ERIKA MICHELE DOS SANTOS ARAÚJO

**Efeito de diferentes desafios sobre as propriedades de superfície dos
sistemas restauradores que simulam os tecidos gengivais**

São Paulo

2018

ERIKA MICHELE DOS SANTOS ARAÚJO

**Efeito de diferentes desafios sobre as propriedades de superfície dos
sistemas restauradores que simulam os tecidos gengivais**

Versão Corrigida

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia (Dentística) para obter o título de Mestre em Ciências.

Orientador: Profa. Dra. Adriana Bona Matos

São Paulo

2018

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.

Catálogo-na-Publicação
Serviço de Documentação Odontológica
Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Araújo, Erika Michele dos Santos .

Efeito de diferentes desafios sobre as propriedades de superfície dos sistemas restauradores que simulam os tecidos gengivais / Erika Michele dos Santos Araújo; orientador Adriana Bona Matos. -- São Paulo, 2018.

69p. : tab., fig., ; 30 cm.

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

Versão corrigida

1. Cor. 2. Rugosidade. 3. Resinas. 4. Biofilmes. I. Matos, Adriana Bona. II. Título.

Araújo EMS. Efeito de diferentes desafios sobre as propriedades de superfície dos sistemas restauradores que simulam os tecidos gengivais. Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Aprovado em: 07 / 06 /2018

Banca Examinadora

Profa. Dra. Andréa Dias Neves Lago

Instituição: Universidade Federal do Maranhão

Julgamento: Aprovada

Profa. Dra. Cynthia Soares de Azevedo

Instituição: Universidade Nove de Julho- UNINOVE

Julgamento: Aprovada

Prof. Dr. Ricardo Scarparo Navarro

Instituição: Universidade Brasil

Julgamento: Aprovada

Dedico este trabalho a **Deus**, sem ele não conseguiria chegar até aqui.

Aos meus pais **Alexssandra Santos** e **Ernani Araújo** que nunca mediram esforços para que eu e meus irmãos pudéssemos realizar todos nossos sonhos, sempre apoiando e incentivando! Sem vocês eu não teria conseguido! Muito obrigada!

À minha avó e minhas tias-avós, por todo o cuidado e dedicação que tiveram por mim e tem até hoje!

À **Fernanda Rodrigues** e a nova família que ganhei, por todos os momentos compartilhados, risadas, conversas, conselhos e incentivos! Agradeço por ter ganho uma IRMÃ! Sem você não seria a mesma coisa! OBRIGADA POR TUDO!!!!

À minha eterna dupla, **Júlia Lúcio**, por todos os conselhos, pela amizade e palavras certas quando mais precisei!

À minha eterna professora e amiga, **Andréa Lago**, por todos os conhecimentos repassados, e pela amizade que quero levar para a vida inteira! Grata à senhora por tudo!

À toda minha família e amigos que contribuíram direta e indiretamente para que eu chegasse até aqui.

MUITO OBRIGADA!

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Agradecimento especial à minha orientadora, **Profa. Dra. Adriana Bona Matos**, por todo o apoio, pela atenção, pelos ensinamentos, pela amizade e por toda confiança depositada em mim. Obrigada pelos momentos que pudemos compartilhar! Agradeço muito por ter sido sua orientada, e admiro toda a sua dedicação. MUITO OBRIGADA!

AGRADECIMENTOS

À **Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo** e ao diretor Prof. Dr. **Rodney Garcia Rocha**.

À **Profa. Dra. Miriam Lacalle Turbino**, chefe do departamento de Dentística. Ao **Prof. Dr. Celso Luiz Caldeira**, coordenador do Programa de Pós-Graduação em Dentística.

Ao **Conselho nacional de desenvolvimento científico e tecnológico (CNPq)**, pelo apoio financeiro concedido para o desenvolvimento desse trabalho.

Ao **IPEN**, pelo apoio ao desenvolvimento desse trabalho.

A **Shofu®** por doar os materiais imprescindíveis para o desenvolvimento deste trabalho.

À **Prof. Dra. Maria Regina Lorenzetti Simionato** por ceder seu laboratório para a execução desse trabalho.

À todos os **professores do Departamento de Dentística da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo**, por todos os conhecimentos e experiência repassados durante todo o período do mestrado e por contribuírem na minha formação profissional.

À **Profa. Dra. Luciana Kfourir Siriani**, pela contribuição nesse trabalho, pelos ensinamentos, pela disponibilidade e por todos os momentos que compartilhamos.

À **Beatriz Togoro** pela disponibilidade e contribuição no meu trabalho.

Aos funcionários do Departamento de Dentística: **Aldo, David, Selma, Leandro e Silvana**, obrigada por todo o apoio!

Aos colegas que ganhei na Pós graduação e tornaram a vinda à São Paulo e o mestrado muito mais leve: **Amanda, Carlos, Caroline, Carolina, Eric, Giovanni, Hermano, Juan, Juliana, Karin, Letícia, Lucas, Luiza, Olívia, Samuel e Sávio**. Muito obrigada!

Às minhas amigas de São Luís, **Graziela, Patrícia Ana Paula** que mesmo com a distância me apoiaram sempre!

À todos que contribuíram direta e indiretamente para o desenvolvimento e conclusão desse trabalho: Muito obrigada!!

RESUMO

Araújo EMS. Efeito de diferentes desafios sobre as propriedades de superfície dos sistemas restauradores que simulam os tecidos gengivais [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2018. Versão Corrigida .

O uso de compósitos simulando a cor dos tecidos gengivais apresenta-se como uma opção de tratamento restaurador estético com aplicação direta, que pode aumentar a satisfação do paciente por meio de uma solução de baixo custo e pouco invasiva. Este estudo teve como fatores de variação: sistemas restauradores que reproduzem a cor dos tecidos gengivais (Amaris[®] gingiva (A), NTpremium[®] Pink (B), Beautifil[®] II Pink (C) e protocolo de envelhecimento [desafio erosivo (DE) e ciclagem térmica (CT)], avaliados quanto a estabilidade de cor, rugosidade superficial, perda de superfície e quantificação de biofilme. Para os 3 primeiros ensaios, os espécimes foram divididos em 6 grupos (n=10): G1 (A+CT); G2 (A+DE); G3 (B+CT); G4 (B+DE); G5 (C+CT); G6 (C+DE). A ciclagem térmica foi realizada com um total 5.000 ciclos, com banhos de 5°C e 55°C e o desafio erosivo consistiu da armazenagem dos espécimes em solução de ácido cítrico 0,3%, com pH 2,5 a 37°C, durante uma semana. Sessenta espécimes de 5mmX5mmX3mm foram montados, fotopolimerizados, polidos e armazenados em estufa a 37° por 24h. Todos os espécimes foram lidos antes e após os protocolos de envelhecimento, utilizando o perfilômetro óptico para avaliação da rugosidade superficial e a perda de superfície, enquanto o espectrofotômetro avaliou a estabilidade de cor dos compósitos, de acordo com os parâmetros do CIELab. Para a quantificação do biofilme foram acrescentadas duas variáveis tempo de leitura (após 3 e 24 horas) e ao protocolo de envelhecimento foi adicionado um grupo controle (sem envelhecimento). Noventa (n=5) espécimes de 4mmX1mm foram montados e padronizados como os espécimes montados para as leitura de rugosidade, perda de superfície e alteração de cor. Para a formação do biofilme foram utilizadas as cepas de *Streptococcus* mutans UA159, cultivadas em TSB suplementado com 0,5% de sacarose por 3 e 24 horas e mensurados através do método indireto de coloração com safranina e leitura de absorbância para a quantificação do biofilme formado. No que se refere a alteração de cor, detectou-se diferença estatisticamente significativa para os fatores sistema restaurador (p=0,00) e para a interação sistema restaurador X protocolo de envelhecimento (p=0,00). A maior

variação de cor foi observada no material C quando submetido ao desafio erosivo ($16,75 \pm 3,25$). A ANOVA não detectou diferença estatisticamente significativa para nenhum dos fatores em relação a perda de superfície. Na avaliação da rugosidade, detectou-se diferença estatisticamente significativa para o fator protocolo de envelhecimento ($p=0,00$), havendo maior rugosidade para os espécimes submetidos à ciclagem térmica. Na quantificação de biofilme, após 3 e 24 horas, ANOVA detectou diferença estatisticamente significativa para o fator protocolo de envelhecimento ($p=0,00$) e para a interação entre o protocolo de envelhecimento e material restaurador ($p=0,00$ e $p=0,003$, respectivamente). Conclui-se que todos os sistemas restauradores apresentaram alteração de cor após os protocolos de envelhecimento testados. A CT foi o protocolo de envelhecimento que mais aumentou a rugosidade em todos os sistemas restauradores, contudo sem perda significativa de superfície. A quantificação de biofilme após 3 e 24 horas foi aumentada pelos protocolos de envelhecimento. O desafio erosivo aumentou a deposição de biofilme no sistema restaurador *giomer*, em 3 e 24 horas.

Palavras-chave: Cor. Rugosidade. Resina. Biofilmes.

ABSTRACT

Araújo, EMS. Effect of different challenges on the surface properties of restorative systems that simulate gingival tissues [dissertation]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2018. Versão Corrigida.

The use of composites simulating the color of the gingival tissues presents as an option of aesthetic restorative treatment with direct application, which can increase patient satisfaction through a low-cost and non-invasive solution. This study had as factors of variation: restorative systems that reproduce the color of the gingival tissues (Amaris[®] gingiva (A), NTpremium[®] Pink (B), Beautifil[®] II Pink (C) and aging protocols [thermal cycling (TC) and erosive challenge (EC)], evaluated for color stability, surface roughness, surface loss and biofilm quantification. For the first 3 trials, the specimens were divided into 6 groups (n = 10): G1 (A + TC); G2 (A + EC); G3 (B + TC); G4 (B + EC); G5 (C + TC); G6 (C + EC). The thermal cycling was performed with a total of 5.000 cycles, with baths of 5 ° and 55 ° C and the erosive challenge consisted of the storage of the specimens in 0.3% citric acid solution, pH 2.5 at 37°C, for one week. Sixty specimens of 5mmX5mmX3mm were mounted, photopolymerized, polished and stored in distilled water at 37° for 24h. All the specimens were read before and after the aging protocols, using the optical profilometer to evaluate surface roughness and surface loss, while the spectrophotometer evaluated the color stability of the composites, according to CIELab parameters. Two reading time variables (after 3 and 24 hours) were added to the biofilm quantification and a control group (without aging) was added to the aging protocol. Ninety (n=5) specimens of 5mmX1mm were mounted and standardized as the specimens or the first 3 trials, roughness, surface loss and color stability. For the biofilm formation, *Streptococcus mutans* UA159, cultivated in TSB supplemented with 0.5% of sucrose for 3 and 24 hours and measured by the indirect method of safranin staining and absorbance reading were used. Regarding the color change, a statistically significant difference was detected for the factors restorative system (p=0.00) and for the interaction restorative system X aging protocol (p=0.00). The highest color variation was observed in material C when submitted to erosive challenge (16.75 ± 3.25). ANOVA did not detect a statistically significant difference for any factors in relation to surface loss. In the evaluation of roughness, a statistically significant difference was detected for the aging protocol factor

($p=0.00$), with a higher roughness for the specimens submitted to thermal cycling. In the biofilm quantification, after 3 and 24 hours, ANOVA detected a statistically significant difference for the aging protocol factor ($p=0.00$) and for the interaction between the two factors, aging protocols and restorative systems ($p=0.00$ and $p=0.003$, respectively). It was concluded that all restorative systems presented color changes after the aging protocols tested. CT was the aging protocol that increased the most roughness in all restorative systems, nevertheless without significant loss of surface. Biofilm deposition after 3 and 24 hours varies considerably depending on the restorative system and aging protocol. The erosive challenge increased biofilm deposition in the restorative system *giomer* in 3 and 24 hours.

