com laser nos parâmetros superiores a 3,0 W. Já a utilização do ICR permite que o operador tenha uma

sensibilidade táctil durante o preparo de cavidades, proporcionando maior controle do instrumento durante a remoção do tecido dental.

Com relação ao laser, a duração do pulso e a taxa de repetição utilizada neste estudo foram fixas, já que o equipamento testado não permite o ajuste destes parâmetros. É de conhecimento que o mecanismo de ablação do laser de Er,Cr:YSGG se baseia tanto na presença de água oferecida pelo equipamento quanto àquela presente na superfície do tecido irradiado (EVERSOLE et al., 1997; HUSSAIN et al., 1999; RIZOIU et al., 1998). Assim, se pudessemos aumentar a duração do pulso e diminuir a taxa de repetição do equipamento, talvez a remoção do tecido cariado pudesse ocorrer com velocidade semelhante àquela do método convencional. Isso também poderia permitir um maior controle da peça de mão do equipamento, o que resultaria em cavidades menos irregulares.

De qualquer maneira, a irregularidade das cavidades não é um fator que levaria a menor adesão, ao contrário, isto aumenta a área de dentina para ser hibridizada, criando uma interface dente/restauração maior, o que seria um fato favorável a uma adesão adequada.

Outro aspecto importante a ser levado em consideração diz respeito à especificidade do comprimento de onda do laser de Er,Cr:YSGG. O laser remove o tecido cariado com especificidade que é inversamente proporcional à potência utilizada, ou seja, com potências mais baixas somente o tecido cariado e rico em água é removido, proporcionando cavidades com menores irregularidades e menos profundas, como demonstrado nesta pesquisa. Com potências maiores que 2,75 W a

profundidade média das cavidades se torna significativamente maior, devido à perda de especificidade do laser de Er,Cr:YSGG, que acaba removendo mais dentina na parede pulpar das cavidades, deixando uma superfície com mais crateras e irregularidades, como observado nas eletromicrografias de varredura. Assim, pelos resultados obtidos, pode-se dizer que com o equipamento Waterlase, nos parâmetros que ele proporciona e nas potências de 1 a 4 W com intervalos de 0,25 W, que é o único intervalo que o equipamento possibilita, mostrou-se que, apesar de não haver dano visível nas superfícies dentais irradiadas, não foi possível se remover todo o tecido cariado, mais especificamente aquele localizado nas paredes circundantes da cavidade e próximas ao ângulo cavo-superficial. Isto certamente foi o dado responsável pela maior microinfiltração observada nos espécimes irradiados em relação ao controle. Assim, há a necessidade de se desenvolver pontas que permitam a irradiação das paredes laterais da cavidade de maneira que proporcionem segurança na utilização deste equipamento para remoção de cárie.

Com os resultados obtidos na presente pesquisa não se pode concluir que a adesão, de forma geral, foi menor nos grupos irradiados. Com a metodologia testada, podemos apenas concluir que houve um pior selamento marginal nestes grupos, provavelmente em função da presença de cárie residual. Neste estudo não se teve a oportunidade de testar a resistência adesiva destas restaurações e, portanto, não se pode saber se esta força adesiva foi modificada em função da irradiação. Apesar dos

trabalhos terem mostrado que há alteração química da superfície tratada com laser, como aumento do teor de Ca e P, enquanto outros mostraram desnaturação do colágeno em irradiação e conseqüentemente aumento ou diminuição da força de adesão de sistemas adesivos em relação àquelas cavidades obtidas com ICR, não podemos colaborar com mais dados desta natureza, uma vez que nem medimos a força de adesão e nem a composição química superficial da dentina (HOSSAIN et al., 2002a; HOSSAIN 2002b; HOSSAIN et al., 2003; LIN et al., 1999; SUNG et al., 2005; YU et al., 2000).

As cavidades foram restauradas com resina. Não se sabe, porém, o que ocorreria se as mesmas fossem restauradas com cimento de ionômero de vidro. De fato Mello et al. (2006) já haviam demonstrado haver melhores selamentos marginais em cavidades onde a cárie havia sido removida com laser de Er:YAG e restauradas com cimento de ionômero de vidro resino-modificado, sugerindo que o possível aumento do teor de cálcio favoreceu a adesão. Assim, em estudos futuros seria de relevância observar o selamento marginal de cavidades preparadas com o laser de Er,Cr:YSGG e restauradas com cimento de ionômero de vidro. Neste caso, a liberação de flúor deste material, associado ao aumento do teor de Ca no tecido irradiado, poderia até favorecer a remineralização das lesões de cárie remanescentes na cavidade, resultando em um selamento marginal adequado.

Baseado neste estudo e levando em consideração suas condições experimentais, pode-se concluir que a remoção de tecido cariado em raiz

com o laser de Er,Cr:YSGG, com potências entre 1 e 4 W, criou um substrato dentinário desfavorável à adesão de um sistema adesivo autocondicionante, levando a um pobre vedamento marginal. Novos estudos com equipamentos que permitam mais maleabilidade na escolha de parâmetros, bem como o uso de outros materiais restauradores deveriam ser feitos no sentido de tentar encontrar um método alternativo no tratamento de cáries radiculares que resultariam em restaurações não só estéticas, mas também com maior longevidade, o que melhoraria a qualidade de vida dos pacientes, em especial dos idosos.

Apesar dos resultados aqui demonstrados indicarem uma inferioridade no selamento marginal das cavidades obtidas após remoção de cárie com o laser de Er,Cr:YSGG em relação ao método convencional, é importante continuar perseguindo os parâmetros ideais desta irradiação, já que o conforto para o paciente, especialmente para os idosos desta tecnologia é de relevância, principalmente nos dias de hoje, onde a longevidade da população mundial é uma realidade e a manutenção da saúde bucal destes idosos é de fundamental importância.

7 CONCLUSÃO

Nas condições deste estudo pode-se concluir que a remoção de lesões de cárie radicular com laser de Er, Cr:YSGG seguida de restauração com resina composta de baixa viscosidade mostrou pobre selamento marginal em função da presença de cárie residual nas paredes circundantes das cavidades.

REFERÊNCIAS¹

Aguiar FH, Dos Santos AJ, Franca FM, Paulillo LA, Lovadino JR. A quantitative method of measuring the microleakage of thermocycled or non-thermocycled posterior tooth restorations. *Oper Dent* 2003; 28(6):793-799.

