UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU

FRANCINY QUEROBIM IONTA

**Penetração de materiais resinosos em lesões de erosão, com e sem
condicionamento prévio do esmalte: estudo *in vitro***

BAURU
2014

FRANCINY QUEROBIM IONTA

**Penetração de materiais resinosos em lesões de erosão, com e sem
condicionamento prévio do esmalte: estudo *in vitro***

Dissertação apresentada a Faculdade de Odontologia
de Bauru da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Mestre em Ciências no
Programa de Ciências Odontológicas Aplicadas, na
área de concentração Odontopediatria.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Daniela Rios

Versão corrigida

BAURU
2014

lo6p Ionta, Franciny Querobim
Penetração de materiais resinosos em lesões de
erosão, com e sem condicionamento prévio do
esmalte: estudo *in vitro* / Franciny Querobim Ionta. –
Bauru, 2014.
113 p. : il. ; 31cm.

Dissertação (Mestrado) – Faculdade de
Odontologia de Bauru. Universidade de São Paulo

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Daniela Rios

Nota: A versão original desta dissertação/tese encontra-se disponível no Serviço de Biblioteca e Documentação da Faculdade de Odontologia de Bauru – FOB/USP.

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

Assinatura:

Data:

DADOS CURRICULARES

Franciny Querobim Ionta

Nascimento	27/09/1989
Naturalidade	Bauru, São Paulo
Filiação	Maria Ivone Querobim Ionta Jose Antonio Ionta
2008-2011	Curso de Graduação em Odontologia pela Faculdade de Odontologia de Bauru – São Paulo
2012-2014	Curso de Pós-Graduação em Odontopediatria, nível especialização, pela Fundação Bauruense de Estudos Odontológicos/ Faculdade de Odontologia de Bauru – São Paulo
2012-2014	Curso de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas Aplicadas, nível de mestrado, área de concentração Odontopediatria, pela Faculdade de Odontologia de Bauru – São Paulo

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho às pessoas que sonharam junto comigo e não mediram esforços para me ajudar na realização deste sonho...

A Deus,

Por renovar minhas esperanças e por me guiar em todos os momentos dessa trajetória, me iluminando e direcionando aos melhores caminhos a serem tomados. Sem ele nada disso seria possível.

Aos meus amados pais Jose Antonio e Maria Ivone,

Desde que nasci vocês não mediram esforços para me verem feliz. Sempre me incentivando a continuar meus estudos, iluminando o meu caminho com muito carinho, dedicação e respeito por minhas escolhas. Agradeço pelo amor incondicional que vocês me fornecem todos os dias. Vocês são responsáveis por minhas conquistas, desde pequenina até hoje, pela pessoa e profissional que me tornei. Amo vocês incondicionalmente!

Aos meus queridos irmãos Fábio e Emily,

Vocês se fizeram sempre presentes e dispostos a ajudar no meu crescimento profissional e pessoal. A preocupação e o zelo que vocês têm comigo também ajudaram a construir a pessoa que sou hoje. O companheirismo de vocês me deu forças para chegar até aqui! Sinto que ganhei na loteria por ter vocês como irmãos, amo vocês. Além disso, Emily, muito obrigada por revisar essa dissertação durante seus momentos de descanso.

Ao meu namorado Bruno,

Além de ser meu amor, meu amigo, meu conselheiro, você dividiu comigo, mesmo que muitas vezes à distância, os momentos difíceis e os momentos felizes. Você me faz querer ser uma pessoa melhor a cada dia. Obrigada por toda paciência que teve comigo em meus momentos de estresse e por me dar ânimo e força, me fazendo acreditar que eu iria superar cada momento difícil encontrado durante a trajetória. O caminho foi mais fácil e mais prazeroso porque você estava ao meu lado. Amo você din!

AGRADECIMENTOS

*À minha orientadora, **Prof.^a Dr.^a Daniela Rios**, primeiramente por acreditar no meu potencial e me acolher em um momento tão delicado. Dani, a todo o momento penso que foi um anjo que te colocou no meu caminho para aliviar o momento em que eu me encontrava. Tive a honra de trabalhar com uma orientadora tão competente, inteligente e dedicada como você. Obrigada por toda ajuda e disponibilidade durante a realização desse e de outros trabalhos, muitas vezes abrindo mão até de seus feriados e finais de semana para me ajudar. Obrigada, também, pelas oportunidades que você me concedeu e por todos os momentos de compreensão, amizade e carinho. Mais do que um exemplo de professora e orientadora, você é um exemplo de caráter a ser seguido. Meu sincero agradecimento!*

*Aos professores do departamento de Odontopediatria da FOB-USP, **Prof.^a Dr.^a Maria Aparecida de Andrade Moreira Machado, Prof.^a Salete Moura Bonifácio da Silva, Prof.^a Dr.^a Thais Marchini de Oliveira, Prof. Dr. José Eduardo de Oliveira Lima, Prof. Dr. Ruy César Camargo Abdo**, agradeço por toda paciência, apoio e atenção não somente durante o mestrado, mas também, durante todo o curso de especialização. Os conhecimentos teóricos e práticos adquiridos foram fundamentais para meu crescimento profissional. Muito obrigada.*

*Ao **Prof. Dr. Heitor Marques Honório**, pela prontidão na realização da análise estatística e dos fluxogramas desse estudo mesmo em horários imprevistos e também, pela paciência na explicação dos resultados.*

*Ao colega de pós-graduação em Dentística, **Odair**, obrigada pela disponibilidade e prontidão ao ajudar-me na etapa de adição de corante aos materiais, e ainda pelas valiosas ideias sugeridas que colaboraram para a qualidade desse estudo.*

*À ex-aluna de graduação, **Ana Paula**, pela colaboração, prontidão e disponibilidade em ajudar nesta pesquisa.*

Aos meus cunhados, **Henrique e Livea**, agradeço pela amizade, momentos de descontração e apoio moral em diversos momentos. E também, as minhas “cãopanheirinhas”, Lady e Belinha, pois todos os dias me recebiam alegremente em casa e mandavam todo o meu estresse embora.

Às minhas amigas, **Carol, Luiza, Georgia, Thatiana e Francielle**, que sempre estiveram disponíveis para meus desabafos e também para comemorarmos os momentos bons, mesmo que muitas vezes à distância. Amigos de verdade nós podemos contar nos dedos e vocês realmente sabem o real significado da palavra amizade. Amo vocês!

Às colegas de pós-graduação em Saúde Coletiva, **Agueda, Patrícia, Joana, Juliane e Rafaela**. Agueda, você é uma amiga querida, obrigada pelos momentos de descontração e pelos conselhos dados. Pati, a todo o momento disposta a ajudar e a papear, sua companhia é sempre muito agradável. Joana, obrigada pelos momentos agradáveis de convivência e distração. Ju, você acompanhou meus primeiros passos para a vida acadêmica, sempre muito solícita e amiga. Rafa, obrigada pelo companheirismo e agradável convivência.

Aos colegas de pós-graduação em Odontopediatra, **Fernanda, Priscilla, Catarina, Gabriela, Maísa, Nádia, Bianca, Paola, Janaína, Marcelo, Tatiane, Ana Paula, Gabriel, Ana Cristina, Mariana Caldeiran, Luciano, André e Mariana**, pelo aprendizado e pelo carinho durante o período de convivência.

Aos colegas de pós-graduação orientados pela Prof.^a Dr.^a Daniela Rios, **Marcelo, Gabriela, Catarina, Priscilla, Maísa, Fernanda e Paola**, agradeço pela amizade, troca de conhecimento e pela grande oportunidade de aprender com vocês. Marcelo e Gabi, muito obrigada pela grande ajuda durante a fase experimental do estudo. Cat, Pri, Maísa, Gabi, Fer e Paola, nossa convivência foi muito prazerosa e proveitosa, agradeço pelo companheirismo de vocês e por toda contribuição durante meu mestrado. Agradeço a Cat, Gabi e Maísa pela leitura dessa dissertação, apontamentos e sugestões.

*Às colegas de especialização, **Cristina, Liliane, Fernanda, Talya e Tatyane**, cada uma de vocês trouxe um pouco de seu cotidiano para acrescentar no meu aprendizado. Obrigada pelos momentos gostosos de confraternização e por entenderem minha ausência em alguns momentos devido ao mestrado.*

*À minha dupla, **Fernanda**, por me ensinar a cada dia uma coisa nova, relacionada à Odontologia ou não, e também pela companhia, ombro amigo e diversos momentos de descontração.*

*Aos funcionários do departamento de Odontopediatria FOB-USP, **Lilian, Estela, Dona Lia, Cléo, Lourisvalda, Evandro e Alexandre**, obrigada pelo apoio moral, disponibilidade e prontidão em ajudar. A ajuda e o carinho de vocês foram fundamentais nesse processo.*

*Ao departamento de Ciências Biológicas, disciplina de Bioquímica da FOB-USP, através da **Prof.^a Dr.^a Marília Affonso Rabello Buzalaf**, por permitir a utilização dos equipamentos necessários do laboratório para a realização desse estudo.*

*Aos funcionários do laboratório de Bioquímica da FOB-USP, em especial à **Larissa**, pela disponibilidade e prontidão em ajudar.*

*À funcionária **Márcia** do Centro Integrado de Pesquisas da FOB-USP, pela disponibilidade em realizar as leituras dos espécimes no microscópio confocal.*

*Aos funcionários da biblioteca, especialmente ao **José Roberto**, pelo auxílio e atenção principalmente referente à normativa desse trabalho.*

*Aos funcionários da pós-graduação da FOB-USP, em especial à **Meg e Fátima**, pela atenção durante a resolução de questões burocráticas.*

*À instituição de fomento **CAPES**, pelo apoio financeiro concedido.*

Aos **pequeninos** da clínica de Odontopediatria, pela confiança, espera durante o tratamento, disposição na realização de fotografias intra-buciais e pelo carinho, contribuindo para o meu crescimento pessoal e profissional.

Aos **alunos de graduação**, devido a grande oportunidade de ensinar e aprender com vocês.

Agradeço à **Faculdade de Odontologia de Bauru – FOB/USP**, através de sua Diretora, **Prof.^a Dr.^a Maria Aparecida de Andrade Moreira Machado**, por toda infraestrutura fornecida viabilizando o melhor desempenho profissional desde a minha graduação.

Finalmente, a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, ou que me ajudaram de alguma maneira a atingir essa conquista.

RESUMO

Uma alternativa de tratamento para as lesões iniciais de erosão é a aplicação de materiais resinosos. Porém, não há estudos que avaliem a penetração desses materiais no interior da lesão de erosão, o que poderia interferir em sua adesão e efeito. Portanto, o objetivo do presente estudo foi avaliar a penetração do infiltrante, adesivos e selante de fossas e fissuras, sobre lesões iniciais de erosão, com e sem condicionamento da superfície de esmalte. Utilizando um protocolo *in vitro*, foram estudados os tipos de tratamento em 5 níveis (Adhese®- sistema adesivo autocondicionante de 2 passos, Tetric N-Bond®- sistema adesivo convencional de 2 passos, Single Bond®- sistema adesivo convencional de 2 passos, Heliobond Clear®- selante resinoso e Icon®- infiltrante) e o tipo de condicionamento do esmalte em 2 níveis (com e sem). Os materiais foram corados com 0,02 mg/ml de solução etanólica de isotiocianato de tetrametilrodamina. Para o desenvolvimento da lesão inicial de erosão, 75 blocos de esmalte bovino (4 x 4 mm) foram imersos em HCl 0,01 M, pH 2,3, durante 30 segundos. Posteriormente, em metade da superfície dos blocos foram aplicados os materiais (marcados com rodamina), seguindo as instruções dos fabricantes. Na outra metade, os materiais foram aplicados da mesma forma, mas sem o condicionamento prévio do esmalte. Os blocos foram avaliados por Microscopia Confocal de Varredura a Laser nos modos de reflexão e fluorescência. Nas imagens geradas foram mensuradas a profundidade de desmineralização, a penetração e a espessura dos materiais, por meio do *software* ImageJ. Os dados foram analisados pelo teste ANOVA a dois critérios e teste de Tukey ($p < 0,05$). Independentemente do material utilizado, o condicionamento do esmalte resultou em maior profundidade de desmineralização, penetração e espessura dos materiais, do que a situação sem condicionamento ($p < 0,05$). A profundidade de desmineralização foi semelhante para os diferentes materiais ($p > 0,05$), com exceção do Icon® (maior desmineralização) em relação ao Adhese® ($p < 0,05$). Para a penetração dos materiais no esmalte, o Icon® seguido do Heliobond Clear® apresentou maior profundidade de penetração, com diferença significativa entre eles ($p < 0,05$) e não houve diferença para o Adhese®, Tetric N-Bond® e Single Bond® ($p > 0,05$). A aplicação do Heliobond Clear® resultou em maior espessura de material seguido pelo Icon®, com diferença estatística significativa entre eles ($p < 0,05$), sendo que os outros materiais em estudo apresentaram espessura menor, sem diferença significativa entre eles ($p > 0,05$). Concluiu-se que

para todos os materiais resinosos estudados, o condicionamento prévio da superfície de esmalte aumentou a penetração do material no interior da lesão, sendo que o material com maior penetração foi o infiltrante (Icon®).

Palavras-chave: Erosão Dentária. Esmalte Dentário. Materiais Dentários. Selantes de Fossas e Fissuras.