Keywords: Color. Roughness. Resin. Biofilms.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 4.1 - Representação esquemática do delineamento experimental.....	39
Quadro 4.2 -Perfil técnico dos materiais restauradores utilizados neste estudo e instruções de uso.....	41
Figura 4.3 - Matriz metálica com centro em teflon.....	42
Figura 4.4 - Disposição das fitas para a formação de uma janela de referência.....	43
Figura 4.5 - Matriz de teflon (5mmx1mm).....	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1 - Divisão dos grupos experimentais (n=10) para avaliação de cor, rugosidade e perda de superfície.....	40
Tabela 4.2 - Divisão dos grupos experimentais (n=5) para a quantificação de biofilme após 3 e 24 horas.....	40
Tabela 5.1 - Resultados (média $\pm$ Desvio padrão) dos ensaios de variação de cor (ΔE), perda de superfície (μm) e rugosidade (R_a).....	52
Tabela 5.2 - Resultados (média $\pm$ Desvio padrão) dos ensaios de quantificação de biofilme após 3 e 24 horas	53

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A490	absorbância de 490nm
Al ³⁺	alumínio
B ⁻	boro
BIS-EMA	bisfenol A glicidil dimetacrilato etoxilado
BIS-GMA	bisfenol A glicidil dimetacrilato
CO ₂	dióxido de carbono
DO ₆₀₀	densidade ótica
RPM	rotações por minuto
kGy	kilogray
LED diodo	emissor de luz
Mm	milímetros
mw/cm ²	megawatt
nm	nanômetro
pH	potencial hidrogeniônico
Ra	rugosidade média
S-PRG	partícula de vidro pré-reagido
Sr ²⁺	estrôncio
TEGDMA	trietileno glicol dimetacrilato
TSA	ágar triptona de soja
TSB	soja triptcaseína B
UDMA	dimetacrilato de uretano
ufc/ml	unidade formadora de colônia por mililitro
UPVC	cloreto de polivinil não plastificada
µm	micrômetro
µl	microlitro

LISTA DE SÍMBOLOS

$^{\circ}\text{C}$	graus celsius
a^*	coordenada a^*
b^*	coordenada b^*
L^*	luminosidade
ΔL	diferença em mais claro e mais escuro
Δb	diferença em amarelo e azul
Δa	diferença em vermelho e verde
ΔE	alteração total de cor

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	25
2	REVISÃO DE LITERATURA	27
2.1	Resinas compostas	27
2.2	<i>Giomers</i>	29
2.3	Erosão	31
2.4	Ciclagem térmica	33
2.5	Adesão de biofilme	34
3	PROPOSIÇÃO	37
4	MATERIAL E MÉTODOS	39
4.1	Delineamento experimental	39
4.2	Sistemas restauradores e sua composição	40
4.3	Montagem dos espécimes (avaliação da cor, rugosidade e perda de superfície)	41
4.4	Leitura inicial	43
4.4.1	Rugosidade superficial	43
4.4.2	Perda de superfície	44
4.4.3	Leitura da cor	44
4.5	Protocolos de envelhecimento	45
4.5.1	Ciclagem térmica	45
4.5.2	Desafio erosivo	45
4.6	Leitura final	46
4.7	Formação e quantificação de biofilme	46
4.7.1	Montagem dos espécimes	46
4.7.2	Esterilização dos espécimes	47
4.7.3	Formação do biofilme	48
4.8	Análise dos resultados	49
5	RESULTADOS	51
6	DISCUSSÃO	55
7	CONCLUSÕES	59
	REFERÊNCIAS	61

1 INTRODUÇÃO

O uso de sistemas restauradores que simulam a cor dos tecidos gengivais apresenta-se como uma opção de tratamento não-cirúrgico, de aplicação direta, que pode aumentar a satisfação do paciente através do fornecimento de uma solução de baixo custo, pouco invasiva e com resultados estéticos (Paryag et al., 2016).

Esta técnica foi descrita pela primeira vez por Zalkind e Hochman sendo proposta para a correção de um defeito cervical utilizando o compósito microparticulado (Conquest, Ginga Blend, Jeneric/ Pentron) (Zalkind; Hochman, 1997; Paryag et al., 2016)

Alguns sistemas restauradores têm sido desenvolvidos de forma a simular a coloração dos tecidos gengivais. Os *giomers* são compósitos contendo partículas de vidro de aluminofluoro-borossilicato pré-reagidas (S-PRG), incorporadas a uma matriz orgânica de Bis-GMA (BisfenolA-glicidilmetacrilato) e TEGDMA (dimetacrilato de trietilenoglicol), onde são adicionados pigmentos (Saku et al., 2010; MA et al., 2012). Este material possui o diferencial de liberar e recarregar fluoretos presentes no meio bucal (Kaminjo et al., 2009). As resinas compostas nanohíbridas possuem matriz orgânica a base de Bis-GMA e TEGDMA, partículas de sílica em diferentes concentrações e pigmentos para simular a coloração rosa da gengiva (Ferracane, 2011; Leprince et al., 2013).

Com a evolução desses materiais e técnicas de restauração, foi possível a obtenção de uma estética aceitável para a região cervical, contudo, os sistemas restauradores possuem o desafio de manter-se estáveis dentro de um ambiente dinâmico como a cavidade oral, devido a fatores intrínsecos e extrínsecos que têm influência sobre eles (Minami et al. 2007; Gonulol et al., 2015).

A melhoria na qualidade de vida, aumento da longevidade e a manutenção dos dentes na cavidade oral por mais tempo, aumentou significativamente a prevalência e a gravidade do desgaste dentário na população mundial (Attin; Wegehaupt, 2014). Além disso, dentre os fatores extrínsecos observa-se hábitos nocivos, a ingestão de alimentos e bebidas ácidas que possuem efeitos prejudiciais sobre a estrutura dental (esmalte e dentina) e sobre materiais restauradores, além de escovação traumática, que podem influenciar suas propriedades mecânicas (Lussi et al., 2011).

As resinas compostas estão expostas na cavidade oral a fatores intrínsecos, tais como, à atuação da água, saliva, metabólitos presentes no biofilme dental, ácidos

oriundos de problemas gástricos, mudanças de pH e temperatura do meio (Borges et al., 2011; Delaviz et al., 2014).

A rugosidade superficial de materiais restauradores tem sido reconhecida como um parâmetro de alta relevância clínica para o acúmulo de biofilme dental, manchamento superficial e desgaste com a perda da superfície da restauração (Dos Santos et al., 2015). Materiais que apresentam rugosidade aumentada, podem favorecer a formação, retenção de biofilme dental e colonização de bacteriana através da adesão inicial dos microorganismos nas irregularidades de superfície, podendo acarretar em inflamação gengival, se próxima à gengiva, e cáries secundárias pela liberação de ácidos bacterianos na interface resina/estrutura dental (Lima et al., 2009; Awliya et al., 2010; Jusoh et al., 2016; Chaisomboonphun, Rodklai, 2016). A susceptibilidade dos materiais restauradores à adesão de microrganismos é considerada de extrema importância para a sua durabilidade na cavidade oral (Cazzaniga et al., 2015).

A rugosidade aumentada torna a estrutura resinosa susceptível à manchas superficiais. A durabilidade da cor de materiais restauradores é necessária para avaliar o sucesso ou fracasso do tratamento (Moon et al., 2015). A estética desses materiais pode ser comprometida quando a exposição ao ambiente dinâmico da cavidade oral, onde a presença de microbiota, saliva e ingestão frequente de alimentos e bebidas coloridas, que podem influenciar na alteração cromática das resinas, e conseqüentemente a sua falha (Hotwani et al., 2014; Adusumilli et al., 2016).

Alguns autores (Wahbi et al., 2013; Paryag et al., 2016) têm relatado resultados satisfatórios dos compósitos que simulam a coloração dos tecidos gengivais em reestabelecer a estética na região cervical, com boa aceitação pelos pacientes. Contudo, mais estudos são necessários para melhor explorar as propriedades destes materiais, bem como, a durabilidade do resultado estético obtido. Este estudo avaliou a rugosidade superficial, a susceptibilidade à adesão bacteriana e a estabilidade de cor de três sistemas restauradores que simulam a cor da gengiva, submetidos a protocolos de envelhecimento.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Resinas compostas

As resinas compostas, ou compósitos foram desenvolvidos por Bowen em 1963, pela junção de dimetacrilatos, resina epóxi e ácido metacrílico com pó de quartzo silanizado. Esses materiais passaram por diversas mudanças em sua formulação e vem sendo amplamente usados até hoje na prática clínica por conta da sua versatilidade, apresentando excelentes propriedades estéticas e resistência mecânica adequada (Ferracane, 2011).

Esses materiais são compostos por uma matriz orgânica, porção inorgânica (partículas de carga), um agente de união, chamado silano, que tem a função de fazer a conexão entre as partículas de carga e a matriz orgânica além de um fotoiniciador, responsável pela reação de polimerização, sendo o mais utilizado, a canforoquinona (Anusavise, 2005; Ferracane 2011).

A matriz orgânica é formada por monômero base bis-GMA, mais comumente utilizado em compósitos odontológicos comerciais, que devido à sua alta viscosidade é misturado a outros dimetacrilatos, como o trietilenoglicol dimetacrilato (TEGDMA) ou outros monômeros. (Ferracane, 2011) Vale ressaltar que a matriz monomérica tem forte influência na polimerização, nas propriedades mecânicas e na capacidade de sorção de água pelo compósito. (Ferracane, 2011).

A resina composta tem em sua composição também diferentes tipos de partículas inorgânicas, que podem ser constituídas por partículas de vidro, zinco, bário e/ou quartzo. Tais partículas apresentam como função melhorar as características do material, como a radiopacidade, melhorar propriedades mecânicas e diminuir o estresse de contração durante a fotopolimerização do material (Randolph et al., 2016).

Os compósitos em geral são geralmente classificados de acordo com o tamanho, tipo e quantidade de carga que os constituem. Os compósitos mais recentes são divididos quanto ao tamanho das cargas em: microparticulados, que possuem partículas menores que 1µm, variando entre 0,4 e 0,2 µm; e os nanoparticulados, que utilizam partículas menores que 0,1µm, geralmente 0,04–0,05µm. Estes materiais são os mais utilizados

ultimamente por atrelarem um bom polimento à propriedades mecânicas favoráveis (Ferracane, 2011; Randolp et al., 2016; Da Silva et al., 2017).

As partículas de carga no que diz respeito ao seu formato, podem ser alongadas (fibras, whiskers, filamentos) ou partículas esferoidais, estes diferentes formatos tem a função de garantir, por meio de uma “mistura” do conteúdo de carga, melhores características de radiopacidade e dureza, bem como a facilidade de manipulação por conta da consistência adequada (Anusavise, 2005).

As resinas compostas denominadas híbridas, vão apresentar em sua composição os diferentes tipos de cargas citados acima, tal característica garante a esses compósitos melhores propriedades mecânicas, quando comparados a outros compósitos, como os microparticulados homogêneos (Anusavise, 2005; Randolp et al., 2016).

A composição dos sistemas restauradores é de suma importância para a previsibilidade de sua durabilidade no ambiente oral (De Fúcio et al., 2006; Florez et al., 2016), a composição orgânica e inorgânica, além de fatores como a fotopolimerização e polimento final, podem afetar as propriedades dos materiais.

Ling et al (2011), Ferracane (2011), Randolp et al. (2016) que as partículas de carga em maior volume nos materiais, irá garantir melhores propriedades mecânicas, bem como uma proteção para a matriz orgânica que lhe cerca, já que, dependendo do monômero que lhe compõe, este poderá ser alterado por fenômenos, tais como, a absorção de água e consequentemente a hidrólise da matriz orgânica (Sideridou; Karabela., 2011).