Aires CP, Tabchoury CP, Bel Cury AA, Koo H, Cury JA. Effect of sucrose concentration on dental biofilm formed *in vitro* and on enamel demineralization. *Caries Res* 2006;40(1):28-32.

Alavi AA, Kianimanesh N. Microleakage of direct and indirect composite restorations with three dentin bonding agents. *Oper Dent* 2002;27(1):19-24.

Altundasar E, Ozcelik B, Cehreli ZC, Matsumoto K. Ultramorphological and histochemical changes after ER,CR:YSGG laser irradiation and two different irrigation regimes. *J Endod* 2006;32(5):465-68.

Amaecha BT, Higham SM, Edgar WM. Effect of sterilisation methods on the structural integrity of artificial enamel caries for intra-oral cariogenicity tests. *J Dent* 1999;27(4):313-16.

Aranha AC, Eduardo CD, Gutknecht N, Marques MM, Ramalho KM, Apel C. Analysis of the interfacial micromorphology of adhesive systems in cavities prepared with Er,Cr:YSGG, Er:YAG laser and bur. *Microsc Res Tech* 2007; 29:1-7.

Aranha AC, Pimenta LA. Effect of two different restorative techniques using resin-based composites on microleakage. *Am J Dent* 2004; 17(2):99-103.

¹ De acordo com Estilo Vancouver. Abreviatura de acordo com base de dados MEDLINE.

Aranibar Quiroz EM, Lingstrom P, Birkhed D. Influence of short-term sucrose exposure on plaque acidogenicity and cariogenic microflora in individuals with different levels of mutans streptococci. *Caries Res* 2003; 37(1):51-7.

Arvidsson A, Liedberg B, Moller K, Lyven B, Sellen A, Wennerberg A. Chemical and topographical analyses of dentine surfaces after Carisolv treatment. *J Dent* 2002;30(2-3):67-75.

Attar N. The effect of finishing and polishing procedures on the surface roughness of composite resin materials. *J Contemp Dent Pract* 2007; 8(1):27-35.

Axelsson P, Lindhe J. Effect of controlled oral hygiene procedures on caries and periodontal disease in adults. Results after 6 years. *J Clin Periodontol* 1981;8(3):239-48.

Baelum V, Fejerskov O, Karring T. Oral hygiene, gingivitis and periodontal breakdown in adult Tanzanians. *J Periodontal Res* 1986;21(3):221-32.

Banas JA, Vickerman MM. Glucan-binding proteins of the oral streptococci. *Crit Rev Oral Biol Med* 2003;14(2):89-99.

Banerjee A, Gilmour A, Kidd E, Watson T. Relationship between *S. mutans* and the autofluorescence of carious dentin. *Am J Dent* 2004;17(4):233-36.

Banerjee A, Kidd EA, Watson TF. *In vitro* evaluation of five alternative methods of carious dentine excavation. *Caries Res* 2000;34(2):144-50.

Banting DW, Ellen RP, Fillery ED. Prevalence of root surface caries among institutionalized older persons. *Community Dent Oral Epidemiol* 1980; 8(2):84-8.

Banting DW. The diagnosis of root caries. *J Dent Educ* 2001;65(10):991-96.

Barros JA, Myaki SI, Nor JE, Peters MC. Effect of bur type and conditioning on the surface and interface of dentine. *J Oral Rehabil* 2005;32(11):849-56.

Bayne SC, Thompson JY, Swift EJ, Jr., Stamatiades P, Wilkerson M. A characterization of first-generation flowable composites. *J Am Dent Assoc* 1998;129(5):567-77.

Beck JD. The epidemiology of root surface caries: North American studies. *Adv Dent Res* 1993;7(1):42-51.

Becker MR, Paster BJ, Leys EJ, Moeschberger ML, Kenyon SG, Galvin JL et al. Molecular analysis of bacterial species associated with childhood caries. *J Clin Microbiol* 2002;40(3):1001-9.

Beighton D, Lynch E, Heath MR. A microbiological study of primary root-caries lesions with different treatment needs. *J Dent Res* 1993;72(3):623-29.

Billings RJ, Brown LR, Kaster AG. Contemporary treatment strategies for root surface dental caries. *Gerodontology* 1985;1(1):20-7.

Birkhed D, Frostell G, Lamm CJ. Cariogenicity of glucose, sucrose and amylopectin in rats and hamsters infected and noninfected with *Streptococcus mutans*. *Caries Res* 1980;14(6):441-7.

Borczyk D, Piatowska D, Krzeminski Z. An *in vitro* study of affected dentin as a risk factor for the development of secondary caries. *Caries Res* 2006;40(1):47-51.

Borisova E, Uzunov T, Avramov L. Laser-induced autofluorescence study of caries model *in vitro*. *Lasers Med Sci* 2006;21(1):34-41.

Borsatto MC, Corona SA, Chinelatti MA, Ramos RP, Sa Rocha RA, Pecora JD et al. Comparison of marginal microleakage of flowable composite restorations in primary molars prepared by high-speed carbide bur, Er:YAG laser, and air abrasion. *J Dent Child (Chic)* 2006;73(2):122-6.

Bowden GH, Ekstrand J, McNaughton B, Challacombe SJ. Association of selected bacteria with the lesions of root surface caries. *Oral Microbiol Immunol* 1990;5(6):346-51.

Bowden GH. Microbiology of root surface caries in humans. *J Dent Res* 1990;69(5):1205-10.

Bowen RL. Adhesive bonding of various materials to hard tooth tissues. VI. Forces developing in direct-filling materials during hardening. *J Am Dent Assoc* 1967;74(3):439-45.

Bowen WH. Do we need to be concerned about dental caries in the coming millennium? *Crit Rev Oral Biol Med* 2002;13(2):126-31.

Braga RR, Ferracane JL. Alternatives in polymerization contraction stress management. *Crit Rev Oral Biol Med* 2004;15(3):176-84.

Braga RR, Ferracane JL. Contraction stress related to degree of conversion and reaction kinetics. *J Dent Res* 2002;81(2):114-18.

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):1828-33.

Bratthall D. Mutans streptococci -dental, oral and global aspects. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 1991;9(1):4-12.

Burgess JO. Dental materials for the restoration of root surface caries. *Am J Dent* 1995;8(6):342-51.

