FERNANDO SEISHIM HANASHIRO

Avaliação *in vitro* das superfícies vestibulares desmineralizadas e restauradas com resina infiltrante

São Paulo

2012

FERNANDO SEISHIM HANASHIRO

Avaliação *in vitro* das superfícies vestibulares desmineralizadas e restauradas com resina infiltrante

Versão Corrigida

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

Área de Concentração: Dentística

Orientador: Prof. Dr. Michel Nicolau Youssef

São Paulo

2012

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catalogação da Publicação
Serviço de Documentação Odontológica
Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Hanashiro, Fernando Seishim.
Avaliação *in vitro* das superfícies vestibulares desmineralizadas e restauradas com resina infiltrante / Fernando Seishim Hanashiro ; orientador Michel Nicolau Youssef. -- São Paulo, 2012.

67 p. : fig., tab., graf. ; 30 cm.

Tese (Doutorado) -- Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Área de Concentração: Dentística. -- Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

Versão corrigida.

1. Demineralização do dente. 2. Resinas. 3. Corantes fluorescentes. 4. Cárie dentária. 5. Estética dentária. I. Youssef, Michel Nicolau. II. Título.

Hanashiro FS. Avaliação *in vitro* das superfícies vestibulares desmineralizadas e restauradas com resina infiltrante. Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Odontologia.

Aprovado em: / /

Banca Examinadora

Prof(a). Dr(a)._____Instituição: _____

Julgamento: _____Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a)._____Instituição: _____

Julgamento: _____Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a)._____Instituição: _____

Julgamento: _____Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a)._____Instituição: _____

Julgamento: _____Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a)._____Instituição: _____

Julgamento: _____Assinatura: _____

Ao meu pai, **Osvaldo Kiyomaro Hanashiro**, um exemplo de honestidade e coragem. Você me ensinou a ser forte quando precisar, mas, também me ensinou o quão importante é a família.

A minha mãe **Sadako Hanashiro**, mulher muito importante da minha vida, sempre protegeu a família e cuidou para que nos mantivéssemos juntos e sempre fez o que precisasse para cada um de seus filhos.

Ao meu irmão **Henrique** e as minhas irmãs **Josye**, **Renata** e **Patricia**, obrigado pelos momentos que passamos juntos, pelo aprendizado, e pela paciência que tiveram comigo todos esses anos. Espero que eu tenha sido, na medida do possível, um bom irmão mais velho.

A minha sogra **Ilda**, por toda força, cuidado carinho e respeito que teve comigo todos esses anos.

Aos meus cunhados **Ricardo** e **Márcia** por cuidarem da Sandra antes de mim, e pela força que vocês tem junto. Obrigado por me deixarem fazer parte da família de vocês.

Aos meus cunhados **Mary, Eric** e **Jun**, obrigado por cuidarem de meu irmão, e minhas irmãs. Tenham mais paciência com eles do que eu tive. E obrigado por fazerem parte de minha família.

Aos meus sobrinhos **Naomi**, **Rafael e Felipe**, por deixar a vida de todos mais alegre e feliz.

A minha filha **Julia Ery**, por fazer meu coração pular de alegria e felicidade, a cada dia e a cada sorriso. E lembre-se que você sempre será a princesinha do papai!

E, por fim, mas, não por última, ao meu amor, minha esposa **Sandra**, por completar a minha vida com carinho, apoio, compreensão, incentivo e muito amor! Muito obrigado por

entender esta parte da minha vida e que em todos os momentos eu quero estar junto de vocês.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao Prof. Dr. **Michel Nicolau Youssef**, por sempre guiar e orientar meus passos, pelo incentivo a procurar soluções de problemas. Obrigado pelos ensinamentos e oportunidades que me proporcionou. E pelo exemplo de professor e didática que eu procuro ser.

À Profa. Dra. **Wanessa Christine de Souza Zaroni**, pela sua ajuda, amizade e ensinamentos recebidos. Obrigado pela força e incentivo, e pela disponibilidade em ajudar em todos os momentos.

À Profa. Dra. **Miriam Lacalle Turbino**, pela sua ajuda, amizade e ensinamentos recebidos. Obrigado pela força e incentivo, e pela disponibilidade em ajudar em todos os momentos.

À Profa. Dra. **Marcia Martins Marques**, Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Dentística, pelos ensinamentos, orientação e incentivo.

Ao Prof. Dr. **Laurindo Borelli Neto**, Diretor da DMG do Brasil, pela orientação e incentivo neste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Ao CAPES, pela concessão de bolsa de estudo durante o curso de mestrado.

À Universidade de São Paulo, representada pela Reitor Prof. Dr. João Grandino Rodas.

À Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, representada por seu Diretor, Prof. Dr. Rodney Garcia Rocha

À Profa. Dra. Marina Helena Cury Gallottini, Presidente da Comissão de Pós-Graduação da FOUSP

À Profa. Dra. Marcia Martins Marques, Chefe do Departamento de Dentística e Endodontia da FOUSP e a todos os docentes pela competência e por todos os ensinamentos recebidos.

Às professoras Patricia Freitas, Ana Cecilia, pela amizade e pela ajuda recebida.

À Profa. Dra. Margareth Oda, pelo incentivo e amizade.

À Profa. Dra. Eliza Maria A. Russo, pela amizade e incentivo ao ensino.

Ao Prof. Dr. Igor Prokopowitsch, pelo incentivo recebido durante este trabalho.

À todos os professores do Departamento de Dentística, pela dedicação de vocês ao ensino.

À Soninha, funcionária do Departamento de Dentística, por estar sempre pronta para me ajudar.

Aos funcionários do Departamento de Dentística, David, Ana, Aldo, Selma, Leandro e Arnaldo pela ajuda e atenção demonstradas.

Às Funcionárias da Secretaria de Pós-Graduação, Cátia, Veridiana e Alessandra, pela paciência e ajuda durante o curso de mestrado.

Às Funcionária Glauci e Maria Claudia do Serviço de Documentação Odontológica, pela ajuda essencial com o trabalho.

À ex-aluna de iniciação científica, hoje cirurgiã dentista Andrea Gonçalvez Kobuta, devido a ajuda neste trabalho.

À ex-aluna de iniciação científica, hoje aluna de mestrado do programa de Dentística da FOUSP, Samira Helena João de Souza, devido a ajuda neste trabalho.

Aos meus amigos do curso de Pós-Graduação, Adriano, Andréa, Anely, Bruna, Carlos–cabeto, Carol, Cynthia, Daniela, Elizabeth, Fred, Ivana, Juliana, Karina, Livia, Luciana, Mayra, Milena, Paula, Rosiane, Simone, Stella, Taciana, Talita, Tamile, Tatiane, Thayanne, Thayne e Thaysa.

Aos meus amigos egressos do curso de Pós-Graduação: Airton, Amanda, Carol, Andréa, Angela Vigorito, Angela Shimaoka, Camila Guglielmi, Camilinha, Débora, Denis, Ellen, Cidão, Gisela, Juliana, Leila, Letícia, Lucia, Marinão, Sergio (BOI), Sheila, Tais, Thais, Washington e Yuri, muito obrigado por todo esse tempo e amizade de todos vocês.

Ao meu colega de turma, e de trabalho, Daniel, obrigado pela força.

À minha amiga Juliana Yuki, obrigado pelo seu incentivo e amizade.

A todas as pessoas que contribuíram na elaboração deste trabalho, direta ou indiretamente.

.

“Não conheço missão maior e mais nobre que a de dirigir as inteligências jovens e preparar os homens do futuro.”

Autor: Pedro de Alcântara João Carlos Leopoldo Salvador Bibiano Francisco Xavier de Paula Leocádio Miguel Gabriel Rafael Gonzaga (D. Pedro II)

RESUMO

Hanashiro FS. Avaliação *in vitro* das superfícies vestibulares desmineralizadas e restauradas com resina infiltrante [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2012. Versão Corrigida.

Nos dias atuais, os pacientes tem uma grande preocupação com a estética dos dentes. Alterações de posicionamento é um exemplo de problema que o paciente tem interesse em resolver com o tratamento ortodôntico. No entanto, o próprio tratamento ortodôntico tem como característica o uso de acessórios que podem facilitar o acúmulo de resíduos alimentares e dificultar a higienização. Facilitando o desenvolvimento de lesões cariosas. Este estudo in vitro se propôs a avaliar o efeito do mascaramento de tecido dental desmineralizado quando restaurado com a resina infiltrante. Vinte superfícies vestibulares obtidas através de incisivos bovinos tiveram suas superfícies planificadas. Cada espécime foi individualizado de modo que toda leitura para recolhimento de dados fosse feita na mesma superfície. Os espécimes foram submetidos a análise por espectrofotômetro, para obtenção de coordenadas de cor, e a análise da perda mineral, através de quantificação de fluorescência induzida por luz (QLF), sendo que essas análises foram feitas nos tempos: inicial, pós ciclagem de pH, após restauração com a resina infiltrante e após hidratação da resina infiltrante. A análise inicial foi feita de modo a ser obtido o valores iniciais de cor e de conteúdo mineral dos espécimes. Após a leitura inicial, os espécimes foram submetidos a ciclagem de pH durante 16 dias, permanecendo diariamente em soluções desmineralizadora e remineralizadora por 6horas e 18 horas respectivamente. Após o desafio ácido, os espécimes foram avaliados, sendo este o tempo denominado Inicial. Em seguida os espécimes foram restaurados utilizando a resina infiltrante seguidos de nova avaliação, sendo este tempo denominado Icon. Os espécimes permaneceram em água destilada para hidratação da resina e submetidos a nova avaliação, sendo este tempo denominado Hidratado. Pode-se concluir que a variação total de cor (ΔE), é perceptível ao observador comum, quando comparado à cor inicial com a cor após a restauração. Enquanto que a análise feita pelo QLF, a perda mineral não foi detectada após a hidratação da resina infiltrante.

Palavras-chave: Fluorescência. Cor. Espectrofotometria. Cárie Dentária.

.

ABSTRACT

Hanashiro FS. In vitro evaluation of buccal surfaces demineralized and restored with resin infiltration [thesis]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2012. Versão Corrigida.

In the present days, patients have a major concern with the aesthetics of teeth. Changes positioning is an example of a problem that the patient is interested in resolve with orthodontic treatment. However, the actual orthodontic treatment is characterized by the use of accessories that can facilitate the accumulation of food residues and hinders hygiene. This facilitates the development of caries lesions. This in vitro study aimed to evaluate the effect of masking demineralized dental tissue when restored with the infiltrant resin. Twenty buccal surfaces obtained from bovine incisors had planned their surfaces. Each specimen was individualized so that the entire data for analysis was done on the same surface. The specimens were analyzed by spectrophotometer for obtaining color coordinates, and the analysis of mineral loss through quantification of light-induced fluorescence (QLF), and these analyzes were made at times: initial pH cycling post, after restoration with resin infiltrating and. The specimens were analyzed by spectrophotometer for obtaining color coordinates, and the analysis of mineral loss through quantification of light-induced fluorescence (QLF), and these analyzes were made at times: initial pH cycling post, after restoration with resin infiltrating and infiltrating resin after hydration. The initial analysis was made in order to obtain the initial values of color and mineral content of the specimens.. After the initial reading, the specimens were subjected to pH cycling for 16 days, daily remaining in demineralizing and remineralizing solution for 6 hours and 18 hours respectively. After the acid challenge, the specimens were evaluated, this time called Inicial. Then the specimens were restored using resin infiltration followed new analysis, this time being named Icon. The specimens remained in distilled water for hydratation of the resin and subjected to new analysis, this time being called Hidratado. It can be concluded, that the total variation of color (ΔE) is perceptible to the casual observer, when compared to the initial color with the color after restoration. While the analysis by QLF, the mineral loss was not detected after hydratation of resin infiltration.

Keywords: Fluorescence. Colour. Spectrophotometry. Dental Caries.

LISTA DE FIGURAS

Figura 4.1 - Superfície planificada de esmalte bovino 35

Figura 4.2 - Espécimes de 10mm x 10mm 35

Figura 4.3 - Porta amostra universal – visão anterior e visão posterior 36

Figura 4.4 - Figura 4.4 – Amostra confeccionada para o posicionamento das amostras- visão anterior e visão posterior 36

Figura 4.5 - Aparelho de QLF e peça de mão para análise 38

Figura 4.6 - Avaliação da perda mineral – perda de 0% 39

Figura 4.7 - Avaliação da perda mineral – variação de 0,40% 39

Figura 4.8 - Delimitação da janela para ciclagem de pH 40

Figura 4.9 - Fixação do espécime 40

Figura 4.10 - Dispositivo de suporte para ciclagem de pH 41

Figura 4.11 - Identificação da lesão de mancha branca 42

Figura 4.12 - Aplicação do gel condicionador de superfície 43

Figura 4.13 - Aplicação Álcool absoluto 43

Figura 4.14 - Aplicação da resina infiltrante 44

Figura 4.15 - Após a aplicação de resina infiltrante..... 44

LISTA DE QUADROS

Quadro 4.1 - Variações de leitura 34

LISTA DE GRÁFICOS

Figura 5.1 - Valores médios dos intervalos de confiança de 95% da variável ΔE 49

Figura 5.2 - Teste de Tukey para a variável ΔE 50

Figura 5.3 - Valores médios dos intervalos de confiança de 95% da variável ΔL 50

Figura 5.4 - Teste de Tukey para a variável ΔL..... 51

Figura 5.5 - Valores médios dos intervalos de confiança de 95% da variável Δa 52

Figura 5.6 - Teste de Tukey para a variável variável Δa 52

Figura 5.7 - Valores médios dos intervalos de confiança de 95% da variável Δb 53

Figura 5.8 - Teste de Tukey para a variável Δb 53

Figura 5.9 - Comparações entre Medianas dos tempos para a variável ΔQ..... 55

LISTA DE TABELAS

Tabela 5.1 - Estatística descritiva e os parâmetros estatísticos dos dados. Variáveis dependentes: ΔL, Δa, Δb e ΔE. Unidade = CIEL*a*b* 46

Tabela 5.2 - Teste de esfericidade de Mauclhy (W), para as variáveis dependentes (ΔL, Δa, Δb e ΔE), para os tempos de Avaliação..... 47

Tabela 5.3 - Análise de variância de um fator para as variáveis dependentes (ΔL, Δa, Δb e ΔE) 48

Tabela 5.4 - Teste complementar de Tukey para as variáveis dependentes (ΔL, Δa, Δb e ΔE)49

Tabela 5.5 - Estatística descritiva e os parâmetros estatísticos dos dados. Variável dependente: ΔQ..... 54

Tabela 5.6 - Estatística Teste de Friedman para a variável dependente ΔQ 54

Tabela 5.7 - Diferença entre ranks 55

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 19
2 REVISÃO DA LITERATURA 21
3 PROPOSIÇÃO 31
4 MATERIAL E MÉTODOS 32
5 RESULTADOS 46
6 DISCUSSÃO 56
7 CONCLUSÕES 59
REFERÊNCIAS 60

1 INTRODUÇÃO

Segundo o ultimo levantamento epidemiológico feito no Brasil em 2010 [1], houve o estudo sobre a oclusão dentária com a finalidade de conhecer a necessidade de tratamento envolvendo oclusão e a estética da população através de tratamentos ortodôntico [2].

Em virtude da maior preocupação dos próprios indivíduos com a saúde bucal, houve também um aumento da necessidade estética de melhorar a disposição e alinhamento dos dentes na arcada, o que tem resultado no aumento do número de pessoas que procuram o tratamento ortodôntico. O tratamento ortodôntico utiliza acessórios, tais como braquetes, bandas e fios ortodônticos, que são necessários para o tratamento, mas, facilitam o acúmulo de resíduos alimentares e dificultam a higienização.