Os materiais restauradores diretos ao longo de sua permanência na cavidade oral, podem apresentar uma degradação da superfície, apresentar rugosidade, manchamento e gaps na interface dente/restauração (Tabatabaei et al., 2013; Hussein et al., 2014; Moon et al., 2015)

Diversos estudos vem sendo conduzidos para avaliar a tendência ao aumento da rugosidade após imersão em substâncias de diferentes pHs (Ren et al., 2012; Tuncer et al., 2013; Moon et al., 2015) ciclos térmicos (Tabatabaei et al., 2013), abrasão (Yu et al., 2009) e também pela deposição de biofilme em sua superfície (de Fucio et al., 2009; Nedejkovic et al., 2017).

Ling et al. (2011), avaliaram as propriedades mecânicas de 7 resinas compostas frente à termociclagem, afirmando que estas diminuem sua microdureza e resistência à flexão biaxial frente às variações de temperatura.

Zhang et al. (2016) e Prendrys et al. (2011) afirmam que os compósitos acumulam mais biofilme/placa, quando comparado com o amálgama e o cimento de ionômero de vidro, pois a sua composição polimérica de metacrilato permite a ligação de proteínas salivares e colonizadores bacterianos na superfície.

Estudos que avaliam o manchamento dos compósitos também vem sendo produzidos, seja pelo armazenamento em diferentes líquidos com variação do pH (Moon et al., 2015), bebidas com corantes ou ciclagem térmica com substâncias (Ren et al., 2012; Vouvoudi; Sideridou, 2013; Jusoh et al., 2016;).

A susceptibilidade ao manchamento de materiais restauradores estéticos é influenciada por vários componentes. Três tipos de manchamento são geralmente relatados: (1) manchamento externo devido ao acúmulo de manchas apenas na superfície (mancha extrínseca) ou seja facilmente removido pela própria higienização do paciente, (2) variações de cor superficial ou subsuperficial consistindo em degradação superficial ou penetração leve de corantes dentro da camada superficial das resinas, sendo removida por um polimento e (3) a descoloração corporal ou intrínseca devido a reações físico-químicas na camada mais profunda do material, ou seja ocorre a incorporação da coloração no corpo da restauração, não havendo a sua remoção por meio de higienização ou polimento, sendo necessária a substituição da restauração (Ren et al., 2012).

As resinas compostas possuem uma vasta indicação dentro da odontologia restauradora, maiores estudos são necessários para formulação de novos compósitos que possuam melhor estabilidade frente ao ambiente dinâmico da cavidade oral, diminuindo assim, a necessidade de inúmeras substituições de restaurações.

2.2 Giomers

Recentemente um novo sistema restaurador tem sido introduzido nas restaurações adesivas diretas, os *giomers*, estes se apresentam como um sistema restaurador com algumas características inerentes aos cimentos de ionômero de vidro, como a liberação de flúor e a capacidade de se recarregar com íons flúor, além de algumas propriedades das resinas compostas, como a estética, facilidade de polimento e biocompatibilidade com os tecidos da cavidade oral (Naoum et al., 2011; Ma et al., 2012; Arami et al., 2017).

Esses sistemas restauradores vem sendo utilizados em diversas aplicações na odontologia restauradora, materiais utilizados para reconstrução de esmalte e dentina, bem como para reprodução dos tecidos gengivais, entre outras formulações como adesivos e selantes.

Os *giomers* são materiais restauradores que apresentam partículas de carga de ionômero de vidro (S-PRG) pré-reagido dentro de uma matriz orgânica. As partículas S-PRG são formadas por uma reação ácido-base entre partículas de vidro contendo flúor (vidro de flúor-boro-alumino-silicato) e ácido poliacrílico, na presença de água, antes da sua integração no sistema restaurador (Naoum et al., 2011; Ma et al., 2012; Arami et al., 2017).

O material é composto por uma matriz orgânica formada por BISGMA, UDMA e TEGDMA, a parte inorgânica é composta por carga de partículas de vidro, chamados de S-PRG (carga de vidro pré-reagidos) e contém ainda nanopartículas (10-20nm), além de partículas maiores de até 4 µm, o que possibilita a incorporação de maior teor de carga de 68,6% e 83,3% em peso no material (Ma et al., 2012).

As partículas de carga S-PRG exibem uma estrutura de três camadas. O núcleo de vidro é envolvido por um hidrogel de ionômero de vidro estável, e este hidrogel é então envolvido pela “fase de reforma”, que fornece proteção estrutural para o hidrogel (Naoum et al., 2011). Um mecanismo de troca de ligações dentro do hidrogel pré-reagido confere a carga S-PRG a capacidade de liberação e recarregamento de fluoretos. Além da liberação do fluoreto, a carga S-PRG libera também múltiplos íons, como Al^{3+} , B^{-} e Sr^{2+} , que podem ter eficácia na remineralização da estrutura dental (Fujimoto et al., 2010; Naoum et al., 2011).

A presença de tais partículas na composição dos *giomers*, traz diversas vantagens no que diz respeito à proteção da estrutura dental contra a desmineralização e adesão bacteriana (Saku et al., 2010; Yoneda et al., 2012), quando comparado às resinas compostas.

Fujimoto et al., (2010) constatou em seu estudo que existe a liberação de íons Al, B, F, Na, Si e Sr pelos *giomers*, e estes tiveram o efeito de modulação em condições ácidas, tornando o pH do meio mais alcalino. Essa característica torna o material hábil à remineralizar a estrutura dental, bem como protegê-la em condições ácidas produzidas pelos microorganismos cariogênicos presentes na cavidade oral (Ma et al., 2012).

Estudos (Saku et al., 2010; Yoneda et al., 2012; Hotta et al., 2014) comprovam que o sistema restaurador possui ação na inibição da atividade de bactérias cariogênicas, tais

como, *S. mutans*, bem como inibem a formação e adesão de placa bacteriana na superfície do material. Isto se deve à duas possibilidades, a formação de uma película salivar que inibe o crescimento do *S. Mutans* pela presença dos íons como B e Al na película, e também pela liberação de íons metálicos e fluoretos que podem influenciar na vitalidade das bactérias (Hotta et al., 2014).

Em estudos que avaliam a rugosidade dos *giomers*, frente à armazenamento em soluções com diferentes pHs, demonstram que seus componentes como a partícula S-PRG e matriz orgânica formada por BIS-GMA, TEGDMA e UDMA são degradados quando imersos em ácido cítrico ou etanol (Kooi et al., 2012).

Na avaliação da estabilidade de cor deste sistema restaurador, Tian et al. (2012) fez a armazenagem do *giomer* e outros materiais em água destilada, coca-cola®, café e vinho tinto, e constatou que o café e a coca-cola® causaram maior mudança de cor no *giomer*.

Em suma, os *giomers* apresentam-se como uma opção de materiais restaurador com diversas propriedades importantes para a manutenção de sua longevidade na cavidade oral, todavia com os resultados controversos dos estudos citados acima, mais estudos devem ser feitos no intuito de avaliar o *giomer* frente à diversos outros desafios aos quais será submetido na cavidade oral.

2.3 Erosão

A erosão dentária é a perda de estrutura dental por ação de ácidos de origem não microbiana, esta acomete as estruturas dentais por meio de um amolecimento inicial do esmalte, sendo um processo progressivo que afeta a princípio os cristais de hidroxiapatita, e posteriormente acarretando na exposição da dentina ao meio bucal (Lussi et al., 2011).

Com o passar dos anos, a maior expectativa de vida e maior acesso a tratamento odontológico, fazem com que as pessoas envelheçam com maior número de dentes presentes na boca, tal fato aumentou significativamente a prevalência e gravidade do desgaste dentário na população mundial. Os hábitos nocivos como a ingestão de alimentos e bebidas ácidas tem demonstrado efeitos prejudiciais sobre a superfície tanto

na estrutura dental (esmalte e dentina) como nos compósitos restauradores, influenciando nas propriedades mecânicas e superficiais desses materiais (Attin ; Wegehaupt , 2014).

Os ácidos responsáveis pela dissolução da estrutura dental podem ser provenientes de fontes extrínsecas ou intrínsecas. O fator extrínseco mais significativo é a ingestão de bebidas e alimentos ácidos, contendo por exemplo o ácido cítrico, muito utilizado como conservante de diversos alimentos (Yu et al., 2009; Tantanuch et al., 2016).

Fatores intrínsecos mais comumente responsáveis pela erosão dental são os problemas gastrointestinais e distúrbios alimentares, onde a presença de ácidos provenientes do estômago, como o ácido clorídrico, quando em contato em maior frequência com a estrutura dental ocasionam a dissolução do esmalte e com a sua progressão podem também acometer a dentina (Lussi et al., 2011).

Contudo, é sabido que a presença dos ácidos na cavidade oral afetam não só as estruturas dentais, como os materiais restauradores (Badra et al., 2005; Attin et al., 2014).

As resinas compostas em contato com o ambiente oral degradam por serem afetadas por substâncias químicas que irão atuar ocasionando a hidrólise ácida dos monômeros resinosos presentes nos materiais restauradores, como o BIS-GMA, BIS-EMA, UDMA e TEGDMA (Münchow et al., 2014; Moon et al., 2015). Essas substâncias irão atuar aumentando a rugosidade superficial pelo amolecimento da superfície, lixiviação dos monômeros e pelo deslocamento das partículas de carga, por conta da degradação do agente de união, o silano (Badra et al., 2005; Yu et al., 2009; Honório et al., 2008; Briso et al., 2011; Rinastiti et al., 2011; Sviero et al., 2014).

A rugosidade resultante da degradação pelos ácidos pode favorecer o acúmulo de biofilme na superfície rugosa, inflamação gengival se próximo ao tecido gengival, a predisposição à cárie secundária se houver a formação de gaps na interface resina/dente, bem como, o manchamento do material pela deposição de pigmentos ou descoloração da resina (Zhang et al., 2016).

Estudos com o sistema restaurador com a tecnologia S-PRG, os *giomers*, também demonstram uma degradação pelo contato com as substâncias ácidas. Isso pode ser atribuído à maior susceptibilidade das partículas de carga de vidro fluoroaminosilicato, e também a degradação de sua matriz orgânica e lixiviação dos monômeros que a compõem (Badra et al., 2009; Kooi et al., 2012).

A utilização de materiais restauradores em paciente com suspeita de erosão dental pela grande ingestão de bebidas ou alimentos ácidos, ou até por problemas de saúde que podem acometer os dentes, deve ser bem avaliada e tratada antes do procedimento restaurador, no intuito de diminuir a agressão que o material irá ser submetido ao ambiente ácido.

2.4 Ciclagem térmica

A termociclagem é um protocolo utilizado para simular as diferentes mudanças de temperatura que a cavidade oral é submetida, e promover o envelhecimento de materiais odontológicos, para tanto, utilizam-se ciclos de banhos em reservatórios com água em temperatura quente e fria (Amaral et al., 2007; El-Araby; Talic, 2007; Özel Bektas et al., 2012).

Ainda hoje, é um processo muito utilizado para o envelhecimento dos materiais simulando a sua longevidade clínica (Morresi et al., 2014), o que difere entre os protocolos utilizados, é o número de ciclos, a temperatura, e o tempo de imersão nos banhos (Amaral et al., 2007).

Em um estudo in vivo, sensores térmicos foram utilizados nas faces interproximais dos dentes para avaliar as mudanças de temperatura, e puderam perceber que as temperaturas de 5° e 55° poderiam ser temperaturas suportáveis para os estudos, sendo estas as mais utilizadas até hoje como temperatura padrão (Morresi et al., 2014).

