UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU
DISCIPLINA DE ODONTOPEDIATRIA

**Avaliação de dois cimentos de ionômero de vidro comparados a um selante resinoso, utilizados para selamento de fossas e fissuras aplicados em esmalte bovino hígido, sob condições de severo desafio cariogênico-
Estudo in situ**

Vivian de Agostino Biella

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Bauru, da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia, na área de Odontopediatria.

BAURU
2007

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU
DISCIPLINA DE ODONTOPEDIATRIA

Avaliação de dois cimentos de ionômero de
vidro comparados a um selante resinoso,
utilizados para selamento de fossas
e fissuras aplicados em esmalte bovino hígido,
sob condições de severo desafio cariogênico-
Estudo in situ

Vivian de Agostino Biella

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de
Bauru, da Universidade de São Paulo, como parte dos
requisitos para obtenção do título de Mestre em
Odontologia, na área de Odontopediatria.

ORIENTADOR: Prof^a. Dr^a. Salete Moura Bonifácio da Silva

BAURU
2007

Biella, V. A.

B476a Avaliação de dois cimentos de ionômero de vidro comparados a um selante resinoso, utilizados para selamento de fossas e fissuras aplicados em esmalte bovino hígido, sob condições de severo desafio cariogênico - Estudo *in situ*./ Vivian de Agostino Biella – Bauru, 2007, 202p; il.; 30cm.

Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia de Bauru. USP

Orientador: Prof^a. Dr^a. Salete Moura Bonifácio da Silva

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação/tese, por processos fotocopiadores e/ou meios eletrônicos.

Assinatura do autor: _____

Data: ____ / ____ / ____

Projeto de Pesquisa aprovado pelo Comitê de Ética da FOB em 26 de abril de 2006
Nº do processo: 07/2006

Dados Curriculares

Vivian de Agostino Biella

Nascimento	21 de maio de 1978
Naturalidade	Itápolis – SP
Filiação	Carlos Adão Biella Ivani Aparecida de Agostino Biella
1996 – 1999	Curso de Graduação em Odontologia pela Universidade do Sagrado Coração – Bauru / SP.
2000 – 2002	Curso de Especialização em Dentística Restauradora pelo Hospital de Reabilitação de Anomalias Craniofaciais de Bauru – USP.
2002 – 2004	Curso de Especialização em Odontopediatria, pelo Hospital de Reabilitação de Anomalias Craniofaciais de Bauru – USP.
2005 - 2007	Curso de Pós-Graduação em Odontologia, nível de Mestrado, Área de Odontopediatria, pela Faculdade de Odontologia de Bauru - Universidade de São Paulo.
Associações	SBPqO – Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica

“Senhor, ensina-nos:

a orar sem esquecer o trabalho;

a dar sem olhar a quem;

a servir sem perguntar até quando;

a sofrer sem magoar seja quem for;

a progredir sem perder a simplicidade;

a semear o bem sem pensar nos resultados;

a desculpar sem condições;

a marchar para a frente sem contar os obstáculos;

a ver sem malícia;

a escutar sem corromper os assuntos;

a falar sem ferir;

a compreender o próximo sem exigir entendimento;

a respeitar os semelhantes, sem reclamar consideração;

a dar o melhor de nós, além da execução do próprio dever, sem cobrar taxas de reconhecimento.

Senhor, fortalece em nós a paciência para as dificuldades dos outros, assim como precisamos da paciência dos outros para com as nossas dificuldades.

Ajuda-nos para que a ninguém façamos aquilo que não desejamos para nós.

Auxília-nos, sobretudo, a reconhecer que a nossa felicidade mais alta será, invariavelmente, aquela de cumprir-te os desígnios onde e como queiras, hoje, agora e sempre”.

Francisco Cândido Xavier, pelo espírito Emmanuel.

Mensagem extraída do livro “Passos da Vida”

Dedico este trabalho

*A **Deus**, força maior deste universo, que me concedeu o valioso dom da vida, além de uma família maravilhosa que sempre me manteve inserida em um contexto de paz, saúde e amor.*

“Agradeço, Senhor, pela sua compaixão, pela sua graça, pela sua bondade, que estão sempre presentes, sustentando-me nos momentos mais difíceis.”

*Aos meus queridos pais, **Carlos Adão Biella** e **Ivani de Agostino Biella**, que nunca mediram esforços para que eu pudesse crescer e me tornar o que sou hoje. Por todo trabalho e amor dedicados à família, sempre doando, sem esperar nada em troca, amenizando meus sofrimentos, me ensinando a ser ética e responsável. Obrigada por me ajudarem a trilhar os caminhos da vida, garantindo meus estudos e ajudando a realizar meus sonhos. Vocês são anjos que conduzem e iluminam minha vida... Amo muito vocês!!!!*

“Nada neste mundo faz sentido se não tocarmos o coração das pessoas. Se a gente cresce com os golpes duros da vida, também podemos crescer com os toques suaves da alma”.

(autor desconhecido)

*Aos meus irmãos **Carla**, **Ian Leonardo** e **Fernanda**, por todo o apoio e incentivo, não só durante a realização do Mestrado, mas em todos os momentos de minha vida, compartilhando as alegrias, ajudando a aliviar as angústias e sempre acreditando na minha capacidade. Vocês também são responsáveis por mais esta conquista. Obrigada por tudo! Amo vocês!!!!*

*Ao meu eterno amor **José Eduardo**, por já fazer parte da minha vida e da minha história, companheiro de caminhada, sendo sempre um exemplo de garra, luta e determinação, me apoiando em todos os momentos e tornando o amor ainda mais presente e constante em minha vida. Obrigada por sempre me incentivar, oferecendo apoio incondicional em todos os momentos. Obrigada por em mim confiar, me escolhendo para juntos constituirmos uma família. Amo você!!!!*

*Aos meus queridos amigos que gentilmente se disponibilizaram como voluntários para realização deste trabalho: **Flora Freitas Fernandes Távora, Marina Martins Terrin, Tatiana Duarte Murrafej, Marcela Martini Tagliani, Maria Iemma Arantes, Leonardo Tavares Camardella, Heitor Marques Honório, Daniela Rios, Flávia de Moraes Italiani, Ana Paula Camolese Fornetti e Tatiana de Almeida Furlani.** Sem o desprendimento, amizade, boa vontade e responsabilidade de vocês, este trabalho não poderia nunca ser concluído. Serei eternamente grata!!!*

“Tudo o que fizermos agora, será aquilo que colheremos depois.”

Emmanuel

Com amor e carinho agradeço

*Aos meus avós maternos **Onélia Martoni de Agostino e Domingos de Agostino (i.m.)**, pela presença constante em todos os momentos de minha vida, por todo amor, carinho e dedicação que só os avós podem dar e só os netos conseguem sentir. Querida vó Nêia, obrigada pelas orações e pela paz que a Sra. consegue me transmitir quando estou ao seu lado. Querido vô Mingo, é difícil superar a sua ausência, mas tenho a certeza de que o Sr. está me abençoando neste momento e que estaremos sempre unidos pelos nossos corações. Amo vocês!!!*

*Aos meus avós paternos **Josefina Cecílio Biella (i.m.) e Lourenço Biella (i.m.)**, por todo amor, carinho e dedicação em muitos momentos de minha vida. Deus deve ter tido um motivo muito forte para levá-los tão cedo de nossas vidas. Sempre levarei vocês em meus pensamentos e principalmente no meu coração. Amo vocês!!!*

*Aos meus queridos tios **Maria Terezinha** e **Valdemar Furlan**, presenças sempre constantes em minha vida, me incentivando e apoiando em todos os momentos. Obrigada por tudo que sempre fizeram e ainda fazem por mim e que eu possa continuar dividindo com vocês todas as minhas conquistas e realizações. Vocês permanecerão eternamente em meu coração!!!*

*Aos queridos primos **Gustavo**, **Camila** e **Fábio**, por tudo que vivenciamos juntos desde a nossa infância... Cada um de nós está seguindo o seu caminho, mas tenho a certeza de que estaremos sempre unidos na busca de nossos sonhos e ideais. Vocês são para mim como irmãos! Adoro vocês!!!*

*Aos meus queridos sogros **Diva** e **José Eduardo** (i.m.) e aos queridos cunhados **Luis Eduardo** e **Ana Cláudia**, por sempre me acolherem com carinho, me incentivando e apoiando em todas as etapas de minha vida. Vocês sempre serão especiais!!!*

*A toda minha **família**, tios, tias, primos e primas pelos laços que nos unem, pelo amor e convivência carinhosa durante toda a minha vida.*

Meu reconhecimento, admiração e gratidão

*À minha orientadora **Profª. Drª. Salete Moura Bonifácio da Silva**, por toda paciência, dedicação e apoio durante a realização do curso de Mestrado. Seus ensinamentos e experiências foram muito valiosos para o meu crescimento profissional na área de Odontopediatria. Admiro sua capacidade, inteligência, humildade e disponibilidade em ajudar, mesmo que para isso tenha que abdicar de suas obrigações. A sua orientação foi para mim um exemplo de competência, dignidade e principalmente respeito pelo aluno.*

Serei eternamente grata!!!!

Agradecimentos Especiais

*Aos amigos do coração **Cleide** e **Cadu**, por todo apoio e incentivo desde o meu ingresso na Odontopediatria, por todos os ensinamentos transmitidos, por sempre abrirem as portas de sua casa e me oferecerem o ombro amigo. Vocês são para mim exemplos de família, amor, união e principalmente respeito ao próximo. Obrigada Nina e Dudu, por todos os momentos de convivência e descontração. Que esta amizade perdure durante toda nossa vida. Nunca me esquecerei de vocês!!!*

*Aos amigos mais que especiais **Thais** e **Fabício**, por todos os momentos que passamos juntos, tanto na área profissional como pessoal, por todo apoio e incentivo na realização do curso de Mestrado, bem como na busca pelos meus sonhos e ideais. Obrigada por sempre oferecerem o ombro amigo, dividindo as angústias e compartilhando as alegrias. Desejo a vocês muita luz, paz, saúde, amor, sucesso e que possamos manter nossa amizade ao longo de toda nossa vida. Obrigada por tudo. Adoro vocês!!!*

*À querida amiga **Paulinha**, pela amizade e por todos os momentos que juntas compartilhamos. Admiro sua garra e competência. Desejo que Deus sempre ilumine sua vida e sua linda família (**Anderson e Leonardo**). Adoro vocês!!!*

*Aos queridos professores dos cursos de especialização em **Dentística Restauradora** e **Odontopediatria** do Hospital de Reabilitação de Anomalias Craniofaciais – USP/Bauru (**Centrinho**): **Laerte, Lílían, Aparício, Maria Cecília, Cleide, Marcinha, Beatriz e Lucimara**. Obrigada por todos os ensinamentos transmitidos, pelo carinho, respeito e amizade ao longo de todos esses anos de convivência. Serei eternamente grata!!!*

*Às queridas amigas do curso de graduação **Ana Cláudia Giovannetti, Camila Napolitano e Karina Freitas**, por todo carinho e amizade que resiste à distância e ao tempo. Nós aprendemos juntas, sofremos juntas, mas também nos divertimos muito! Adoro vocês!!!*

*Às queridas amigas **Juliana e Carlinha**, companheiras desde a graduação e especialização, por todo carinho, amizade e convivência. Vocês são especiais!!!*

*Aos amigos **Henrique, Priscila, Cláudia, Murilo, Karina, Paulinho, Débora Pittoli, Luiz, Vanessa, João, Denise, Marcão, Débora Lima, Gustavo, Fernanda, Renatinho, Larissa, Marcelo, Paulinha e Alessandro**, por todos os momentos de amizade, alegria e descontração. Sem os amigos a vida perde o seu valor. Adoro vocês!!!*

*Aos queridos colegas do Mestrado de Odontopediatria da FOB-USP, **Ana Paula Camolese Fornetti, Dafna Geller Palti e Thiago Cruvinel da Silva**, pela convivência enriquecedora, harmoniosa e divertida ao longo desses dois anos. Vocês são pessoas que ficarão eternamente guardadas em meu coração. Aprendi muito com cada um de vocês e percebi que, independente do lugar onde estamos e do tempo em que ali permanecemos, sempre existirão pessoas capazes de transformar nossas vidas e deixar marcas que ficarão registradas por toda a nossa existência. Passamos por momentos difíceis, mas juntos vencemos todos os obstáculos e estamos chegando ao fim de mais uma conquista. Que Deus abençoe e ilumine suas vidas trazendo muita paz, saúde, amor e sucesso!!! Contem sempre comigo. Adoro vocês!!!*

*Aos professores da Disciplina de Odontopediatria da FOB-USP, **Salete Moura Bonifácio da Silva, Maria Aparecida de Andrade Moreira Machado, José Eduardo de Oliveira Lima, Ruy César Camargo Abdo**, pela boa vontade com que me receberam, pelos ensinamentos transmitidos, bem como pelo carinho e convivência ao longo desses dois anos. Serei eternamente grata!!!*

À Prof^ª. Dr^ª. Maria Aparecida de Andrade Moreira Machado, pela oportunidade de participar do livro que está sendo redigido pela equipe da disciplina de Odontopediatria da FOB-USP. Esta foi, sem dúvida, uma experiência maravilhosa e muito enriquecedora. Esta conquista seria impossível sem a sua ajuda e consideração. Obrigada pela confiança!!!

*Aos queridos colegas do Doutorado de Odontopediatria da FOB-USP **Thais, Marina, Adriano, Heitor, Érika, Marcelo, Vivien, Luis Evaristo, Ana Beatriz e Andréa**, pela amizade, carinho e experiências compartilhadas ao longo desses dois anos. Vocês são exemplos de capacidade, determinação e amor pela Odontopediatria. Felicidades a todos!!!*

*Agradeço principalmente aos amigos **Adriano e Marina**, por terem sido, muitas vezes, meus orientadores, pela paciência e boa vontade em me ensinar a metodologia deste trabalho. De alguma forma vocês guiaram meus passos contribuindo para que este trabalho fosse concluído. Serei eternamente grata!!!*

*Aos funcionários da Disciplina de Odontopediatria **Lia, Lillian, Fátima, Maria Estela, Márcia e Peterson**, pela amizade, carinho e incentivo constantes. Sem a dedicação, disponibilidade, paciência e boa vontade de vocês, eu não poderia chegar a este momento. Obrigada por tudo!!!*

*Aos queridos amigos Prof. Dr. **Arsênio Sales Peres** e Prof^ª. Dr^ª. **Silvia Helena de Carvalho Sales Peres**, da disciplina de Saúde Coletiva da FOB-USP, por tudo o que vocês já fizeram por mim, e ainda fazem, ao longo de tantos anos de convivência. Obrigada por todo o carinho e amizade com que sempre me receberam em todos os momentos. Vocês são pessoas maravilhosas e para mim, exemplos de Mestres. Serei eternamente grata !!!*

*À Prof^ª. Dr^ª. **Marília Afonso Rabelo Buzalaf**, por ter aberto as portas do laboratório de Bioquímica da FOB-USP e ter me recebido de forma tão amiga e carinhosa, sempre pronta a ajudar, oferecendo todas as condições possíveis para que este trabalho pudesse ser*

concluído. Admiro sua inteligência, capacidade e principalmente humildade, características estas que te transformam em uma pessoa linda, por dentro e por fora. A você, minha admiração e respeito!!!

*Aos amigos **Heitor, Dani Rios, Carol Magalhães e Flavinha**, por todo o auxílio durante a realização das etapas experimentais deste trabalho. Obrigada pela paciência, disponibilidade e amizade. Admiro muito vocês!!!*

*Aos funcionários da disciplina de Bioquímica da FOB-USP, **Ovídio, Thelma, Flávia**, e ao **Prof. Rodrigo**, por todo o carinho e atenção com que sempre me receberam, não medindo esforços para que eu pudesse realizar todas as etapas experimentais deste trabalho com serenidade. A vocês, meu carinho e gratidão!!!*

*Ao **Prof. Dr. Carlos Ferreira dos Santos**, pela amizade de longa data, por todo o carinho, atenção e disponibilidade em abrir as portas do laboratório de Farmacologia da FOB-USP para que eu pudesse utilizar alguns equipamentos necessários para a realização deste trabalho. Você é uma pessoa admirável!!!*

*Aos funcionários da disciplina de Farmacologia da FOB-USP, **Thiago e Vera**, por sempre me receberem com gentileza e atenção em todos os momentos que solicitei ajuda. Muito obrigada!!!*

*Ao **Prof. Dr. Jose' Roberto Pereira Lauris**, da disciplina de Saúde Coletiva da FOB-USP, pela realização da análise estatística e por toda atenção e paciência dispensadas em todos os momentos em que eu precisei de ajuda.*

*Ao **Prof. Paulo Francischone** por abrir as portas do laboratório de Materiais Dentários para que eu pudesse iniciar o meu trabalho, sempre com bom humor e gentileza, oferecendo ajuda para que tudo ocorresse da melhor forma possível. Muito obrigada!!!*

*Aos funcionários da disciplina de Materiais Dentários; **Alcides** e **Sandra**, por toda a ajuda, preocupação e boa vontade durante todo o período que precisei de vocês. Muito obrigada!!!*

*Ao querido amigo **Sérgio**, funcionário da disciplina de Ortodontia da FOB-USP, por toda a atenção e auxílio durante a confecção dos dispositivos palatinos utilizados neste trabalho. Sua alegria é contagiante, obrigada por tudo!!!*

*A todos os **funcionários** da Biblioteca e serviço de documentação da FOB-USP, por toda a ajuda e consideração ao longo desses anos.*

*Aos funcionários da seção de pós-graduação da FOB-USP, **Giane**, **Leticia** e demais, por sempre estarem prontos a ajudar, resolvendo todos os problemas burocráticos de forma tranqüila e competente.*

*Aos funcionários do xerox, representados pelo **Salvador**, por estarem sempre prontos para ajudar nos momentos de correria e dificuldades. Muito obrigada!!!*

*Aos **alunos da graduação** da FOB-USP, por aceitarem minha ajuda durante as clínicas, possibilitando que eu aprimorasse meus conhecimentos e dividisse um pouco da minha experiência.*

*Aos funcionários da segurança e portaria da FOB-USP, representados pelo **Edson**, **Jurandir**, **João Paulo** e **Willian**, por sempre me receberem com um sorriso no rosto e cuidarem da minha segurança nos momentos em que passei noites trabalhando. Sempre me lembrarei de vocês!!!*

*A todos os **pacientes** que confiaram em mim e assim contribuíram para o meu enriquecimento profissional e principalmente pessoal. Que Deus os abençoe!!!*

A todas as pessoas que cruzaram meu caminho e de maneira não menos importante, contribuíram para a conquista de mais esta etapa.

A todos vocês, muito obrigada!!!

Agradecimentos Institucionais

À Faculdade Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo, representada pelo Diretor Prof. Dr. Luis Fernando Pegoraro.

À Comissão de pós-graduação da FOB-USP, representada pela Presidente Prof^ª. Dr^ª. Maria Aparecida de Andrade Moreira Machado.

À instituição de fomento CAPES, pelo apoio financeiro.

“O que você fizer será mais importante do que aquilo que conseguir. E como você se sentir por isso será ainda mais importante do que o que tiver feito”

Jerry Gilles

Sumário

LISTA DE FIGURAS.....	xix
LISTA DE TABELAS.....	xxiii
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	xxvii
RESUMO.....	xxxix
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	09
2.1 Estudos <i>in vivo</i>	11
2.2 Estudos <i>in situ</i>	27
2.3 Estudos <i>in vitro</i>	41
2.4 Trabalhos de revisão.....	66
3. PROPOSIÇÃO.....	79
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	83
4.1 Aspectos Éticos.....	85
4.2 Delineamento experimental.....	85
4.3 Obtenção dos dentes bovinos.....	90
4.4 Obtenção dos blocos de esmalte bovino.....	90
4.5 Planificação e polimento dos blocos de esmalte	91
4.6 Avaliação da microdureza superficial inicial	93
4.7 Distribuição dos blocos entre grupos e voluntários	94
4.8 Montagem dos blocos e selamento das fissuras	96
4.9 Seleção dos voluntários.....	98
4.10 Preparo do dispositivo intrabucal palatino	99
4.11 Procedimentos intrabucais.....	100
4.12 Avaliação da concentração do F no biofilme dentário	102
4.13 Limpeza e secção dos espécimes	105
4.14 Avaliação da microdureza em secção longitudinal do esmalte	105
4.15 Análise estatística.....	106
5. RESULTADOS.....	115
5.1 Quantidade de biofilme dentário coletado e concentração de flúor	117
5.2 Porcentagem de volume mineral (conteúdo mineral) do esmalte	118

6. DISCUSSÃO.....	133
6.1 <i>Discussão da metodologia</i>	136
6.2 <i>Discussão dos resultados</i>	147
6.2.1 Quantidade de biofilme dentário coletado e concentração de flúor	147
6.2.2 Porcentagem de volume mineral	151
7. CONCLUSÕES.....	163
ANEXOS.....	167
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	181
ABSTRACT.....	199

Lista de Figuras

FIGURA 4.1-	Fluxograma do delineamento experimental.....	87
FIGURA 4.2-	a.CIVav Ketac™ Molar Easymix; b.CIVm Vitremer™; c. Selante resinoso Heliaseal Clear®; d.Seringa Cenrtrix utilizada para aplicação do CIVav e CIVm.....	107
FIGURA 4.3-	Secção para separação da coroa e raiz.....	107
FIGURA 4.4-	a. Máquina de corte; b. Elemento dentário posicionado para o corte do bloco.....	107
FIGURA 4.5-	Espécime obtido da região central da face vestibular.....	109
FIGURA 4.6-	Politriz metalográfica.....	109
FIGURA 4.7-	Blocos antes e após a planificação da dentina.....	109
FIGURA 4.8-	Bloco após o polimento do esmalte.....	109
FIGURA 4.9-	Microdurômetro acoplado ao computador.....	109
FIGURA 4.10-	Penetrador diamantado de formato piramidal (Knoop).....	109
FIGURA 4.11-	Indentação delimitada para cálculo da microdureza.....	109
FIGURA 4.12-	Bloco com a superfície do esmalte fixada em fita adesiva para realização do condicionamento ácido e montagem das fissuras artificiais.....	111
FIGURA 4.13-	Dispositivo de alumínio utilizado para fixação das fissuras artificiais.....	111
FIGURA 4.14-	a. Blocos de esmalte posicionados para montagem das fissuras artificiais; b. Blocos fixados com resina composta, compondo a fissura artificial.....	111

FIGURA 4.15-	Fissura artificial circundada pela fita adesiva e fixada em matriz de silicona para realização do selamento.....	111
FIGURA 4.16-	DIP preparado para início da etapa experimental <i>in situ</i> – Adaptado à cavidade bucal do voluntário.....	111
FIGURA 4.17-	Corte da tela plástica com tesoura para remoção do biofilme dentário acumulado.....	113
FIGURA 4.18-	Eletrodo íon específico Orion para análise de flúor.....	113
FIGURA 4.19-	Seccionamento longitudinal da fissura artificial.....	113
FIGURA 4.20-	Esquema demonstrativo da leitura de microdureza em secção longitudinal em esmalte selado (50, 150 e 500µm sob o material), esmalte na borda do material e esmalte não selado (50, 150 e 500µm externamente ao material selador).....	113
FIGURA 5.1-	Médias da porcentagem de volume mineral nas diferentes profundidades (µm) da superfície do esmalte para cada grupo, considerando o esmalte na borda do material	122
FIGURA 5.2-	Médias da porcentagem de volume mineral nas diferentes profundidades (µm) da superfície do esmalte para cada grupo, considerando o esmalte não selado: 50µm	124
FIGURA 5.3-	Médias da porcentagem de volume mineral nas diferentes profundidades (µm) da superfície do esmalte para cada grupo, considerando o esmalte não selado: 500µm	127

FIGURA 5.4-	Médias da porcentagem de volume mineral nas diferentes profundidades (μm) da superfície do esmalte para cada grupo, considerando o esmalte selado: 50μm	129
FIGURA 5.5-	Médias da porcentagem de volume mineral nas diferentes profundidades (μm) da superfície do esmalte para cada grupo, considerando o esmalte selado: 500μm	132

Lista de Tabelas

TABELA 4.1-	Descrição dos grupos em função do material, considerando o acúmulo de biofilme dentário em todas as situações.....	89
TABELA 4.2-	Materiais testados e respectivas especificações.....	89
TABELA 4.3-	Valores (média $\pm$ dp) da microdureza inicial do esmalte (KHN) nos diferentes grupos.....	95
TABELA 4.4-	Valores (média $\pm$ dp) da microdureza inicial do esmalte (KHN) nos diferentes voluntários.....	95
TABELA 4.5-	Valores de Amostra e TISAB II (mL) utilizados para análise da concentração de flúor dos voluntários que apresentaram pouco acúmulo de biofilme dentário.....	104
TABELA 5.1-	Peso úmido total (mg) do biofilme dentário de acordo com o grupo e voluntário.....	117
TABELA 5.2-	Concentrações de flúor (μg / F) no biofilme dentário nos diferentes grupos.....	118
TABELA 5.3-	Porcentagem de volume mineral do esmalte entre diferentes distâncias avaliadas para cada um dos grupos de estudo, na profundidade de 10 μm em relação à superfície do esmalte. Teste de Tukey ($\alpha= 5\%$).....	120
TABELA 5.4-	Porcentagem de volume mineral (média $\pm$ dp) do esmalte na borda do material nos diferentes grupos, de acordo com a profundidade (μm) em relação à superfície do esmalte....	121

TABELA 5.5-	Porcentagem de volume mineral (média $\pm$ dp) do esmalte não selado à distância de 50 μm da borda do material nos diferentes grupos, de acordo com a profundidade (μ m) em relação à superfície do esmalte.....	123
TABELA 5.6-	Porcentagem de volume mineral (média $\pm$ dp) do esmalte não selado à distância de 150 μm da borda do material nos diferentes grupos, de acordo com a profundidade (μ m) em relação à superfície do esmalte.....	125
TABELA 5.7-	Porcentagem de volume mineral (média $\pm$ dp) do esmalte não selado à distância de 500 μm da borda do material nos diferentes grupos, de acordo com a profundidade (μ m) em relação à superfície do esmalte.....	126
TABELA 5.8-	Porcentagem de volume mineral (média $\pm$ dp) do esmalte selado à distância de 50 μm da borda do material nos diferentes grupos, de acordo com a profundidade (μ m) em relação à superfície do esmalte.....	128
TABELA 5.9-	Porcentagem de volume mineral (média $\pm$ dp) do esmalte selado à distância de 150 μm da borda do material nos diferentes grupos, de acordo com a profundidade (μ m) em relação à superfície do esmalte.....	130

TABELA 5.10-	Porcentagem de volume mineral (média $\pm$ dp) do esmalte selado à distância de 500 μm da borda do material nos diferentes grupos, de acordo com a profundidade (μ m) em relação à superfície do esmalte.....	131
--------------	---	-----

Lista de abreviaturas e símbolos

%PDS – porcentagem de perda de dureza superficial

[F] – concentração de flúor

µL – microlitro

ADD – água destilada e deionizada

AmF – fluoreto de amina

ANOVA – Análise de variância

ART ou TRA – tratamento restaurador atraumático

C – controle

Ca – cálcio

$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ – nitrato de cálcio tetra-hidratado

CaCl_2 – cloreto de cálcio

CaF_2 – fluoreto de cálcio

Ceod/s – superfícies ou dentes decíduos cariados, perdidos ou obturados

CIV – cimento de ionômero de vidro

CIVav – cimento de ionômero de vidro convencional de alta viscosidade

CIVc – cimento de ionômero de vidro convencional

CIVm – cimento de ionômero de vidro modificado por resina

cm – centímetro

cm_2 – centímetro quadrado

CMPD – controle mecânico da placa dentária

CPOD/S – superfícies ou dentes permanentes cariados, perdidos ou obturados

Des – desmineralização

DF – dentifrício fluoretado

DIP – dispositivo intrabucal palatino

DP – dentifrício sem flúor

dp – desvio padrão

EM – estreptococos mutans

F – flúor

Fe – ferro

FFA – flúor fosfato acidulado

G – grupo

g – grama

h – horas

HCl – ácido clorídrico

HS-C – Helioclear[®]

HV – GIC – high viscosity glass ionomer cement

KHN – Knoop hardness number (número de dureza Knoop)

kHz – quilo hertz

KM – Ketac Molar[™]

KME – Ketac Molar Easymix[™]

KOH – hidróxido de potássio

M – mol / L

MFP – monoflúorofosfato de sódio

min – minuto

mL – mililitro

mM – mili mol / L

mm – milímetro

mm² – milímetro quadrado

mmol/L – milimol por litro

n – número da amostra

NaCl – cloreto de sódio

NaF – fluoreto de sódio

NaH₂PO₄.2H₂O – fosfato de sódio di-hidratado

NaOH – hidróxido de sódio

P – fósforo

p – nível de significância

pH – potencial hidrogeniônico

P_i – polissacarídeos insolúveis

PI ou Pi – fósforo inorgânico

ppm – parte por milhão

QLF – fluorescência quantitativa induzida por luz

Re – remineralização

rpm – rotações por minuto

s – segundos

SnF – fluoreto estanhoso

SR – selante resinoso

TISAB – tampão de ajuste de força iônica total

VT – VitremerTM

α – nível de significância

μm – micrometro

μg F – micrograma de flúor

Resumo

Resumo

Este estudo *in situ*, desenvolvido em uma fase de 14 dias, teve como objetivo avaliar o efeito de dois cimentos de ionômero de vidro (CIV) comparados a um selante resinoso, utilizados para selamento de fossas e fissuras aplicados em esmalte bovino hígido, com acúmulo de biofilme dentário, por meio da análise do conteúdo de flúor do biofilme dentário e da microdureza em secção longitudinal. Foram utilizados 88 blocos de esmalte (4mm x 4mm) de incisivos bovinos, selecionados por seu valor de microdureza inicial. Os blocos formaram uma fissura artificial em forma de “V” a qual foi selada, para compor os seguintes grupos: GI-CIVav (Ketac™ Molar Easymix); GII-CIV modificado por resina (Vitremer™); GIII-selante resinoso sem flúor (Helioseal® Clear) ou GIV-controle, sem selamento. As fissuras artificiais foram fixadas em um dispositivo intrabucal palatino (DIP), em duas fileiras distintas que foram cobertas por uma tela plástica para favorecer o acúmulo de biofilme dentário. Onze voluntários utilizaram o DIP 24 h/dia; gotejaram 8x/dia, uma solução de sacarose a 20% e, uma solução de dentifrício fluoretado (3ml de água deionizada : 1g de dentifrício fluoretado) sobre todas as fissuras 3x/dia. Após o período experimental, coletou-se o biofilme acumulado para a avaliação do conteúdo de flúor. As fissuras foram seccionadas ao meio para a avaliação da microdureza em secção longitudinal a partir da superfície do esmalte, em 4 profundidades (10, 30, 50, 70 µm). O limite esmalte/material da região oclusal era a posição zero (borda do material) e, a partir deste, realizadas seqüências de impressões a 50, 150 e 500 µm interna e externamente à borda do material. Os dados obtidos foram analisados estatisticamente ($\alpha= 5\%$). O teste de Friedman revelou que a concentração de flúor

no biofilme não foi estatisticamente significante entre os grupos, ($p < 0,07$), com uma tendência de melhores resultados para o CIVav. Quanto ao conteúdo mineral, a ANOVA e o teste de Tukey detectaram significância ($p < 0,05$) para todos os grupos individualmente, na camada mais superficial do esmalte (10 μm). Nesta profundidade, não houve diferença entre os grupos. Essas comparações foram válidas para a maioria das distâncias analisadas.

Palavras-chave: Cimento de ionômero de vidro. Selantes de fossas e fissuras. Esmalte dentário. Remineralização dentária. Desmineralização do dente.

Introdução

1. Introdução

Em função da disseminação de métodos de prevenção, priorizando tratamentos utilizando flúor e educação dos pais ou responsáveis, observa-se hoje mundialmente, um declínio da incidência de cárie dentária^{8, 81}. Estudos epidemiológicos evidenciam este fato, principalmente em crianças e adolescentes, na maioria dos países industrializados. Porém, em muitos países em desenvolvimento, ainda existe um índice muito alto da doença⁹². Este declínio ocorre particularmente nas superfícies lisas, onde a ação do flúor é bastante eficaz, situação esta que se tornou bastante evidente após a introdução do flúor nas águas de abastecimento⁹². Entretanto, a incidência de cáries em superfícies oclusais ainda continua elevada em crianças e adolescentes que apresentam alta atividade da doença^{8, 81}.

As fossas e fissuras são reparos anatômicos localizados na superfície oclusal dos dentes, naturalmente susceptíveis à cárie em função de sua morfologia¹⁰⁵, facilitando a retenção de resíduos alimentares além de constituírem um nicho para a proliferação de bactérias. Outros aspectos a serem considerados são o baixo grau de maturação do esmalte de um dente jovem durante a fase de erupção¹⁴ e a possibilidade de ocorrência de uma má coalescência do mesmo nestas áreas¹⁰³, que também contribuem para a susceptibilidade à cárie. O esmalte que ainda não sofreu “maturação pós-eruptiva” encontra-se mais poroso e com menor resistência à desmineralização²⁷, enquanto que a região de má coalescência apresenta área de dentina exposta, geralmente retentiva pela anatomia original defeituosa. Todos estes inconvenientes, acrescidos da dificuldade de limpeza mecânica pela escovação

presente em crianças e a ação restrita da capacidade tampão da saliva nas regiões mais profundas das fissuras¹⁸, tornam necessário o uso de medidas preventivas adicionais para controle da ocorrência de cáries oclusais.

O acúmulo de biofilme bacteriano é bem maior na superfície oclusal dos molares que estão iniciando o processo de erupção e, persiste até o estabelecimento da oclusão funcional, tornando-se este um período de maior risco para o surgimento de lesões de cárie na região de fossas e fissuras¹⁴.

As pesquisas por materiais dentários com propriedades de liberar fluoretos e assim serem capazes de prevenir o desenvolvimento da cárie há muito tempo têm merecido destaque^{23, 30, 55, 77, 87, 122, 133, 134}. O selamento de fossas e fissuras da superfície oclusal apesar de ser considerado um método consagrado e efetivo de prevenção da cárie dentária^{8, 23, 81}, ainda vem merecendo uma ampla discussão na literatura nacional e internacional.

Diversos estudos clínicos foram desenvolvidos com a finalidade de comprovar a eficácia dos selantes resinosos de fossas e fissuras^{53, 95, 119, 124, 125}. Em 1976, o Conselho de Materiais Dentários, Instrumentos e Equipamentos da ADA¹⁸ ratificou a segurança e eficácia dos selantes resinosos de fossas e fissuras como medida preventiva da cárie, salientando que os mesmos deveriam fazer parte de um amplo programa preventivo, sendo associados a outras medidas complementares¹⁸. No entanto, estudos de revisão sistemática afirmam que, pela escassez de estudos bem delineados, a revisão sugere que há limitada evidência de que selantes resinosos em primeiros molares permanentes têm efeito preventivo¹. A evidência é incompleta para os segundos molares, pré-molares, molares decíduos e também para o uso de cimentos de ionômero de vidro como material selador⁸⁶.

Os selantes resinosos vêm sendo utilizados como grandes aliados aos procedimentos preventivos em relação à cárie dentária, pois promovem uma barreira física que protege a estrutura dentária localizada sob os mesmos^{60, 81, 128}, sendo o seu efeito preventivo diretamente dependente de sua retenção total às fissuras^{86, 120}.

Hicks; Silverstone⁶⁶ (1982) observaram que pode existir um aumento na resistência do esmalte dentário à dissolução ácida após a perda do material selador, a qual foi atribuída à presença de “tags” de resina remanescentes do mesmo. Outro aspecto que demonstra a eficácia dos selantes resinosos seria uma significativa redução nos níveis de *Streptococcus mutans* nas superfícies oclusais de molares permanentes, sendo essa diminuição imediata e mantida por até seis meses da aplicação do selante, reduzindo a disseminação de bactérias para outros nichos de retenção⁸⁴. Porém, Carlsson et al.¹³ (1992) verificaram que a aplicação de selantes resinosos não afetou os níveis de estreptococos mutans na saliva, isso porque as bactérias presentes na cavidade bucal possuem afinidade a materiais resinosos, além das falhas no próprio material, como retenção parcial, fraturas e hidrólise, que acabam por criar novos nichos de retenção para as bactérias.

A aplicação de selantes resinosos tem se mostrado efetiva^{51, 119, 125}, porém, esta técnica é muito sensível e pode ser influenciada por vários fatores: colaboração do paciente; habilidade do profissional; além da contaminação do campo operatório⁶⁷. Esse último aspecto dificulta sua aplicação em crianças e dentes jovens, dependendo do estágio de erupção dentária, onde nem sempre a utilização de isolamento absoluto é possível.

No entanto, considerando o fato de que a retenção do selante não é permanente, este efeito físico pode ser melhorado se o material simultaneamente liberar flúor⁸¹.

Com o desenvolvimento e aperfeiçoamento dos cimentos de ionômero de vidro (CIV), muitos estudos têm proposto a sua utilização como agente de selamento de fossas e fissuras, obtendo efeitos preventivos adicionais advindos da capacidade de liberação^{17, 19, 43, 44, 47, 55} e reincorporação de flúor destes materiais^{7, 19, 42, 43, 44, 46, 47, 98, 137}, podendo diminuir a desmineralização e auxiliando na remineralização do esmalte^{8, 60}, pois são capazes de liberar o flúor posteriormente mesmo em situações de alto desafio cariogênico^{29, 43, 46, 58, 60, 81, 104, 111, 112, 122} em um nível capaz de proporcionar efeito cariostático^{47, 54}.

O uso desse material para o selamento ainda sofre restrições em função de alguns resultados que mostraram uma retenção inferior em relação aos selantes resinosos^{42,87}. Contudo há também resultados positivos obtidos com o CIV modificado por resina, comparado ao selante resinoso, após 4 anos de acompanhamento clínico⁹⁵.

Apesar da fraca retenção inerente ao CIV convencional, estudos mostraram por meio de microscopia eletrônica de varredura, a presença de resíduos do material no interior das fossas e fissuras mesmo após a sua perda ter sido considerada clinicamente. Isto provavelmente atribui ao mesmo, potencial anticariogênico principalmente nas regiões adjacentes ao selamento^{4, 109}.

O selamento de fossas e fissuras com a utilização do cimento de ionômero de vidro convencional foi introduzido por McLean & Wilson⁸⁵ em 1974, mostrando altos índices de retenção do material por períodos de até 2 anos. Outros estudos comprovam que a prevalência de *S. mutans* na saliva diminui de forma significativa após a realização de restaurações com CIV^{41, 77, 82}.

Devido à dificuldade de diagnóstico da cárie oclusal incipiente, à elevada incidência de cárie em molares recém-irrompidos e à dificuldade de controle do

comportamento do paciente odontopediátrico, pode-se indicar o selamento com cimento de ionômero de vidro (CIV)⁷², garantindo desta maneira, a proteção física conferida pelo selamento além da presença de flúor no meio bucal em um período crítico de ocorrência de cárie.

Esta participação do flúor no mecanismo de desmineralização e remineralização de lesões de cárie incipiente do esmalte, interferindo diretamente na sua progressão^{36, 117, 129, 140}, tem estimulado o desenvolvimento e a utilização na Odontopediatria de materiais que possuam flúor na sua composição.

Além dos estudos *in vitro* que simulam condições de alto desafio cariogênico, existem os estudos *in situ*, preconizados por simularem a dinâmica da cavidade bucal sob condições controladas, sem prejuízo aos indivíduos participantes da pesquisa^{40, 148}, também em situações de severo desafio cariogênico^{7, 75, 132, 145}. Estes proporcionam uma situação intermediária entre a situação clínica natural, impossível de ser controlada e a situação laboratorial, rigorosamente controlada^{40, 148}.