Essas áreas adjacentes aos acessórios ortodônticos, mais frequentemente os terços cervical e médio da superfície vestibular dos dentes anteriores superiores, podem começar a desmineralizar e apresentar uma aparência esbranquiçada e opaca, é a primeira fase clínica da doença cárie, a lesão de mancha branca. Após o tratamento ortodôntico, muitos pacientes apresentam descontentamento devido à presença de manchas brancas. A presença de lesões de mancha branca pode ser observada em até 50% dos pacientes submetidos ao tratamento ortodôntico [3, 4], e esta é motivo de grande descontentamento por parte de muitos pacientes ao final do tratamento.

Um dos métodos preventivos à instalação de tais lesões é a utilização de fluoretos para reduzir a desmineralização e aumentar a remineralização dos tecidos duros dentários, tendo como vantagens, seu baixo custo e facilidade de manipulação. Assim, algumas manchas brancas podem remineralizar e voltar ao normal ou pelo menos ter uma aparência aceitável, outras, no entanto, persistem, assumem uma condição estética inaceitável, e, em casos mais graves, o tratamento restaurador se faz necessário com a utilização de resinas compostas.

Um método promissor para tratamento conservador das lesões de mancha branca se baseia na utilização de resinas com alto coeficiente de penetração, pois devido a essa característica, pode-se restaurar tais lesões sem a utilização de instrumento cortante rotatório, evitando o desgaste prematuro de tecido dental.

Contudo, podemos observar que são escassos estudos que tenham avaliado o efeito e eficácia do mascaramento de tecido dental desmineralizado com este tipo de material.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Nesta Revisão de literatura, serão abordados os seguintes temas: 2.1 Cárie, 2.2 Métodos de quantificação de Cárie e 2.3 Propriedades ópticas dos elementos dentais

Considerando a grande quantidade de trabalhos referentes a estes temas, optou-se nesta revisão, pela apresentação dos autores de maneira agregada segundo assunto, para tornar a leitura mais agradável.

2.1 Cárie

A cárie é uma doença relacionada de natureza infecciosa, multifatorial e dinâmica. Depende da interação de quatro fatores: biofilme patogênico, susceptibilidade do hospedeiro, dieta cariogênica e o tempo [5]. No entanto, nos dias atuais esses quatro fatores podem ser modificados por fatores comportamentais [6].

A susceptibilidade do hospedeiro esta relacionada com as características intrínsecas ao indivíduo, como por exemplo, os dentes e seus constituintes estruturais e químicos, e a saliva por sua capacidade tampão. A existência de defeitos estruturais pode aumentar a susceptibilidade a lesões cariosas, e antes do conhecimento da etiologia da doença, eram sumariamente removidas para evitar o inicio das mesmas [7-9].

Os componentes químicos influenciam na mineralização dos tecidos dentais, e alguns elementos como o flúor, diminuem a susceptibilidade a desmineralização tecidual, pois a fluorapatita possui maior resistência a dissolução quando comparada a hidroxiapatita.

Além dos fatores da constituição química do elemento dental, o seu posicionamento pode facilitar o acúmulo de biofilme dental. Seja pela posição intermediária no caso de dentes recém-erupcionados em infra-oclusão, ou mal posicionados [10].

Ainda no período de erupção dos dentes, até entrarem em oclusão com seus antagonistas, é o periodo de maior susceptibilidade ao desenvolvimento de lesões cariosas [11].

A diversidade da microbiota da cavidade bucal atua de maneira relativa na formação de lesões. Pois o biofilme necessita de bactérias especificas, denominadas acidogênicas, pois produzem ácidos que diminuem o pH do biofilme dentário e alem disso, as bactérias podem ser acidúricas, ou seja, capazes de sobreviverem no pH extremamente ácidos [12].

O elemento dental apresenta-se em equilíbrio químico em relação a saliva, onde, dependendo do pH salivar, pode ocorrer perda mineral ou deposição mineral em relação à superfície do dente [13]. Desta maneira, essa é a importância do tempo para ocorrer a formação de lesões cariosas [14].

As lesões cariosas de esmalte, segundo Silverstone[15] podem ser divididas em zonas histológicas, sendo que a mais externa, denominada superficial, ainda possui uma menor porosidade quando comparada a outras zonas. A zona denominada de corpo da lesão é onde é encontrada a área de maior perda mineral. A zona escura esta presente quando não há zona translucida, e normalmente esta relacionada a lesões de cárie inativa ou de progressão lenta. A zona translucida representa a frente da lesão, sendo uma área que não apresenta estrutura.

A dentina cariada pode ser dividida em 2 áreas [16], Dentina infectada, onde o tecido apresenta bactérias responsáveis pela lesão; e Dentina afetada, onde o tecido pode apresentar um certo grau de desmineralização, no entanto, é livre de contaminação bacteriana.

O tratamento da doença cárie, tem mudado a medida que conhecemos a etiologia da doença. Partimos de uma situação onde por desconhecimento, ocorria desgaste de tecido sadio[7-9], até situações mais conservadoras e atuais onde podemos tentar controlar os fatores causadores da doença [17], evitando ao máximo a perda de estrutura tecidual.

Uma característica das lesões iniciais de cárie, é formação de uma área esbranquiçada e opaca, denominada de lesão de mancha branca [18]. E é caracterizada por ser uma área desmineralizada e passível de remineralização com o possível retrocesso da alteração da cor [18].

2.2 Métodos de quantificação de Cárie

O estudo de novas terapias para a prevenção da cárie exige que as lesões desenvolvidas e pequenas alterações no conteúdo mineral da estrutura possam ser quantificadas. A quantificação das lesões pode ser feita tanto com relação à extensão de tecido já afetado, como com relação à perda mineral [19-21].

Em estudos *in vitro*, a utilização das técnicas de microrradiografia em corte transversal, microdureza em corte transversal, análises químicas da dissolução de cálcio e fósforo, bombardeamento por elétrons e microscopia de luz polarizada têm sido considerados métodos de referência para esse tipo de medida apesar de serem métodos destrutivos de espécimes [20, 22].

Com intuito de possibilitar uma avaliação quantitativa das lesões também *in vivo*, grande atenção tem sido dedicada ao desenvolvimento de métodos não destrutivos. Esses métodos se baseiam fundamentalmente na análise das propriedades ópticas alteradas nos tecidos cariados e com alguns deles é possível uma correlação com o conteúdo mineral. Entre os vários métodos que têm sido estudados, tomografia por coerência óptica, espalhamento por luz e quantificação da fluorescência induzida por luz (QLF), este último é o que se encontra em estágio mais avançado de desenvolvimento e para o qual já existe inclusive um equipamento disponível para o uso clínico.

2.2.1 Microscopia de luz polarizada

A estrutura mineral do esmalte é composta de cristais de hidroxiapatita, organizados em prismas que estendem desde a junção amelo-dentinária até a superfície. Esses cristais apresentam propriedade de birrefringência e, portanto, a estrutura apresenta dois índices de refração. Quando um feixe de luz polarizada atravessa a estrutura ele é dividido em dois feixes de velocidades diferentes. No esmalte humano o sinal negativo de birrefringência é dado arbitrariamente para o feixe mais lento que vibra em ângulo perpendicular à extensão dos prismas. Sendo assim, em um corte longitudinal, o esmalte apresenta uma

birrefringência intrínseca negativa. No esmalte cariado ocorre um aumento dos poros e do espaço inter-cristais, que dá origem a um segundo tipo de birrefringência, que é positiva em relação à orientação dos prismas. Essa birrefringência é produzida quando os poros formados são preenchidos por um meio de índice de refração diferente dos cristais de apatita (n=1,62). Portanto, quanto maior for a diferença entre o índice de refração dos cristais e do meio em que as fatias de esmalte são embebidas, maior será a birrefringência positiva formada. Da mesma forma, quanto maior for a desmineralização e o volume dos poros, maior será a birrefringência positiva [23]. Nas amostras embebidas em água (n=1,33) um bom contraste entre o esmalte sadio e o cariado pode ser observado [24].

A possibilidade de utilização da microscopia de luz polarizada para a observação do esmalte dental sadio e cariado é há muito tempo conhecida. Os estudos realizados na metade do século passado utilizando essa técnica permitiram a caracterização histológica detalhada das alterações do esmalte cariado, que são até hoje utilizadas em cariologia [25]. A vantagem da observação em microscópio de luz polarizada é que ela permite uma diferenciação mais clara das várias zonas de uma lesão. Além disso, essa técnica não é útil apenas para descrições qualitativas do esmalte cariado, mas também para a análise quantitativa, fornecendo informações indiretas sobre a estrutura [26]. Apesar da quantificação mineral não ser possível, sem que as lâminas sejam embebidas em soluções de diferentes índices de refração, a imagem mostra um forte contraste entre as quatro zonas da lesão e portanto permite que ela seja medida em sua completa extensão. Por outro lado, a imagem de uma mesma lesão observada por microrradiografia revela apenas o corpo da lesão.

A medida de profundidade de lesão através de microscopia de luz polarizada tem sido utilizada em diversos estudos avaliando o efeito do flúor tópico na progressão de cárie, e também como método de referência para avaliação de novos métodos de quantificação de lesões [20, 22, 27-32].

2.2.2 Quantificação da fluorescência Induzida por luz (QLF)

A necessidade de uma Odontologia cada vez mais conservadora e menos restauradora motivou a comunidade científica a buscar novos métodos de detecção de cárie que permitissem não somente a identificação de lesões, mas também a quantificação de sua severidade e de preferência, de modo precoce. Entre os diferentes métodos ópticos, recentemente estudados, grande atenção tem sido dada à quantificação da fluorescência induzida por luz (QLF). Isto devido aos valores de redução de radiância da fluorescência apresentarem um alto grau de correlação com a perda de volume mineral observada em microradiografia [33-35].

A quantificação da perda mineral através da método do QLF é não-destrutiva e permite o monitoramento de lesões ao longo do tempo (perda e ganho mineral), o que é essencial para se determinar o grau de atividade da lesão e permite traçar um plano de tratamento adequado [36]. Sendo assim, o método é bastante promissor do ponto de vista clínico e pode fornecer dados quantitativos para as decisões clínicas, sejam elas de intervenção ou acompanhamento das lesões.

Também para o uso *in vitro,* o método apresenta vantagens, pois permite a avaliação imediata de novos métodos preventivos de cárie, diminuindo assim o tempo necessário para que eles possam ser testados *in situ* ou *in vivo*. A observação mais rápida do que nos métodos tradicionais é possível, pois não é necessária a execução de procedimentos normalmente demorados, como a obtenção de fatias dentais finas para avaliação, e a mesma amostra pode ser avaliada várias vezes no decorrer do tempo e da aplicação da terapia facilitando a observação em longo prazo.

O método QLF se baseia na propriedade intrínseca da estrutura dental de apresentar fluorescência quando iluminada por fonte de luz ultravioleta e visível na região do azul-verde e vermelho do espectro eletromagnético [37, 38]. Uma boa diferenciação entre a estrutura sadia e desmineralizada é possível com os comprimentos de onda na região do azul-violeta, pois a fluorescência é menor nas áreas em que há perda de mineral, fazendo com que elas sejam observadas como manchas escuras na imagem [39].

A origem exata da fluorescência resultante da excitação por comprimentos de onda na região do azul-violeta não é completamente conhecida, porém hoje se sabe, que ao

contrário do que foi inicialmente teorizado, ela se origina predominantemente da dentina e da junção amelo-dentinária.

O que permite que o esmalte sadio e o cariado sejam diferenciados é a alteração das propriedades ópticas do tecido cariado. A ocorrência de cáries resulta em aumento da quantidade de água na estrutura dental, e também no aumento do coeficiente de espalhamento da luz na região da lesão em relação ao tecido sadio [40]. O coeficiente de espalhamento aumentado causa a diminuição da fluorescência, predominantemente devido ao bloqueio da fluorescência originária da dentina e da junção amelo-dentinária [41]. Porém, a possibilidade de que parte desse efeito ocorra devido a uma diminuição da quantidade de luz que consegue atingir a região fluorescente e ser absorvida também tem sido mencionada [42].

No equipamento de QLF, atualmente disponível para uso clínico, a luz emitida por uma lâmpada de xenônio, que atravessa um filtro, na região do azul-violeta (λ = 404 ±11 nm), é utilizada para iluminação do dente e na promoção da fluorescência. A fluorescência verde emitida pela estrutura é então capturada através de uma microcâmera CCD ("*charge coupled device*"), contendo um filtro de passa alta, que transmite apenas os comprimentos de onda maiores do que 520 nm. A partir da imagem obtida, a intensidade da fluorescência nas regiões sadias e cariadas são analisadas através do programa Inspektor Pro™, que realiza uma interpolação dos valores registrados nas áreas sadias adjacentes à lesão para calcular a porcentagem de perda de fluorescência (ΔF). Além disso, a área em mm^2, da região com fluorescência reduzida também é registrada e integrada ao valor de variação de fluorescência (ΔF), resultando em um valor de porcentagem de perda mineral por mm^2 (ΔQ).

Todos os cálculos são feitos de maneira direta pelo programa e apenas um dos fatores envolvidos na análise, a determinação da área a ser avaliada, depende do escolha do examinador. Como a inclusão desse fator subjetivo representa uma fragilidade do método, a sua influência nos resultados de perda de fluorescência tem sido investigada em diversos estudos. *In vitro*, os resultados de um estudo multicêntrico com dez examinadores diferentes demonstraram um alto grau de concordância das medidas de ΔQ intra- e inter-examinador [43]. Porém, *in vivo*, a repetibilidade e reprodutibilidade do método apresentaram uma maior variação, sendo que alguns estudos demonstram um grau variado entre excelente e outros apenas moderados de concordância entre as medidas feitas por diferentes examinadores ou entres as diversas avaliações de uma mesma lesão.

A sensibilidade da técnica, ou seja, a capacidade do método de detectar a doença quando o tecido está realmente afetado, é por outro lado alta, e favorece o diagnóstico precoce das lesões [43].

Além da reprodutibilidade, repetibilidade e sensibilidade do método, também a possibilidade de quantificar a perda das lesões quando comparada ao padrão-ouro precisa ser observada. Nesse sentido, os resultados são bastante positivos, pois diversos estudos *in vitro* têm demonstrado que a quantidade de perda de radiância da fluorescência medida em mm^2 (ΔQ) apresenta um alto grau de correlação com a perda de volume mineral medida através de microrradiografia transversal [44], longitudinal [40, 45] e também com a profundidade de lesão [46]. Da mesma forma, a correlação entre as medidas de ΔF com a perda de volume mineral e a profundidade de lesão também tem sido demonstrada [47].

Contudo, alguns cuidados precisam ser observados, durante a avaliação em estudos *in vitro* para garantir um maior numero de resultados acurados. As medidas de lesões de cárie incipientes feitas *in vitro*, são influenciadas por diversos fatores relacionados ao ambiente em que o experimento é realizado e também à lesão de cárie em si. Fatores como a iluminação da sala, o ângulo existente entre a câmera e a superfície do dente e também o grau de desidratação da lesão precisam ser padronizados para que o grau de confiabilidade dos dados seja o maior possível. A iluminação do ambiente, por exemplo, apresenta uma influência direta nas medidas de QLF. A avaliação de medidas feitas em diferentes intensidades de luz mostra que uma intensidade de luz ambiente maior que 88 lux, causa uma queda estatisticamente significante das medidas de ΔQ, comprometendo a confiabilidade dos dados [48]. Também a captura das imagens em ângulos, 20° graus maiores ou menores do que 90° entre a superfície da lesão de cárie incipiente e a câmera, resulta em valores de ΔQ significativamente menores que os valores máximos obtidos na relação perpendicular[45, 49, 50]. Outro fator que pode alterar a confiabilidade dos dados é o grau de desidratação das lesões. A comparação entre a secagem com roletes de algodão, a secagem natural na bancada e a secagem através da utilização de um jato de ar comprimido por 15 s mostraram que esta última resulta no maior grau de confiabilidade das medidas de ΔQ. Sendo que o mesmo resultado foi observado tanto para amostras armazenadas em água destilada como em saliva humana total [51].

A espessura do esmalte também apresenta uma influência importante nas medidas de QLF e tanto os estudos através de simulação de Monte Carlo quanto os experimentais (*in*

vitro) mostram que quanto maior a espessura do esmalte, menor é a fluorescência, resultando assim em um menor contraste entre lesão e esmalte sadio [48].