Gale e Darvell 1999, avaliaram diversos estudos com ciclagem térmica e puderam concluir que 10.000 ciclos equivalem a 1 ano de envelhecimento dos materiais (Xie et al., 2010; Özel Bektas et al., 2012; Morresi et al., 2014).

Dentro da cavidade oral a mudança de temperatura é muito variável, a ingestão de alguns alimentos e bebidas podem causar choques térmicos no ambiente oral, ocasionar a liberação de monômeros em restaurações com resina composta ou até causar a falha na ligação entre as partículas e a matriz orgânica (Borba et al., 2009) bem como gerar um estresse por conta da contração e expansão térmica do material (De Munck et al., 2005).

Tais alterações podem tornar as restaurações mais susceptíveis à manchas e aumento de sua rugosidade superficial (Rinastiti et al., 2011; Ren et al., 2012;

Tabatabaei et al., 2013; Tuncer et al., 2013). Logo se torna um protocolo de envelhecimento de suma importância para prever a durabilidade dos materiais restaurados num ambiente dinâmico que é a cavidade oral (Hahnel et al., 2010).

Estudo de Ling et al. (2011) que avaliou sete materiais restauradores, constatou que todos apresentam uma diminuição de suas propriedades mecânicas frente à termociclagem, o nível de degradação será dependente da composição do material onde um material com maior número de partículas de carga apresentará melhor dureza e resistência flexural.

Outros autores (Ren et al., 2012; Tuncer et al., 2013) utilizam outra forma de ciclagem térmica, com o uso de líquidos, e substâncias em diferentes temperaturas, para avaliar não só as propriedades mecânicas como a rugosidade e dureza como o grau de manchamento do material.

A ciclagem térmica é um protocolo de grande relevância quando o interesse é avaliar o comportamento dos materiais restauradores frente às mudanças de temperatura no meio bucal, contudo uma maior padronização de seus protocolos é necessária para melhor simulação da fisiologia da cavidade oral.

2.5 Adesão de biofilme

A placa dentária ou biofilme tem sido definida como uma comunidade diversa formada de microorganismos, incorporado por uma matriz polimérica extracelular de origem bacteriana. A sua formação é uma das principais causas de doenças dentárias comuns que envolvem a adesão microbiana aos tecidos duros e moles dentais, bem como, a sua influência na degradação dos materiais restauradores (Cazzaniga et al., 2015; Nedeljkovic et al., 2017; Lin, 2017).

O processo de formação é complexo e inicia-se pelo desenvolvimento da película salivar e adsorção da película na superfície dental ou na superfície do material restaurador, progredindo para o transporte passivo de bactérias para a superfície da película, seguido pela adesão irreversível influenciada pela propriedade adesiva das bactérias ou pelas características da superfície aderida e por fim, ocorre multiplicação destes organismos (Saku et al., 2010; Cazzaniga et al., 2015; Nedeljkovic et al., 2016).

Características inerentes aos materiais restauradores também tem influência na deposição do biofilme e na consequente degradação do material (Wang et al., 2014). A rugosidade, topografia, conteúdo de carga, hidrofobicidade e composição dos monômeros metacrilatos (Beyth et al., 2007; Beyth et al., 2008; Zhang et al., 2016) permitem a adesão das proteínas salivares e a colonização das bactérias cariogênicas, como o *S. Mutans* (Nedejkovic et al., 2017). A presença desse biofilme cariogênico nos materiais restauradores aumentam ainda mais a rugosidade e predispõem a estrutura dental ao desenvolvimento de cárie secundária, ou formação de novas lesões de cárie na interface dente-restauração, tornando um ciclo que irá levar à falha das restaurações (Gregson et al., 2012; Zhang et al., 2017).

Outro fator é que a resina composta não possui a capacidade de neutralização de ácidos como o amálgama, logo, não afeta o pH ácido da placa, que é o que degrada a superfície do material. Esse pH desempenha um papel crucial na desmineralização/remineralização e também na progressão de lesões de cárie secundária (Zhang et al., 2016).

O *S. Mutans* contribui para a degradação da matriz orgânica dos compósitos pela atividade das esterases (Kermanshahi et al., 2010; Zhou et al., 2016) e pela produção de ácidos, como o ácido láctico que irá promover um ambiente com pH baixo, tornando susceptível à deterioração do material (Beyth et al., 2008; Bourbia et al., 2013; Zhang et al., 2016).

Em estudos (Saku et al., 2010; Yoneda et al., 2012; Hotta et al., 2014) para avaliar a deposição de biofilme nos *giomers*, puderam concluir que a partícula de vidro pré-reagido S-PRG consegue inibir a atividade e a aderência do *S. Mutans* na superfície do sistema restaurador por meio da liberação de íons como o boro, alumínio, estrôncio e fluoreto.

A suscetibilidade de materiais restauradores à adesão de microrganismos é considerada de extrema importância para a longevidade do tratamento na cavidade oral (Beyth et al., 2008; Fúcio et al., 2008; Gregson et al., 2012; Zhang et al., 2017). Logo, um material dentário com melhor desempenho mecânico e com propriedades que possam reduzir a formação de biofilme irá aumentar a durabilidade dos materiais na cavidade oral (Zajdowicz et al., 2018).

3 PROPOSIÇÃO

Este estudo tem o objetivo de comparar 3 sistemas restauradores que reproduzem a coloração dos tecidos gengivais no que se refere à alteração de cor, rugosidade superficial, perda de superfície e quantidade de biofilme depositado frente à desafio erosivo e à ciclagem térmica.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Delineamento experimental

O delineamento experimental foi organizado conforme quadro 4.1 e a divisão dos grupos experimentais nas tabelas 4.1 e 4.2.

Quadro 4.1 - Representação esquemática do delineamento experimental

Unidade experimental	150 Espécimes de resina composta	
Fatores de variação	Material Restaurador	Amaris Gingiva (A) Cor: Nature
		NT Premium (B) Cor: G3
		Beautifil Pink (C) Cor: Dark pink
	Protocolos de envelhecimento	Ciclagem térmica (CT)
		Desafio erosivo (DE)
Variáveis de resposta	<ul style="list-style-type: none"> - Rugosidade por perfilometria - Perda de superfície - Alteração de cor - Deposição de biofilme (n=90) <div style="text-align: right; margin-top: -20px;"> } (n= 60) </div>	

Divisão dos grupos

Tabela 4.1 – Divisão dos grupos experimentais (n=10) para avaliação de cor, rugosidade e perda de superfície

Material restaurador	Protocolos de envelhecimento			
	CT		DE	
	B	Pós-CT	B	Pós-DE
Amaris (A)	G1a	G1b	G2a	G2b
NT Premium (B)	G3a	G3b	G4a	G4b
Beautifil Pink (C)	G5a	G5b	G6a	G6b

Tabela 4.2– Divisão dos grupos experimentais (n=5) para a quantificação de biofilme, após 3 e 24 horas

Material restaurador	3 HORAS			24 HORAS		
	Protocolos de envelhecimento					
	Controle	CT	DE	Controle	CT	DE
Amaris (A)	G1	G2	G3	G10	G11	G12
NT Premium (B)	G4	G5	G6	G13	G14	G15
Beautifil Pink (C)	G7	G8	G9	G16	G17	G18

4.2 Sistemas restauradores e sua composição

Os materiais restauradores que foram utilizados no estudo estão descritos no quadro 4.2, sendo eles: dois compostos nanohíbridos a Amaris® gingiva (VOCO, Germany) e NT Premium (Coltene Whaledent, Altstätten, Switzerland) e o *giomer* Beautifil® II Pink (Shofu Inc., Kyoto, Japan).

Quadro 4.1 - Perfil técnico dos materiais restauradores utilizados neste estudo e instruções de uso

Material	Categoria	Matriz	Tipos e volume (%) de carga	Tamanho (µm/nm)	Instrução de uso Fotopolimerização
Amaris® Gingival (Voco GmbH, Cuxhaven, Germany) Cor: Nature Lote: # 1704141	Composto nano-híbrido	BisGMA, TEGDMA, UDMA	Carga de sílica (silano revestidos) 80%	0,7(µm)	Fotopolimerização durante 40s
NTpremium® (Coltene Whaledent, Altstätten, Switzerland) Cor: G3 Lot # 1603982	Composto nano-híbrido	Bis-EMA, TEGDMA e BisGMA	Nanopartículas de sílica 75%	10-40(nm)	Fotopolimerização por 20s
Beautifil® II Pink (Shofu Inc., Kyoto, Japan) Cor: Dark pink Lot # 061705	Composto nano-híbrido de liberação de flúor (<i>Giomer</i>)	BisGMA, TEGDMA	S-PRG à base de vidro fluoroboro-aluminosilicato Partículas de sílica 83,3%	10 – 20(nm) 0,8 µm (S-PRG)	Fotopolimerização por 40s (luz halógena) ou 20s (luz led)

4.3 Montagem dos espécimes (Avaliação da cor, rugosidade e perda de superfície)

Os 60 espécimes foram montados com a ajuda de uma matriz metálica com centro de teflon no formato quadrado com as seguintes dimensões (5mm X 5mm X

3mm) (Figura 4.3).

Sobre uma placa de vidro polida foi colocada uma matriz de poliéster, e sobre esta última a matriz circundada por uma matriz de alumínio. O sistema restaurador foi inserido em 3 porções dentro da matriz, cada incremento foi fotopolimerizado seguindo as instruções do fabricante (Tabela 4.3). Sobre o último incremento foi colocada nova placa de poliéster e uma segunda placa de vidro polida (1mm de espessura) para padronização da distância de fotopolimerização. Ao final o espécime foi fotopolimerizado em sua face oposta.

A resina composta foi fotoativada com o fotopolimerizador de LED (Valo, Ultradent Product Inc. South Jordan, EUA), modo *standard*, seguindo as instruções dos fabricantes (Quadro 4.2) Os espécimes foram retirados das matrizes para serem polidos.

Figura 4.3 – Matriz metálica com centro em teflon

Todos os espécimes foram polidos com lixas de óxido de alumínio de granulação #800- #1200- #2400, em uma politriz metalográfica (Buehler Ltd, Lake Buff, Illinois, EUA) durante 30s, 30s e 1 minuto respectivamente, em cada um dos lados do espécime, com o objetivo de padronizar a superfície. Após o polimento os espécimes foram lavados numa cuba ultrassônica digital (Shenzhen Codyson Electrical Co., Ltd, CHN) para limpeza e remoção de resíduos das lixas, por 10 minutos.

Todos os espécimes foram armazenados em água deionizada por 24 horas em uma estufa à 37°, antes de serem submetidos aos protocolos de envelhecimento.

Os 10 espécimes de cada sistema restaurador receberam 2 tiras com 2mm de largura de fita adesiva de Cloreto de polivinil não plastificada (UPVC) (Graphic Tape; Chartpak, Leeds, EUA) com 2mm de largura cada, deixando uma janela central de 5mm (altura) e 1 mm (largura) exposta para receber os desafios propostos (Figura 4.4).

Figura 4.4 – Disposição das fitas para a formação de uma janela de referência

A avaliação de cor foi feita nos mesmos espécimes, na superfície oposta à disposta com fita adesiva, já que nestas foram feitas a avaliação de rugosidade e perda de superfície utilizando a janela de referência.

4.4 Leitura inicial

4.4.1 Rugosidade inicial

A análise perfilométrica inicial foi realizada em um perfilômetro ótico (PROSCAN 2100, Scantron, Venture way, Tauton, UK). O sensor do aparelho foi programado para escanear uma área central da amostra de 1mm de comprimento (no eixo X) por 1mm de

largura (eixo Y) no centro da amostra. O aparelho foi ajustado de forma a percorrer 1333 passos, com um tamanho de 0,003 mm, no eixo X e 1 passos de 0,001mm, no eixo Y (Attin et al., 2009).