Como as lesões de cárie dentária surgem em áreas que apresentam alto desafio cariogênico, como na região de fossas e fissuras, existe a necessidade de utilização de modelos de estudo que tentem mimetizar estas situações, considerando o maior número possível de condições naturais da cavidade bucal, diminuindo o grau de artificialidade^{48, 68, 94}.

Dúvidas existem a respeito do efeito dos diferentes tipos de cimentos ionoméricos na prevenção da cárie de fossas e fissuras. Sendo assim, é pertinente e necessário o desenvolvimento de estudos para avaliar a influência de novos materiais no controle da cárie dentária, em condições que simulam um alto desafio cariogênico. Em vista do exposto, torna-se essencial o conhecimento do comportamento dos vários materiais, sobretudo os que apresentam flúor em sua

composição, que também podem ser utilizados para selamento de fossas e fissuras em Odontopediatria, principalmente em pacientes de alto risco e/ou com alta atividade de cárie.

Revisão

da Literatura

20

2. Revisão da Literatura

Este capítulo de revisão encontra-se dividido em tópicos, separando os estudos analisados em quatro categorias: *in vivo*, *in situ*, *in vitro* e trabalhos de revisão.

2.1 Estudos *in vivo*

BUONOCORE¹², um dos precursores na utilização da técnica do selamento de fossas e fissuras, em 1970, na busca de uma técnica mais simplificada e utilização de um material adesivo melhorado realizou um estudo clínico com 60 pacientes em que utilizou como material um selante modificado de polimerização ativada por meio de luz ultravioleta. Foram selecionados duzentos molares (decíduos e permanentes) e pré-molares considerados hígidos por comprovação clínica e radiográfica. Os dentes homólogos foram utilizados como controle. Previamente a aplicação do selante foi realizado profilaxia, isolamento relativo e condicionamento do esmalte com solução de ácido fosfórico 50%, por 60 segundos. Em função da polimerização pela luz, foi possível dispensar tempo adicional para possibilitar maior penetração do material na superfície das fissuras. Após um período de seis meses, os selantes realizados encontravam-se totalmente retidos e no exame clínico após um ano, observou-se que o material selador encontrava-se presente em 195 dos 200 dentes selados, em excelentes condições. Em quatro dentes o selante foi considerado em boas condições e, em apenas um dente, foi constatada perda parcial do selamento. O autor concluiu que esta técnica, além de

ser simples e de rápida execução, promovia um alto grau de proteção, sendo considerada eficaz juntamente às medidas preventivas adicionais.

McLEAN; WILSON⁸⁵, em 1974, avaliaram por meio de um estudo clínico, a efetividade do CIV na prevenção de cáries oclusais e se, em longo prazo, a adesão físico-química do material à estrutura dentária obteria êxito clinicamente. Foi utilizado o CIV ASPA I para o selamento de 279 dentes posteriores de pacientes na faixa etária de 9 a 16 anos, que foram selecionados de acordo com o tamanho de suas fissuras (fissuras com tamanho igual ou superior a 100 µm). Após profilaxia e isolamento relativo, foi realizado condicionamento com ácido cítrico a 50%, por 30 segundos. O material foi aplicado nas fissuras e pressionado com o auxílio de um brunidor. Ao final do acabamento e polimento os selantes eram protegidos com verniz até que ocorresse a presa final do material. Após o período de um ano, 250 dentes foram avaliados por meio de exame clínico e radiográfico. O índice de sucesso foi considerado alto em função da integridade da anatomia oclusal e boa adaptação marginal. Foi verificado que 84% dos selantes permaneceram intactos após um ano da realização do procedimento e 78% após dois anos. No primeiro ano houve perda completa de 10% dos selantes, seguido de 4% após dois anos. A incidência de cárie foi pequena limitando-se aos casos em que ocorreu perda total do material selador.

Em 1990, TORPPA-SAARINEN; SEPPÄ¹³³ avaliaram a taxa de retenção de selamentos realizados com CIV (Fuji III) em 93 molares e pré-molares de humanos recém-irrompidos, com a utilização de isolamento relativo. Após um período de quatro meses, 75% dos selamentos estavam totalmente presentes, 22% parcialmente presentes e 3% totalmente perdidos. Nenhum dente apresentou cárie clinicamente. Foram realizadas moldagens dos dentes que apresentavam perda

parcial ou total do selante e os modelos foram analisados em estereomicroscópio ou microscopia eletrônica de varredura. Os resultados revelaram que em muitos casos o material ainda encontrava-se presente no interior das fissuras, o que poderia explicar como os CIV previnem a ocorrência de lesões de cárie mesmo após parecer ter sido perdido. Para estudar a penetração do material no interior das fissuras, 28 dentes foram selados *in vitro*, seccionados e examinados em estereomicroscópio. Em 19 casos o selante penetrou totalmente, em 7 casos penetrou 2/3 e, em 2 casos, penetrou apenas em 1/3 da fissura ou menos.

MEJÅRE; MJÖR⁸⁷, em 1990, avaliaram a retenção de um CIV (Fuji III) e de dois selantes resinosos (Delton e Concise WS) aplicados em 208 molares e pré-molares permanentes de 62 crianças com idade entre 5,7 e 15 anos. Depois de realizados os selamentos as avaliações foram feitas por meio de exame clínico e de réplicas da superfície oclusal para o registro da performance dos materiais, sendo os critérios de avaliação: retenção, integridade marginal, lisura superficial e forma anatômica. As avaliações foram realizadas em períodos correspondentes ao início do tratamento, ou seja, logo após o selamento, 6 e 12 meses e, a partir de então, anualmente até que se completasse 5 anos. Clinicamente foi constatado que 61% dos selantes realizados com CIV foram totalmente perdidos entre seis e doze meses e 84% após 30-36 meses. Embora uma perda total tenha sido observada clinicamente para a maioria dos selamentos com CIV, foram observados resíduos do material em 93% das réplicas. A avaliação clínica dos selantes resinosos mostrou uma média de retenção completa em 90% dos casos após 4,5 a 5 anos. Lesões de cárie foram observadas em 5% dos selamentos com selante resinoso e em nenhum com o CIV.

DENNISON; STRAFFON; MORE²⁷, em 1990, realizaram um estudo *in vivo* buscando determinar o grau de erupção necessária para que os selantes de fossas e fissuras pudessem ser utilizados com o máximo de eficácia e retenção. Para isso, os estágios de erupção foram quantificados por meio dos seguintes critérios: 1- as cúspides não haviam emergido totalmente da gengiva; 2- a superfície oclusal emergia totalmente da margem gengival, mas com a porção distal totalmente recoberta pelo opérculo; 3- ausência do opérculo na fossa distal, mas o tecido gengival situado no mesmo nível da crista marginal; 4- ausência do opérculo e a margem gengival situada abaixo da crista marginal; 5- o contorno gengival vestibular e lingual com localização totalmente supragengival. Em seguida, cem superfícies oclusais de primeiros e segundos molares foram tratadas em 29 pacientes com idade entre 5 – 14 anos. Os dentes receberam profilaxia com pedra-pomes e água, e depois de lavados e secos foram fotografados, isolados (isolamento relativo ou absoluto de acordo com a necessidade) e o material selador (Delton – autopolimerizável) aplicado de acordo com as instruções do fabricante. O exame clínico foi realizado de acordo com os seguintes critérios: descoloração marginal, integridade marginal, forma anatômica, espessura e cárie. Os autores observaram que a maioria das superfícies tratadas e avaliadas no início do tratamento se encontrava nos estágios 2 e 3 de erupção. Somente 17% foram tratados nos estágios 4 e 5. Após 36 meses, 75 superfícies foram examinadas e foi possível constatar que 52 superfícies (70%) não necessitavam de retratamento. Os molares, tratados inicialmente com o opérculo recobrindo a margem distal da superfície oclusal, possuíam chance uma vez maior de necessidade de retratamento que as superfícies seladas que se encontravam no estágio 3 de erupção.

KOCH; HATIBOVIC-KOFMAN⁷⁷, em 1990, avaliaram a liberação de flúor e as unidades formadoras de colônias de *S. mutans* presentes na saliva antes e após restaurar os dentes com três tipos de CIV (Vitrebond, Ketac-Fil e Chem-Fil II). Trinta e seis crianças de 3 a 11 anos de idade receberam de 1 a 6 restaurações com um dos três cimentos ionoméricos. A saliva não estimulada foi coletada e analisada antes da realização das restaurações, imediatamente após o tratamento e após 3 e 6 semanas. Todas as crianças consumiram água com 0,01 a 0,05 ppm de flúor e fizeram uso de dentifrício fluoretado, exceto no dia de realização da coleta da saliva. As concentrações iniciais de flúor foram de 0,038 a 0,05 ppm. Imediatamente após a realização das restaurações de CIV, as concentrações aumentaram para 0,8 ppm para o Chem-Fil e 1,2 ppm para o Ketac-Fil e Vitrebond. Após 3 semanas, as concentrações de flúor liberadas diminuíram cerca de 35% para todos os materiais estudados e, após 6 semanas, as concentrações diminuíram mais 30%. No entanto, mesmo após 6 semanas, os níveis de flúor na saliva não estimulada eram 10 vezes maiores que os iniciais, concluindo que quanto maior o número de superfícies dentárias restauradas com CIV, maior a concentração de flúor na saliva, evidenciando também que a prevalência de *S. mutans* na saliva diminuiu significativamente após a realização das restaurações com CIV.

Em 1991, HATIBOVIC-KOFMAN; KOCH⁵⁵ avaliaram na mesma amostra citada anteriormente, a liberação de flúor na saliva exatamente um ano após o tratamento restaurador. Além disso, avaliaram *in vitro* por um período de 16 semanas a liberação-absorção-liberação de flúor destes mesmos materiais (Vitrebond, Ketac-Fil e Chem-Fil II). Nesta segunda parte do estudo, espécimes dos três CIV foram confeccionados e imersos em água deionizada para avaliar a liberação de flúor durante 16 semanas, sendo expostos a um dentifrício fluoretado

(250 ppm) na 12ª semana. A concentração média de flúor na saliva obtida dos três materiais foi de aproximadamente 0,05 ppm antes da realização das restaurações, de 0,8 ppm após três semanas e 0,3 ppm mesmo após um ano. No estudo in vitro, os CIV mostraram-se capazes de absorver flúor do dentifrício e liberá-lo posteriormente.

FORSS et al.⁴¹, em 1991, realizaram um estudo clínico com o objetivo de avaliar os níveis de flúor e de estreptococos mutans no biofilme dentário acumulado sobre restaurações de um CIV (Ketac-Fil) e de uma resina composta (Silar). Participaram do estudo 21 adultos com idade entre 23 e 58 anos, que consumiram água fluoretada e fizeram uso de dentifrício fluoretado regularmente. Para o acúmulo de biofilme, tubos cilíndricos com cada material foram construídos em braquetes ortodônticos e fixados na superfície vestibular de dois molares superiores (um material em cada hemi-arco). Os voluntários foram orientados a manterem dieta e higiene bucal habituais. O biofilme acumulado foi coletado após 14, 28 e 42 dias da fixação do dispositivo ao dente. Após a análise do biofilme, os resultados mostraram que para o CIV a quantidade de estreptococos mutans na placa foi de $0,5 \times 10^3$, $6,7 \times 10^3$ e $8,8 \times 10^3$ unidades formadoras de colônia, para o primeiro, segundo e terceiro período de coleta respectivamente. Para a resina composta os valores foram de $32,1 \times 10^3$, $14,6 \times 10^3$ e $120,6 \times 10^3$ unidades formadoras de colônia. Em relação a concentração de flúor no biofilme, para o CIV foram encontrados valores de 19,985, 5,788 e 5,019 ppm no primeiro, segundo e terceiro dia de coleta. Em vista dos resultados pode-se constatar que a concentração de flúor no biofilme dentário acumulado sobre o CIV é bem maior que na resina composta, o que parece afetar a quantidade de estreptococos mutans no mesmo.

SIMONSEN¹¹⁹, em 1991, realizou um estudo clínico avaliando em longo prazo (até 15 anos) a retentividade e o efeito preventivo da cárie em superfícies oclusais pelos selantes de fossas e fissuras. Para o estudo foram selecionados 200 pacientes que receberam selante no Centro de Saúde em Bloomington Minnesota, entre os meses de fevereiro e agosto de 1976. Os dentes posteriores foram selados com selante autopolimerizável (Concise). Um grupo controle também foi formado por pacientes que freqüentavam o Centro de Saúde, porém não haviam recebido selamento. De todos os pacientes, apenas 33 foram chamados para a reavaliação, que ocorreu aos 5, 10 e 15 anos após o início da pesquisa. Os critérios adotados para a avaliação foram os seguintes: a-retenção completa; b-retenção parcial; c-perdido e d-cariado. Compareceram para a reavaliação 24 pacientes, que apresentavam 192 superfícies oclusais seladas. Ao exame clínico foi constatado que em 26,7% o selante apresentava-se completamente retido, 35,4% haviam sido parcialmente perdidos, 10,9% haviam sido completamente perdidos e 26% encontravam-se restaurados ou com lesões de cárie. Foi possível concluir que a técnica de selamento mostrou-se eficaz no controle da cárie, evidenciando-se o fato de que retornos freqüentes ao consultório para manutenção dos selantes podem potencializar o efeito preventivo do material selador.

Em 1992, CARLSSON et al.¹³ aplicaram selantes resinosos em fossas e fissuras com a finalidade de avaliar os níveis de estreptococos mutans (EM) na saliva após a realização do procedimento. Foram avaliadas 46 crianças de 12 anos de idade, apresentando níveis altos ou médios de EM, que formaram o grupo F, durante um ano. Para o controle, foram avaliadas 33 crianças com idade e nível de EM semelhantes, formando o grupo C, além de 55 crianças que apresentavam baixo nível de EM, formando o grupo L. Foram realizados exames clínico e radiográfico

para determinação da incidência e prevalência de cárie. Para o grupo F, todas as fossas e fissuras foram seladas com selante resinoso fotopolimerizável (Bis-GMA) e os níveis de EM na saliva foram avaliados no dia da realização do selamento, e em seguida após 3, 6, 12 e 52 semanas. Com os resultados obtidos foi possível observar que houve uma redução significativa dos níveis de EM para os grupos F e C, durante todo o período de avaliação se comparados aos níveis iniciais. Porém, não foi constatada diferença significativa entre os grupos durante todo o período estudado. A incidência e prevalência de cárie foram maiores para os grupos F e C quando comparados ao grupo L. Por estes resultados os autores puderam concluir que o selante resinoso em questão não afetou os níveis de EM na saliva, sugerindo que, a diminuição desses níveis provavelmente está relacionada aos cuidados com a higiene bucal.

ARANDA; GARCIA-GODOY⁴, em 1995, avaliaram clinicamente, após 12 meses, a taxa de retenção e o índice de desgaste de um CIV fotopolimerizável especificamente desenvolvido para selamento de fossas e fissuras (GC América). Foram selecionados para o estudo 25 pacientes de 7 a 14 anos de idade, que residiam em localidades sem fluoretação da água de abastecimento. Previamente ao procedimento de selamento foram realizadas fotografias da superfície oclusal dos dentes que seriam incluídos na pesquisa. Foram selecionados 95 dentes, localizados na maxila ou mandíbula. Estes dentes receberam isolamento relativo e em seguida foi realizada a aplicação do condicionador de dentina (GC América) por 20 segundos, lavagem, secagem e inserção do CIV nas fissuras com sonda exploradora. Foi utilizada uma proporção pó-líquido de 1,4 gm / 1,0 gm, manipulado de 15 a 20 segundos e fotopolimerizado por 20 segundos. Foi realizada proteção superficial do material com um adesivo para impedir a solubilização do mesmo em

meio bucal. Ao término do procedimento foram realizadas moldagens da superfície oclusal e nova tomada fotográfica. Após um período de 3, 6, 9 e 12 meses, os pacientes passaram por um novo exame clínico, além de novas moldagens e fotografias. Os critérios para a avaliação da retenção foram: presente, parcialmente presente e perdida. Os resultados mostraram que após 3 e 6 meses da realização do procedimento de selamento, todos os selantes estavam presentes ao exame clínico. Aos 12 meses, somente 20% dos selantes estavam presentes clinicamente, 70% parcialmente presentes e 10% totalmente perdidos. A avaliação ao microscópio eletrônico de varredura revelou que mesmo após 12 meses da realização do procedimento e ocorrência de considerável desgaste, foi evidente a presença do material no fundo das fissuras além de ausência total de lesão de cárie em todos os dentes examinados.

WEERHEIJM; KREULEN; GRUYTHUYSEN¹³⁹, em 1996, realizaram um estudo clínico comparando o grau de retenção de um CIV especificamente desenvolvido para selamento (Fuji III), com um CIV restaurador (Fuji IX). Foram incluídas na pesquisa crianças com idade média de 10,4 anos, que receberam selamento em um dos molares permanentes com Fuji IX e no dente homólogo com Fuji III. Os dentes receberam profilaxia com pedra-pomes e isolamento relativo com rolos de algodão. O CIV Fuji IX foi inserido com o auxílio de um brunidor e mantido nas fissuras por compressão digital. O CIV Fuji III foi inserido nas fissuras com o auxílio do instrumento Ash 49 e protegido por uma camada de verniz, conforme as instruções do fabricante. Os selantes foram avaliados clinicamente após 4 e 9 meses de acordo com os seguintes critérios: retenção completa, retenção incompleta ou ausência do material. Após 4 meses da realização dos selamentos não houve diferença na retenção entre os materiais ao se considerar gênero dos pacientes,

posição dos dentes na arcada, localização superior ou inferior e primeiros ou segundos molares. Aos 4 meses, 46% dos selamentos com Fuji III e 72% com o Fuji IX encontravam-se completamente retidos, diminuído para 15% e 52%, respectivamente, aos nove meses, permitindo que os autores concluíssem que o CIV restaurador foi mais efetivo em termos de retenção que o CIV específico para selamento.

Em 1997, van DIJKEN et al.¹³⁴ realizaram um estudo para avaliar as concentrações de flúor no biofilme dentário formado sobre as restaurações de CIVm (Fuji II LC), compômero (Dyract) e resina composta (Pekafill), além da correlação e presença de bactérias relacionadas à cárie dentária. Foram avaliados o biofilme dentário formado sobre restaurações de classe III realizadas com estes materiais após permanecerem por um ano na cavidade bucal, e o biofilme formado sobre o esmalte da face proximal, em 18 indivíduos que receberam uma restauração com cada material, consumiram água fluoretada com concentração menor que 0,25 ppm e utilizaram dentífrico fluoretado. Os resultados mostraram baixas concentrações de flúor em todas as amostras, sendo o CIV o material que apresentou concentrações significativamente mais elevadas. A presença de estreptococos mutans e lactobacilos não foi diferente entre todos os materiais testados e não apresentou correlação com a concentração de flúor na placa. Foi observada correlação entre a quantidade de estreptococos mutans na saliva com a do biofilme. Em vista disso foi possível concluir que as concentrações de flúor liberadas *in vivo* das restaurações com um ano de vida útil não foram suficientes para afetar os níveis de bactérias associadas à cárie dentária.

FORSS; HALME⁴² em 1998, realizaram um estudo clínico para avaliar a retenção e o efeito preventivo de cárie de um CIV (Fuji III) e de um selante resinoso

(Delton) após um período de 7 anos da realização dos selamentos. Fizeram parte da amostra 166 crianças que tiveram os primeiros e segundos molares permanentes selados logo após a erupção. Decorridos dois anos da realização dos selamentos os autores observaram um baixo índice de retenção para o CIV, porém não observaram diferença em relação a presença de cárie entre os dois materiais utilizados. Em 7 anos de acompanhamento, 10% dos selantes com CIV e 45% com selante resinoso encontravam-se retidos; 9% e 20% dos selantes com CIV e selante resinoso respectivamente, apresentavam-se parcialmente retidos. Um total de 23,5% dos dentes selados com CIV e 16,5% selados com selante resinoso encontravam-se com lesões de cárie ou restaurados.

PEREIRA et al.⁹⁹, em 1999, com a finalidade de avaliar a propriedade de retenção e a incidência de cárie relacionadas ao uso dos CIV, realizaram um estudo clínico comparando um CIVm (Vitremer) e um CIVc (Ketac Bond) quando utilizados como selantes oclusais. Foram selecionadas 200 crianças na faixa etária de 6-8 anos, que apresentavam os primeiros molares permanentes hígidos. Primeiramente foi realizada profilaxia da superfície oclusal com pedra-pomes e água, isolamento relativo e condicionamento com ácido fosfórico a 35%. Os materiais foram aplicados de acordo com as instruções do fabricante, sendo a proporção pó/líquido do Vitremer de 1:2, obtendo desta forma uma maior fluidez do material. Foram realizadas avaliações aos 6 e 12 meses e a taxa de retenção total para o Vitremer foi de 29% e 36% respectivamente. Para o Ketac Bond, a retenção total foi de 24% e 15%, respectivamente evidenciando uma diferença estatisticamente significativa entre eles. Nenhum dente que recebeu selamento apresentou lesão de cárie durante os 12 meses de realização do estudo para os dois materiais.

Em 1999, SUNDFELD et al.¹²⁵, avaliaram por meio de análise clínica e microscópica a penetração na superfície do esmalte de um selante resinoso com flúor (Alpha Flúor Seal), além da retenção e surgimento de lesão de cárie nos defeitos estruturais do esmalte de dentes que receberam ou não aplicação do material selador. Foram utilizados 123 dentes posteriores hígidos, em crianças na faixa etária de 8 a 14 anos. Destes dentes, 72 foram selados com Alpha Seal, enquanto 51 permaneceram hígidos, recebendo apenas na primeira sessão, a aplicação no interior dos sulcos oclusais de verniz fluoretado (Duraphat). Logo após e aos 24 meses da realização dos selamentos, toda a superfície do selante foi verificada clinicamente em relação à sua retenção e adaptação na superfície oclusal. Com a finalidade de verificar a penetração do selante no esmalte condicionado, foi realizado um estudo laboratorial paralelo ao estudo clínico em que 24 dentes posteriores receberam in vivo o selamento oclusal, da mesma forma que foi realizado clinicamente e, em seguida, foram extraídos, seccionados ao meio no sentido vestibulo-lingual e preparados para análise em fotomicroscópio sob luz polarizada. Após dois anos, os resultados clínicos demonstraram que 94,4% dos dentes que foram selados apresentaram retenção total, enquanto 52,9% dos dentes que não foram selados apresentaram alterações clínicas nas fossas e fissuras. A análise microscopia demonstrou excelente adaptação e penetração do material selador nos planos inclinados cuspídeos, evidenciando, de forma geral, prolongamentos resinosos uniformes e em grande número ao longo da interface esmalte/material selador (23 µm).

BERNARDO et al.⁸, 2000, testaram o CIV (Vitremer – 3M), aplicado em combinação ou não com um adesivo (Scotchbond Multiuso – 3M) como selante oclusal. Foram selecionados 221 dentes hígidos (1º molares permanentes e pré-

molares) de escolares com idade entre 7-11 anos do município de São Paulo. Os dentes foram selados utilizando-se o CIVm Vitremer – 3M, na proporção de 2 gotas de líquido para 1 porção de pó. Utilizaram-se duas técnicas de aplicação diferentes, cada uma realizada em 2 quadrantes opostos da boca da criança (sup. Direito / inf. Esquerdo e sup. Esq. / inf. Dir). Para o grupo I foi realizada profilaxia com pedra-pomes e água; Aplicação do primer do Vitremer – 3M (leve secagem com jato de ar); Fotopolimerização por 20 segundos (conforme as instruções do fabricante); Inserção do material com seringa Centrix; Fotopolimerização por 40 segundos. No grupo II foi realizada profilaxia com pedra-pomes e água; Condicionamento do esmalte com ácido fosfórico a 35% por 30 segundos (lavagem e secagem); Aplicação do primer do Scotchbond Multiuso – 3M (leve secagem com jato de ar); Aplicação de fina camada do adesivo (leve secagem com jato de ar); Fotopolimerização por 10 segundos; Inserção do material da mesma forma que o grupo I. A avaliação foi feita após 6 e 12 meses, verificando-se o grau de retenção do material (0= retenção total, 1= retenção parcial, 2= ausente). A presença ou não de lesão de cárie, nos casos onde houve perda do material foi avaliada. Para a análise dos resultados, foram utilizados 159 dentes (72% da amostra inicial). Os resultados indicaram um comportamento semelhante do material tanto nos molares como nos pré-molares quanto a retenção. A técnica realizada com a utilização prévia do adesivo provocou aumento significativo da retenção em relação à técnica convencional (84,9% e 37,2% respectivamente para retenção total), tornando ainda mais relevante o uso do condicionamento ácido quando da utilização destes materiais. Apenas um molar inferior apresentou lesão de cárie após 12 meses, num caso de perda total do material em um paciente de alto risco. Em vista disso, os autores puderam concluir que a técnica modificada, com condicionamento ácido e aplicação do adesivo,

aumentou significativamente a retenção do material; Não houve diferença significativa entre o tipo de dente selado, molares ou pré-molares; Onde houve perda do selante, não se desenvolveram lesões de cárie, no período de 12 meses.

Em 2005, OLIVEIRA; SILVA; MACHADO⁹⁵ realizaram um estudo clínico com o objetivo de comparar a retenção, efetividade em prevenir a cárie dentária e características marginal e superficial de dois diferentes materiais utilizados como selante oclusal. Foram selecionadas para o estudo 108 crianças com idade entre 5 e 10 anos que foram divididas em 6 grupos: G1 (selante resinoso Delton), aplicado sob isolamento absoluto (IA); G2- Delton aplicado sem IA; G3- Prime & Bond 2.1 + Delton; G4- Vitremer ¼ : 1; G5- "Primer" + Vitremer ¼ : 1; G6- Vitremer 1 : 1. Com exceção do grupo controle, para todos os outros grupos foi realizado isolamento relativo do campo operatório. Os selantes foram avaliados após 6, 12, 18, 24, 36 e 48 meses, utilizando o critério modificado (Ryge e Snyder: JADA 1973; 87: 369-377) quanto à retenção nas áreas mesial, central e disto oclusal. Após 48 meses, 172 dentes em 51 crianças foram avaliados. Para os grupos 1, 6, 2, 3, 4 e 5 a retenção total foi respectivamente de 36,8, 35,5, 33,3, 22,2, 3,1 e 0%. A retenção para as três regiões oclusais foi de 64,9, 63,4, 50,0, 51,9, 12,5 e 3,0%. Houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre: G4 com G1, G2, G6 e G5 com G1, G2, G3 e G6, e para a retenção nas três regiões oclusais entre: G4 e G5 com G1, G2, G3 e G6. Dezoito dentes desenvolveram lesões de cárie nos seguintes grupos: G1 (1), G2 (3), G4 (7) e G5 (7). Houve diferença significativa entre: G3 e G6 com G4 e G5. Alterações nas margens e superfície foram observadas para todos os grupos, porém não houve diferença estatística significativa na discrepância marginal entre eles. A performance do Vitremer (1 : 1) foi respectivamente melhor ou similar que na

proporção 1 : 4, associado ou não ao primer, e material resinoso com isolamento relativo, associado ou não ao agente adesivo.

BIELLA; DEKON⁹, em 2003, realizaram um estudo clínico com o objetivo de avaliar o desempenho clínico de 159 restaurações feitas em dentes posteriores permanentes restaurados, após eliminação de cáries incipientes, com um CIVm (Vitremer) em 81 pacientes jovens atendidos no setor de odontologia geral do Hospital de Reabilitação de Anomalias Craniofaciais da Universidade de São Paulo. As restaurações foram divididas em grupos, de acordo com o tempo decorrido da inserção do material na cavidade bucal (6 a 12 meses, 12 a 18 meses e de 18 a 36 meses), sendo avaliadas segundo os itens: restaurações presentes, restaurações ausentes (perdidas ou substituídas por outro material), recorrência de cárie, desgaste do material, fratura da restauração, fratura da estrutura dentária, alteração de cor, integridade marginal e presença de contatos oclusais sobre a restauração. Os resultados mostraram um índice de restaurações presentes e aceitáveis clinicamente superior a 91%, considerado como sucesso, pois nos vários itens abordados, somente poucos casos de fratura do material (2,12% no período de 6 a 12 meses e 5,71% no período de 18 a 36 meses) e recidiva de cárie (8,51% no período de 6 a 12 meses e 5,71% no período de 18 a 36 meses) implicaram na troca da restauração. Os autores concluíram que o CIVm (Vitremer) apresenta bom desempenho clínico nos casos de lesões incipientes, de pré-molares e molares, em áreas de poucos esforços oclusais, principalmente em pacientes de alto risco à cárie.

van DUINEN et al.¹³⁵, em 2004, realizou um estudo clínico de longa duração para avaliar as alterações clínicas e microscópicas nas superfícies do esmalte adjacentes a dois CIV utilizados como selantes de fossas e fissuras. Foram seladas

3179 fissuras de 532 pacientes com idade entre 6 e 18 anos, utilizando os CIV Ketac-Fil e Ketac-Molar, entre os anos de 1990 e 2001. Ao exame clínico foi observado um índice de retenção de 70% e todos os dentes selados encontravam-se livres de lesões de cárie. Em um total de 20 dentes, selecionados aleatoriamente, foi realizado moldagem e confecção de réplicas para a avaliação das alterações superficiais em microscopia eletrônica de varredura. Foram observadas alterações na estrutura do CIV nas bordas da fissura (interface com as paredes de esmalte). A análise microscópica permitiu visualizar uma dissolução das partículas do CIV, principalmente nas bordas do selante. A análise do selante adjacente ao esmalte revelou a ocorrência de absorção de cálcio e fosfato, com perda de alumínio e sílica, favorecendo uma mineralização do material, que aumenta sua dureza tornando-o opticamente semelhante ao esmalte (pseudo-esmalte). A saliva é de fundamental importância para que este processo ocorra, sendo possível esta constatação somente em estudos *in vivo* após 2 a 3 anos de controle.

Em 2006, VIEIRA et al.¹³⁶ avaliou o comportamento clínico (índice de retenção e efeito preventivo) de CIV utilizados como selante oclusal, inseridos nas fissuras de forma semelhante à técnica do ART (pressão digital). Foram utilizados primeiros molares permanentes recém-irrompidos presentes em 42 pacientes que apresentavam alto índice de cárie (ceod/s entre 2 e 5), sendo 74 selamentos realizados com ChemFlex (CIVc de alta viscosidade) e 76 com Vidrion R (CIVc). Dois profissionais previamente calibrados realizaram a avaliação dos selantes por meio de exame clínico e fotográfico. Os resultados mostraram que a perda das amostras após 12 e 36 meses foi de 9,3% e 11,7%, respectivamente. Após o período de 12 meses, 41,8% dos selamentos com ChemFlex e 43,8% dos realizados com Vidrion R estavam parcial ou totalmente retidos. De todos os dentes selados no

início da pesquisa, 1,5% encontravam-se restaurados e 98,5% estavam livres de cárie. Decorridos 36 meses, não foi constatada retenção total dos dois materiais, sendo a retenção parcial de 24,6% para o ChemFlex e 20,9% para o Vidrion R e 9,2% dos selantes com ChemFlex e 9% dos de Vidrion R foram substituídos por outro tratamento. De todos os dentes selados com ChemFlex, 3,1% apresentaram lesão de cárie. O índice de sucesso dos dois materiais foi de 93,7%, não havendo diferenças entre eles tanto na retenção como no efeito preventivo, sugerindo que apesar dos baixos índices de retenção, o selamento de molares com a técnica do ART pode ser considerado um tratamento efetivo em crianças com alta incidência de cárie.

2.2 Estudos *in situ*

Em 1974, KOULOURIDES et al.⁷⁹, realizaram um estudo *in situ* para avaliar o efeito do flúor em blocos de esmalte bovino hígido ou desmineralizado (*in vitro*), em condição cariogênica e não cariogênica. Um bloco hígido e um desmineralizado foi fixado bilateralmente em aparelhos protéticos inferiores de três voluntários, que utilizaram as próteses continuamente por um período de 7 dias. Em apenas um dos lados do aparelho protético uma gaze foi fixada para favorecer o acúmulo de biofilme dentário, sendo instituído um desafio cariogênico. Este mesmo lado do aparelho contendo a gaze era imerso em solução de sacarose a 3%, contendo 1 ppm de flúor, 4 vezes ao dia, durante 10 minutos, enquanto o outro lado era imerso em água contendo 1 ppm de flúor (controle, sem presença de desafio cariogênico). Após o período experimental, os blocos foram analisados quanto a alteração de dureza (microdureza Knoop) e incorporação de flúor. Os blocos desmineralizados imersos

em água contendo flúor (condição não cariogênica) sofreram remineralização parcial e alta incorporação de flúor, já nos blocos hígidos, a mudança de dureza e a incorporação de flúor foram mínimas. A imersão em solução de sacarose a 3% propiciou maior perda de dureza nos blocos hígidos e maior reincorporação de flúor nos blocos desmineralizados.

Em 1993, BENELLI et al.⁷, avaliaram a quantidade de flúor no biofilme dentário formado sobre restaurações de CIV (Chelon-Fil) e resina composta (Silux), analisando o efeito do flúor liberado no crescimento de bactérias formadoras de cárie, absorção de flúor e formação de cárie secundária em condição de severo desafio cariogênico. Este foi um estudo *in situ* cruzado, com duas fases de 28 dias e colaboração de 10 voluntários, em que 80 blocos de esmalte humano hígidos foram aleatoriamente restaurados com um dos materiais. Em cada fase do estudo, os voluntários utilizaram um dispositivo de resina acrílica que continha 4 blocos de esmalte restaurados com o mesmo material e fizeram uso de dentífrício não fluoretado. Os dispositivos eram imersos em solução de sacarose a 20%, oito vezes ao dia. Em seguida, os níveis de flúor, estreptococos mutans e lactobacilos foram avaliados no biofilme dentário, além da microdureza e da absorção de flúor no esmalte ao redor das restaurações. Houve maior concentração de flúor e menor número de estreptococos mutans no biofilme formado sobre o CIV. Em relação ao número de lactobacilos, não houve diferença entre os materiais. Considerando o esmalte, o CIV proporcionou maior absorção de flúor e menor perda mineral, evidenciando um efeito preventivo significativo e importante na prevenção de lesões de cárie secundária, mesmo em situações de severo desafio cariogênico.

Em 1997, CURY; REBELLO; DEL BEL CURY²² realizaram um estudo *in situ*, em quatro fases distintas de 28 dias cada, para avaliar a composição do biofilme

dentário de acordo com a frequência diária de exposição à sacarose. Participaram do estudo 12 voluntários que utilizaram um dispositivo intrabucal palatino de acrílico contendo 4 blocos de esmalte humano, que permaneceram armazenados em solução de formol a 2% durante um mês, montados 1 mm abaixo do nível do acrílico e recobertos com uma tela plástica para favorecer o acúmulo de biofilme. Durante cada fase, os voluntários realizaram o gotejamento de uma solução de sacarose a 20%, variando o número de aplicações por dia, de acordo com cada fase, ou seja, zero, duas, quatro e oito aplicações, além de fazerem uso de dentífrico sem flúor e consumirem água de abastecimento fluoretada (0,7 ppm). Ao final de cada fase foram determinadas as concentrações de flúor, cálcio, fósforo e polissacarídeos solúveis e insolúveis no biofilme dentário. A análise estatística mostrou que não houve diferença na concentração de flúor na placa formada no período de 4 ou 8 exposições à sacarose, nem entre a concentração de cálcio e fósforo na placa durante 2, 4 ou 8 aplicações de sacarose. A concentração de polissacarídeos solúveis não foi diferente nos quatro protocolos, porém a concentração de polissacarídeos insolúveis foi significativamente maior com 8 exposições à sacarose. Os blocos de esmalte apresentaram manchas brancas visíveis quando expostos 4 ou 8 vezes por dia à sacarose. Os resultados sugerem que a cariogenicidade do biofilme dentário formado na presença de sacarose, não pode ser atribuída somente à sua porosidade, mas a sua baixa concentração inorgânica também. Sugerem também, que a fluoretação da água pode ser capaz de impedir a desmineralização em biofilme dentário exposto até 2 vezes ao dia à sacarose.

Em 1999, KIELBASSA; MÜLLER; GARCIA-GODOY⁷⁵ avaliaram por meio de um estudo *in situ*, a ocorrência de cárie ao redor de quatro diferentes materiais restauradores: Ariston pHc (libera íons flúor e hidroxila), Dyract AP (compômero);

Vitremer (CIVm) e Ketac-Molar (CIVc alta viscosidade). Para isso foram preparados 44 espécimes de esmalte a partir das faces vestibular e lingual de 22 molares humanos, livres de cárie, recentemente extraídos. Em cada espécime foi preparada uma cavidade de 1 mm de profundidade, que foi preenchida aleatoriamente com um dos materiais acima citados. Foram confeccionados onze dispositivos mandibulares removíveis, nos quais foi fixado um espécime de cada grupo e os mesmos foram utilizados por onze voluntários, 24 horas por dia, durante quatro semanas, com acúmulo de biofilme dentário. No período das refeições os aparelhos foram mantidos imersos em solução de sacarose a 10% e após o período experimental, os espécimes foram removidos do dispositivo, seccionados através das restaurações e avaliados por meio de micro-radiografias, analisando o conteúdo mineral adjacente ao material e a uma distância de 0,5 mm. Os resultados mostraram que à distância de 0,5 mm não houve diferença entre os materiais. O Ariston pHc apresentou perda mineral significativamente menor na localização adjacente ao material, se comparado ao conteúdo mineral observado a 0,5 mm. Os CIV apresentaram tendência a uma menor perda mineral próximo ao material e o compômero não apresentou nenhum efeito.

SHORE et al.¹¹³, em 2001, realizaram análise microbiológica do biofilme dentário e a microdureza do esmalte por meio de um estudo *in situ*, cruzado, duplo-cego e em duas fases de 28 dias cada, com a utilização do dispositivo de Leeds e dois dentifrícios: fluoretado (1500 ppm, NaF) ou placebo. Este dispositivo possibilita a recuperação do biofilme dentário acumulado sobre o esmalte de maneira intacta. Fatias de esmalte obtidas de dentes humanos foram planificadas e desmineralizadas com a utilização de um gel acidificado por três semanas. Após a leitura da microdureza inicial (Vickers), um anel de nylon foi colocado sobre o esmalte

desmineralizado, formando o dispositivo de Leeds. Em seguida, vinte e dois voluntários receberam dois dispositivos que foram fixados nos molares superiores, um do lado direito e outro do lado esquerdo, sendo a higiene bucal realizada como de costume, com um dos dois dentifrícios acima citados, de acordo com a fase em que estivessem inseridos (“wash-out” de duas semanas). Após 28 dias, os dispositivos foram removidos para a análise do biofilme e da microdureza do esmalte. Os resultados mostraram que não houve diferença estatisticamente significativa na contagem total de bactérias anaeróbicas, estreptococos mutans e lactobacilos, em função do dentifrício utilizado. Entretanto, houve maior ganho de microdureza com o uso do dentifrício fluoretado, permitindo que os autores concluíssem que o dispositivo foi capaz de medir o efeito do dentifrício fluoretado na remineralização do esmalte e na microbiologia da placa.