A técnica de QLF pode ser utilizada de forma efetiva não somente para o estudo de lesões incipientes de dentes permanentes, mas também para o monitoramento de lesões em dentes decíduos e de outros tipos de lesões, como as lesões de erosão e as cáries secundárias ao redor de restaurações de amálgama, cimentos temporários e compósitos [47, 52]. Porém o método apresenta limitações para a detecção de lesões oclusais e interproximais *in vivo.*

No que se refere aos estudos *in situ*, um modelo de estudo [53] também já foi testado e provou a habilidade do método de QLF para o monitoramento tanto da desmineralização provocada por alimentos cariogênicos como também a remineralização obtida através do uso de cremes dentais e enxaguatórios bucais

2.3 Propriedades ópticas dos elementos dentais

A coroa dental apresenta 2 tecidos mineralizados diferentes, esmalte e dentina. O esmalte é um arranjo ordenado de cristais mineralizados e uma matriz proteica, formada principalmente por proteínas, lipídios e água. A dentina possui um arranjo parecido com favos de mel, e constituído de cristais mineralizados e uma matriz proteica, formada principalmente por colágeno [54]. Os cristais mineralizados são o constituinte em comum de ambos os tecidos, denominado de hidroxiapatita carbonatada e é formada por cálcio, sódio, carbonato, hidroxila e íons fluoreto [55].

A composição do esmalte é de cerca de 87% em volume de hidroxiapatita, e o restante composto de água e material orgânico [56, 57]. Os cristais de hidroxiapatita apresentam-se estruturalmente como um prisma, sendo que possuem uma disposição em formato de fechadura, apresentando uma cabeça e uma cauda, onde tem uma disposição onde os prismas estão dispostos em paralelo na cabeça, e na cauda apresentam-se perpendicularmente ao eixo prismático [56, 57]. Entre os prismas, existe uma região de orientação aleatória, de baixo conteúdo mineral e alta concentração de água e material orgânico.

A estrutura histológica da dentina pode ser comparada a um favo de mel [56], apresentando-se como um tecido fenestrado, e a concentração de túbulos por área é diferente ao longo da dentina. Apresentando cerca de 59000 a 76000 túbulos por mm^2 na região próxima à polpa dentaria, e diminuindo na região próxima ao esmalte. A presença de túbulos dentinários da ao tecido uma maior permeabilidade.

Os primeiros estudos começaram na década de 70 [58], onde os autores analisaram a absorção e espalhamento de luz do esmalte humano. Sendo que ocorre um pico de absorção da luz, por volta de 270nm, devido a absorção de luz pelos componentes orgânicos.

Em 1976, Walton et al [59], estudaram a permeabilidade da dentina, e verificou-se que discos de dentina, quando colocados sobre uma superfície listrada, podem apresentar um aumento ou uma diminuição de tamanho destas listras. O aumento ocorre quando a superfície oclusal esta posicionada do lado de maior distancias das imagens, devido a concentração de túbulos dentinários ser maior em áreas mais profundas de dentina. Os autores verificaram que em diferentes concentrações de hidratação, a imagem formada é mais ou menos nítida. Isso é devido ao índice de refração da água (n=1,33) é mais próximo da dentina (n=1,53) do que o ar (n=1).

Segundo Brodbelt e colaboradores [60], estudaram a translucidez do esmalte com relação a sua hidratação. E concluíram que substituir a água do tecido dental (n=1,33), por ar (n=1) ao redor do prisma de esmalte (n=1,70), aumenta o espalhamento de luz pelo tecido e diminui a transmissão de luz, ocasionando uma menor translucidez do tecido.

Um modelo teórico foi desenvolvido para explicar o espalhamento de luz pela dentina humana [61], sendo que existem 2 processos distintos: um processo simétrico e um assimétrico. O processo simentrico, ocorre devido a composição da dentina, sendo que o espalhamento é devido aos cristais de hidroxiapatita (n=1,64) e ao colágeno (n=1,49). O processo assimétrico é devido a estrutura formada pelos túbulos dentinários, através da água presente nos mesmos (n=1) e a matrix proteica da dentina(n=1,52).

Ikawa et al [62], demonstraram que as propriedades ópticas, apresentam possíveis aplicação nos diagnósticos de vitalidade pulpar. Eles verificaram que os comprimentos de onda próximos 565nm, são transmitidos devido a esse comprimento de onda possuir afinidade a oxihemoglobina, cuja presença só ocorreria em dentes com vitalidade e durante o afluxo de sangue.

Seka e colaboradores [63]investigaram a relação entre temperatura e o comprimento de onda, utilizando Nd:YLF(λ=1054nm) e Nd:YAG(λ=1064nm). Os resultados mostraram que esse faixa de comprimentos de onda, tinham uma grande transmissão e pouca absorção pelo esmalte. E próximo ao limite amelo-dentinario, aumentava muito sua absorção e diminuía sua transmissão. Ocorrendo um maior aumento de temperatura nesse limite, e uma diminuição da temperatura ao longo da dentina. Os autores ainda extrapolaram este raciocínio para o espectro visível, afirmando que as propriedades ópticas diferem pouco entre 500 a 1000nm, ou seja, os mesmos efeitos poderiam ser observados.

Featherstone [55], analisou as propriedades ópticas dos tecidos dentais em diversas aplicações na odontologia. Para o espectro visível, a dentina e esmalte apresentaram baixa absorção, sendo que relativamente, o esmalte apresenta menor absorção. De maneira geral, o autor classificou que a absorção e espalhamento se relacionam de maneira inversa.

Kim et al [18], verificaram a alteração cromática das lesões de mancha branca. A alteração de cor, segundo o espaço de cores CIELab, ocorriam de maneira significante na variação de cor total ΔE, e essa alteração era principalmente devido a um aumento em sua luminosidade, verificada no ΔL, e uma alteração no eixo azul-amarelo verificada no Δb. Neste mesmo trabalho, os autores relatam que tratamentos que visam remineralizar o conteúdo mineral perdido, podem parcialmente restaurar a cor inicial dos dentes.

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo desta pesquisa é avaliar a alteração de superfícies desmineralizadas e restauradas com resina infiltrante, atravésdo ensaio de Spectrofotometria e do QLF.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

Materiais

• Água destilada e deionizada

• Cola à base de silicone

• Escovas tipo Robinson (KG Sorensen, Brasil)

• Esmalte cosmético (Risqué, Niasi, São Paulo, Brasil)

• Fios ortodônticos de liga de Ti-Co (Morelli, Sorocaba-SP, Brasil)

• Vinte incisivos bovinos

• Papel absorvente

• Pasta de alumina de 5 µm (Buehler, Lake Bluff, IL, EUA)

• Pinça metálica

• Pistola para cola quente

• Recipientes de poliestireno – 250 mL

• Solução remineralizadora e desmineralizadora

• Solução de timol a 0,1% e 0,01%

• Vidrarias (béquer, pipetas, balão volumétrico)

• Lápis preto 2B (Faber Castell, Brasil)

Equipamentos

• Micromotor e peça de mão (NSK, Japão)

• Disco de corte diamantado de dupla face para peça de mão (NOSS@LIG produtos odontológicos LTDA, Brasil)

• Lupa estereoscópica (Carl Zeiss 475200/9001- Jena, Alemanha)

• QLF^{TM} System (Inkspector Research Systems BV, Amsterdan, NL – Auxilio Pesquisa Regular FAPESP, processo 2006/01177-8)

• Espectrofotômetro UV-VIS-NIR (Cintra 10, GMC Scientific Equipment, Austrália)
• Esfera de integração total (Integrating Sphere 60mm DIA UV-VIS Region)
• Politriz de espécimes (EcoMet Buelher Ltd Lake Bluff, IL, EUA)
• Paquímetro digital (Mitutoyo, Japan)

4.2 Métodos

4.2.1 Delineamento experimental

O primeiro fator em estudo foi a análise do mascaramento da desmineralização de superfície vestibular através do Espectrofotômetro em diferentes tempos, utilizando um material infiltrante. As unidades experimentais foram compostas de 20 espécimes de fragmentos coronários, obtidos de 20 incisivos bovinos hígidos (n=20). A variável resposta foi alteração cromática através do calculo do ΔE, ΔL, Δa e Δb respeitando a leitura através das coordenadas de cor segundo CIE Lab.

O segundo fator em estudo foi a análise da perda mineral da superfície vestibular através do QLF, em diferentes tempos, utilizando um material infiltrante. As unidades experimentais foram compostas de 20 espécimes de fragmentos coronários, obtidos de 20 incisivos bovinos hígidos (n=20). A variável resposta foi a perda mineral (ΔQ), calculada através do QLF.

4.2.2 Tempos de leitura

As leituras dos dados feita pelo espectofotometro e o QLF ocorreram em diversos tempos operatórios:

T0 – tempo inicial;

Tc – tempo pós-ciclagem de pH;

Ti – tempo após infiltração da resina infiltrante;

Th – tempo após hidratação da resina infiltrante.

Sendo que as avaliações tiveram seus dados comparados aos dados obtidos na leitura de tempo inicial (baseline) e foram denominados (Quadro 4.1):

Tempos de leitura	Variação de tempo
INICIAL	tempo pós ciclagem(Tc) – tempo inicial(T0)
ICON	tempo após a infiltração de resina(Ti) – tempo inicial(T0)
HIDRATADO	Tempo após a hidratação de resina infiltrante(Th) – tempo inicial(T0)

Quadro 4.1-Variações de leitura

4.2.3 Preparo dos espécimes

Os dentes foram armazenados em solução de timol 0,1% pelo período mínimo de 30 dias. Após esse período, foram submetidos a limpeza com curetas periodontais, seguida de banho de ultra-som durante 30 s, e posteriormente a uma profilaxia com escova Robinson e pasta de alumina (5 µm) em baixa rotação durante 30 s e a novo banho de ultra-som de 30 s. Posteriormente, os dentes foram examinados sob lupa estereoscópica com aumento de 10X, descartando-se aqueles com trincas ou anomalias de estrutura e mantidos em meio úmido a 4°C até a sua utilização.

As superfícies vestibulares foram lixadas, utilizando lixas de carbeto de silício com granulação decrescente (250, 400, 600 e 1200) com a finalidade de obtermos uma superfície plana de esmalte com 8 mm de diâmetro (Figura 4.1).

Figura 4.1 - Superfície planificada de esmalte

Para obtenção dos espécimes, os dentes foram seccionados para remoção da porção radicular, a 1 mm da junção amelo-cementária, a qual foi descartada. Novas secções foram feitas na porção coronária, de modo a obter espécimes de 10 mm X 10 mm de cada dente (figura 4.2).

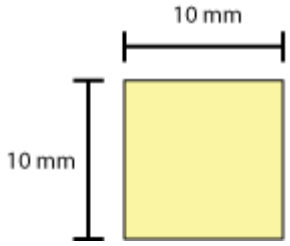


Figura 4.2 – Espécimes com 10mm x 10mm

4.3. Avaliação das coordenadas de cor - CIE Lab

As leituras para a analise de variação de cor, foram feitas utilizando o Espectofotômetro Cintra 10 (GMC Scientific Equipment, Austrália), pertencente ao Laboratório do Departamento de Dentística da Faculdade de Odontologia da USP (FOUSP), juntamente com uma Esfera de Integração Total.

Para o posicionamento do espécime, foi utilizada um porta amostra universal (Figura 4.3), onde se confeccionou uma máscara individual para o ensaio (Figura 4.4), de modo que toda leitura efetuada no Espectrofotômetro, fossem feita na mesma região.

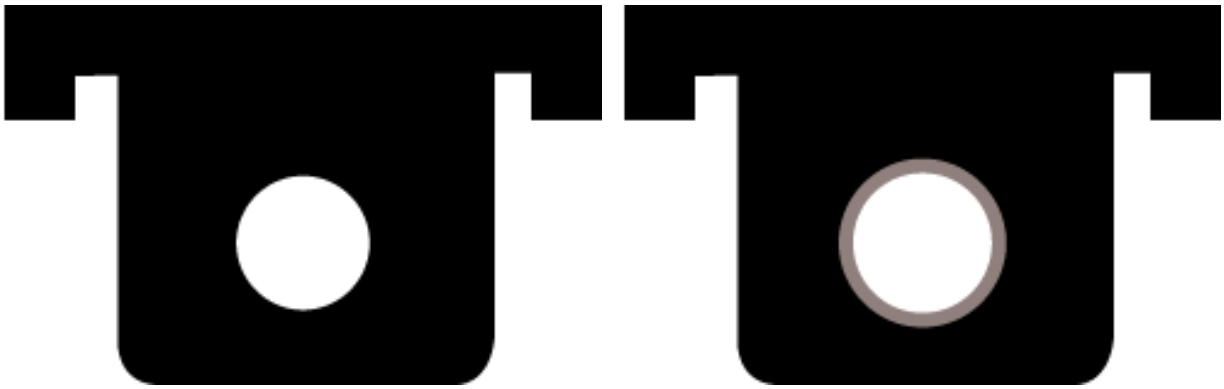
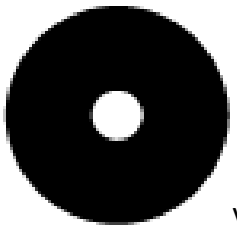


Figura 4.3 - Porta amostra universal – visão anterior e visão posterior
A mascara possui uma janela circular de 6 mm de diâmetro de exposição da amostra.



Visão anterior

Visão posterior

Figura 4.4 – Amostra confeccionada para o posicionamento das amostras

O espécime foi posicionado na parte posterior da máscara e utilizando resina composta e os cursores existentes, o espécime foi fixado de modo que a superfície exposta para leitura fosse sempre o mesmo.

O ensaio de espectofotometria foi feito utilizando o teste de reflectância, como parâmetros de leitura, o intervalo de 380 a 780 nanômetros e 3 leituras consecutivas. Os espécimes foram posicionados sobre um anteparo branco e foi utilizado o iluminante D65 (luz do dia) e observador a 2°(2 graus) [64-66].

A obtenção dos valores de cor no espaço CIELab, foram resultado de primeiramente a determinação dos valores X, Y e Z. Que são produto da curva espectral de reflectancia(Eλ) vezes a curva do iluminante padrão D65 (Pλ) vezes a curva do observador padrão de 2°(1931)x(λ), y(λ) e z(λ), multiplicadas nanômetro a nanômetro e normalizada pela constante "k", sendo k=y(λ). Segundo as fórmulas: [67]

$$X = \sum(E\lambda \times \mathrm{P}\lambda \times \mathrm{x}\lambda)\mathrm{k} \qquad \text{Equação 4.1}$$

$$Y = \sum(E\lambda \times \mathrm{P}\lambda \times \mathrm{x}\lambda)\mathrm{k} \qquad \text{Equação 4.2}$$

$$Z = \sum(E\lambda \times \mathrm{P}\lambda \times \mathrm{x}\lambda)\mathrm{k} \qquad \text{Equação 4.3}$$

Em seguida, os valores de X, Y e Z foram transformados em valores deCIELab através das formulas[68]:

$$L = 116\left(\sqrt[3]{\frac{Y}{Y_n}}\right) - 16 \qquad \text{Equação 4.4}$$

$$a = 500 \times \left[\left(\sqrt[3]{\frac{X}{X_n}}\right) - \left(\sqrt[3]{\frac{Y}{Y_n}}\right)\right]$$ Equação 4.5

$$b = 200 \left[\left(\sqrt[3]{\frac{Y}{Y_n}}\right) - \left(\sqrt[3]{\frac{Z}{Z_n}}\right)\right]$$ Equação 4.6

Onde Xn, Yn e Zn são dados tabelados de tri estímulo para o valor de referencia branco, segundo o iluminante e observador utilizado, sendo (Xn=95,047; Yn=100; Zn=108,883)

Os valores obtidos (L,a e b) foram colocados em uma formula matemática para verificar a existência de variação de cor em seus diversos tempos de leitura:

$$\Delta E^* = \sqrt{(L_f^* - L_i^*)^2 + (a_f^* - a_i^*)^2 + (b_f^* - b_i^*)^2}$$ Equação 4.7

Onde, L^*_i, a^*_i e b^*_i representam a cor inicial e L^*_f, a^*_f e b^*_f representam a cor final.