ABSTRACT

Resin based materials penetration in eroded lesions, with and without enamel conditioning: an *in vitro* study

The application of resin based materials is an alternative of treatment for eroded lesions. Nevertheless, there are no studies about the penetration of these materials into eroded lesion, which might affect its adhesion and effect. Therefore, the purpose of this study was to evaluate the penetration of infiltrant, adhesives and pit and fissure sealant on initial eroded lesion, with and without prior enamel surface conditioning. By using an *in vitro* protocol, types of treatment were studied at 5 levels (AdheSE®- two-steps self-etching adhesive system, Tetric N-Bond®- two-steps conventional adhesive system, Single Bond® - two-steps conventional adhesive system, Heliaseal Clear®- resin sealant and Icon®- infiltrant) and type of enamel conditioning in two levels (with and without). The materials were stained with 0.02 mg/ml ethanolic solution of tetramethylrhodamine isothiocyanate. Bovine enamel samples (4 x 4 mm) were immersed in 0.01 M HCl, pH 2.0, for 30 seconds in order to produce initial eroded lesions. Afterwards, the materials (previously marked with rhodamine) were applied on half of sample enamel surface following the manufacturer's instructions. On the other half of sample enamel surface, the materials were applied following the same instructions but without prior enamel surface conditioning. The enamel samples were evaluated by Confocal Laser Scanning Microscope using reflection and fluorescence modes. Depth of demineralization, depth of penetration and thickness of the materials were measured using ImageJ software. Data were analyzed by two-way ANOVA and Tukey test ($p < 0.05$). Regardless of the material, enamel conditioning resulted in higher depth of demineralization, depth of penetration and material thickness than without conditioning ($p < 0.05$). Depth of demineralization was similar on the materials ($p > 0.05$), except Icon® (higher demineralization) compared to AdheSE® ($p < 0.05$). Icon® followed by Heliaseal Clear® showed higher penetration depth in enamel, with significant difference between them ($p < 0.05$) and no difference was found among AdheSE®, Tetric N-Bond® and Single Bond® ($p > 0.05$). The application of Heliaseal Clear® resulted in increased thickness of material followed by Icon®, with statistically significant difference ($p < 0.05$). The other studied materials showed less thickness, without significant difference among them ($p > 0.05$). It was concluded that for the studied resin based materials, the prior enamel surface conditioning increased penetration of the

material into the eroded lesion and the infiltrant (Icon®) presented the highest penetration.

Key Words: Tooth Erosion. Dental Enamel. Dental Materials. Pit and Fissure Sealants.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

-FIGURAS

Figura 1- Esquema ilustrativo do delineamento experimental do estudo.....	58
Figura 2- Ilustração do preparo da solução de Rodamina B e do processo de adição de Rodamina B aos materiais estudados.....	63
Figura 3- Ilustração demonstrando a marcação no centro e na lateral do espécime com lâmina de bisturi para definição do lado direito no qual seria a área condicionada.....	63
Figura 4- Instruções do modo de aplicação dos materiais em estudo, segundo especificação do fabricante.....	66
Figura 5- Ilustração da área em que foi realizado o polimento do espécime, destacada em vermelho.....	66
Figura 6- Realização das mensurações utilizando o software ImageJ.....	67
Figura 7- Ilustração das mensurações realizadas quanto à profundidade de desmineralização.....	68
Figura 8- Ilustração das mensurações realizadas quanto à penetração dos materiais.....	69
Figura 9- Ilustração das mensurações realizadas quanto à quantidade total de material (a) nos espécimes sem descolamento do material e (b) nos espécimes em que houve descolamento do material.....	69
Figura 10- Gráfico ilustrativo da média e desvio padrão da profundidade de desmineralização do esmalte (μm) de acordo com os materiais em estudo.....	73
Figura 11- Gráfico ilustrativo da média e desvio padrão da espessura de material (μm) em relação ao esmalte, de acordo com os materiais em estudo.....	75
Figura 12- Imagem obtida através do MCVL, no modo de reflexão e fluorescência combinado, de um espécime do grupo Adhese, lado sem condicionamento do esmalte.....	77

Figura 13- Imagem obtida através do MCVL, no modo de reflexão e fluorescência combinado, de um espécime do grupo Adhese, lado com condicionamento do esmalte.....	78
Figura 14- Imagem obtida através do MCVL, no modo de reflexão e fluorescência combinado, de um espécime do grupo Tetric N-Bond, lado sem condicionamento do esmalte.....	79
Figura 15- Imagem obtida através do MCVL, no modo de reflexão e fluorescência combinado, de um espécime do grupo Tetric N-Bond, lado com condicionamento do esmalte.....	80
Figura 16- Imagem obtida através do MCVL, no modo de reflexão e fluorescência combinado, de um espécime do grupo Single Bond, lado sem condicionamento do esmalte.....	81
Figura 17- Imagem obtida através do MCVL, no modo de reflexão e fluorescência combinado, de um espécime do grupo Single Bond, lado com condicionamento do esmalte.....	82
Figura 18- Imagem obtida através do MCVL, no modo de reflexão e fluorescência combinado, de um espécime do grupo Heliobond Clear, lado sem condicionamento do esmalte.....	83
Figura 19- Imagem obtida através do MCVL, no modo de reflexão e fluorescência combinado, de um espécime do grupo Heliobond Clear, lado com condicionamento do esmalte.....	84
Figura 20- Imagem obtida através do MCVL, no modo de reflexão e fluorescência combinado, de um espécime do grupo Infiltrante, lado sem condicionamento do esmalte.....	85
Figura 21- Imagem obtida através do MCVL, no modo de reflexão e fluorescência combinado, de um espécime do grupo Infiltrante, lado com condicionamento do esmalte.....	86

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Média e Desvio Padrão da profundidade de penetração dos materiais (μm) em estudo no esmalte.....	74
Tabela 2 - Número de espécimes que apresentaram descolamento total ou parcial do material da superfície do esmalte, de acordo com os grupos em estudo.....	76

LISTA DE QUADROS

Quadro 1- Composição dos materiais estudados.....	64
---	----

LISTA DE ABREVIATURA, SIGLAS, SÍMBOLOS E PALAVRAS DE LÍNGUA ESTRANGEIRA

MIH	Hipomineralização Molar Incisivo
MCVL	Microscópio Confocal de Varredura à Laser
TEGDMA	Trietilenoglicol dimetacrilato
HEMA	Hidroxietilmetacrilato
BisGMA	Bisfenol glicidil metacrilato
°C	Grau Celsius
°GL	Grau GL – fração em volume ou percentual
pH	Potencial hidrogeniônico
CaF ₂	Fluoreto de Cálcio
HCl	Ácido Clorídrico
P(32)	Isótopo radioativo de fósforo
mmol/l	Milimol por litro
M	Molar
μM/L	Micromolar por litro
g	Grama
mg	Miligrama
ml	Mililitro
mg/ml	Miligrama por mililitro
nm	Nanometro
mm	Milímetro
mm ²	Milímetro quadrado
mm ³	Milímetro cúbico
μm	Micrometro
cm	Centímetro
cm/s	Centímetro por segundo
rpm	Rotação por minuto
½	Meio, metade
h	Hora
min	Minuto
s	Segundo
n	Número amostral

p	Nível de significância
®	Marca registrada
±	Mais ou menos
=	Igual
%	Por cento
<	Menor do que
>	Maior do que
<i>In vitro</i>	Do latim, em vidro (no laboratório)
<i>In vivo</i>	Do latim, em ser vivo
<i>In situ</i>	Do latim, no sítio (na cavidade bucal)
<i>Software</i>	Programa de computador
<i>Tags</i>	Prolongamentos resinosos

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	23
2	REVISÃO DE LITERATURA	29
2.1	Erosão dentária	31
2.1.1	Fatores Químicos	32
2.1.2	Fatores Biológicos	34
2.1.3	Fatores Comportamentais	35
2.2	Prevenção da erosão	36
2.3	Uso de materiais resinosos em lesões erosivas	37
2.4	Infiltrante	39
2.4.1	Uso do infiltrante em lesões erosivas	45
2.5	Microscopia Confocal	46
3	PROPOSIÇÃO	51
4	MATERIAL E MÉTODOS	55
4.1	Delineamento Experimental	57
4.2	Obtenção dos blocos de esmalte, planificação e polimento	59
4.3	Formação da lesão artificial de erosão inicial	61
4.4	Tratamento	61
4.4.1	Preparo da solução de Rodamina B em etanol	61
4.4.2	Modificação dos materiais em estudo a partir da solução de Rodamina B	62
4.4.3	Aplicação dos materiais nos espécimes	64
4.5	Microscopia Confocal de Varredura a Laser	67
4.6	Análise das imagens	67
4.6.1	Critérios para a classificação do descolamento do material	70
4.7	Análise Estatística	70
5	RESULTADOS	71
5.1	Análise da profundidade de desmineralização do esmalte	73
5.2	Análise da profundidade de penetração dos materiais no esmalte	74
5.3	Análise da espessura de material penetrado e sobre o esmalte	74
5.4	Análise da presença dos materiais sobre o esmalte	75
5.5	Análise qualitativa da penetração dos materiais no esmalte	76

6	DISCUSSÃO	87
6.1	Considerações sobre a metodologia empregada	89
6.2	Considerações sobre os resultados	91
7	CONCLUSÕES	97
	REFERÊNCIAS	101

“A cada dia eu ficava sabendo mais alguma coisa do seu planeta, da partida, da viagem. Mas isso devagarzinho, ao acaso das informações colhidas de suas observações.. Foi assim que vim a conhecer, no terceiro dia, o drama dos baobás.”

Antoine de Saint-Exupéry (O pequeno príncipe)

1 Introdução

1 INTRODUÇÃO

O declínio da cárie dentária (BRASIL, 2010; CHAVES, 2012; FRAZAO, 2012; LAURIS *et al.*, 2012) faz com que os dentes se mantenham por mais tempo na boca, estando mais susceptíveis a outros tipos de doenças, entre elas, a erosão dentária (JAEGLI; LUSSI, 2006; KREULEN *et al.*, 2010). A alta prevalência da erosão dentária encontrada em crianças e adolescentes (EL AIDI *et al.*, 2010; KREULEN *et al.*, 2010; SANHOURI *et al.*, 2010; GURGEL *et al.*, 2011; MURAKAMI *et al.*, 2011) resultou em maior atenção aos seus fatores de risco (LUSSI *et al.*, 2011) e maior necessidade de conhecimento profundo dessa doença, buscando-se medidas preventivas e terapêuticas.

A erosão dentária classicamente é descrita como uma perda de estrutura dentária irreversível de origem não bacteriana, devido à ação de ácido de origem extrínseca e/ou intrínseca (ECCLES, 1979; IMFELD, 1996; MEURMAN; TEN CATE, 1996; SCHEUTZEL, 1996; ZERO, 1996; O'SULLIVAN *et al.*, 1998; RYTOMAA *et al.*, 1998; LUSSI *et al.*, 2004; BARTLETT *et al.*, 2011). No entanto, sabe-se que inicialmente existe apenas uma desmineralização superficial sem perda de estrutura, sendo passível de remineralização (AMAECHI; HIGHAM, 2001; AMAECHI; HIGHAM, 2005). A terminologia "erosão dentária" atualmente é dividida em "erosão" e "desgaste dentário erosivo" o que permite a diferenciação entre os dois aspectos do processo erosivo (HUYSMANS *et al.*, 2011; SHELLIS *et al.*, 2011). O termo erosão deve ser utilizado para a perda da integridade estrutural e resistência mecânica causada pelo efeito do ácido sobre a superfície do dente, ou seja, quando há um amolecimento do esmalte (HUYSMANS *et al.*, 2011; SHELLIS *et al.*, 2011). O processo subsequente de perda de estrutura dentária induzido pelo desafio erosivo prolongado, com repetidos eventos de amolecimento, corresponde ao desgaste dentário erosivo (HUYSMANS *et al.*, 2011; SHELLIS *et al.*, 2011).

Muitas pesquisas têm sido realizadas buscando entender o mecanismo da erosão, a fim de prevenir sua formação ou conter sua progressão (AMAECHI, HIGHAM, 2005; HONÓRIO *et al.*, 2008; RIOS *et al.*, 2008; HONÓRIO *et al.*, 2010; WANG *et al.*, 2011). No entanto, existem poucos conceitos conclusivos a respeito da prevenção desta alteração dentária (IMFELD, 1996; MAGALHÃES, 2008a; MAGALHÃES, 2008b; RIOS *et al.*, 2008; MAGALHÃES, 2009; WANG *et al.*, 2011).

.....

A prevenção e o tratamento da erosão são complexos, principalmente quando componentes comportamentais estão envolvidos. A frequente disponibilidade de fluoretos em altas concentrações na cavidade bucal tem sido uma alternativa para aumentar a resistência dos substratos dentais a subsequentes desafios erosivos (GANSS *et al.*, 2001; LAGERWEIJ *et al.*, 2006; MAGALHAES *et al.*, 2009; GAMBON *et al.*, 2012). O efeito protetor do fluoreto é resultado da precipitação de fluoreto de cálcio (CaF_2) na superfície dental. Essa camada de CaF_2 pode agir como uma barreira física, impedindo o contato direto do ácido com o substrato dental (SAXEGAARD; ROLLA, 1988). Porém, essa camada protetora é facilmente dissolvida pela ação dos ácidos, tornando limitada a eficácia dos fluoretos na prevenção de lesões erosivas (GANSS *et al.*, 2001)

Devido à ação limitada dos fluoretos, pesquisas vêm sendo realizadas buscando novas estratégias para a proteção do esmalte dental à erosão, como por exemplo, a aplicação de selante ou de adesivo sobre a estrutura erodida, visando à formação de barreira mecânica contra desafios ácidos subsequentes. Um estudo prévio testou diferentes selantes de superfície em esmalte erodido e notou que eles foram capazes de reduzir a desmineralização causada por ácidos, mesmo sob exposição erosiva a longo prazo (WEGEHAUPT *et al.*, 2012). A maioria dos estudos realizados visando avaliar a capacidade de proteção do material resinoso (adesivo ou selante) ao desafio erosivo utilizaram espécimes de dentina. Esse fato ocorreu porque o material resinoso tem a capacidade de infiltrar/penetrar na rede de colágeno exposta da dentina após a dissolução da porção mineralizada devido aos desafios erosivos. Esse mecanismo é chamado de zona híbrida reforçada por resina, que tem a capacidade de proteger a dentina contra os ácidos (AZZOPARDI *et al.*, 2001; AZZOPARDI *et al.*, 2004; SUNDARAM *et al.*, 2007a; SUNDARAM *et al.*, 2007b). Nesses estudos, o adesivo apresentou efeito protetor contra o desgaste por períodos de até três meses (SUNDARAM *et al.*, 2007a), ao passo que a aplicação de selante apresentou melhor resultado, com efeito protetor de nove meses (BARTLETT *et al.*, 2011).