Ainda em 2001, DUGGAL et al.³² em um estudo *in situ*, compararam a extensão da desmineralização do esmalte em função da frequência de consumo de sacarose e do uso de dentifrício fluoretado ou não. Blocos de esmalte obtidos de pré-molares humanos foram desmineralizados, inseridos em dispositivos inferiores removíveis e recobertos com gaze para permitir o acúmulo de biofilme dentário. Oito voluntários utilizaram continuamente os dispositivos por 7 dias, sendo os dois dias iniciais sem a aplicação de sacarose e os cinco subseqüentes com ingestão de solução de sacarose a 12% (uma, três, cinco, sete ou dez vezes por dia), que deveria ser mantida na cavidade bucal por 2 minutos antes de ser engolida. Este estudo foi realizado em duas fases, ou seja, uma com dentifrício fluoretado e a outra com dentifrício não fluoretado em que os voluntários deveriam escovar seus dentes duas vezes ao dia, durante dois minutos, com o aparelho na cavidade bucal, devendo todas as superfícies ser escovadas, exceto a superfície dos blocos. Ao final

de cada período, os espécimes foram removidos, seccionados e avaliados por meio de micro-radiografia transversa com a finalidade de avaliar o ganho ou a perda de mineral. Os resultados mostraram que, mesmo com o uso do dentífrico fluoretado, foi evidenciada uma desmineralização pela ingestão de sacarose sete e dez vezes por dia, entretanto não significativa. Com ingestões menos frequentes (1x/dia) foi observada remineralização, significativa. Com o uso do dentífrico sem flúor, a desmineralização foi significativa com ingestões de sacarose mais do que três vezes ao dia.

Em 2001, CURY et al.²⁰ avaliaram o efeito anticariogênico de um dentífrico com associação de flúor e bicarbonato de sódio, comparado a um dentífrico com flúor por meio da realização de um estudo *in situ* cruzado, de três fases de 28 dias cada. Quatro blocos de esmalte humano, dois hígidos e dois desmineralizados foram montados em DIP removíveis e protegidos por uma tela plástica para acúmulo de biofilme dentário, com a finalidade de avaliar a microdureza do esmalte, além da concentração de flúor no biofilme. Doze voluntários utilizaram o DIP, onde em cada fase, uma solução de sacarose a 10% foi gotejada nos blocos hígidos, três vezes ao dia. Após 10 minutos, em cada fase experimental, uma solução de dentífrico foi gotejada sobre todos os blocos, sendo 1: placebo (sem flúor e sem bicarbonato de sódio); 2: com flúor (1500 ppm, com NaF); 3: com flúor (1500 ppm, NaF) associado ao bicarbonato de sódio (20%). Os resultados evidenciaram uma alta concentração de flúor no biofilme formado com a utilização dos dentífricos com flúor e flúor associado com bicarbonato de sódio (não diferiram entre si), em relação ao placebo. A desmineralização foi menor e a remineralização maior na utilização do dentífrico com flúor e bicarbonato, quando comparado ao placebo, porém sem diferenças significantes em relação ao dentífrico somente com flúor. A remineralização foi

estatisticamente maior para o dentifrício somente com flúor que para o placebo, sem diferenças para a desmineralização. Os autores puderam concluir que o bicarbonato de sódio não interfere no efeito do dentifrício fluoretado na redução da desmineralização e no aumento da remineralização do esmalte.

TENUTA et al.¹³¹, em 2003, realizaram um estudo *in situ* para avaliar o efeito de fatores salivares e da composição do biofilme dentário na progressão de lesões de cárie. O fluxo salivar, a capacidade tampão e os níveis de estreptococos mutans foram determinados em 13 voluntários que, durante três períodos distintos de 4, 7 e dez dias, utilizaram um dispositivo intrabucal palatino contendo 4 espécimes de esmalte bovino. Durante o período experimental houve acúmulo de biofilme dentário e alto desafio cariogênico onde os voluntários realizaram o gotejamento de uma solução de sacarose a 20%, dez vezes ao dia e fizeram uso de um dentifrício não fluoretado. O número de EM, o cálcio e os polissacarídeos insolúveis foram analisados no biofilme acumulado sobre os blocos em cada período. Foi analisada a desmineralização ocorrida pela porcentagem de perda de microdureza superficial (%PDS) comparadas aos valores iniciais. Foi constatada desmineralização do esmalte em todos os períodos avaliados (4, 7 e 10 dias), quanto maior o período de acúmulo de biofilme, maiores foram as alterações. A %PDS aumentou de 13,8% para 48,3%. As concentrações de cálcio e polissacarídeos insolúveis no biofilme não diferiram em todos os períodos experimentais, existindo uma correlação negativa significativa entre a concentração de cálcio e %PDS e uma correlação positiva entre a concentração de polissacarídeos insolúveis e a %PDS. Os fatores salivares e os níveis de EM no biofilme não apresentaram correlação estatisticamente significativa com a %PDS e não foi possível estabelecer a influência desses níveis na colonização dos espécimes. Os autores sugerem que a desmineralização do

esmalte depende do tempo e está mais relacionada com a composição do biofilme dentário do que com os fatores salivares analisados neste estudo.

KIELBASSA et al.⁷⁴, em 2003 realizaram um estudo *in situ* com a finalidade de avaliar o efeito de vários materiais restauradores na formação de cárie secundária. Para isso, foram confeccionados 88 blocos de esmalte obtidos das faces vestibular e lingual de molares humanos extraídos, que receberam preparos cavitários padronizados. Estes blocos foram divididos em 8 grupos, os quais foram restaurados com um dos seguintes materiais: Ariston pHc; Dyract; Vitremer; Tetric Ceram; Compoglass F; F 2000; Hytac; Ketac-Molar. Um espécime de cada grupo foi inserido em 11 dispositivos intrabucais mandibulares, 1 mm abaixo do nível da resina acrílica para favorecer o acúmulo de biofilme dentário. Os dispositivos foram utilizados por 11 voluntários durante 4 semanas, 24 h/dia, realizando higiene bucal com dentífrício sem flúor. Durante as refeições e a higiene bucal, os dispositivos foram mantidos imersos em solução de sacarose a 10%. Terminado o período experimental, os espécimes foram analisados por micro-radiografia para obtenção do valor do conteúdo mineral e da profundidade da lesão. A profundidade da lesão foi analisada em duas posições: próximo (100 µm) e distante (acima de 500 µm) do material. Os resultados evidenciaram que não foi constatada diferença estatisticamente significativa entre os materiais quando foi analisado o grau de desmineralização nas regiões distantes do material, bem como na profundidade da lesão. Nas regiões adjacentes ao material, somente o Ariston pHc apresentou diferença estatisticamente significativa, com maior perda mineral no esmalte distante do material. Os resultados permitiram concluir que os materiais fluoretados não possuem efeito protetor ao esmalte adjacente e a liberação de cálcio, hidroxila e flúor do Ariston pHc diminuiu a desmineralização adjacente ao material.

Em 2004, PAES LEME et al.⁹⁶ em um estudo *in situ* avaliaram o efeito da combinação entre flúor fosfato acidulado (FFA) e dentifrício fluoretado na desmineralização do esmalte e na composição do biofilme dentário. Este foi um estudo cruzado, realizado em 4 fases distintas (14 dias cada), com 16 voluntários que utilizaram dispositivos intrabuciais palatinos contendo espécimes de esmalte bovino, cobertos por uma tela plástica para o acúmulo de biofilme dentário. Em cada fase foi utilizado: 1- dentifrício sem flúor (DP); 2- dentifrício com flúor (DF); DP + FFA; DF + FFA, sendo o FFA aplicado sobre os espécimes antes dos 14 dias do experimento. Durante o período experimental os voluntários utilizaram os dentifrícios testados 3 vezes ao dia através do gotejamento da solução composta por 1 g de dentifrício : 3 mL de água deionizada, além da aplicação de uma solução de sacarose a 20%, 4 ou 8 vezes ao dia. Mesmo o FFA tendo aumentado a concentração de flúor na placa e reduzido a porcentagem de estreptococos mutans, a sua combinação com o DF não foi capaz de reduzir a perda mineral ou alterar os níveis de cálcio, polissacarídeos insolúveis e fósforo no biofilme, quando comparado ao DF sozinho. Com o aumento da frequência de aplicação de sacarose, foi observada uma menor quantidade de flúor, cálcio e polissacarídeos insolúveis no biofilme, com maior perda de dureza superficial. Com os resultados foi possível concluir que o dentifrício fluoretado proporcionou maior concentração de flúor e cálcio no biofilme, com menor perda de microdureza superficial.

TENUTA et al.¹³², em 2005, avaliaram a possibilidade de utilização de um modelo *in situ* de curta duração para avaliar o potencial anticariogênico de materiais ionoméricos. Foi realizado um estudo cruzado, duplo cego em três fases (intervalo de 7 dias entre cada fase), com utilização de dentifrício sem flúor, em que oito voluntários utilizaram um dispositivo palatino contendo quatro espécimes de esmalte

bovino com uma canaleta cruzando sua extensão, que foi restaurada com um dos seguintes materiais: resina composta (Z 250) como controle negativo, CIVc (Ketac Fill Plus) e um CIVm (Vitremer). Em cada fase, um diferente material foi utilizado. A microdureza superficial do esmalte foi avaliada em um dos lados da restauração previamente a cada fase experimental. Os blocos foram cobertos com uma camada de bactérias (placa teste) obtida de uma cultura de *S. mutans* e fixados no dispositivo palatino utilizando uma placa de acrílico. Os dispositivos foram mantidos dentro da cavidade bucal dos voluntários por trinta minutos e em seguida, delicadamente, realizaram um bochecho com 15 mL de uma solução de sacarose a 20%, durante 1 minuto. Depois de 45 minutos, os blocos de esmalte e a placa teste foram removidos e a inibição da desmineralização do esmalte pelos materiais restauradores foi analisada através da alteração da microdureza superficial. A concentração de flúor na placa teste e no esmalte (biópsia básica) ao redor da restauração também foram determinadas. Houve menor perda de microdureza superficial no esmalte dos grupos com CIV, que também apresentaram maior concentração de flúor na placa e no esmalte, quando comparados ao grupo controle. Os dois CIV foram semelhantes em relação à perda de microdureza superficial ao redor da restauração e concentração de flúor no biofilme, mas o CIV convencional apresentou maior concentração de flúor no esmalte.

AIRES et al.², em 2006 realizaram um estudo *in situ* (duplo cego, cruzado) avaliando o potencial cariogênico relacionado à concentração de sacarose. Participaram da pesquisa 12 voluntários que utilizaram dispositivos palatinos removíveis que continham quatro blocos de esmalte humano, fixados 1 mm abaixo do nível da resina acrílica e protegidos por uma tela plástica para favorecer o acúmulo de biofilme dentário. O estudo foi realizado em três fases com duração de

14 dias cada, com a finalidade de avaliar a resposta obtida pela aplicação extrabucal dos seguintes agentes: água destilada e deionizada-ADD, solução de sacarose a 1, 5, 10, 20 ou 40%, oito vezes ao dia. Em cada fase experimental dois tratamentos foram aplicados para teste. Ao término dos períodos experimentais foi avaliada a cariogenicidade, por meio da avaliação do pH, composição inorgânica e conteúdo de polissacarídeos insolúveis no biofilme formado sobre os blocos, além da avaliação da microdureza do esmalte. Os resultados mostraram que os menores valores de pH, após 5 minutos de exposição à sacarose estavam relacionados às soluções de 10, 20 e 40% (não apresentaram diferença estatística entre si). A solução de sacarose a 5% apresentou um valor de pH maior que a de 40%, porém não diferiu das soluções de 10 e 20%. Os maiores valores de flúor foram encontrados no biofilme dentário que recebeu aplicações de ADD e solução de sacarose a 1%, sendo estes valores significativamente maiores que no biofilme dos grupos que receberam sacarose a 10, 20 e 40%. As concentrações de cálcio e fósforo em ADD e sacarose a 1% não diferiram entre si, porém foram estatisticamente maiores que as concentrações obtidas com os outros tratamentos. A concentração de polissacarídeos insolúveis foi menor no grupo que utilizou ADD quando comparado aos demais grupos. Os grupos que receberam sacarose a 5, 10 e 20% não diferiram entre si, porém foram estatisticamente maiores do que a sacarose a 1% e menores que a sacarose a 40%. As porcentagens de perda de dureza superficial nos grupos ADD e sacarose a 1% não diferiram entre si, mas foram significativamente menores quando comparadas às outras concentrações. A partir da concentração de 5% não foi observada diferença entre os grupos em relação à porcentagem de perda de dureza superficial. Os blocos tratados com solução de sacarose a 5, 10 e 20% não diferiram entre si, mas o grupo tratado com 40% apresentou maior perda mineral que

os grupos tratados com solução a 5 e 10%. Os resultados permitiram concluir que a concentração de sacarose limiar para formação de um biofilme dentário acidogênico capaz de promover lesões de cárie, deve ser em torno de 5%.

Com o objetivo de avaliar o efeito do ferro na composição do esmalte e na formação do biofilme dentário em condições de severo desafio cariogênico, MARTINHON et al.⁸³, em 2006, realizaram um estudo *in situ*, em duas fases de 14 dias cada. Em cada etapa, 12 voluntários utilizaram dispositivos palatinos contendo 4 blocos de esmalte bovino selecionados pela análise da microdureza superficial e realizaram a higiene bucal com dentifrício não fluoretado. Durante o período experimental, 6 voluntários realizaram o gotejamento de uma solução de sulfato ferroso 15 mM sobre os espécimes, oito vezes ao dia, enquanto os outros 6 gotejaram água deionizada. Cinco minutos depois, foi realizado o gotejamento de uma solução de sacarose a 20% sobre os espécimes. Após o experimento, foi realizada a análise da microdureza superficial com a utilização de uma carga de 50 g por 10 s, além da coleta do biofilme para a avaliação do flúor, cálcio, fósforo, ferro e carbodratos álcali-solúveis. Foi analisada também a microdureza do esmalte em secção longitudinal com carga de 25 g por 10 s e a concentração de flúor, cálcio e ferro do esmalte. Os resultados mostraram que o biofilme que recebeu aplicação de sulfato ferroso apresentou aumento significativo nas concentrações de fósforo e ferro. O esmalte que foi tratado com sulfato ferroso apresentou porcentagem de perda de dureza superficial e perda mineral menores que o grupo controle. Quanto à composição do esmalte, não houve diferença entre os grupos. Foi possível concluir que o ferro causa um aumento na concentração de fósforo no biofilme, além de reduzir a perda mineral, tanto na superfície como no interior do esmalte.

HOSHI⁶⁸, em 2006, realizou um estudo *in situ* para avaliar os efeitos de um CIVav (Ketac Molar Easymix) e de um selante resinoso (Delton), comparados a um controle (sem selamento) em esmalte bovino desmineralizado, submetido ou não a um desafio cariogênico. Doze voluntários utilizaram, durante um período de 14 dias, um dispositivo intrabucal palatino contendo 12 blocos de esmalte bovino desmineralizados, fixados dois a dois para simular uma fissura em forma de “V”, a qual foi selada com um dos materiais testados, ou mantida sem selamento, fazendo parte do grupo controle. Metade dos espécimes foram submetidos ao acúmulo de biofilme por meio da colocação de uma tela plástica sobre as fissuras artificiais e oito aplicações diárias de sacarose a 20% para provocar um desafio cariogênico. Além disso, receberam outras três aplicações de dentifrício fluoretado (1 g : 3 mL), enquanto a outra metade não sofreu acúmulo de biofilme, porém recebeu a aplicação do dentifrício. Terminado o período experimental, foram avaliadas as concentrações de flúor no biofilme e no esmalte (biópsia básica), bem como o conteúdo mineral por meio da leitura da microdureza em secção longitudinal do esmalte, em 3 diferentes distâncias do material selador (externo, médio e interno). Os resultados mostraram que a concentração de flúor no biofilme foi estatisticamente maior com o uso do CIV, em comparação ao selante resinoso e ao controle. Houve maior concentração de flúor no esmalte associado ao CIV, sobretudo na ausência de desafio cariogênico, enquanto o selante resinoso e controle foram semelhantes. Em relação ao conteúdo mineral, houve diferenças entre os grupos na camada mais superficial do esmalte (10 µm). Com o acúmulo de biofilme dentário, o conteúdo mineral foi sempre maior no esmalte associado ao CIV do que naquele associado ao selante resinoso. Sem o acúmulo de biofilme dentário, foi constatado um maior valor no conteúdo mineral para o grupo controle. O autor

concluiu que o CIVav (Ketac-Molar Easymix), aplicado sobre uma superfície desmineralizada e sob desafio cariogênico, demonstrou um potencial cariostático pela sua capacidade de doar flúor à estrutura e biofilme dentários, reduzindo os efeitos da desmineralização.

Ainda em 2006, FRACASSO⁴⁸ teve como objetivo avaliar, *in situ*, o efeito remineralizador de um selante resinoso e de um CIVc aplicados em esmalte bovino desmineralizado, associados a um verniz fluoretado. Foram utilizados 120 blocos de esmalte bovino, previamente polidos e desmineralizados, que foram montados dois a dois simulando uma fissura artificial em forma de “V” (120°), sendo estas fissuras seladas com o selante resinoso (Delton), com o CIVav (Ketac-Molar Easymix) ou então mantidas sem selamento, fazendo parte de um grupo controle. Este estudo foi realizado em duas fases de 14 dias cada, com e sem a aplicação de verniz fluoretado (Duraphat), nas quais 10 voluntários utilizaram um dispositivo palatino, contendo um espécime de cada grupo. Encerrados os períodos experimentais, os espécimes foram seccionados através do centro do material selador, sendo uma metade utilizada para análise do conteúdo de flúor fracamente ligado ao esmalte (CaF_2), enquanto a outra metade foi utilizada para a análise da porcentagem de volume mineral, por meio de leitura da microdureza em secção longitudinal do esmalte, em 3 diferentes distâncias do material selador (externo, médio e interno). Os resultados constataram que na análise do flúor fracamente ligado ao esmalte, o CIVav apresentou os maiores valores, com ou sem a utilização do verniz fluoretado. O selante resinoso não diferiu do grupo controle, independente da utilização ou não do verniz fluoretado. Para o esmalte localizado externamente ao material selador, a porcentagem de volume mineral apresentou efeito significativo com a aplicação do verniz. As profundidades de 10 e 30 μm apresentaram diferenças estatísticas na

porcentagem de volume mineral, em relação às demais, em todas as distâncias avaliadas (externo, médio e interno). Foi possível concluir que a associação promovida entre os materiais seladores e o verniz proporcionou aumento do conteúdo de flúor no esmalte, no entanto, este aumento não foi capaz de potencializar a remineralização do esmalte de maneira proporcional.

2.3 Estudos *in vitro*

Em 1973, SILVERSTONE¹¹⁵ avaliou o grau de solubilidade do esmalte após a remoção do material selador. Foram utilizados molares e pré-molares humanos, os quais tiveram na superfície vestibular e lingual o preparo de uma janela de esmalte de 2 mm de diâmetro. O esmalte foi então condicionado por 60 ou 30 segundos e, em seguida, selado com um selante ativado por luz ultravioleta. Logo após, o material selador foi cuidadosamente removido e a solubilidade do esmalte condicionado e do esmalte selado e abrasionado foi examinada. Os resultados mostraram que após a remoção do material selador o esmalte mostrou-se menos solúvel que nas áreas adjacentes a ele. A profundidade de penetração dos “tags” do selante foi maior que 50 µm, permanecendo mesmo após a remoção do material. Foram visualizadas lesões de cárie mais extensas para o esmalte somente condicionado, em relação ao esmalte que recebeu o material selador.

Em 1981, FEATHERSTONE; MELLBERG³⁹ realizaram um estudo para avaliar a progressão de cárie artificial sobre o esmalte humano e bovino (decíduo e permanente) e esmalte ovino permanente. Foram empregados dois métodos de produção de cárie artificial utilizados por tempos diferentes sendo as lesões produzidas e sua profundidade, quantificadas através da incorporação de corantes.

Para o esmalte bovino e humano (decíduo e permanente) foi aplicado um sistema gelatinoso com ácido láctico, por um período de 8 dias, com avaliações de penetração de corante Rodamina B pelo esmalte após um, dois, quatro e oito dias; para o esmalte permanente bovino (natural e abrasionado), ovino e humano, foi aplicado um sistema difosfonato / ácido láctico, por um período de 30 dias. A progressão da lesão foi avaliada pela medida de sua profundidade após a secção do espécime e aplicação de Rodamina 6G em um microscópio. A penetração do corante foi de 3,7 : 2,9 : 1,5 : 1,0 para o esmalte bovino decíduo : bovino permanente : humano decíduo : humano permanente, respectivamente. As lesões no esmalte decíduo progrediram de forma mais rápida que no esmalte permanente, tanto para o substrato humano como para o bovino. O esmalte bovino permanente natural ou abrasionado e o esmalte ovino permanente apresentaram uma progressão da lesão semelhante e três vezes mais rápida que o esmalte humano nos métodos avaliados.

FEATHERSTONE et al.³⁸, em 1983, realizou um estudo com o objetivo de comparar dois métodos de avaliação de lesões de cárie artificial em esmalte humano (microrradiografia e microdureza em secção longitudinal). Os espécimes de esmalte humano foram desmineralizados em solução de ácido láctico, em seguida as coroas foram seccionadas através do centro das lesões e cada uma das metades foi avaliada por um dos dois métodos citados. Os resultados mostraram uma relação linear entre a porcentagem de volume mineral determinada pela micro-radiografia e a raiz quadrada da dureza Knoop, obtida pela microdureza, variando a porcentagem de volume mineral de 40 a 90. A equação encontrada foi: porcentagem de volume mineral = $4,3 \times \sqrt{\text{KHN}} + 11,3$. Os autores puderam concluir que os dois métodos podem ser utilizados para medir o conteúdo mineral de uma lesão de cárie,

resultante de uma desmineralização e provável remineralização, com um coeficiente de correlação de 0,919.

JENSEN et al.⁷⁰, em 1990, compararam o efeito de um selante resinoso contendo flúor (Fluorshield) e um selante resinoso sem flúor (Prismashield) na desmineralização do esmalte. Um total de 20 molares humanos hígidos extraídos foram divididos em dois grupos e selados com os materiais citados de acordo com as orientações do fabricante. Em seguida, foram termociclados a 5° e 55°C em água, com banhos de 1 minuto, totalizando 500 ciclos e, em seguida, desmineralizados em solução composta por 2,2 mM de cálcio, 2,2 mM de fosfato, 560 mM de tampão com ácido acético e acetato de potássio, com pH de 4,2, durante 62 horas a 37°C, para formação de cárie artificial. Posteriormente os espécimes foram seccionados e preparados para a leitura em microscópio de luz polarizada para obtenção dos valores de tamanho e profundidade da lesão de cárie. Para o grupo em que foi utilizado o selante sem flúor, a área da lesão apresentava-se 8 vezes (81%) maior quando comparada com o grupo em que foi utilizado o selante com flúor. Em relação à profundidade da lesão, o grupo do selante sem flúor foi 3 vezes (71%) maior que o grupo com flúor, permitindo concluir que o selante fluoretado pode ser eficaz na prevenção da desmineralização do esmalte ao redor do selante.

FORSS; SEPPÄ⁴³, em 1990, avaliaram *in vitro* as propriedades de liberação de flúor e prevenção da desmineralização do esmalte de diferentes materiais. Para o estudo foram utilizados 80 molares humanos extraídos, nos quais foram realizados preparos cavitários nas faces vestibular e lingual e preenchimento destas cavidades com um dos materiais a seguir: CIV Fuji II, CIV Ketac-Fil, CIV Ketac-Silver e resina composta Silar. Um total de 20 dentes foi utilizado como controle, sem que nenhum material fosse utilizado. A coroa de cada dente foi dividida em duas partes para

separar as cavidades e estes blocos foram então submetidos a uma ciclagem de desmineralização (30 minutos diários) e remineralização (saliva artificial, trocada diariamente), por um período de 9 dias. O flúor liberado na saliva foi determinado nos dias um, três, cinco e nove e o conteúdo de flúor no esmalte adjacente à cavidade foi medido antes e após a ciclagem por meio de biópsia ácida. Logo no primeiro dia, a maior quantidade de flúor foi liberada pelo CIV Fuji II, porém no dia nove a maior quantidade liberada foi do Ketac-Fil. A média inicial de flúor no esmalte foi de 2200 ppm, porém após a ciclagem, este conteúdo variou de 1822, 1690, 1693, 1337 e 888 ppm respectivamente, em todos os grupos estudados. Em relação a perda de dureza superficial (0,5 mm da borda do material), o Fuji II e o Ketac-Fil apresentaram os melhores resultados na prevenção da desmineralização.

COOLEY et al.¹⁶, em 1990 avaliaram um selante resinoso com flúor (Fluroshield) comparado a um selante resinoso sem flúor (Helioseal), por meio de um estudo *in vitro*. Os dois materiais foram avaliados em relação a capacidade de penetrar no interior das fissuras, resistência a microinfiltração e liberação de flúor. Para a análise da penetração dos materiais nas fissuras, foram utilizadas as superfícies oclusais de 10 molares humanos extraídos, que receberam condicionamento com o ácido presente no “kit” de cada material, lavagem por 30 segundos e secagem com jatos de ar. Cada um dos materiais foi aplicado em metade da superfície oclusal de todos dentes e fotopolimerizados por 20 segundos. Em seguida, cada dente foi seccionado ao meio no sentido vestibulo-lingual com a utilização de um disco diamantado e os espécimes obtidos de cada material foram avaliados em relação a penetração dos mesmos no interior das fissuras, por meio de um microscópio estereobinocular. Foram adotados três critérios: 1- Bom (penetração e adaptação completa no interior das fissuras); 2- Regular (pequena falha de

adaptação ou penetração); 3- Insuficiente (grandes falhas de adaptação e penetração). Além disso, dois espécimes de cada grupo foram preparados e submetidos à análise por meio de microscopia eletrônica de varredura. Para a análise da microinfiltração foram obtidos 30 blocos de esmalte de molares humanos extraídos para cada material estudado. Os selantes foram aplicados e os espécimes submetidos a ciclagem térmica (800 ciclos a 6° e 60°C, com imersões de 30 segundos) e exposição a um corante (azul de metileno 5%) por 4 horas. Os espécimes foram seccionados e analisados em microscópio de acordo com os seguintes critérios: 0- ausência de microinfiltração; 1- microinfiltração na interface esmalte/selante; 2- microinfiltração no interior das fissuras. Em relação à análise de flúor, 5 corpos de prova foram confeccionados com o selante resinoso Fluorshield e um com o selante Heliocore (controle), em seguida foram imersos em água destilada e o flúor liberado foi analisado diariamente por um período de sete dias. Os resultados mostraram que em relação a penetração dos selantes nas fissuras, não houve diferenças estatisticamente significantes entre os dois materiais. Em relação a microinfiltração, o Heliocore obteve os melhores resultados não ocorrendo infiltração e recorrência de cárie em nenhum dos espécimes incluídos no estudo, enquanto o Fluorshield apresentou o problema em sete espécimes, chegando a atingir o interior das fissuras em três casos. Na análise de liberação de flúor, todos os corpos de prova do Fluorshield liberaram flúor durante todo o período experimental, sendo esta liberação maior no primeiro e segundo dia, caindo para a metade e mantendo-se constantes até o final do período.

SEPPÄ; FORSS¹⁰⁹, em 1991, realizaram um estudo *in vitro* para avaliar a resistência das fossas e fissuras a desmineralização após a perda do selamento realizado com CIV. Foram utilizadas 71 fissuras oclusais livres de cárie de dentes

humanos (molares e pré-molares), sendo 22 seladas com CIV (Fuji III), 24 ampliadas com ponta diamantada e seladas com o mesmo CIV e 25 mantidas sem selamento. Cada amostra foi mantida durante uma semana em água destilada. Após este período, o material selador foi totalmente removido, o máximo possível, com uma sonda exploradora. Todos os espécimes foram recobertos com cera ácido-resistente, mantendo-se livre somente a superfície das fissuras e, em seguida, imersos por sete semanas em ácido láctico 0,1 M, com pH 4,4 em 5% de carboximetilcelulose, provocando assim as lesões artificiais nas fissuras. Os espécimes foram seccionados e analisados em microscópio de luz polarizada, para obtenção da medida da profundidade da lesão. As médias das profundidades das lesões nos grupos controle, fissura natural selada e fissura ampliada e selada foram 142,8 μm , 92,7 μm e 75 μm , respectivamente. Houve diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos selados e o grupo controle (sem selamento). Porém, não houve diferença entre os grupos de fissura natural e fissura ampliada. Estes resultados sugerem que as fissuras seladas com CIV foram mais resistentes a desmineralização do que as fissuras não seladas, mesmo após a perda macroscópica do material. Isto pode ser resultado da combinação do efeito da liberação de flúor do CIV e dos resíduos do material que permaneceram no fundo das fissuras após a perda do mesmo.

HICKS; FLAITZ⁵⁸, em 1992, avaliaram *in vitro* os efeitos de um selante resinoso com flúor (Fluroshield) e de um CIV (Ketac-Fill), comparados a um selante resinoso sem flúor (PrismaShield). Um total de 40 pré-molares humanos extraídos, sem a presença de manchas brancas foram selecionados para este estudo. Após profilaxia com uma pasta sem flúor na composição, cavidades classe V foram preparadas no terço médio das faces vestibular e lingual e em seguida restauradas

com um dos três materiais citados. Os espécimes foram então termociclados (500 ciclos) em água a 5° e 55°C, com um período de 60 s de intervalo entre as diferentes temperaturas. Lesões de cárie artificial foram formadas utilizando um gel de ácido láctico com pH de 4,2, por um período de 6 semanas. Em seguida, os espécimes foram seccionados longitudinalmente para a realização da avaliação da formação de lesões de cárie ao redor das restaurações, em microscópio de luz polarizada. A profundidade da lesão superficial foi significativamente reduzida nos grupos do selante com flúor e com CIV, quando comparados com o selante convencional. O CIV proporcionou uma maior proteção contra a formação de lesões de cárie na interface esmalte/material restaurador. Estes resultados permitiram a conclusão de que materiais restauradores contendo flúor em sua composição podem oferecer maior resistência ao início e progressão das lesões de cárie.

SERRA; CURY¹¹¹, em 1992, realizaram um estudo *in vitro* para avaliar o início e progressão de lesões de cárie no esmalte adjacente a restaurações de CIV, submetidas a ciclos de desmineralização e remineralização, simulando um severo desafio cariogênico. Foram utilizados 21 pré-molares humanos extraídos, que receberam dois preparos cavitários de aproximadamente 2 mm de diâmetro e de profundidade na face vestibular. Em seguida, a coroa foi seccionada longitudinalmente entre os dois preparos e, cada metade foi aleatoriamente restaurada com uma resina composta (Herculite – Kerr/Sybron Corp.) ou com o CIV (Ceram-Fill – DFL). Com as restaurações concluídas, os espécimes foram mantidos em estufa a 37°C, com 100% de umidade, durante 24 h. Em seguida, sofreram desmineralização para formação de lesões de cárie artificial, simulando uma condição de alto desafio cariogênico e foram re-seccionados longitudinalmente através do centro das restaurações. A análise da microdureza em secção

longitudinal (carga de 20 g por 30 s) evidenciou uma perda mineral de 3% para o CIV e de 20% para a resina composta quando avaliado a superfície adjacente ao material. Os resultados mostraram que o CIV interfere na formação e progressão da lesão de cárie, mas não é capaz de prevenir completamente o seu desenvolvimento.

CURY, SAAD, RODRIGUES²³, em 1993, avaliaram um selante contendo flúor (FluorShield – Dentsply / 2% de NaF), nas condições experimentais que simulam o processo DES-RE na boca, verificando a sua capacidade de liberação de flúor e ação anti-cárie. Foram preparados 18 corpos de prova de 188,5 mm². Estes corpos de prova foram divididos casualmente em três grupos de 6, para serem imersos nos meios para avaliação: Grupo I - Água destilada desmineralizada; Grupo II - Saliva artificial, a qual foi filtrada pois o pH foi acertado para 7,0, havendo portanto tendência a cristalização; Grupo III - Soluções desmineralizante (2,0 mM de Ca e P em tampão acetato 0,075 M, pH 4,3) e remineralizante (1,5 mM Ca, 0,9 mM P em tampão Tris 0,1 M, pH 7,0). Os corpos de prova foram imersos individualmente em 1,5 ml dos meios e deixados sob agitação. As soluções foram trocadas diariamente nas seguintes condições: Quando em água ou saliva a cada 24 horas; Quando em Des-Re, permaneciam 6h na Des e 18h na Re, simulando ciclagens de pH de alto risco de cárie, suficientes para provocar a perda mineral no esmalte gerando manchas brancas após 14 dias *in vitro* ou 30 dias *in vivo*. Nas soluções trocadas diariamente foi determinada a quantidade de íon flúor tamponando-se com TISAB e utilizando-se eletrodo específico Orion 96-09 e analisador de íons Orion EA 940. Os resultados mostraram, em todos os tempos, liberação maior de flúor em solução Des-Re do que em água e esta por sua vez maior que em saliva. Independentemente do meio, houve liberação de uma quantidade maior de fluoreto nas primeiras 24 horas, com uma liberação lenta após este tempo, permitindo aos

autores concluir que a propriedade dos materiais dentários em liberar fluoreto deve ser avaliada em condições que contemplem o meio ambiente bucal e conceitos atuais de mecanismos de ação do flúor. O selante FluorShield libera concentrações significativas de fluoreto para o controle do desenvolvimento da cárie.

CREANOR et al.¹⁹, em 1994, realizaram um estudo *in vitro* para primeiramente avaliar as características de liberação de flúor, seguidas da reincorporação e subsequente liberação de fluoretos de cinco cimentos ionoméricos: Ketac Fil, Chemfil Superior, Fuji II LC, Aquacem e Vitrebond. Para ambos os testes, dez discos com 6 mm de diâmetro e 1,5 mm de profundidade, foram confeccionados para cada material. A liberação inicial de flúor foi avaliada por um período de 60 dias. Cada disco foi imerso em 2 ml de água deionizada que foi trocada diariamente (a cada 6 h) durante os 15 dias iniciais e, em seguida, a cada 3 e 4 dias até o final do experimento. Todos os materiais testados liberaram quantidades mensuráveis de flúor, com uma variação considerável no primeiro dia (15,3 – 155,2 ppm). A concentração de flúor liberada no segundo dia diminuiu abruptamente para todos os materiais (6,3 – 44,3). Quanto a reincorporação e liberação de flúor, um protocolo similar foi utilizado, no entanto, todas as amostras foram imersas em 1 litro de água deionizada (trocada diariamente) e mantidas por 60 dias permitindo a liberação da maior parte do flúor. Em seguida, as dez amostras de cada material foram divididas em dois grupos, nos quais cinco discos foram mantidos como controle (água deionizada) e cinco foram expostos a uma solução com 1000 ppm de flúor por dois minutos, a cada dia, durante um período de 20 dias. Os resultados mostraram, que os discos mantidos no grupo teste liberaram quantidades significativamente maiores de flúor que o grupo controle durante os 20 dias. Estes dados confirmam que os CIV

testados podem reincorporar e posteriormente liberar íons flúor em quantidades que podem ser consideradas clinicamente significantes.

DIONYSOPOULOS et al.²⁹, em 1994, avaliaram em um estudo *in vitro* a capacidade de vários tipos de materiais restauradores que liberam flúor em inibir o surgimento de cáries secundárias. Os seguintes materiais foram testados: amálgama rico em cobre (Dispersalloy); amálgama com flúor (Flúor-alloy); resina composta (Valux); resina composta com flúor (Heliomolar); CIV (Fuji); CIV reforçado por partículas metálicas (Ketac-Silver). Foram preparadas cavidades de classe V nas faces vestibular e lingual de 18 pré-molares que, em seguida, foram restauradas com um dos materiais acima citados. Os dentes permaneceram durante 15 dias em gel acidificado, sendo em seguida seccionados longitudinalmente para a realização da avaliação em microscópio de luz polarizada. Os resultados obtidos mostraram que as restaurações com CIV e com o amálgama com flúor podem ajudar a prevenir a ocorrência de cáries recorrentes nas paredes cavitárias e na superfície do esmalte adjacente ao material restaurador.

COSTA et al.¹⁷, em 1995, compararam as quantidades e os padrões de liberação de flúor de dois CIV restauradores convencionais (Chelon Fil e Chelon Silver), um CIVm (Vitremer) e uma resina composta modificada com componentes do CIV (Variglass). Foram preparados 6 espécimes em forma de disco com 11mm de diâmetro e 1,5 mm de espessura para cada material. Os testes foram iniciados pela suspensão dos espécimes em tubos de polietileno contendo 32 ml de água destilada deionizada e armazenados em estufa a 37°C. A cada 24 horas, por um período de 14 dias, a água dos tubos foi trocada e a quantidade de flúor presente na solução anterior foi medida adicionando-se 3,2 ml de TISAB III e utilização de um eletrodo combinado para o íon flúor (ORION 96-09 e 94-09), acoplados a um

analisador de íons digital (PROCYON, modelo AS – 720). Os valores obtidos foram registrados em $\mu\text{gF}^-/\text{mm}^2$. Todos os materiais testados liberaram flúor na água deionizada. Todos os materiais liberaram as maiores quantidades de flúor (de 25,2% a 35,6% da quantidade total) nas primeiras 24 horas, sendo esses valores significativamente maiores que nos períodos posteriores que foram decaindo acentuadamente e tendendo à estabilização com o passar do tempo. Houve diferenças significantes em todas as análises e em todos os dias, exceto na comparação entre o Chelon Silver e o Variglass nas primeiras 24 horas e entre o Vitremer e o Chelon Silver a partir do 3º dia. Quando os materiais fotoativados (Vitremer e Variglass) foram comparados ao CIVc sem partículas de prata (Chelon Fil), estes liberaram quantidades significativamente menores de flúor durante todo o período avaliado. Em relação ao CIVc com partículas de prata (Chelon Silver), o Vitremer, nos primeiro e segundo dias, liberou quantidades significativamente maiores de flúor, comparando-se às do Cermet a partir do terceiro dia. A menor liberação de flúor foi do Variglass. O mecanismo de liberação do flúor *in vitro* dos CIVc mostra uma liberação inicial elevada, seguida de um declínio acentuado e mantida em níveis baixos e constantes por longos períodos de tempo. Todos os materiais liberaram flúor na água deionizada, sendo que as maiores quantidades foram liberadas pelo Chelon Fil, seguido pelo Vitremer, Chelon Silver e Variglass. O padrão de liberação de flúor foi semelhante nas primeiras 24 horas, decrescendo com o tempo e estabilizando-se em níveis mais baixos até o 14º dia do experimento.

SERRA¹¹⁰, em 1995, avaliou *in vitro* o efeito anticariogênico de diferentes materiais contendo flúor. Para isto, preparou cavidades de classe V em blocos de esmalte humano, divididos aleatoriamente em nove grupos: grupo controle, grupos restaurados com resina composta Z 100, Heliomolar e Tetric, compômeros Dyract e

Variglass e grupos restaurados com CIV Vitremer, Photac-Fil e Ketac-Fil. Após os procedimentos restauradores, todos os espécimes, exceto os do grupo controle, foram submetidos a ciclagens de desmineralização e remineralização, por um período de 14 dias, seguindo a metodologia proposta por Featherstone em 1986. Em seguida, os blocos de esmalte foram seccionados longitudinalmente, através do centro das restaurações, e as diferenças no desenvolvimento das lesões de cárie artificiais adjacentes aos materiais restauradores foram quantificadas pelo teste de microdureza Knoop. Com os resultados foi possível concluir que, sob as condições estudadas, o CIVc apresentou maior potencial cariostático que os CIVm. Já os compósitos, mesmo aqueles com flúor na composição, não demonstraram efeito anticariogênico.

GARCIA-GODOY et al.⁵⁰, em 1997, realizaram um estudo *in vitro*, com duração de 30 dias, comparando a quantidade e padrão de liberação de flúor de 5 materiais utilizados como selantes de fossas e fissuras, contendo flúor em sua composição: FluroShield, Helioseal F, Ultraseal XT, Baritone L3 e Teethmate F. O selante resinoso Delton, que não apresenta flúor em sua composição, foi utilizado como controle. Seis corpos de prova de cada material foram confeccionados e imersos em frascos plásticos individuais contendo 4 ml de água destilada e mantidos a uma temperatura de 25°C, para que o flúor liberado fosse mensurado periodicamente, durante um período de 30 dias. Os resultados mostraram que todos os selantes testados liberaram flúor ao longo do período experimental, mantendo um padrão similar. As maiores quantidades de flúor foram liberadas nas primeiras 24h após a manipulação do material, caindo bruscamente no segundo dia e diminuindo de forma lenta até o final do período experimental. No primeiro dia do experimento, o selante Baritone L3 liberou significativamente maiores quantidades de flúor que

todos os outros materiais testados. O Teethmate F liberou as maiores quantidades de flúor, do segundo até o último dia do estudo.