4.4.2 Perda de superfície

A superfície da área de referência foi analisada com um perfilômetro óptico (Proscan 2100, Scantron, Venture Way, Tauton, UK), para a determinação da perda de superfície. O sensor do aparelho foi programado para escanear uma área de 1 mm de comprimento (no eixo X) por 2 mm de largura (eixo Y), no centro da amostra. Tanto a área exposta aos protocolos de envelhecimento, quanto as superfícies protegidas pelas fitas em ambos os lados fizeram parte da leitura.

O aparelho percorreu um número de 200 passos com tamanho de 0,01mm, no eixo X, e no eixo Y, o tamanho dos passos foi de 0,100 mm em número de 10 passos. Com o uso de um software específico (Proscan Application software version 2.0.17), a profundidade da lesão foi calculada baseando-se na subtração da média da altura da área teste, em relação à média da altura das superfícies de referência (Steiner-Oliveira et al., 2010; Scaramucci et al., 2011).

4.4.3 Avaliação da cor

As medições de cor foram feitas utilizando um espectrofotômetro de luz (Konica Minolta CM3700A, Konica Minolta, Japan), de acordo com os parâmetros do CIELab.

Esta metodologia é baseada em uma análise com um espectrofotômetro com distribuição tridimensional seguindo os padrões pré-definidos L^* , a^* , b^* definidos pela Comissão Internationale de L'Eclairage (CIE, 1976). Onde L^* representa a luminosidade; a^* representa a coordenada vermelho e verde para o qual vermelho tem um valor positivo e verde tem um valor negativo; b^* representa a coordenada amarelo e azul para

o qual o amarelo tem um valor positivo e o azul tem um valor negativo. Estes valores foram calculados de acordo com a fórmula (Tian et al., 2012)

$$: \Delta E = [(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2]^{1/2}$$

A fonte de iluminação foi fornecida por uma luz com comprimento de onda de 360 nm a 740 nm, padrão iluminante D65, observador padrão de 2° e fundo branco. Foram feitas leituras de cor antes e após os protocolos de envelhecimento, no mesmo espécime, no lado oposto ao utilizado para a leitura da rugosidade e perda de superfície. Foram feitas 3 leituras em cada espécime, e ao final foi feita uma média dos valores de ΔE para cada espécime.

4.5 Protocolos de envelhecimento

Os espécimes foram submetidos à protocolos de envelhecimento: ciclagem térmica e o desafio erosivo.

4.5.1 Ciclagem térmica

A ciclagem térmica foi realizada com um total de 5.000 ciclos, de 5° a 55° graus, durante 30s de imersão em cada banho e com tempo de transferência de 3 segundos (Morresi et al., 2015). Após a ciclagem foram armazenados em água deionizada, para imediata avaliação da rugosidade, perda de superfície e alteração de cor.

4.5.2 Desafio erosivo

Os espécimes foram imersos em solução de ácido cítrico a 0,3%, com pH 2,5 e armazenados em uma estufa à 37°C, durante uma semana (Badra et al., 2005). Ao término do desafio, os espécimes foram lavados por 10 minutos numa cuba ultrassônica

(Shenzhen Codyson Electrical Co., Ltd, CHN) para remover resíduos das soluções químicas.

4.6 Leitura final

Após o término dos protocolos de envelhecimento, todos os espécimes foram submetidos às leituras finais de alteração de cor, rugosidade superficial e perda de superfície, seguindo os mesmos protocolos citados nos itens (4.4.1; 4.4.2; 4.4.3).

4.7 Formação e quantificação de biofilme

4.7.1 Montagem dos espécimes

Noventa espécimes foram montados ($n=5$) com auxílio de uma matriz circunferencial com 5mm de diâmetro e 1mm de espessura.

Sobre uma placa de vidro foi disposta uma matriz de poliéster e sobre esta a matriz plástica (Figura 4.5). O incremento do sistema restaurador foi inserido em uma única porção, e sobre este, foi colocada mais uma matriz de poliéster e uma placa de vidro de 1mm.

Figura 4.5 – Matriz de Teflon (5x1mm)

A utilização da matriz de poliéster e placa de vidro se faz necessário para a eliminação de bolhas, bem como para a padronização da distância de fotopolimerização.

O fotopolimerizador utilizado foi de LED (Valo, Ultradent Product Inc. South Jordan, EUA), modo *standard*, com o tempo de polimerização de acordo com as instruções descritas por cada fabricante (Tabela 4.3)

Todos os espécimes foram polidos com sequência de lixas de óxido de alumínio de granulação #800-1200-2400, em uma politriz metalográfica durante 30s, 30s e 1 minuto, respectivamente. Após o polimento os espécimes foram lavados numa incubadora ultrassônica (Shenzhen Codyson Electrical Co., Ltd, CHN) para limpeza e remoção de resíduos por 10 minutos.

Os espécimes foram divididos em 18 grupos (n=5) conforme tabela 4.2.

Todos os espécimes foram armazenados em água deionizada por 72 horas em uma estufa à 37°, para total liberação dos monômeros resinosos que poderiam influenciar no crescimento do biofilme (Florez et al., 2016).

O desafio erosivo e a ciclagem térmica foram executados como citado (4.5.1 e 4.5.2) para as avaliações de rugosidade, perda de superfície e alteração cor.

4.7.2 Esterilização dos espécimes

Os 60 espécimes, que foram submetidos aos protocolos de envelhecimento, e os 30 espécimes dos grupos controle, foram colados ao fundo de placas de microtitulação de 48 poços, com cola à base de Cianocrilato (SuperBonder®, São Paulo, SP), e posteriormente esterilizados por meio de radiação gama, utilizando uma dose de 20 kGy.

4.7.3 Formação de Biofilme

A metodologia adotada para a quantificação dos biofilmes de *S. mutans* foi baseada em (Waterhouse; Russell, 2006), (Nomura et al., 2009) e (Standar et al., 2010) com algumas modificações. Os ensaios foram realizados em 90 espécimes.

As cepas de *S. mutans* (UA159) foram armazenadas no freezer (-80°), em um meio de congelamento contendo glicerol. As cepas foram cultivadas em Tryptic Soy Agar (TSA, Difco) a 37°C, por 16 horas, em câmara à atmosfera de 5% de CO₂ onde observou-se o crescimento das colônias. Após esse período, as colônias foram raspadas e transferidas para meio líquido Tryptic Soy Broth (TSB, Difco, Leeuwarden, Holanda) adequadas a DO₆₀₀=0,3 verificada em espectrofotômetro com comprimento de onda de 600nm (Biophotometer, Eppendorf, Hamburgo, Alemanha). Os tubos foram incubados novamente em câmara de CO₂ nas mesmas condições descritas anteriormente por três horas para obtenção do caldo inóculo.

Findo o período de incubação, as culturas foram centrifugadas a 5.000Xg durante 5 minutos e o sobrenadante ressuspenso em Biofilm Medium (BM) baseado no manuscrito de (Loo et al., 2000) acrescido de 1% de sacarose, como fonte de carboidratos e padronizadas na DO₆₀₀=0,8 (cerca de 1x10¹⁰ufc/ml). Das suspensões padronizadas, alíquotas de 0,5ml foram depositadas em cada um dos noventa poços contendo os espécimes e levadas para a estufa de CO₂ por três horas.

Findo este tempo, o meio de cultura foi removido de 45 poços para realização da leitura após 3 horas. Em seguida, foi realizado o método indireto de coloração do biofilme com 500µl de safranina a 0,4% durante 15 minutos, em temperatura ambiente. As placas foram lavadas três vezes por imersão em água destilada. Em seguida, as descolorações dos biofilmes foram realizadas com 500µl de etanol a 95% por 15 minutos. Após esse período, três alíquotas de 50µl da solução de etanol de cada poço foram transferidas para placas de 96 poços e verificadas em leitor de Elisa (Microplate Reader Model 680, Biorad, Foster City, California, EUA) na absorbância de 490nm (A₄₉₀). Desse modo, foram obtidas três leituras de cada poço experimental, totalizando quinze leituras para cada grupo.

Após 3 horas de contato com o caldo inóculo, os outros 45 espécimes que estavam na estufa de CO₂, tiveram o caldo inóculo substituído por meio TSB

suplementado por 1% de sacarose, e novamente acondicionado em estufa de CO₂ por mais 21 horas, totalizando 24 horas de contato entre os espécimes e o caldo inóculo / meio suplementado. Todos estes espécimes foram corados com safranina e lidos, conforme descrito anteriormente. Desta forma, foram obtidas as leituras após 24 horas.

4.8 Análise dos resultados

Para a análise dos dados obtidos foi utilizado o software Minitab (Minitab 17, Minitab Inc, Pensilvânia, EUA). Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey ($p < 0,05$) para comparação entre os grupos experimentais.

5 RESULTADOS

Os dados quantitativos obtidos a partir dos ensaios realizados tiveram sua distribuição analisada individualmente. Neste trabalho dois fatores de variação (sistema restaurador e envelhecimento) foram avaliados quanto a alteração de cor, perda de superfície, rugosidade, enquanto para quantificação de biofilme foram analisados três fatores adicionando o tempo de incubação até a leitura (após 3 e 24 horas).

Ao teste de Kolmogorov, os dados apresentaram distribuição normal e homogênea, tendo sido utilizado o teste de Análise de Variância, complementado pelo teste de Tukey para comparação entre os grupos, admitindo-se 5% de nível de significância.

No que se refere a alteração de cor, a ANOVA detectou diferença estatisticamente significativa para o fator sistema restaurador ($p=0,00$) e para a interação sistema restaurador X envelhecimento ($p=0,00$). Não houve diferença estatisticamente significativa para o fator envelhecimento ($p=0,767$). A maior variação de cor foi observada no material C quando submetido ao desafio erosivo ($16,75\pm 3,25$). Os materiais A ($8,241\pm 1,291$), B ($7,690\pm 1,879$) e C ($7,998\pm 1,776$) quando submetidos a ciclagem térmica não apresentaram diferença estatisticamente significativa quando comparados entre si. As menores alterações de cor foram observadas nos materiais A ($3,511\pm 1,777$) e B ($3,190\pm 1,956$), quando submetidos ao desafio erosivo, sem diferença entre eles quando comparados entre si (Tabela 5.1).

A ANOVA não detectou diferença estatisticamente significativa para os fatores sistema restaurador ($p=0,702$), envelhecimento ($p=0,209$) e para a interação sistema restaurador X envelhecimento ($p=0,708$) em relação a perda de superfície.

Em relação à rugosidade, a ANOVA detectou diferença estatisticamente significativa para o fator envelhecimento ($p=0,00$), havendo maior rugosidade para os espécimes submetidos à ciclagem térmica do que os submetidos ao desafio erosivo. Não houve diferença estatisticamente significativa para os fatores sistema restaurador ($p=0,112$) e para a interação entre os fatores sistema restaurador X envelhecimento ($p=0,131$).

Tabela 5.1 – Resultados (média $\pm$ desvio padrão) dos ensaios de variação de cor (ΔE), perda de superfície (μm) e rugosidade (R_a)

Sistema Restaurador	Envelhecimento	Variação de cor (ΔE)	Perda de superfície (μm)	Rugosidade (R_a)
A	Desafio Erosivo	3,511 $\pm$ 1,777 ^C	0,1931 $\pm$ 0,1563 ^a	0,9973 $\pm$ 0,0785 ^B
	Ciclagem	8,241 $\pm$ 1,291 ^B	0,1818 $\pm$ 0,1393 ^a	1,2022 $\pm$ 0,1841 ^a
	Térmica			
B	Desafio Erosivo	3,190 $\pm$ 1,956 ^C	0,2010 $\pm$ 0,1032 ^a	1,0324 $\pm$ 0,0844 ^B
	Ciclagem	7,690 $\pm$ 1,879 ^B	0,1622 $\pm$ 0,1166 ^a	1,1685 $\pm$ 0,1563 ^a
	Térmica			
C	Desafio Erosivo	16,75 $\pm$ 3,25 ^A	0,2552 $\pm$ 0,1494 ^a	1,1504 $\pm$ 0,0522 ^B
	Ciclagem	7,998 $\pm$ 1,776 ^B	0,1743 $\pm$ 0,1241 ^a	1,1954 $\pm$ 0,1447 ^a
	Térmica			

Letras ou símbolos distintos na mesma coluna, indicam diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p < 0,05$).