4.4 Leitura QLF

Cada espécime foi seco com papel absorvente, para padronizar sua secagem, e em seguida foi colocado em suporte do aparelho QLF in vitro (Figura 4.5), e em câmara escura, foi feita sua leitura através do método de mensuração de mancha branca (White spot). O aparelho utiliza a área ao redor da janela de ciclagem (área hígida) para calcular a perda mineral da área ciclada. Através do calculo da fluorescência da área hígida e da área ciclada (ΔF),foi calculado a variação mineral existente entre as áreas (ΔQ).

Figura 4.5 – Aparelho QLF e peça de mão para análise

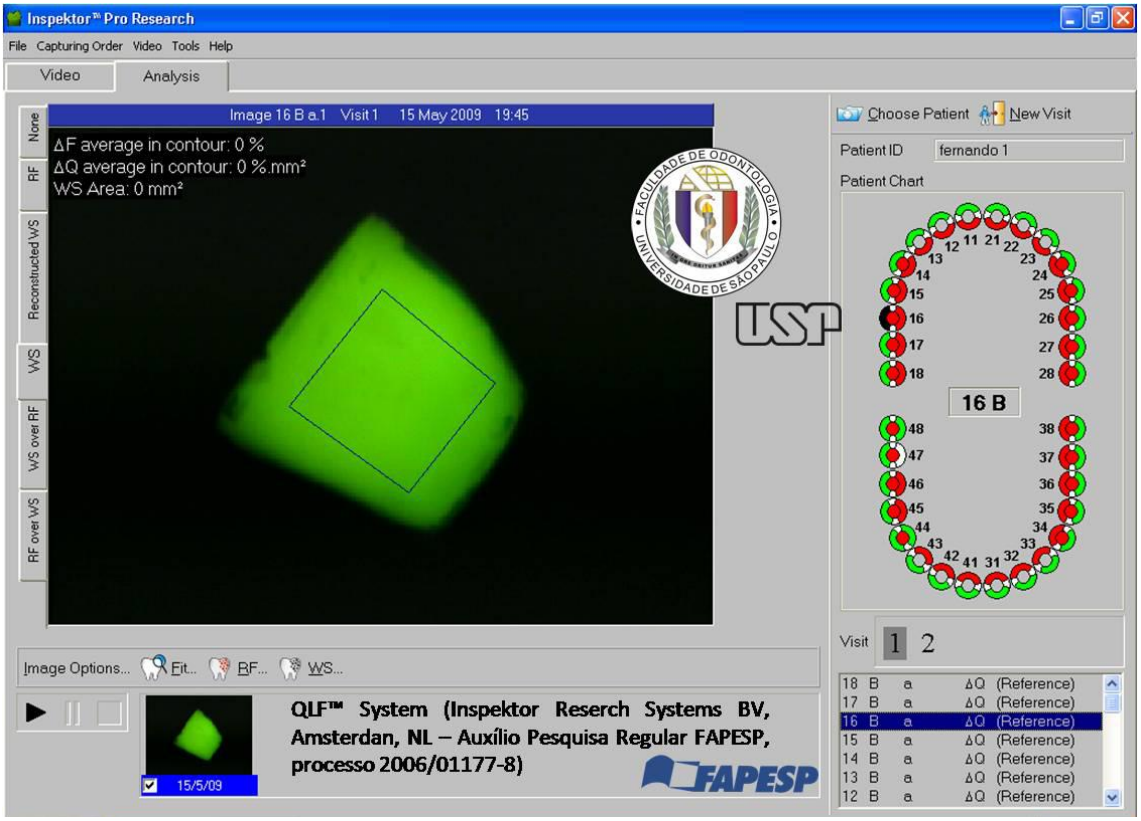


Figura 4.6 – Avaliação da perda mineral-perda de 0%

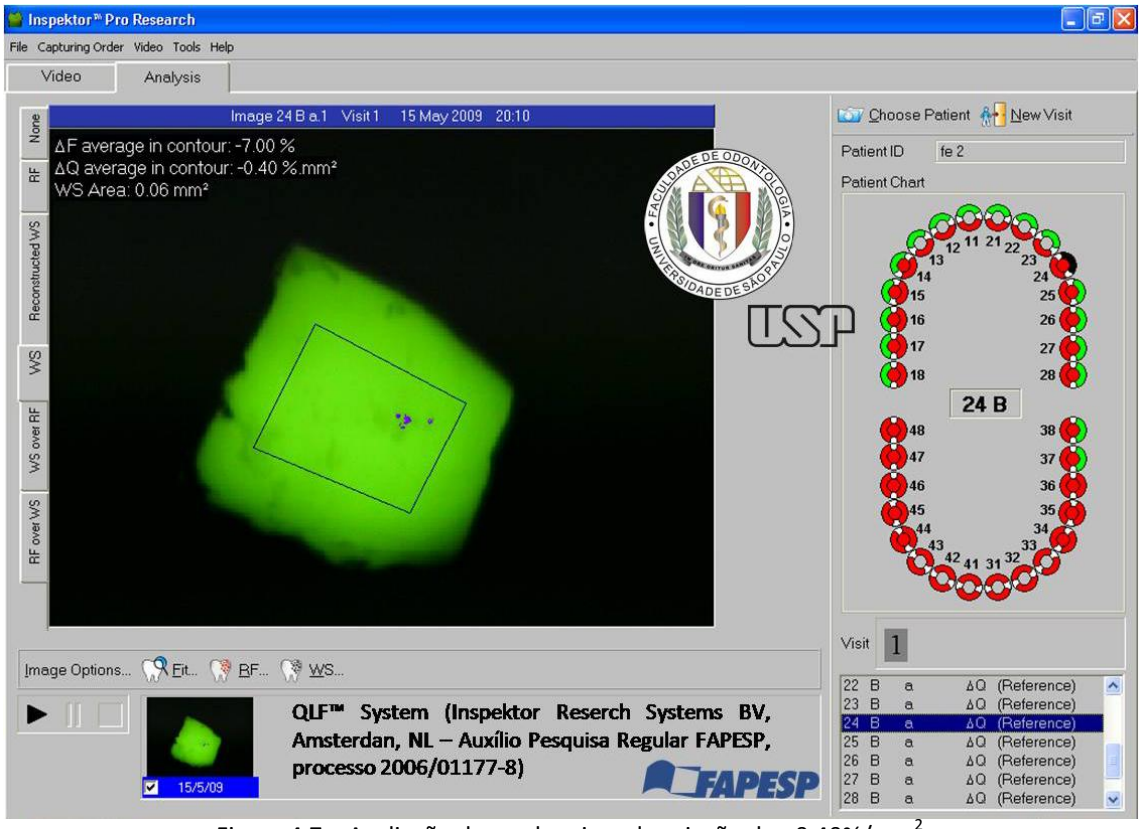


Figura 4.7 – Avaliação da perda mineral-variação de –0,40%/mm^2

4.5 Ciclagem de pH

Cada espécime foi recoberto com esmalte ácido resistente transparente na face irradiada, deixando uma área circular de dentina exposta (janela) com 6 mm de diâmetro referente a janela de leitura do espectrofotômetro. Nas outras faces, foi utilizado esmalte ácido resistente transparente (Figura 4.8).

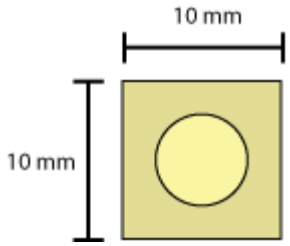


Figura 4.8 – Espécime recoberto com esmalte resistente e com a janela para ciclagem de pH

A ciclagem de pH foi feita segundo o modelo proposto por Kawasaki e Featherstone [69] modificado por Souza-Zaroni [70].

Cada espécime foi fixado, com cola à base de silicone aquecida com auxílio de uma pistola específica ("pistola para cola quente"), à ponta de um fio ortodôntico de liga de Ti-Co. O fio ortodôntico de Ti-Co foi preso à tampa do recipiente de poliestireno de 250mL(Figura 4.9).

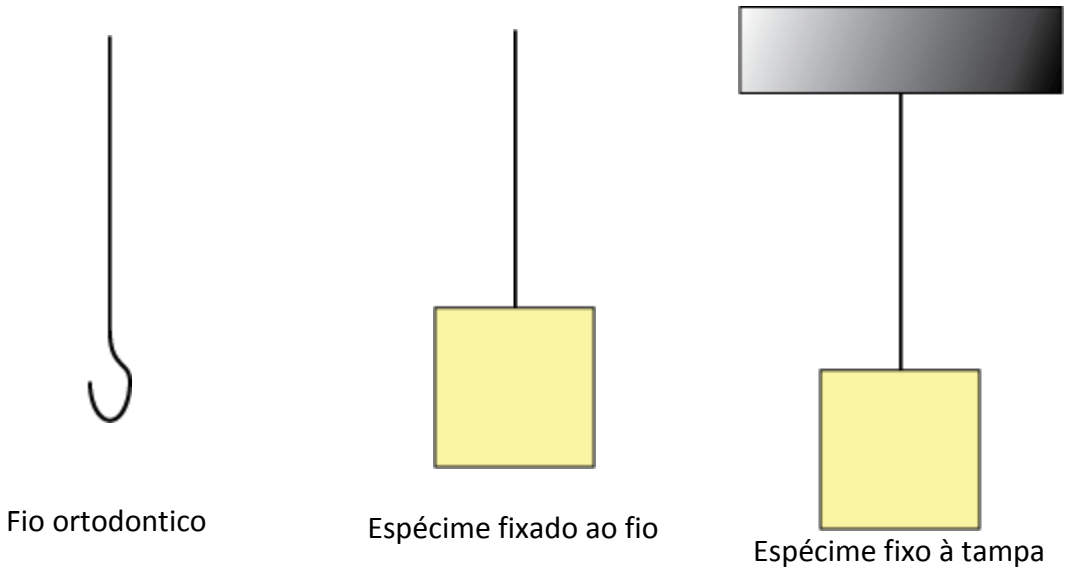


Figura 4.9 – Fixação do espécime para ciclagem de pH

Onde o mesmo, apresentava-se fixada juntamente com outras 7 tampas, também com auxílio de cola à base de silicone, à um suporte de madeira, de modo que os 8 espécimes de cada grupo estudado ficassem suspensos e imersos totalmente nas soluções desmineralizadora e remineralizadora durante a ciclagem de pH (figura 4.10).

Figura 4.10 - Dispositivo de suporte para ciclagem de pH

A ciclagem de pH foi realizada durante 16 dias, nos quais os espécimes de dentina foram imersos por 18 h em solução desmineralizadora e por aproximadamente 6 h em

solução remineralizadora[31]. Durante este período, os espécimes foram lavados com água deionizada antes e após imersão na solução desmineralizadora (duas vezes ao dia) por 10 segundos e secos com papel absorvente. Após o décimo quarto dia, os espécimes permaneceram em solução remineralizadora por dois dias (correspondente aos dias do final de semana)[70].

Os espécimes foram mantidos individualmente em solução desmineralizadora contendo 2,0 mmol/L Ca, 2,0 mmol/L P em 75 mmol/L de tampão acetato, pH 4,8. A solução remineralizadora utilizada continha 1,5 mmol/L Ca, 0,9 mmol/L P, 150 mmol/L KCl em 20 mmol/L tampão Tris, pH 7,0. A composição química desta solução aproxima-se do grau de saturação dos minerais da apatita encontrados na saliva [71]. Cristais de timol foram adicionados as soluções para evitar o crescimento bacteriano e fúngico.

Foram utilizados 6,25 ml/mm^2 e 3,12 ml/mm^2 das soluções desmineralizadora e remineralizadora respectivamente, por área de tratamento. Durante todo o processo, os espécimes permaneceram em estufa ajustada a 37ºC, exceto nos intervalos de lavagem e alternância das soluções. Terminada a ciclagem de pH, os espécimes foram lavados com jatos de água destilada e deionizada durante 10 s, secos com papel absorvente e mantidos em ambiente fechado, úmido e sob refrigeração até a leitura de cor pelo espectrofotômetro e análise da perda mineral através do método do QLF.

4.6 Restauração com resina infiltrante

As restaurações foram feitas com a resina infiltrante Icon® da DMG, e seguindo as instruções do fabricante:

Após a identificação do área desmineralizada (Figura 4.11), foi aplicado o gel de ácido clorídrico com concentração de 15%, com um ligeiro excesso sobre o local da lesão (figura 4.12). O gel foi removido após dois minutos, primeiramente com o uso de algodão hidrofílico, e com o uso de jato de água por 45 segundos e seguido de secagem com jato de ar isento de óleo e água.

Figura 4.11 – identificação da lesão de mancha branca

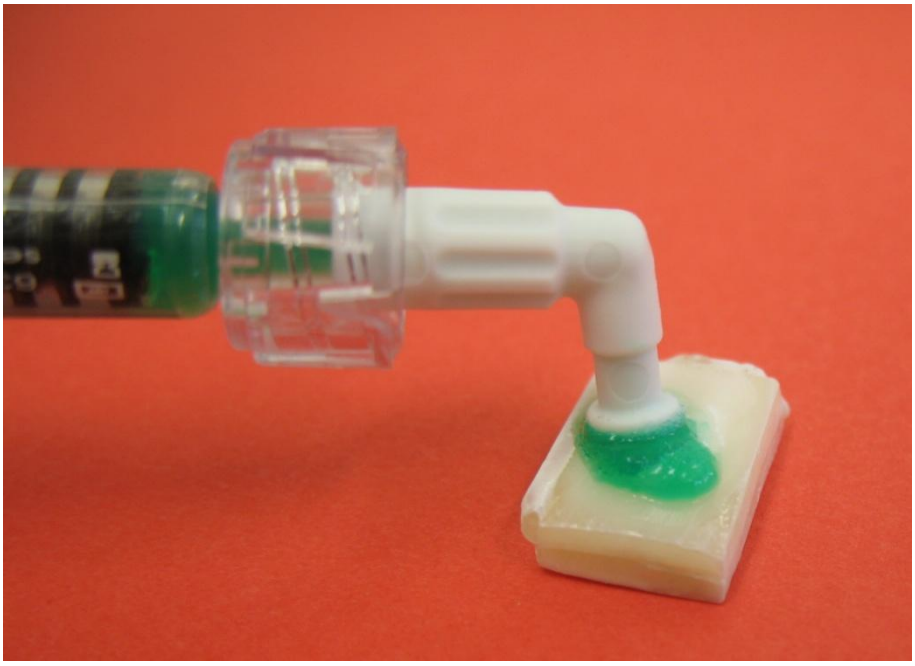


Figura 4.12 – Aplicação do gel condicionador de superfície (HCl 15%)

Em seguida, foi aplicado álcool absoluto (figura 4.13) seguida de secagem de jato de ar, com o objetivo de deixar a superfície condicionada livre de umidade.