TAM; CHAN; YIN¹²⁶, em 1997, avaliaram *in vitro* o potencial anticariogênico em função da liberação e absorção de flúor, bem como a resistência a um desafio ácido, de diferentes materiais e o efeito do uso de componentes adesivos no desenvolvimento de lesões adjacentes a CIV modificados por resina. Para a avaliação da liberação de flúor, espécimes confeccionados com CIVc (Chemfil II Express), CIVm (Vitremer e Fuji II LC) e resina composta (Bis-Fil) foram imersos em água deionizada e o flúor acumulado foi mensurado após 24 h, uma, duas, quatro e dez semanas. Para a análise da absorção de flúor e de resistência à cárie, foram preparadas cavidades nas faces vestibular e lingual de 16 terceiros molares extraídos, nas quais foram aplicados os materiais restauradores a serem testados, sendo o Fuji II LC, associado ou não a adesivos intermediários. A absorção de flúor pela dentina da parede axial do preparo cavitário foi avaliada após um período de uma a dez semanas por meio de espectroscopia de massa de íon secundário. Para o teste de resistência à cárie, os dentes foram imersos em gel ácido com pH 4,0 durante o período de dez semanas e então analisados por microscopia de luz polarizada. Os resultados mostraram que houve maior liberação e absorção de flúor pelo CIVc, com uma quantidade igual ou menor pelo CIVm e nenhuma liberação e absorção pela resina composta. O uso de condicionamento ácido e aplicação de um primer aumentaram a profundidade de absorção de flúor após uma semana, enquanto a aplicação de adesivo diminuiu esta profundidade. Os autores concluíram que tanto o CIVc, quanto o CIVm, forneceram resistência à dentina contra o desenvolvimento de lesões de cárie na paredes cavitárias, porém não impediram a formação de lesões na superfície do esmalte.

HATIBOVIC-KOFMAN; KOCH; EKSTRAND⁵⁶, em 1997, avaliaram a quantidade, a liberação e a reincorporação de flúor dos seguintes CIV: XR Ionomer; Vitrebond; GC Fuji Lining; Baseline VLC e Zinomer. Quinze corpos de prova de cada material foram confeccionados e imersos em água deionizada, sendo o flúor liberado avaliado diariamente por um período de 11 dias. Para a avaliação quanto a reincorporação de flúor pelo material, os espécimes foram expostos a soluções fluoretadas com 0,02%, 0,04% e 0,2% de NaF por 5 minutos nos dias 11, 16, 21 e 26. O flúor liberado após esta recarga foi mensurado até o dia 32 (final do experimento). Com a análise dos resultados foi possível observar uma correlação positiva entre a quantidade de flúor no CIV e sua capacidade de liberar flúor. Todos os materiais foram capazes de reincorporar flúor após a exposição em solução fluoretada, sendo a solução a 0,2% a mais efetiva. O CIV XR Ionomer liberou quantidade de flúor maior que os outros materiais, além de maior capacidade de recarga. O Zinomer foi o material que menos liberou e recarregou flúor. Os autores concluíram que os CIV podem servir como reserva de flúor e apresentar um efeito prolongado por até 32 dias.

Em 1997, TANTBIROJN; DOUGLAS; VERSLUIS¹²⁸ avaliaram *in vitro* até que distância o CIVm seria capaz de exercer seu efeito cariostático em lesões de cárie artificiais em esmalte bovino. Foram utilizados um CIVm (Vitremmer) e um selante resinoso preparado em laboratório, sem flúor na composição. Dez incisivos bovinos foram seccionados longitudinalmente, sendo no terço cervical da face vestibular de uma das metades, aplicado o Vitremmer e na outra, o selante resinoso experimental. Os espécimes foram mantidos imersos separadamente em uma solução desmineralizante (gel de ácido láctico), por um período de três semanas. As lesões de cárie artificial formadas foram avaliadas pelo método de microdureza longitudinal

(Knoop) nas distâncias de 0,2, 0,5, 1,0, 2,0, 4,0 e 7,0 mm da margem da restauração. Foi possível concluir que houve uma inibição da desmineralização nas amostras restauradas com o CIVm em todas as distâncias testadas, quando comparado com o selante resinoso, sendo mais pronunciada na distância de 1,0 mm do CIV. O CIVm foi capaz de aumentar a resistência à cárie do esmalte localizado a uma considerável distância do material.

Em 1998, SERRA; RODRIGUES JÚNIOR¹¹² realizaram um estudo *in vitro* para avaliar o efeito anticariogênico dos seguintes materiais: Resina composta (RC) Z-100 (utilizada como controle, sem condicionamento ácido e sem adesivo); RC Z-100 utilizada de maneira convencional; RC com flúor Heliomolar; RC com flúor Tetric ; Compômero Variglass; Compômero Dyract; CIVm Vitremer; CIVm Photac-Fil; CIVc Ketac-Fil. Para isso, foram confeccionados blocos de esmalte humano (15 terceiros molares extraídos), que receberam preparo cavitário e restaurações com os materiais citados acima. Após 48 h, período esperado para que ocorra a finalização da reação de presa dos materiais, os espécimes foram submetidos a um modelo de ciclagem de pH (solução des-re) e ciclagem térmica, foram fotografados e examinados por 9 avaliadores (método sensorial), sendo classificados de acordo com escores que variavam de 0 a 3: 0- ausência de lesão de cárie; 1- presença de cárie incipiente ou paralisada; 2- presença de cárie ativa moderada; 3- presença de cárie ativa avançada. Foi observado maior efeito protetor pelos CIV, não existindo diferenças estatisticamente significantes entre eles, pequeno efeito pelos compômeros e nenhum efeito pelas RC com flúor na composição.

AMAECHI; HIGHAM; EDGAR³, em 1998, preocupados com a infecção que os estudos *in situ* utilizando substrato bovino ou humano podem provocar, realizaram um trabalho avaliando 4 métodos de esterilização (autoclave, radiação gama,

hipoclorito de sódio e povidine-iodine) de blocos de incisivos bovinos. Após a extração, os dentes foram mantidos em solução de timol a 0,1%. A contagem de microorganismos remanescentes após a esterilização apontou o crescimento de *S. aureus* e bacilos, apenas no grupo controle. Em seguida, os blocos foram desmineralizados *in vitro* e a perda mineral e a profundidade da lesão foram avaliadas através de microrradiografia. Houve diferença entre a lesão de cárie artificial criada nos dentes esterilizados por diferentes métodos, que não foi estatisticamente significativa quando comparada ao grupo controle. Nos blocos de esmalte do grupo controle encontravam-se microorganismos comensais da mão e pele, ao contrário de *S. mutans*, *S. sanguis* e outros microorganismos cultivados de dentes imediatamente após a extração. Estes resultados sugerem que a imersão em solução de timol a 0,1% foi suficiente para evitar a infecção cruzada, não sendo necessário a utilização de nenhum outro método de esterilização, desde que os blocos de esmalte sejam manipulados de forma asséptica.

VIEIRA; SOUZA; MODESTO¹³⁷, em 1999, avaliaram a incorporação e liberação de flúor de uma resina composta (Heliomolar), um CIV convencional (Chelon Fil), um CIVm (Vitremer) e dois compômeros (Variglass e Dyract), em situação de alto desafio cariogênico. Quinze corpos de prova de cada material foram confeccionados e submetidos a 14 dias de severo desafio cariogênico em soluções des-re. A partir do oitavo dia, foram expostos a uma solução de dentifrício fluoretado (1 g de dentifrício fluoretado : 3 mL de água deionizada), duas vezes ao dia, durante 5 minutos e o flúor liberado nas soluções foi quantificado. Todos os materiais avaliados liberaram flúor em quantidades mensuráveis, com exceção da resina composta Heliomolar (dia 4 ao 7), na solução desmineralizante. Os demais materiais liberaram quantidades significativamente maiores de flúor na solução de

desmineralização que na de remineralização durante quase todo o experimento. Todos os materiais foram capazes de absorver flúor a partir da solução de dentifrício e liberá-lo posteriormente, permanecendo em níveis constantes. A resina composta foi o material que apresentou menor liberação de flúor.

SMALES; GAO¹²², em 2000, avaliaram a capacidade de CIVav indicados para realização de ART em inibirem a desmineralização do esmalte por meio de um estudo *in vitro* em que foram utilizados 24 pré-molares humanos hígidos, nos quais foram preparadas cavidades com as paredes localizadas em esmalte, que foram preenchidas com um dos seguintes materiais: Fuji IX, Fuji IX GP, Ketac-Molar e Compoglass. Os dentes foram submetidos a 300 ciclos de termociclagem, a uma temperatura de 5° e 55°C, antes de serem expostos a desmineralização (solução de ácido láctico a 0,1 M com 1 g / L de hidroxiapatita dissolvida), com pH de 4,7, durante 4 semanas. Em seguida, os espécimes foram seccionados através das restaurações e avaliados em microscópio de luz polarizada. Os resultados mostraram que o Ketac-Molar e o Compoglass apresentaram erosão superficial significativamente menor que os outros materiais. Em relação ao esmalte, os CIVav (Fuji IX, Fuji IX GP e Ketac-Molar) apresentaram maior inibição da desmineralização do tecido adjacente às margens da restauração que o Compoglass, fornecendo considerável proteção ao esmalte.

Em 2000, KARANTAKIS et al.⁷¹ em um estudo *in vitro* avaliaram a quantidade e forma de liberação de flúor de três CIV, um reforçado com partículas metálicas (Argion) e dois CIVm (Vitremer e Fuji II LC), comparados a um compômero e uma resina composta com flúor na composição (Tetric). Foram confeccionados 21 corpos de prova (10 mm de diâmetro e 1,5 mm de altura) de cada material que foram divididos em três grupos (cada grupo era composto por 7 corpos de prova de cada

material). Os espécimes foram colocados em um recipiente de plástico contendo 7 ml de água destilada para o Grupo I; 7 ml de saliva artificial para o Grupo II e 7 ml de ácido láctico para o Grupo III. Todos os grupos foram mantidos a uma temperatura de 37°C durante todo o período experimental. A quantidade de flúor liberada foi analisada por um período de 16 semanas seguindo o intervalo de 4, 8, 12 e 24 h, passando para 2, 3, 7, 14, 28, 56 e 112 dias. Os resultados mostraram que todos os materiais avaliados liberaram flúor durante todo o período experimental, sendo as maiores quantidades liberadas pelo CIV reforçado com partículas metálicas, seguido pelos CIVm, compômero e resina composta respectivamente. O pH das soluções utilizadas para avaliação afetou consideravelmente a quantidade de liberação de flúor pelos materiais. Houve diferença significativa ($p < 0,001$) nas quantidades de flúor liberadas em ácido láctico x água deionizada e saliva artificial, no entanto, não houve diferença estatística nas quantidades de flúor liberadas em água x saliva artificial. Os autores puderam concluir que quanto menor o pH do meio, maior foi a quantidade de flúor liberada pelos materiais, apresentando os CIV, melhor desempenho quando comparados ao compômero e a resina composta.

HICKS; FLAITZ; GARCIA-GODOY⁶², em 2000, realizaram um estudo *in vitro* para avaliar os efeitos de um selante resinoso com flúor (Fissurit-F), comparado a um selante resinoso convencional sem flúor na composição (Fissurit) no processo de formação de cárie artificial em esmalte. Para o estudo foram utilizados 12 molares hígidos, seccionados cada um em 4 fragmentos que receberam preparos cavitários, condicionamento ácido e aplicação do material selador nas superfícies vestibular e lingual da seguinte maneira: 1- nas regiões mesio-vestibular e mesio-lingual, foi aplicado o selante fluoretado; 2- nas regiões disto-vestibular e disto-lingual, foi aplicado o selante não fluoretado. Em seguida, os fragmentos foram termociclados

(500 ciclos) em saliva artificial e mantidos imersos em um gel ácido para a formação (após 6 semanas) e progressão (após nove semanas) da lesão de cárie artificial. Após seis semanas de exposição ao gel, os fragmentos foram seccionados para a avaliação da progressão da lesão em microscópio de luz polarizada. As médias de profundidade da lesão apresentaram diferença estatisticamente significativa entre os grupos estudados, sendo de 169 μm e 221 μm , para o grupo 1 e 2, respectivamente. Os resultados mostraram que o selante com flúor na composição apresentou um efeito inibidor da progressão da lesão de cárie, com redução significativa da profundidade da lesão na superfície do esmalte adjacente ao material, servindo como um reservatório de flúor para liberação no meio bucal.

Em 2000, HICKS; FLAITSZ⁶⁰ avaliaram a ocorrência de desmineralização em esmalte oclusal adjacente a um CIVm experimental (PH-SE II) utilizado como selante de fossas e fissuras e um selante resinoso fotopolimerizável com flúor (Helioseal F). Um total de doze molares humanos inclusos e hígidos foram seccionados longitudinalmente no sentido vestibulo-lingual, obtendo-se uma metade mesial e outra distal do elemento dentário. Na superfície oclusal correspondente a metade mesial, foi aplicado o CIVm experimental e como comparação, na metade distal, foi aplicado o selante resinoso com flúor. Todas as superfícies oclusais seladas foram analisadas por meio de microscopia eletrônica de varredura com a finalidade de verificar a adaptação dos dois materiais no interior das fossas e fissuras. Em seguida, os dentes foram submetidos a termociclagem em saliva artificial (500 ciclos de 5° e 55°C) e expostos a um gel acidificado (pH de 4,5, 1 mM de cálcio, 0,6 mM de fosfato, < 0,05 mM de flúor) durante seis semanas, para a formação das lesões no esmalte oclusal adjacente aos materiais seladores. Cada metade foi seccionada ao meio para avaliação da profundidade da lesão por meio de microscopia de luz

polarizada. Os resultados mostraram que houve diferença significativa na profundidade da lesão entre os dois materiais, com o CIV apresentando valores 45% menores que o selante resinoso. Ambos os materiais encontravam-se bem adaptados às fissuras promovendo proteção do esmalte quanto à formação de lesão de cárie. As lesões oclusais ocorreram somente no esmalte que não se encontrava protegido pelos materiais seladores, sendo o CIV capaz de reduzir a extensão dessa lesão no esmalte não selado próximo ao material.

DIONYSOPOULOS; KOTSANOS; PATARIDOU³⁰, em 2003, realizaram um estudo para comparar a liberação e reincorporação de flúor por um CIVav (Ketac-Molar), um CIVm (Vitremer) e dois compômeros (F-2000 e Hytac). Foram confeccionados 15 corpos de prova com cada material, que foram imersos em água deionizada e o flúor liberado medido a cada dois dias, durante um período de 22 dias. Os espécimes foram expostos a soluções de NaF a 0,02, 0,04 e 0,2%, por cinco minutos, nos dias 22, 30, 38 e 46. Em seguida, o flúor liberado após a recarga foi medido a cada dois dias até que se completasse 54 dias de experimento. Os autores observaram que a liberação de flúor foi mais elevada durante os primeiros dias após a manipulação e inserção dos materiais, diminuindo consideravelmente e mantendo-se de forma lenta e constante o restante do período. O material que liberou uma maior quantidade de flúor antes da recarga foi o Vitremer, seguido pelo F-2000, Ketac-Molar e Hytac, com diferenças significantes entre eles. O Ketac-Molar liberou menos flúor que o Vitremer e o F-2000 e a recarga de flúor mais efetiva foi com a solução de 0,2%.

BOMBONATTI¹⁰, em 2004, realizou um estudo *in vitro* para avaliar a liberação de flúor e o efeito anticariogênico de um CIVm (Vitremer) em três proporções pó-líquido (1 : 1; ½ : 1; ¼ : 1) em comparação a dois selantes resinosos (Vitremer e Vitro-seal

Alpha e Fluoroshield). Para a avaliação da liberação de flúor foram confeccionados 16 corpos de prova para cada grupo, sendo oito imersos em água deionizada e oito imersos em soluções de desmineralização e remineralização, sendo então submetidos a ciclagem de pH. Em seguida, a concentração de flúor foi quantificada após um, sete e quinze dias. Para a avaliação do efeito anticariogênico foram utilizados doze blocos de esmalte humano hígidos, nos quais foram preparadas cavidades que foram restauradas com o CIV nas diferentes proporções estudadas e com os selantes resinosos. Todos os blocos foram submetidos a uma ciclagem de pH durante um período de sete dias, sendo em seguida, analisados quanto a microdureza superficial e em secção longitudinal do esmalte. Os resultados mostraram que todos os materiais liberaram mais flúor na ciclagem de pH, sendo o Vitremer diluído à $\frac{1}{4} : 1$ o material que apresentou a maior liberação em todos os períodos analisados, seguido pela proporção de $\frac{1}{2} : 1$, $1 : 1$, Fluroshield e Vitro-seal Alpha. Os valores de porcentagem de perda de dureza superficial e porcentagem de volume mineral evidenciaram que o CIV foi o material que proporcionou maior proteção ao esmalte, principalmente na proporção de $\frac{1}{4} : 1$, tanto na superfície como nas profundidades de 30 e 60 μm , não existindo diferença entre os grupos na profundidade de 90 μm .

LOBO et al.⁸¹, em 2005, avaliaram o efeito de selantes sobre a desmineralização do esmalte *in vitro*, focando a proteção física do esmalte selado e a proteção pela ação do flúor no esmalte adjacente não selado. As fissuras oclusais com uma área de 12 mm² (3 mm de largura e 4 mm de profundidade) foram delimitadas em 48 molares extraídos, divididos de forma randomizada em 4 grupos (n=12): Grupo I - nenhum selamento; Grupo II - selamento com CIVm (VitremerTM, 3M ESPE), na proporção de 1:2 pó/líquido; Grupo III - selamento com selante

resinoso contendo flúor (Climpro Sealant™, 3M ESPE); Grupo IV - selamento com um selante resinoso sem flúor na composição (Concise™, 3M ESPE); Para todos os materiais testados foi realizado condicionamento com ácido fosfórico a 35%, durante 15 segundos e lavagem pelo mesmo tempo. Uma janela de 4 mm² foi confeccionada no esmalte vestibular para a análise do flúor liberado. As razões para a delimitação das áreas oclusal e vestibular foram, respectivamente, padronizar o volume de material aplicado e criar uma área de esmalte distante para posterior análise do flúor obtido. As coroas dos dentes foram fixadas com fio ortodôntico, identificadas e isoladas com um esmalte de unha ácido-resistente, exceto as áreas oclusal e vestibular previamente delimitadas. Os grupos 2, 3 e 4 foram submetidos, durante 5 dias, a uma ciclagem de pH simulando um alto desafio cariogênico (imersão em 0,5 ml de solução desmineralizadora, por 6 h, a 37°C; lavagem em água deionizada por 10 segundos; secagem com papel absorvente; imersão em 0,5 ml de solução remineralizadora, por 18 h, a 37°C), enquanto o grupo 1 foi mantido em meio úmido à uma temperatura de 37° C. A quantidade de flúor no esmalte foi estimada através da realização da biópsia ácida do esmalte, e a quantidade de flúor liberada foi determinada na solução de ciclagem pela análise de íons flúor. O esmalte desmineralizado ao redor dos selantes foi avaliado através da análise da microdureza em secção longitudinal (25 g por 5 s), nas distâncias de 10, 20, 30, 40 e 50 µm, 100 µm acima e 100 µm abaixo da margem do selante. Os resultados mostraram que não houve diferença significativa no nível de flúor liberado durante a ciclagem de pH entre o selante resinoso com flúor e o selante resinoso sem flúor. No entanto, o CIVm (vitremer) liberou maior quantidade de flúor do que todos os outros grupos. Houve diferenças estatisticamente significantes de flúor incorporado entre os selantes para a primeira camada de esmalte, com o grupo do CIVm mostrando as

maiores quantidades de flúor incorporado, comparado com os selantes resinosos com e sem flúor e com o grupo controle. Na segunda e terceira camadas, no entanto, não houve diferenças estatisticamente significantes. Não houve diferenças estatisticamente significantes entre todos os grupos na região de esmalte selado. No entanto, na região de esmalte não selado, nas profundidades de 10 e 20 µm da superfície do esmalte, o grupo 2 mostrou menor desmineralização que os grupos 3 e 4. Nas demais profundidades, os grupos 2 e 3 não diferiram entre si, mas houve diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo 4. A capacidade de liberação de flúor dos CIVm proporcionaram efeito cariostático tanto em áreas próximas quanto distantes do material selador, sendo esta propriedade especialmente benéfica para pacientes de alto risco à cárie.

PIN et al.¹⁰⁰, em 2005, avaliaram o efeito protetor de materiais restauradores estéticos aplicados em esmalte bovino, sob condições de severo desafio cariogênico *in vitro*. Cavidades foram preparadas em blocos de esmalte bovino hígidos e desmineralizados (lesões de cárie artificial) que foram restauradas com os seguintes materiais: CIVc (Ketac-Molar), CIVm (Vitremer), compômero (Dyract AP) e resina composta (Z-250). Todos os espécimes foram submetidos a ciclagens de desmineralização e remineralização, durante 14 dias, simulando uma situação de severo desafio cariogênico. Após este procedimento, os blocos foram seccionados longitudinalmente através do centro das restaurações e a perda de volume mineral foi quantificada por meio dos testes de microdureza Knoop, em três diferentes distâncias das paredes cavitárias e em oito profundidades distintas em relação à superfície externa do esmalte. A análise dos resultados mostrou diferenças significantes entre os grupos, embora nenhum dos materiais tenha sido capaz de impedir completamente a formação da lesão. O Vitremer demonstrou o maior efeito

protetor em esmalte hígido. O Ketac Molar, em esmalte hígido ou desmineralizado, bem como o Vitremer em esmalte desmineralizado, apresentaram efeito protetor intermediário. A resina composta Z-250 e o compômero Dyract AP não ofereceram nenhum efeito protetor. Os autores concluíram que a utilização de materiais com ação cariostática pode ser considerada importante no controle de lesões de cárie adjacentes a restaurações, por interferirem na progressão da lesão, principalmente em situações de alta atividade de cárie.

RODRIGUES et al.¹⁰⁴, em 2005, avaliaram *in vitro* o efeito anticariogênico de materiais restauradores com e sem flúor na composição, associados ao uso de dentifrícios fluoretados e não fluoretados em esmalte humano. Foram utilizados os seguintes materiais: CIVm Fuji II LC; CIVc Ketac-Fil; Compômero F-2000; Degufil Mineral; Resinas compostas Sure Fil e Z 250. Cavidades classe V foram preparadas em 240 blocos de esmalte, restauradas com os materiais estudados que em seguida foram divididos em doze grupos (seis materiais e dois dentifrícios). Após a restauração, os blocos foram submetidos à ciclagem térmica por meio de 1000 ciclos, nas temperaturas de 5° e 55°C em água deionizada, além de ciclagem de pH durante 14 dias, com soluções de des-re. Durante esta ciclagem, soluções de dentifrício fluoretado e não fluoretado foram aplicadas por 5 minutos entre as soluções de des-re. As lesões de desmineralização foram classificadas em escores de 0 a 3, por cinco examinadores. Os resultados mostraram que não houve diferença entre os materiais com o uso de dentifrício fluoretado. O Ketac-Fil, seguido pelo Fuji II LC (sem diferença estatisticamente significante entre eles) e pelos outros materiais (sem diferença estatisticamente significante em relação ao Fuji II LC), apresentou o maior efeito cariostático quando associados ao dentifrício não fluoretado. O Ketac-Fil foi o único material que não apresentou diferença com o uso

de dentifrício com e sem flúor. Os autores concluíram que a associação de materiais restauradores com dentifrícios fluoretados promoveu maior efeito anticariogênico exceto para o Ketac-Fil.

MUELLER et al.⁹⁰, em 2006, realizaram um estudo *in vitro* para avaliar a progressão de lesões de cárie iniciais em esmalte após o selamento das mesmas com um selante resinoso (Heliobond) ou vários adesivos (Heliobond, Excite, Resulcin Monobond, Solobond M, Prompt L-Pop). Foram confeccionados 54 espécimes de esmalte bovino, nos quais foram deixadas três janelas para a realização do experimento, sendo o restante do esmalte protegido com esmalte cosmético para unhas (controle). Após a desmineralização em solução com pH 5,0 por 14 dias, duas das janelas (A e B) receberam condicionamento com ácido fosfórico a 20% por 5 segundos, enquanto a outra janela restante (C), serviu como controle. Os espécimes foram divididos em seis grupos (n=9), um para cada material estudado que em seguida, foi aplicado uma ou duas vezes, sendo fotopolimerizado após cada aplicação. Metade da área das janelas foi recoberta com o esmalte cosmético e os espécimes novamente imersos na solução desmineralizadora por 14 dias. Em seguida, foram seccionados longitudinalmente, infiltrados com resina de baixa viscosidade fluorescente (VIRIN) e analisados em microscopia confocal a laser, para determinação da profundidade da lesão. Após a desmineralização inicial, a média da profundidade das lesões foi de 105 µm. A segunda exposição provocou uma progressão da profundidade da lesão em 52%. Os materiais Prompt L-Pop e Solobond M não preveniram a progressão da lesão, enquanto o Heliobond, Heliobond, Resulcin Monobond e Excite apresentaram maior proteção contra a desmineralização. Desta forma, foi possível concluir que a penetração de adesivos em lesões iniciais de cárie inibiu a progressão das mesmas *in vitro*.

2.4 Trabalhos de revisão

ARENDS; ten BOSCH⁶, em 1992, em uma revisão de literatura compararam as técnicas experimentais para avaliar a perda (desmineralização) ou ganho mineral (remineralização) da superfície do esmalte e da dentina, em modelos de estudo intrabuciais *in situ*, desvendando o quanto e em que local ocorrem. As técnicas utilizadas para quantificar o conteúdo mineral são: microrradiografia, absorção de iodo, análise da microdureza, luz polarizada, dispersão de luz, permeabilidade ao iodo e análise química. Todas as técnicas são comparadas sobre a sua capacidade em determinar o conteúdo mineral (% de volume mineral), as mudanças desse conteúdo, bem como sua distribuição. Os autores concluíram que, a microrradiografia transversal é a técnica mais prática de medir diretamente o conteúdo mineral de forma quantitativa, as trocas minerais e a distribuição dos minerais na superfície, enquanto a técnica de avaliação da microdureza em secção longitudinal e dispersão de luz medem o conteúdo mineral de forma quantitativa indireta, sendo práticos para a determinação da porcentagem de volume mineral em estudos intrabuciais.

ÖGAARD; RÖLLA⁹⁴, em 1992, escreveram uma revisão sobre os substratos utilizados para modelos de cárie intrabuciais. Vários fatores como esmalte humano x bovino, tecidos hígidos x desmineralizados, tipo de lesão, dentina x esmalte, severidade do desafio cariogênico e microbiota, podem interferir nas reações do tecido mineralizado e no desenvolvimento e progressão da lesão. Alguns modelos utilizam dentes que ainda estão presentes na cavidade bucal do indivíduo (modelos *in vivo*), enquanto os modelos *in situ* são baseados em blocos obtidos da estrutura dentária. Em relação ao desafio cariogênico, os modelos que utilizam um moderado

desafio normalmente mostram uma resposta de flúor em função da dose. No entanto, a cárie dentária é um problema cada vez mais limitado a um grupo de pacientes de alto risco e as lesões localizadas em áreas onde um desafio elevado existe, como nas regiões de fossas e fissuras, sendo necessários modelos que mimetizem esta situação. Um dos requisitos para um modelo intrabucal que produza um alto desafio cariogênico seria a capacidade de desmineralizar a fluorapatita. Um desafio para novas pesquisas seria o desenvolvimento de agentes que tenham um melhor efeito clínico nas fossas e fissuras. Mais pesquisas devem ser realizadas para o entendimento do processo de desmineralização, fornecendo melhores resultados clínicos, devendo um modelo de cárie intrabucal, idealmente, conter o maior número possível de condições naturais presentes na cavidade bucal, minimizando o grau de artificialidade.

Em 1992, FEATHERSTONE; ZERO⁴⁰ demonstraram que estudos *in situ* utilizados para avaliar a capacidade dos materiais odontológicos em favorecer a remineralização e diminuir ou inibir a desmineralização do esmalte, devem apresentar um delineamento preciso buscando minimizar os efeitos das muitas variáveis envolvidas. O controle destas variáveis é fundamental para a obtenção de respostas significativas e confiáveis. Relatam um modelo *in situ* que combina vários fatores. Os critérios de seleção dos sujeitos devem incluir boa saúde geral, boa saúde bucal, prótese parcial mandibular (para protocolos de estudo que envolvem a instalação de dispositivos no arco inferior), presença de pelo menos oito dentes na cavidade bucal, não apresentar nenhuma lesão de cárie ativa, conhecimento do histórico de flúor, função salivar normal e nenhuma medicação que afete a função salivar. Cada sujeito participante da pesquisa recebe blocos de esmalte hígido e/ou desmineralizado, *in vitro*, de cada lado de sua prótese, para períodos de teste de

duas a quatro semanas. O desafio cariogênico é controlado por imersões extrabuciais diárias da prótese em solução de sacarose. Os produtos ou alimentos testados são expostos como desejado. Deve-se fazer, durante o período experimental, relatórios de dieta, avaliação do fluxo salivar não estimulado, acidogenicidade da placa dentária e flúor na saliva. Terminado o período experimental, os espécimes são avaliados quanto às alterações no conteúdo mineral por meio da leitura da microdureza em seção longitudinal ou micro-radiografia. Neste modelo de estudo, a desmineralização ocorre em espécimes hígidos e desmineralizados na ausência de flúor ou outros agentes protetores. Tem a capacidade de diferenciar sistemas de liberação de flúor e de avaliar outros agentes protetores, além deste, utilizando pequenos grupos de sujeitos.

ZERO¹⁴⁸, em 1995, publicou uma revisão de literatura sobre modelos *in situ* utilizados para estudo do processo de formação da cárie dentária e outras situações como, o efeito da dieta sobre a cárie e o papel do flúor na prevenção deste problema na dentição natural. Envolvem o uso de dispositivos que criam condições definidas na cavidade bucal de humanos, simulando o processo natural de desenvolvimento da cárie dentária, servindo como ponte entre uma situação laboratorial altamente controlada e uma situação clínica natural não controlada. Os parâmetros fundamentais que devem ser considerados no desenvolvimento de um modelo *in situ* são as características do sujeito da pesquisa, o desenho físico do modelo, o tipo de substrato, o delineamento e protocolo clínico, além do método de avaliação do conteúdo mineral. Esses modelos reproduzem a natureza multifatorial da cárie dentária, incluindo um substrato dentário (esmalte ou dentina), formação ou presença de biofilme bacteriano com potencial cariogênico, desafio cariogênico promovido pela dieta ou controlado experimentalmente, além do tempo determinado

pelo cumprimento do período experimental, fornecendo informações clinicamente relevantes em um curto período de tempo, sem causar danos irreversíveis na dentição natural do sujeito da pesquisa. O autor ressalta ainda, que blocos de esmalte bovino são menos variáveis, mais porosos e por este motivo desmineralizam mais rápido e são considerados uma alternativa viável ao esmalte humano, reduzindo o tempo do período experimental e a variabilidade da resposta do substrato utilizado. Em função da complexidade da natureza da lesão de cárie, uma combinação de substratos pode ser necessária, como a utilização de esmalte hígido, esmalte com lesão superficial e subsuperficial. O autor defende ainda, o uso da microdureza superficial como método de análise mineral, por ser altamente sensível e reprodutível, podendo ser utilizado em estudos iniciais de desmineralização e remineralização.

SIDHU; WATSON¹¹⁴, em 1995 publicou um artigo sobre os CIV modificados por resina e suas características, relatando que estes materiais são híbridos dos CIVc acrescidos de resina fotopolimerizável, apresentando propriedades intermediárias dos dois materiais, com algumas características superiores ao CIV convencional. Apresentam características de ambos, como adesão à estrutura dentária, estética, liberação de flúor e presa rápida pela utilização de luz visível. Possuem ainda a reação fundamental ácido-base a qual é acrescentada um processo de presa secundária iniciada pela luz. Porém, estes materiais tomam presa mesmo na ausência de luz. Com relação à liberação de flúor e efeito cariostático, os autores encontraram na literatura consultada, que os CIVm liberam pelo menos as mesmas quantidades de flúor que os convencionais, podendo variar de acordo com a formulação das diferentes marcas comerciais. Relataram também, que esta alteração na formulação não afetou as propriedades de inibição da formação do

processo de cárie, atribuída à liberação de flúor, sendo esta uma grande vantagem dos CIVm sobre as resinas compostas. Outros fatores relacionados às propriedades físicas, como a adesão, sensibilidade à umidade, desgaste e resistência, ainda precisam ser mais pesquisados, embora ressaltem que estes materiais sejam bastante promissores.

KILPATRICK⁷⁶, em 1996, em uma revisão de literatura abordou as aplicações dos CIV em Odontopediatria. O autor ressalta que o tratamento odontológico para o paciente infantil deveria ser rápido, simples, aceitável, indolor e suficientemente durável. Entretanto, relatou que ainda não há um material capaz de preencher todos estes requisitos, mas chamou a atenção para os CIV, que apresentam propriedades importantes como a capacidade de se aderir quimicamente ao esmalte e dentina, além da liberação de flúor. No que diz respeito ao uso do CIV como selantes de fossas e fissuras, encontrou consideráveis evidências *in vitro* de que este material é capaz de reduzir a extensão da desmineralização ao redor de restaurações. Além disso, encontrou evidências tanto *in vivo* como *in vitro* de que os CIV não somente previnem a formação de novas lesões de cárie, como favorecem a remineralização de lesões pré-existentes.

Em 1996, FEATHERSTONE³⁷ realizou uma revisão de literatura sobre modelos de estudo utilizados para simular o processo de formação de cárie e explicar como estes modelos podem ser empregados com a finalidade de avaliar as propriedades preventivas dos materiais dentários. As pesquisas foram classificadas de acordo com as seguintes categorias: 1- desmineralização *in vitro* usando tampões ácidos; 2- desmineralização *in vitro* usando ácidos produzidos por bactérias; 3- remineralização *in vitro* utilizando ciclagem de pH; 4- cavidade bucal artificial em que um desafio ácido criado por bactérias é intercalado com tratamentos com saliva; 5-

modelo *in vivo* em animais; 6- des-remineralização *in situ* usando blocos ou fatias de esmalte ou dentina na cavidade bucal humana; 7- estudos *in vivo* usando dentes com indicação de extração presentes na cavidade bucal humana. O autor ressalta que muitos materiais odontológicos são avaliados simplesmente pelos estudos de desmineralização *in vitro* ou de liberação de componentes, sendo inadequados para responder dúvidas sobre o potencial de inibição de cárie dos mesmos. O método experimental deve ser escolhido com cuidado para garantir que o material seja estudado corretamente e obtenha resultados clínicos confiáveis.

ten CATE; van LOVEREN¹³⁰, em 1999, realizaram uma revisão de literatura sobre o mecanismo de ação do flúor, salientando que após a erupção do dente, a hidroxiapatita está sujeita a interações com a saliva e o fluido da placa. Por meio do consumo de carboidratos fermentáveis ocorre uma queda no pH da cavidade bucal que, se atingir valores abaixo de 5,5, promove uma subsaturação de cálcio e fosfato. Desta forma, os cristais de esmalte começam a se dissolver, liberando íons hidroxila e fosfato. Com a ação da saliva sobre o biofilme dentário e a dissolução desses minerais, existe uma tendência a uma volta do pH às condições de neutralidade, ocorrendo a reprecipitação dos minerais sobre os cristais remanescentes. Com a saída da hidroxila, o flúor pode ser incorporado aos cristais, tornando o esmalte mais resistente ao desafio cariogênico, promovendo sua maturação pós-eruptiva. Entretanto, o flúor mais relevante para a prevenção da cárie não é a fluorapatita e sim, o flúor fracamente unido ao esmalte, que é adsorvido à apatita ou na forma de depósitos de flúor, como o CaF_2 . Desta maneira, a aplicação de flúor no esmalte com a finalidade de produzir altos níveis deste íon incorporado não é um método eficiente para a prevenção da cárie. Os materiais que liberam flúor permitem uma baixa recorrência de cárie, pois nas proximidades do material, existem níveis de flúor

com capacidade de fortalecer o esmalte auxiliando no combate à cárie. Este estudo revela que é mais efetivo utilizar métodos freqüentes, em baixas concentrações, que métodos de baixa freqüência e altas concentrações, pois assim serão mantidos níveis significativos de flúor na saliva e no fluido da placa.

Em uma revisão sobre a disponibilidade e destino do flúor no ambiente bucal, EKSTRAND; OLIVEBY³⁴, em 1999, enfatizaram que a parte fundamental do efeito cariostático do flúor ocorre em função de sua concentração nos fluidos próximos à estrutura dentária. A exposição ao flúor resulta em uma ligeira elevação dos níveis constantes do mesmo nos fluidos bucais, principalmente na saliva e nos fluidos da placa. Entretanto, pouco se sabe sobre a concentração de flúor necessária para a obtenção de um efeito cariostático no local de ação. As concentrações de flúor na cavidade bucal dependem do veículo e do conteúdo de flúor utilizado, além da qualidade do fluxo salivar. Este flúor pode ser ionizado na saliva, no fluido da placa, unido à placa, unido como CaF_2 , unido ao esmalte e aos tecidos moles, sendo distribuído aos tecidos bucais por difusão. O biofilme dentário, quanto exposto ao flúor, tem a capacidade de mantê-lo armazenado por um determinado período, liberando-o posteriormente, sendo esta concentração de flúor significativamente maior que a disponível na saliva, devido às diferenças no fluxo salivar nas diferentes localidades da cavidade bucal. Porém, mais estudos são necessários para desvendar completamente o mecanismo de retenção e distribuição do flúor na cavidade bucal.

SONJU CLASEN; ÖGAARD¹²³, em 1999, em uma revisão de literatura dissertaram sobre os modelos experimentais intrabucais utilizados para pesquisas com flúor. Foram estudados os modelos intrabucais pré-clínicos, modelos *in situ* e *in vivo* de vários tipos, bem como suas vantagens e desvantagens. Os autores

relataram que os processos de preparo e esterilização do substrato dentário podem interferir nos resultados e que a utilização de irradiação gama é o método que causa o menor dano. O método experimental considerado ideal é o modelo *in vivo*, seguido pelo *in situ* por meio da utilização de espécimes naturais. Em relação aos métodos para avaliação dos resultados de des-remineralização obtidos, o mais direto e preciso é a microrradiografia quantitativa transversa, enquanto a microscopia confocal a laser é o método qualitativo mais sensível. Outros métodos também utilizados com frequência são a microdureza e a permeabilidade ao iodo. Os autores recomendam que sejam realizados estudos que simulem condições de alto desafio cariogênico, testando combinações e doses de flúor que possam prevenir o desenvolvimento de lesões de cárie, de forma mais efetiva que promover a remineralização.

Em 1999, RANDALL; WILSON¹⁰¹ realizaram uma revisão sistemática da literatura baseada em estudos *in vivo* com a finalidade de avaliar a capacidade do CIV em inibir o aparecimento de cárie recorrente nas margens das restaurações. Com a definição dos critérios de inclusão e exclusão, foram considerados 52 trabalhos. Os autores concluíram que não existem evidências científicas conclusivas da eficácia dos cimentos ionoméricos em inibir o aparecimento de cárie secundária. Isto pode ter ocorrido em função da diversidade de materiais utilizados nos estudos analisados e também pela falta de metodologias coerentes e padronizadas para estudos clínicos de longa duração.