A erosão dentária se difere estruturalmente da cárie dentária, pois na erosão dentária ocorre uma desmineralização de superfície sendo considerada uma lesão superficial (HONÓRIO *et al.*, 2008; RIOS *et al.*, 2008; HONÓRIO *et al.*, 2010). Já a cárie dentária é caracterizada como uma lesão de subsuperfície, pois inicialmente a superfície apresenta-se pouco alterada e abaixo existe uma camada

desmineralizada (HONÓRIO *et al.*, 2008; HONÓRIO *et al.*, 2010). O estágio inicial da lesão de cárie é comumente tratado a partir da remineralização por meio do uso de fluoretos e da melhora da higiene bucal. No entanto, em indivíduos não cooperativos essa estratégia é considerada limitada.

Com o intuito de diminuir a progressão da lesão de cárie desses casos, estudos foram realizados com resinas de baixa viscosidade, denominadas de infiltrantes, tendo sido constatada sua eficiência na diminuição e/ou inibição da progressão da lesão cariosa (PARIS; MEYER-LUECKEL, 2010; PARIS; DORFER; MEYER-LUECKEL, 2010; MARTIGNON *et al.*, 2012; MEYER-LUECKEL; BITTER; PARIS, 2012; GELANI *et al.*, 2013; LASFARGUES *et al.*, 2013; PARIS *et al.*, 2013). Dessa maneira, a utilização do infiltrante é considerada uma abordagem promissora para o tratamento de lesões de cárie ainda não cavitadas. Diferentemente dos selantes de cicatrículas e fissuras, em que a barreira de difusão é colocada sobre a superfície da lesão de cárie não cavitada, a técnica do infiltrante visa criar uma barreira de difusão no interior da lesão, substituindo o mineral perdido por resina (GOEPFERD; OLBERDING, 1989; GARCIA-GODOY *et al.*, 1997; TANTBIROJN *et al.*, 2000).

Apesar das diferenças existentes entre as lesões de cárie e erosão (HONÓRIO *et al.*, 2010), criou-se a hipótese de que o infiltrante poderia penetrar na lesão de erosão inicial (amolecimento) formando uma barreira mecânica contra a ação de ácidos. Em um recente estudo realizado *in vitro* utilizando esmalte bovino hígido ou erodido, observou-se que os materiais infiltrante (Icon®) e selante resinoso de fossas e fissuras (Helioseal Clear®) demonstraram-se efetivos para inibir a progressão da lesão de erosão, quando submetidos à ciclagem erosiva por 5 dias (OLIVEIRA, 2013).

Considerando que o infiltrante apresenta maior penetração que os adesivos e selantes em lesões cariosas (PARIS; MEYER-LUECKEL; KIELBASSA, 2007; MEYER-LUECKEL; PARIS, 2008a), seria importante avaliar a penetração deste material em esmalte com lesão de erosão inicial (amolecimento superficial) comparativamente aos adesivos e selantes, que tem se mostrado como uma alternativa de tratamento para a erosão dentária (AZZOPARDI *et al.*, 2001; AZZOPARDI *et al.*, 2004; SUNDARAM *et al.*, 2007a; BARTLETT *et al.*, 2011; WEGEHAUPT *et al.*, 2012; OLIVEIRA, 2013; WEGEHAUPT *et al.*, 2013). No entanto, para que haja penetração do infiltrante no interior da lesão cariosa, o

.....

material apresenta um novo procedimento de preparo da superfície com ácido clorídrico para remover a camada superficial mineralizada das lesões cariosas (MEYER-LUECKEL *et al.*, 2007; MEYER-LUECKEL; PARIS, 2008a) e não se sabe se este procedimento poderia ser capaz de remover a estrutura amolecida das lesões iniciais de erosão. Desta forma, a penetração do infiltrante em lesões iniciais de erosão, com e sem condicionamento com ácido clorídrico deve ser avaliada para que a interação entre este novo material e a superfície erodida seja conhecida.

“As pessoas veem estrelas de maneiras diferentes. Para aqueles que viajam, as estrelas são guias. Para outros, elas não passam de pequenas luzes. Para os sábios, elas são problemas. Para o empresário, eram ouro. Mas todas essas estrelas se calam. Tu, porém, terás estrelas como ninguém nunca as teve...”

Antoine de Saint-Exupéry (O pequeno príncipe)

2 Revisão de Literatura

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Erosão dentária

O declínio da cárie dentária (BRASIL, 2010; CHAVES, 2012; FRAZAO, 2012; LAURIS *et al.*, 2012) faz com que os dentes se mantenham por mais tempo na boca, estando mais susceptíveis a outros tipos de doenças, entre elas, a erosão dentária (JAEGGI, LUSSI, 2006; KREULEN *et al.*, 2010). Assim sendo, a incidência de erosão dentária aumentou nos últimos anos, principalmente em pacientes jovens (EL AIDI *et al.*, 2010; KREULEN *et al.*, 2010; SANHOURI *et al.*, 2010; GURGEL *et al.*, 2011; MURAKAMI *et al.*, 2011). Um levantamento sobre a prevalência da erosão dentária foi realizado, com estudos epidemiológicos conduzidos entre os anos de 2000 a 2009. Nesses estudos, as metodologias utilizadas, a faixa etária e as condições culturais e socioeconômicas dos participantes variaram. Em crianças, na dentição decídua, foi constatada a presença da lesão de erosão variando de 12,3% a 78%, e na dentição permanente, de 7,6% a 62% (TAJI, SEOW, 2010). Murakami *et al.* (2011) avaliaram os fatores de risco para erosão dentária em 967 crianças pré-escolares (3 e 4 anos de idade) residentes na cidade de Diadema – São Paulo, e os resultados mostraram que a presença de erosão foi diagnosticada em 51,6% dessas crianças, estando 93,9% das lesões restritas ao esmalte dental (MURAKAMI *et al.*, 2011). No mesmo ano, encontrou-se na população de Bauru – São Paulo uma prevalência de 20% de lesão de erosão em esmalte, entre adolescentes de 14 a 16 anos (GURGEL *et al.*, 2011). Estudo semelhante foi realizado em 2007, na cidade de Três Corações – Minas Gerais, com 458 crianças entre 13 e 14 anos de idade, no qual se observou uma prevalência de erosão de 34%, somente restrita ao esmalte dental (AUAD *et al.*, 2007).

Muitos fatores têm contribuído para o aumento da erosão dentária em crianças e adolescentes. A maior disponibilidade de produtos alimentícios ácidos e o marketing intenso podem ser fatores que causaram o aumento da exposição da dentição decídua cada vez mais precoce à grande quantidade de ácido (GAMBON *et al.*, 2012). A exposição das crianças ao ácido deve ser atrasada o máximo possível, pois ela pode aumentar a preferência por alimentos e bebidas ácidas ao longo da vida, o que, conseqüentemente, aumentaria o risco de desenvolvimento de erosão dentária (GAMBON *et al.*, 2012).

.....

A erosão dentária é caracterizada por uma perda da integridade estrutural e resistência mecânica causada pelo efeito do ácido sobre a superfície do dente, gerando um amolecimento do esmalte (HUYSMANS *et al.*, 2011; SHELLIS *et al.*, 2011). Neste estágio há apenas uma desmineralização superficial (sem perda de estrutura) passível de remineralização (AMAECHI, HIGHAM, 2001; AMAECHI; HIGHAM, 2005). O desafio erosivo prolongado com repetidos eventos de amolecimento faz com que ocorra a perda de estrutura dentária irreversível, originando o desgaste dentário erosivo (HUYSMANS *et al.*, 2011; SHELLIS *et al.*, 2011).

A erosão dentária é uma condição multifatorial e possui etiologia complexa. Por isso, diversos fatores (dieta, saliva, ocupação, esporte praticado, problemas estomacais) possuem o papel de induzir ou de prevenir a erosão e, além disso, a interação desses fatores pode levar tanto a progressão como a proteção da superfície dentária (LUSSI *et al.*, 2011).

Os ácidos que causam a erosão dentária podem ser de origem extrínseca ou intrínseca. Os fatores extrínsecos estão relacionados à dieta, como o consumo de bebidas ácidas, refrigerantes e frutas cítricas, e também alguns medicamentos como vitamina C efervescente ou mastigável (MEURMAN; MURTOMAA, 1986; LUSSI *et al.*, 2004; LUSSI; JAEGGI, 2006; LI *et al.*, 2012).

A erosão causada por fatores intrínsecos é resultante da ação de ácidos endógenos provenientes do refluxo gastresofágico, da regurgitação crônica do conteúdo gástrico relacionada a alguma anormalidade gastrintestinal, e de vômitos frequentes, devido a desordens psicológicas como anorexia e bulimia (BARTLETT, 2006; HOLBROOK *et al.*, 2009; MAGALHAES *et al.*, 2009). O pH do ácido estomacal é muito mais baixo do que o pH crítico para dissolução do esmalte, portanto, o ácido estomacal presente na cavidade bucal por um período estendido pode causar perda severa da estrutura dentária (LAZARCHIK; FRAZIER, 2009).

Sabe-se que esses ácidos não são os únicos responsáveis pelo desenvolvimento da lesão de erosão dentária. Existem diversos fatores que estão envolvidos nesse processo, tais como os fatores químicos, biológicos e comportamentais (LUSSI, 2006; MAGALHAES *et al.*, 2009).

2.1.1 Fatores Químicos

Os fatores químicos são relacionados às propriedades das bebidas que contribuem para o desenvolvimento da erosão (LUSSI; JAEGGI, 2006; MAGALHAES *et al.*, 2009). O pH, a titulação do ácido, concentração de fosfato e cálcio, o teor de flúor, a capacidade tampão e a propriedade quelante do agente erosivo são fatores muito importantes, pois determinarão o seu grau de saturação em relação ao mineral do dente (ZERO; LUSI, 2005; BARBOUR *et al.*, 2011).

O pH crítico de uma solução ocorre quando a mesma se encontra saturada em relação ao esmalte dental. Quando o pH da solução é menor que o pH crítico, a solução se encontra subsaturada e pode dissolver o esmalte dental. Da mesma forma, quando o pH da solução está acima do crítico a solução apresenta-se supersaturada, podendo levar à precipitação de minerais no esmalte dental (FEATHERSTONE; LUSI, 2006; LUSI *et al.*, 2011).

Portanto, o pH crítico será dependente da solubilidade do sólido em interesse e da concentração dos principais constituintes minerais da solução. Por exemplo, o iogurte apesar de apresentar baixo valor de pH (pH 4) não possui atividade erosiva, pois possui alta concentração de cálcio (até 42,5 mmol/l) e fosfato (até 49,8 mmol/l), fazendo com que a solução esteja supersaturada em relação ao esmalte nesse valor de pH (LUSSI; JAEGGI, 2006). No caso do conteúdo mineral do dente, os principais constituintes são o cálcio, fosfato e, em menor grau, o fluoreto (LUSSI *et al.*, 2011). Uma vez que esses constituintes determinam o grau de saturação da solução, eles poderão direcionar o processo para dissolução ou precipitação de minerais (LUSSI *et al.*, 2011).

Bebidas que apresentam propriedade quelante em relação ao cálcio podem aumentar o processo erosivo quando ingeridas (LUSSI; JAEGGI, 2006), pois apresentam grande afinidade pelos íons cálcio e se ligam a eles, retirando-os do substrato dental e da própria saliva, o que favorecerá a desmineralização da superfície dentária (LUSSI; JAEGGI, 2006).

Outra propriedade importante para uma solução ácida ser capaz de dissolver o esmalte ou a dentina é a capacidade de tamponamento (LUSSI *et al.*, 2011). Essa capacidade está relacionada com a concentração de ácido não dissociado em bebidas e alimentos (GRAY, 1962). Quanto maior for a capacidade tampão da bebida, maior será o tempo que a saliva levará para neutralizar o ácido, aumentando a quantidade de mineral dental que poderá ser dissolvido (LUSSI *et al.*, 2004; LUSI *et al.*, 2011). Outras características químicas das bebidas, como o tipo

.....
e a quantidade de ácido, a viscosidade, a temperatura e presença de substâncias protetoras também influenciam no potencial erosivo (LUSSI; JAEGGI, 2006; RIOS *et al.*, 2009; BARBOUR *et al.*, 2011).