Burne RA. Oral streptococci... products of their environment. *J Dent Res* 1998;77(3):445-52.

Burt BA, Ismail AI, Eklund SA. Periodontal disease, tooth loss, and oral hygiene among older Americans. *Community Dent Oral Epidemiol* 1985;13(2):93-6.

Calheiros FC, Braga RR, Kawano Y, Ballester RY. Relationship between contraction stress and degree of conversion in restorative composites. *Dent Mater* 2004;20(10):939-46.

Calheiros FC, Sadek FT, Braga RR, Cardoso PE. Polymerization contraction stress of low-shrinkage composites and its correlation with microleakage in class V restorations. *J Dent* 2004;32(5):407-12.

Camps J, Dejou J, Remusat M, About I. Factors influencing pulpal response to cavity restorations. *Dent Mater* 2000;16(6):432-40.

Cara RR, Fleming GJ, Palin WM, Walmsley AD, Burke FJ. Cuspal deflection and microleakage in premolar teeth restored with resin-based composites with and without an intermediary flowable layer. *J Dent* 2007;35(6):482-89.

Carlsson J. Microbial aspects of frequent intake of products with high sugar concentrations. *Scand J Dent Res* 1989;97(2):110-14.

Ceballos L, Osorio R, Toledano M, Marshall GW. Microleakage of composite restorations after acid or Er-YAG laser cavity treatments. *Dent Mater* 2001;17(4):340-46.

Clarkson JE. Epidemiology of root caries. *Am J Dent* 1995;8(6):329-34.

Corona SA, Borsatto MC, Pecora JD, Sa Rocha RA, Ramos TS, Palma-Dibb RG. Assessing microleakage of different class V restorations after Er:YAG laser and bur preparation. *J Oral Rehabil* 2003;30(10):1008-14.

Culp DJ, Quivey RQ, Bowen WH, Fallon MA, Pearson SK, Faustoferri R. A mouse caries model and evaluation of aqp5^{-/-} knockout mice. *Caries Res* 2005;39(6):448-54.

Cury JA, Francisco SB, Bel Cury AA, Tabchoury CP. *In vitro* study of sucrose exposure, mutans streptococci in dental plaque and dental caries. *Braz Dent J* 2001;12(2):101-04.

Curzon ME. Strontium concentrations in whole human saliva. *Arch Oral Biol* 1984;29(3):211-4.

De Munck J, Van Landuyt K, Peumans M, Poitevin A, Lambrechts P, Braem M et al. A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results. *J Dent Res* 2005;84(2):118-32.

De Munck J, Van Meerbeek B, Yudhira R, Lambrechts P, Vanherle G. Micro-tensile bond strength of two adhesives to Erbium:YAG-lased vs. bur-cut enamel and dentin. *Eur J Oral Sci* 2002;110(4):322-9.

Dennis DA, Gawronski TH, Sudo SZ, Harris RS, Folke LE. Variations in microbial and biochemical components of four-day plaque during a four-week controlled diet period. *J Dent Res* 1975;54(4):716-22.

Dionysopoulos P, Kotsanos N, Papadogianis Y. Secondary caries formation *in vitro* around glass ionomer-lined amalgam and composite restorations. *J Oral Rehabil* 1996;23(8):511-9.

Downer MC. Caries experience and sucrose availability: an analysis of the relationship in the United Kingdom over fifty years. *Community Dent Health* 1999;16(1):18-21.

Duggal MS, Toumba KJ, Amaechi BT, Kowash MB, Higham SM. Enamel demineralization *in vitro* with various frequencies of carbohydrate consumption with and without fluoride toothpaste. *J Dent Res* 2001;80(8):1721-4.

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):193-6.

Dung TZ, Liu AH. Molecular pathogenesis of root dentin caries. *Oral Diseases* 1999;5:92-9.

Eick JD, Welch FH. Polymerization shrinkage of posterior composite resins and its possible influence on postoperative sensitivity. *Quintessence Int* 1986;17(2):103-11.

Ekworapoj P, Sidhu SK, McCabe JF. Effect of different power parameters of Er,Cr:YSGG laser on human dentine. *Lasers Med Sci* 2007; 23:1-7.

Eliasson S, Krasse B, Soremark R. Root caries. A consensus conference statement. *Swed Dent J* 1992;16(1-2):21-5.

Ellen RP, Banting DW, Fillery ED. Streptococcus mutans and Lactobacillus detection in the assessment of dental root surface caries risk. *J Dent Res* 1985;64(10):1245-49.

Erickson RL. Root surface treatment with glass ionomers and resin composites. *Am J Dent* 1994;7(5):279-85.

Ernst CP, Meyer GR, Klocker K, Willershausen B. Determination of polymerization shrinkage stress by means of a photoelastic investigation. *Dent Mater* 2004;20(4):313-21.

Eversole LR, RizoIU I, Kimmel AI. Pulpal response to cavity preparation by an erbium, chromium:YSGG laser-powered hydrokinetic system. *J Am Dent Assoc* 1997;128(8):1099-106.

Eversole LR, RizoIU IM. Preliminary investigations on the utility of an erbium, chromium YSGG laser. *J Calif Dent Assoc* 1995;23(12):41-7.

Featherstone JD, Glena R, Shariati M, Shields CP. Dependence of *in vitro* demineralization of apatite and remineralization of dental enamel on fluoride concentration. *J Dent Res* 1990;69 Spec No:620-5.

Featherstone JD, Mellberg JR. Relative rates of progress of artificial carious lesions in bovine, ovine and human enamel. *Caries Res* 1981; 15(1):109-14.

Featherstone JD, Rodgers BE. Effect of acetic, lactic and other organic acids on the formation of artificial carious lesions. *Caries Res* 1981; 15(5):377-85.

Featherstone JD. Fluoride, remineralization and root caries. *Am J Dent* 1994;7(5):271-4.

Featherstone JD. Modeling the caries-inhibitory effects of dental materials. *Dent Mater* 1996;12(3):194-7.

Featherstone JD. The science and practice of caries prevention. J Am Dent Assoc 2000;131(7):887-99.

Feilzer AJ, de Gee AJ, Davidson CL. Setting stresses in composites for two different curing modes. Dent Mater 1993;9(1):2-5.