A quantificação de biofilme sobre os sistemas restauradores envelhecidos ou não foi avaliada após 3 e 24 horas. Análises de variância foram realizadas de forma distinta para detectar a quantidade de biofilme depositado após 3 horas e 24 horas.

Após 3 horas de crescimento do *S. mutans*, ANOVA detectou diferença estatisticamente significativa para o fator envelhecimento ($p=0,00$) e para a interação entre os fatores sistema restaurador e envelhecimento ($p=0,00$). O fator sistema restaurador não apresentou diferença estatisticamente significativa ($p=0,276$). Os grupos com a menor quantidade de biofilme depositado após 3 horas foram o material C controle e o material B + DE, sem diferença estatisticamente significativa entre eles. Por outro lado, os espécimes que tiveram maior deposição de biofilme foram os materiais A e C submetidos ao desafio erosivo, sem diferença estatisticamente significativa entre eles. Independente do material utilizado, os espécimes ciclados termicamente demonstraram deposição intermediária de biofilme, sem diferença estatisticamente entre eles. Além disso, também com esta quantidade de biofilme depositado intermediária estão os grupos controle dos materiais A e B (Tabela 5.2).

Ao avaliar a quantidades de biofilme depositado após 24 horas, ANOVA detectou diferença estatisticamente significativa para o fator envelhecimento ($p=0,00$) e para a interação entre os fatores sistema restaurador e envelhecimento ($p=0,003$). O fator sistema restaurador não apresentou diferença estatisticamente significativa ($p=0,632$). O grupo com a menor deposição de biofilme foi o do material B submetido a CT. Por outro lado, os espécimes com maior deposição de biofilme foram os dos sistemas restauradores B e C submetidos a DE, sem diferença estatisticamente significativa entre eles. Os espécimes com quantidades intermediárias de biofilme foram: os controles do sistema restaurador A, B e C; os submetidos a CT dos sistemas restauradores A e C; o erodido do sistema restaurador A, sem diferença estatisticamente entre eles.

Tabela 5.2 – Resultados (média $\pm$ desvio padrão) dos ensaios de quantificação de biofilme após 3 e 24 horas

Sistema Restaurador	Envelhecimento	Quantidade de biofilme formado em 3 horas (ufc/ml)	Quantidade de biofilme formado em 24 horas (ufc/ml)
A	Controle	0,114 $\pm$ 0,006 ^{abc}	0,215 $\pm$ 0,058 ^{BC}
	Desafio Erosivo	0,130 $\pm$ 0,006 ^a	0,260 $\pm$ 0,035 ^{ABC}
	Ciclagem	0,111 $\pm$ 0,018 ^{abc}	0,278 $\pm$ 0,074 ^{AB}
	Térmica		
B	Controle	0,108 $\pm$ 0,020 ^{bc}	0,212 $\pm$ 0,045 ^{BC}
	Desafio Erosivo	0,104 $\pm$ 0,022 ^c	0,310 $\pm$ 0,035 ^A
	Ciclagem	0,125 $\pm$ 0,021 ^{ab}	0,204 $\pm$ 0,074 ^C
	Térmica		
C	Controle	0,096 $\pm$ 0,011 ^c	0,213 $\pm$ 0,043 ^{BC}
	Desafio Erosivo	0,130 $\pm$ 0,025 ^a	0,300 $\pm$ 0,069 ^A
	Ciclagem	0,116 $\pm$ 0,014 ^{abc}	0,249 $\pm$ 0,041 ^{ABC}
	Térmica		

Letras distintas na mesma coluna, indicam diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p<0,05$).

6 DISCUSSÃO

Os sistemas restauradores são amplamente utilizados na prática clínica, com vantagens de possuir boa adesão e reprodutibilidade dos tecidos dentais, bem como, biocompatibilidade com os tecidos orais. Contudo, a sua durabilidade em meio bucal dinâmico ainda hoje é um desafio. Nesse estudo, o desafio erosivo e a ciclagem térmica foram propostos para avaliar o comportamento dos sistemas restauradores frente a processos de degradação por produtos químicos e a influência da temperatura aos quais são submetidos na cavidade oral.

Os resultados para a análise da rugosidade (Ra), demonstraram que a ciclagem térmica teve maior influência sobre todos os materiais restauradores testados, do que o desafio erosivo. Atribui-se este resultado a uma combinação da degradação hidrolítica e térmica, as quais os materiais foram expostos durante este desafio (Tuncer et al., 2013). No que se refere às resinas compostas testadas, autores (Ling et al., 2011; Tuncer et al., 2013) explicam a ação da ciclagem térmica pela presença do monômero TEGDMA, que pela afinidade com a água, a absorve, ocasionando amolecimento e hidrólise da matriz orgânica, que leva a ruptura da crítica interface entre a matriz e as partículas de carga. Adicionalmente, devido aos diferentes coeficientes de dilatação térmica da matriz orgânica e da carga, ocorre o deslocamento das partículas (O'Donnell et al., 2009; Márcia et al., 2009; Yilmaz et al., 2016) e consequentemente, o aumento da rugosidade superficial.

Já os *giomers*, por apresentarem em sua composição as partículas de S-PRG, podem apresentar um comportamento diferente. As partículas são produzidas a partir de uma reação ácido-base entre o vidro de fluoroaluminossilicato com o ácido poliacrílico e o ionômero resultante é liofilizado, moído em esferas e então silanizado para ser incorporado na matriz orgânica. Logo, em termos de absorção de água e expansão higroscópica, que são desvantagens inerentes aos cimentos de ionômeros de vidro, estarão presentes nos *giomers*, o que explicaria o aumento da sua rugosidade após a ciclagem térmica (Minami et al., 2007).

Neste trabalho, o desafio erosivo não acarretou aumento da rugosidade dos materiais testados, diferindo dos trabalhos de outros autores (Badra et al., 2009; Briso et al., 2011; Hamouda, 2011; Münchow et al., 2014). A literatura explica a degradação por ácido da mesma forma que por desafio térmico.

Todos os materiais apresentaram alteração cromática após desafio erosivo (ΔE A=3,51; ΔE B=3,19 e ΔE C=16,75) e após ciclagem térmica (ΔE A=8,24; ΔE B=7,69 e ΔE C=7,99). Autores (Tian et al., 2012; Moon et al., 2015) afirmam que alterações de $\Delta E > 3,3$ são visíveis à olho nu. Assim, dentre os materiais testados, apenas o material B não teve alteração visível a olho nu. Contudo, estatisticamente o material A não é diferente do material B, após desafio erosivo.

Destaca-se a grande alteração de cor que ocorreu com o material C, explica-se este achado pelo fato do *giomer* (C) apresentar maior susceptibilidade das partículas de vidro de fluoroaminosilicato à ação do ácido cítrico (Kooi et al., 2012), que irá interferir na ligação dessa partícula com a matriz orgânica, lixiviando os monômeros da matriz, com consequente destaque das partículas de carga. Adicionalmente, o maior tamanho da partícula S-PRG (0,08 μ m), e sua presença na superfície do material após a degradação da matriz, pode ter sido responsável por alterar o ângulo de refletância da superfície (Arikawa et al., 2007; Ghinea et al., 2011) acarretando na alteração de cor observada.

Este fato é explicado pela diferença na incidência e reflexão da luz que afetará a superfície dos materiais, portanto, se uma superfície for regular e lisa, haverá reflexão regular da luz. No entanto, se a superfície apresentar rugosidade, a reflexão da luz ocorrerá de maneira difusa, apresentando uma mudança de cor que pode ser perceptível a olho nu ou não.

A ciclagem térmica também demonstrou alteração na coloração dos espécimes, sendo todos com valores de $\Delta E > 3,3$, sem diferença estatisticamente significativa entre os 3 materiais. As mudanças de temperatura que ocorrem durante os ciclos, afetam a matriz orgânica dos compósitos e interferem na estabilidade da ligação desta com as partículas de carga (Patel et al., 2004; Bagheri et al., 2005; Tuncer et al., 2013), como citado anteriormente. Tal fenômeno irá levar ao aumento da rugosidade, além da diferença de refletância da superfície (Ghinea et al., 2011).

Segundo Gale e Darwell (1999), 10.000 ciclos térmicos equivalem a 1 ano de variação de temperatura a qual a restauração é submetida na cavidade oral. Neste estudo o efeito da ciclagem térmica se expressou após 5.000 ciclos, o que corresponderia a 6 meses na cavidade oral, indicando fragilidade destes materiais frente a alterações de temperatura (Morressi et al., 2014).

A avaliação da perda de superfície não demonstrou diferença estatisticamente significativa entre os grupos, independente do tipo de envelhecimento realizado e dos materiais testados. Os desafios aos quais os espécimes foram submetidos neste estudo

ocasionaram uma perda de superfície de pequenas proporções, entre 0,1 e 0,2 μm , que são detectáveis por perfilometria. Acredita-se que os mínimos efeitos dos desafios tenham se expressado no aumento de rugosidade, e não em dimensão suficiente para perda de superfície. Não foi localizado trabalho semelhante na literatura recente que tenha avaliado a perda de superfície por perfilometria em espécimes de sistemas restauradores resinosos diretos.

No que se refere à rugosidade superficial e deposição de biofilme, o valor de $R_a > 0,2 \mu\text{m}$ já é crítico para o favorecimento do acúmulo de placa bacteriana (Yuan et al., 2016). Os valores de rugosidade superficial encontrados nos materiais testados neste trabalho, após os protocolos de envelhecimento, são maiores que 0,2 μm , indicando que a superfície dos espécimes é susceptível ao acúmulo de biofilme.

A deposição de maior quantidade de biofilme ocorreu em 3 horas para os materiais A e C. Ao mesmo tempo o material C controle e B após desafio erosivo apresentaram a menor quantidade de biofilme depositado após 3 horas. As demais combinações materiais X protocolo de envelhecimento apresentaram quantidade intermediária de biofilme. Zhang et al. (2016) afirmam que uma maior deposição de biofilme é encontrada em sistemas restauradores, que possuem em sua composição monômeros metacrilatos, permitindo uma maior adesão pela película salivar e microorganismos colonizadores. Neste estudo, o desafio erosivo demonstrou um impacto importante na dissolução da matriz orgânica (Briso et al., 2011; Attin; Wegehaupt, 2014; Münchow et al., 2014) dos materiais A e C, causando o deslocamento das partículas de carga (Vouvoudi; Sederidou, 2013) tornando a superfície mais susceptível à deposição de biofilme (Zhang et al., 2016).

Após 24 horas, os materiais B e C tiveram a maior quantidade de biofilme depositado após o desafio erosivo, enquanto que o material B submetido à ciclagem térmica foi o que apresentou a menor quantidade de biofilme depositado sobre o espécime. As demais combinações entre material X protocolo de envelhecimento apresentaram quantidades intermediárias. A mesma suposição feita acima, no que se refere à quantidade de biofilme depositado, vale no tempo de 24 horas.