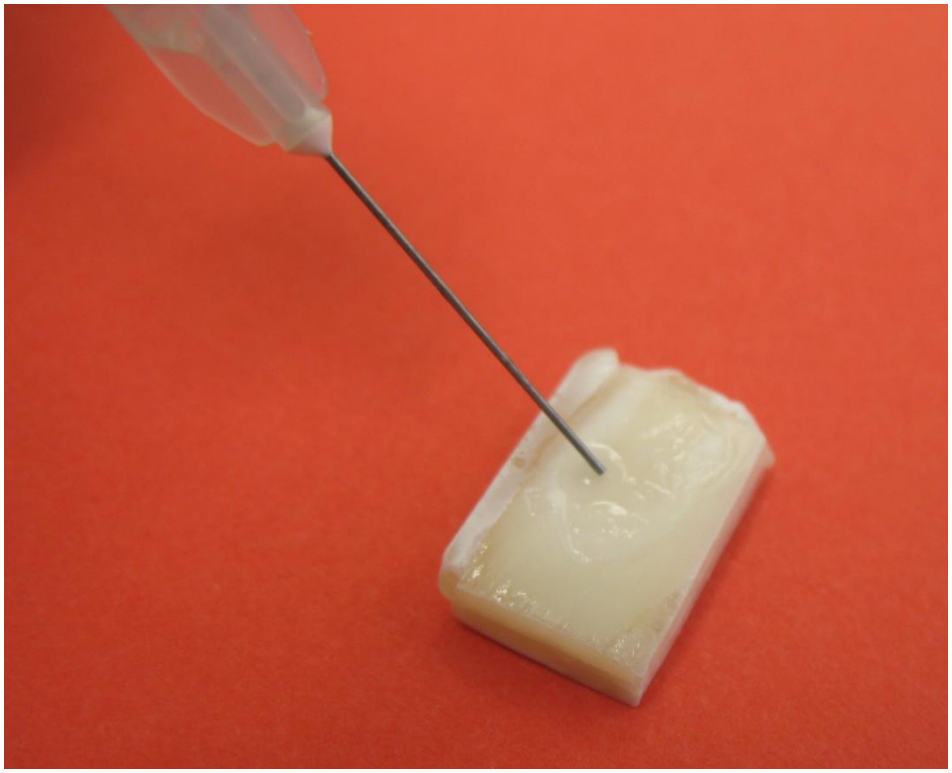


Figura 4.13 – Aplicação do Álcool absoluto

A aplicação da resina infiltrante foi feita utilizando o aplicador fornecido pelo fabricante (Figura 4.14). Foi aplicado com ligeiro excesso e deixado agir por 3 minutos, para ocorrer a infiltração da resina e seguida de fotoativação da resina por 40segundos, e em seguida nova aplicação da resina infiltrante, mas, a segunda aplicação teve um tempo de 1 minuto para a segunda infiltração e nova fotoativação por 40 segundos.

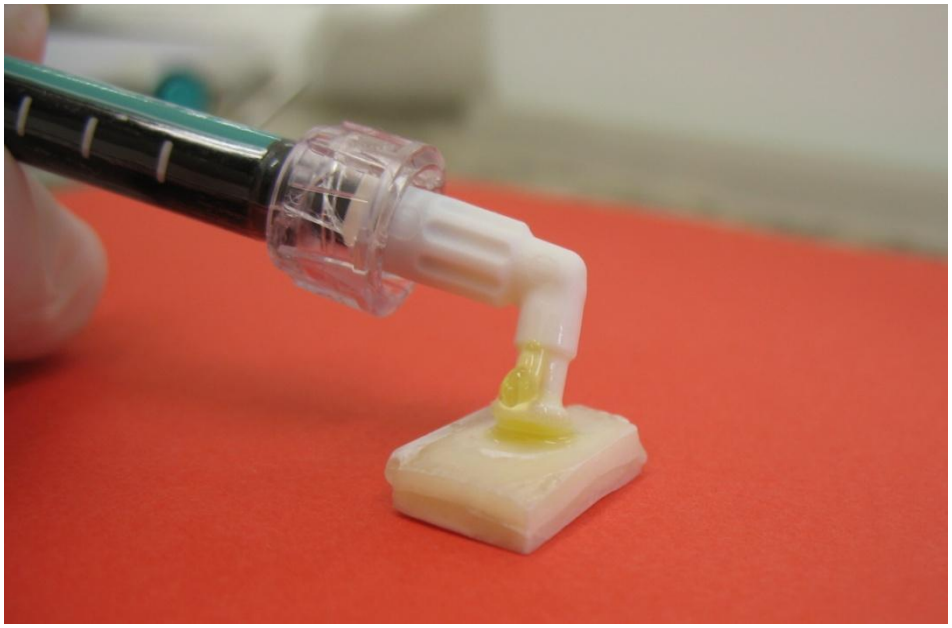


Figura 4.14 – Aplicação da resina infiltrante

Após a infiltração (Figura 4.15), foi feita o polimento da superfície infiltrada, utilizando pontas de silicone do tipo enhance.

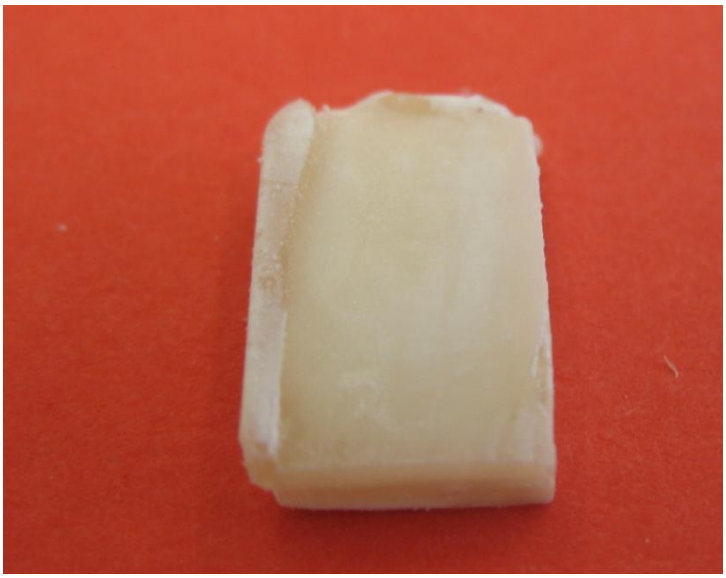


Figura 4.15 – Após a aplicação da resina infiltrante

4.7 Análise estatística

Para análise dos dados, foi utilizado o Programas SPSS 14.0 para Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA). As variáveis resposta analisadas foram a variação de cor, representada pelos parâmetros de ΔE (variação total de cor), ΔL(variação da coordenada luminosidade), Δa (variação da coordenada referente ao eixo verde-vermelho), Δb (variação da coordenada referente ao eixo azul-amarelo) e ΔQ(variação no conteúdo mineral), os diferentes tempos de leitura representam a fonte de variação. Foi feita os testes preliminares de homogeneidade de esfericidade. A análise estatística consistiu da Análise de Variância com dados vinculados.para as variáveis ΔE, ΔL, Δa e Δb Para análise complementar de múltipla comparação, utilizou-se o teste de tukey. A variável resposta ΔQ, mostrou haver distribuição não normal, sendo assim o teste de Friedman foi utilizado.

5 RESULTADOS

5.1 Avaliação da Alteração Cromática

Para a avaliação da Alteração Cromática, este trabalho experimental possui quatro variáveis dependentes:

- ΔL – Alteração de Luminosidade, variando de 0 a 100, caracterizando as movimentações cromáticas do eixo preto (0) e branco (100);
- Δa – Alteração de Cromaticidade, caracterizando as movientações do eixo verde (valores negativos) - vermelho (valores positivos);
- Δb - Alteração de Cromaticidade, caracterizando as movientações do eixo azul (valores negativos) - amarelo (valores positivos);
- ΔE – Diferença total de cor, dentro do espaço CIEL*a*b*, de 1976, compreendendo as variações totais de ΔL, Δa e Δb;

A unidade experiental para todas as variáveis é "Unidades CIEL*a*b*". O fator de variação para todas as variáveis é: tempo operatório.

A tabela 5.1 traz a estatística descritiva os parâmetros estatísticos dos dados.

Tabela 5.1 - Estatística descritiva e os parâmetros estatísticos dos dados. Variáveis dependentes: ΔL, Δa, Δb e ΔE. Unidade = CIEL*a*b*

Variável	Tempo	Média	EP	DP	Var	Amp	Min	Max	Q1	Med	Q3	CV
ΔE	Inicio	8,91	0,38	1,68	2,83	6,46	5,38	11,85	8	8,75	9,94	0,19
	Icon	4,44	0,53	2,36	5,56	9,2	0,63	9,83	2,48	4,55	5,94	0,53
	hidratado	6,59	0,48	2,15	4,64	6,9	2,8	9,7	4,91	6,53	8,69	0,33
ΔL	Inicio	-7,17	0,49	2,18	4,73	7,3	-	-3,91	-9,23	-6,98	-5,43	-30
	Icon	0,01	0,52	2,34	5,47	8,92	-	3,35	-1,38	0,25	1,77	157,36
	hidratado	-3,04	0,63	2,82	7,97	11,5	-	2,58	-4,83	-2,99	-1,5	-0,93
Δa	Inicio	0,46	0,07	0,3	0,09	1,17	-	1,11	0,33	0,42	0,55	0,66
	Icon	0,46	0,21	0,93	0,86	3,48	-	2,04	-0,15	0,49	1,24	2,01
	hidratado	0,07	0,14	0,61	0,38	2,39	-	1,15	-0,41	0,07	0,54	8,85
Δb	Inicio	-4,93	0,3	1,32	1,74	4,56	-	-2,5	-5,54	-5,25	-3,78	-0,27
	Icon	-3,34	0,63	2,82	7,95	9,43	-	0,42	-5,56	-3,13	-0,99	-0,84
	hidratado	-4,91	0,59	2,63	6,89	10,4	-	0,97	-6,83	-4,58	-3,24	-0,53

n=20;**EP**=Erro-Padrão;**Var**=Variância;**Amp**=Amplitude;**Min**=Mínimo; **Max**=Máximo; **Q1**=Primeiro Quartil; **Med**=Mediana; **Q3**=Terceiro Quartil; **CV**=Coeficiente de Variação.

5.1.1 Modelo experimental

O modelo estatístico escolhido para a análise dos dados para todas as variáveis colorimétricas, deste estudo experimental foi o teste paramétrico de Análise de Variância (ANOVA), de um fator, sendo as variáveis dependentes, "ΔL – Alteração de Luminosidade", "Δa – Alteração de Cromaticidade (verde-vermelho)", "Δb - Alteração de Cromaticidade (azul-amarelo)" e "ΔE – Diferença total de cor" cuja unidade, para todas é "CIEL*a*b*". O fator de variação é tempo operatório, vinculado, em 3 níveis (**Inicial, Icon e Hidratado**).

Devido a presença do fator vinculado tempo operatório, o teste de esferecidade de Mauclhy (Tabela 5.2) foi aplicado para estudar a homogeneidade das medidas repetidas.

Tabela 5.2 – Teste de esfericidade de Mauclhy (W), para as variáveis dependentes (ΔL, Δa, Δb e ΔE), para os tempos de Avaliação

Variáveis	Mauchly's W[a]	Approx. χ^2	gl	Sig (p).	Greenhouse-Geisser	Huynh-Feldt	Lower-bound
ΔL	0,96	0,72	2,00	0,70	0,96	1,00	0,50
Δa	0,34	19,54	2,00	0,00	0,60	0,62	0,50
Δb	0,98	0,32	2,00	0,85	0,98	1,00	0,50
ΔE	0,67	7,32	2,00	0,03	0,75	0,80	0,50

a.Testa a hipótese nula de que as variâncias entre as diferenças dos pares (níveis) de tratamentos são constantes (homogenias).
b.No caso de significância de "W", podem ser utilizados para ajustar os graus de liberdade do teste F.
ε > 0.75 = Correção de Huynh-Fedt; ε < 0.75 = Correção de Greenhouse-Geisser (FIELD, 2009).
X^2 = Qui-quadrado
gl = grau de liberdade
Alfa = 0,05.

O teste de normalidade de Mauclhy (Tabela 5.2) apontou que as variáveis ΔL e Δb (p= 0,70 e p=0,85 respectivamente) apresentaram homogêneas, no que diz respeito ao fator vinculado tempo operatório com valor de p > 0,05, ao passo que as demais variáveis: Δa(p=0,00) e ΔE(p=0,03) apresentaram desvios desta condição, sendo não homogêneas (P < 0,05) para o fator vinculado.

Devido a falta de homogeneidade das variáveis acima citadas, os graus de liberdade, dos testes "F" das respectivas ANOVAS foram corrigidos pelo epsilon de Greenhouse-Geisser ou de Huynh Feldt [72].

5.1.2 Análise de Variância (ANOVA)

Tabela 5.3 – Análise de variância de um fator para as variáveis dependentes (ΔL, Δa, Δb e ΔE)

Variáveis	Fonte de Variação	SQ	gl	QM	F calc	Sig (p).	Poder	F tab
ΔE‡	Deltas (ΔE)	200,35	1,60	125,32	37,64	3,33E-08*	1,00	4,17
	Erro(Deltas - Res I)	101,12	30,37	3,33				
	Erro (Res II)	146,62	19	7,72				
ΔL	Deltas (ΔL)	519,71	2	259,85	56,34	4,29E-12*	1,00	3,24
	Erro(Deltas - Res I)	175,27	38	4,61				
	Erro (Res II)	170,00	19	8,95				
Δb	Deltas (Δb)	33,20	2	16,60	4,16	0,023*	0,70	3,24
	Erro(Deltas - Res I)	151,49	38	3,99				
	Erro (Res II)	163,69	19	8,62				
Δa†	Deltas (Δa)	2,01	1,20	1,67	4,29	0,043*	0,55	4,30
	Erro(Deltas - Res I)	8,92	22,86	0,39				
	Erro (Res II)	16,34	19	0,86				

a.Computado usando-se alfa=0.05; **S.Q**.=Soma dos Quadrados; **Q.M.**=Quadrado Médio; **g.l.**=Graus de Liberdade; *****=Valores de p <0.05; **†** = Graus de liberdade ajustados pelo Epsilon de Greenhouse-Geisser; ‡ = Graus de liberdade ajustados pelo Epsilon de Huynh Feldt.
***** p< 0,05.

O resultado do teste ANOVA (Tabela 5.3), aponta que para as variáveis dependentes:

- ΔE valor de F=37,64; é significante com o valor de p=3,33E-08.
- ΔL valor de F=56,34; é significante com o valor de p=4,29E-12.
- Δb valor de F=4,16; é significante com o valor de p=0,023.
- Δa valor de F=4,29; é significante com o valor de p=0,043.

A fim de se detectar as diferenças existentes entre os tempos analisados, o teste complementar de múltipla comparação Tukey foi aplicado.

5.1.3 Teste complementar – Tukey

Tabela 5.4 – teste complementar de tukey para as variáveis dependentes (ΔL, Δa, Δb e ΔE)

Tempos	ΔE	ΔL	Δb	Δa
Inicial	8,91±1,68[C]	-7,17±2,18[A]	-4,93±1,32[A]	0,46±0,30[B]
Icon	4,44±2,36[A]	0,01±2,34[C]	-3,34±2,82[B]	0,46±0,93[B]
Hidratado	6,59±2,15[B]	-3,04±2,82[B]	-4,91±2,63[A]	0,07±0,62[A]

O teste de mútipla comparação de TUKEY foi aplicado para detectar as possíveis diferenças estatísticas entre os tempos experimentais. Os grupos foram comparados, "par a par" e em cada caso o erro utilizado foi ajustado.

Para a variável ΔE as comparações entre os tempos foram todas significantes (Tabela 5.4), sendo, Inicial > Hidratado > Icon conforme ilustradas no gráfico 5.1, e as comparações pairwise ilustradas no gráfico 5.2.