Feist IS, De Micheli G, Carneiro SR, Eduardo CP, Miyagi S, Marques MM. Adhesion and growth of cultured human gingival fibroblasts on periodontally involved root surfaces treated by Er:YAG laser. J Periodontol 2003;74(9):1368-75.

Fejerskov O, Baelum V, Ostergaard ES. Root caries in Scandinavia in the 1980's and future trends to be expected in dental caries experience in adults. Adv Dent Res 1993;7(1):4-14.

Fejerskov O, Luan WM, Nyvad B, Budtz-Jorgensen E, Holm-Pedersen P. Active and inactive root surface caries lesions in a selected group of 60- to 80-year-old Danes. Caries Res 1991;25(5):385-91.

Fejerskov O. Concepts of dental caries and their consequences for understanding the disease. Community Dent Oral Epidemiol 1997; 25(1):5-12.

Fejerskov O. Recent advancements in the treatment of root surface caries. Int Dent J 1994;44(2):139-44.

Fontana M, Dunipace AJ, Gregory RL, Noblitt TW, Li Y, Park KK et al. An *in vitro* microbial model for studying secondary caries formation. Caries Res 1996;30(2):112-8.

Franca FM, Hori FS, Dos Santos AJ, Lovadino JR. The effect of insertion and photopolymerization techniques on microleakage of class V cavities--a quantitative evaluation. Braz Oral Res 2005;19(1):30-5.

Frank RM, Steuer P, Hemmerle J. Ultrastructural study on human root caries. Caries Res 1989;23(4):209-17.

Frank RM. Structural events in the caries process in enamel, cementum, and dentin. *J Dent Res* 1990;69 Spec No:559-66.

Frankenberger R, Kramer N, Petschelt A. Technique sensitivity of dentin bonding: effect of application mistakes on bond strength and marginal adaptation. *Oper Dent* 2000;25(4):324-30.

Frankenberger R, Perdigao J, Rosa BT, Lopes M. "No-bottle" vs "multi-bottle" dentin adhesives--a microtensile bond strength and morphological study. *Dent Mater* 2001;17(5):373-80.

Fure S, Zickert I. Prevalence of root surface caries in 55, 65, and 75-year-old Swedish individuals. *Community Dent Oral Epidemiol* 1990;18(2):100-5.

Fure S, Zickert I. Root surface caries and associated factors. *Scand J Dent Res* 1990;98(5):391-400.

Fusayama T. Two layers of carious dentin; diagnosis and treatment. *Oper Dent* 1979;4(2):63-70.

Gagliardi RM, Avelar RP. Evaluation of microleakage using different bonding agents. *Oper Dent* 2002;27(6):582-6.

Gallo JR, Burgess JO, Ripps AH, Walker RS, Ireland EJ, Mercante DE et al. Three-year clinical evaluation of a compomer and a resin composite as Class V filling materials. *Oper Dent* 2005;30(3):275-81.

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

Geraldo-Martins VR, Tanji EY, Wetter NU, Nogueira RD, Eduardo CP. Intrapulpal temperature during preparation with the Er:YAG laser: an *in vitro* study. *Photomed Laser Surg* 2005;23(2):182-6.

Giachetti L, Russo DS, Bertini F, Pierleoni F, Nieri M. Effect of operator skill in relation to microleakage of total-etch and self-etch bonding systems. *J Dent* 2007;35(4):289-93.

Gilboe DB, Svare CW, Thayer KE, Drennon DG. Dentinal smearing: an investigation of the phenomenon. *J Prosthet Dent* 1980;44(3):310-6.

Gilmour AS, Edmunds DH, Newcombe RG, Clark MF. An *in vitro* study into the effect of a bacterial artificial caries system on the enamel adjacent to composite and amalgam restorations. *Caries Res* 1993;27(3):169-75.

Gilmour AS, 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):1854-61.

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

Gilmour SM, Edmunds DH, Dummer PM. The production of secondary caries-like lesions on cavity walls and the assessment of microleakage using an *in vitro* microbial caries system. *J Oral Rehabil* 1990;17(6):573-8.

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

Grossman ES, Matejka JM. Reliability of outer lesion secondary caries as a predictor of wall lesions. *Am J Dent* 1999;12(1):31-6.

Gustavsen F, Clive JM, Tveit AB. Root caries prevalence in a Norwegian adult dental patient population. *Gerodontology* 1988;4(5):219-23.

Hadley J, Young DA, Eversole LR, Gornbein JA. A laser-powered hydrokinetic system for caries removal and cavity preparation. *J Am Dent Assoc* 2000;131(6):777-85.

Hajishengallis G, Michalek SM. Current status of a mucosal vaccine against dental caries. *Oral Microbiol Immunol* 1999;14(1):1-20.

Han L, Okamoto A, Fukushima M, Okiji T. Evaluation of a new fluoride-releasing one-step adhesive. *Dent Mater J* 2006;25(3):509-15.

Hara AT, Queiroz CS, Freitas PM, Giannini M, Serra MC, Cury JA. Fluoride release and secondary caries inhibition by adhesive systems on root dentine. *Eur J Oral Sci* 2005;113(3):245-50.

Hara AT, Turssi CP, Ando M, Gonzalez-Cabezas C, Zero DT, Rodrigues AL, Jr. et al. Influence of fluoride-releasing restorative material on root dentine secondary caries *in vitro*. *Caries Res* 2006;40(5):435-9.

Herrin KH, Shen C. Microleakage of root caries restorations. *Gerodontology* 1985;1(4):156-9.

Hilton TJ. Can modern restorative procedures and materials reliably seal cavities? *In vitro* investigations. Part 2. *Am J Dent* 2002;15(4):279-89.

Hilton TJ. Can modern restorative procedures and materials reliably seal cavities? *In vitro* investigations. Part 1. *Am J Dent* 2002;15(3):198-210.

Hossain M, Nakamura Y, Tamaki Y, Yamada Y, Murakami Y, Matsumoto K. Atomic analysis and knoop hardness measurement of the cavity floor prepared by Er,Cr:YSGG laser irradiation *in vitro*. *J Oral Rehabil* 2003;30(5):515-21.

Hossain M, Nakamura Y, Yamada Y, Kimura Y, Matsumoto N, Matsumoto K. Effects of Er,Cr:YSGG laser irradiation in human enamel and dentin: ablation and morphological studies. *J Clin Laser Med Surg* 1999;17(4):155-9.