SIMONSEN¹²¹, em 2002, realizou uma revisão de literatura a respeito de selantes de fossas e fissuras, discutindo sobre estudos laboratoriais, preparo do substrato dentário, técnicas de aplicação dos materiais, indicação com a finalidade de prevenção da cárie dentária, selantes com flúor na composição, o uso de CIV

como selantes, custo-benefício, além de outros pontos importantes. Salientou que os selantes são procedimentos seguros e efetivos e que deveriam ser indicados para pacientes com alta atividade e risco à cárie, podendo até mesmo ser aplicados por auxiliares capacitadas para este fim. Ressaltou que devem ser utilizados com uma camada de adesivo intermediária, com isolamento absoluto ou outra técnica efetiva de isolamento, sempre com a utilização de jato de bicarbonato e condicionamento com ácido fosfórico a 35%, por 15 segundos previamente à aplicação do material selador. Enfatiza que os CIV não apresentam a mesma efetividade que os selantes resinosos, apresentam custo mais alto e problemas de retenção, sendo a qualidade de retenção dos selantes resinosos considerada mais importante que a provável liberação de flúor pelo CIV durante o seu período de permanência na estrutura dentária.

Em 2003, MEJÀRE et al.⁸⁶ em uma revisão sistemática abordaram o efeito preventivo dos selantes de fossas e fissuras examinando os fatores que poderiam modificar seu efeito. Os critérios de inclusão foram os seguintes: estudos clínicos randomizados (controlados), o selamento de fossas e fissuras comparado a nenhum ou outro tratamento preventivo (crianças com até 14 anos de idade), os resultados deveriam ser apresentados de acordo com o incremento de cárie, além de descrição dos critérios de diagnóstico e controle mínimo de dois anos. Os artigos foram avaliados por dois examinadores isoladamente e ao final, apenas 13 estudos foram incluídos como evidência científica. Os resultados mostraram que a maioria dos estudos foi realizada na década de 70, com uma única aplicação do material. O risco relativo à cárie estimado pelo selante resinoso aplicado em primeiros molares permanentes foi de 33%, sendo este efeito dependente totalmente da retenção do material. Os autores concluíram que, em função da escassez de estudos de

qualidade, a revisão sugere que há limitada evidência de que selantes resinosos promovem efeitos preventivos em primeiros molares permanentes, além de evidências inconclusivas para os segundos molares, pré-molares, molares decíduos e para o uso de CIV para o selamento de fossas e fissuras.

Em 2003, HICKS; GARCIA-GODOY; FLAITSZ⁶³ em uma revisão de literatura abordaram a dinâmica do processo de formação de cárie afirmando ser o mesmo dependente de fatores biológicos presentes na saliva e na composição do biofilme dentário. Existe uma infinidade de agentes presentes na saliva e no biofilme dentário que podem servir de proteção à estrutura dentária em relação ao surgimento de lesões de cárie. Fatores como o fluxo salivar, capacidade tampão da saliva, atividade antimicrobiana, agregação de microorganismos, limpeza da cavidade bucal, imunidade, liberação e incorporação de cálcio e fosfato podem estar interagindo no sentido de inibir ou reverter o processo de desmineralização da estrutura dentária. Os níveis de bactérias presentes na saliva e no biofilme dentário podem ser determinantes na formação de lesões de cárie, sendo esta concentração intimamente relacionada com o tipo e freqüência de ingestão de carboidratos fermentáveis, bem como da higiene bucal habitual do indivíduo.

Ainda em 2004, CURY et al.²⁴ estudaram a importância do uso de dentifrícios fluoretados no Brasil, afirmando que a cárie dentária apresentou um declínio significativo nas últimas duas décadas. Esta redução se deve em função da fluoretação das águas de abastecimento, surgimento e expansão de programas de prevenção em escolas e, também, pelo acentuado uso de dentifrícios fluoretados. A fluoretação das águas de abastecimento contribuíram com uma redução de aproximadamente 50% da cárie dentária, abrangendo em torno de 43% da população. Entretanto, mesmo em áreas sem fluoretação da água, o declínio da

cárie tem se mostrado significativo, embora apresente uma diferença de 30% em relação às áreas fluoretadas. Embora alguns programas de prevenção sejam eficientes, fica difícil quantificar exatamente a influência que exercem na redução da cárie. Os autores concluíram que, a introdução dos dentifrícios fluoretados, independente dos programas preventivos e da fluoretação das águas de abastecimento, podem ser responsáveis pelo declínio da doença cárie.

WIEGAND; BUCHALLA; ATTIN¹⁴³, em 2006, pesquisaram a respeito de materiais restauradores que contém flúor, abordando as características de liberação e reincorporação do mesmo, propriedades antibacterianas e influência na formação de lesão de cárie, por meio de artigos científicos publicados de 1980 a 2004. Relataram que os materiais apresentam características diferentes de liberação e incorporação de flúor, que normalmente são relacionadas com sua matriz, mecanismo de presa, conteúdo de flúor na composição, variações ambientais, além do fato de poderem agir como uma fonte de liberação e reserva de flúor contribuindo para aumentar os níveis do mesmo na saliva, no biofilme e tecidos dentários. Estudos *in vitro* mostraram que os cimentos ionoméricos e os compômeros possuem um certo efeito cariostático e podem interferir no metabolismo bacteriano em condições de desafio cariogênico. Em relação aos estudos clínicos, os resultados foram divergentes em relação ao efeito preventivo da cárie e no crescimento de bactérias associadas ao processo, quando foram comparados a materiais que não contém flúor na composição.

Em 2006, AHOVUO-SALORANTA et al.¹ realizaram uma revisão sistemática com o objetivo de avaliar o efeito preventivo da cárie pelos selantes resinosos e também dos CIV quando utilizados para o selamento de fossas e fissuras em crianças e adolescentes. Os critérios para a seleção foram: estudos randomizados,

com pelo menos 12 meses de duração, nos quais os selantes foram utilizados para prevenir cáries em crianças e adolescentes. A revisão sistemática definiu que os selamentos com selantes resinosos são procedimentos recomendados para prevenir cáries na superfície oclusal de molares permanentes. Até o presente momento, enquanto a efetividade dos selantes resinosos em reduzir cárie é bem evidente, os dados relativos aos cimentos de ionômero de vidro são menos convincentes. Um dos motivos são problemas no delineamento experimental dos estudos, que muitas vezes mostram dados conflitantes. De modo geral, os selantes resinosos apresentam elevadas taxas de retenção e mostram-se efetivos na prevenção de cárie oclusal, contudo ainda é impossível saber em qual magnitude isso ocorre e, para qual nível de risco de cárie. Em vista disso, recomenda-se que o nível de prevalência de cárie, tanto individual, quanto da população, seja levado em consideração na efetividade desta técnica preventiva. Na prática, os benefícios do selante devem ser considerados localmente e especificados em manuais e guias clínicos. A qualidade metodológica dos trabalhos publicados a respeito dos selantes para fossas e fissuras são mais pobres que o esperado.

Proposição

3. Proposição

A proposta deste estudo foi avaliar *in situ* o efeito de dois cimentos de ionômero de vidro e de um selante resinoso sem carga e sem flúor, empregados no selamento de uma fissura artificial utilizando esmalte bovino hígido, comparativamente a um controle não selado, sob acúmulo de biofilme dentário e severo desafio cariogênico, com os seguintes objetivos:

- ✓ verificar se houve diferença na concentração de flúor no biofilme acumulado entre os grupos de estudo e,
- ✓ verificar por meio da análise da microdureza em secção longitudinal do esmalte, se houve diferença no conteúdo mineral nas fissuras artificiais entre os grupos de estudo.

Material

e Métodos

4

4. Material e Métodos

4.1 Aspectos Éticos

Este projeto foi desenvolvido após ter sido submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Bauru – USP, processo nº 07/2006 (Anexo 1), conforme a Resolução 196/96 do Ministério da Saúde, Brasília, Distrito Federal, 10/03/1996.

4.2 Delineamento experimental

Este estudo in situ foi desenvolvido adotando um desenho aleatorizado em blocos de esmalte hígido obtidos de dentes bovinos durante um período de 14 dias^{68, 96, 97}, nos quais os voluntários utilizaram um dispositivo intrabucal palatino (DIP). Foram avaliados dois cimentos de ionômero de vidro utilizados no selamento de fossas e fissuras (convencional de alta viscosidade - CIVav e, modificado por resina - CIVm) e um selante resinoso convencional sem carga e sem flúor, todos sob a condição de acúmulo de biofilme dentário. Originalmente 96 blocos de esmalte bovino foram selecionados de acordo com sua microdureza superficial e aleatoriamente divididos entre doze voluntários e entre quatro grupos de estudo. Foram estudadas quatro situações: a) selamento com o CIVav; b) selamento com o CIVm; c) selamento com o selante resinoso e d) ausência de selamento (controle). Desta maneira, foram formados quatro grupos apresentados

na tabela 4.1, cujos materiais testados e suas respectivas especificações são apresentados na tabela 4.2. Cada DIP recebeu oito blocos de esmalte que foram fixados dois a dois simulando uma fissura em forma de “V”^{48, 68}, divididos em duas fileiras (direita e esquerda) com duas fissuras cada. Durante o período experimental, as duas fileiras do aparelho foram submetidas ao acúmulo de biofilme dentário, favorecido pela presença de uma tela plástica e pelo gotejamento de uma solução de sacarose a 20%, oito vezes ao dia^{21, 68, 96, 97}, instituindo um severo desafio cariogênico. Além disso, três vezes ao dia, correspondendo ao período das refeições mais importantes, café da manhã, almoço e jantar, os voluntários após escovarem os dentes, realizaram o gotejamento de uma solução de dentifrício fluoretado (1 g de dentifrício : 3 mL de água deionizada), sobre os blocos cobertos com a tela^{20, 96}.

O efeito dos diferentes materiais testados foi analisado por meio da determinação da concentração de flúor no biofilme dentário, além da avaliação da microdureza em secção longitudinal.

O delineamento experimental deste estudo pode ser visualizado no fluxograma apresentado na figura 4.1 e os materiais testados são apresentados na figura 4.2.

Figura 4.1- Fluxograma do delineamento experimental

TABELA 4.1 – Descrição dos grupos em função do material, considerando o acúmulo de biofilme dentário em todas as situações

Grupo	Material	Biofilme dentário
1	Ketac™ Molar Easymix	Sim
2	Vitremer™	Sim
3	Helioseal Clear®	Sim
4	Controle (sem selamento)	Sim

TABELA 4.2 – Materiais testados e respectivas especificações

Material	Nome Comercial	Fabricante	Lote	Validade
CIVav	Ketac™ Molar Easymix	3M ESPE AG Dental Products, Seefeld, Alemanha	223626	04/2007
CIVm	Vitremer™	3M ESPE AG Dental Products, Saint Paul, MN / USA	5KT	12/2008
Selante Resinoso	Helioseal Clear®	Ivoclar Vivadent Schaan / Liechtenstein	E20749	05/2007

4.3 Obtenção dos dentes bovinos

Foram utilizados aproximadamente 200 incisivos bovinos extraídos de gado com idade média de 36 meses, abatidos para consumo no Frigorífico Vangélio Mondelli Ltda, em Bauru, SP.

Tecido gengival e demais resíduos aderidos à superfície do dente foram previamente removidos com cureta periodontal. Os elementos dentários foram então esterilizados em solução de formol a 2%, pH 7,0^{7, 21, 22, 48, 68, 132}, preparada com tampão fosfato, onde ficaram imersos durante um período mínimo de 30 dias até que os blocos de esmalte pudessem ser preparados^{7, 22, 48, 68}. Durante o período de preparo dos blocos, os dentes permaneceram armazenados em solução de timol 0,1% diluído em solução fisiológica (pH 7.0) a uma temperatura de aproximadamente 4°C^{3, 138}.

4.4 Obtenção dos blocos de esmalte bovino

Os dentes foram previamente selecionados (a olho nu, com o auxílio de uma lupa), dando preferência aos melhores, eliminando-se aqueles com trincas, rachaduras, opacidades, hipoplasias ou grandes desgastes incisais⁶⁸.

As raízes foram removidas com a utilização de um disco diamantado para cortes de azulejo Diaflex-F (Wilcos do Brasil, Ind. e Com. Ltda., Petrópolis – RJ, Brasil) acoplado em um torno de polimento odontológico adaptado para corte (Fábrica Nacional de Motores Monofásicos Nevoni/ Série 16223, Tipo: TG1/3, São Paulo, SP), seccionando-as na porção cervical dos dentes (Figura 4.3). Posteriormente, as coroas foram fixadas em uma placa de alumínio (40 mm x 40 mm

x 5 mm) com godiva termoativada (Kerr Corp., CA, USA) para realização dos cortes dos blocos de esmalte com o auxílio de um aparelho de corte de precisão Isomet Low Speed Saw (Bulher Ltda, Lake Bluff, IL, USA), utilizando dois discos diamantados dupla face (referência 12205, 102 mm x 0,3 mm x 12,7 mm, “High Concentration”, Extec[®] Corporation, Enfield, CT, USA) e um espaçador de alumínio (7 cm de diâmetro, 4 mm de espessura e orifício central de 1,3 cm) entre os mesmos, com velocidade de 300 rpm sob refrigeração com água deionizada^{48, 68} (Figura 4.4). Blocos de esmalte de 4 x 4 mm foram obtidos da porção mais plana da coroa, através de uma secção dupla no sentido cérvico-incisal e outra no sentido mésio-distal (Figura 4.5). Após a obtenção dos blocos, uma segunda seleção (a olho nu e com o auxílio de uma lupa) foi feita desprezando-se aqueles com esmalte trincado ou com manchas.

4.5 Planificação e polimento dos blocos de esmalte

Previamente à planificação do esmalte foi necessário planificar a dentina dos blocos para permitir o paralelismo entre esmalte e dentina⁶⁸. Para a realização da planificação da dentina, os blocos foram fixados com cera em bastão para enceramento (Kota Ind. e Com. Ltda, São Paulo, SP, Brasil) no centro de um disco acrílico cristal (30 mm de diâmetro por 8 mm de espessura), com a maior área plana de esmalte voltada para o disco. A cera foi aplicada em todos os lados do espécime tomando-se o cuidado necessário para que a mesma não fluísse entre o bloco e o disco de acrílico. O conjunto (disco/dente) foi adaptado em uma Politriz Metalográfica (APL 4, Arotec, Cotia, SP, Brasil), com sistema de polimento múltiplo, capaz de realizar o polimento automático de seis corpos de prova simultaneamente,

permitindo o paralelismo entre as superfícies polidas e a base de acrílico onde encontravam-se fixados os blocos (Figura 4.6). Para isso foi utilizada uma lixa de silicone carbide de granulação 320 (Silicon Carbide Waterproof Paper, Extec[®] Abr. disc S/C, W/D, Extec[®] Corporation, Enfield, CT, USA), sob refrigeração de água deionizada, por aproximadamente 30 a 60 s, em velocidade baixa e com dois pesos padrão de 86 g, até que os blocos adquirissem uma superfície de dentina totalmente plana com uma espessura de aproximadamente 3 mm^{68, 132, 147} (Figura 4.7). Os blocos que eventualmente apresentaram uma superfície de dentina extremamente irregular foram desgastados manualmente, com esta lixa, antes de serem adaptados na politriz, para evitar que a mesma fosse rasgada durante o procedimento de planificação⁶⁸.

Concluído o polimento da dentina, os blocos foram removidos do disco de acrílico, sendo estes limpos com xilol (Merck, Darmstadt, Germany) para remoção de quaisquer resíduos de cera. Em seguida, foram novamente fixados com a cera no centro dos mesmos discos, porém com o esmalte voltado para cima. Este conjunto foi novamente adaptado à politriz e o esmalte inicialmente desgastado de forma superficial com a lixa de granulação 320 por no máximo 15 s, em velocidade baixa, sob refrigeração com água e utilização dos dois pesos; após esta etapa, utilizou-se a lixa de granulação 600, por 3 minutos em velocidade baixa, sob refrigeração com água e os dois pesos e finalmente utilizou-se a lixa de granulação 1200, por 4 min em velocidade alta, sob refrigeração com água e os dois pesos. A finalização do polimento era realizada com um disco de feltro (Extec Alphagam Cloth PSA, 203mm Wheel, Extec[®] Corporation, Enfield, CT, USA) umedecido com suspensão de diamante de 1µm, de cor marfim (referência 16587, Extec I Water based diamond permanent polishing suspension, Extec[®] Corp. , Enfield, CT, USA), por 5 min em

velocidade alta, sem refrigeração, com os dois pesos⁶⁸. Este procedimento objetivou planificar e remover ranhuras do bloco de esmalte, permitindo a aferição da microdureza superficial inicial (Figura 4.8).

Para evitar que os grânulos de cada lixa interferissem no polimento realizado pelas demais, os conjuntos bloco / disco de acrílico foram limpos em um aparelho de ultra-som (Ultrasonic Cleaner Mod USC 750, Unique Ind. E Com. de Produtos Eletrônicos Ltda, São Paulo – SP, Brasil) durante 2 min, em uma frequência de 40kHz, imersos em água deionizada, que era seqüencialmente substituída a cada ciclo de funcionamento do aparelho. Ao final do polimento, os conjuntos foram novamente colocados no ultra-som por 10 min para uma última lavagem.

A partir do início do polimento, os blocos passaram a ser armazenados em recipientes plásticos com tampa, cobertos por gaze umedecida com água deionizada e mantidos a uma temperatura de 4°C⁶⁸.

4.6 Avaliação da microdureza superficial inicial

Utilizando-se um microdurômetro (HMV – 2000, Shimadzu Corporation, Japan) acoplado a um microcomputador e a um programa específico (Cams-Win-New Age Industries / USA) para a análise das imagens (Figura 4.9), a microdureza superficial inicial do esmalte foi avaliada. Um penetrador diamantado de formato piramidal tipo KNOOP, com carga estática de 25 g, aplicada por 5 s foi utilizado^{68, 81, 100}, (Figura 4.10). Cinco indentações foram realizadas na região central de cada bloco, com uma distância de 100 µm entre elas. As indentações realizadas foram medidas por duas marcas pontilhadas que aparecem na tela do computador, as quais foram sobrepostas aos vértices agudos do losango correspondente a cada

indentação, determinando o comprimento da maior diagonal (Figura 4.11). Os resultados da dureza KNOOP foram obtidos pelo cálculo automático feito pelo programa utilizado, a partir da seguinte equação:

$$KHN = \frac{C \cdot c}{d^2}$$

Sendo: KHN= valor de dureza KNOOP

C (constante)= 14,230

c = 25 gramas

d= comprimento da maior diagonal da indentação.

Os blocos selecionados apresentaram uma microdureza média (KHN) $\pm$ dp de 363 ± 25 (máximo- 428 e mínimo- 286), sendo o restante desprezado.

4.7 Distribuição dos blocos entre grupos e voluntários

Blocos de esmalte que apresentavam microdureza alta e baixa foram distribuídos para todos os grupos e voluntários (Anexo 2), de modo que a microdureza média fosse semelhante tanto para grupo (Tabela 4.3) como para voluntário (Tabela 4.4). Este procedimento seguiu um modelo de “aleatorização em blocos”, utilizando o programa Microsoft Excel.

TABELA 4.3 – Valores (média $\pm$ dp) da microdureza inicial do esmalte (KNH) nos diferentes grupos

Grupo	Microdureza Inicial
I (KME)	368,08 $\pm$ 8,12
II (VT)	368,17 $\pm$ 8,00
III (HS-C)	368,00 $\pm$ 8,05
IV (C)	368,00 $\pm$ 8,34

KME- Ketac Molar Easymix; VT- Vitremer; HS-C- Helioseal-Clear; C- Controle

TABELA 4.4 – Valores (média $\pm$ dp) da microdureza inicial do esmalte (KHN) nos diferentes voluntários

Voluntário	Microdureza Inicial
1	368,13 $\pm$ 9,42
2	367,63 $\pm$ 9,02
3	367,50 $\pm$ 8,07
4	367,13 $\pm$ 6,91
5	370,00 $\pm$ 10,22
6	367,38 $\pm$ 9,84
7	367,13 $\pm$ 8,72
8	369,50 $\pm$ 8,65
9	368,88 $\pm$ 8,57
10	366,50 $\pm$ 7,25
11	369,38 $\pm$ 5,85
12	367,63 $\pm$ 7,57

4.8 Montagem dos blocos e selamento das fissuras

Após a distribuição aleatória dos blocos entre os diferentes voluntários e grupos, os mesmos foram fixados seguindo um modelo dois a dois, por uma das extremidades de cada bloco, por meio da aplicação de sistema adesivo e resina composta fotopolimerizável (Filtek™ Z 250; 3M ESPE; Dental Products; St. Paul, U.S.A.), de maneira a formar um ângulo de 120º entre as superfícies de esmalte, simulando uma fissura artificial em formato de “V”. Para a realização do condicionamento ácido (ácido fosfórico a 37%) (Condicionador Dental Gel; Dentsply Ind. e Com. Ltda; Petrópolis – RJ / Brasil), os blocos foram fixados em um pedaço de fita adesiva com a superfície do esmalte voltada para baixo (Figura 4.12), e após a lavagem e secagem foram cuidadosamente posicionados em um dispositivo confeccionado em alumínio (Figura 4.13), que auxiliou a estabilização dos blocos para que em seguida fosse aplicado o adesivo (Adper™ Single Bond 2; 3M ESPE; Dental Products; St. Paul, U.S.A.) e a resina composta (Figura 4.14).

Em seguida, uma fita adesiva (Scotch, 3M do Brasil, Sumaré – SP, Brasil) foi adaptada ao redor de cada fissura artificial, delimitando suas extremidades livres, para impedir que os materiais utilizados fluíssem durante o procedimento selador. Este cuidado permitiu que se obtivesse uma padronização da área de esmalte a ser selada, bem como do volume do material selador a ser utilizado.

Cada fissura artificial foi fixada em uma matriz confeccionada em silicona de condensação (Silicona de Condensação; 3M ESPE; Dental Products; St. Paul, U.S.A), com as devidas identificações (grupo e voluntário) para que o procedimento selador pudesse ser realizado de maneira correta e organizada (Figura 4.15).

No grupo I- GI (CIVav – KetacTM Molar Easymix), as superfícies das fissuras foram limpas por 10 segundos com o líquido do próprio material, utilizando um aplicador descartável (KG brush, KG Sorensen Ind. e Com. Ltda., Barueri – SP, Brasil), lavadas abundantemente e secas, conforme as orientações do fabricante. O CIVav foi aplicado em toda a extensão da fissura com o auxílio de uma seringa Centrix (DFL - Ind. e Com. Ltda., Rio de Janeiro / RJ, Brasil) com a ponta plástica mais fina, cobrindo aproximadamente metade da superfície dos blocos que a compunham. Em seguida, após a perda do brilho, foi coberto com uma camada de vaselina para a proteção superficial do material até que se completasse a reação de presa.

No grupo II – GII (CIVm – VitremerTM), as superfícies do esmalte foram condicionadas por 15 s com gel de ácido fosfórico a 37% (Condicionador Dental Gel; Dentsply Ind. e Com. Ltda; Petrópolis – RJ / Brasil), cuidadosamente levado até a metade da superfície de cada um dos blocos que compunham a fissura artificial. Em seguida, as mesmas foram lavadas abundantemente, secas e seladas com o CIVm, também com o auxílio de uma seringa Centrix com a mesma ponta plástica, cobrindo aproximadamente metade da superfície dos blocos.

No grupo III – GIII (Helioseal Clear[®]) as superfícies do esmalte foram condicionadas da mesma forma que no grupo II, por 15 s com ácido fosfórico a 37%, lavadas, secas e seladas com o selante resinoso fotopolimerizável, com auxílio do aplicador contido na extremidade da bisnaga em que o material encontrava-se acondicionado.

Para o GIV, os espécimes foram instalados no DIP sem material selador, servindo, portanto como controle.

Após a realização dos selamentos, os espécimes foram cobertos com gaze umedecida com água deionizada e mantidos em estufa a 37 °C por 48 h⁶⁸.

As fissuras artificiais foram, portanto seladas de acordo com o grupo a que pertenciam, exatamente 48 horas antes de serem inseridas no DIP, o qual foi entregue ao voluntário para então iniciar o período experimental.

4.9 Seleção dos voluntários

Foram selecionados entre os estudantes dos cursos de pós-graduação da FOB/USP e do Hospital de Reabilitação de Anomalias Craniofaciais / USP (HRAC-USP) – Bauru-SP, 12 voluntários adultos jovens com idade entre 23 e 31 anos ($27 \pm 3,3$), sendo 10 do gênero feminino e 2 do gênero masculino, todos residentes em Bauru – SP, onde a água de abastecimento é fluoretada (0,6 – 0,8 ppm). Os critérios considerados para inclusão no estudo foram: não fumar; apresentar boa saúde geral; não apresentar lesões de cárie ativas no estágio de cavitação; não utilizar aparelhos protéticos ou ortodônticos; não apresentar gengivite severa e doença periodontal; não utilizar ou ter utilizado, nos últimos dois meses, medicamentos que afetem o fluxo salivar (antibióticos, antidepressivos, narcóticos, diuréticos ou anti-histamínicos); não ter realizado aplicações profissionais de flúor até duas semanas antes do estudo, devido a possibilidade de efeito residual^{40, 68, 148}; não ter sofrido irradiação ou quimioterapia; não apresentar doenças sistêmicas, doenças auto-imunes, xerostomia, menopausa, diabetes tipo 1, má nutrição, problemas gastro-esofágicos além de distúrbios de regurgitação e vômito⁴⁸;

Os voluntários foram submetidos a um exame clínico, realizado pela autora da pesquisa, com a utilização de sonda exploradora, espelho e refletor para a detecção de lesões de cárie ou doença periodontal.

Os voluntários selecionados tomaram ciência do experimento pela “Carta de informação ao sujeito da pesquisa” e, concordando em participar, assinaram o “Termo de consentimento livre e esclarecido” (Anexos 3 e 4).

Os 12 voluntários selecionados iniciaram a etapa experimental, porém um deles, por motivos de saúde, desistiu de participar do estudo no 5º dia do período de uso do DIP, ficando o número de voluntários reduzido a 11.

4.10 Preparo do dispositivo intrabucal palatino

Um molde do arco superior dos voluntários foi confeccionado com alginato (Jeltrate, Dentsply Indústria e Comércio Ltda, Petrópolis – RJ, Brasil) para a obtenção de modelos de gesso pedra (Herodent – Soli Rock – Vigodent S/A Indústria e Comércio, Rio de Janeiro – RJ, Brasil). Nestes modelos foram confeccionados os DIP em resina acrílica (Clássico - Artigos odontológicos clássicos Ltda, São Paulo – SP, Brasil). Cada dispositivo continha quatro cavidades com comprimento, profundidade e largura de respectivamente: 10 x 6 x 5 mm, divididas em duas fileiras (direita e esquerda), onde foram fixadas as fissuras artificiais, com cera em bastão para enceramento (Kota Ind. e Com. Ltda., São Paulo – SP, Brasil). O polimento dos DIP, previamente à fixação das fissuras artificiais, foi realizado mecanicamente em um torno, com pedra-pomes (SS White Artigos Dentários Ltda, Rio de Janeiro – RJ, Brasil) e, quimicamente por meio da imersão do dispositivo, por alguns segundos, em monômero de resina acrílica aquecido.

A distribuição das fissuras artificiais nas quatro diferentes cavidades do DIP (anterior, posterior, direita e esquerda) foi planejada, por meio do estabelecimento de um rodízio, de forma que os grupos fossem distribuídos igualmente entre elas, nos diversos voluntários.

As fissuras artificiais foram fixadas de forma criteriosa, evitando-se fendas laterais entre elas e as cavidades do DIP, bem como desconforto aos voluntários. Como houve acúmulo de biofilme dentário em todas elas, as mesmas foram fixadas 1mm abaixo do nível da resina acrílica e cobertas com uma tela plástica^{7, 21, 22, 68, 97} recortada de uma peneira de uso culinário (Plasútil Ind. e Com. de plásticos, Bauru – SP, Brasil) (Figura 4.16).

4.11 Procedimentos intrabucais

Todos os voluntários receberam uma lista de orientações, com explicações detalhadas sobre todos os procedimentos que deveriam ser executados durante o período de uso do DIP (Anexo 5), um formulário para preenchimento e controle dos horários de remoção e recolocação do DIP na cavidade bucal (Anexo 6), um estojo plástico (Dental Morelli Ltda, Sorocaba – SP, Brasil) para o armazenamento do DIP durante os períodos de descanso, uma bisnaga de dentifrício à base de sílica com 1100ppm de flúor (Sorriso Fresh 2 em 1 Hydro Gel, Colgate – Palmolive Ind. e Com. Ltda, São Bernardo do Campo / SP, Brasil), uma escova dental (Oral B Indicator Plus 35 macia, Gillette do Brasil Ltda, Manaus – AM, Brasil), um rolo de fio dental Pro®(Oral B, Proctor & Gamble do Brasil, São Paulo – SP, Brasil), um frasco plástico conta-gotas com solução de sacarose a 20%, um frasco plástico conta-gotas com solução de dentifrício fluoretado, na proporção de 3mL de água deionizada para 1g

do mesmo dentifrício ofertado, e porções de gaze (Cremer S.A., Blumenau – SC, Brasil) para que o DIP pudesse ficar umedecido em água de abastecimento durante os períodos em que permaneceria fora da cavidade bucal.

O DIP foi instalado na noite anterior ao início da fase experimental, após a última higiene bucal, que foi realizada com o material fornecido ao voluntário, permitindo dessa forma, a formação da película adquirida.

Os voluntários foram orientados a utilizar o DIP continuamente (24h/dia), devendo removê-lo somente durante as refeições (somente três refeições diárias – café da manhã / almoço / jantar – máximo de 1h para cada refeição), período em que os DIP foram mantidos no estojo plástico e cobertos com gaze umedecida em água de abastecimento. Os voluntários foram orientados a não ingerirem qualquer tipo de bebida fora dos horários das refeições, sendo permitido somente a ingestão de água, retirando para isso, o DIP da cavidade bucal.

Os voluntários realizaram a higiene bucal habitual (utilização de fio dental e escovação) após as refeições (café da manhã, almoço e jantar), devendo retirar o DIP da cavidade bucal, utilizando somente o dentifrício fornecido pela pesquisa^{68, 96, 97}. Após a realização da higiene bucal, os voluntários foram orientados a agitar o frasco que continha a solução de dentifrício fluoretado e gotejá-la em todos os espécimes (duas gotas / espécime). Em seguida, deveriam aguardar um período de 2 minutos antes de reinstalarem o DIP na cavidade bucal. Esta solução de dentifrício fluoretado foi substituída por outra recém-manipulada após sete dias⁶⁸.

Concomitantemente, os voluntários realizaram o gotejamento de uma solução de sacarose a 20% sobre todos os espécimes (3 gotas / espécime)⁶⁸, 8 vezes ao dia (aproximadamente às 8h, 9h30, 11h, 14h, 15h30, 17h, 19h, 21h), devendo obrigatoriamente a última aplicação desta sacarose, ser após a última higiene bucal

do dia⁶⁸. Em seguida, aguardavam um período de 5 minutos e então reinstalavam o DIP na cavidade bucal^{21, 68, 96, 97}. Esta solução foi substituída por outra recém-manipulada a cada dois dias⁶⁸.

Para padronização dos horários, no último dia do experimento (14^o dia), os voluntários foram orientados a aplicar a solução de dentifrício e de sacarose às 22h e 23h respectivamente. Assim, a última aplicação de dentifrício ocorreu 10 horas antes da coleta do biofilme dentário^{68, 96, 97}.

Na manhã seguinte ao 14^o dia de uso do DIP, os voluntários permaneceram em jejum e sem realizar a higiene bucal até a entrega dos DIP para a realização da coleta do biofilme dentário e remoção das fissuras artificiais para a análise dos resultados⁶⁸.

4.12 Avaliação da concentração do F no biofilme dentário

A tela que permaneceu recobrindo as fissuras artificiais no DIP foi seccionada com uma tesoura e removida (Fig. 4.17). O biofilme foi coletado com auxílio de uma espátula plástica (Jon – Com. de produtos odontológicos Ltda., São Paulo – SP, Brasil), e então pesado em balança de precisão Mettler Toledo (modelo AT 261, Delta Range, Suíça), em tubos para microcentrífuga que tinham os seus pesos previamente estabelecidos, para que fosse colocado aproximadamente 10 mg de biofilme em cada tubo. A seguir, foi adicionado HCl 0,5 M, na proporção de 0,5 mL : 10 mg de biofilme (peso úmido). O conjunto foi homogeneizado em um aparelho agitador de tubos (modelo 251, Fanem, São Paulo – SP, Brasil) e, em seguida, os tubos mantidos sob agitação constante (mesa agitadora orbital plana – Nova Técnica, modelo NT 145 – Piracicaba / SP, Brasil), durante 3h em temperatura

ambiente. Após este procedimento, um mesmo volume de Tisab II (tampão de ajuste de força iônica total) (Anexo 7) foi adicionado ao tubo, e o mesmo centrifugado por 1min a 11000 g (centrífuga modelo A14, Jovan S.A., Herblain, França). O sobrenadante foi coletado para a análise de concentração de flúor⁶⁸.

O flúor foi analisado com um eletrodo íon específico combinado Orion (modelo 96-09, Orion, MA, EUA) e um analisador de íons Orion (modelo EA 940, Orion, MA, EUA)^{7, 20, 21, 68} (Figura 4.18). O conjunto foi calibrado utilizando-se os padrões de concentração de flúor de 0,025, 0,05, 0,1, 0,2, 0,4 e 0,8 ppm, que foram obtidos por diluição seriada de um estoque de 100 ppm F (Orion) (Anexo 8).

Para a análise das amostras foram utilizados 0,4 mL de amostra e 0,4 mL de Tisab II, exceto em alguns casos nos quais os voluntários não possuíam um volume suficiente de amostra (Tabela 4.5). Sempre que possível, as leituras foram realizadas em duplicata.

TABELA 4.5 – Valores de amostra e TISAB II (mL) utilizados para análise da concentração de flúor dos voluntários que apresentaram pouco acúmulo de biofilme dentário

Voluntário/Grupo	Volume de amostra (mL)	Volume de TISAB II (mL)	Duplicata
V2 GI (KME)	0,25	0,25	Não
V2 GIV (C)	0,22	0,22	Não
V3 GI (KME)	0,07	0,07	Não
V3 GII (VT)	0,25	0,25	Sim
V3 GIII (HS-C)	0,31	0,31	Sim
V3 GIV (C)	0,31	0,31	Sim
V5 GII (VT)	0,30	0,30	Sim
V6 GI (KME)	0,30	0,30	Sim
V6 GIII (HS-C)	0,25	0,25	Não
V6 GIV (C)	0,22	0,22	Não
V7 GI (KME)	0,34	0,34	Não
V7 GIII (HS-C)	0,32	0,32	Não
V11 GII (VT)	0,27	0,27	Sim

KME- Ketac Molar Easymix; VT- Vitremer; HS-C- Heliaseal-Clear; C- Controle

As leituras foram realizadas em mV e transformadas em $\mu\text{g F} / \text{g}$ por meio de uma planilha gerida no programa Microsoft Excel. Somente curvas de calibração com porcentagem de variação de até 5% para todos os padrões e $r \geq 0,99$ (linearidade) foram aceitas, garantindo a exatidão do método.

4.13 Limpeza e secção dos espécimes

As fissuras artificiais foram removidas do DIP, limpas e desinfetadas com solução de clorexidina a 0,12% e então fixadas em uma placa de alumínio para serem seccionadas longitudinalmente. Para isso, foi utilizado o aparelho de corte de precisão Isomet Low Speed Saw (Buehler), com auxílio de um disco diamantado dupla face 12205 (Extec[®] Corp.), com velocidade de 300 rpm sob refrigeração com água deionizada, realizando um corte na região central do espécime (Fig. 4.19).

4.14. Avaliação da microdureza em secção longitudinal do esmalte

Metade da fissura artificial de cada grupo, por voluntário, a partir de então denominada de espécime, foi embutida em resina acrílica (um disco de acrílico contendo espécimes dos quatro grupos estudados para cada voluntário), com a superfície interna dos mesmos exposta, utilizando uma embutidora metalográfica (AROTEC PRE 30S, AROTEC Ind. e Com., Cotia – SP, Brasil). Posteriormente, os espécimes já embutidos foram polidos na politriz metalográfica na mesma sequência adotada para o polimento de esmalte.

Os espécimes foram então avaliados no microdurômetro, utilizando a mesma carga e o mesmo tempo da avaliação da microdureza inicial, ou seja, 25 g por 5 s⁶⁸. Foram realizadas 28 indentações no esmalte, dispostas em sete fileiras distintas, sendo o limite esmalte / material selador da região oclusal padronizado como posição zero (esmalte na borda do material) e, a partir deste, realizadas seqüências de impressões a 50, 150 e 500 µm na posição interna, ou seja, no esmalte selado

(sob o material) e posição externa, esmalte não selado (adjacente ao material), com profundidades padronizadas a 10, 30, 50 e 70 µm da superfície do esmalte.

Essas 28 indentações foram realizadas nos dois fragmentos dos blocos de esmalte que originalmente compunham a fissura artificial, agora seccionada em duas metades, para todos os grupos de estudo. Especificamente para o GIV (controle), essas indentações foram feitas tomando-se como parâmetro, a região central do bloco como sendo a “borda do material”. Considerou-se como microdureza longitudinal de cada espécime, a média das indentações obtidas nos dois lados dos fragmentos dos blocos de esmalte originais (Figura 4.20).

Os valores de microdureza obtidos foram finalmente convertidos em porcentagem de volume mineral, por meio de uma fórmula definida por FEATHERSTONE³⁸ (1983):

$$\text{Porcentagem de volume mineral} = 4,3 \times \sqrt{\text{KHN}} + 11,3$$

4.15 Análise estatística

Comprovada a homogeneidade dos dados de porcentagem de volume mineral, foi aplicada a Análise de Variância (ANOVA). Para a variável porcentagem de volume mineral foram considerados os fatores: material, distância e profundidade. O teste de Tukey foi aplicado para as comparações individuais.

Como os dados da concentração de flúor no biofilme dentário apresentaram-se heterogêneos, foi aplicado o teste de Fridman.

Todos os testes consideraram um nível de significância de 5% ($p < 0,05$). O programa estatístico utilizado foi Statistica versão 5.1 (Stat Soft Inc., USA).

FIGURA 4.2- a.CIVav Ketac™ Molar Easymix; b.CIVm Vitremer™;c. Selante resinoso Heliobond Clear®; d.Seringa Centrrix utilizada para aplicação do CIVav e CIVm

FIGURA 4.3- Secção para separação da coroa e raiz

FIGURA 4.4- a. Máquina de corte; b. Elemento dentário posicionado para o corte do bloco

FIGURA 4.5- Espécime obtido da região central da face vestibular

FIGURA 4.6- Politriz metalográfica

FIGURA 4.7- Blocos antes e após a planificação da dentina

FIGURA 4.8- Bloco após o polimento do esmalte

FIGURA 4.9- Microdurômetro acoplado ao computador

FIGURA 4.10- Penetrador diamantado de formato piramidal (Knoop)

FIGURA 4.11- Indentação delimitada para cálculo da microdureza

FIGURA 4.12- Bloco com a superfície do esmalte fixada em fita adesiva para realização do condicionamento ácido e montagem das fissuras artificiais

FIGURA 4.13- Dispositivo de alumínio utilizado para fixação das fissuras artificiais

FIGURA 4.14- a. Blocos de esmalte posicionados para montagem das fissuras artificiais; b. Blocos fixados com resina composta, compondo a fissura artificial

FIGURA 4.15- Fissura artificial circundada pela fita adesiva e fixada em matriz de silicone para realização do selamento

FIGURA 4.16- DIP preparado para início da etapa experimental in situ Adaptado à cavidade bucal do voluntário

FIGURA 4.17- Corte da tela plástica com tesoura para remoção do biofilme dentário acumulado

FIGURA 4.18- Eletrodo íon específico Orion para análise de flúor

FIGURA 4.19- Seccionamento longitudinal da fissura artificial

FIGURA 4.20- Esquema demonstrativo da leitura de microdureza em secção longitudinal em esmalte selado (50, 150 e 500µm sob o material), esmalte na borda do material e esmalte não selado (50, 150 e 500µm externamente ao material selador)

Resultados

5

5. Resultados

5.1 Quantidade de biofilme dentário coletado e sua concentração de flúor

Observou-se uma grande variação no peso úmido de biofilme coletado nos diferentes voluntários, com valores entre 2,2 mg (GI) a 63,0 mg (GIV), contudo percebe-se uma semelhança nos valores encontrados para os grupos dos CIV entre si, bem como para os grupos controle e do selante resinoso (Tabela 5.1).