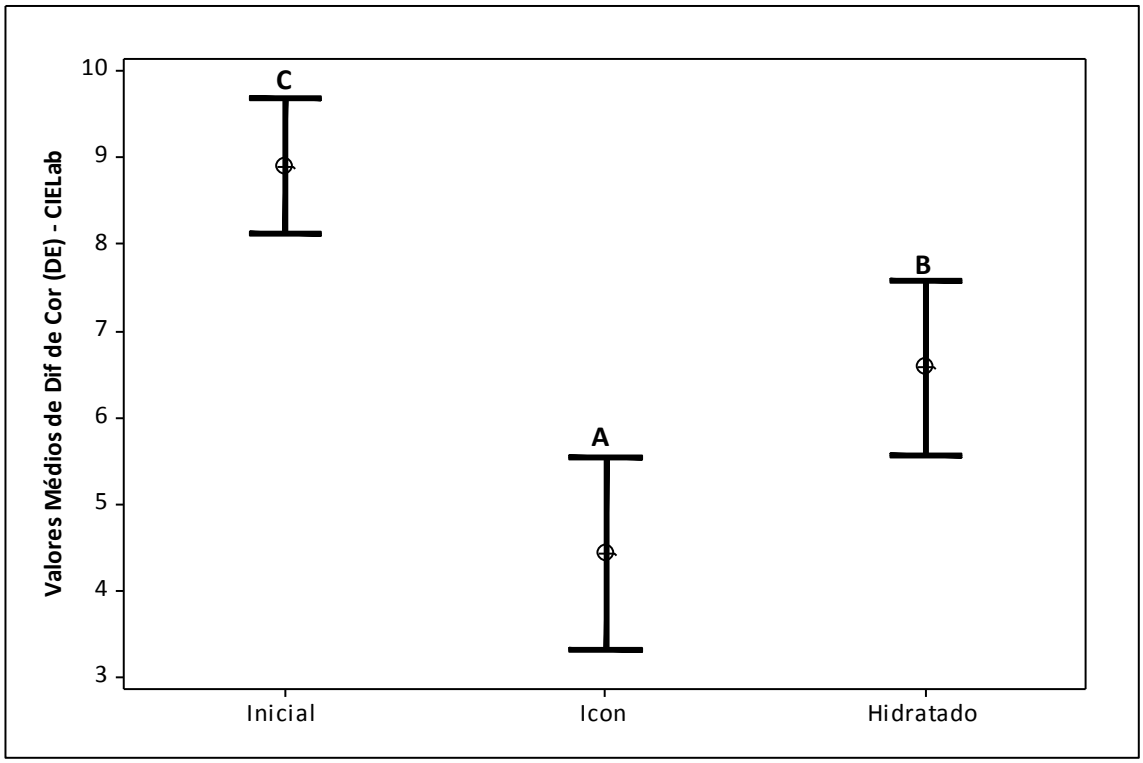


Gráfico 5.1 – Valores médios dos intervalos de confiança de 95% da variável ΔE

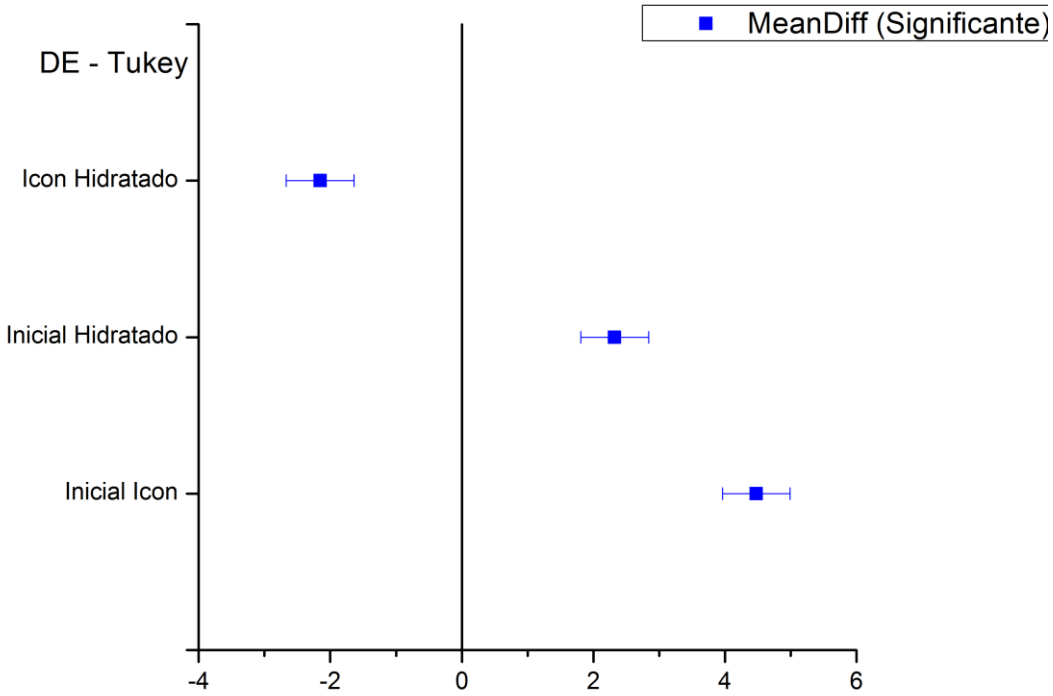


Gráfico 5.2 – Teste de Tukey para a variável ΔE

Para a variável ΔL as comparações entre os tempos foram todas significantes (Tabela 5.4), sendo, Inicial<Hidratado<Icon conforme ilustradas no gráfico 5.3, e as comparações pairwise ilustradas no gráfico 5.4.

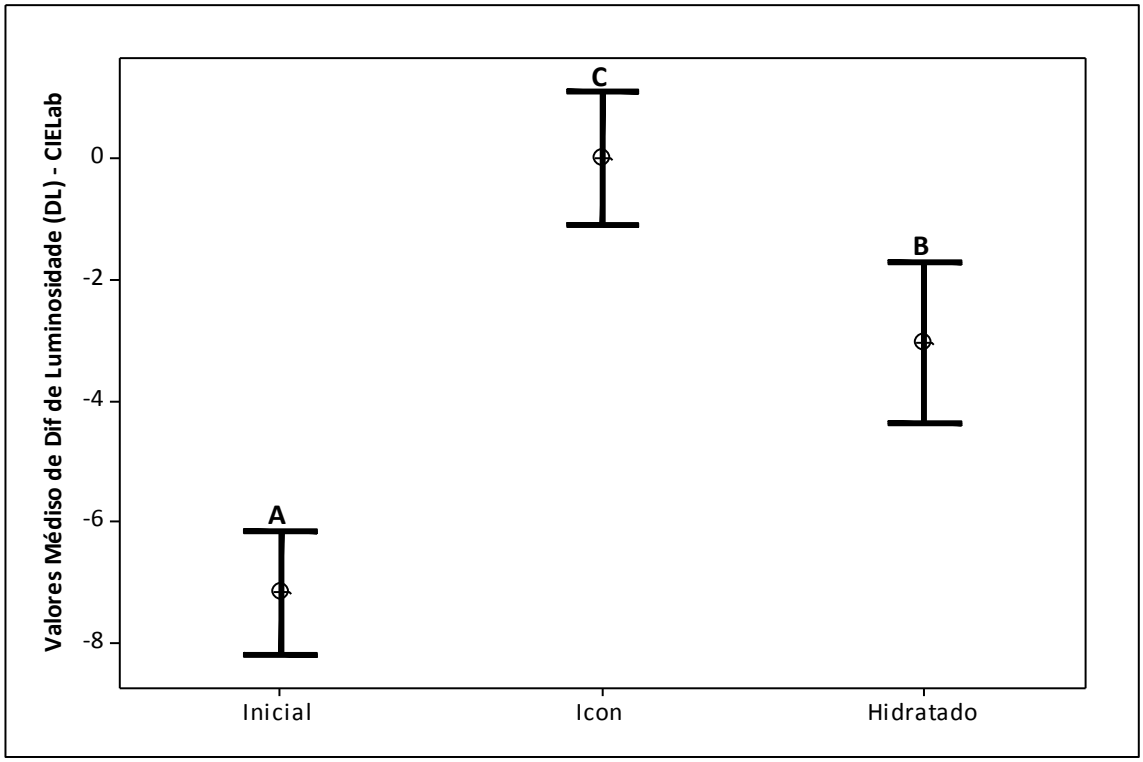


Gráfico 5.3 – Valores médios dos intervalos de confiança de 95% da variável ΔL

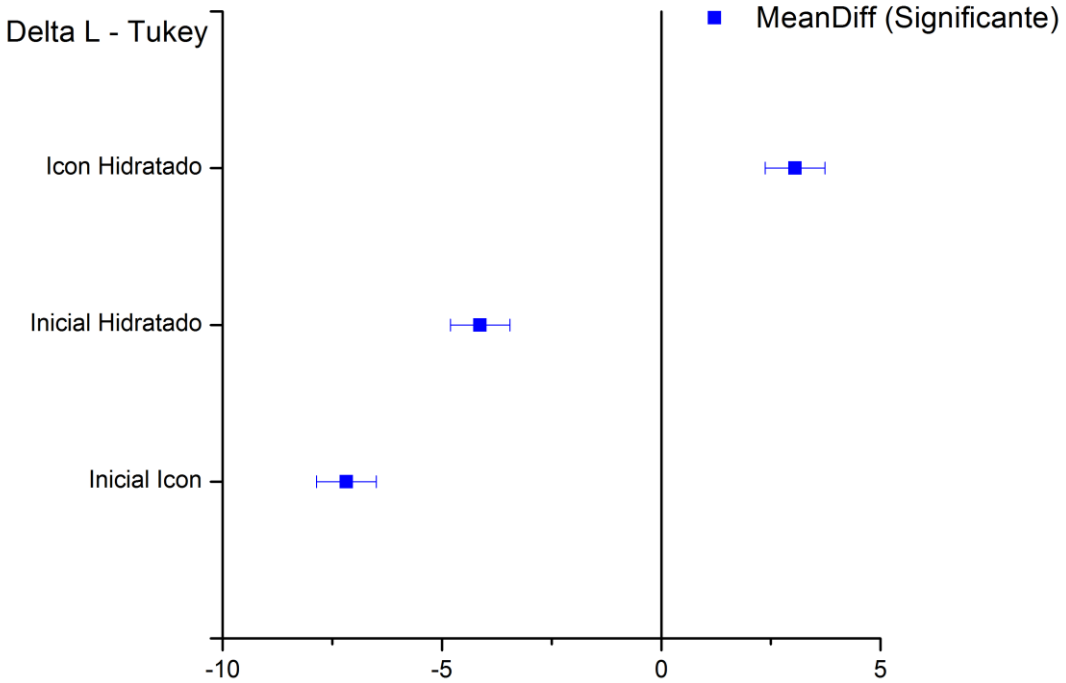


Gráfico 5.4 – Teste de Tukey para a variável ΔL

Para a variável Δa as comparações entre os tempos: Inicial e Icon não foram estatisticamente significantes, entre os tempos Inicial e Hidratado, e entre Icon e Hidratado houve diferença estatisticamente significante (Tabela 5.4), sendo ilustradas no gráfico 5.5, e as comparações pairwise ilustradas no gráfico 5.6.

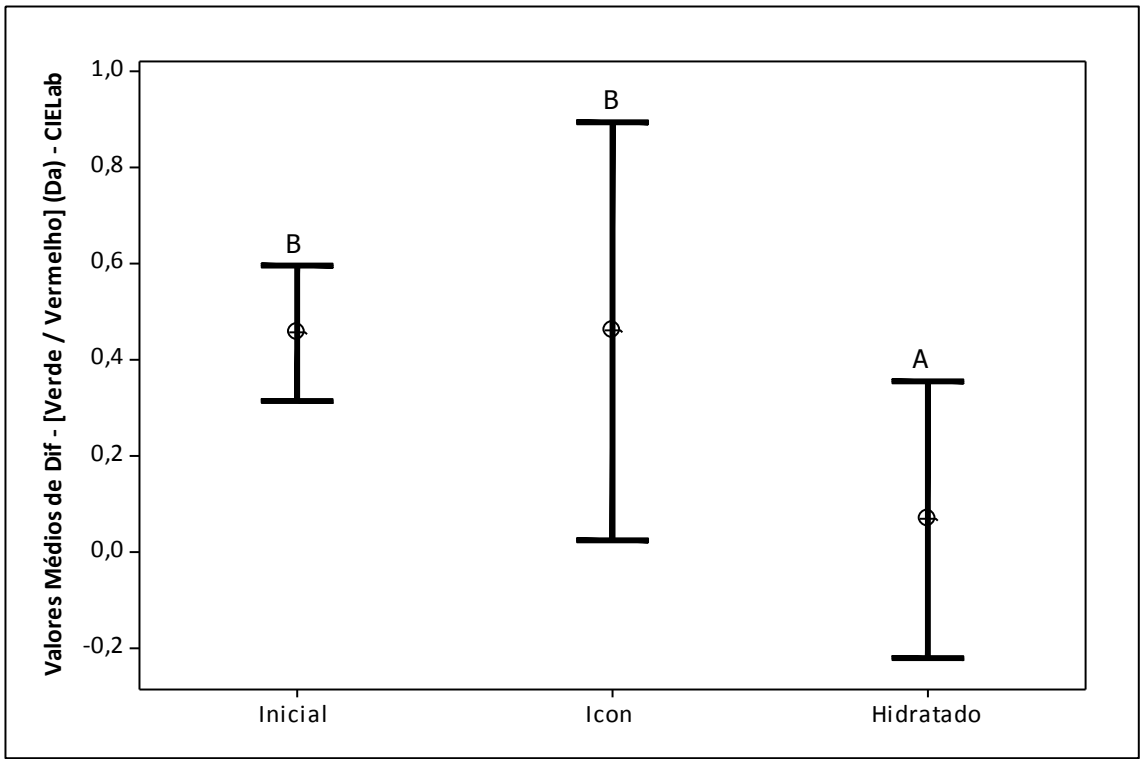


Gráfico 5.5 – Valores médios dos intervalos de confiança de 95% da variável Δa

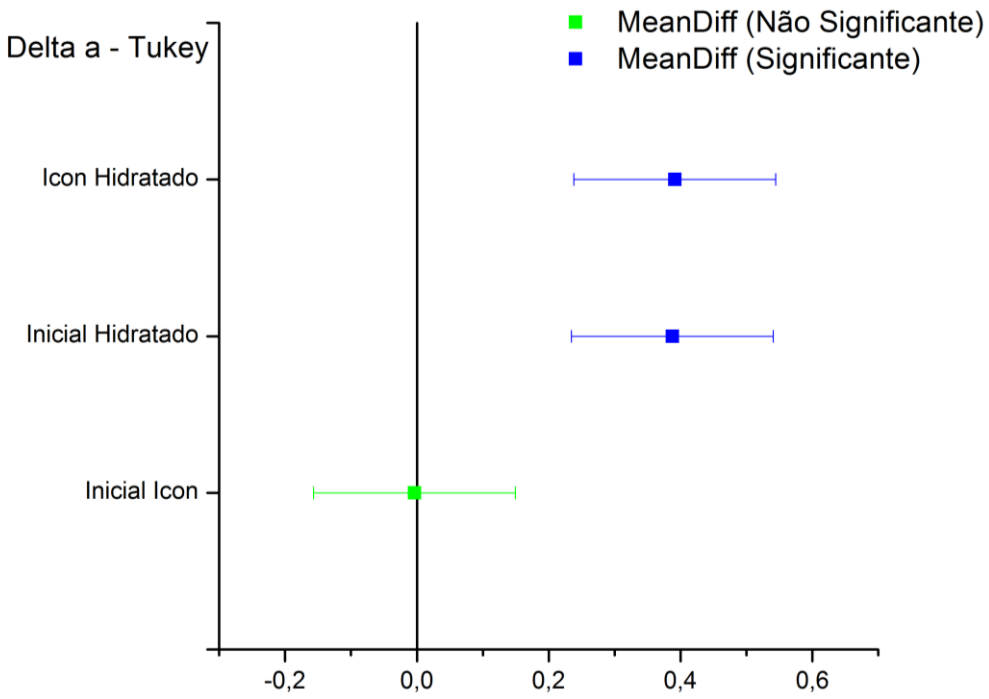


Gráfico 5.6 – Teste de Tukey para a variável Δa

Para a variável Δb as comparações entre os tempos Inicial e Icon, foram estatisticamente significantes, entre Icon e Hidratado foram significantes e entre Inicial e Hidratado não houve diferenças estatisticamente significantes (Tabela 5.4), sendo,

Inicial=Hidratado<Icon conforme ilustradas no gráfico 5.7, e as comparações pairwise ilustradas no gráfico 5.8.