Hossain M, Nakamura Y, Yamada Y, Murakami Y, Matsumoto K. Compositional and structural changes of human dentin following caries removal by Er,Cr:YSGG laser irradiation in primary teeth. *J Clin Pediatr Dent* 2002;26(4):377-82.

Hossain M, Nakamura Y, Yamada Y, Murakami Y, Matsumoto K. Microleakage of composite resin restoration in cavities prepared by Er,Cr:YSGG laser irradiation and etched bur cavities in primary teeth. *J Clin Pediatr Dent* 2002;26(3):263-8.

Hsu CY, Donly KJ, Drake DR, Wefel JS. Effects of aged fluoride-containing restorative materials on recurrent root caries. *J Dent Res* 1998; 77(2):418-25.

Ishizaki NT, Matsumoto K, Kimura Y, Wang X, Kinoshita J, Okano SM et al. Thermographical and morphological studies of Er,Cr:YSGG laser irradiation on root canal walls. *Photomed Laser Surg* 2004;22(4):291-7.

Itthagaran A, King NM, Yiu C, Dawes C. The effect of chewing gums containing calcium phosphates on the remineralization of artificial caries-like lesions *in vitro*. *Caries Res* 2005;39(3):251-4.

Iwami Y, Shimizu A, Narimatsu M, Kinomoto Y, Ebisu S. The relationship between the color of carious dentin stained with a caries detector dye and bacterial infection. *Oper Dent* 2005;30(1):83-9.

Jaeger MM, Dodane V, Kachar B. Modulation of tight junction morphology and permeability by an epithelial factor. *J Membr Biol* 1994; 139(1):41-8.

Jenkinson HF, Lamont RJ. Streptococcal adhesion and colonization. *Crit Rev Oral Biol Med* 1997;8(2):175-200.

Jensen ME, Kohout F. The effect of a fluoridated dentifrice on root and coronal caries in an older adult population. *J Am Dent Assoc* 1988; 117(7):829-32.

Jones RS, Darling CL, Featherstone JD, Fried D. Remineralization of *in vitro* dental caries assessed with polarization-sensitive optical coherence tomography. *J Biomed Opt* 2006;11(1):14-6.

Kanca J, III, Suh BI. Pulse activation: reducing resin-based composite contraction stresses at the enamel cavosurface margins. *Am J Dent* 1999; 12(3):107-12.

Katz RV. Assessing root caries in populations: the evolution of the root caries index. *J Public Health Dent* 1980;40(1):7-16.

Katz RV. The clinical diagnosis of root caries: issues for the clinician and the researcher. *Am J Dent* 1995;8(6):335-41.

Katz S, Park KK, Palenik CJ. In-vitro root surface caries studies. *J Oral Med* 1987;42(1):40-8.

Kaufman HW, Pollock JJ, Gwinnett AJ. Microbial caries induction in the roots of human teeth *in vitro*. *Arch Oral Biol* 1988;33(7):499-503.

Kaurich M, Kawakami K, Perez P, Munn T, Hasse AL, Garrett NR. A clinical comparison of a glass ionomer cement and a microfilled composite resin in restoring root caries: two-year results. *Gen Dent* 1991;39(5):346-9.

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 Surg Med* 1989;9(4):345-51.

Kidd EA, Fejerskov O. What constitutes dental caries? Histopathology of carious enamel and dentin related to the action of cariogenic biofilms. *J Dent Res* 2004;83 Spec No C:C35-C38.

Kidd EA. Caries management. *Dent Clin North Am* 1999;43(4):743-64.

Kidd EA. Microleakage: a review. *J Dent* 1976;4(5):199-206.

Kidd EA. Root caries. *Dent Update* 1989;16(3):93-100.

Kimura Y, Yu DG, Kinoshita J, Hossain M, Yokoyama K, Murakami Y et al. Effects of erbium, chromium:YSGG laser irradiation on root surface: morphological and atomic analytical studies. *J Clin Laser Med Surg* 2001; 19(2):69-72.

Kinomoto Y, Torii M. Photoelastic analysis of polymerization contraction stresses in resin composite restorations. *J Dent* 1998;26(2):165-71.

Kinoshita J, Kimura Y, Matsumoto K. Comparative study of carious dentin removal by Er,Cr:YSGG laser and Carisolv. *J Clin Laser Med Surg* 2003; 21(5):307-15.

Koczarski MJ. Achieving natural aesthetics with direct resin composites: predictable clinical protocol. *Pract Proced Aesthet Dent* 2005;17(8):523-5.

Kohara EK, Hossain M, Kimura Y, Matsumoto K, Inoue M, Sasa R. Morphological and microleakage studies of the cavities prepared by Er:YAG laser irradiation in primary teeth. *J Clin Laser Med Surg* 2002; 20(3):141-7.

Koliniotou-Koumpia E, Dionysopoulos P, Koumpia E. *In vivo* evaluation of microleakage from composites with new dentine adhesives. *J Oral Rehabil* 2004; 31(10):1014-22.

Kuramitsu HK. Virulence properties of oral bacteria: impact of molecular biology. *Curr Issues Mol Biol* 2001;3(2):35-6.

Kuramoto A, Imazato S, Walls AW, Ebisu S. Inhibition of root caries progression by an antibacterial adhesive. *J Dent Res* 2005;84(1):89-93.

Labella R, Lambrechts P, Van Meerbeek B, Vanherle G. Polymerization shrinkage and elasticity of flowable composites and filled adhesives. *Dent Mater* 1999;15(2):128-37.

Leake JL. Clinical decision-making for caries management in root surfaces. *J Dent Educ* 2001;65(10):1147-53.

Leevailoj C, Cochran MA, Matis BA, Moore BK, Platt JA. Microleakage of posterior packable resin composites with and without flowable liners. *Oper Dent* 2001;26(3):302-7.

Li F, Michalek SM, Dasanayake AP, Li Y, Kirk K, Childers NK. Intranasal immunization of humans with *Streptococcus mutans* antigens. *Oral Microbiol Immunol* 2003;18(5):271-77.

Liebenberg WH. Probationary adhesive dentistry. *J Can Dent Assoc* 1999; 65(10):582-4.