TABELA 5.1 – Peso úmido total (mg) do biofilme dentário de acordo com o grupo e voluntário

Voluntário	GRUPOS			
	I (KME)	II (VT)	III (HS-C)	IV (C)
1	28,0	33,3	28,4	30,6
2	7,2	22,3	8,8	6,3
3	2,2	12,5	14,5	22,5
4	32,8	48,2	49,9	47,1
5	37,4	17,6	59,1	42,8
6	14,8	21,0	7,5	5,7
7	8,4	27,2	8,0	23,1
8	24,1	43,3	55,9	63,0
9	32,7	42,7	39,0	22,9
10	40,1	24,7	55,5	56,9
11	21,6	14,2	26,3	30,6
média ± dp	22,7 ± 12,96	27,9 ± 12,32	32,1 ± 20,72	32 ± 18, 80

KME- Ketac Molar Easymix; VT- Vitremer; HS-C- Heliaseal Clear; C- Controle;

Em relação à concentração de flúor no biofilme dentário, o teste de Friedman não revelou diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,07077$) entre os grupos, embora o grupo III (HS-C) tenha apresentado uma concentração de flúor no biofilme bem maior que os grupos I (KM), II (VT) e IV (C) (Tabela 5.2).

TABELA 5.2 – Concentrações de flúor ($\mu\text{g} / \text{g}$) no biofilme dentário nos diferentes grupos

[F] ($\mu\text{g} / \text{g}$)	GRUPOS			
	I (KME)	II (VT)	III (HS-C)	IV (C)
Média	54,84 ^a	44,00 ^a	66,46 ^a	33,18 ^a
dp	59,40	43,73	116,44	42,58

Letras diferentes demonstram diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

KME- Ketac Molar Easymix; VT- Vitremer; HS-C- Heliaseal Clear; C- Controle;

A concentração de flúor (média) no biofilme dentário ($F \mu\text{g} / \text{g}$) nos diferentes grupos e voluntários encontra-se descrita no Anexo 9.

5.2 Porcentagem de volume mineral (conteúdo mineral) do esmalte

A análise dos resultados referentes à porcentagem de volume mineral foi realizada considerando-se a localização das indentações para a leitura da microdureza, ou seja, no **esmalte na borda do material** (interface entre esmalte e material selador), **esmalte não selado** às distâncias de 50, 150 e 500 μm externamente à borda do material e no **esmalte selado** (esmalte localizado abaixo do selante), também às distâncias de 50, 150 e 500 μm internamente à borda do material, nas quatro profundidades estudadas, para todos os grupos (10, 30, 50 e, 70 μm).

A análise de variância (ANOVA) a três critérios (grupo, distância e profundidade) mostrou significância para os critérios distância ($p < 0,0001$) e profundidade ($p < 0,0001$) e para as seguintes interações: grupo x distância ($p < 0,0001$); distância x profundidade ($p < 0,0001$) e grupo x distância x profundidade ($p = 0,026$). Em vista desses resultados, foram feitos os desdobramentos empregando-se o teste de Tukey para identificar as diferenças significantes encontradas, as quais serão tratadas a seguir.

Foram comparadas algumas distâncias de interesse, para cada grupo individualmente, com a finalidade de verificar a capacidade seladora dos diferentes materiais empregados, bem como seu efeito preventivo. O GIII foi o que apresentou um maior número de comparações com diferença estatística significativa. Dentre todas destacam-se aquelas obtidas entre o esmalte selado e não selado, revelando o efeito protetor do material, visto que nas distâncias internas, observou-se maior conteúdo mineral. Os GI e GII apresentaram, cada um, apenas uma comparação estatisticamente significativa e o GIV revelou um padrão de conteúdo mineral homogêneo (Tabela 5.3).

TABELA 5.3 – Porcentagem de volume mineral do esmalte entre diferentes distâncias avaliadas para cada um dos grupos de estudo, na profundidade de 10 µm em relação à superfície do esmalte. Teste de Tukey ($\alpha=5\%$)

COMPARAÇÕES ENTRE DISTÂNCIAS	GRUPOS			
	I	II	III	IV
500 i x 500 e	84,77 x 81,96	79,91 x 83,01	<u>87,71 x 80,16</u> (ES)	82,58 x 82,72
50 i x 50 e	82,39 x 77,32	<u>85,44 x 77,36</u> (ES)	<u>82,31 x 67,96</u> (ES)	81,90 x 82,14
500 i x B	<u>84,77 x 77,36</u> (ES)	79,91 x 84,39	<u>87,71 x 76,85</u> (ES)	82,58 x 78,45
50 i x B	82,39 x 77,36	85,44 x 84,39	82,31 x 76,85	81,90 x 78,45
500 e x B	81,96 x 77,36	83,01 x 84,89	80,16 x 76,85	82,72 x 78,45
50 e x B	77,32 x 77,36	77,36 x 84,39	<u>67,96 x 76,85</u> (ES)	82,14 x 78,45
500 i x 50 i	84,77 x 82,39	79,91 x 85,44	87,71 x 82,31	82,58 x 81,90
500 e x 50 e	81,96 x 77,32	83,04 x 77,36	<u>80,16 x 67,96</u> (ES)	82,72 x 82,14

i- esmalte selado e- esmalte externo ao material B- borda do material ES- diferença estatisticamente significativa

A seguir serão apresentados os resultados dos desdobramentos também pelo teste de Tukey, realizados para o critério profundidade e as interações anteriormente mencionadas, seguindo-se uma ordem de acordo com as distâncias estudadas.

Esmalte na Borda do Material

Nesta distância, para as profundidades avaliadas, observa-se que nenhum grupo mostrou diferença estatística significativa quando comparados entre si, apesar do maior conteúdo mineral ter sido apresentado pelo GII, em todas as profundidades avaliadas. Em relação à profundidade, para cada um dos grupos isoladamente, somente foi verificada diferença significativa a 10 µm, que apresentou o menor conteúdo mineral. Portanto, a partir desta profundidade não houve diferença estatisticamente significativa no conteúdo mineral, para nenhum dos grupos (Tabela 5.4).

Tabela 5.4 – Porcentagem de volume mineral do esmalte (média ± dp) na **borda do material** nos diferentes grupos, de acordo com a profundidade (µm) em relação à superfície do esmalte

Esmalte	Profundidade	Grupos			
		I (KME)	II (VT)	III (HS-C)	IV (C)
B O R D A D O M A T E R I A L	10	^A 77,36 ^a	^A 84,40 ^a	^A 76,86 ^a	^A 78,45 ^a
		± 12,51	± 6,45	± 9,44	± 10,00
	30	^A 90,35 ^b	^A 94,18 ^b	^A 93,28 ^b	^A 89,47 ^b
		± 4,81	± 3,54	± 3,99	± 6,94
	50	^A 93,54 ^b	^A 94,99 ^b	^A 93,48 ^b	^A 89,87 ^b
		± 3,60	± 3,44	± 3,17	± 8,23
	70	^A 94,36 ^b	^A 95,84 ^b	^A 91,63 ^b	^A 90,85 ^b
		± 2,60	± 2,23	± 4,46	± 6,73

Letras maiúsculas diferentes demonstram diferença estatisticamente significativa na horizontal e letras minúsculas diferentes demonstram diferença estatisticamente significativa na vertical. Teste de Tukey ($\alpha=5\%$)

KME- Ketac Molar Easymix VT- Vitremer HS-C- Helioseal Clear C- Controle

FIGURA 5.1 – Médias da porcentagem de volume mineral nas diferentes profundidades (μm) da superfície do esmalte para cada grupo, considerando o **Esmalte na Borda do Material**

Esmalte não Selado : 50 μ m da borda do material

Na profundidade de 10 μ m, observa-se que os GIII e GIV mostraram diferença estatística significativa quando comparados entre si, sendo que o primeiro apresentou o menor conteúdo mineral. No entanto foram semelhantes aos GI e GII. Em relação à profundidade, para cada um dos grupos, somente foi verificada diferença significativa a 10 μ m, que apresentou o menor conteúdo mineral. Portanto, a partir desta profundidade não houve diferença estatisticamente significativa no conteúdo mineral, para nenhum dos grupos (Tabela 5.5).

Tabela 5.5 - Porcentagem de volume mineral (média $\pm$ dp) do **esmalte não selado** à distância de **50 μ m** da borda do material nos diferentes grupos, de acordo com a profundidade (μ m) em relação à superfície do esmalte

Esmalte	Profundidade	Grupos			
		I (KME)	II (VT)	III (HS-C)	IV (C)
N Ã O S E L A D O	10	AB 77,32 ^a	AB 77,37 ^a	A 67,97 ^a	B 82,14 ^a
		$\pm$ 14,01	$\pm$ 8,62	$\pm$ 6,84	$\pm$ 7,76
	30	A 88,13 ^b	A 93,27 ^b	A 90,89 ^b	A 90,93 ^b
		$\pm$ 8,17	$\pm$ 2,82	$\pm$ 7,08	$\pm$ 5,62
	50	A 94,04 ^b	A 93,14 ^b	A 93,30 ^b	A 93,24 ^b
		$\pm$ 2,73	$\pm$ 4,47	$\pm$ 3,44	$\pm$ 4,03
	70	A 95,48 ^b	A 94,00 ^b	A 93,17 ^b	A 92,61 ^b
		$\pm$ 4,14	$\pm$ 6,76	$\pm$ 3,43	$\pm$ 5,78

Letras maiúsculas diferentes demonstram diferença estatisticamente significativa na horizontal e letras minúsculas diferentes demonstram diferença estatisticamente significativa na vertical. Teste de Tukey ($\alpha=5\%$)

KME- Ketac Molar Easymix **VT-** Vitremer **HS-C-** Helioseal Clear **C-** Controle

FIGURA 5.2 – Médias da porcentagem de volume mineral nas diferentes profundidades (μm) da superfície do esmalte para cada grupo, considerando o **Esmalte não Selado: 50 μm**

Esmalte não Selado: 150 µm da borda do material

Nesta distância, para as profundidades avaliadas, observa-se que nenhum grupo mostrou diferença estatística significativa quando comparados entre si. Em relação à profundidade, para cada um dos grupos, somente foi verificada diferença significativa a 10 µm, que apresentou o menor conteúdo mineral. Portanto, a partir desta profundidade não houve diferença estatisticamente significativa no conteúdo mineral, para nenhum dos grupos (Tabela 5.6).

Tabela 5.6 - Porcentagem de volume mineral (média ± dp) do **esmalte não selado** à distância de **150 µm** da borda do material nos diferentes grupos, de acordo com a profundidade (µm) em relação à superfície do esmalte

Esmalte	Profundidade	Grupos			
		I (KME)	II (VT)	III (HS-C)	IV (C)
N Ã O S E L A D O	10	^A 78,80 ^a	^A 79,42 ^a	^A 76,63 ^a	^A 79,46 ^a
		± 17,43	± 7,29	± 10,01	± 10,45
	30	^A 91,51 ^b	^A 93,39 ^b	^A 93,37 ^b	^A 89,44 ^b
		± 4,97	± 3,84	± 3,54	± 5,83
	50	^A 93,78 ^b	^A 93,98 ^b	^A 93,66 ^b	^A 91,51 ^b
		± 3,46	± 4,25	± 3,43	± 5,59
	70	^A 94,48 ^b	^A 93,32 ^b	^A 94,98 ^b	^A 91,73 ^b
		± 2,66	± 4,30	± 4,47	± 4,31

Letras maiúsculas diferentes demonstram diferença estatisticamente significativa na horizontal e letras minúsculas diferentes demonstram diferença estatisticamente significativa na vertical. Teste de Tukey ($\alpha=5\%$)

KME- Ketac Molar Easymix **VT-** Vitremer **HS-C-** Helioseal Clear **C-** Controle

Esmalte não Selado: 500 µm da borda do material

Nesta distância, para as profundidades de 30 µm e 50 µm, observa-se que houve diferença estatística significativa entre os GII e GIV embora o conteúdo mineral tivesse sido menor para o GIV em todas as profundidades. Em relação à profundidade, para cada um dos grupos, somente foi verificada diferença significativa a 10 µm, que apresentou o menor conteúdo mineral. Portanto, a partir desta profundidade não houve diferença estatisticamente significativa no conteúdo mineral, para nenhum dos grupos (Tabela 5.7).

Tabela 5.7 - Porcentagem de volume mineral (média ± dp) do **esmalte não selado** à distância de **500 µm** da borda do material nos diferentes grupos, de acordo com a profundidade (µm) em relação à superfície do esmalte

Esmalte	Profundidade	Grupos			
		I (KME)	II (VT)	III (HS-C)	IV (C)
N Ã O S E L A D O	10	^A 81,96 ^a	^A 83,02 ^a	^A 80,17 ^a	^A 82,72 ^a
		± 10,41	± 11,04	± 13,13	± 6,75
	30	^{AB} 93,88 ^b	^A 95,08 ^b	^{AB} 92,31 ^b	^{BC} 89,63 ^b
		± 2,56	± 2,40	± 4,39	± 6,41
	50	^{AB} 95,52 ^b	^A 96,05 ^b	^{AB} 93,97 ^b	^{BC} 91,73 ^b
		± 1,40	± 2,74	± 3,34	± 5,06
	70	^A 94,45 ^b	^A 94,92 ^b	^A 93,04 ^b	^A 93,09 ^b
		± 2,59	± 4,41	± 5,28	± 4,29

Letras maiúsculas diferentes demonstram diferença estatisticamente significativa na horizontal e letras minúsculas diferentes demonstram diferença estatisticamente significativa na vertical. Teste de Tukey ($\alpha=5\%$)

KME- Ketac Molar Easymix **VT-** Vitremer **HS-C-** Heliobond Clear **C-** Controle

FIGURA 5.3 – Médias da porcentagem de volume mineral nas diferentes profundidades (μm) da superfície do esmalte para cada grupo, considerando o **Esmalte não Selado: 500 μm**

Esmalte Selado: 50 µm da borda do material

Nesta distância, para as profundidades avaliadas, observa-se que nenhum grupo mostrou diferença estatística significativa quando comparados entre si, apesar do maior conteúdo mineral ter sido apresentado pelo GII, em todas as profundidades avaliadas. Em relação à profundidade, para cada um dos grupos isoladamente, somente foi verificada diferença significativa a 10 µm, que apresentou o menor conteúdo mineral. Portanto, a partir desta profundidade não houve diferença estatisticamente significativa no conteúdo mineral, para nenhum dos grupos (Tabela 5.8).

Tabela 5.8 - Porcentagem de volume mineral (média ± dp) do **esmalte selado** à distância de **50 µm** da borda do material nos diferentes grupos, de acordo com a profundidade (µm) em relação à superfície do esmalte

Esmalte	Profundidade	Grupos			
		I (KME)	II (VT)	III (HS-C)	IV (C)
S E L A D O	10	^A 82,39 ^a	^A 85,45 ^a	^A 82,32 ^a	^A 81,90 ^a
		± 9,38	± 6,36	± 5,13	± 8,38
	30	^A 90,48 ^b	^A 93,53 ^b	^A 92,94 ^b	^A 90,35 ^b
		± 5,12	± 4,63	± 4,33	± 5,03
	50	^A 93,54 ^b	^A 94,70 ^b	^A 94,65 ^b	^A 91,90 ^b
		± 3,61	± 3,72	± 3,88	± 5,80
	70	^A 94,58 ^b	^A 95,01 ^b	^A 94,16 ^b	^A 93,08 ^b
		± 5,00	± 3,63	± 3,65	± 3,99

Letras maiúsculas diferentes demonstram diferença estatisticamente significativa na horizontal e letras minúsculas diferentes demonstram diferença estatisticamente significativa na vertical. Teste de Tukey ($\alpha=5\%$)

KME- Ketac Molar Easymix VT- Vitremer HS-C- Helioseal Clear C- Controle

FIGURA 5.4 – Médias da porcentagem de volume mineral nas diferentes profundidades (μm) da superfície do esmalte para cada grupo, considerando o **Esmalte Selado: 50 μm**

Esmalte Selado: 150 μm da borda do material

Nesta distância, para as profundidades de 30 μm e 50 μm , observa-se que houve diferença estatística significativa entre os GI e GIV e, GIII e GIV sendo o conteúdo mineral menor para o GIV em todas as profundidades. Em relação à profundidade, com exceção do GII, foi verificada diferença significativa a 10 μm , que apresentou o menor conteúdo mineral. Portanto, a partir desta profundidade não houve diferença estatisticamente significativa no conteúdo mineral, para os GI, GIII e GIV (Tabela 5.9).

Tabela 5.9 - Porcentagem de volume mineral (média $\pm$ dp) do **esmalte selado** à distância de **150 μm** da borda do material nos diferentes grupos, de acordo com a profundidade (μm) em relação à superfície do esmalte

Esmalte	Profundidade	Grupos			
		I (KME)	II (VT)	III (HS-C)	IV (C)
S E L A D O	10	^A 84,40 ^a	^A 85,82 ^a	^A 85,04 ^a	^A 82,18 ^a
		$\pm$ 8,55	$\pm$ 8,46	$\pm$ 7,18	$\pm$ 6,28
	30	^A 93,07 ^b	^{AB} 91,02 ^{ab}	^A 94,50 ^b	^B 86,94 ^a
		$\pm$ 3,00	$\pm$ 6,27	$\pm$ 3,66	$\pm$ 7,09
	50	^A 95,95 ^b	^{AB} 94,16 ^b	^A 94,45 ^b	^B 89,35 ^b
		$\pm$ 1,92	$\pm$ 5,20	$\pm$ 3,32	$\pm$ 5,88
	70	^A 94,07 ^b	^A 95,17 ^b	^A 93,94 ^b	^A 91,48 ^b
		$\pm$ 3,55	$\pm$ 2,37	$\pm$ 4,73	$\pm$ 5,36

Letras maiúsculas diferentes demonstram diferença estatisticamente significativa na horizontal e letras minúsculas diferentes demonstram diferença estatisticamente significativa na vertical. Teste de Tukey ($\alpha=5\%$)

KME- Ketac Molar Easymix **VT-** Vitremer **HS-C-** Helioseal Clear **C-** Controle

Esmalte Selado: 500 μm da borda do material

Nesta distância, para as profundidades avaliadas, observa-se que nenhum grupo mostrou diferença estatística significativa quando comparados entre si. Em relação à profundidade, com exceção do GIII, foi verificada diferença significativa a 10 μm , que apresentou o menor conteúdo mineral. Portanto, a partir desta profundidade não houve diferença estatisticamente significativa no conteúdo mineral, para os GI, GII e GIV (Tabela 5.10).

Tabela 5.10 - Porcentagem de volume mineral (média $\pm$ dp) do **esmalte selado** à distância de **500 μm** da borda do material nos diferentes grupos, de acordo com a profundidade (μm) em relação à superfície do esmalte

Esmalte	Profundidade	Grupos			
		I (KME)	II (VT)	III (HS-C)	IV (C)
S E L A D O	10	^A 84,77 ^a	^A 79,92 ^a	^A 87,71 ^a	^A 82,59 ^a
		$\pm$ 11,07	$\pm$ 9,34	$\pm$ 6,40	$\pm$ 8,87
	30	^A 92,55 ^b	^A 92,11 ^b	^A 93,55 ^{ab}	^A 90,27 ^b
		$\pm$ 3,13	$\pm$ 3,25	$\pm$ 5,09	$\pm$ 6,40
	50	^A 94,21 ^b	^A 93,19 ^b	^A 95,20 ^b	^A 92,02 ^b
		$\pm$ 3,15	$\pm$ 4,68	$\pm$ 2,36	$\pm$ 3,57
	70	^A 94,51 ^b	^A 92,05 ^b	^A 94,43 ^b	^A 91,30 ^b
		$\pm$ 3,30	$\pm$ 4,84	$\pm$ 3,61	$\pm$ 6,31

Letras maiúsculas diferentes demonstram diferença estatisticamente significativa na horizontal e letras minúsculas diferentes demonstram diferença estatisticamente significativa na vertical. Teste de Tukey ($\alpha=5\%$)

KME- Ketac Molar Easymix **VT-** Vitremer **HS-C-** Helioseal Clear **C-** Controle

FIGURA 5.5 – Médias da porcentagem de volume mineral nas diferentes profundidades (μm) da superfície do esmalte para cada grupo, considerando o **Esmalte Selado: 500 μm**

Discussão

6

6. Discussão

O desenvolvimento e progressão das lesões de cárie envolvem vários fatores interagindo-se entre si, por um determinado período de tempo, de forma tão variável e complexa que, ainda hoje, não são completamente compreendidos.

Apesar do enfoque educativo e preventivo atual, que prioriza os cuidados com a saúde bucal de maneira a preservar a estrutura dentária contra a cárie, muitos indivíduos, principalmente crianças, ainda apresentam alta atividade da doença, sobretudo nas superfícies oclusais, que são as responsáveis por uma polarização da cárie, contribuindo para uma elevada proporção de até 88% das lesões encontradas em crianças americanas¹¹. Em vista disso, o profissional, mais especificamente o Odontopediatra, necessita buscar alternativas para a realização de um atendimento preventivo, específico para essas superfícies, utilizando materiais e técnicas que sejam efetivos e correspondam às necessidades individuais do paciente.

Este estudo *in situ*, avaliou em esmalte bovino hígido o efeito de três materiais que podem ser utilizados para selamento de fossas e fissuras em Odontopediatria, considerando o acúmulo de biofilme dentário associado a um severo desafio cariogênico e, a utilização de solução de dentifrício fluoretado, situações estas que simulam a condição bucal real da maioria das crianças.

Com a finalidade de facilitar a interpretação dos resultados apresentados neste trabalho, a discussão será dividida em dois tópicos: Discussão da metodologia; e Discussão dos resultados.

6.1 Discussão da metodologia

Este estudo *in situ* foi realizado com a utilização de blocos de esmalte bovino hígidos que foram fixados dois a dois para simularem uma fissura artificial em forma de “V”^{48, 68}, na qual foi aplicado para teste um CIVav (Ketac Molar Easymix), um CIVm (Vitremer), um selante resinoso sem carga e sem flúor (Helioseal Clear) ou então, mantida como controle, sem qualquer tipo de selamento. Estas fissuras foram fixadas em um DIP que foi utilizado por um período de 14 dias, com acúmulo de biofilme dentário favorecido pela presença de uma tela fixada sobre as fissuras artificiais, além da exposição a um severo desafio cariogênico por meio da aplicação de uma solução de sacarose a 20%. Estas condições foram criadas com a intenção de simular uma situação bastante comum em crianças, ou seja, naquelas de pouca idade, que ainda não desenvolveram totalmente suas habilidades motoras e, conseqüentemente não conseguem realizar uma técnica de escovação satisfatória sem a supervisão e auxílio dos pais ou responsáveis, além de não terem uma consciência clara da necessidade de realizarem um correto controle de placa. Além disso, a escovação dentária normalmente realizada utilizando um dentífrício fluoretado e a dieta com altas concentrações de carboidratos fermentáveis, são situações bastante comuns no nosso país, principalmente entre as crianças.

Desde que foram introduzidos à literatura odontológica por KOULOURIDES et al.⁷⁹ (1974), os modelos *in situ* vêm sendo utilizados, cada vez com mais freqüência, para avaliar a inibição da desmineralização e potencialização da remineralização do esmalte dentário por meio do uso do flúor^{40, 79, 148}.

Os modelos *in situ* para a avaliação do processo de desenvolvimento e progressão da cárie dentária envolvem o uso de dispositivos intrabucais que podem

ser palatinos^{2, 20, 22, 48, 68, 83, 93, 96, 97, 131} ou mandibulares^{32, 74, 75, 79}, de acordo com o delineamento experimental utilizado, que criam condições definidas na cavidade bucal humana. Eles eliminam a artificialidade dos estudos *in vitro* os quais, não levam em consideração vários fatores envolvidos no processo de desenvolvimento da cárie, como por exemplo, a atuação da saliva e o efeito de várias substâncias no metabolismo bacteriano e, servem como uma alternativa aos estudos clínicos, que envolvem problemas éticos e a interferência de certas variáveis que não podem ser eliminadas. Além disso, fornecem informações clínicas relevantes, integração de várias metodologias e podem ser realizados em um curto período de tempo, sem causar mudanças irreversíveis nos dentes naturais do indivíduo. Contudo, apresentam como desvantagens um pequeno número de voluntários, alta dependência da colaboração dos mesmos^{40, 148}, além do fato de que a localização dos espécimes e sua relação anatômica com um dente normal em geral, não são fielmente reproduzidas^{74, 75}.

Em função da multifatorialidade da cárie dentária, estes modelos devem incluir substrato dentário, formação de biofilme com potencial cariogênico, aplicação de carboidratos fermentáveis, além do fator tempo¹⁴⁸. Por este modelo, os materiais utilizados podem ser testados em relação ao seu conteúdo de flúor e ação anticariogênica³⁷. O presente trabalho apresentou condições favoráveis para ser desenvolvido *in situ*, pois empregou como substrato as fissuras artificiais compostas a partir de blocos de esmalte bovino e, a formação e acúmulo de biofilme dentário cariogênico, pela presença da solução de sacarose por um período pré-estabelecido de 14 dias. Portanto, buscou-se desta forma, avaliar o efeito protetor de materiais que podem ser utilizados para o selamento de fossas e fissuras, com a intenção de simular o que freqüentemente ocorre na clínica odontopediátrica. Outra justificativa

para a realização deste estudo utilizando um modelo *in situ*, é o fato de existirem evidências de que este tipo de experimento quando utilizado para avaliação dos processos de remineralização, desmineralização e reatividade do flúor, proporciona resultados confiáveis^{40, 79, 148}.

A literatura evidencia que estudos desta natureza necessitam de um número grande de voluntários, para que os resultados possam ser interpretados sem a interferência das diversas variáveis provavelmente encontradas⁴⁰. De acordo com FEATHERSTONE; ZERO⁴⁰ (1992), o número ideal de voluntários para que se possa obter respostas confiáveis sobre os efeitos das ações preventivas da cárie dentária, deveria ser em torno de 10 a 20, existindo na literatura uma variação de três⁷⁹ até 16^{96, 97}. Alguns estudos *in situ* foram desenvolvidos com o número de 10⁴⁸, 12^{2, 22, 68} e 13 voluntários¹³¹, apresentando resultados pertinentes. O presente estudo foi iniciado com a participação de 12 voluntários, um número compatível com a literatura consultada^{2, 22, 68}, porém por motivos de saúde, um dos voluntários precisou ser excluído da amostra.

Participaram desta pesquisa 11 voluntários que apresentavam idade entre 23 e 31 anos, sendo 8 alunos dos cursos de pós-graduação em Odontologia da FOB/USP e 3 do HRAC-USP. Apesar do fato da cárie dentária ocorrer com maior freqüência e severidade em crianças e adolescentes, a execução da metodologia de um estudo *in situ*, com a utilização de um dispositivo removível, em voluntários nesta faixa etária, seria extremamente complicado em função da necessidade de seguir o protocolo corretamente, limitando a ingestão de alimentos e bebidas ao longo do dia, durante todo o período experimental. Além do mais, a cárie dentária pode desenvolver-se em qualquer fase da vida do indivíduo, desde que se estabeleçam condições para isso¹⁴⁸. A seleção dos voluntários foi propositalmente limitada a

alunos de cursos de pós-graduação, pois os mesmos encontram-se inseridos em um ambiente que estimula e valoriza a pesquisa científica, sendo portanto, capazes de compreender a necessidade e importância deste estudo para o contexto científico atual da Odontologia, garantindo a seriedade na participação e, a confiabilidade dos resultados. Mesmo assim, cada voluntário foi solicitado a preencher uma ficha com os horários em que realizou cada refeição e os períodos nos quais o DIP permaneceu fora da cavidade bucal (Anexo 6)^{48, 68, 131}. As instruções para que o voluntário removesse o DIP da cavidade bucal durante as refeições ou para o consumo de qualquer bebida foi com o intuito de padronizar os períodos de remineralização, sem a interferência da dieta dos voluntários^{38, 48, 148}.

Com relação ao substrato, a escolha pelo dente bovino foi baseada no fato de serem muito utilizados na literatura, tanto no desenvolvimento de estudos *in situ* como *in vitro*^{25, 39, 48, 68, 79, 83, 96, 100, 128, 131, 132, 147}, podem ser obtidos em grandes quantidades, possibilitando uma seleção bastante criteriosa dos 88 blocos que compunham o substrato deste estudo. Embora o esmalte humano seja considerado mais apropriado, apresenta maior variabilidade na composição e nas respostas aos testes de desafio cariogênico, devido a fatores genéticos e ambientais envolvendo diferenças quanto à exposição ao flúor, hábitos dietéticos, desafios cariogênicos anteriores e idade¹⁴⁸. O esmalte bovino é mais poroso, resultando em uma taxa de difusão e formação de lesões mais rápidas que o esmalte humano devido ao maior tamanho dos prismas de esmalte e espaços interprismáticos³⁹. Isto permite a adoção de protocolos com menor tempo de duração, o que é extremamente favorável, considerando a grande colaboração necessária nestes modelos de estudo. Além disso, esses dentes são maiores e possuem menor concentração de flúor que o esmalte humano¹²³. Por outro lado, os dentes humanos apresentam coroas com

dimensões menores e curvatura mais acentuada que os dentes bovinos, dificultando a obtenção de blocos de esmalte apropriados para os testes de microdureza, visto que não seria possível uma planificação da superfície sem grande desgaste de esmalte. Este procedimento, no entanto é necessário, uma vez que menores variações na microdureza são encontradas dentro de uma mesma superfície, quando a mesma é plana¹⁴⁸.

Em vista desses aspectos, o delineamento experimental deste estudo empregou blocos de esmalte obtidos de incisivos bovinos hígidos, para a composição das fissuras artificiais. Os dentes humanos ou bovinos empregados em modelos experimentais para avaliar a remineralização ou desmineralização empregando testes de microdureza, necessitam de um desgaste e polimento que planifique a superfície de esmalte, permitindo que as indentações do microdurômetro sejam realizadas⁷⁹. Outro ponto refere-se à necessidade de uma padronização das superfícies a serem testadas, o que é conseguido com o desgaste obtido por esses procedimentos iniciais, removendo aproximadamente 50 µm do esmalte superficial, que embora seja mais rico em flúor, expõe o esmalte subsuperficial, mais facilmente desmineralizado, permitindo a formação de lesões mais padronizadas^{40, 79, 123}.

Todos os blocos foram obtidos da porção central mais plana da coroa dos incisivos bovinos, com a finalidade de eliminar possíveis variações existentes na dureza das diferentes regiões do mesmo dente^{48, 68, 100}, além de apresentar uma espessura de esmalte remanescente ao polimento que fosse suficientemente espessa e, não interferisse nos resultados.

Apenas um bloco foi obtido de cada incisivo^{48, 68} porque a espessura de esmalte varia de uma região a outra da superfície vestibular e, na área selecionada para corte da coroa ela apresenta-se adequada e mais homogênea. Isto permite que

o polimento seja feito sem afetar de modo significativo o tecido remanescente, pois os valores de microdureza podem apresentar-se reduzidos nas áreas de esmalte com espessura irregular¹⁴⁸.

Estudos confirmam que a utilização de esmalte hígido é recomendada para a avaliação da capacidade dos materiais ou situações em diminuir ou inibir o processo de desmineralização da estrutura dentária^{20, 40, 79, 148}.

De acordo com Zero¹⁴⁸ (1995) uma preocupação crescente nos modelos de estudo *in situ* diz respeito ao método de esterilização dos blocos de esmalte. Neste estudo os incisivos bovinos foram imersos por no mínimo 30 dias em solução de formol a 2%, pH 7,0^{7, 22, 48, 68, 131, 132}. Entretanto, AMAECHI; HIGHAM; EDGAR³ (1998) demonstraram que após a imersão dos dentes bovinos em solução de timol a 0,1% (desinfetante mais fraco que o formol), a contaminação cruzada é eliminada. Em vista disso, após o período de permanência no formol a 2%, durante o período de preparo dos blocos (corte e polimento), os dentes permaneceram armazenados em solução de timol 0,1% diluído em solução fisiológica (pH 7.0), a uma temperatura de aproximadamente 4°C^{3, 81, 138}.

Foi utilizado neste estudo um modelo de fissuras artificiais desenvolvido na Faculdade de Odontologia de Bauru – Universidade de São Paulo, com a finalidade de tentar simular uma situação o mais próxima possível do que ocorre na cavidade bucal, ou seja, confeccionar uma fissura artificial, onde o material selador seria testado *in situ*, por meio de contato direto do mesmo com a superfície do esmalte, de forma semelhante à situação clínica^{48, 68}. Um grande número de trabalhos encontrados na literatura utilizou a técnica de confecção de preparo cavitário nos blocos de esmalte, tanto no emprego de modelos *in situ* como *in vitro*, para a realização de testes com diversos materiais^{10, 29, 58, 61, 100, 111, 112, 126, 132}. Porém, como

a proposta deste estudo era avaliar o efeito de materiais que podem ser empregados para o selamento de fossas fissuras, a utilização de um modelo com fissuras artificiais^{48, 68}, possíveis de serem instaladas em um dispositivo intrabucal palatino, seria uma alternativa mais adequada.

As fissuras artificiais foram obtidas pela união, com a utilização de um sistema adesivo e resina composta, de dois blocos de esmalte por uma de suas extremidades, com uma angulação de 120°, simulando uma fissura em forma de “V”, com o auxílio de um dispositivo de alumínio, que funcionou como uma matriz das fissuras artificiais. Este foi uma adaptação da técnica de HOSHI⁶⁸ (2006) e FRACASSO⁴⁸ (2006), que utilizaram um dispositivo de resina acrílica. O emprego do alumínio permitiu a obtenção de um dispositivo padronizado e definitivo para a execução desta metodologia, considerando o inconveniente resultante da possibilidade de distorção da resina acrílica, que implicaria na confecção de um novo dispositivo a cada estudo realizado.

A necessidade de esclarecimentos sobre o potencial preventivo de diferentes CIV motivou a escolha de um CIVav e de um CIVm comparados a um material resinoso^{16, 33, 90, 121, 146}, cujo comportamento já tem sido bastante explorado em diferentes delineamentos experimentais. A tendência atual é que um mesmo material possa ter diversas aplicações clínicas, no âmbito privado e, especialmente no público, com conseqüente benefício ao paciente. O CIVav em estudos longitudinais tem mostrado efetividade superior⁴⁹ ou semelhante ao CIVc¹³⁶, por essa razão os novos materiais devem ser cuidadosamente estudados, antes de serem aplicados clinicamente. O CIVm (Vitremmer) escolhido, já tem sido bastante estudado, inclusive em trabalhos clínicos longitudinais com resultados bastante positivos^{95, 99} sendo portanto, um parâmetro de comparação com os novos materiais ionoméricos.

O presente estudo utilizou um DIP confeccionado com resina acrílica em conformidade com vários trabalhos encontrados na literatura^{2, 7, 21, 48, 68, 69, 96, 131, 132}. São muitos os tipos de dispositivos utilizados para desenvolvimento de modelos *in situ*, como a adaptação de blocos de esmalte em próteses parciais mandibulares^{79, 80}, dispositivos removíveis inferiores^{32, 75}, além da fixação de blocos envoltos por um anel de nylon para favorecer o acúmulo biofilme dentário, na face vestibular de primeiros molares permanentes^{113, 145}. De acordo com o que foi apresentado por HOSHI⁶⁸ (2006), a utilização de um DIP para este estudo foi baseada no fato do mesmo ser capaz de acomodar as fissuras artificiais de forma satisfatória, com a intenção de minimizar o desconforto dos voluntários durante a realização do período experimental.

O DIP deste estudo apresentava quatro cavidades, sendo duas anteriores (direita e esquerda) e duas posteriores (direita e esquerda). A distribuição das fissuras artificiais nas mesmas foi planejada por meio do estabelecimento de um rodízio, de forma que os grupos fossem distribuídos igualmente entre as quatro cavidades nos diversos voluntários, com a intenção de evitar que a posição no DIP interferisse nos resultados⁶⁸.

Uma variável muito importante na realização de um estudo *in situ* é o tempo de duração do período experimental. Por apresentar um protocolo rigoroso e depender exclusivamente da responsabilidade do voluntário, um período de 14 dias foi escolhido como citado na literatura por vários autores^{7, 22, 68, 75, 80}. A utilização de blocos de esmalte bovino apresentando uma superfície mais porosa e, conseqüentemente, uma maior taxa de difusão e formação da lesão mais rápida, permite a utilização de períodos experimentais mais curtos^{39, 148}. A literatura evidencia tempos que variam de 45 minutos¹³² até 45 dias⁶⁹, e períodos

experimentais que podem ser realizados em uma⁶⁸, duas^{7, 48, 83, 113}, três^{2, 20, 131, 132}, e até quatro fases^{22, 96}, com duração de quatro até 28 dias, dependendo do delineamento experimental.

A utilização de uma tela plástica para favorecer o acúmulo de biofilme dentário foi utilizada em conformidade com demais estudos *in situ* sobre cárie dentária que demonstraram a eficácia deste método, que também é de execução simples^{2, 7, 20, 22, 48, 68, 96, 131}. O acúmulo de biofilme dentário sobre as fissuras artificiais, as quais foram adaptadas 1mm abaixo do nível da resina acrílica, foi propiciado pela fixação da tela plástica sobre as mesmas. De acordo com FEATHERSTONE; ZERO⁴⁰ (1992) a simples fixação dos espécimes 1 mm abaixo do nível da resina acrílica é suficiente para provocar desmineralização. Este espaço seria correspondente às áreas com acúmulo limitado de biofilme dentário em função da força abrasiva exercida pelos tecidos bucais e práticas de higiene bucal¹⁴⁸. Realizando a cobertura dos espécimes com uma tela, é possível obter um desafio cariogênico uniforme e de maior severidade^{40, 148}, semelhante a áreas com grande acúmulo de biofilme, como as regiões interproximais ou de fossas e fissuras¹⁴⁸. A tela tem a vantagem de ser uma estrutura rígida e por esse motivo, proteger o biofilme acumulado do atrito com a língua do voluntário. A literatura cita outros dispositivos que também favorecem o acúmulo de biofilme dentário, como a utilização de gaze^{32, 69} e anel de nylon fixado no bloco de esmalte^{113, 145}.

Neste estudo o acúmulo de biofilme dentário foi associado a um severo desafio cariogênico instituído por meio da aplicação de solução de sacarose a 20%, oito vezes ao dia^{7, 21, 68, 96, 97}. FEATHERSTONE; ZERO⁴⁰ (1992) afirmaram que este desafio cariogênico não simula exatamente a ingestão diária de carboidratos fermentáveis por um indivíduo, porém permite uma padronização do desafio. A

composição do biofilme dentário parece variar de acordo com a frequência diária de exposição à sacarose a 20%. A placa formada na presença de sacarose pode apresentar concentrações significativamente menores de cálcio e fósforo após apenas 2 aplicações de sacarose e de flúor, independente, se forem feitas 4 ou 8 exposições²². O mesmo esquema de emprego da sacarose adotada neste estudo mostrou-se mais efetivo na formação de desmineralização que aplicações realizadas quatro vezes ao dia, as quais diminuíram as concentrações de polissacarídeos insolúveis no biofilme dentário⁹⁶. Esse efeito pode ser entendido por dados da literatura² que em um dos esquemas de aplicação de sacarose, semelhante ao deste estudo, demonstraram que quanto maior a sua concentração, provavelmente menores serão os valores de pH e também as concentrações de flúor, cálcio e fósforo inorgânico no biofilme, resultando em maior perda de microdureza superficial do esmalte. Já está bem estabelecido que a concentração de flúor na placa apresenta uma forte correlação positiva com a concentração de cálcio¹⁴¹. Portanto, havendo um forte desafio cariogênico, entende-se a perda desses dois elementos importantes no processo da remineralização dentária. É provável, no entanto, que em concentrações bem inferiores à aqui empregada, como a de 5%², seja possível a formação de um biofilme dentário acidogênico, capaz de promover lesões de cárie.