Fica claro que o material C é o que mais degrada quando o desafio erosivo é realizado, portanto sendo necessária cautela na sua indicação em pacientes portadores de erosão dental. O diferencial deste material são as partículas de ionômero de vidro pré-reagidas (S-PRG) e é a elas que atribuímos este resultado.

Por outro lado, estudos anteriores utilizando *giomers* (Saku et al., 2010; Hotta et al., 2014; Yuan et al. 2016) demonstram menor deposição de microorganismos e biofilme em sua superfície, quando comparado à outros materiais restauradores testados, sem a utilização de protocolos de envelhecimento prévio, logo, os resultados apresentados neste estudo, demonstram que tal material não se mantém estável ao ser submetido a protocolos de envelhecimento como o erosivo e térmico. Este resultado pode estar relacionado com a presença de partículas de fluoroaminosilicato que possuem função antibacteriana, e com a liberação de íons que promovem a inibição de bactérias (Fujimoto et al., 2010). Neste trabalho, ao contrário do que foi dito acima, as propriedades antibacterianas dos *giomers* não foram suficientes para que ele tivesse menor deposição de biofilme, especialmente nos espécimes que foram submetidos ao desafio erosivo. Provavelmente, a ação do ácido sobre a matriz orgânica foi mais significativa do que a capacidade antibacteriana do composto.

O tipo de tratamento almejado ao se utilizar um sistema restaurador que mimetiza os tecidos gengivais é estético. Ou seja, alterações de formato, de cor de superfície da restauração são indicativos de insucesso. Assim, podemos considerar com base nos experimentos aqui realizados que o *giomer* foi o tipo de material que apresentou maior alteração de cor, aumento da rugosidade e maior deposição de biofilme após os desafios empregados. Levando-nos a sugerir maior acompanhamento clínico das restaurações realizadas com este material, que é relativamente novo no mercado e requer aperfeiçoamento. No comparativo com as resinas compostas nanoparticuladas, estas demonstraram maior estabilidade frente aos desafios realizados.

7 CONCLUSÕES

Com este estudo *in vitro* podemos concluir que:

- Todos os sistemas restauradores demonstraram alteração de cor após os desafios que foram submetidos, sendo o sistema *giomer* o que apresentou maior variação quando submetido ao desafio erosivo.
- A ciclagem térmica tem maior influência no aumento da rugosidade dos sistemas restauradores testados.
- Nenhum sistema restaurador testado apresentou perda de superfície após os protocolos de envelhecimento testados;
- A deposição de biofilme após 3 e 24 horas varia consideravelmente na dependência do sistema restaurador e protocolo de envelhecimento. Uma maior deposição de biofilme foi observada no *giomer*, após o desafio erosivo, em 3 e 24 horas.

REFERÊNCIAS¹

- Adusumilli H, Avula JSS, Kakarla P, Bandi S, Mallela GMK, Vallabhaneni K. Color stability of esthetic restorative materials used in pediatric dentistry: An in vitro. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*. 2016 Jul-Sep;34(3):233-7. doi: 10.4103/0970-4388.186740.
- Anusavise KJ. *Phillips materiais dentários*. 11a ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2005.
- Amaral FLB, Colucci V, Palma-Dibb RG, Corona SAM. Assessment of in vitro methods used to promote adhesive interface degradation: a critical review. *J. J Esthet Restor Dent*. 2007;19(6):340-53-.
- Arami S, Kimyai S, Oskoe PA, Daneshpooy M, Rikhtegaran S, Bahari M, Kahnamoii MA. Reparability of giomer using different mechanical surface treatments. *J Clin Exp Dent*. 2017 Apr 1;9(4):e520-e526. doi: 10.4317/jced.53591.
- Arikawa H, Kanie T, Fujii K, Takahashi H, Ban S. Effect of filler properties in composite resins on light transmittance characteristics and color. *Dent Mater J*. 2007 Jan;26(1): 38.
- Attin T, Becker K, Roos M, Attin R, Paque F. Impact of storage conditions on profilometry of eroded dental hard tissue. *Clin Oral Investig*. 2009;13(4):473-8.
- Attin T, Wegehaupt FJ. Impact of erosive conditions on tooth-colored restorative materials. *Dent Mater* 2014 Jul; 30: 4349.
- Awliya WY, Al-alwani DJ, Gashmer ES, Al-Mandil HB. The effect of commonly used types of coffee on surface microhardness and color stability of resin-based composite restorations. *Saudi Dent J*. 2010 Oct;22(4):177-81.
- Badra VV, Faraoni JJ, Ramos RP, Palma-Dibb RG. Influence of Different Beverages on the Microhardness and Surface Roughness of Resin Composites. *Oper Dent*. 2005 Mar-Apr;30(2):213-9.
- Bagheri R, Burrow MF, Tyas M. Influence of food-simulating solutions and surface finish on susceptibility to staining of aesthetic restorative materials. *J Dent*. 2005 May;33(5):389-98.

¹ De acordo com Estilo Vancouver.

Beyth N, Domb AJ, Weiss EI. An in vitro quantitative antibacterial analysis of amalgam and composite resins. *J Dent*. 2007 Mar;35(3):201-6.

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

Borba M, Della Bona A, Cecchetti D. Flexural strength and hardness of direct and indirect composites. *Braz Oral Res* 2009; 23(1):265-7

Borges MAP, Matos IC, Mendes LC, Gomes AS, Miranda MS. Degradation of polymeric restorative materials subjected to a high caries challenge. *Dent Mater*. 2011 Mar;27(3):244-52.

Bourbia M, Ma D, Cvitkovitch DG, Santerre JP, Finer Y. Cariogenic bacteria degrade dental resin composites and adhesives. *J Dent Res*. 2013 Nov;92(11):989-94.

Briso ALF, Caruzo LP, Guedes APA, Catelan A, dos Santos PH. In Vitro Evaluation of Surface Roughness and Microhardness of Restorative Materials Submitted to Erosive Challenges. *Oper Dent*. 2011 Jul-Aug;36(4):397-402.

Cazzaniga G, Ottobelli M, Ionescu A, Garcia-Godoy F, Brambilla E. Surface properties of resin-based composite materials and biofilm formation: A review of the current literature. *Am J Dent*. 2015 Dec;28(6):311-20.

Chaisomboonphun P, Rodklai A. Surface roughness and erosion of nanohybrid and nanofilled resin composites after immersion in red and white wine. *J Conserv Dent*. 2016 Jan-Feb;19(1):51-5.

Da Silva TM, Sales ALLS, Pucci CR, Borges AB, Torres CRG. The combined effect of food-simulating solutions, brushing and staining on color stability of composite resins. *Acta Biomater Odontol Scand* 2017 Jan 16;3(1):1-7.

de Fucio SB, Puppini-Rontani RM, de Carvalho FG, Mattos-Graner RO, Correr-Sobrinho L, Garcia-Godoy F. Analyses of biofilms accumulated on dental restorative materials. *Am J Dent* 2009;22:131.

De Munck J, Van Landuyt K, Coutinho E, Poitevin A, Peumans M, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Micro-tensile bond strength of adhesives bonded to Class-I cavity-bottom dentin after thermo-cycling. *Dent Mater*. 2005 Nov;21(11):999-1007.

Delaviz Y, Finer Y, Santerre JP. Biodegradation of resin composites and adhesives by oral bacteria and saliva: A rationale for new material designs that consider the clinical environment and treatment challenges. *Dent Mater*. 2014 Jan;30(1):16-32.

Dos Santos PH, Catelan A, Guedes APA, Suzuki TYU, Godas AGL, Briso ALF, Bedran-Russo AK. Effect of thermocycling on roughness of nanofill, microfill and microhybrid composites. *Acta Odontol Scand*. 2015 Apr;73(3):176-81.

El-Araby AM, Talic YF, 2007. The effect of thermocycling on the adhesion of self-etching adhesives on dental enamel and dentin. *J Contemp Dent Pract*. 2007 Feb 1;8(2):17-24.

Ferracane JL. Resin composite - State of the art. *Dent Mater*. 2011 Jan;27(1):29-38. doi: 10.1016/j.dental.2010.10.020.

Florez FLE, Hiers RD, Smarts K, Kreth J. Real-time Assessment of *Streptococcus mutans* Biofilm Metabolism on Resin Composite. *Dent Mater*. 2016 October ; 32(10): 1263.

Fúcio SBP, Carvalho FG, Sobrinho LC, Sinhoreti MAC, Puppim-Rontani RM. The influence of 30-day-old *Streptococcus mutans* biofilm on the surface of esthetic restorative materials—An in vitro study. *J Dent*. 2008 Oct;36(10):833-9.

Fujimoto Y, Iwasa M, Murayama R, Miyazaki M, Nagafuji A, Nakatsuka T. Detection of ions released from S-PRG fillers and their modulation effect. *Dent Mater J*. 2010 Aug;29(4):392-7.

Gale MS, Darvell BW. Thermal cycling procedures for laboratory testing of dental restorations. *J. Dent* 1999; 27: 89–99.

Gonulol N, Ozer S, Sen Tunc. E Water sorption, solubility, and color stability of giomer restoratives. *J Esthet Restor Dent*. 2015 Sep-Oct;27(5):300-6.

Gregson KS, Shih H, Gregory RL. The impact of three strains of oral bacteria on the surface and mechanical properties of a dental resin material. *Clin Oral Investig*. 2012 Aug;16(4):1095-103.

Ghinea R, Ugarte-alvan L, Yebra A, Pecho OE, Paravina RD, Perez MDM. Influence of surface roughness on the color of dental-resin composites. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2011 Jul;12(7):552-62. doi: 10.1631/jzus.B1000374.

Hahnel S, Henrich A, Bürgers R, Handel G, Rosentritt. Investigation of Mechanical Properties of Modern Dental Composites After Artificial Aging for One Year. *Oper Dent*. 2010 Jul-Aug;35(4):412-9.

Hamouda IM. Effects of Various Beverages on Hardness, Roughness, and Solubility of Esthetic Restorative Materials. *J Esthet Restor Dent*. 2011 Oct;23(5):315-22.

Honório HM, Rios D, Francisconi LF, Magalhães AC, Machado MA, Buzalaf MA. Effect of prolonged erosive pH cycling on different restorative materials. *J Oral Rehabil* 2008;35:947- 53.

Hotta M, Morikawa T, Tamura D, Kusakabe S. Adherence of *Streptococcus sanguinis* and *Streptococcus mutans* to saliva-coated S-PRG resin blocks. *Dent Mater J*. 2014;33(2):261-7.

Hotwani K, Thosar N, Baliga S. Comparative *in vitro* assessment of color stability of hybrid esthetic restorative materials against various children's beverages. *J Conserv Dent*. 2014 Jan-Feb; 17(1): 70–74.

Hussein TA, Bakar WZ, Ghani ZA, Mohamad D. The assessment of surface roughness and microleakage of eroded tooth-colored dental restorative materials. *J Conserv Dent*. 2014;17(6):531-35.

Jusoh SNW, Alawi R, Rahman IA, Husein A. Comparison of Hardness and Color Stability between Chemical Cure and Light Cure Composite Resin Used as Restorative Materials. *Int Med J*. 2016 Oct; 23(5): 565-8.

Kaminjo K, Mukai Y, Tominaga T, Iwaya I, Fujino F, Hirata Y, Teranaka T. Fluoride release and recharge characteristics of denture base resins containing surface pre-reacted glass-ionomer filler. *Dent Mater J*. 2009 Mar;28(2):227-33.

Kermanshahi S, Santerre JP, Cvitkovitch DG, Finer Y. Biodegradation of resin-dentin interfaces increases bacterial microleakage. *J Dent Res*. 2010 Sep;89(9):996.

Kooi TJM, Tan QZ, Yap AUJ, Guo W, Tay KJ, Soh MS. Effects of Food-simulating Liquids on Surface Properties of Giomer Restoratives. *Oper Dent*. 2012 Nov-Dec;37(6):665-71.