Lima LM, Motisuki C, Spolidorio DM, Santos-Pinto L. *In vitro* evaluation of probiotics microorganisms adhesion to an artificial caries model. *Eur J Clin Nutr* 2005;59(7):884-6.

Lin S, Caputo AA, Eversole LR, Rizoiu I. Topographical characteristics and shear bond strength of tooth surfaces cut with a laser-powered hydrokinetic system. *J Prosthet Dent* 1999;82(4):451-5.

Linde A. Dentin matrix proteins: composition and possible functions in calcification. *Anat Rec* 1989;224(2):154-66.

Loesche WJ. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol Rev* 1986;50(4):353-80.

Lopes GC, Franke M, Maia HP. Effect of finishing time and techniques on marginal sealing ability of two composite restorative materials. *J Prosthet Dent* 2002;88(1):32-6.

Lutz E, Krejci I, Oldenburg TR. Elimination of polymerization stresses at the margins of posterior composite resin restorations: a new restorative technique. *Quintessence Int* 1986;17(12):777-84.

Lynch E, Beighton D. A comparison of primary root caries lesions classified according to colour. *Caries Res* 1994;28(4):233-9.

Lynch RJ, ten Cate JM. Effect of calcium glycerophosphate on demineralization in an *in vitro* biofilm model. *Caries Res* 2006;40(2):142-7.

MacEntee MI, Clark DC, Glick N. Predictors of caries in old age. *Gerodontology* 1993;10(2):90-7.

Marcotte H, Lavoie MC. Oral microbial ecology and the role of salivary immunoglobulin A. *Microbiol Mol Biol Rev* 1998;62(1):71-109.

Marsh PD. Are dental diseases examples of ecological catastrophes? *Microbiology* 2003;149(Pt 2):279-94.

Marsh PD. Dental plaque as a microbial biofilm. *Caries Res* 2004;38(3):204-11.

Marshall GW, Habelitz S, Gallagher R, Balooch M, Balooch G, Marshall SJ. Nanomechanical properties of hydrated carious human dentin. *J Dent Res* 2001;80(8):1768-71.

Marshall GW, Jr., Chang YJ, Gansky SA, Marshall SJ. Demineralization of caries-affected transparent dentin by citric acid: an atomic force microscopy study. *Dent Mater* 2001;17(1):45-52.

Matsumoto K, Hossain M, Hossain MM, Kawano H, Kimura Y. Clinical assessment of Er,Cr:YSGG laser application for cavity preparation. *J Clin Laser Med Surg* 2002;20(1):17-21.

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

McIntyre JM, Featherstone JD, Fu J. Studies of dental root surface caries. 2: The role of cementum in root surface caries. *Aust Dent J* 2000;45(2):97-102.

McLean JW, Nicholson JW, Wilson AD. Proposed nomenclature for glass-ionomer dental cements and related materials. *Quintessence Int* 1994;25(9):587-9.

Mello AM, Mayer MP, Mello FA, Matos AB, Marques MM. Effects of Er:YAG laser on the sealing of glass ionomer cement restorations of bacterial artificial root caries. *Photomed Laser Surg* 2006;24(4):467-73.

Meskin LH, Dillenberg J, Heft MW, Katz RV, Martens LV. Economic impact of dental service utilization by older adults. *J Am Dent Assoc* 1990; 120(6):665-8.

Michalek SM, Katz J, Childers NK. A vaccine against dental caries: an overview. *BioDrugs* 2001;15(8):501-8.

Minah GE, Lovekin GB, Finney JP. Sucrose-induced ecological response of experimental dental plaques from caries-free and caries-susceptible Human volunteers. *Infect Immun* 1981;34(3):662-75.

Minakuchi S, Munoz CA, Jessop N. Effect of flexural load cycling on microleakage of extended root caries restorations. *Oper Dent* 2005; 30(2):234-38.

Miyazaki M, Onose H, Moore BK. Effect of operator variability on dentin bond strength of two-step bonding systems. *Am J Dent* 2000;13(2):1014.

Mjor IA, Toffenetti F. Secondary caries: a literature review with case reports. *Quintessence Int* 2000;31(3):165-79.

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

Moritz A, Schoop U, Goharkhay K, Jakolitsch S, Kluger W, Wernisch J et al. The bactericidal effect of Nd:YAG, Ho:YAG, and Er:YAG laser irradiation in the root canal: an *in vitro* comparison. *J Clin Laser Med Surg* 1999; 17(4):161-4.

Mount GJ, Makinson OF. Clinical characteristics of a glass-ionomer cement. *Br Dent J* 1978;145(3):67-71.

Nakajima M, Sano H, Burrow MF, Tagami J, Yoshiyama M, Ebisu S et al. Tensile bond strength and SEM evaluation of caries-affected dentin using dentin adhesives. *J Dent Res* 1995;74(10):1679-88.

Newbrun E. Sucrose, the arch criminal of dental caries. *Odontol Revy* 1967;18(4):373-86.

Nyvad B, Fejerskov O. An ultrastructural study of bacterial invasion and tissue breakdown in human experimental root-surface caries. *J Dent Res* 1990;69(5):1118-25.

Nyvad B, Fejerskov O. Root surface caries: clinical, histopathological and microbiological features and clinical implications. *Int Dent J* 1982; 32(4):311-26.

Nyvad B, Fejerskov O. Structure of dental plaque and the plaque-enamel interface in human experimental caries. *Caries Res* 1989;23(3):151-8.

Nyvad B, ten Cate JM, Fejerskov O. Arrest of root surface caries *in vitro*. *J Dent Res* 1997;76(12):1845-53.

Oda M, Comparação entre evidenciadores utilizados para a pesquisa da microinfiltração marginal. Estudo *in vitro*. [Tese de Livre-Docência]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2004.

Owens BM, Johnson WW, Harris EF. Marginal permeability of self-etch and total-etch adhesive systems. *Oper Dent* 2006;31(1):60-7.

Paes Leme AF, Dalcico R, Tabchoury CP, Bel Cury AA, Rosalen PL, Cury JA. *In vitro* effect of frequent sucrose exposure on enamel demineralization and on plaque composition after APF application and F dentifrice use. *J Dent Res* 2004;83(1):71-5.

Paghdiwala AF. Root resection of endodontically treated teeth by erbium: YAG laser radiation. *J Endod* 1993;19(2):91-4.