Para este estudo, com a finalidade de simular uma situação condizente com a realidade, os voluntários consumiram água de abastecimento fluoretada, e utilizaram um dentífrício com flúor, sendo o único artifício inserido no modelo, a alta frequência de exposição do substrato à sacarose. Os voluntários realizaram a higiene bucal habitual, três vezes ao dia utilizando dentífrício fluoretado fornecido, removendo-se para isto o DIP da cavidade bucal^{68, 96, 97}.

A literatura apresenta trabalhos que utilizam dentifrícios sem flúor na composição para avaliar os materiais em diferentes situações^{2, 20, 22, 131, 132}, pelo fato do mesmo poder agir inibindo a desmineralização e promovendo a remineralização do esmalte, interferindo nos resultados. Outro ponto importante que foi considerado para a decisão final em utilizar dentifrício fluoretado neste estudo, foi o fato de que no Brasil, os dentifrícios comercializados no mercado apresentam flúor em sua composição, sendo a utilização de dentifrícios sem flúor limitada a uma pequena parcela da população.

O dentifrício escolhido para este estudo foi o mesmo utilizado por HOSHI⁶⁸ (2006) e FRACASSO⁴⁸ (2006), e semelhante ao empregado por PECHARKI et al.⁹⁷ (2005), o qual apresenta em sua composição 1100 ppm de flúor (NaF) e abrasivo à base de sílica, facilmente encontrado no mercado nacional. Durante o período experimental, para que todas as fissuras artificiais também recebessem flúor, os voluntários realizaram o gotejamento de uma solução composta por 1 g de dentifrício : 3 mL de água deionizada, três vezes ao dia, após cada uma das escovações, aguardando um período de dois minutos para reinstalarem o aparelho na cavidade bucal^{20, 68, 96, 137}. Este procedimento tentou simular o contato que ocorre normalmente, entre o biofilme de áreas não afetadas pela escova dentária e, o dentifrício diluído na saliva durante uma escovação habitual. Na tentativa de se simular uma situação real, todos os grupos de estudo receberam a aplicação da solução de dentifrício, considerando-se o fato de que dificilmente o indivíduo que escova os dentes, empregará para isso um dentifrício sem flúor.

As lesões de cárie podem ser avaliadas laboratorialmente, através de microscopia^{54, 60, 65, 90, 123}, microrradiografia^{5, 28, 32, 75, 91, 80, 93, 145}, método de avaliação sensorial¹¹² ou ensaios de microdureza superficial e em secção longitudinal do

esmalte^{2, 7, 10, 37, 43, 48, 68, 69, 96, 97, 100, 111, 128}. Esses métodos são considerados precisos e confiáveis para analisar a porosidade, extensão, profundidade e quantidade de mineral das lesões de cárie.

Mesmo existindo uma variedade grande de técnicas para avaliar as alterações no esmalte, relativas ao conteúdo mineral nos processos de desmineralização e remineralização, foi escolhido para este estudo o teste de microdureza em secção longitudinal do esmalte^{48, 68}. A escolha baseou-se no fato do mesmo ser um método amplamente utilizado como já citado acima, considerado efetivo para a mensuração de ganho e perda mineral do esmalte, além do fato de ser um método que não destrói os espécimes, podendo ser utilizado seqüencialmente no mesmo bloco, antes e após a etapa *in situ*^{5, 79, 123, 148}. De acordo FEATHERSTONE et al.³⁸ (1983), por ser este um método que não permite a obtenção de uma medida direta do conteúdo mineral, torna-se necessário fazer a conversão dos valores para porcentagem de volume mineral, que neste estudo, foi realizada por meio da fórmula definida por este mesmo autor.

De forma semelhante ao trabalho apresentado por HOSHI⁶⁸ (2006), e outros encontrados na literatura^{20, 81, 96, 100}, neste estudo foi aplicada uma carga de 25 g por 5 s.

6.2 Discussão dos resultados

6.2.1 Quantidade de biofilme dentário coletado e concentração de flúor

Em relação à quantidade de biofilme coletado, houve uma grande variação no peso úmido nos diferentes voluntários (Tabela 5.1), resultado este que vai de encontro a outros trabalhos citados na literatura^{68, 83}.

Percebeu-se uma tendência, dos CIV estudados apresentarem menor acúmulo de biofilme dentário, sendo o menor valor encontrado de 2,2 mg para o GI (CIVav-KME) e o maior valor de 6,3 mg para o GIV (sem selamento). O biofilme acumulado, provavelmente possuía um número elevado de bactérias cariogênicas, por ter sido formado sob a ação de uma elevada concentração de sacarose, várias vezes ao dia. Esse biofilme assim formado, pode ter sofrido a influência do flúor liberado a partir dos CIV. Este resultado, talvez se relacione aos dados obtidos por LOYOLA-RODRIGUEZ; GARCIA-GODOY; LINDQUIST⁸² (1994); SEPPÄ¹⁰⁸ (1994) e, FORSS et al.⁴¹ (1991) que observaram que os CIV, por sua capacidade de liberar fluoretos em níveis mais altos nos primeiros dias e mantendo-se baixos e constantes por longos períodos^{17, 19, 43, 77}, exercem influência inibindo o crescimento de bactérias cariogênicas no biofilme dentário acumulado. No entanto os valores médios encontrados para os grupos não diferiram muito entre si, demonstrando que embora houvesse variações individuais, elas não foram causadoras de resultados muito divergentes e ainda, que os voluntários procuraram seguir corretamente o protocolo do estudo, em que o acúmulo de biofilme dentário foi favorecido e, um severo desafio cariogênico instituído.

É pouco provável que as pequenas quantidades de biofilme acumulado em alguns grupos, de certos voluntários (V-2, GI, GIII e GIV; V-3, GI; V-6, GIII e GIV; V-7, GI e GIII) tenha sido consequência da falta de colaboração dos mesmos na utilização adequada do DIP, pois eles foram avaliados por meio do preenchimento diário do relatório de acompanhamento do período experimental, além de contatos freqüentes com a pesquisadora responsável, em função das trocas das soluções de sacarose a cada dois dias.

Embora não tenha havido uma diferença estatisticamente significativa, os resultados da concentração de flúor no biofilme, vão de encontro com dados da literatura^{7, 17, 77, 88, 108, 132, 134} que demonstram uma maior liberação inicial de flúor do CIVc em relação ao CIVm. Nota-se que para todos os grupos, no entanto, houve um desvio padrão muito elevado (Tabela 5.2), caracterizando a grande variabilidade entre os diferentes voluntários nas quantidades de flúor encontradas no biofilme. Tais achados vão de encontro a outros também anteriormente relatados⁶⁸.

A ausência de resultado significativo entre os grupos com relação ao conteúdo de flúor no biofilme, pode ter ocorrido devido ao fato dos voluntários utilizarem dentifrício fluoretado na higiene bucal habitual, além do gotejamento da solução de dentifrício e consumo de água de abastecimento público fluoretada, que podem ter mascarado, a possível liberação de flúor proveniente dos CIV. Com relação ao dentifrício, cabe ressaltar que ele foi dispensado sobre os espécimes com uma frequência inferior a 12 horas. Nesse intervalo de tempo, segundo WHITFORD et al.¹⁴² (2005), a concentração de flúor na placa seria equivalente à presente numa comunidade sem fluoretação da água, que fizesse uso de dentifrício sem flúor. Também pode ter exercido influência, a elevada concentração e frequência de sacarose que estimulou a formação do biofilme, pois esse esquema de aplicação tem evidenciado uma menor concentração de flúor encontrada no biofilme^{2, 22, 96}.

O conteúdo de flúor encontrado no biofilme para o GI (54,84 µg/g) foi inferior ao valor obtido por HOSHI⁶⁸ (2006) (75,1 µg/g) o qual foi maior e significativo em comparação ao selante resinoso e ao controle. Nesse trabalho a metodologia e material foram idênticos ao do presente estudo. Provavelmente essa diferença se relacione a variações individuais encontradas nos voluntários entre si, os quais também não foram os mesmos nos dois estudos. Diferente de outros trabalhos^{68, 132,}

¹³⁴, neste estudo os grupos do CIV apresentaram uma concentração de flúor menor que a encontrada no GIII, com um material resinoso. Outro aspecto a ser discutido e, que pode ter influenciado esses resultados foram os valores apresentados pelo voluntário número 2 (Anexo 9). Contudo não se identificou nenhum problema ocorrido durante o estudo, que tivesse propiciado esses resultados, sobretudo para o GIII. Calculando-se a média de todos os demais excluindo esse voluntário, chega-se a valores mais coerentes tais como: GI– 43,62 µg/g; GII– 35,03 µg/g; GIII– 33,86 µg/g e, GIV– 22,48 µg/g, demonstrando uma tendência de maior teor de flúor nos grupos dos CIV, especialmente do CIVav. Por esta avaliação, esses valores, foram semelhantes⁹⁶, inferiores^{20, 132} e superiores^{7, 41} a dados obtidos em trabalhos anteriores, cujas metodologias diferem em seu delineamento. Analisando-os, vê-se que dentre esses trabalhos, o de PAES LEME et al.⁹⁶ (2004), apresentou uma metodologia mais semelhante a aqui utilizada. No trabalho de CURY et al.²⁰ (2001), no entanto, um dentifrício mais concentrado [1500 ppm] foi usado após a última aplicação diária de sacarose o que provavelmente resultou numa maior concentração de flúor no biofilme. Contrariamente, neste estudo, com o intuito de simular uma situação de alto desafio, em que a higiene bucal da criança não é feita antes dela dormir e, ainda há o consumo de algum alimento cariogênico neste horário, o dentifrício foi usado antes da última aplicação da sacarose. Já no trabalho de BENELLI et al.⁷ (1993) que avaliaram em um estudo *in situ* a quantidade de flúor no biofilme dentário formado sobre restaurações de CIV (Chelon-Fil) e resina composta (Silux), apesar de empregarem o mesmo desafio cariogênico, não utilizaram o dentifrício fluoretado, o que talvez tenha contribuído para os menores valores de flúor encontrados no biofilme. Contudo, no estudo de FORSS et al.⁴¹ (1991) em que os voluntários, semelhante a este estudo, mantiveram dieta e higiene

bucal habituais, consumiram água fluoretada e fizeram uso de dentífrico fluoretado regularmente, verificaram por uma metodologia semelhante a deste estudo, que embora houvesse uma maior concentração de flúor no biofilme próximo ao Ketac-Fil em relação à resina Silar, estas foram bem inferiores às encontradas neste estudo, provavelmente pelo fato do biofilme estar dentro de um tubo metálico, e não em contato direto com o material.

Em uma revisão sobre a disponibilidade e destino do flúor no ambiente bucal, EKSTRAND; OLIVEBY³⁴ (1999) enfatizaram que o principal efeito cariostático do flúor ocorre em função de sua concentração nos fluidos próximos à estrutura dentária. A exposição ao flúor resulta em uma ligeira elevação dos níveis constantes do mesmo nos fluidos bucais, principalmente na saliva e nos fluidos do biofilme dentário. Este, quando exposto ao flúor, tem a capacidade de mantê-lo armazenado por um determinado período, liberando-o posteriormente, sendo esta concentração de flúor significativamente maior que a disponível na saliva, devido às diferenças no fluxo salivar nas diferentes localidades da cavidade bucal.

6.2.2 Porcentagem de volume mineral

No presente estudo como só foi verificada diferença estatística significativa para a profundidade de 10 µm, em relação às demais, as comparações a seguir levarão em consideração apenas esta profundidade. Serão analisadas algumas distâncias de interesse, para cada grupo individualmente, com a finalidade de verificar a capacidade seladora dos diferentes materiais empregados, bem como seu efeito preventivo (Tabela 5.3). O GIII foi o que apresentou um maior número de comparações com diferença estatística significativa ($p < 0.05$) dada pelo teste de Tukey. Dentre todas, destacam-se aquelas obtidas entre o esmalte selado e não

selado, revelando o efeito protetor do material, visto que nas distâncias internas, observou-se maior conteúdo mineral. Tal observação demonstra que este efeito dos selantes, principalmente os resinosos, só ocorre no esmalte que está sob o material⁹⁰ e não naquele adjacente, portanto é necessária a manutenção do selamento intacto para garantir seu efeito preventivo^{86, 103, 128}.

Essa foi uma tendência também seguida pelos demais grupos dos CIV. Acredita-se que se o número de voluntários fosse maior, para tentar minimizar os efeitos das variabilidades individuais, os resultados de maneira geral poderiam ser diferentes, pois a lógica da interpretação desses dados obtidos, é que os selamentos seriam capazes de proteger o esmalte de forma significativa. Os GI e GII apresentaram, cada um, apenas uma comparação estatisticamente significativa e, o GIV, como era esperado, por não apresentar material selador, revelou um padrão de conteúdo mineral homogêneo (Tabela 5.3).

Por outro lado, um ponto crítico do selamento é a sua borda e suas imediações (regiões externas ao selamento), local que pode ocorrer maior acúmulo de biofilme, dificultando a ação remineralizadora da saliva, sendo portanto, um local mais ácido que áreas mais distantes⁷⁴ o que ficou demonstrado também na mesma tabela, na comparação entre as distâncias de 500 µm externa x 50 µm externamente ao material para o selante resinoso.

O selamento com os dois CIV apresentou, sobretudo com o Ketac Molar Easymix, uma desadaptação na borda, provocada por uma sobressaliência do material. Esta foi vista somente após o corte em secção longitudinal das fissuras artificiais embutidas em resina acrílica, sob a lente de maior aumento (40x) do microdurômetro, durante a análise da microdureza do esmalte. Sua ocorrência foi provavelmente, devido à consistência um pouco mais densa desse CIV, resultando

em maior dificuldade de adaptação durante sua inserção, nas fissuras artificiais. Este problema, no entanto, pode ter sido característico da metodologia empregada que não permitiu, em função do tamanho reduzido das fissuras artificiais, uma melhor acomodação dos materiais sobre a superfície do esmalte, além do fato do material selador não ser submetido à oclusão funcional normal, que eliminaria, em pouco tempo por desgaste, tais imperfeições. As conseqüências destas imperfeições provavelmente foram evidenciadas pelos resultados observados da porcentagem de volume mineral na borda do material selador, que embora em sua maioria não tivesse sido estatisticamente significativa, foi menor que para as distâncias internas (50 e 500 μm) e externa (500 μm) avaliadas.

Outro aspecto a ser considerado seria o fato de que a desadaptação de um material à estrutura dentária, como o que provavelmente ocorreu algumas vezes com o Ketac Molar Easymix, ou com um material que não apresenta ação inibitória do biofilme, como o Heliaseal Clear, podem, em circunstâncias extremas de ausência de controle do biofilme, provocar uma iatrogenia, por contribuir com a ocorrência de desmineralização nas imediações do material. Este fato foi observado na distância externa de 50 μm do material, observando os grupos teste, para os quais houve uma tendência de menor microdureza, ao se afastar do material.

Para todos os grupos selados, parece ter ocorrido algum grau de infiltração marginal, pois observa-se que pela comparação entre as distância internas de 50 μm com a de 500 μm , não houve diferença estatisticamente significativa entre elas, apesar de ter havido uma tendência de melhores valores para a maior distância. Essa observação também é apoiada pelo resultado entre a distância interna de 50 μm com a borda, as quais não foram diferentes estatisticamente. Apesar da provável infiltração ocorrida na distância interna de 50 μm , sobressai a capacidade protetora

dos selamentos com resultados estatisticamente significantes em relação à mesma distância externa para os GII e III.

Uma característica importante do CIV é oferecer à estrutura dentária, uma proteção à distância do local onde foi inserido^{43, 52, 65, 73}. Isto é sugerido nos resultados obtidos com os dois CIV empregados neste estudo, quando foram comparadas as maiores distâncias analisadas entre si sob o selamento e, externamente a ele (500i x 500e). Observa-se que não houve diferenças estatisticamente significantes nas porcentagens de volume mineral entre elas. Já para o Heliobond Clear, na maior distância externa ao selamento, a porcentagem de volume mineral foi menor e estatisticamente significativa daquela obtida sob o selamento. O maior valor percentual do volume mineral encontrado para o GIII sob o selante, caracterizaria, portanto, o efeito de barreira física exercido pelo selante resinoso, sem flúor na sua composição^{103, 144}.

Considerando nas tabelas 5.4 a 5.7 cada distância individualmente (borda, esmalte não selado e, esmalte selado), percebe-se que a porcentagem de volume mineral a 10 µm de profundidade na borda do material e nas distâncias externas mais próximas a ela (50 µm e 150 µm), apresentou valores semelhantes entre si e menores que os obtidos na maior distância externa avaliada (500 µm). Estes resultados sugerem que provavelmente houve uma associação de três fatores: nas regiões mais próximas do material (borda, 50 µm e 150 µm) pode ter ocorrido maior espessura de biofilme em função da maior distância da tela em relação a área selada; possivelmente houve atrito da língua sobre a superfície da tela, provocando o desprendimento do excesso de biofilme formado, promovendo um melhor acesso da saliva nas áreas com biofilme menos espesso e ainda, maior acúmulo e aderência do biofilme em função da presença do material selador⁷⁴.

Analisando de forma geral os resultados obtidos nas tabelas 5.4 a 5.10, foi possível observar que houve uma desmineralização superficial, com resultados estatisticamente significantes somente a 10 μm em relação às demais profundidades, para todos os grupos individualmente, em todas as distâncias avaliadas. Porém percebe-se que em todas as distâncias localizadas sob o esmalte selado, houve uma tendência de maiores valores percentuais de volume mineral, quando comparadas às distâncias localizadas no esmalte não selado. Este resultado sugere que os materiais seladores, igualmente, ofereceram alguma proteção à estrutura mineral sob eles. A desmineralização observada nos GII e GIII pode ser entendida, pois ambos receberam um ataque ácido com gel de ácido fosfórico a 37% por 15 segundos, previamente ao selamento. Embora na metodologia tenha sido usado o artifício da fita adesiva para controlar o limite de ação, em extensão, do ácido nas superfícies a serem condicionadas, este pode ter atuado inadvertidamente em uma área maior da previamente estipulada. Este condicionamento além de remover parte do esmalte não reativo superficial, aumenta a porosidade daquele subjacente, tornando-o mais susceptível à solubilidade que o esmalte sadio^{116, 118}. Já o GI recebeu um pré-tratamento com o líquido do próprio CIV com a finalidade apenas de remover a *smear layer*. Porém é sabido, que os CIVc apresentam durante a presa, uma reação tipo ácido-base, com diminuição do pH local⁸⁹. Isso talvez tenha exercido alguma influência no tecido subjacente. LOBO et al.⁸¹ (2005) observou que no esmalte sob o material, em molares humanos hígidos, submetidos à ciclagem de des-rem mineralização, não houve também diferença significativa entre materiais resinosos com e sem flúor, comparados ao Vitremer, concordando com os resultados do presente estudo. Selantes resinosos com e sem flúor quando usados como restauração em dentes decíduos submetidos a um processo *in vitro* de início e

progressão de cárie, mostrou resultados conflitantes. Quando se analisou a profundidade da lesão quanto ao seu início e progressão, o selante com flúor foi responsável por uma diminuição significativa das mesmas. Contudo, ao se analisar a frequência de lesões de parede encontradas, embora houvesse uma tendência para um menor número de lesões com o selante com flúor, isso não foi significativo⁶¹.

Os resultados deste trabalho discordam de outros anteriormente obtidos, em que se observou haver diferenças estatisticamente significantes nas profundidades de 10 μm ^{48, 68}, 30 μm ^{48,68} e 50 μm ⁴⁸ (FRACASSO/2006) para todos os grupos individualmente, em todas as distâncias avaliadas (esmalte selado, borda do material e esmalte não selado). Essas diferenças deixaram de existir a partir de 50 μm . No estudo de HOSHI⁶⁸ (2006) estas diferenças foram evidentes apenas na presença de biofilme, já que o desafio cariogênico foi instituído apenas para a metade dos grupos. Tais resultados provavelmente ocorreram, porque o substrato estudado havia sofrido uma desmineralização prévia ao ensaio *in situ*^{48, 68}, o que tornou maior, a profundidade da lesão, sobretudo na presença do biofilme associado ao desafio cariogênico⁶⁸. Neste estudo, a lesão provocada pelo desafio cariogênico em 14 dias, como era de se esperar, foi de pequena profundidade, daí os resultados apontarem a diferença estatística entre a menor profundidade considerada, em relação às demais. Já LOBO et al.⁸¹ (2005) verificaram uma diferença estatisticamente significativa, também nessa mesma profundidade, mas apenas para o esmalte não selado com um CIVm (Vitremer).

Para cada distância individualmente, pode-se observar neste estudo que quase todas as comparações entre os grupos (profundidades isoladamente) foram estatisticamente semelhantes, contrariando os dados de HOSHI⁶⁸ (2006), que verificou, sobretudo na profundidade de 10 μm , uma diferença estatística significativa

entre os grupos, do Ketac Molar Easymix, com o selante resinoso (Delton), sendo o primeiro, aquele que apresentou as maiores porcentagens de volume mineral. Contudo nesse trabalho, os blocos de esmalte bovino que compunham a fissura artificial, foram todos previamente desmineralizados, diferentes do presente estudo, que utilizou blocos hígidos. A maior tendência de incorporação de flúor pelo esmalte desmineralizado⁶⁴ pode ter influenciado na microdureza obtida nesse trabalho. Uma superfície previamente desmineralizada, quando tratada pelo flúor, apresenta uma cobertura sobre a lesão, de estruturas globulares sugestivas de fluoreto de cálcio, obstruindo os prismas do esmalte atacado. Acredita-se que esta cobertura possa ter uma função protetora, permitindo a incorporação de flúor no interior da lesão, atuando como uma barreira de difusão, reduzindo a solubilidade do esmalte e, servindo de reservatório de produtos ricos em flúor¹²⁷. No entanto PIN et al.¹⁰⁰ (2005) analisando o efeito de CIVc, CIVm e, um compósito, em dentes previamente desmineralizados ou hígidos, evidenciaram um melhor efeito do CIVm com relação ao CIVc e de ambos com o compósito, quanto aos valores de microdureza em secção longitudinal, porém em estudo *in vitro*, em que tais materiais foram inseridos em cavidades, como restauradores.

Neste estudo, dois grupos antes da aplicação do selamento, receberam um tratamento da superfície das fissuras artificiais com o ácido fosfórico a 37%, para propiciar a adesão do material à superfície do esmalte bovino. Foram eles o GII (Vitremer) e o GIII (Helioseal Clear). Esse tipo de pré-tratamento remove uma camada de esmalte superficial, tornando-o mais reativo e, portanto, com maior capacidade de incorporar flúor, quando comparado a um esmalte intacto^{58, 59, 102}. Seguindo este raciocínio, ao analisar as tabelas 5.4 a 5.10 na profundidade de 10 µm, comparando-se todos os grupos, percebe-se que houve uma tendência do GII

(VT) apresentar maiores valores de porcentagem de volume mineral que o GI (KME) e que o GIII (HS-C) e, estes dois semelhantes entre si. Os CIV sob ação de um ácido sofrem uma degradação química na sua superfície, no sistema partícula de vidro/gel, produzindo a desunião entre matriz e partícula de carga. Isto acarreta uma diminuição na força e resistência ao desgaste do material, bem como, nas propriedades cariostáticas. Esse tipo de degradação parece afetar numa ordem crescente de importância os CIV de tripla polimerização, dupla polimerização e reação ácido base³⁵. Além disso, o CIVav (KME) comparado com o CIVm (VT) libera consideravelmente menos flúor que este, devido à sua baixa solubilidade e alta proporção pó:líquido (3.5:1)³⁰. Talvez essas diferentes características dos CIV possam ter influenciado nos resultados obtidos neste estudo.

Neste estudo, provocou-se um acúmulo de biofilme dentário favorecido pelas 8 aplicações de solução de sacarose a 20%, além da não perturbação deste biofilme por 14 dias, aliado à presença do flúor na água de abastecimento de Bauru/SP. Estas foram condições semelhantes às também instituídas no estudo de CURY; REBELLO; DEL BEL CURY²² (1997). Os autores puderam observar que na ausência de dentífrico fluoretado, somente o flúor na água de abastecimento não foi capaz de parar a desmineralização, ocorrendo a formação de lesões de cárie iniciais, observadas como manchas brancas visíveis. No presente estudo, além do desafio cariogênico as fissuras ainda receberam o gotejamento por 3 vezes ao dia, de uma solução de dentífrico fluoretado com 1100 ppm de flúor; sem enxágüe posterior do dispositivo. Esta estratégia permitiu que mais flúor ficasse retido no fluido da placa³¹. Sabe-se que o dentífrico fluoretado tem a capacidade de oferecer no meio bucal uma concentração suficientemente alta de flúor para afetar a remineralização do esmalte¹³⁰. Nessa situação, em que na interface biofilme/esmalte deve ter ocorrido

baixos valores de pH, o flúor do dentifrício deve ter sido a variável que mais interferiu nos resultados, por ser um importante determinante da dissolução mineral¹³⁰ equilibrando os grupos entre si. Assim, pode-se supor que o dentifrício mascarou o efeito preventivo dos cimentos ionoméricos usados, visto que ele aumenta a remineralização do esmalte²². A interferência do dentifrício fluoretado foi descrita por RODRIGUES et al.¹⁰⁴ (2005), que observou não haver diferenças significantes entre diversos materiais com e sem flúor em sua composição, quando foram associados a um dentifrício fluoretado, numa situação de desafio cariogênico. A incorporação de flúor no biofilme dentário como descrito por WHTFORD et al. (2002)¹⁴¹ (2005)¹⁴², depende da concentração de cálcio nesse local, pois como estes autores e outros¹⁰⁶,¹⁰⁷ também demonstraram, há uma relação direta entre as concentrações de cálcio e flúor no biofilme dentário. Seguindo este raciocínio, parece que o cálcio presente no biofilme atuaria como um fator limitante da quantidade de flúor incorporado, independentemente da fonte e concentração deste elemento oferecido. No modelo experimental deste estudo, se por um lado foi oferecido flúor de três fontes (material, água e dentifrício), por outro, foi instituído um desafio cariogênico pela sacarose a 20%, 8x/dia que provavelmente diminuiu a concentração de cálcio²² e flúor no biofilme^{2, 15, 22}. Também DUGGAL et al.³² (2001), verificaram que quanto mais agressivo o ataque cariogênico pela sacarose, mesmo na presença de dentifrício fluoretado, este não foi capaz de provocar a remineralização. Entretanto, na ausência do dentifrício fluoretado, um desafio cariogênico menos agressivo não era capaz de provocar uma desmineralização significativa. Novamente, comparando-se os dados deste estudo para os GI (KME) e GII (VT) com o GIII (HS-C) em todas as distâncias (Tabelas 5.4 a 5.10) e os dados de HOSHI⁶⁸ (2006) entre os grupos do CIV com o do selante resinoso, evidencia-se diferença significativa somente neste

último estudo em que os espécimes estavam previamente desmineralizados. As áreas de esmalte desmineralizadas, talvez por terem exposto mais sítios reativos, podem ter incorporado maior quantidade de íons cálcio e flúor oferecidos no meio bucal, resultando nos valores encontrados pelo autor.

Vários estudos anteriores mostram o efeito preventivo de materiais ionoméricos^{4, 7, 9, 26, 29, 43, 58, 60, 78, 81, 87, 99, 109, 100, 104, 111, 112, 122, 139, 132, 145} ou resinosos contendo flúor^{58, 60, 61}, em relação à diminuição da desmineralização ou favorecendo a remineralização da estrutura dentária adjacente. Os dados deste estudo, no entanto, vão de encontro àqueles de KIELBASSA et al.⁷⁵ (1999) e KIELBASSA; MÜLLER; GARCIA-GODOY⁷⁴ (2003) que não verificaram nenhuma diferença significativa dos CIV Ketac Molar e Vitremer, com materiais resinosos ou compômeros, na capacidade de diminuir a desmineralização do esmalte também submetido a um desafio cariogênico com uma solução de sacarose a 10%, apesar de ter sido empregado nessa pesquisa, um dentifrício sem flúor. Dados clínicos (MJÖR/1996) também falharam em demonstrar o efeito anticariogênico dos ionômeros de vidro, o que demonstra, no entanto, a necessidade de mais pesquisas com esse material, a fim de determinar sua anticariogenicidade⁴². No entanto é sabido, que é impossível determinar uma concentração ótima de flúor, necessária para a remineralização de lesões de cárie⁵⁷, pois segundo SEPPÄ¹⁰⁸ (1994), parece que acima de determinado limite de flúor, quantidades adicionais deste elemento, parecem não aumentar a proteção do esmalte. Até o presente momento, enquanto a efetividade dos selantes resinosos em reduzir cárie é bem evidente, os dados relativos aos cimentos de ionômero de vidro são menos convincentes. Um dos motivos são problemas no delineamento experimental dos estudos, que muitas vezes mostram dados conflitantes. De modo geral, os selantes resinosos

apresentam elevadas taxas de retenção e mostram-se efetivos na prevenção de cárie oclusal, contudo ainda é impossível saber em qual magnitude isso ocorre e, para qual nível de risco de cárie¹. Com relação aos ionômeros de vidro como selantes, recomenda-se ainda mais pesquisas que esclareçam sua efetividade na prevenção da cárie, mesmo porque, as propriedades dos CIVc , CIVav e, CIVm relacionam-se à sua microestrutura incluindo a porosidade, o conteúdo de carga entre outras³⁵.

Em Odontopediatria normalmente se considera que a criança é um indivíduo com alto risco à cárie. Especialmente na sociedade brasileira, o consumo de guloseimas por esta população é elevado e de modo geral, a escovação, quando realizada pela criança, é deficiente e, poucos pais participam ativamente desta tarefa diária. Sabe-se que somente a água fluoretada não é capaz de inibir a desmineralização na presença de um biofilme agredido por exposições freqüentes à sacarose (acima de 2x/da). Contudo se ao menos o indivíduo provocasse sua desorganização durante a escovação dentária, é possível que até 4 exposições diárias à sacarose não levasse a danos graves à estrutura dentária, na presença de água fluoretada²².

Dados recentes de revisão sistemática da literatura relativa aos selamentos de fossas e fissuras recomendam este procedimento na prevenção da cárie de superfície oclusal de molares permanentes. No entanto, recomenda-se também que o nível de prevalência de cárie, individual ou populacional, seja considerado na efetividade desta técnica preventiva¹.

Analisando-se os dados obtidos, percebe-se como são complexas as interações presentes no ambiente bucal, relativas à incidência de cárie e sua prevenção. A ausência de resultados fortemente significantes deve ser encarada sob

todos os possíveis aspectos influentes que contribuíram para os mesmos. Um estudo *in situ* traz uma contribuição indiscutível pela proximidade com uma situação real, porém, as dificuldades inerentes ao mesmo e, os problemas ocorridos durante sua realização devem merecer atenção especial, na análise de um resultado. Esses aspectos por si só justificam a continuidade de mais pesquisas que complementem aquelas já realizadas, no sentido de se entender a dinâmica do processo de remineralização que é tão freqüente e que tanto prejuízo ainda traz à população infantil.

Os materiais ionoméricos e resinosos têm sido alvo de pesquisas *in vitro*^{17, 26, 29, 43, 58, 60, 81, 90, 100, 104, 111, 112, 122,}, *in situ*^{7, 48, 68, 75, 132} e, *in vivo*^{95, 136}.

No presente estudo *in situ*, um aspecto que ficou bem claro, independente do material ser ionomérico ou resinoso, é a necessidade do controle do biofilme dentário, pois sua presença, numa situação hipotética como a aqui estudada, minimizou os possíveis benefícios dos CIV, que apresentam um forte potencial preventivo, como demonstrado pela maioria dos autores acima citados.

Conclusões

7

7. Conclusões

A análise dos resultados de acordo com a metodologia proposta permitiu constatar que:

- ✓ Não houve diferença entre todos os grupos, quanto à concentração de flúor presente no biofilme dentário;
- ✓ Houve uma tendência do CIVav apresentar maior concentração de flúor que o CIVm e, ambos com valores inferiores ao HS-C e,
- ✓ O conteúdo mineral apresentou diferença estatisticamente significativa somente na camada mais superficial do esmalte (10 µm) para todos os grupos individualmente, em relação às demais profundidades. E nesta profundidade, não houve diferença entre os grupos. Essas comparações foram válidas para a maioria das distâncias analisadas.

A análise das constatações acima mencionadas permitiu concluir que:

Sob a condição clínica determinada pelo delineamento deste estudo, os materiais empregados no selamento foram capazes de conferir certa proteção à estrutura dentária, com sugestão de menor desmineralização para os cimentos de ionômero de vidro, os quais apresentaram um comportamento semelhante entre si.

Anexos

Anexo 1

Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru
Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 – Bauru-SP – CEP 17012-901 – C.P. 73
PABX (0XX14)3235-8000 – FAX (0XX14)3223-4679

Comitê de Ética em Pesquisa (3235-8356)

Processo nº 07/2006

Bauru, 20 de junho de 2006.

Senhora Professora,

Informamos que após o envio da documentação solicitada referente ao projeto de pesquisa encaminhado a este Comitê de Ética em Pesquisa **“Avaliação de dois cimentos de ionômero de vidro utilizados para selamento de fossas e fissuras aplicados em esmalte bovino hígido, sob condições de severo desafio cariogênico - estudo in situ”** de autoria de Vivian de Agostino Biella, sob sua orientação foi novamente analisado e considerado **APROVADO** em reunião deste Comitê realizada no dia 26 de abril de 2006.

Solicitamos que ao término do trabalho, seja enviado a este Colegiado um relatório final para parecer do trabalho concluído o qual será utilizado para publicação em revista científica.

Atenciosamente,

Prof. Dr. José Henrique Rubo
Coordenador

Ilm^a Sr^a Prof^a Dr^a Salete Moura Bonifácio da Silva
DD. Docente do Departamento de Odontopediatria, Ortodontia e Saúde Coletiva

Anexo 2

Microdureza (KHN) inicial do esmalte nos diferentes voluntários e grupos após a distribuição aleatória.

Bloco	Dureza Inicial	Grupo	Voluntário	Média
146	355	1	1	368,125
120	378	1	1	
49	355	2	1	
169	368	2	1	
116	367	3	1	
37	378	3	1	
73	367	4	1	
99	377	4	1	
86	366	1	2	367,625
91	377	1	2	
9	363	2	2	
109	373	2	2	
72	356	3	2	
156	380	3	2	
137	356	4	2	
125	370	4	2	
75	358	1	3	367,5
157	380	1	3	
18	360	2	3	
108	370	2	3	
27	366	3	3	
160	373	3	3	
17	359	4	3	367,125
14	374	4	3	
165	359	1	4	
77	374	1	4	
130	363	2	4	
41	376	2	4	
181	357	3	4	
121	371	3	4	
145	367	4	4	
71	370	4	4	
140	361	1	5	370
45	382	1	5	
154	367	2	5	
139	379	2	5	
106	354	3	5	
133	369	3	5	
155	366	4	5	
82	382	4	5	
89	357	1	6	367,375
88	374	1	6	
111	356	2	6	
22	371	2	6	

Continua...

Continuação...

126	363	3	6	
170	379	3	6	
107	359	4	6	
114	380	4	6	
117	363	1	7	367,125
135	380	1	7	
21	361	2	7	
64	376	2	7	
124	362	3	7	
175	368	3	7	
55	354	4	7	
152	373	4	7	
12	363	1	8	369,5
150	369	1	8	
96	367	2	8	
94	382	2	8	
11	367	3	8	
142	375	3	8	
168	355	4	8	
87	378	4	8	
50	356	1	9	368,875
90	373	1	9	
151	364	2	9	
26	374	2	9	
113	363	3	9	
19	377	3	9	
132	363	4	9	
40	381	4	9	
134	367	1	10	366,5
128	371	1	10	
177	357	2	10	
167	377	2	10	
158	358	3	10	
74	373	3	10	
153	361	4	10	
138	368	4	10	
122	364	1	11	369,375
68	371	1	11	
129	365	2	11	
176	380	2	11	
162	364	3	11	
143	372	3	11	
10	365	4	11	
144	374	4	11	
115	367	1	12	367,625
92	369	1	12	
30	359	2	12	
1	373	2	12	
161	359	3	12	
173	381	3	12	
171	362	4	12	
166	371	4	12	

Anexo 3

Universidade de São Paulo

Faculdade de Odontologia de Bauru

Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 – Bauru-SP – CEP 17012-901 – C.P. 73

PABX (0XX14)235-8000 – FAX (0XX14)223-4679

Departamento de Ortodontia, Odontopediatria e Saúde Coletiva

Fone: (0XX14) 3235-8218

CARTA DE INFORMAÇÃO AO SUJEITO DA PESQUISA

Dúvidas existem a respeito da eficiência dos diferentes tipos de cimentos de ionômero de vidro utilizados para selantes na prevenção da cárie da superfície oclusal dos dentes (superfície responsável pela mastigação). Desta forma, torna-se necessário realizar pesquisas para avaliar a influência destes diferentes materiais no controle da cárie.

Para o esclarecimento destas dúvidas, estudos “in situ” têm sido preconizados por simularem as condições bucais. Nestes estudos são colocados, no céu da boca, aparelhos removíveis de acrílico com blocos de esmalte dentário, que serão submetidos às condições da cavidade bucal por um determinado período de tempo.

Nesse estudo, os voluntários utilizarão aparelhos confeccionados individualmente, contendo fragmentos de dentes bovinos esterilizados para verificar o efeito contra a cárie de dois materiais: um cimento de ionômero de vidro convencional e outro modificado por resina, com acúmulo de placa bacteriana (restos de alimentos e bactérias que permanecem aderidos à estrutura dentária).

Este aparelho deverá ser usado por 14 dias e o voluntário seguirá rigorosamente um protocolo (Anexo – Instruções ao Voluntário).

As dificuldades encontradas pelo sujeito da pesquisa constituem-se basicamente em uma pequena dificuldade de falar com o aparelho na boca principalmente durante o primeiro dia e em uma limitação da frequência de refeições diárias (3 vezes ao dia). A participação do voluntário nesta pesquisa não representa nenhum risco à sua saúde, visto que em todas as etapas com atuação direta nos mesmos, serão seguidas as normas de biossegurança, preconizadas pela Comissão de Biossegurança da Faculdade de Odontologia de Bauru / USP. O sujeito da pesquisa deve estar ciente que o não cumprimento das instruções poderá prejudicar os resultados da pesquisa e que a sua participação ajudará no estabelecimento de protocolos em relação ao uso dos materiais testados no controle da cárie. Além disso, o sujeito da pesquisa será beneficiado com atendimento preventivo (limpeza profissional) e curativo, caso este último seja necessário, sob responsabilidade dos autores.

A qualquer momento o sujeito da pesquisa poderá receber respostas a qualquer pergunta ou esclarecimentos atualizados e a qualquer dúvida acerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados com a pesquisa e o seu tratamento, ou até mesmo negar-se a continuar participando da pesquisa, sem penalidade, contatando a C.D. mestrandia **Vivian de Agostino Biella** pelo telefone (14)3234-9316 ou (14)9652-1000. Cabe enfatizar que, como medida de segurança, não se identificará o indivíduo e se manterá o caráter confidencial da informação relacionada com sua privacidade.