2.1.2 Fatores Biológicos

Os fatores biológicos estão relacionados às características da cavidade bucal de um indivíduo. Dessa forma, a posição dentária, a anatomia do tecido mole, a qualidade do tecido mineral dental e as propriedades salivares podem estar envolvidas no processo erosivo, levando a um maior ou menor risco ao desenvolvimento da lesão (HARA *et al.*, 2006; LUSSI, 2006; MAGALHÃES *et al.*, 2009). A saliva é o fator biológico mais importante na erosão dentária, pois possui mecanismos protetores biológicos como diluição e lavagem do agente erosivo, neutralização e tamponamento de ácidos e a formação de película adquirida, que age como uma barreira de difusão (LUSSI *et al.*, 2000; ZERO; LUSSI, 2005; HARA *et al.*, 2006). Testes para a mensuração do fluxo salivar, estimulado ou não-estimulado, e também da capacidade tampão da saliva podem fornecer informações sobre a suscetibilidade de um indivíduo para erosão dentária (LUSSI; SCHAFFNER, 2000; HOLBROOK *et al.*, 2009; LUSSI *et al.*, 2011). Um maior fluxo salivar pode aumentar a capacidade de neutralização e tamponamento da saliva, assim como a capacidade de remineralização da superfície dentária (AMAECHI; HIGHAM, 2001; EISENBURGER *et al.*, 2001; RIOS *et al.*, 2006; RIOS *et al.*, 2008).

Acredita-se que o cálcio, fosfato e fluoreto presentes na saliva podem assumir o efeito reparador da lesão inicial do esmalte (IMFELD, 1996; LUSSI *et al.*, 2011). Além disso, a saliva pode atuar como um agente de diluição para ácidos, que são gradualmente removidos da cavidade bucal pelo processo de deglutição. A saliva contém ainda uma variedade de proteínas que apresentam propriedades protetoras, especialmente importantes na formação da película adquirida (SIQUEIRA *et al.*, 2007), a qual é definida como uma barreira seletiva formada na superfície da estrutura dentária, que atua minimizando o contato direto entre o ácido e a superfície dentária (MEURMAN; FRANK, 1991; AMAECHI; HIGHAM, 2001; HANNIG; JOINER, 2006; SCHIPPER *et al.*, 2007; BUZALAF *et al.*, 2012), reduzindo o grau de dissolução da hidroxiapatita (HARA *et al.*, 2006). Entretanto, esses fatores preventivos e reparadores da saliva podem não ser suficientes para conter grandes

desafios erosivos, levando ao desenvolvimento da erosão. Sabendo que os fatores biológicos dependem das características bucais inerentes do paciente, muitas vezes é necessária a intervenção em outros fatores, como por exemplo, o fator comportamental.

2.1.3 Fatores comportamentais

Os fatores comportamentais apresentam influência direta no desenvolvimento e na extensão da erosão dentária (LUSSI, 2006; MAGALHAES *et al.*, 2009). Esses fatores incluem desde a frequência, o tempo e a forma de consumo das bebidas, a preferência por alimentos ácidos, o horário de exposição, a presença de doenças psicossomáticas, os hábitos de higiene bucal e a exposição aos ácidos no trabalho (LUSSI, 2006; MAGALHAES *et al.*, 2009).

Nas últimas décadas, houve uma mudança no estilo de vida da população, intensificando os fatores comportamentais na etiologia da erosão. Reduziu-se o consumo de leite e água por crianças e adolescentes, em decorrência do aumento significativo na frequência e quantidade de ingestão de alimentos e bebidas ácidas, como refrigerantes e sucos de frutas engarrafados (LUSSI, 2006; TAHMASSEBI *et al.*, 2006).

Com relação à exposição ao ácido ambiental, é relatado um aumento do risco de erosão dentária em trabalhadores de indústrias de bateria, que são comumente expostos ao ácido sulfúrico ou clorídrico (WIEGAND; ATTIN, 2007; MAGALHAES *et al.*, 2009). O uso de equipamentos de proteção (máscaras respiratórias) e adesão dos valores-limite recomendados pela legislação de saúde ocupacional são consideradas importantes estratégias preventivas para diminuir a erosão ocupacional (WIEGAND; ATTIN, 2007).

É impossível evitar o contato de agentes potencialmente erosivos com os dentes durante a vida toda do indivíduo. Portanto, deve-se enfatizar o diagnóstico precoce das lesões e as estratégias preventivas adequadas, que visem prevenir a formação e impedir a progressão dessa lesão (LUSSI *et al.*, 2011).

2.2 Prevenção da erosão

A prevenção e o tratamento da erosão são complexos, principalmente quando componentes comportamentais estão envolvidos (HUYSMANS *et al.*, 2011). As medidas preventivas devem ser aplicadas levando em consideração os fatores químicos, biológicos e comportamentais envolvidos na etiologia e patogênese da erosão (LUSSI, 2006).

Quanto aos fatores intrínsecos, o desgaste dentário erosivo comumente se manifesta em pacientes que sofrem de distúrbios orgânicos ou psicossomáticos, como anorexia, bulimia nervosa ou alcoolismo (MAGALHAES *et al.*, 2009). Os cirurgiões-dentistas podem ser os primeiros a diagnosticar distúrbios alimentares por meio das mudanças estruturais no tecido duro dental, e consequentemente a aconselhar o paciente sobre o diagnóstico e a terapêutica (MAGALHAES *et al.*, 2009). Não se deve focar apenas em restaurações apropriadas, pois essas distúrbios requerem tratamento causal, envolvendo médicos e terapia psicológica, buscando obter uma redução permanente na exposição aos ácidos endógenos (MAGALHAES *et al.*, 2009) (LAZARCHIK; FRAZIER, 2009). Em relação aos fatores extrínsecos, o cirurgião-dentista deve educar o seu paciente para a adoção de medidas profiláticas visando prevenir a progressão da lesão (JARVINEN *et al.*, 1991; LUSSI; SCHAFFNER, 2000; O'SULLIVAN; CURZON, 2000; JOHANSSON *et al.*, 2002). O paciente deverá ser informado sobre as consequências do consumo frequente de bebidas ácidas e deverá evitar seu consumo excessivo, diminuindo a frequência e duração dos desafios erosivos (LI *et al.*, 2012). Em adição ao consumo de ácidos, os pacientes também devem ser aconselhados sobre os hábitos deletérios à saúde, como o uso de drogas, o consumo excessivo de álcool, pois são fatores que podem aumentar o risco para a erosão (ZERO; LUSSI, 2006).

Hoje em dia, busca-se cada vez mais por tratamentos conservadores e/ou minimamente invasivos. Assim, métodos preventivos para lesão de erosão em esmalte e dentina têm sido pesquisados (MAGALHAES *et al.*, 2009; SCHLUETER *et al.*, 2009; WIEGAND *et al.*, 2009; KATO *et al.*, 2010; GANSS *et al.*, 2011; BUZALAF *et al.*, 2012; MAGALHAES *et al.*, 2012; WEGEHAUPT *et al.*, 2012; RAKHMATULLINA *et al.*, 2013), a fim de manter os dentes saudáveis na boca, prezando pelo bem estar e qualidade de vida do paciente. No entanto, a maioria desses métodos apresenta efeito limitado em relação à prevenção ou inibição da

.....

progressão da erosão dentária e ainda faz-se necessário a busca por uma terapia eficaz.

2.3 Uso de materiais resinosos em lesões erosivas

Materiais resinosos têm sido estudados como medidas preventivas e terapêuticas para a erosão dentária. Azzopardi *et al.* (2001; 2004) avaliaram *in vitro* e *in situ*, respectivamente, adesivos resinosos aplicados sobre a dentina, como medida preventiva a desafios abrasivos e erosivos. Os espécimes foram preparados com dentina de dente humano e os materiais avaliados foram Seal & Protect® e Optibond Solo®. No protocolo *in vitro*, os espécimes foram submetidos à ciclagem com HCl, seguido por escovação e avaliados por perfilometria. No estudo *in situ*, os pacientes utilizaram os aparelhos durante 8h/dia/20 dias, sendo a ciclagem realizada com ácido cítrico e os espécimes foram avaliados por meio de 4 metodologias: avaliação qualitativa através da Microscopia Eletrônica de Varredura, rugosidade da superfície e espessura da resina utilizando Microscopia de Varredura Tandem e perda de volume por meio da perfilometria a laser. Os resultados mostraram que o Seal & Protect® e Optibond Solo® protegeram a dentina contra o desgaste erosivo com ácido clorídrico e cítrico, porém o Seal & Protect® seria o mais indicado para a prática clínica, pois o Optibond Solo® se deteriora mais rápido, limitando o tempo de proteção da superfície dentária.

Um estudo clínico foi realizado com objetivo de avaliar a capacidade de proteção do adesivo Seal & Protect® em indivíduos com lesão de erosão. Foram selecionados 19 pacientes adultos, com a presença de desgaste dentário em dentina. Inicialmente esses pacientes responderam a um questionário sobre hábitos alimentares e, em seguida, foi avaliada a perda de estrutura dentária através do índice TWI (Tooth Wear Index) proposto por Smith Knight (1984). Após a realização da avaliação de desgaste dentário, foram realizados moldes dos pacientes com silicone de adição e então o material resinoso Seal & Protect® foi aplicado em dentes alternados, selecionados aleatoriamente. Os pacientes foram chamados para controle clínico 3, 6, 9, 12 e 20 meses após aplicação do material, sendo que em cada controle foi realizada nova moldagem dos pacientes. Dos dezenove pacientes apenas 10 apresentaram-se para o controle de 3 meses, 12 para o de 6 meses, 9 para os controles de 9 e 12 meses e 5 para o de 20 meses. Os modelos foram

.....

escaneados e analisados através da perfilometria a laser de não contato. Durante o período de 0 a 6 meses, a média de desgaste dos dentes que pertenciam ao grupo controle foi maior do que aqueles protegidos com Seal & Protect®, sendo que essa diferença foi estatisticamente significativa até os 3 meses de controle. Os autores constataram que o adesivo resinoso foi capaz de criar uma camada sobre a estrutura dentária que ofereceu proteção contra a desmineralização e desgaste do dente, porém essa camada protetora só foi eficaz durante três meses (SUNDARAM *et al.*, 2007a). Mais recentemente, o mesmo grupo de pesquisadores realizou um novo experimento clínico, utilizando a mesma metodologia, porém testando o selante de superfície Heliobond Clear®. Dos 17 pacientes selecionados para o tratamento apenas 7 apresentaram-se para o controle de 3 meses, 13 para o de 6 meses, 7 para o de 9 meses, 9 para o de 12 meses e 7 para o de 20 meses. A média de espessura inicial do selante de fissura foi de 290 μm (± 500) e após 3 meses a média foi de 120 μm (± 260). Neste mesmo período inicial e de 3 meses no grupo controle, a média de desgaste dentário foi de 10 μm (± 430) e 70 μm (± 113), respectivamente. Aos 6 meses de controle, a média de desgaste dentário para o grupo controle foi de 120 μm (± 114), sendo estatisticamente maior do que do grupo selado que apresentou média de desgaste dentário de 50 μm (± 260). Aos 9 meses, no grupo controle a média de desgaste foi de 110 μm (± 140) e no grupo selado foi de 60 μm (± 440). No período de 12 e 20 meses, o grupo controle demonstrou menor média de desgaste do que o grupo selado. Pode-se observar que o selante esteve presente até o terceiro mês de controle e que o mesmo demonstrou ser capaz de proteger a estrutura dentária contra o desafio erosivo por até 9 meses (BARTLETT *et al.*, 2011).

Wegehaupt *et al.* (2012) testaram o efeito preventivo *in vitro* dos selantes Silicon Seal Nano Mix®, Seal & Protect® e Resina Flow® no esmalte bovino contra o desafio erosivo. O desgaste do esmalte foi quantificado pela mensuração de P (32) nas soluções renovadas periodicamente (saliva artificial, ácido clorídrico e ácido cítrico), onde os blocos foram imersos durante 28 dias. Concluiu-se que todos os selantes de superfície testados foram capazes de reduzir significativamente a desmineralização erosiva do esmalte causada por ácido clorídrico e ácido cítrico, mesmo sob exposição em longo prazo. Similarmente, um estudo avaliou a durabilidade dos selantes Seal & Protect®, K-0184 (material experimental) e OptiBond FL® aplicados para a prevenção da perda mineral erosiva da dentina sob

.....

condições erosivas/abrasivas. Os espécimes de dentina bovina foram submetidos a pré-ciclagem de des-remineralização por 1 dia (6 imersões de 1 min em HCl pH 3,0) e durante a noite os blocos foram imersos em saliva artificial. Os blocos foram selados e em seguida, imersos em HCl durante 3 horas. O desafio erosivo/abrasivo foi realizado durante 8 dias (simulando 8 meses *in vivo*): 3h/dia de erosão em HCl, 600 ciclos de escovação/dia e armazenamento em saliva artificial. A erosividade da dentina foi quantificada pela presença de P(32) no ácido utilizado para os ataques erosivos. Os resultados mostraram que os selantes de superfície foram capazes de reduzir a perda mineral da dentina erodida e manter esta eficácia evitando erosão ao longo de toda a duração da ciclagem erosiva/abrasiva (WEGEHAUPT *et al.*, 2013).

A maioria dos estudos encontrados analisou a durabilidade e proteção à estrutura dentária resultante da aplicação de materiais resinosos frente aos desafios erosivos (AZZOPARDI *et al.*, 2001; AZZOPARDI *et al.*, 2004; SUNDARAM *et al.*, 2007a; BARTLETT *et al.*, 2011; WEGEHAUPT *et al.*, 2012; OLIVEIRA, 2013; WEGEHAUPT *et al.*, 2013). Pouco se sabe sobre a capacidade de penetração desses materiais no interior da lesão de erosão, pois todos os estudos encontrados apenas avaliaram a penetração desses materiais (adesivos e selantes) em lesões de cárie (RODDA, 1983; GOEPFERD;OLBERDING, 1989; DONLY; RUIZ, 1992; ROBINSON *et al.*, 2001;GRAY; SHELLIS, 2002; SCHMIDLIN *et al.*, 2004).