Palma Dibb RG, Milori Corona SA, Borsatto MC, Ferreira KC, Pereira RR, Djalma PJ. Assessing microleakage on class V composite resin restorations after Er:YAG laser preparation varying the adhesive systems. *J Clin Laser Med Surg* 2002;20(3):129-33.

Pecharki GD, Cury JA, Paes Leme AF, Tabchoury CP, Bel Cury AA, Rosalen PL et al. Effect of sucrose containing iron (II) on dental biofilm and enamel demineralization *in vitro*. *Caries Res* 2005;39(2):123-9.

Pontes DG, de Melo AT, Monnerat AF. Microleakage of new all-in-one adhesive systems on dentinal and enamel margins. *Quintessence Int* 2002;33(2):136-9.

Pradelle-Plasse N, Nechad S, Tavernier B, Colon P. Effect of dentin adhesives on the enamel-dentin/composite interfacial microleakage. *Am J Dent* 2001;14(6):344-8.

Rahima M, Veis A. Two classes of dentin phosphoporphyrins, from a wide range of species, contain immunologically cross-reactive epitope regions. *Calcif Tissue Int* 1988;42(2):104-12.

Ravald N, Birkhed D. Factors associated with active and inactive root caries in patients with periodontal disease. *Caries Res* 1991;25(5):377-84.

Ribeiro CC, Tabchoury CP, Bel Cury AA, Tenuta LM, Rosalen PL, Cury JA. Effect of starch on the cariogenic potential of sucrose. *Br J Nutr* 2005;94(1):44-50.

Rizoiu I, Kohanghadosh F, Kimmel AI, Eversole LR. Pulpal thermal responses to an erbium,chromium: YSGG pulsed laser hydrokinetic system. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998;86(2):220-3.

Rosan B, Lamont RJ. Dental plaque formation. *Microbes Infect* 2000;2(13):1599-607.

Rosenberg SP. The use of the erbium, chromium: YSGG laser in microdentistry. *Dent Today* 2003;22(6):70-3.

Sano H, Kanemura N, Burrow MF, Inai N, Yamada T, Tagami J. Effect of operator variability on dentin adhesion: students vs. dentists. *Dent Mater J* 1998;17(1):51-8.

Santini A, Ivanovic V, Ibbetson R, Milia E. Influence of cavity configuration on microleakage around Class V restorations bonded with seven self-etching adhesives. *J Esthet Restor Dent* 2004;16(2):128-35.

Saunders RH, Handelman SL. Effects of hyposalivatory medications on saliva flow rates and dental caries in adults aged 65 and older. *Spec Care Dentist* 1992;12(3):116-21.

Schaeken MJ, Keltjens HM, van der Hoeven JS. Effects of fluoride and chlorhexidine on the microflora of dental root surfaces and progression of root-surface caries. *J Dent Res* 1991;70(2):150-3.

Schupbach P, Guggenheim B, Lutz F. Histopathology of root surface caries. *J Dent Res* 1990;69(5):1195-204.

Schupbach P, Guggenheim B, Lutz F. Human root caries: histopathology of initial lesions in cementum and dentin. *J Oral Pathol Med* 1989; 18(3):146-56.

Schupbach P, Osterwalder V, Guggenheim B. Human root caries: microbiota of a limited number of root caries lesions. *Caries Res* 1996; 30(1):52-64.

Seemann R, Bizhang M, Kluck I, Loth J, Roulet JF. A novel *in vitro* microbial-based model for studying caries formation--development and initial testing. *Caries Res* 2005;39(3):185-90.

Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB. Dental caries. *Lancet* 2007; 369(9555):51-9.

Serra MC, Cury JA. The *in vitro* effect of glass-ionomer cement restoration on enamel subjected to a demineralization and remineralization model. *Quintessence Int* 1992;23(2):143-7.

Sheiham A. Dietary effects on dental diseases. *Public Health Nutr* 2001; 4(2B):569-91.

Shen S, Samaranayake LP, Yip HK. *In vitro* growth, acidogenicity and cariogenicity of predominant human root caries flora. *J Dent* 2004; 32(8):667-78.

Shono Y, Ogawa T, Terashita M, Carvalho RM, Pashley EL, Pashley DH. Regional measurement of resin-dentin bonding as an array. *J Dent Res* 1999;78(2):699-705.

Shu M, Wong L, Miller JH, Sissons CH. Development of multi-species consortia biofilms of oral bacteria as an enamel and root caries model system. *Arch Oral Biol* 2000;45(1):27-40.

Silva NR, Carvalho RM, Pegoraro LF, Tay FR, Thompson VP. Evaluation of a self-limiting concept in dentinal caries removal. *J Dent Res* 2006; 85(3):282-6.

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):44-9.

Smith DJ, Taubman MA. Effect of local deposition of antigen on salivary immune responses and reaccumulation of mutans streptococci. *J Clin Immunol* 1990;10(5):273-81.

Stamm JW, Banting DW, Imrey PB. Adult root caries survey of two similar communities with contrasting natural water fluoride levels. *J Am Dent Assoc* 1990;120(2):143-9.

Steele JG, Walls AW, Murray JJ. Partial dentures as an independent indicator of root caries risk in a group of older adults. *Gerodontology* 1997; 14(2):67-74.

Steinberg S. A modern paradigm for caries management, part 1: diagnosis and treatment. *Dent Today* 2007;26(2):134-9.

Steinfort J, van den BT, Beertsen W. Differences between enamel-related and cementum-related dentin in the rat incisor with special emphasis on the phosphoproteins. *J Biol Chem* 1989;264(5):2840-5.

Sung EC, Chenard T, Caputo AA, Amodeo M, Chung EM, RizoIU IM. Composite resin bond strength to primary dentin prepared with Er, Cr:YSSG laser. *J Clin Pediatr Dent* 2005;30(1):45-9.

Tachibana A. Influência do método de remoção de cárie na resistência adesiva de um sistema autocondicionante. .[Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP;2005.

Takatsuka T, Tanaka K, Iijima Y. Inhibition of dentine demineralization by zinc oxide: *in vitro* and *in vitro* studies. Dent Mater 2005;21(12):1170-7.

Tang G, Yip HK, Cutress TW, Samaranayake LP. Artificial mouth model systems and their contribution to caries research: a review. J Dent 2003; 31(3):161-71.