Caso o sujeito da pesquisa queira apresentar reclamações em relação a sua participação na pesquisa, poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos, da FOB-USP, pelo endereço da Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 (sala no prédio da Biblioteca, FOB/USP) ou pelo telefone (14)3235-8356.

Anexo 4

Universidade de São Paulo

Faculdade de Odontologia de Bauru

Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 – Bauru-SP – CEP 17012-901 – C.P. 73

PABX (0XX14)235-8000 – FAX (0XX14)223-4679

Departamento de Ortodontia, Odontopediatria e Saúde Coletiva

Fone: (0XX14) 3235-8218

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Pelo presente instrumento que atende às exigências legais, o Sr. (a) _____, portador da cédula de identidade _____, após leitura minuciosa da CARTA DE INFORMAÇÃO AO SUJEITO DA PESQUISA, devidamente explicada pelos profissionais em seus mínimos detalhes, ciente dos serviços e procedimentos aos quais será submetido, não restando quaisquer dúvidas a respeito do lido e explicado, firma seu CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO concordando em participar da pesquisa proposta.

Fica claro que o sujeito da pesquisa ou seu representante legal, pode a qualquer momento retirar seu CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO e deixar de participar desta pesquisa e ciente de que todas as informações prestadas tornaram-se confidenciais e guardadas por força de sigilo profissional (Art. 9º do Código de Ética Odontológica).

Por estarem de acordo assinam o presente termo.

Bauru-SP, _____ de _____ de _____.

Assinatura do Sujeito da Pesquisa

Vivian de Agostino Biella
Autor (a)

Profa. Dra. Salete Moura Bonifácio da Silva
Orientador (a)

Anexo 5

Universidade de São Paulo

Faculdade de Odontologia de Bauru

Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 – Bauru-SP – CEP 17012-901 – C.P. 73

PABX (0XX14)235-8000 – FAX (0XX14)223-4679

Departamento de Ortodontia, Odontopediatria e Saúde Coletiva

Fone: (0XX14) 3235-8218

Nome do voluntário: _____ **Nº** _____ **Início:** ____/____/____

INSTRUÇÕES AO VOLUNTÁRIO

1. Conferir se os seguintes itens encontram-se dentro do “kit” que você acaba de receber: formulário para preenchimento e controle das horas de remoção do aparelho; estojo plástico para o armazenamento do aparelho durante os períodos de descanso; uma bisnaga de dentifrício a base de sílica com 1100ppm de flúor; uma escova dental; um rolo de fio dental; um frasco com solução de sacarose a 20% (este frasco será substituído a cada dois dias pela pesquisadora); um frasco com solução de creme dental, na proporção de 3mL de água deionizada para 1g de dentifrício (substituição após sete dias); porções de gaze.
2. O aparelho deverá ser inserido na cavidade bucal na noite que antecede o início da fase experimental (que terá duração de quatorze dias), após a última higiene bucal, utilizando o creme dental, escova dental e fio dental fornecidos pela pesquisadora, permitindo dessa forma, a formação da película adquirida.
3. O aparelho deverá ser utilizado continuamente (24h/dia), devendo ser removido durante as refeições (3 refeições diárias / café da manhã, almoço e jantar, totalizando no máximo 1h para cada refeição – 3h/dia), período em que o aparelho deverá ser mantido no estojo plástico coberto com gaze umedecida em água de abastecimento.
4. Durante o período em que o voluntário estiver com o aparelho na boca, nenhum tipo de alimento ou bebida poderá ser ingerido, exceto água, removendo-se o aparelho. Não ingerir medicamentos no período experimental (se necessário, entrar em contato com a pesquisadora).
5. A higiene bucal deverá ser realizada normalmente (utilização de fio dental e escovação) após as refeições (café da manhã, almoço e jantar), devendo retirar o aparelho da cavidade bucal, utilizando somente o dentifrício fornecido pela pesquisa

- (sugestão de horários: 7:30h, 13h, 20h). O aparelho não deverá ser escovado, porém a superfície que entra em contato com a mucosa do palato poderá ser limpa com uma gaze umedecida em água de abastecimento uma vez ao dia, após a última escovação do dia. Cada vez que a higiene bucal for realizada, gotejar a solução de creme dental em todos os blocos contidos no aparelho (três gotas em cada espécime). Em seguida, aguardar um período de dois minutos e recolocar o aparelho na cavidade bucal, sem lavá-lo (Agitar o frasco da solução antes de aplicar).
6. Retirar o aparelho da cavidade bucal e aplicar três gotas da solução de sacarose a 20% sobre todos os blocos contidos no aparelho, 8 vezes ao dia (sugestão de horários: 8h, 9:30h, 11h, 14h, 15:30h, 17h, 19h, 21h), aguardar um período de 5 minutos e reinstalar o aparelho na cavidade bucal sem lavá-lo. Caso não consiga seguir estritamente os horários, tenha em mente que a aplicação da sacarose deverá ser efetuada com um intervalo mínimo de 1h entre uma aplicação e outra. A última aplicação de sacarose (oitava aplicação do dia) deverá ser feita após a última aplicação de solução de creme dental. Anotar o horário de cada gotejamento da solução de sacarose no adesivo fixado no frasco da solução fornecida pela pesquisadora, facilitando assim o controle e execução correta da metodologia.
 7. Anotar no relatório de acompanhamento os horários dos períodos em que o aparelho permanecerá fora da cavidade bucal (retirada e recolocação), justificando-os.
 8. Na manhã seguinte ao 14º dia do experimento, ou seja, no 15º dia (____/____), o voluntário deverá permanecer em jejum, com o aparelho na cavidade bucal e não deverá realizar a higiene bucal até a retirada do aparelho no laboratório de Bioquímica da FOB/USP, para a realização da coleta do biofilme dentário e remoção dos blocos para a análise dos resultados. Obs: Será oferecido um lanche ao voluntário.

Em caso de dúvidas ou na falta de qualquer material indispensável para a execução da metodologia, entrar em contato com a autora da pesquisa (Vivian de Agostino Biella) pelos telefones: (14) 3234-9316 ou (14) 9652-1000; Odontopediatria (FOB/USP): (14) 3235-8218 ou 3235-8225.

Anexo 6

Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru
 Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 – Bauru-SP – CEP 17012-901 – C.P. 73
 PABX (0XX14)235-8000 – FAX (0XX14)223-4679
Departamento de Ortodontia, Odontopediatria e Saúde Coletiva
 Fone: (0XX14) 3235-8218

Nome do voluntário: _____ Nº _____ Início: ____/____/____

RELATÓRIO DE ACOMPANHAMENTO DA FASE EXPERIMENTAL

DATA	REFEIÇÃO	RETIRADA (Horário)	RECOLOCAÇÃO (Horário)

-Em caso de dúvidas ou na falta de qualquer material indispensável para a execução da metodologia, entrar em contato com a autora da pesquisa (Vivian de Agostino Biella) pelos telefones: (14) 3234-9316 ou (14) 9652-1000; Odontopediatria (FOB/USP): (14) 3235-8218 ou 3235-8225.

Anexo 7

Solução de TISAB II utilizada para análise da concentração de flúor no biofilme dentário

- Ácido acético glacial 1M (Merck, lote: K34419863509, Darmstadt, Germany);
- NaCl 1M (cloreto de sódio; Sigma, lote: 70K0049, Steinheim, Germany);
- CDTA 11,55 mM (diaminocyclohexanetetran-acético; Sigma, lote: 032K0072);
- NaOH 0,5 M (hidróxido de sódio; Synth, lote: 33863, Labsynth Produtos para Laboratório Ltda., Diadema – São Paulo, Brasil).

Anexo 8

Componentes para o preparo dos padrões de flúor para análise da concentração de flúor no biofilme dentário

BLANCK 0,2 mL de água deionizada 0,2 mL de HCL 1M 0,4 mL de TISAB II	Padrão de 0,2 ppm F 0,2 mL de padrão de 0,8 ppm F 0,2 mL de HCL 1M 0,4 mL de TISAB II
Padrão de 0,025 ppm F 0,2 mL de padrão de 0,1 ppm F 0,2 mL de HCL 1M 0,4 mL de TISAB II	Padrão de 0,4 ppm F 0,2 mL de padrão de 1,6 ppm F 0,2 mL de HCL 1M 0,4 mL de TISAB II
Padrão de 0,05 ppm F 0,2 mL de padrão de 0,2 ppm F 0,2 mL de HCL 1M 0,4 mL de TISAB II	Padrão de 0,8 ppm F 0,2 mL de padrão de 3,2 ppm F 0,2 mL de HCL 1M 0,4 mL de TISAB II
Padrão de 0,1 ppm F 0,2 mL de padrão de 0,4 ppm F 0,2 mL de HCL 1M 0,4 mL de TISAB II	Teste (0,2 ppm F) 0,2 mL de padrão de 0,8 ppm F 0,2 mL de HCL 1M 0,4 mL de TISAB II

Anexo 9

Concentração de flúor (média) no biofilme dentário (F µg / g) nos diferentes grupos e voluntários

Voluntário	[F] µg / g			
	GI	GII	GIII	GIV
1	10,52	6,997	3,597	3,497
2	166,915	138,727	392,490	140,148
3	11,517	9,478	5,740	9,676
4	95,512	87,287	127,820	62,232
5	22,473	24,056	9,437	14,479
6	36,259	46,939	14,525	15,642
7	64,496	78,863	91,330	74,036
8	19,004	10,411	3,998	3,879
9	11,209	10,073	6,125	14,027
10	8,459	6,713	5,137	6,588
11	156,833	69,496	70,894	20,813

Referências

Bibliográficas

Referências Bibliográficas

1. Ahovuo-Saloranta A, Hiiri A, Nordblad A, Worthington H, Mäkelä M. Pit and fissure sealants for preventing dental decay in the permanent teeth of children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev*. 2006;Issue 1.
2. Aires CP, Tabchoury CP, Del Bel Cury AA, Koo H, Cury JA. Effect of sucrose concentration on dental biofilm formed in situ and on enamel demineralization. *Caries Res*. 2006;40(1):28-32.
3. Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM. Efficacy of sterilization methods and their effect on enamel demineralization. *Caries Res*. 1998;32(6):441-6.
4. Aranda M, Garcia-Godoy F. Clinical evaluation of the retention and wear of a light-cured pit and fissure glass ionomer sealant. *J Clin Pediatr Dent*. 1995 Summer;19(4):273-7.
5. Arends J, Schuthof J, Jongebloed WG. Lesion depth and microhardness indentations on artificial white spot lesions. *Caries Res*. 1980;14(4):190-5.
6. Arends J, ten Bosch JJ. Demineralization and remineralization evaluation techniques. *J Dent Res*. 1992 Apr;71 Spec No:924-8.
7. Benelli EM, Serra MC, Rodrigues AL Jr, Cury JA. In situ anticariogenic potential of glass ionomer cement. *Caries Res*. 1993;27(4):280-4.
8. Bernardo PC, Rodrigues CRMD, Souza Paiva JA, Singer JM, Sañudo A. Avaliação clínica de um cimento de ionômero de vidro utilizado como selante oclusal. *Pesq Odont Bras*. 2000;14(1):53-7.

9. Biella VA, Dekon AFC. Avaliação do desempenho clínico de restaurações com cimento de ionômero de vidro modificado por resina em dentes posteriores permanentes. *SalusVita*. 2003;22(3):321-31.
10. Bombonatti JFS. Liberação de flúor e potencial anticariogênico de um cimento de ionômero de vidro modificado por resina em diferentes proporções pó/líquido, comparativamente a selantes. Bauru, 2004. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.
11. Brunelle JA, Carlos JP. Recent trend in dental caries in US school children and the effect of water fluoridation. *J Dent Res*. 1990;69:723-7.
12. Buonocore M. Adhesive sealing of pits and fissures for caries prevention, with use of ultraviolet light. *J Am Dent Assoc*. 1970 Feb;80(2):324-30.
13. Carlsson A, Jonsson Y, Svensson K, Stahl B, Twetman S. Pit and fissure sealing and mutans streptococci levels in saliva. *Am J Dent*. 1992 Oct;5(5):280-2.
14. 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 May;68(5):773-9.
15. Ccahuana-Vasquez RA, Tabchoury CP, Tenuta LM, Del Bel Cury AA, Vale GC, Cury JA. Effect of frequency of sucrose exposure on dental biofilm composition and enamel demineralization in the presence of fluoride. *Caries Res*. 2007;41(1):9-15.
16. Cooley RL, McCourt LW, Huddleston AM, Casmedes HP. Evaluation of a fluoride-containing sealant by SEM, microleakage, and fluoride release. *Pediat Dent*. 1990 Feb; 12(1):38-42.
17. Costa B, Rosa OPS, Carvalho RM, Bijella MFTB. Estudo comparativo da liberação de flúor de materiais dentários restauradores. *Rev Odontol Univ São Paulo*. 1995;9(4):279-84.

18. Council on Dental Materials and Devices. Pit and fissure sealants. *J Am Dent Assoc.* 1976;93(1):134.
19. Creanor SL, Carruthers LM, Saunders WP, Strang R, Foye RH. Fluoride uptake and release characteristics of glass ionomer cements. *Caries Res.* 1994;28(5):322-8.
20. Cury JA, Hashizume LN, Del Bel Cury AA, Tabchoury CPM. Effect of dentifrice containing fluoride and/or baking soda on enamel demineralization / remineralization: An in situ study. *Caries Res.* 2001;35(2):106-10.
21. Cury JA, Marques AS, Tabchoury CP, Del Bel Cury AA. Composition of dental plaque formed in the presence of sucrose and after its interruption. *Braz Dent J.* 2003 Mar; 14(3):147-52.
22. Cury JA, Rebello MA, Del Bel Cury AA. In situ relationship between sucrose exposure and the composition of dental plaque. *Caries Res.* 1997;31(5):356-60.
23. Cury JA, Saad JRC, Rodrigues Jr AL. Liberação de flúor do selante: na água, saliva e soluções desmineralizante-remineralizante. *RGO.* 1993;41(5):273-5.
24. Cury JA, Tenuta LMA, Ribeiro CC, Paes Leme AF. The importance of fluoride dentifrices to the current dental caries prevalence in Brazil. *Braz Dent J.* 2004;15(3):167-74.
25. Cury JA, Simões GS, Del Bel Cury AA, Gonçalves NC, Tabchoury CP. Effect of a calcium carbonate-based dentifrice on in situ enamel remineralization. *Caries Res.* 2005 May/Jun;39(3):255-7.
26. Delbem AC, Pedrini D, Franca JG, Machado TM. Fluoride release/recharge from restorative materials--effect of fluoride gels and time. *Oper Dent.* 2005 Nov-Dec;30(6):690-5.
27. Dennison JB, Straffon LH, More FG. Evaluating tooth eruption on sealant efficacy. *J Am Dent Assoc.* 1990 Nov;121(5):610-4.

28. Dijkman GEHM; Arends J. Secondary caries in situ around fluoride-releasing light-curing composites: A quantitative model investigation on four materials with a fluoride content between 0 and 26 vol%. *Caries Res.* 1992; 26(5):351-7.
29. Dionysopoulos P, Kotsanos N, Koliniotou-Koubia, Papagodiannis Y. Secondary caries formation in vitro around fluoride-releasing restorations. *Oper Dent.* 1994 Sep-Oct;19(5):183-8.
30. Dionysopoulos P, Kotsanos N, Pataridou A. Fluoride release and uptake by four new fluoride releasing restorative materials. *J Oral Rehabil.* 2003 Sep;30(9):866-72.
31. Duckworth RM, Knoop DTM, Stephen KW. Effect of mouthrinsing after toothbrushing with a fluoride dentifrice on human salivary fluoride levels. *Caries Res.* 1991;25:287.
32. Duggal MS, Toumba KJ, Amaechi BT, Kowash MB, Higham SM. Enamel demineralization in situ with various frequencies of carbohydrate consumption with and without fluoride toothpaste. *J Dent Res.* 2001;80(8):1721-4.
33. Dukic W, Glavina D. Clinical evaluation of three different materials for fissure sealing after 12 months. *Acta Med Croatica.* 2006 Jun;60(3):209-14.
34. Ekstrand J, Oliveby A. Fluoride in the oral environment. *Acta Odontol Scand.* 1999; 57(6):330-3.
35. Fano L, Fano V, Ma WY, Yang GW, Zhu F. Structure of dental glass-ionomer cements by confocal fluorescence microscopy and stereomicroscopy. *Biomaterials.* 2001;22:2353-8.
36. Featherstone JDB, Cutress TW, Rodgers BE, Dennison PJ. Remineralization of artificial caries-like lesions in vivo by a self-administered mouthrinse or paste. *Caries Res.* 1982;16(3):235-42.

37. Featherstone JDB. Modeling the caries-inhibitory effects of dental materials. *Dent Mat.* 1996;12(3):194-7.
38. Featherstone JDB, ten Cate JM, Shariati M, Arends J. Comparison of artificial caries-like lesions by quantitative microradiography and microhardness profiles. *Caries Res.* 1983;17(5):385-91.
39. Featherstone JDB, Mellberg JR. Relative rates of progress of artificial carious lesions in bovine, ovine and human enamel. *Caries Res.* 1981;15(1):109-14.
40. Featherstone JD, Zero DT. An in situ model for simultaneous assessment of inhibition of demineralization and enhancement of remineralization. *J Dent Res.* 1992 Apr;71 Spec No:804-10.
41. Forss H, Jokinen J, Spets-Happonen S, Seppä L, Luoma H. Fluoride and mutans streptococci in plaque grown on glass ionomer and composite. *Caries Res.* 1991;25(6):454-8.
42. Forss H, Halme E. Retention of a glass ionomer cement and a resin-based fissure sealant and effect on carious outcome after 7 years. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1998 Feb;26(1):21-5.
43. Forss H, Seppä L. Prevention of enamel demineralization adjacent to glass ionomer filling materials. *Scand J Dent Res.* 1990 Apr;98(2):173-8.
44. Forsten L. Fluoride release and uptake by glass ionomers. *Scand J Dent Res.* 1991 Jun;99(3):241-5.
45. Forsten L. Fluoride release and uptake by glass-ionomers and related materials and its clinical effect. *Biomaterials.* 1998 Mar;19(6):503-8.
46. Forsten L. Resin-modified glass ionomer cements: fluoride release and uptake. *Acta Odontol Scand.* 1995 Aug;53(4):222-5.

47. Forsten L. Short- and long-term fluoride release from glass ionomers and other fluoride-containing filling materials in vitro. *Scand J Dent Res.* 1990 Apr;98(2):179-85.
48. Fracasso MLC. Avaliação in situ do efeito remineralizador de um selante resinoso e um cimento de ionômero de vidro aplicados em esmalte dental bovino desmineralizado, associados a um verniz fluoretado. Bauru, 2006. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.
49. Frencken JE, Makoni F, Sithole WD. ART restorations and glass-ionomer sealants in Zimbabwe: survival after 3 years. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1998 Dec;26(6):372-81.
50. Garcia-Godoy F, Abarzua I, De Goes MF, Chan DCN. Fluoride release from fissure sealants. *J Clin Pediatr Dent.* 1997; 22(1):45-9.
51. Gray GB, Paterson RC. Clinical assessment of glass ionomer/composite resin sealant restorations in permanent teeth: results of a field trial after 1 year. *Int J Paediatr Dent.* 1994 Sep;4(3):141-6.
52. Griffin E, Donly KJ, Erickson R. Caries inhibition by fluoride-releasing liners. *Am J Dent.* 1992; 5: 293-5.
53. Gwinnett AJ. Scientific rationale for sealant use and technical aspects of application. *J Dent Educ.* 1984 Feb;48(2 Suppl):56-9.
54. Hattab FN, el-Mowafy OM, Salem NS, el-Badrawy WA. An in vivo study on the release of fluoride from glass-ionomer cement. *Quintessence Int.* 1991 Mar;22(3):221-4.
55. Hatibovic-Kofman S, Koch G. Fluoride release from glass ionomer cement in vivo and in vitro. *Swed Dent J.* 1991;15:253-8.
56. Hatibovic-Kofman S, Koch G, Ekstrand J. Glass ionomer materials as a rechargeable fluoride-release system. *Int J Paediatr Dent.* 1997;7(2):65-73.

57. Hellwig E, Lussi A. What is the optimum fluoride concentration needed for the remineralization process? *Caries Res.* 2001; 35:57-9. Suppl 1.
58. Hicks MJ, Flaitz CM. Caries-like lesion formation around fluoride-releasing sealant and glass ionomer. *Am J Dent.* 1992;5(6):329-34.
59. Hicks MJ, Flaitz CM. Epidemiology of dental caries in the pediatric and adolescent population: a review of part and current trends. *J Clin Pediatr dent.* 1993;18(1):43-9.
60. Hicks MJ, Flaitz CM. Occlusal caries formation in vitro: comparison of resin-modified glass ionomer with fluoride-releasing selant. *J Clin Ped Dent.* 2000;24(4):309-14.
61. Hicks MJ, Flaitz CM. Caries formation in vitro around a fluoride-releasing pit and fissure sealant in primary teeth. *J Dent Child.* 1998 May/Jun;65(9):161-8.
62. Hicks MJ, Flaitz CM, Garcia-Godoy F. Fluoride-releasing sealant and caries-like enamel lesion formation in vitro. *J Clin Pediatr Dent.* 2000;24(3):215-9.
63. Hicks MJ, Garcia-Godoy F, Flaitz C. Biological factors in dental caries: role of saliva and dental plaque in the dynamic process of demineralization an remineralization (part 1). *J Clin Pediatr Dent.* 2003;28(1):47-52.
64. Hicks MJ, Flaitz, CM, Silverstone LM. Fluoride uptake in vitro of sound enamel and caries-like lesions of enamel from fluoride solutions of relatively low concentration. *J Pedodontics.* 1986;11(47):47-61.
65. Hicks MJ, Flaitz CM, Silverstone LM. Secondary caries formation in vitro around glass ionomer restorations. *Quintessence Int.* 1986; 17:527-32.
66. Hicks MJ, Silverstone LM. The effect of sealant application and sealant loss on caries-like lesion formation in vitro. *Pediatr Dent.* 1982 Jun;4(2):111-4.

67. Hormati AA, Fuller JL, Denehy GE. Effects of contamination and mechanical disturbance on the quality of acid-etched enamel. *J Am Dent Assoc.* 1980 Jan;100(1):34-8.
68. Hoshi AT. Efeitos de um cimento de ionômero de vidro e um selante resinoso em esmalte bovino desmineralizado, submetido ou não a desafio cariogênico – estudo in situ. Bauru, 2006. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.
69. Hyun Koo R, Cury JA. Soluble calcium / SMFP dentifrice: effect on enamel fluoride uptake and remineralization. *Am J Dent.* 1998;11(4):173-6.
70. Jensen ME, Wefel JS, Triolo PT, Hammesfahr PD. Effects of a fluoride-releasing fissure sealant on artificial enamel caries. *Amer J Dent.* 1990 Apr;3(2):75-8.
71. Karantakis P, Helvatjoglou-Antoniades M, Theodoridou-Pahini S, Papadogiannis Y. Fluoride release from three glass ionomers, a compomer and a composite resin in water, artificial saliva, and lactic acid. *Oper Dent.* 2000 Jan/Feb; 25(1): 20-5.
72. Karlzén-Reuterving G, Van Dijken JWV. A three-year follow-up of glass ionomer cement and resin fissure sealants. *J Dent Child.* 1995;62:108-10.
73. Kidd EAM. Cavity sealing ability of composites and glass ionomer restorations: An assessment in vitro. *Braz Dent J.* 1978; 144:139-42.
74. Kielbassa AM, Schulte-Monting J, Garcia-Godoy F, Meyer-Lueckel H. Initial in situ secondary caries formation: effect of various fluoride-containing restorative materials. *Oper Dent.* 2003;28(6):765-72.
75. Kielbassa AM, Müller U, Garcia-Godoy F. In situ study on the caries-preventive effects of fluoride-releasing materials. *Amer J Dent.* 1999;12:13-4. Special issue.

76. Kilpatrick NM. Glass ionomer cements: their application in children. Part I. Dental Update. 1996 Jul/Aug;23(6):236-8.
77. Koch G, Hatibovic-Kofman S. Glass ionomer cements as a fluoride release system in vivo. Swed Dent J. 1990;14(6):267-73.
78. Kotsanos N. An intraoral study of caries induced on enamel in contact with fluoride-releasing restorative materials. Caries Res. 2001 May/Jun;35(3):200-4.
79. Koulourides T, Phantumvanit P, Munksgaard C, Housch T. An intraoral model used for studies of fluoride incorporation in enamel. J Oral Pathol. 1974;3(4):185-96.
80. Lagerweij MD, ten Cate JM. Remineralization of enamel lesions with daily applications of a high-concentration fluoride gel and a fluoride toothpaste: an in situ study. Caries Res. 2002;36(4):270-4.
81. Lobo MM, Pecharki GD, Tengan C, da Silva DD, da Tagliaferro EP, Napimoga MH. Fluoride-releasing capacity and cariostatic effect provided by sealants. J Oral Sci. 2005 Mar;47(1):35-41.
82. Loyola-Rodriguez JP, Garcia-Godoy F, Lindquist R. Growth inhibition of glass ionomer cements on mutans streptococci. Pediatr Dent. 1994 Sep/Oct;16(5):346-9.
83. Martinhon CC, Italiani FM, Padilha PM, Bijella MFB, Delbem ACB, Buzalaf MAR. Effect of iron on bovine enamel and on the composition of dental biofilm formed "in situ". Arch Oral Biol. 2006 Jun;51(6):471-5.
84. Mass E, Eli I, Lev-Dor-Samovici B, Weis EI. Continuous effect of pit and fissure sealing on *S. mutans* presence in situ. Pediatr Dent. 1999 May/Jun;21(3):164-8.
85. McLean JW, Wilson AD. Fissure sealing and filling with an adhesive glass-ionomer cement. Br Dent J. 1974 Apr 2;136(7):269-76.
86. Mejare I, et al. Caries-preventive effect of fissure sealants: a systematic review. Acta Odontol Scand. 2003 Dec;61(6):321-30.

87. Mejàre I, Mjör IA. Glass ionomer and resin-based fissure sealants: a clinical study. *Scand J Dent Res*. 1990;98(4):345-50.
88. Momoi Y, McCabe JF. Fluoride release from light-activated glass ionomer restorative cements. *Dent Mater*. 1993 May;9(3):151-4.
89. Mount GJ. An atlas of glass-ionomer cements: a clinician's guide. BC Decker, Inc. 1ed. Martin Dunitz, Londres, 1990; 128p.
90. Mueller J, Meyer-Lueckel H, Paris S, Hopfenmuller W, Kielbassa AM. Inhibition of lesion progression by the penetration of resins in vitro: influence of the application procedure. *Oper Dent*. 2006 May/Jun;31(3):338-45.
91. Nagamine M, Itota T, Torii Y, Irie M, Staninec M, Inoue K. Effect of resin-modified glass ionomer cements on secondary caries. *Am J Dent*. 1997 Aug;10(4):173-8.
92. National Institute Of Health. Consensus development conference statement on dental sealants in the prevention of tooth decay. *J Amer Dent Ass*. 1984;108:233-6.
93. Ögaard B, Rolla G, Ruben J, Arends J. Relative cariostatic effects of KOH-soluble and KOH-insoluble fluoride in situ. *J Dent Res*. 1990 Aug;69(8):1505-7.
94. Ögaard B, Rolla G. Intra-oral models: comparison of in situ substrates. *J Dent Res*. 1992;71:920-3. Special issue.
95. Oliveira FS, Silva SMB, Machado MAAM. Clinical performance of glass ionomer cement and resin-based materials as occlusal sealants. A 4-year longitudinal study. *Caries Res*. 2005;39:327. Abstract (52nd ORCA Congress).
96. Paes Leme AF, Dalcico R, Tabchoury CP, Del Bel Cury AA, Rosalen PL, Cury JA. In situ effect of frequent sucrose exposure on enamel demineralization and on plaque composition after APF application and F dentifrice use. *J Dent Res*. 2004 Jan;83(1):71-5.

97. Percharki, et al. Effect of sucrose containing iron (II) on dental biofilm and enamel demineralization in situ. *Caries Res.* 2005;39(2):123-9.
98. Pedrini D, Delbem ACB, França JGM, Machado TM. Fluoride release by restorative materials before and after a topical application of fluoride gel. *Pesqui Odontol Bras.* 2003;17(2):137-41.
99. Pereira AC, Basting RT, Pinelli C, Meneghim MC, Werner CW. Retention and caries prevention of Vitremer and Ketac-Bond used as occlusal sealants. *Amer J Dent.* 1999;12(2):62-4, 1999.
100. Pin MLG, Abdo RCC, Machado MAAM, Silva SMB, Pavarini A, Martha SN. In vitro evaluation of the cariostatic action of esthetic restorative materials in bovine teeth under severe cariogenic challeng. *Oper Dent.* 2005 May/Jun;30(3):368-75.
101. Randall RC, Wilson NHF. Glass-ionomer restoratives: A systematic review of a secondary caries treatment effect. *J Dent Res.* 1999 Jan/Mar;78(2):628-37.
102. Rawls HR, Zimmerman BF. Fluoride exchanging resins for caries protection. *Caries Res.* 1983;17:32-41.
103. Ripa LW. Sealant revisited: an update of the effectiveness of pit-and-fissure sealants. *Caries Res.* 1993;27:77-82. Supplement 1.
104. Rodrigues JA, Marchi GM, Serra MC, Hara AT. Visual evaluation of in vitro cariostatic effect of restorative materials associated with dentifrices. *Braz Dent J.* 2005;16(2):112-8.
105. Rohr M, Makinson OF, Burrow MF. Pits and fissures: morphology. *ASDC J Dent Child.* 1991 Mar-Apr;58(2):97-103.
106. Rølla G, Bowen WH. Concentration of fluoride in plaque: A possible mechanism. *Scand J Dent Res.* 1977;85:149-51.

107. Rose, RK, Turner SJ, Dibdin GH. Effect of pH and calcium concentration on calcium diffusion in streptococcal model-plaque biofilms. *Arch Oral Biol.* 1997;42:795-800.
108. Seppä L. Fluoride release and effect on enamel softening by fluoride-treated and fluoride-untreated glass ionomer specimens. *Caries Res.* 1994 Nov/Dec; 28:406-8.
109. Seppä L, Forss H. Resistance of occlusal fissures to demineralization after loss of glass ionomer sealants in vitro. *Pediatr Dent.* 1991 Jan- Feb;13(1):39-42.
110. Serra MC. Estudo in vitro do desenvolvimento de cárie em esmalte adjacente a materiais restauradores contendo flúor. Bauru, 1995. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de Bauru – Universidade de São Paulo.
111. Serra MC, Cury JA. The in vitro effect of glass-ionomer cement restoration on enamel subjected to a demineralization and remineralization model. *Quintessence Int.* 1992 Feb;23(2):143-7.
112. Serra MC, Rodrigues Junior AL. Potencial cariostático de materiais restauradores contendo flúor. *Rev APCD.* 1998;52(5):359-63.
113. Shore RC. et al. Investigation to evaluation and validate the Leeds in situ device for the study of enamel remineralization in vivo. *J Dent.* 2001;29(6):415-9.
114. Sidhu SK, Watson TF. Resin-modified glass ionomer materials. *Amer J Dent.* 1995 Feb;8(1):59-67.
115. Silverstone LM. The susceptibility to dissolution of fissure-sealed enamel surfaces artificially abrades in vitro. *Helv Odontol Acta.* 1973;17:64.
116. Silverstone LM. Fissure sealants: the susceptibility to dissolution of acid-etched and subsequently abraded enamel in vitro. *Caries Res.* 1977;11:46.

117. Silverstone LM. The effect of fluoride in the remineralization of enamel caries and caries-like lesions in vitro. *J Publ Helth Dent*. 1982;42(1):42-53.
118. Silverstone LM. Fissure sealants: The enamel-resin interface. *J Public Health Dentistry*. 1983;43(3):205-15.
119. Simonsen RJ. Retention and effectiveness of dental sealant after 15 years. *J Amer Dent Assoc*. 1991 Oct;122(2):34-42.
120. Simonsen RJ. Glass ionomer as fissure sealant – a critical review. *J Public Health Dentistry*. 1996;56(3):146-9. Special Issue.
121. Simonsen RJ. Pit and fissure sealant: review of the literature. *Pediatr Dent*. 2002;24(5):393-414.
122. Smales RJ, Gao W. In vitro caries inhibition at the enamel margins of glass ionomer restoratives developed for ART approach. *J Dent*. 2000;28(4):249-56.
123. Sonju Clasen ABS, Ögaard B. Experimental intra-oral caries models in fluoride research. *Acta Odontol Scand*. 1999;57(6):334-41.
124. Straffon LH, Dennison JB, More FG. Three-year evaluation of sealant: effect of isolation on efficacy. *J Amer Dent Assoc*. 1985;110(5):714-7.
125. Sundfeld RH, Mauro SJ, Holland Jr C, Mestrener SR, Sundefeld MLMM, Briso ALF. Aplicação de selantes: confirmação de um recurso eficaz na prevenção das lesões de cárie de fóssulas e fissuras. *Rev Bras Odont*. 1999;56(2):76-82.
126. Tam LE, Chan GPL, Yim D. In vitro caries inhibition effects by conventional and resin-modified glass-ionomer restorations. *Oper Dent*. 1997;22(1):4-14.
127. Tandon S, Mathew TA. Effect of acid-etching on fluoride-treated caries-like lesions of enamel: A SEM study. *ASDC J Dent Child*. 1997Sep/Oct;64(5):344-8.
128. Tantbirojn D, Douglas WH, Versluis A. Inhibitive effect of a resin-modified glass ionomer cement on remote enamel artificial caries. *Caries Res*. 1997;31(4):p.275-80.

129. ten Cate JM. In vitro studies on the effects of fluoride on de-and-remineralization. J. Dent. Res. 1990;69:614-9. Special issue.
130. ten Cate JM, van Loveren C. Fluoride mechanisms. Dent Clin North Amer. 1999 Oct;43(4):713-42.
131. Tenuta LMA, Lima JE, Cardoso CL, Tabchoury CP, Cury JA. Effect of plaque accumulation and salivary factors on enamel demineralization and plaque composition in situ. Pesqui Odontol Bras. 2003 Oct/Dec;17(4):326-31.
132. Tenuta LMA. et al. The short-term in situ model to evaluate the anticariogenic potencial of ionomeric materials. J Dent. 2005;33(6):491-7.
133. Torppa-Saarinen E, Seppä L. Short-term retention of glass-ionomer cement fissure sealant. Proc Finn Dent Soc. 1990;86(2):83-8.
134. van Dijken JWV, Kalfas S, Litra V, Oliveby A. Fluoride and Mutans Streptococci levels in plaque on aged restorations of resin-modified glass ionomer cement, compomer and resin composite. Caries Res. 1997;31(5):379-83.
135. van Duinen RNB, Davdson CL, De Gree AJ, Feilzer AJ. In situ transformation of glass-ionomer into an enamel-like material. Am J Dent. 2004 Aug;17(4):223-7.
136. Vieira ALF et al. Evaluation of glass ionomer sealants placed according to the ART approach in a community with high caries experience: 1-year follow-up. J Appl Oral Sci. 2006;14(4): 270-5.
137. Vieira AR, Souza IPR, Modesto, A. Fluoride uptake and release by composites and glass ionomers in a high caries challenge situation. Am J Dent. 1999;12(1):14-8.

138. Wang L. Efeito da associação de um cimento de ionômero de vidro modificado por resina com sistemas adesivos convencionais de frasco único. Análise da liberação de flúor, inibição de desmineralização e avaliação clínica. Bauru, 2003. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de Bauru – Universidade de São Paulo.
139. Weerheijm KL, Kreulen CM, Gruythuysen RJM. Comparison of retentive qualities of two glass-ionomer cements used as fissure sealants. *J Dent Child*. 1996;63(4):265-7.
140. White DJ, Featherstone JDB. A longitudinal microhardness analysis of fluoride dentifrice effects on lesion progression in vitro. *Caries Res*. 1987 Nov/Dec;21(6):502-12.
141. Whitford GM, Wasdin JL, Schafer TE, Aidar, SM. Plaque fluoride concentrations are dependent on plaque calcium concentrations. *Caries Res*. 2002;36(4):256-265.
142. Whitford GM, Buzalaf MAR, Bijella MFB, Waller JL. Plaque fluoride concentrations in a community without water fluoridation: Effects of calcium and use of a fluoride or placebo dentifrice. *Caries Res*. 2005 Mar/Abr; 39(2):100-7.
143. Wiegand A, Buchalla W, Attin T. Review on fluoride-releasing restorative materials – fluoride release and uptake characteristics, antibacterial activity and influence on caries formation. *Dent Mat*. 2006 Apr. /No prelo/
144. Winkler MM, Deschepper EJ, Dean JA, Moore K, Cochran MA, Ewoldsen N. Using a resin-modified glass ionomer as an occlusal sealant: A one-year clinical study. *JADA*. 1996 Oct; 127:1508-14.
145. Yamamoto, K. et al. Effect of plaque fluoride released from glass-ionomer cement on enamel remineralization in situ. *Caries Res*. 2005;39(2):157-60.

146. Yildiz E, Dorter C, Efes B, Koray F. A comparative study of two fissure sealants: a 2-year clinical follow-up. *J Oral Rehabil.* 2004 Oct;31(10):979-84.
147. Zero DT, Rahbek I, Fu J, Proskin HM, Featfherstone JDB. Comparison of the iodide permeability test, surface microhardness test and mineral dissolution of bovine following acid challenge. *Caries Res.* 1990 May/Jun;24(3): 181-8.
148. Zero DT. In situ caries model. *Adv Dent Res.* 1995;9(3):214-30.

Abstract

Abstract

Evaluation of two glass ionomer cements compared to a resin sealant, employed for pit and fissure sealing on intact bovine enamel, under severe cariogenic challenge - in situ study

This *in situ* study, developed in a 14-day period, aimed to evaluate the effect of two glass ionomer cements (GIC) compared to a resin sealant, employed for pit and fissure sealing on intact bovine enamel, with accumulation of dental biofilm, by analysis of the fluoride content on the dental biofilm and longitudinal microhardness. Eighty-eight enamel blocks (4mm x 4mm) of bovine incisors were employed, selected according to their initial microhardness value. The blocks formed a V-shaped artificial fissure that was sealed, constituting the following groups: GI – high-viscosity conventional GIC (Ketac™ Molar Easymix); GII – resin-modified GIC (Vitremer™); GIII – resin sealant without fluoride (Helioseal™ Clear); and GIV – control, without sealing. The artificial fissures were fixated on a palatal plate (PP), in two distinct rows, which were covered with a plastic screen to favor the accumulation of dental biofilm. Eleven volunteers employed the PP for 24h/day, dripped a 20% sucrose solution 8 times a day, and used a fluoridated dentifrice solution (3ml of deionized water : 1g of fluoridated dentifrice) on all fissures 3 times a day. After the study period, the accumulated biofilm was collected for evaluation of the fluoride content.

The fissures were sectioned through the middle for evaluation of longitudinal microhardness from the enamel surface, at 4 depths (10, 30, 50, 70 μm). The enamel/material limit at the occlusal region was the zero position (material margin); from this point, indents were sequentially performed at 50, 150 and 500 μm internally and externally to the material margin. Data were statistically analyzed ($\alpha= 5\%$). The Friedman test revealed that the fluoride concentration in the biofilm was not statistically significantly different among groups ($p<0.07$), yet there was a tendency of better outcomes for the high-viscosity conventional GIC. With regard to the mineral content, the ANOVA and Tukey test revealed significance ($p<0.05$) for all groups individually, at the most superficial enamel layer (10 μm). At this depth, there was no difference among groups. These comparisons were valid for most distances analyzed..

Key words: Glass ionomer cements. Pit and fissure sealants. Dental enamel. Tooth remineralization. Tooth demineralization.