2.4 Infiltrante

A cárie dentária é uma lesão causada por ácidos produzidos pelo metabolismo bacteriano da placa dentária, frente a uma dieta rica em carboidratos fermentáveis (LEVINE, 2011) causando desequilíbrio na homeostasia entre o mineral do dente, biofilme e fluido (FEJERSKOV, 2004). Seu primeiro sinal clínico é a presença de uma mancha branca no esmalte dental (FEJERSKOV; THYLSTRUP; LARSEN 1981). Essa lesão de mancha branca é caracterizada pela desmineralização da camada superficial do esmalte, que devido a essa perda de minerais, se apresenta porosa, comunicando-se com os espaços existentes entre os prismas de esmalte, e com isso, servindo de via de difusão para ácidos e minerais dissolvidos (ESBERARD *et al.*, 2007). Sendo assim, os ácidos eliminados pelas bactérias cariogênicas, presentes no esmalte e no biofilme dentário, acabam penetrando pelos poros, e com isso a desmineralização continua no interior da

.....

lesão, ocorrendo um aumento no volume de poros. A presença da mancha branca na superfície dental indica que os cristais na subsuperfície reduziram em volume e os poros aumentaram (BERGMAN; LIND, 1966), porém, nessa fase, as lesões ainda são passíveis de remineralização, desde que sejam empregados métodos adequados, para evitar a progressão da doença.

Robinson *et al* (1976) foram os primeiros a descrever que os materiais resinosos são capazes de penetrar em lesões cariosas e que essa penetração sela os poros, reduzindo-os. No entanto, naquela época o material estudado era inadequado para a aplicação clínica devido a sua toxicidade. A partir de então, novos estudos foram realizados com materiais disponíveis comercialmente e observou-se que os adesivos e selantes de superfície podem penetrar nas lesões de cárie, pelo menos parcialmente (RODDA, 1983; GOEPFERD; OLBERDING, 1989; DONLY; RUIZ, 1992; ROBINSON *et al.*, 2001; GRAY; SHELLIS, 2002; SCHMIDLIN *et al.*, 2004).

Em 2006, um grupo de pesquisadores alemães começou a testar os adesivos e selantes de superfície utilizados na odontologia, porém para selar a superfície dos poros das manchas brancas, buscando informações quanto à capacidade de penetração desses materiais nas lesões iniciais de cárie. Os resultados mostraram que eles foram capazes de penetrar no interior desses orifícios, preenchendo-os, e após serem fotopolimerizados, formaram uma barreira que impediu a progressão da lesão. Além disso, observou-se que esses materiais também atuaram como reforço mecânico a essa estrutura, que se encontrava fragilizada, devido à perda de minerais (MULLER *et al*, 2006; PARIS *et al*, 2006).

Continuando esta linha de pesquisa, outro estudo avaliou *in vitro* a influência do tempo de aplicação dos adesivos e selantes de superfície, quando aplicados por 15 e 30 segundos, verificando o comportamento de penetração no interior da lesão artificial em esmalte. Os resultados mostraram que o maior tempo de aplicação promoveu maior penetração dos materiais resinosos na lesão, pois os mesmos são impulsionados principalmente por forças capilares, devido ao diâmetro dos poros serem variáveis nas diferentes profundidades da lesão. Considerando as limitações de um estudo *in vitro*, concluiu-se que o tempo de aplicação de 30 segundos deveria ser utilizado para aprimorar o selamento da lesão resultando em profundidades de infiltração maiores e com camadas resinosas mais compactas (MEYER-LUECKEL *et al.*, 2006).

Considerando que a infiltração dos materiais resinosos ao interior das lesões em esmalte é impulsionada principalmente por forças capilares, a pequena quantidade de poros presente na camada superficial da lesão poderia interferir e dificultar a penetração dos mesmos (MEYER-LUECKEL *et al.*, 2006; NEUHAUSET *et al.*, 2012). Portanto, o mesmo grupo de pesquisa avaliou o efeito da remoção dessa camada mineralizada, por meio do condicionamento ácido, para favorecimento de uma melhor e mais profunda infiltração da resina no interior da lesão. Assim, novos experimentos foram realizados testando o ácido fosfórico a 37% e duas concentrações de ácido clorídrico (5% e 15%) para o condicionamento dessa superfície, e concluíram que o ácido clorídrico a 15% é o mais adequado para um bom condicionamento (MEYER-LUECKEL *et al.*, 2007), principalmente em lesões naturais de cárie, tanto em dentes permanentes (PARIS; MEYER-LUECKEL; KIELBASSA, 2007) como em dentes decíduos (PARIS *et al.*, 2010). Verificou-se que no grupo onde foi utilizado o ácido clorídrico a 15%, a espessura da camada superficial foi menor ($20 \pm 18 \mu\text{m}$), sendo estatisticamente diferente do grupo com ácido fosfórico a 37% ($37 \pm 25 \mu\text{m}$) e controle/não condicionado ($42 \pm 23 \mu\text{m}$) (PARIS; MEYER-LUECKEL; KIELBASSA, 2007). Além disso, o ácido clorídrico deve permanecer sobre a superfície dentária por 120 segundos para conseguir romper toda a camada mineralizada (PARIS; MEYER-LUECKEL; KIELBASSA, 2007).

Apesar de o condicionamento ácido ser essencial para remover a camada mineralizada e com isso favorecer a infiltração de materiais resinosos no interior da lesão de cárie, os adesivos penetravam em média apenas $58 \mu\text{m}$ em lesões naturais de cárie em esmalte (PARIS; MEYER-LUECKEL; KIELBASSA, 2007). Na tentativa de melhorar a capacidade de penetração desses materiais resinosos, foram modificadas as propriedades dos adesivos e selantes já estudados, e testadas diversas misturas monoméricas e elaborados novos compostos experimentais. Em seguida, foi analisada a influencia do coeficiente de penetração desses compostos. O coeficiente de penetração faz parte da equação de Washburn e descreve a penetração dos líquidos (materiais resinosos) em sólidos porosos (esmalte desmineralizado) conduzido por forças capilares (PARIS; *et al.*, 2007). Após a alteração do coeficiente de penetração dos compostos experimentais, observou-se que quanto maior esse coeficiente em um material resinoso, mais rápido ele foi capaz de penetrar no interior da lesão inicial de cárie (PARIS *et al.*, 2007; MEYER-LUECKEL; PARIS, 2008b), além de permitir uma completa vedação dos poros.

Quando testadas em lesões artificiais, a utilização de misturas monoméricas com coeficientes de penetração maior que 200 cm/seg (infiltrante) apresentaram melhores resultados para a infiltração de cárie (MEYER-LUECKEL; PARIS, 2008a). Entretanto, a profundidade de penetração por si só não é o único fator responsável pela inibição da progressão das lesões infiltradas em um ambiente cariogênico. Outras características tais como a estabilidade à hidrólise ou homogeneidade da infiltração da resina poderia influenciar a impermeabilidade da camada de resina e, portanto, a resistência das lesões seladas a ataques cariogênicos (MEYER-LUECKEL; PARIS, 2008b).

Maior atenção foi dada a essas modificações e, após a realização de vários estudos analisando a composição das resinas experimentais de baixa viscosidade, em 2009, foi lançado no mercado, um material resinoso altamente fluido, com alto coeficiente de penetração - o infiltrante Icon® (DMG; Hamburg, Germany), cujo principal objetivo seria penetrar nas lesões de mancha branca por cárie em esmalte, tanto em superfícies lisas como interproximais (PARIS; MEYER-LUECKEL; KIELBASSA, 2007). Em contraste com os adesivos e selantes de superfície, cujo objetivo é selar os poros com uma camada superficial de material, o infiltrante tem como proposta penetrar nos poros da lesão e vedá-la completamente, visando estabelecer uma barreira de difusão no interior dessa lesão. No entanto, diversos estudos começaram a ser desenvolvidos buscando aperfeiçoar esse material para a praticidade na aplicação clínica.

Considerando que o tempo de aplicação do material resinoso interfere na profundidade de penetração em lesões cáries (MEYER-LUECKEL *et al.*, 2006), em 2011, foram avaliados os tempos de ½, 1, 3 e 5 minutos de contato do Icon® com a superfície da lesão, antes da polimerização do material. Chegou-se a conclusão de que a aplicação por 3 minutos era suficiente para uma boa infiltração na lesão cáries (MEYER-LUECKEL *et al.*, 2006; PARIS *et al.*, 2012). Porém, estudos mais recentes mostraram que com apenas 1 minuto de aplicação do infiltrante a profundidade e homogeneidade de penetração do material foram semelhantes aos valores obtidos com 5 minutos (SOVIERO *et al.*, 2013).

Devido a pouca evidência científica sobre o uso de etanol ou acetona para desidratar lesões de cárie antes da infiltração de resina, foi realizado um estudo *in vitro* que objetivou comparar as profundidades de penetração (DP) do infiltrante (DMG, Alemanha) em lesões naturais de cárie utilizando vários tipos de pré-

tratamento. Molares permanentes humanos extraídos e pré-molares que apresentavam lesões de cárie não cavitadas foram condicionados (90 s, 15% de HCl em gel) e armazenados em saliva (7 dias). As lesões foram condicionadas novamente (30 s, 15% de HCl em gel), lavadas, secas, e alocados aleatoriamente de acordo com o pré-tratamento da superfície: nenhum (controle negativo), secagem ao ar (incubadora, 37 ° C, 24 h, controle positivo), etanol aplicado uma vez (E1), etanol aplicado duas vezes (E2), acetona aplicada uma vez (A1), e acetona aplicada duas vezes (A2). Subsequentemente, o infiltrante foi aplicado durante 5 minutos e fotopolimerizado. As amostras foram preparadas para análise da profundidade de lesão (LD) usando Microscopia Confocal. Concluiu-se que a aplicação de etanol ou acetona, seguida por secagem ao ar, é um método adequado para a preparação das lesões de cárie para a infiltração de resina, *in vitro* (PARIS *et al.*, 2012).

Pesquisas *in vitro* (PARIS; MEYER-LUECKEL, 2010b) e *in situ* (PARIS; MEYER-LUECKEL, 2010c) comprovaram a eficiência da aplicabilidade do infiltrante, no entanto estes estudos apresentam baixo grau de evidência clínica. Posteriormente, estudos clínicos com 18 meses (PARIS; HOPFENMULLER; MEYER-LUECKEL, 2010d) e três anos de acompanhamento (MARTIGNON *et al.*, 2012; MEYER-LUECKEL; BITTER; PARIS, 2012) concluíram que a infiltração da cárie, na fase inicial de mancha branca, utilizando o infiltrante (Icon®, DMG; Hamburg, Germany), foi eficaz para inibir/reduzir a progressão da desmineralização em superfícies interproximais sob condições altamente cariogênicas.

Em 2013, um estudo analisou a interferência da composição do infiltrante comercial e alguns experimentais, e a quantidade de aplicações na lesão de cárie em esmalte artificial, quanto à dureza e a progressão da lesão. Quando o infiltrante comercial foi aplicado duas vezes, houve uma melhora na dureza da lesão com resultados benéficos quanto à resistência a desmineralização, pois houve uma compensação da contração de polimerização, promovendo maior preenchimento dos poros no interior da lesão. Concluíram que, dentro das limitações de um estudo *in vitro*, a aplicação do infiltrante aumenta significativamente a dureza e reduz a perda de minerais diante de desafios cariogênicos, quando comparado com lesões não tratadas. Além disso, observaram que a adição de solventes ao material resinoso, não melhorou a resistência físico-química das lesões infiltradas, e afirmaram que nenhum infiltrante experimental pôde superar o infiltrante comercial - Icon® (PARIS *et al.*, 2013).

.....

A infiltração de lesões cariosas com resinas fotopolimerizáveis de baixa viscosidade é considerada uma opção de tratamento para lesões cariosas não-cavidades (WIEGAND *et al.*, 2011), possuindo boa aplicabilidade clínica e alta aceitação pelos pacientes (ALTARABULSI *et al.*, 2013). Diferentemente do conceito convencional de selamento, em que é criada uma camada superficial de resina, o infiltrante tem por objetivo penetrar completamente nos poros do corpo da lesão (WIEGAND *et al.*, 2011). Quando comparado com os adesivos dentários ou selantes de fissuras, o infiltrante exibe uma rápida penetração nos capilares apresentando viscosidade muito baixa, menor ângulo de contato com o esmalte e maior tensão superficial (MEYER-LUECKEL *et al.*, 2006; WIEGAND *et al.*, 2011). Ainda, quanto ao aspecto morfológico da lesão, estudos demonstraram que o infiltrante garante maior estabilidade da superfície e melhor qualidade de penetração quando comparado aos adesivos dentários (BELLI *et al.*, 2011; LIU *et al.*, 2012).

Em um estudo *in vitro* foi testado o uso do infiltrante antes do adesivo convencional, em lesões cavidades iniciais, e mostrou-se não interferir na adesão tanto do esmalte hígido como do desmineralizado, demonstrando possuir efeito benéfico para o esmalte desmineralizado (WIEGAND *et al.*, 2011).

Com relação à exposição do material a desafios ácidos, um estudo *in vitro* comparou a proteção do adesivo convencional, do infiltrante e do infiltrante combinado com o adesivo em esmalte hígido e com lesões de cárie artificial. Esse estudo demonstrou que todos os materiais foram capazes de diminuir a dissolução do esmalte, porém o infiltrante combinado com o adesivo resultou em uma maior proteção de dissolução do esmalte do que o infiltrante sozinho (SCHMIDLIN *et al.*, 2012). Outro estudo *in vitro* semelhante objetivou avaliar o selamento do esmalte hígido com materiais como proteção ao desafio erosivo com HCl durante 15 dias, realizando mensurações de íons Cálcio na solução a cada 24 horas, e observou que a combinação do infiltrante (Icon®) com adesivo convencional de resina (Transbond XT primer® ou Heliobond®) resultou em maior proteção e menor quantidade de íons Cálcio na solução (YETKINER *et al.*, 2013).