Ten Cate JM, Buijs MJ, Damen JJ. pH-cycling of enamel and dentin lesions in the presence of low concentrations of fluoride. Eur J Oral Sci 1995; 103(6):362-7.

ten Cate JM, Mundorff-Shrestha SA. Working Group Report 1: Laboratory models for caries (*in vitro* and animal models). Adv Dent Res 1995; 9(3):332-4.

Tenuta LM, Lima JE, Cardoso CL, Tabchoury CP, Cury JA. Effect of plaque accumulation and salivary factors on enamel demineralization and plaque composition *in vitro*. Pesqui Odontol Bras 2003;17(4):326-31.

Tenuta LM, Ricomini Filho AP, Bel Cury AA, Cury JA. Effect of sucrose on the selection of mutans streptococci and lactobacilli in dental biofilm formed *in vitro*. Caries Res 2006;40(6):546-9.

Tjandrawinata R, Irie M, Suzuki K. Flexural properties of eight flowable light-cured restorative materials, in immediate vs 24-hour water storage. Oper Dent 2005;30(2):239-49.

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

Triadan H. When is microleakage a real clinical problem? Oper Dent 1987; 12(4):153-7.

Turkun M, Turkun LS, Celik EU, Ates M. Bactericidal effect of Er,Cr:YSGG laser on *Streptococcus mutans*. *Dent Mater J* 2006;25(1):81-6.

Tyas MJ. Clinical evaluation of five adhesive systems: three-year results. *Int Dent J* 1996;46(1):10-4.

Unterbrink GL, Liebenberg WH. Flowable resin composites as "filled adhesives": literature review and clinical recommendations. *Quintessence Int* 1999;30(4):249-57.

Usumez A, Aykent F. Bond strengths of porcelain laminate veneers to tooth surfaces prepared with acid and Er,Cr:YSGG laser etching. *J Prosthet Dent* 2003;90(1):24-30.

van Houte J, Jordan HV, Laraway R, Kent R, Soparkar PM, DePaola PF. Association of the microbial flora of dental plaque and saliva with human root-surface caries. *J Dent Res* 1990;69(8):1463-8.

van Houte J, Lopman J, Kent R. The predominant cultivable flora of sound and carious human root surfaces. *J Dent Res* 1994;73(11):1727-34.

van Houte J. Bacterial specificity in the etiology of dental caries. *Int Dent J* 1980;30(4):305-26.

van Houte J. Role of micro-organisms in caries etiology. *J Dent Res* 1994;73(3):672-81.

Van Meerbeek B, De Munck J, Mattar D, Van Landuyt K, Lambrechts P. Microtensile bond strengths of an etch&rinse and self-etch adhesive to enamel and dentin as a function of surface treatment. *Oper Dent* 2003;28(5):647-60.

van Strijp AJ, Jansen DC, DeGroot J, ten Cate JM, Everts V. Host-derived proteinases and degradation of dentine collagen *in vitro*. *Caries Res* 2003;37(1):58-65.

Varrela TM. Prevalence and distribution of dental caries in a late medieval population in Finland. *Arch Oral Biol* 1991;36(8):553-9.

Venhoven BA, de Gee AJ, Davidson CL. Light initiation of dental resins: dynamics of the polymerization. *Biomaterials* 1996; 17(24):2313-2318.

Walters C, Eyre DR. Collagen crosslinks in human dentin: increasing content of hydroxypyridinium residues with age. *Calcif Tissue Int* 1983; 35(4-5):401-5.

Wefel JS, Heilman JR, Jordan TH. Comparisons of *in vitro* root caries models. *Caries Res* 1995;29(3):204-9.

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

White DJ. Use of synthetic polymer gels for artificial carious lesion preparation. *Caries Res* 1987;21(3):228-42.

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

Yalcin F, Korkmaz Y, Baseren M. The effect of two different polishing techniques on microleakage of new composites in Class V restorations. *J Contemp Dent Pract* 2006;7(5):18-25.

Yip HK, Stevenson AG, Beeley JA. The specificity of caries detector dyes in cavity preparation. *Br Dent J* 1994;176(11):417-21.

Yoshiyama M, Tay FR, Doi J, Nishitani Y, Yamada T, Itou K et al. Bonding of self-etch and total-etch adhesives to carious dentin. *J Dent Res* 2002; 81(8):556-60.

Yoshiyama M, Urayama A, Kimochi T, Matsuo T, Pashley DH. Comparison of conventional vs self-etching adhesive bonds to caries-affected dentin. *Oper Dent* 2000;25(3):163-9.

Yu DG, Kimura Y, Kinoshita J, Matsumoto K. Morphological and atomic analytical studies on enamel and dentin irradiated by an erbium, chromium:YSGG laser. *J Clin Laser Med Surg* 2000;18(3):139-43.

Zach L, Cohen G. Pulp response to externally applied heat. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1965;19:515-30.

Zacharia MA, Munshi AK. Microbiological assessment of dentin stained with a caries detector dye. *J Clin Pediatr Dent* 1995; 19(2):111-5.

Zambon JJ, Kasprzak SA. The microbiology and histopathology of human root caries. *Am J Dent* 1995;8(6):323-8.

Zero DT. *In situ* caries models. *Adv Dent Res* 1995;9(3):214-30.

Zero DT. Sugars - the arch criminal? *Caries Res* 2004;38(3):277-85.

ANEXOS

ANEXO A- Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

Faculdade de Odontologia

Universidade de São Paulo




PARECER DE APROVAÇÃO
Protocolo 175/04

O Grupo de Trabalho indicado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, **APROVOU** o protocolo de pesquisa "*Avaliação in vitro da qualidade do selamento marginal de restaurações estéticas em cavidades preparadas pelo método convencional e pelo laser de Er, Cr: YSGG após remoção de cárie radicular experimentalmente induzida*", de responsabilidade do Pesquisador **Vinicius Rangel Geraldo Martins**, sob orientação da Profa. Dra. **Márcia Martins Marques**.

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados a este Comitê relatórios anuais referentes ao andamento da pesquisa e ao término cópia do trabalho em "cd". Qualquer emenda do projeto original deve ser apresentada a este CEP para apreciação, de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

São Paulo, 20 de outubro de 2004


Profª Drª **ROSA HELENA MIRANDA GRANDE**
Coordenadora do CEP-FOUSP