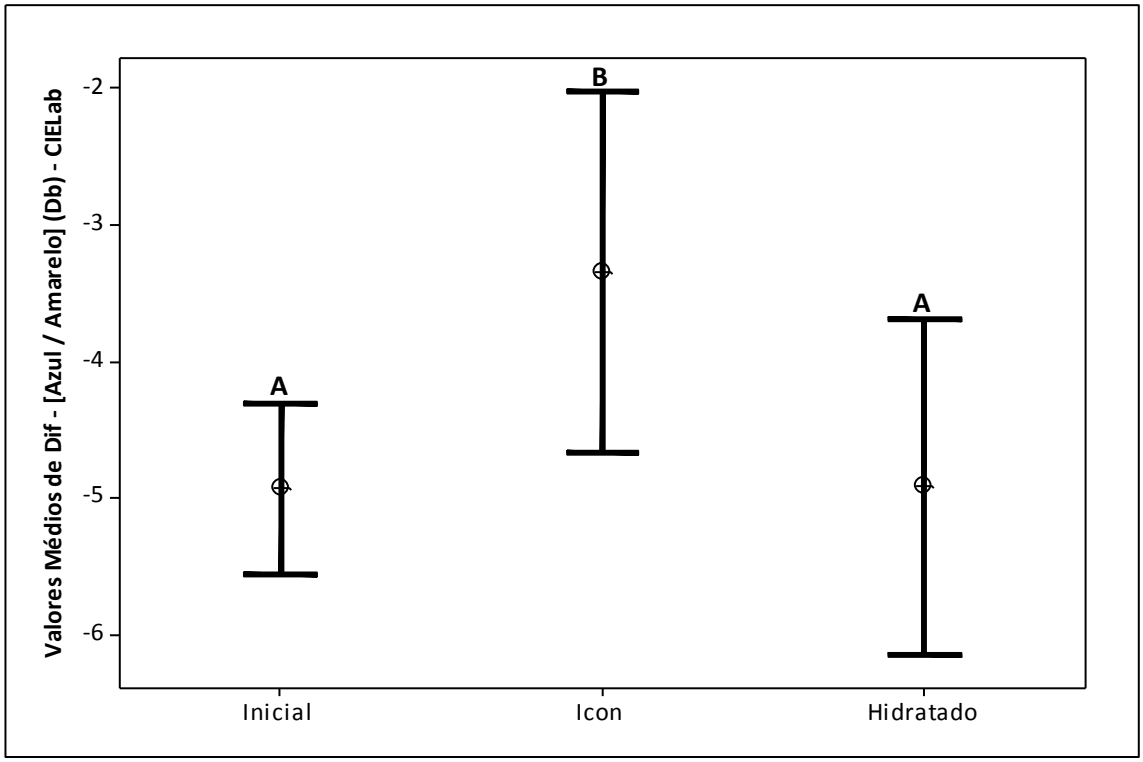


Gráfico 5.7 – Valores médios dos intervalos de confiança de 95% da variável Δb

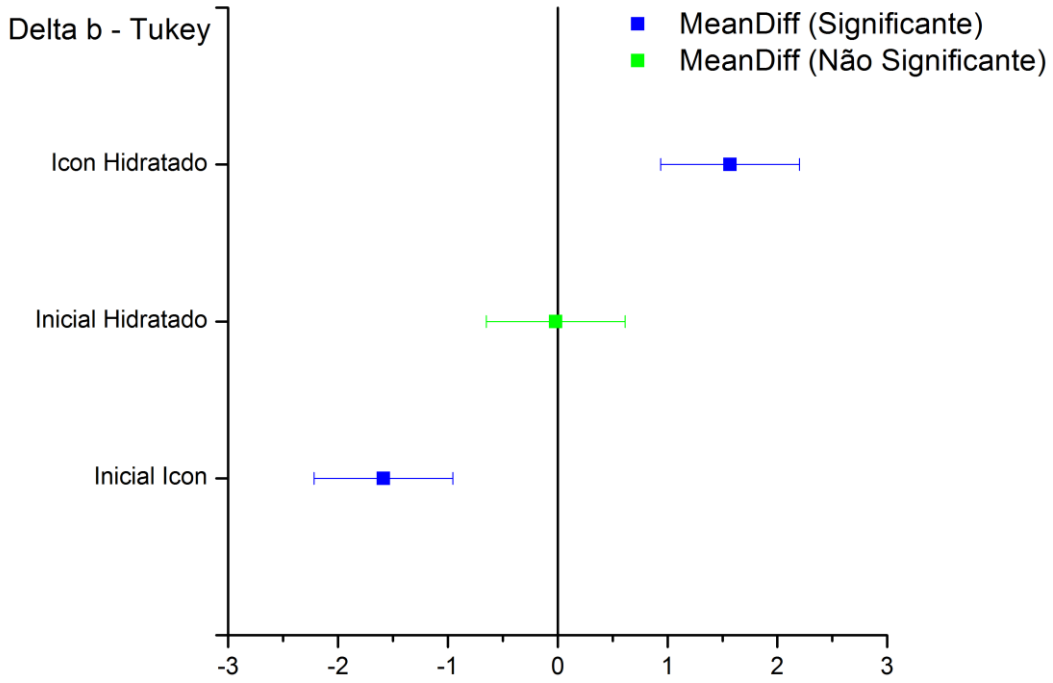


Gráfico 5.8 – Teste de Tukey para a variável Δb

5. 2 Analise do QLF

Para a avaliação da variação de perda mineral, este trabalho experimental possui 1 variável:

- ΔQ – variação da perda mineral, calculada através da variação da fluorescência por $mm^{2.}$

A tabela 5.5 traz a estatística descritiva e os parâmetros estatísticos dos dados.

Tabela 5.5 - Estatística descritiva e os parâmetros estatísticos dos dados. Variável dependente: ΔQ

Variável	Tempo	Média	EP	DP	Var	Amp	Min	Max	Q1	Med	Q3	CV
ΔQ	Inicio	-325,62	39,8	178,36	3181	733,	-796,98	-63,24	-429,57	-275,20	-199,30	-0,55
	Icon	-44,22	12,1	54,37	2955,	208,	-208,10	0,14	-76,80	-21,74	-0,68	-1,23
	hidratado	1,17	3,39	15,17	230,2	83,7	-25,50	58,20	-1,07	-0,15	0,09	12,9

n=20;**EP**=Erro-Padrão;**Var**=Variância;**Amp**=Amplitude;**Min**=Mínimo; **Max**=Máximo; **Q1**=Primeiro Quartil; **Med**=Mediana; **Q3**=Terceiro Quartil; **CV**=Coeficiente de Variação.

5.2.1 Modelo Experimental

O modelo estatístico escolhido para a análise dos dados para a variável QLF, deste estudo experimental foi o teste não paramétrico de Friedman, de um fator, sendo a variável dependente, "ΔQ – Alteração de Fluorescência quantificada por luz". O fator de variação é tempo operatório, vinculado, em 3 níveis (**Inicial, Icon e Hidratado**).

5.2.3 Teste de Friedman

Tabela 5.6 - -Teste de Friedman para a variável ΔQ

Friedman(X^2)	gl	sig(X^2)
32,7	2	7,93E-08

X^2 = Qui-quadrado
gl = grau de liberdade
Alfa = 0,05

O teste de Friedman (X^2=32,7;p=7,93E-08) foi significante(tabela 5.6), revelando que houve influência dos tempos operatórios na resposta da variável perda mineral. Para detectar pontualmente as possíveis diferenças entre os tempos, o teste complementar "pairwise" de diferença entre os rankings foi aplicado.

5.2.4 Teste complementar – Diferença entre ranks

Tabela 5.7 – Diferença entre ranks

variável	tempos	Soma dos Ranks	Mediana	Média dos Ranks	Média dos valores	Desvio padrão
ΔQ	Inicial[A]	21	-275,2	1,05	-325,62	178,36
	Icon[B]	42	-21,74	2,1	-44,22	54,37
	Hidratado[C]	57	-0,15	2,85	1,17	15,17

Para a variável ΔQ as comparações entre os tempos foram todas significantes (tabela 5.7), sendo, Inicial<Icon<Hidratado conforme ilustradas no gráfico 5.9.

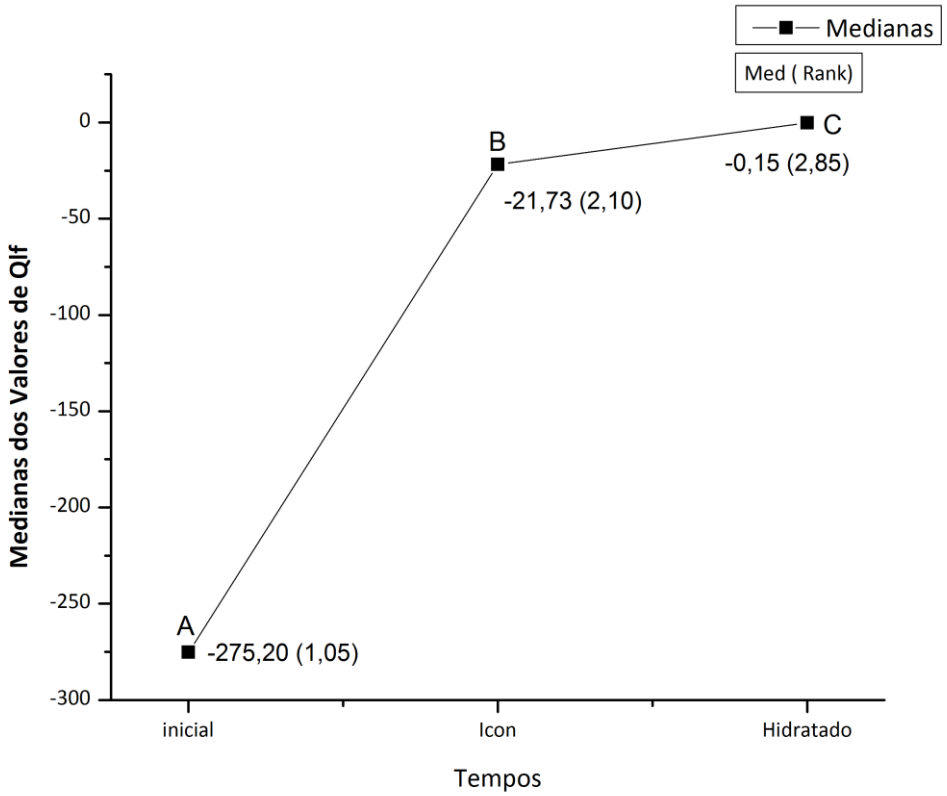


Gráfico 5.9 – Comparações entre Medianas dos tempos para ΔQ

6 DISCUSSÃO

Desde o ultimo levantamento epidemiológico ocorrido no Brasil em 2010 [1], tem se observado um aumento da necessidade de intervenções ortodônticas para uma melhor condição de saúde [2]. Alem da intervenção, a OMS define a condição de saúde como um bem estar emocional, incluindo dessa maneira, a visão que o paciente tem de si mesmo. Dessa maneira, a insatisfação com alterações cromáticas e de posicionamento de seus elementos dentais, pode ser considerada um agravante à sua saúde.

Para melhorar a condição de saúde bucal, é preciso que juntamente com o tratamento ortodôntico sejam feitas avaliações constantes sobre a condição de saúde periodontal, prevenção do desenvolvimento de lesões de cárie [73-75]e variação de cor. Esta última pode ser realizada através do uso de espectrofotômetro, o qual é capaz de mensurar a capacidade de mascarar a perda mineral ocorrida na formação de lesões de mancha branca. Tal método é muito utilizado para detectar alterações de cor que podem não ser observadas pelo método visual [76].

Segundo Johnston e Kao [65] e Paul et al [76], as alterações médias de ΔE (3,7) não são percebidas por pessoas não treinadas. Deste modo, as lesões de mancha branca induzidas artificialmente neste estudo (ΔE = 8,91±1,68) seriam notadas pela maioria das pessoas. Contudo, as superfícies restauradas com a resina infiltrante apresentaram uma variação total de cor maior que a descrita por esses autores (ΔE = 4,44±2,36), que embora se aproximasse da cor inicial, ainda pode ser percebida como uma cor diferente da cor inicial apresentada pelo elemento dental [65, 76].

No presente estudo, foi observado a variação de luminosidade (ΔL) onde apresentou-se diferente nos 3 tempos analisados. No tempo inicial (ΔL=-7,17±2,18), enquanto que no tempo Icon (ΔL=0,01±2,34) a cor aproximou-se a apresentada antes da ciclagem de pH, contrariando o estudo de Kim et al [18] onde a área de lesão de cárie, haveria um aumento na luminosidade. Após a hidratação da resina infiltrante, observa-se uma diminuição da luminosidade apresentada (ΔL=-3,04±2,82).

No eixo a, correspondente a variação verde-vermelho, observou-se que ocorre uma um pequeno aumento de valores positivos para a coordenada em relação a cor

encontrada antes da ciclagem, em consequência, pode-se dizer que as cores nos níveis estudados, tornaram-se mais vermelhas quando comparadas a situação prévia a ciclagem. Tal fato contraria a observação de Kim et al [18], os quais afirmaram que esse é o eixo que menos ocorre variação quando é formada a lesão cariosa.

No eixo b, correspondente a variação azul-amarelo, observou-se uma diminuição dos valores, pois as variações estão com sinal negativo. O que significa que as variações de Δb, possuem valores finais maiores (menos amarelo) do que a situação prévia a ciclagem de pH, sendo que tal achado condiz com o encontrado na literatura [18].

Adicionalmente, o presente estudo empregou o método de quantificação da fluorescência induzida por luz (QLF) para a mensuração da perda mineral relativa dos espécimes de esmalte bovino. Entre os diversos métodos ópticos recentemente estudados, o método QLF apresenta um alto grau de correlação com a perda de volume mineral observada em microrradiografia [44]. No entanto, a quantificação da perda mineral através desta técnica é realizada de maneira não destrutiva e permite o monitoramento de lesões quanto à perda e ganho mineral ao longo do tempo, o que é essencial para que se consiga determinar o grau de atividade de lesão e, consequentemente, um correto plano de tratamento para a doença cárie [36].

Além disso, quando considerado o ponto de vista do uso em estudos *in vitro*, o método QLF também apresenta vantagens quando comparado a outros métodos muito empregados neste tipo de estudo, como a própria microrradiografia, a análise de microdureza em secção transversal ou ainda a mensuração da profundidade de lesão através de luz polarizada, pois se trata de um método rápido e que permite a mensuração de perda mineral na mesma amostra várias vezes no decorrer do tempo e da aplicação da terapia que se quer avaliar.

Tal capacidade de quantificação da perda mineral nos tecidos duros dentais foi claramente observada no presente estudo, visto que a técnica QLF permitiu a verificação de perda mineral no tempo Inicial, caracterizado pela perda mineral após a ciclagem de pH para a formação da lesão de mancha branca.

De forma distinta, Esteves-Oliveira [77] empregaram a técnica QLF para verificação do efeito da irradiação com laser de CO_2 sobre as medidas de fluorescência do esmalte dental submetido a um modelo químico de produção de cárie, e observaram que tal técnica não apresentou resultados tão sensíveis quanto os apresentados pela mensuração das

profundidades das lesões cariosas através de luz polarizada, mostrando baixa correlação com as medidas deste último método. No entanto, foi capaz de identificar as principais diferenças de desmineralização entre os grupos testados.

É importante ressaltar, entretanto, que a comparação direta da eficácia do método QLF para mensuração de lesões em esmalte e dentina é complicada, uma vez que se observa na literatura o relato de estudos que demonstram uma melhor eficácia do método em quantificar lesões dentinárias [48]. Tal fato pode ser explicado pela influência da espessura do esmalte nos espécimes submetidos à mensuração de fluorescência, uma vez que a fluorescência medida por esta técnica é originária da dentina e da junção amelo-dentinária [41]. Desta forma, quanto maior a espessura do esmalte, menor é a fluorescência, resultando assim em um menor contraste entre lesão e esmalte sadio [48].