Seguindo o princípio de que o infiltrante tem mostrado bons resultados quando aplicado em lesões cariosas, novos estudos estão sendo realizados visando avaliar a aplicabilidade do material em outras lesões porosas, como Hipomineralização Molar Incisivo (MIH) e fluorose. Um estudo *in vitro* realizado recentemente mostrou que o infiltrante é capaz de penetrar em lesões MIH de

.....

esmalte, porém de forma irregular e que as alterações produzidas na dureza são imprevisíveis (CROMBIE *et al.*, 2013). No entanto, alguns relatos de casos têm mostrado que apesar do infiltrante não cobrir totalmente as manchas hipoplásicas, os pacientes apresentaram-se satisfeitos com os resultados e que para os casos de fluorose leve a moderada apresentou resultados bastante favoráveis, podendo ser considerado um procedimento minimamente invasivo para esses casos (MUÑOZ *et al.*, 2013; TIRLET; CHABOUIS; ATTAL, 2013).

2.4.1 Uso do Infiltrante em lesões erosivas

Estruturalmente, a erosão dentária se apresenta como uma desmineralização de superfície (HONÓRIO *et al.*, 2008; RIOS *et al.*, 2008; HONÓRIO *et al.*, 2010). Esta característica diferencia-se da cárie dentária, que inicialmente se apresenta como uma lesão de subsuperfície, ou seja, tem-se uma superfície pouco alterada e logo abaixo uma camada altamente desmineralizada em função dos ácidos providos da ação bacteriana do biofilme dentário (HONÓRIO *et al.*, 2008; HONÓRIO *et al.*, 2010).

Apesar das diferenças existentes entre as lesões de cárie e erosão, criou-se a hipótese de que o infiltrante poderia penetrar na lesão de erosão inicial (amolecimento) formando uma barreira mecânica contra a ação de ácidos.

Um trabalho *in vitro* avaliou o efeito de 4 materiais resinosos (Helioseal Clear®– selante de fossas e fissuras; AdheSE®– sistema adesivo autocondicionante de 2 passos; Tetric N-Bond®– sistema adesivo convencional de 2 passos e Icon®– infiltrante) na inibição da progressão de lesões erosivas iniciais, comparando com o grupo controle (sem tratamento). Na primeira etapa do estudo, 75 espécimes de esmalte bovino hígido foram aleatoriamente distribuídos em 5 grupos (n=15) e o tratamento dos espécimes foi realizado nos 4 grupos dos materiais em teste seguindo as instruções do fabricante e no grupo controle não foi realizado nenhum tratamento. Para a segunda etapa foram utilizados 135 espécimes de esmalte bovino previamente erodidos (HCl 0,01M, pH 2,3 por 30 segundos) aleatoriamente distribuídos em 9 grupos (n=15), sendo que em 4 grupos realizou-se o tratamento seguindo as instruções do fabricante, em outros 4 grupos o tratamento foi realizado sem o condicionamento prévio da superfície e o grupo controle manteve-se sem tratamento. Para as duas etapas, após o tratamento, os espécimes foram

.....

submetidos à ciclagem erosiva 4 vezes por dia, durante 5 dias (imersão em HCl 0,01 M, pH 2,3 por 2 minutos, seguida da imersão em saliva artificial por 120 minutos e overnight). Os resultados mostraram que para o esmalte hígido (etapa 1), os materiais Icon[®], Helioseal Clear[®] e AdheSE[®] foram efetivos na proteção contra a erosão dentária. Para o esmalte erodido (etapa 2), os materiais Icon[®], Helioseal Clear[®] e AdheSE[®] quando aplicados seguindo as normas do fabricante e os materiais Icon[®] e Tetric N-Bond[®] quando aplicados sem condicionamento prévio da superfície, foram os mais eficazes na inibição da progressão da lesão. Concluiu-se que os materiais Icon[®] (com ou sem condicionamento) e Helioseal Clear[®], utilizados tanto sobre o esmalte hígido como erodido, foram efetivos para inibir a progressão da lesão erosiva (OLIVEIRA, 2013).

Considerando que o infiltrante apresenta maior penetração que os adesivos e selantes em lesões cariosas (PARIS *et al.*, 2007; MEYER-LUECKEL; PARIS, 2008), seria importante avaliar a penetração deste material em esmalte com lesão de erosão inicial (amolecimento superficial) comparativamente aos adesivos e selantes, que têm se mostrado como alternativas de tratamento para a erosão dentária.

2.5 Microscopia Confocal

A Microscopia Confocal tem sido amplamente utilizada na Odontologia com o objetivo de melhorar a compreensão a cerca da interação entre os materiais e o substrato dental e também de visualizar a extensão de lesões de cárie (SCHMIDLIN *et al.*, 2004; D'ALPINO *et al.*, 2006a; OGAARD *et al.*, 2009; PARIS *et al.*, 2009; RAMESH KUMAR *et al.*, 2011). O uso da Microscopia Confocal permite a visualização de imagens com maior resolução e maior simplicidade no preparo das amostras para a análise em relação à Microscopia Eletrônica de Varredura, a qual necessita de cortes seriados (WATSON, 1991; WATSON *et al.*, 2000). As imagens obtidas através do Microscópio Confocal são geradas a partir de vários planos focais consecutivos, que podem variar de finos ($> 0,35 \mu\text{m}$) até $200 \mu\text{m}$ abaixo da superfície de um tecido mineralizado. Isso significa que as imagens podem ser obtidas desde a superfície até a subsuperfície da amostra, sem a necessidade de preparo ou mudança no posicionamento do espécime durante sua leitura (WATSON, 1991; WATSON, 1997).

Um método auxiliar interessante da Microscopia Confocal é o uso de corantes fluorescentes em concentrações diluídas como marcadores, por possuírem baixo custo e não apresentarem toxicidade (SIDHU; WATSON, 1998). Esses marcadores são detectáveis no modo de fluorescência do Microscópio Confocal permitindo, por exemplo, descobrir o percurso ou verificar a localização de um material (D'ALPINO *et al.*, 2006c). A incorporação de marcadores fluorescentes nos adesivos promove melhorias na resolução das secções ópticas finas obtendo melhor visualização da espessura de material, do aspecto morfológico da estrutura dentária, da interação do material com a estrutura dentária e de defeitos na interface dente-material (WATSON; BOYDE, 1991).

Para a adição de corantes aos materiais resinosos, é importante que o corante não seja instável e que seja bem misturado ao material (WATSON, 1997). Além disso, as propriedades dos materiais também devem ser verificadas a fim de garantir que o corante não cause alterações nas propriedades do material (WATSON, 1997).

A Rodamina B é um corante muito utilizado como marcador fluorescente nos materiais resinosos, devido ao fato do composto exibir cor vermelha muito forte e ser facilmente visualizado. No entanto, as soluções aquosas ou alcoólicas de rodamina B são ácidas, e sendo assim a adição deste corante a um material resinoso pode levar a alteração em seu pH, e consequentemente em seu desempenho (D'ALPINO *et al.*, 2006b). A dissolução e a solubilidade do corante no material a ser testado também são fatores a serem considerados. Dessa forma, concentrações mínimas desse corante devem ser utilizadas para a Microscopia de fluorescência (WATSON, 1991; D'ALPINO *et al.*, 2006b).

A concentração de 1,33 mg/ml de Rodamina incorporada ao adesivo pode levar a alteração nas propriedades mecânicas da camada híbrida, bem como aumentar a quantidade de monômero não polimerizado, consequentemente, contribuindo para altos níveis de lixiviação do corante (D'ALPINO *et al.*, 2006b). No entanto, a adição de menor concentração de corante (0,16 mg/ml) parece não alterar o pH, a conversão de monômero, ou valores de microtração de resistência de união. Assim, deve-se controlar a adição de corante nos materiais resinosos visando minimizar os possíveis efeitos deletérios (D'ALPINO *et al.*, 2006b). Um estudo mais recente mostrou que o excesso de rodamina no adesivo pode interferir a qualidade

.....
morfológica da interface de adesão e que a concentração mínima de 0,02 mg/ml foi eficaz na avaliação da interface do sistema adesivo corado (BIM JÚNIOR, 2013).

O primeiro estudo publicado utilizando Microscopia Confocal de Varredura Tandem no modo de fluorescência para análise da interface de materiais restauradores e da estrutura dentária, utilizou o corante Rodamina B incorporado ao sistema adesivo Scotchbond® para realçar a interface dente-restauração e concluiu-se que o modo de fluorescência facilitou a identificação do sistema adesivo (WATSON; BOYDE, 1987).

Nos estudos seguintes utilizando técnicas de Microscopia Confocal de Varredura a Laser, pôde-se observar melhor resolução, nitidez e maior riqueza de detalhes nas imagens geradas devido ao avanço da tecnologia, melhoria dos equipamentos e *softwares* relacionados (PIOCH *et al.*, 1997; WATSON *et al.*, 2000; D'ALPINO *et al.*, 2006a). Além do mais, a associação dos modos de reflexão e de fluorescência da imagem otimizaram a técnica investigativa (WATSON, 1997).

O método de fluorescência, adicionando rodamina B aos materiais, foi utilizado em diversos estudos com o objetivo de visualizar a penetração de materiais no interior das lesões de cárie (SCHMIDLIN *et al.*, 2004; MEYER-LUECKEL *et al.*, 2005; MEYER-LUECKEL *et al.*, 2006). No entanto, através dessa metodologia não era possível visualizar nitidamente a real extensão da lesão de cárie.

Com o objetivo de facilitar a visualização da extensão da lesão, foi desenvolvida a técnica da dupla fluorescência com o objetivo de corar o material com rodamina e a lesão de cárie com fluoresceína (PARIS *et al.*, 2007; PARIS *et al.*, 2009). A técnica de dupla fluorescência foi primeiramente utilizada em estudos visando avaliar a formação da camada híbrida pelos sistemas adesivos, consistindo na utilização de dois corantes, como a fluoresceína e a rodamina, para corar o primer e o adesivo separadamente (WATSON; WILMOT, 1992; GRIFFITHS; WATSON, 1995; D'ALPINO *et al.*, 2006a).

Para utilização dessa técnica em lesões de cárie, a metodologia foi inicialmente descrita por Paris, Meyer-Lueckel e Kielbassa (2007), na qual o material foi corado com 0,1% de isoticianato de tetrametilrodamina e aplicado a superfície do espécime. Após a aplicação, o espécime foi cortado e polido. Com o objetivo de corar os poros não preenchidos da lesão de cárie, os espécimes foram imersos em uma solução contendo 50% etanol e 100 µM/l de fluoresceína de sódio por 3 horas. No entanto, em um estudo realizado em 2008, essa metodologia demonstrou

.....

limitação na mensuração da profundidade de penetração do infiltrante, pois apareceram áreas não fluorescentes, entre as regiões coradas com rodamina e fluoresceína, difíceis de serem interpretadas. E após a análise do confocal no modo de translucidez e das imagens das microradiografias pôde-se perceber que houve maior penetração do material. Esse fato sugeriu que as áreas não fluorescentes se tratavam da separação cromatográfica do corante e da resina, durante o processo de penetração (MEYER-LUECKEL; PARIS, 2008).

Assim sendo, o mesmo grupo de pesquisa apresentou uma variação no preparo dos espécimes para utilização da técnica de dupla fluorescência. Nessa variação da metodologia a lesão foi corada através da imersão em solução alcoólica de rodamina B a 0,1% por 12 horas. Posteriormente, o material foi aplicado e os espécimes imersos por 12 horas em peróxido de hidrogênio, para que a rodamina que não havia se ligado ao infiltrante fosse eliminada. Os espécimes então foram seccionados e visando a visualização das estruturas que permaneceram porosas, os mesmos foram imersos em solução contendo 50% etanol e 100 µM/l de fluoresceína de sódio por 3 min (PARIS *et al.*, 2009).

Posteriormente, mais estudos realizados demonstraram que essa metodologia é válida para a visualização e mensuração da profundidade de lesão de cárie e penetração do material (infiltrante) em seu interior (MEYER-LUECKEL; PARIS, 2010; PARIS *et al.*, 2012; ARAÚJO *et al.*, 2013; PARIS *et al.*, 2013). Não foram encontrados na Literatura estudos sobre a penetração de materiais resinosos em lesões erosivas.

.....

*“O que torna belo o deserto - disse o principezinho - é que
ele esconde um poço em algum lugar.”*

Antoine de Saint-Exupéry (O pequeno príncipe)

3 Proposição

3 PROPOSIÇÃO

O presente trabalho teve por objetivo avaliar a penetração do infiltrante comparativamente aos adesivos e selante de fossas e fissuras, sobre lesões iniciais de erosão, com e sem condicionamento da superfície de esmalte. As hipóteses nulas testadas foram:

1. Não há diferença entre os materiais avaliados quanto à penetração em lesão inicial de erosão.
2. O condicionamento prévio da superfície não interfere na penetração dos materiais avaliados.

.....

"Foi o tempo que perdeste com tua rosa que a fez tão importante."

Antoine De Saint-Exupéry (O pequeno príncipe)

4 Material e Métodos

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Delineamento Experimental

Neste protocolo in vitro foram estudados dois fatores: tipos de tratamento em cinco níveis (sistema adesivo autocondicionante de dois passos - AdheSE®, sistema adesivo convencional de dois passos - Tetric N-Bond®, sistema adesivo convencional de dois passos – Single Bond®, selante resinoso – Heliobond Clear® e infiltrante - Icon®) e condicionamento da superfície em dois níveis (com e sem). Inicialmente a lesão inicial de erosão foi realizada com HCl 0,01 M (pH 2,3, por 30 s) e posteriormente os blocos foram aleatoriamente distribuídos entre os grupos em estudo. Os materiais foram corados com solução etanólica de isotiocianato de tetrametilrodamina (TRITC; Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany) e aplicados de acordo com as instruções dos fabricantes, sendo que o condicionamento da superfície foi realizado em apenas metade do espécime (n=15). Em seguida, os blocos de dentes foram desgastados e polidos paralelamente às superfícies tratadas (remoção de aproximadamente 1 mm) para obtenção de uma superfície lisa e plana. Após fixação em base para obtenção de paralelismo as amostras foram observadas por meio de Microscopia Confocal de Varredura a Laser (Figura 1).