Leprince JG, Palin WM, Hadis MA, Devaux J, Leloup G. Progress in dimethacrylate-based dental composite technology and curing efficiency. *Dent Mater*. 2013 Feb;29(2):139-56.

Lima FG, Romano AR, Correa MB, Demarco FF. Influence of microleakage, surface roughness and biofilm control on secondary caries formation around composite resin restorations: an in situ evaluation J Appl Oral Sci. 2009 Jan-Feb;17(1):61-5.

Lin NJ. Biofilm over teeth and restorations: What do we need to know? Dent Mater 2017 Jun;33(6):667-80.

Ling J, Cong-rong C, Dong-chun Jin, Min-ho L, Tae-sung B, Cong Z, Xiao-yan Z, Young-chel P, Guang-chun J. Changes in mechanical properties of seven light-cured composite resins after thermal cycling. J South Med Univ. 2011; 31(12):1957-62.

Loo CY, Corliss DA, Ganeshkumar N. Streptococcus gordonii biofilm formation: Identification of genes that code for biofilm phenotypes. J Bacteriol. 2000 Mar; 182(5): 1374-82.

Lussi A, Schlueter N, Rakhmatullina E, Ganss C. Dental erosion- An overview with emphasis on chemical and histopathological aspects. Caries Res 2011; 45 (suppl 1): 2-12 Doi: 10.1159/000325915.

Ma S, Imazato S, Chen JH, Mayanagi G, Takahashi N, Ishimoto T, Nakano T. Effects of a coating resin containing S-PRG filler to prevent demineralization of root surfaces. Dent Mater J. 2012;31(6):909-15.

Márcia B, Álvaro DB, Dileta C. Flexural strength and hardness of direct and indirect composites. Braz Oral Res. 2009. 23 (1): 265-7.

Minami H, Hori S, Kurashige H, Murahara S, Muraguchi K, Minesaki Y, Tanaka T. Effects of Thermal Cycling on Surface Texture of Restorative Composite Materials. Dent Mater J. 2007 May;26(3):316-22.

Moon JD, Seon EM, Son SA, Jung KH, Kwon YH, Park JK. Effect of immersion into solutions at various PH on the color stability of composite resins whit different shades. Restor Dent Endod. 2015 Nov;40(4):270-6.

Morresi AL, D'Amario M, Capogreco M, Gatto R, Marzo G, D'Arcangelo C, Monaco A. Thermal cycling for restorative materials: Does a standardized protocol exist in laboratory testing? A literature review. J Mech Behav Biomed Mater. 2014 Jan;29:295-308.

Morresi AL, D'Amario M, Monaco A, Rengo C, Grassi FR, Capogreco M. Effects of critical thermal cycling on the flexural strength of resin composites. *J Oral Sci.* 2015 Jun;57(2):137-43.

Münchow EA, Ferreira ACA, Machado RMM, Ramos TS, Junior-Rodrigues SA, Zanchi CH. Effect of acidic solutions on the surface degradation of Micro-hybrid composite resin. *Braz Dent J.* 2014 25(4): 321. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-6440201300058>

Naoum S, Ellakwa A, Martin F, Swain. Fluoride release, recharge and mechanical property stability of various fluoride-containing resin composites. *Oper Dent* 2011; Jul-Aug;36(4):422-32.

Nedeljkovic I, De Munck J, Slomka V, Van Meerbeek, Teughels W, Van Landuyt KL. Lack of buffering by composites promotes shift to more cariogenic bacteria. *J Dent Res* 2016; 95(8):875–81.

Nedeljkovic I, De Munck J, Ungureanu AA, Slomka V, Bartic C, Vananroye C, Clasen C, Teughels W, Van Meerbeek B, Van Landuyt KL. Biofilm-induced changes to the composite surface. *J Dent* 2017 Aug;63:36-43.

Nomura R, Nakano K, Taniguchi N, Lapirattanakul J, Nemoto H, Grönroos L et al. Molecular and clinical analyses of the gene encoding the collagen-binding adhesion of *Streptococcus mutans*. *J Med Microbiol.* 2009 Apr; 58 (Pt 4): 469-75 doi: 10.1099/jmm.0.007559-0.

O'Donnell JNR, Schumacher GE, Antonucci JM, Skrtic D. Structure-Composition-Property relationships in polymeric amorphous calcium phosphate-based dental composites. *Materials (Basel).* 2009;2(4):1929-1959.

Özel Bektas Ö, Eren D, Herguner Siso S, Akin GE. Effect of thermocycling on the bond strength of composite resin to bur and laser treated composite resin. *Lasers Med Sci.* 2012 Jul;27(4):723-8. doi: 10.1007/s10103-011-0958-2.

Paryag AA, Rafeek RN, Mankee MS, Lowe J. Exploring the versatility of gingiva-colored composite. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dentistry* 2016;8 63.

Patel SB, Gordan VV, Barrett AA, Shen C. The effect of surface finishing and storage solutions on the color stability of resin- based composites. *JADA* 2004; 135:587-94.

Pendrys DG. Resin- modified glass-ionomer cement (RM-GIC) may provide greater caries preventive effect compared with composite resin, but high-quality studies are need. *J Evid Based Dent Pract.* 2011;11:180.

Randolph LD, Palin WM, Leloup G, Leprince JG. Filler characteristics of modern dental resin composites and their influence on physico-mechanical properties. *Dent Mater.* 2016 Dec;32(12):1586.

Ren YF, Feng L, Serban D, Malmstrom HS. Effects of common beverage colorants on color stability of dental composite resins: The utility of a thermocycling stain challenge model in vitro. *J Dent.* 2012;40 (Suppl 1):e48-56.

Rinastiti M, Özcan M, Siswomihardjo W, Busscher HJ .Effects of surface conditioning on repair bond strengths of non-aged and aged microhybrid, nanohybrid, and nanofilled composite resins. *Clin Oral Investig.* 2011;15:625-33.

Saku S, Kotake H, Scougall-Vilchis, Ohashi S, Hotta M, Horiuchi S, Hamada K, Asaoka K, Tanaka E, Yamamoto K. Antibacterial activity of composite resin with glass-ionomer filler particles. *Dent Mater J.* 2010 Mar;29(2):193-8.

Scaramucci T, Hara AT, Zero DT, Ferreira SS, Aoki IV, Sobral MAP. In vitro evaluation of the erosive potential of orange juice modified by food additives in enamel and dentine. *J Dent.* 2011;39:841-8.

Sideridou ID, Karabela MM. Sorption of water, ethanol or ethanol/water solutions by light-cured dental dimetacrylate resins. *Dent Mater.* 2011 Oct;27(10):1003-10. doi: 10.1016/j.dental.2011.06.007.

Standar K, kreikemeyer b, redanz S, Munter WL, Laue M, Podbielski A. Setup of an in vitro test system for basic studies on biofilm behavior of mixed-species cultures with dental and periodontal pathogens. *PLoS one.* 2010 Oct 1;5 (10).Pii: e13135 doi: 10.1371/journal.pone.0013135

Steiner-Oliveira C, Nobre-dos-Santos M, Zero DT, Eckert G, Hara AT. Effect of a pulsed CO2 laser and fluoride on the prevention of enamel and dentine erosion. *Arch Oral Biol.* 2010;55:127-33.

Sviero NR, Góes ARCG, Bueno TL, Di Hipólito V, Wang L, D'alpino PHP. Micro-sized erosions in a nanofilled composite after repeated acidic beverage exposures: consequences of clusters dislogments. *J Appl Oral Sci.* 2014 Sept- Oct; 22 (5): 373-381.

Tabatabaei MH, Sadrai S, Seyed Hossein Bassir SH, Veisy N, Dehghan S. Effect of Food Stimulated Liquids and Thermocycling on the Monomer Elution from a Nanofilled Composite. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2013;101:61–7.

Tantanuch S, Kukiattrakoon B, Peerasukprasert T, Chanmanee N, Chaisom boonphun P, Rodklai A. Surface roughness and erosion of nanohybrid and nanofilled resin composites after immersion in red and white wine. *J Conserv Dent*. 2016 Jan-Feb;19(1):51-5.

Tian F, Yap AUJ, Eang X, Gao X. Effect of staining solutions on color of pre-reacted glass-ionomer containing composites. *Dent Mater J*. 2012;31(3):384-8.

Tuncer D, Karaman E, Firat E. Does the temperature of beverages affect the surface roughness, hardness, and color stability of a composite resin? *Eur J Dent*. 2013 Apr-Jun; 7(2): 165.

Vouvoudi EC, Sideridou ID. Effect of food/oral-simulating liquids on dynamic mechanical thermal properties of dental nanohybrid light-cured resin composites. *Dent Mater*. 2013 Aug;29(8):842-50.

Wahbi MA, Al Sharief HS, Tayeb H, Bokhari A. Minimally invasive use of coloured composite resin in aesthetic restoration of periodontially involved teeth: Case report. *Saudi Dent J* 2013 Apr;25(2):83-9.

Wang Z, Shen Y, Haapasalo M. Dental materials with antibiofilm properties. *Dent Mater*. 2014 Feb;30(2):e1-16.

Waterhouse JC, Russell RR. Dispensable genes and foreign DNA in *Streptococcus mutans*. *Microbiology*. 2006 Jun;152 (Pt 6):1777-88

Xie C, Han Y, Zhao X-Y, Wang Z-Y, He H-M. Microtensile bond strength of one- and two-step self-etching adhesives on sclerotic dentin: the effects of thermocycling. *Oper Dent*. 2010; 35, 547.

Yilmaz EC, Sadeler R. Effect of thermal cycling and microhardness on roughness of composite restorative materials. *J Res Dent*. 2016;4:93-6.

Yoneda M, Suzuki N, Masuo Y, Fujimoto K, Iha K, Yamada K, Iwamoto T, Hirofuji. Effect of S-PRG eluate on biofilm formation and enzyme activity of oral bacteria. *Int J Dent*. 2012; 2012:814913.

Yu H, Wegehaupt FJ, Wiegand A, Roos M, Attin T, Buchalla W. Erosion and abrasion of tooth-colored restorative materials and human enamel. *J Dent*. 2009 Dec;37(12):913-22.

Yuan C, Wang X, Gao X, Chen F, Liang X, Li D. Effects of surface properties of polymer-based restorative materials on early adhesion of *Streptococcus mutans* in vitro. *J Dent* 2016 Nov;54:33-40.

Zajdowicz S, Song HB, Baranek A, Bowman CN. Evaluation of biofilm formation on novel copper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition (CuAAC)- based resins for dental restoratives. *Dent Mater* 2018 Apr; 34(4):657. doi: 10.1016/j.dental.2018.01.011.

Zalkind M, Hochman N. Alternative method of conservative esthetic treatment for gingival recession. *J Prosthet Dent*. 1997 Jun;77(6):561-3.

Zhang N, Melo MAS, Weir MD, Reynolds MA, Bai Y, Xu HHK. Do dental resin composites accumulate more oral biofilms and plaque than amalgam and glass ionomer materials? *Materials*. 2016 Nov; 9(11): 888.

Zhang N, Zhang K, Melo MAS, Weir MD, Xu DJ, Bai Y, Xu HHK. Effects of Long-Term Water-Aging on Novel Anti-Biofilm and Protein-Repellent Dental Composite. *Int J Mol Sci*. 2017 Jan; 18(1): 186.

Zhou Y, Shimada Y, Matin K, Sadr A, Sumi Y, Tagami J. Assessment of bacterial demineralization around composite restorations using swept-source optical coherence tomography (SS-OCT). *Dent Mater*. 2016 Sep;32(9):1177. doi: 10.1016/j.dental.2016.06.022.