Outra observação realizada neste estudo foi o aumento de fluorescência dos espécimes após a utilização da resina infiltrante. Após a ciclagem de pH, a perda mineral ocasiona a formação de espaços entre os prismas de esmalte, diminuindo o coeficiente de transmissão, que previamente a formação de lesão cariosa é de n=1,70, passando a ser n=1,33 quando há presença de água, ou n=1 quando ocorre a presença de ar [60]. A análise de perda mineral feita através do QLF, baseia-se na propriedade do elemento dental de apresentar fluorescência quando iluminado por luz na faixa de azul-violeta [37, 38]. Sendo que a luz deveria ser transmitida pelo esmalte, e juntamente ao limite amelo-dentinario e à dentina, a luz deveria ser refletida em forma de fluorescênci [41]. Sendo assim, a área desmineralizada apresenta-se escurecida durante a analise do QLF [39], devido à diminuição da transmissão de luz pelo esmalte [60] e pela aumento do coeficiente de espalhamento devido a maior presença de água no tecido desmineralizado [41, 42]. O aumento de fluorescência, após a restauração com resina infiltrante, é devido à remoção de água do tecido, pela resina, ocasionando, provavelmente, o aumento do coeficiente de transmissão.

Por fim, torna-se necessária a utilização de outros modelos *in vitro*, e principalmente, modelos *in situ* e *in vivo*, que forneçam dados complementares para uma avaliação mais ampla do comportamento da restauração com a resina infiltrante, principalmente frente a questões como a um novo desafio cariogênico, e para conhecer a resistência a pigmentação.

7 CONCLUSÕEs

Dentro das limitações de um estudo in vitro, pode-se concluir que:

- a restauração com a resina infiltrante apresentou variação de cor quando comparadas ao dente hígido;
- a perda mineral ocorrida na ciclagem de pH, foi suficiente para formar lesões visíveis a pessoas não treinadas, e a resina infiltrante mascarou a perda mineral ocorrida com a ciclagem de pH.

REFERÊNCIAS[1]

1. Brasil MDS. SB Brasil 2010 - Pesquisa Nacional de Saúde Bucal. Brasília. Ministério da Saúde. 2010

2. Cons NC, Jenny J, Kohout FJ, Songpaisan Y, Jotikastira D. Utility of the dental aesthetic index in industrialized and developing countries. J Public Health Dent. 1989; 49(3): 163-6.

3. Gorelick L, Geiger AM, Gwinnett AJ. Incidence of white spot formation after bonding and banding. Am J Orthod. 1982; 81(2): 93-8.

4. Artun J,Brobakken BO. Prevalence of carious white spots after orthodontic treatment with multibonded appliances. Eur J Orthod. 1986; 8(4): 229-34.

5. Newbrun E. Cariology. Baltimore: Williams & Wilkins. 1978.

6. Fejerskov O,Manji F. Risk assessment in dental caries. in: *Risk assessment in dentistry*. University of North Carolina Dental Ecology. 1990; p. 215-7.

7. Kauffman JH. Prophylactic odontotomy: a review. Ann Dent. 1966; 25(2): 38-40.

8. Kauffmann JH. Prophylactic odontotomy; a successful operative procedure for the prevention of dental caries. N Y State Dent J. 1949; 15(10): 564-9.

9. Szmyd L. Prophylactic odontotomy. U S Armed Forces Med J. 1950; 1(1): 107-14.

10. Carvalho JC, Ekstrand KR, Thylstrup A. Dental plaque and caries on occlusal surfaces of first permanent molars in relation to stage of eruption. J Dent Res. 1989; 68(5): 773-9.

[1] De acordo com Estilo Vancouver.

11. Baelum V, Machiulskiene V, Nyvad B, Richards A, Vaeth M. Application of survival analysis to carious lesion transitions in intervention trials. Community Dent Oral Epidemiol. 2003; 31(4): 252-60.

12. Emilson CG,Krasse B. Support for and implications of the specific plaque hypothesis. Scand J Dent Res. 1985; 93(2): 96-104.

13. Dawes C. What is the critical pH and why does a tooth dissolve in acid? J Can Dent Assoc. 2003; 69(11): 722-4.

14. Taifour D, Frencken JE, Van't Hof MA, Beiruti N, Truin GJ. Effects of glass ionomer sealants in newly erupted first molars after 5 years: a pilot study. Community Dent Oral Epidemiol. 2003; 31(4): 314-9.

15. Darling A. studies of the early caries with transmitted light, polarized light and radiography. Br Dent J. 1956; 101(9-10): 289-97; 329-41.

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

17. Imparato JCP. A dentistica odontopediátrica no contexto da promoção de saude bucal. Atualização na clínica odontológica: Módulos de atualização. ed. G.R. In: Feller C. São Paulo: Artes Médicas; 238-261. 2000.

18. Kim Y, Son HH, Yi K, et al. The color change in artificial white spot lesions measured using a spectroradiometer. Clin Oral Investig. 2012.

19. Angmar B, Carlstrom D, Glas JE. Studies on the ultrastructure of dental enamel. IV. The mineralization of normal human enamel. J Ultrastruct Res. 1963; 8: 12-23.

20. Arends J, Schuthof J, Jongebloed WG. Lesion depth and microhardness indentations on artificial white spot lesions. Caries Res. 1980; 14(4): 190-5.

21. Theuns HM, Van Dijk JW, Jongebloed WL, Groeneveld A. The mineral content of human enamel studied by polarizing microscopy, microradiography and scanning electron microscopy. Arch Oral Biol. 1983; 28(9): 797-803.

22. Arends J,Ten Bosch JJ. Demineralization and remineralization evaluation techniques. J Dent Res. 1992; 71 Spec No: 924-8.

23. Silverstone LM. Structure of carious enamel, including the early lesion. Oral Sci Rev. 1973; 3: 100-60.

24. Silverstone LM, Hicks MJ, Featherstone MJ. Dynamic factors affecting lesion initiation and progression in human dental enamel. Part I. The dynamic nature of enamel caries. Quintessence Int. 1988; 19(10): 683-711.

25. Holmen L, Thylstrup A, Ogaard B, Kragh F. A polarized light microscopic study of progressive stages of enamel caries in vivo. Caries Res. 1985; 19(4): 348-54.

26. Wefel JS,Harless JD. Comparison of artificial white spots by microradiography and polarized light microscopy. J Dent Res. 1984; 63(11): 1271-5.

27. Hicks MJ,Silverstone LM. Acid-etching of caries-like lesions of enamel: a polarized light microscopic study. Caries Res. 1984; 18(4): 315-26.

28. Wefel JS,Harless JD. Topical fluoride application and lesion progression in vitro. J Dent Res. 1984; 63(11): 1276-8.

29. Legeros RZ. Chemical and crystallographic events in the caries process. J Dent Res. 1990; 69 Spec No: 567-74; discussion 634-6.

30. Hara AT, Queiroz CS, Paes Leme AF, Serra MC, Cury JA. Caries progression and inhibition in human and bovine root dentine in situ. Caries Res. 2003; 37(5): 339-44.

31. Mendes FM, Nicolau J, Duarte DA. Evaluation of the effectiveness of laser fluorescence in monitoring in vitro remineralization of incipient caries lesions in primary teeth. Caries Res. 2003; 37(6): 442-4.

32. Hara AT, Queiroz CS, Freitas PM, et al. Fluoride release and secondary caries inhibition by adhesive systems on root dentine. Eur J Oral Sci. 2005; 113(3): 245-50.

33. Benedict HC. A Note on the Fluorescence of Teeth in Ultra-Violet Rays. Science. 1928; 67(1739): 442.

34. Konig K, Schneckenburger H, Hibst R. Time-gated in vivo autofluorescence imaging of dental caries. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand). 1999; 45(2): 233-9.

35. Buchalla W. Comparative fluorescence spectroscopy shows differences in noncavitated enamel lesions. Caries Res. 2005; 39(2): 150-6.

36. Alfano RR,Yao SS. Human teeth with and without dental caries studied by visible luminescent spectroscopy. J Dent Res. 1981; 60(2): 120-2.

37. Spitzer D,Ten Bosch JJ. Luminescence quantum yields of sound and carious dental enamel. Calcif Tissue Res. 1977; 24(3): 249-51.

38. Mujat C, Van Der Veen MH, Ruben JL, Ten Bosch JJ, Dogariu A. Optical path-length spectroscopy of incipient caries lesions in relation to quantitative light-induced fluorescence and lesion characteristics. Appl Opt. 2003; 42(16): 2979-86.

39. Mujat C, Van Der Veen MH, Ruben JL, Dogariu A, Ten Bosch JJ. The influence of drying on quantitative laser fluorescence and optical pathlengths in incipient natural caries lesions. Caries Res. 2004; 38(5): 484-92.

40. Pretty IA, Smith PW, Edgar WM, Higham SM. The use of quantitative light-induced fluorescence (QLF) to identify composite restorations in forensic examinations. J Forensic Sci. 2002; 47(4): 831-6.

41. Tranaeus S, Shi XQ, Lindgren LE, Trollsas K, Angmar-Mansson B. In vivo repeatability and reproducibility of the quantitative light-induced fluorescence method. Caries Res. 2002; 36(1): 3-9.

42. Tranaeus S, Al-Khateeb S, Bjorkman S, Twetman S, Angmar-Mansson B. Application of quantitative light-induced fluorescence to monitor incipient lesions in caries-active children. A comparative study of remineralisation by fluoride varnish and professional cleaning. Eur J Oral Sci. 2001; 109(2): 71-5.

43. Ando M, Hall AF, Eckert GJ, et al. Relative ability of laser fluorescence techniques to quantitate early mineral loss in vitro. Caries Res. 1997; 31(2): 125-31.

44. Aljehani A, Tranaeus S, Forsberg CM, Angmar-Mansson B, Shi XQ. In vitro quantification of white spot enamel lesions adjacent to fixed orthodontic appliances using quantitative light-induced fluorescence and DIAGNOdent. Acta Odontol Scand. 2004; 62(6): 313-8.

45. Pretty IA, Edgar WM, Higham SM. The effect of ambient light on QLF analyses. J Oral Rehabil. 2002; 29(4): 369-73.

46. Ando M, Eckert GJ, Stookey GK, Zero DT. Effect of imaging geometry on evaluating natural white-spot lesions using quantitative light-induced fluorescence. Caries Res. 2004; 38(1): 39-44.

47. Pretty IA, Edgar WM, Higham SM. The validation of quantitative light-induced fluorescence to quantify acid erosion of human enamel. Arch Oral Biol. 2004; 49(4): 285-94.

48. Ando M, Schemehorn BR, Eckert GJ, Zero DT, Stookey GK. Influence of enamel thickness on quantification of mineral loss in enamel using laser-induced fluorescence. Caries Res. 2003; 37(1): 24-8.

49. Pretty IA, Smith PW, Edgar WM, Higham SM. Detection of in vitro demineralization adjacent to restorations using quantitative light induced fluorescence (QLF). Dent Mater. 2003; 19(5): 368-74.

50. Pretty IA, Edgar WM, Higham SM. The effect of dehydration on quantitative light-induced fluorescence analysis of early enamel demineralization. J Oral Rehabil. 2004; 31(2): 179-84.

51. Pretty IA,Ellwood RP. Comparison of paired visual assessment and software analyses of changes in caries status over 6 months from fluorescence images. Caries Res. 2007; 41(2): 115-20.

52. Pretty IA, Pender N, Edgar WM, Higham SM. The in vitro detection of early enamel de- and re-mineralization adjacent to bonded orthodontic cleats using quantitative light-induced fluorescence. Eur J Orthod. 2003; 25(3): 217-23.

53. Al-Mulla A, Karlsson L, Kharsa S, Kjellberg H, Birkhed D. Combination of high-fluoride toothpaste and no post-brushing water rinsing on enamel demineralization using an in-situ caries model with orthodontic bands. Acta Odontol Scand. 2010; 68(6): 323-8.

54. Fried D, Glena RE, Featherstone JD, Seka W. Nature of light scattering in dental enamel and dentin at visible and near-infrared wavelengths. Appl Opt. 1995; 34(7): 1278-85.

55. Featherstone JD. Caries detection and prevention with laser energy. Dent Clin North Am. 2000; 44(4): 955-69, ix.

56. Zijp JR, Ten Bosch JJ, Groenhuis RA. HeNe-laser light scattering by human dental enamel. J Dent Res. 1995; 74(12): 1891-8.

57. Odor TM, Watson TF, Pitt Ford TR, Mcdonald F. Pattern of transmission of laser light in teeth. Int Endod J. 1996; 29(4): 228-34.

58. Spitzer D,Bosch JT. The absorption and scattering of light in bovine and human dental enamel. Calcif Tissue Res. 1975; 17(2): 129-37.

59. Walton RE, Outhwaite WC, Pashley DF. Magnification--an interesting optical property of dentin. J Dent Res. 1976; 55(4): 639-42.

60. Brodbelt RH, O'brien WJ, Fan PL, Frazer-Dib JG, Yu R. Translucency of human dental enamel. J Dent Res. 1981; 60(10): 1749-53.

61. Zijp JR,Bosch JJ. Theoretical model for the scattering of light by dentin and comparison with measurements. Appl Opt. 1993; 32(4): 411-5.

62. Ikawa M, Horiuchi H, Ikawa K. Optical characteristics of human extracted teeth and the possible application of photoplethysmography to the human pulp. Arch Oral Biol. 1994; 39(10): 821-7.

63. Seka W, Fried D, Featherstone JD, Borzillary SF. Light deposition in dental hard tissue and simulated thermal response. J Dent Res. 1995; 74(4): 1086-92.

64. Ragain JC, Jr.,Johnston WM. Accuracy of Kubelka-Munk reflectance theory applied to human dentin and enamel. J Dent Res. 2001; 80(2): 449-52.

65. Johnston WM,Kao EC. Assessment of appearance match by visual observation and clinical colorimetry. J Dent Res. 1989; 68(5): 819-22.

66. Lagouvardos PE, Diamanti H, Polyzois G. Effect of individual shades on reliability and validity of observers in colour matching. Eur J Prosthodont Restor Dent. 2004; 12(2): 51-6.

67. Hawkyard CJ,Bezerra CDM. Spectral power distributions for the CIE stimuli. Color Research & Application. 2001; 26(6): 478-482.

68. Billmeyer FW,Saltzman M. Principles of Color Technology. ed. R.s. Bernes. 1981.

69. Kawasaki K,Featherstone JD. Effects of collagenase on root demineralization. J Dent Res. 1997; 76(1): 588-95.

70. Souza-Zaroni WCD. Determinação de parâmetros seguros e efetivos do laser de CO2 (λ = 10,6 μm) na redução da desmineralização da dentina radicular – Estudo in vitro. 2007; Doutorado.

71. Ten Cate JM,Duijsters PP. Alternating demineralization and remineralization of artificial enamel lesions. Caries Res. 1982; 16(3): 201-10.

72. Field A. Discovering Statistics Using SPSS. Sage Publications Ltd. 2009.

73. Bardal PaP, Olympio KPK, Bastos JRDM, Henriques JFC, Buzalaf MaR. Educação e motivação em saúde bucal – prevenindo doenças e promovendo saúde em pacientes sob tratamento ortodôntico. Dental Press J. Orthod. 2011; 16(3): 95-102.

74. Olympio KPK, Bardal PaP, Henriques JFC, Bastos JRDM. Prevenção de cárie dentária e doença periodontal em Ortodontia: uma necessidade imprescindível. Rev. Dent. Press Ortodon. Ortop. Facial. 2006; 11(2): 110-119.

75. Chang HS, Walsh LJ, Freer TJ. Enamel demineralization during orthodontic treatment. Aetiology and prevention. Aust Dent J. 1997; 42(5): 322-7.

76. Paul S, Peter A, Pietrobon N, Hammerle CH. Visual and spectrophotometric shade analysis of human teeth. J Dent Res. 2002; 81(8): 578-82.

77. Esteves-Oliveira M. Avaliação de diferentes parâmetros para irradiação do esmalte dental com o laser de CO2 visando a redução da desmineralizaçãoEditor. Publisher|: Place Published. ^Year; p. Pages|.