Este delineamento foi determinado após testes pilotos da pesquisa para avaliar alguns aspectos da metodologia como o tipo de espécime a ser utilizado: coroa embutida em resina acrílica ou blocos de esmalte (4x4 mm); característica da superfície de esmalte: polida ou natural; momento da aplicação de rodamina: diretamente no espécime antes ou depois do condicionamento (quando realizado) ou no material a ser aplicado; e o modo de Microscopia Confocal de Varredura a Laser: fluorescência dual ou fluorescência e reflexão da luz combinado.

Figura 1. Esquema ilustrativo do delineamento experimental do estudo.

4.2 Obtenção dos blocos de esmalte, planificação e polimento

Aproximadamente 100 dentes bovinos extraídos de gado da raça Nelore com idade média de 36 meses, abatidos para consumo no Frigorífico Vangélio Mondelli Ltda., em Bauru, SP, foram utilizados no presente estudo. Os dentes passaram por uma seleção prévia, buscando-se selecionar os melhores, eliminando aqueles com trincas, rachaduras, ou espessura de dentina muito delgada. Os dentes selecionados (n=80) foram limpos com curetas periodontais para remover todo e qualquer resíduo de tecido gengival aderido à superfície e posteriormente desinfetados em solução de timol (pH 7,0) por 7 dias.

Primeiramente, as raízes foram separadas de suas coroas com o auxílio de um torno para polimento odontológico adaptado para corte (Fábrica Nacional de Motores Monofásicos Nevoni / Série 16.223, Tipo: TG1/3, São Paulo, SP) e um disco diamantado Diaflex-F (Wilcos do Brasil, Indústria e Comércio Ltda., Petrópolis, RJ), sendo feita uma secção na porção cervical dos dentes.

Em seguida, para obtenção dos blocos de esmalte as coroas foram fixadas com godiva termoativada (Kerr Corporation, USA) em uma pequena placa de acrílico (40 x 40 x 5 mm³). A placa de acrílico foi parafusada em um aparelho de corte de precisão (ISOMET LowSpeedSaw, BuehlerLtd., Lake Bluff, IL, USA) e com o auxílio de dois discos diamantados dupla face (XL 12205, "High concentration", 102 x 0,3 x 12,7 mm ExtecCorp., Enfield, CT, USA/ Ref: 12205) e um espaçador de aço inoxidável (7 cm de diâmetro, 4 mm de espessura e orifício central de 1,3 cm) entre os discos com velocidade de 300 rpm, refrigerado com água deionizada, os blocos de esmalte de 4 x 4 mm² foram obtidos da porção mais plana da coroa, através de uma secção dupla no sentido cérvico-incisal e outra no sentido mésio-distal.

Com o intuito de realizar a planificação da dentina, os fragmentos foram posicionados no centro de um disco acrílico cristal (30 mm de diâmetro por 8mm de espessura), com a maior área plana de esmalte voltada para o disco e com auxílio de um instrumento PKT (Duflex 55G/SS White Artigos Dentários Ltda, Rio de Janeiro, Brasil) e de uma lamparina (Jon, Ind. Bras., São Paulo, SP) foram fixados colocando-se cera pegajosa Kota (Kota Ind. e Com. Ltda, São Paulo, SP) ao redor do espécime. Cuidado especial foi tomado para que a cera não escoasse entre o esmalte e o acrílico. O conjunto (disco/dente) foi adaptado em uma Politriz

.....

Metalográfica (APL 4, Arotec, Cotia, SP), com sistema de polimento múltiplo, capaz de realizar o polimento automático de 6 corpos de prova, permitindo o paralelismo entre as superfícies polidas e a base de acrílico, na qual foram fixados os espécimes. Neste procedimento de planificação, uma lixa de carbeto de silício de granulação 320 (Carbimet Paper Discs, 30-5108-320, Buehler) sob refrigeração de água deionizada foi utilizada, até que os fragmentos apresentassem espessura de aproximadamente 4 mm. Assim, a politriz foi acionada em baixa velocidade, com 2 pesos padrão de 86 g, durante 30 segundos a 2 minutos, variando em função do desgaste da lixa.

Posteriormente, os espécimes foram removidos do disco de acrílico e limpos com xilol (Merck, Darmstadt, Germany) para retirar todo resíduo de cera. Em seguida, os mesmos foram novamente fixados com cera pegajosa no centro da placa de acrílico e desta vez com o esmalte voltado para cima. Nesta fase também houve cuidado para evitar a cera escoasse entre a dentina e a placa de acrílico, para que não houvesse alteração no paralelismo entre o esmalte e a dentina. O conjunto foi adaptado na politriz iniciando o desgaste do esmalte com uma lixa de silicone carbide de granulação 600 (Carbimet Paper Discs, 30-5108-600, Buehler) sob refrigeração de água deionizada, de 30 segundos a 7 minutos, com 2 pesos, em velocidade alta para remoção das ondulações superficiais. Em seguida, foi feito o polimento do esmalte com lixa de silicone carbide de granulação 1200 (Carbimet Paper Discs, 30-5108-1200, Buehler), sob refrigeração a água deionizada, durante 2 minutos e 30 segundos, com 2 pesos, em velocidade alta, após o qual observou-se uma superfície de aspecto vítreo. Para finalizar o polimento, foi utilizado um feltro (Polishing Cloth Buehler 40-7618) umedecido com uma suspensão de diamante de 1µm (Water based Diamond permanente polishing suspension Extec Corp. 1micron 16.587), durante 3 minutos, com 2 pesos, em velocidade alta. Este tratamento teve por objetivo planificar e remover ranhuras do fragmento de esmalte.

Para impedir que os grãos das primeiras lixas interferissem na qualidade do polimento das seguintes, entre cada etapa de polimento, o conjunto dente/disco foi levado a um aparelho de ultra-som (Ultrasonic Cleaner Mod USC 750, Unique Ind. e Com. de Produtos Eletrônicos Ltda, São Paulo, SP), com frequência de 40 kHz, durante 2 minutos, com água deionizada. Ao final do polimento, os blocos ficaram imersos por 10 minutos em água deionizada sob ação do ultra-som.

.....

A partir do início dos procedimentos de planificação e polimento, os espécimes foram guardados em refrigerador a aproximadamente 4°C. Durante este período e até o final do experimento os espécimes foram armazenados fixados nos discos de acrílico numerados, em recipientes plásticos com tampa, separados por gases embebidas em água deionizada.

4.3 Formação da lesão artificial de erosão inicial

A lesão de erosão inicial foi realizada *in vitro* de acordo com o protocolo de TURSSI *et al.*, 2012 modificado por Oliveira, 2013. Os espécimes foram imersos em HCl 0,01 M (Merck, Darmstadt, Germany), pH 2,3, durante 30 segundos, sob agitação com velocidade de 50rpm e temperatura ambiente de 25°C.

4.4 Tratamento

Inicialmente, a metodologia a ser aplicada seria a mesma que foi utilizada para avaliar a penetração do infiltrante em lesões de cárie dentária (MEYER-LUECKEL *et al.* 2011). Após a realização do estudo piloto pôde-se observar que utilizando o Microscópio Confocal de Varredura a Laser no modo de fluorescência dual não era possível distinguir os dois tipos de corantes nitidamente, pois eles apresentavam-se misturados. Assim sendo, utilizou-se uma solução etanólica de isotiocianato de tetrametilrodamina (TRITC; Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany) a 0,02 mg/ml para corar os materiais em estudo com a menor quantidade possível de corante, visando permitir a análise no Microscópio Confocal de Varredura a Laser através do modo de fluorescência e translucidez combinado (BIM JÚNIOR, 2013).

4.4.1 Preparo da solução de Rodamina B em etanol

Para obtenção da solução padrão de isotiocianato de tetrametilrodamina (Rodamina B), necessária para corar os materiais em estudo, 50 mg do pó de isotiocianato de tetrametilrodamina (TRITC; Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany) foi pesado em um Becker utilizando uma balança analítica de legibilidade de 0,01 mg.

Em seguida, o Becker foi preenchido com aproximadamente 80 ml de etanol de alta pureza (etanol 99,5 °GL). A solução foi misturada em um agitador magnético (Quimis Q261, São Paulo, Brasil) no próprio Becker colocando-se uma barra metálica até que a solução se apresentasse homogênea. Em seguida, a solução foi transferida para um balão volumétrico de 100 ml, no qual foi adicionado etanol puro até a solução completar o volume de 100 ml (Figura 2).

Para corar os materiais em estudo, inicialmente realizou-se um estudo piloto testando concentrações mínimas de rodamina que pudessem gerar imagens na Microscopia Confocal de Varredura a Laser. Dessa forma, foi adotada a concentração de 0,02 mg/ml da solução de rodamina. O volume da solução de rodamina em etanol para corar os materiais em estudo foi obtida por meio da fórmula $C1.V1 = C2.V2$. Sendo que, $C1 = 0,5 \text{ mg/ml}$ (50 mg de pó em 100ml de álcool) $C2 = 0,02 \text{ mg/ml}$ (concentração requerida) e $V2 = 0,5 \text{ ml}$ (quantidade de material a ser corado). Desta forma, obteve-se o valor para $V1$ de 0,02 ml (20 µl) da solução preparada para ser utilizada.

4.4.2. Modificação dos materiais em estudo a partir da solução de Rodamina B

Inicialmente, coletou-se 0,02 ml (20µl) da solução de Rodamina B com uma micropipeta (Eppendorf, Hamburg, Germany), que foi depositada no fundo de um Eppendorf (0,5ml). Em seguida, a solução foi colocada em estufa com temperatura de 70°C para que o etanol anidro se volatilizasse. Após a evaporação total do etanol, retirou-se o Eppendorf da estufa, deixando-o em repouso por 10 minutos para retornar à temperatura ambiente. Na sequência, coletou-se com uma micropipeta, diretamente do frasco fornecido pelo fabricante, 0,5 ml (500µl) do material a ser corado. O material foi colocado no Eppendorf que apresentava rodamina b em pó, o mesmo foi fechado e protegido com papel alumínio e homogeneizado por meio da mistura manual e uso de amalgamador por 15 segundos. Todo o processo foi realizado em ambiente com baixa iluminação para não ocorrer fotoativação precoce (Figura 2).

Figura 2. Ilustração do preparo da solução de Rodamina B e do processo de adição de Rodamina B aos materiais estudados.

Realizou-se uma marcação com lâmina de bisturi no centro do espécime e definiu-se que do lado direito do espécime seria feito o condicionamento da superfície. Como se trata de um espécime quadrado, o lado direito, também foi identificado com uma marcação em sua porção lateral (Figura 3).

Figura 3. Ilustração demonstrando a marcação no centro e na lateral do espécime com lâmina de bisturi para definição do lado direito, área condicionada.

4.4.3. Aplicação dos materiais nos espécimes

A composição dos materiais utilizados para o tratamento dos espécimes estão descritos no Quadro 1.

Material	Lote	Composição
AdheSE® Ivoclar Vivadent, Schan, Liechestein (A)	R82366	Primer: acrilato de ácido fosfórico, derivado de bis-acrilamida e aditivos; Bond: dimetacrilatos, HEMA, dióxido de silício, iniciadores e estabilizadores.
Tetric N-bond® Ivoclar Vivadent, Schan, Liechestein (T)	R27602	BisGMA, etanol, HEMA, acrilato do ácido fosfônico, dimetacrilato de glicerina, dimetacrilato de uretano, difenil-trimetilbenzoil-fosfina e aditivos.
Adper Single Bond 2®, 3M ESPE, St. Paul, EUA (S)	N358882 BR	Álcool etílico, nanopartícula de silano sílica tratada, BisGMA, HEMA, dimetacrilato glicerol, copolímero de ácido acrílico e itaconico, água, diuretano dimetacrilato.
Helioseal Clear®, Ivoclar Vivadent, Schan, Liechestein (H)	S04166	BisGMA, TEGDMA e aditivos.
Icon®, DMG, Hamburg, Germany (I)	669742	Icon-etch: ácido clorídrico, ácido silícico pirogênico, substâncias de reação ativa com a superfície; Icon-dry: etanol; Icon-infiltrant: matriz de resina a base de TEGDMA, iniciadores e aditivos

*Composição dos materiais segundo "Material Safety Data Sheet", exceto para o Icon® o qual está de acordo com a bula fornecida pelo fabricante.

Quadro 1. Composição dos materiais estudados

Os materiais corados com Rodamina B foram aplicados na superfície de esmalte com lesão artificial inicial de erosão, de acordo com os grupos em estudo e conforme as especificações do fabricante (Figura 4), exceto para variável em estudo (tipo de condicionamento).

Adesivo **AdheSE®** (Ivoclar Vivadent AGFL-9494, Schaan / Liechtenstein): o AdheSE® primer foi aplicado sobre metade da superfície do espécime por 30 segundos e o excesso removido com um forte jato de ar por 10 segundos para a remoção da película visível. Posteriormente, o adesivo AdheSE® Bond foi aplicado sobre toda a superfície do espécime, removido o excesso de material com um fraco jato de ar por 5 segundos e fotopolimerizado por 10 segundos.

Adesivo **Tetric N-bond®** (Ivoclar Vivadent AGFL-9494 Schaan / Liechtenstein): o gel de ácido fosfórico a 37% foi aplicado sobre a metade da superfície do espécime permanecendo durante 30 segundos, em seguida foi lavado

com água por 30 segundos e secado com ar comprimido por 10 segundos. Posteriormente, o adesivo Tetric N-Bond® foi aplicado por 15 segundos diretamente sobre a toda superfície do bloco, removido o excesso de material com um fraco jato de ar por 5 segundos e fotopolimerização por 20 segundos.

Adesivo **Adper Single Bond 2®** (3M ESPE, St. Paul, EUA): o gel de ácido fosfórico a 37% foi aplicado sobre a metade da superfície do espécime, permanecendo durante 15 segundos, em seguida foi lavado por 10 segundos e secado com jato de ar. Posteriormente, foram aplicadas duas camadas do adesivo Single Bond diretamente sobre a superfície com pincel saturado de material por 15 segundos e em seguida removeu-se o excesso de material com um fraco jato de ar. A seguir o material foi fotopolimerizado durante 10 segundos.

Selante **Helioseal Clear®** (IvoclarVivadent AGFL-9494 Schaan / Liechtenstein): o gel de ácido fosfórico a 37% foi aplicado sobre metade da superfície do espécime permanecendo durante 30 segundos, em seguida foi lavado com água por 30 segundos e secado com ar comprimido por 10 segundos. Posteriormente, o selante Helioseal Clear® foi aplicado diretamente sobre toda a superfície do espécime com pincel saturado de material, aguardando 15 segundos para a fotopolimerização durante 20 segundos.

Infiltrante Icon® (DMG, Hamburg, Alemanha): o ácido clorídrico a 15% (Icon®-etch) foi aplicado sobre metade da superfície do espécime durante 2 minutos, em seguida foi lavado com água por 30 segundos, aplicado o Icon®-dry por 30 segundos e secado com ar comprimido por 30 segundos. Posteriormente, o Icon®-infiltrant foi aplicado diretamente sobre toda a superfície do espécime por 3 minutos, fotopolimerizado por 40 segundos, reaplicado por 1 minuto e fotopolimerizado por mais 40 segundos.

<p>Adhese®</p>	<p>Tetric N-Bond®</p>	<p>Single Bond®</p>	<p>Helioseal Clear®</p>	<p>Icon®</p>
<p>Sistema adesivo autocondicionante de dois passos</p>	<p>Sistema Adesivo convencional de dois passos</p>	<p>Sistema Adesivo convencional de dois passos</p>	<p>Selante de fôssulas e fissuras</p>	<p>Infiltrante</p>
<p>Adhese-primer por 30 s, jato de ar, Adhese-bond por 5 s, jato de ar e fotopolimerização por 10 s.</p>	<p>Ácido fosfórico 37% por 30 s, lava, seca, tetric N-bond por 5 s, jato de ar e fotopolimerização por 20 s</p>	<p>Ácido fosfórico 37% por 15 s, lava, seca, 2 camadas de Single Bond por 15 s, jato de ar e fotopolimerização por 10 s.</p>	<p>Ácido fosfórico 37% por 30 s, lava, seca, helioseal clear por 15 s, fotopolimerização por 20 s.</p>	<p>Icon-etch por 2 min, lava 30 s, Icon-dry por 30 s, seca por 30 s, Icon-infiltrant por 3 min, fotopolimerização por 40 s, Icon-infiltrante 1 min, fotopolimerização por 40 s.</p>

Figura 4. Instruções do modo de aplicação dos materiais em estudo, segundo especificação do fabricante.

Após o tratamento, a parede perpendicular à parede direita do espécime (área indicada em vermelho na Figura 5), foi lixada em aproximadamente 1 mm, com a lixa de granulação 600 e polido com a lixa de granulação 1200, para se obter amostras regulares em que não houvesse o risco da análise de uma área com excesso de material. Em seguida, as amostras foram lavadas com água por 60 segundos e analisadas no Microscópio Confocal de Varredura à Laser.

Figura 5. Ilustração da área em que foi realizado o polimento do espécime, destacada em vermelho.

4.5 Microscopia Confocal de Varredura a Laser

Os espécimes foram observados no Microscópio Confocal de Varredura a Laser (LEICA TCS SPE, Leica Microsystems CMS Mannheim, Germany) usando objetiva de aumento de 40 vezes com zoom de duas vezes e abertura de 1,15 em modo de fluorescência e translucidez combinado, utilizando óleo 1,15AN. O comprimento de onda de excitação utilizado foi de 532nm para fluorescência e 488nm para reflexão. As imagens foram geradas utilizando o *software* de microscopia específico (Leica Application Suite Advanced Fluorescence, Leica Microsystems CMS, Mannheim, Germany).

4.6 Análise das imagens

As mensurações da profundidade da lesão, penetração do material e espessura de material foram realizadas por meio do *software* ImageJ 1.47v (National Institutes of Health, USA) (Figura 6). As medições foram realizadas em 5 pontos definidos: o primeiro ponto foi marcado no centro da imagem, a seguir dois pontos foram marcados à direita e outros dois à esquerda do centro com uma distância de 20 μm entre eles.

Figura 6. Realização das mensurações utilizando o *software* ImageJ.

Em cada um dos 5 pontos estabelecidos, a profundidade de desmineralização foi obtida por meio da medição entre o ponto mais profundo na

faixa escurecida do esmalte (área desmineralizada) até a borda superficial do esmalte (Figura 7).

A profundidade de penetração do material também foi realizada de acordo com os 5 pontos estabelecidos, sendo considerada a distância entre o ponto mais profundo de penetração do material, correspondendo ao vermelho na imagem, até a borda superficial do esmalte, área cinza sobreposta pelo material vermelho (Figura 8).

A espessura total de material foi medida pela distância entre ponto mais profundo de penetração do material (final da imagem vermelha) até a borda superficial do material (limite da imagem vermelha em direção oposta à primeira marcação) (Figura 9a). Nos espécimes onde houve descolamento do material, a espessura do material foi considerada do ponto mais profundo de penetração até o ponto de descolamento do material (Figura 9b). Quando houve deslocamento total, foi considerado apenas o valor de penetração do material.

Figura 7. Ilustração das mensurações realizadas quanto à profundidade de desmineralização.

Figura 8. Ilustração das mensurações realizadas quanto à penetração dos materiais.

Figura 9. Ilustração das mensurações realizadas quanto à quantidade total de material (a) nos espécimes sem descolamento do material e (b) nos espécimes em que o material descolou.

4.6.1 Critérios para a classificação do descolamento do material

O descolamento total do material correspondeu a ausência de material sobre toda superfície de esmalte ou a presença de um espaço entre toda superfície e o material. Assim sendo, em algumas imagens o material foi classificado como descolamento total mesmo tendo apresentado penetração no interior do esmalte.

Os espécimes classificados como descolamento parcial apresentaram apenas algumas áreas nas quais se puderam observar a ausência do material ou a presença de um espaço entre parte da superfície e o material, podendo apresentar penetração no interior do esmalte.

4.7 Análise Estatística

A análise estatística foi realizada a partir do programa SigmaPlot versão 12.3 (2011 Systat Software, Germany). O teste estatístico ANOVA a dois critérios e o teste de Tukey foram utilizados. O nível de significância adotado foi de 5%.

*“É preciso que eu suporte duas ou três larvas se quiser
conhecer as borboletas. Dizem que são tão belas.”
Antoine de Saint-Exupéry (O pequeno príncipe)*

5 Resultados

5 RESULTADOS

5.1 Análise da profundidade de desmineralização do esmalte

Os resultados referentes à variável desmineralização do esmalte estão dispostos na Figura 10. A Análise de Variância a dois critérios revelou diferença significativa para os fatores condicionamento e material individualmente ($p < 0,05$), sendo que não houve interação entre os fatores em estudo ($p > 0,05$).

Independentemente do tipo de material aplicado, a situação com condicionamento da superfície de esmalte promoveu maior desmineralização em relação à situação sem condicionamento ($p < 0,05$). Os materiais apresentaram profundidade de desmineralização semelhantes ($p > 0,05$) com exceção do Infiltrante em relação ao AdheSE®, de modo que o primeiro apresentou desmineralização significativamente maior ($p < 0,05$).

* letras minúsculas diferentes representam diferença significativa na desmineralização do esmalte entre os materiais e letras maiúsculas, diferença significativa entre o tipo de condicionamento da superfície (ANOVA 2 critérios/ Teste de Tukey, $p < 0,05$).

Figura 10. Gráfico ilustrativo da média e desvio padrão da profundidade de desmineralização do esmalte (μm) de acordo com os materiais em estudo.

5.2 Análise da profundidade de penetração dos materiais no esmalte

Para a variável penetração do material, os resultados da Análise de Variância a dois critérios revelaram diferença estatística significativa para os fatores condicionamento e material ($p < 0,05$), sendo que não houve interação entre eles ($p > 0,05$).

Os dados referentes à penetração dos materiais no esmalte encontram-se dispostos na Tabela 1. Independentemente do tipo de material aplicado, o condicionamento do esmalte resultou em maior penetração dos materiais em relação à situação sem condicionamento ($p < 0,05$). O Infiltrante® seguido do HeliOSEAL® apresentou maior profundidade de penetração no esmalte, com diferença significativa entre eles ($p < 0,05$). O AdheSE®, Tetric N-Bond® e Single Bond®, não se diferenciaram entre si ($p > 0,05$).

Tabela 1. Média e desvio padrão da profundidade de penetração dos materiais (μm) em estudo no esmalte.

MATERIAL	PENETRAÇÃO (μm)	
	Sem condicionamento ^A	Com condicionamento ^B
ADHESE	0,80 $\pm$ 0,90 ^a	1,52 $\pm$ 0,57 ^a
TETRIC N-BOND	0,75 $\pm$ 0,75 ^a	3,53 $\pm$ 1,70 ^a
SINGLE BOND	0,66 $\pm$ 0,80 ^a	3,34 $\pm$ 2,30 ^a
HELIOSEAL CLEAR	1,78 $\pm$ 1,50 ^b	6,03 $\pm$ 1,40 ^b
INFILTRANTE – ICON	4,66 $\pm$ 1,55 ^c	8,24 $\pm$ 4,92 ^c

* letras minúsculas diferentes representam diferença significativa de na profundidade de penetração entre dos grupos materiais e letras maiúsculas, diferença significativa entre o tipo de condicionamento da superfície de esmalte (ANOVA 2 critérios/ Teste de Tukey, $p < 0,05$).

5.3 Análise da espessura de material penetrado e sobre o esmalte

A Figura 11 apresenta os resultados relativos à espessura de material que penetrou adicionado ao que se encontrou sobre o esmalte. A Análise de Variância a

dois critérios revelou diferença significativa para os fatores condicionamento e material ($p < 0,05$), sem interação entre os mesmos ($p > 0,05$).

Independentemente do fator condicionamento da superfície de esmalte, a aplicação do Heliobond Clear® resultou em maior espessura de material seguido pelo Infiltrante, com diferença estatística significativa entre eles ($p < 0,05$). Os outros materiais em estudo (AdheSE®, Tetric N-Bond® e Single Bond®) apresentaram espessura menor, sem diferença estatística significativa entre eles ($p > 0,05$). A condição com condicionamento resultou em maior espessura de material sobre o esmalte do que a sem condicionamento ($p < 0,05$).

* letras minúsculas diferentes representam diferença significativa de espessura de material entre os materiais e letras maiúsculas, diferença significativa entre o tipo de condicionamento da superfície de esmalte (ANOVA 2 critérios/ Teste de Tukey, $p < 0,05$).

Figura 11. Gráfico ilustrativo da média e desvio padrão da espessura de material (µm) em relação ao esmalte, de acordo com os materiais em estudo.

5.4 Análise da presença dos materiais sobre o esmalte

Observou-se o descolamento total ou parcial dos materiais em alguns espécimes, ocorrendo geralmente na porção em que não havia sido realizado o

condicionamento da superfície de esmalte (Tabela 2). Não houve descolamento do material, em nenhum espécime do lado condicionado, no grupo Heliobond Clear®.

Tabela 2. Número de espécimes que apresentaram descolamento total ou parcial do material da superfície do esmalte, de acordo com os grupos em estudo.

MATERIAL	Descolamento Total		Descolamento Parcial	
	<u>Sem</u> <u>condicionamento</u>	<u>Com</u> <u>condicionamento</u>	<u>Sem</u> <u>condicionamento</u>	<u>Com</u> <u>condicionamento</u>
ADHESE	7 (3)	2 (2)	1 (1)	1 (1)
TETRIC N BOND	11 (8)	4 (4)	1 (1)	1 (1)
SINGLE BOND	9 (4)	3 (3)	0	2 (2)
HELIOSEAL CLEAR	3 (3)	0	0	0
INFILTRANTE- ICON	3 (3)	3 (3)	1 (1)	0

* os números entre parênteses indicam espécimes em que houve penetração do material apesar do descolamento.

5.5 Análise qualitativa da penetração dos materiais no esmalte

As imagens geradas através da Microscopia Confocal de Varredura a Laser (modo de reflexão e fluorescência combinado) nas quais a penetração dos materiais foi mensurada encontram-se exemplificadas nas figuras dispostas abaixo (Figuras 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 e 21).

Para o lado do espécime sem condicionamento no grupo AdheSE®, observou-se mínima penetração do material no interior do esmalte e descolamento do material (Figura 12). Enquanto que para o lado com condicionamento, foi observada maior espessura de material (sem descolamento) e maior comprimento dos *tags* de material, porém em número reduzido e com presença de grande espaço entre eles (Figura 13).

Figura 12. Imagem obtida através do MCVL, no modo de reflexão e fluorescência combinado, de um espécime do grupo AdheSE®, lado sem condicionamento do esmalte.

Figura 13. Imagem obtida através do MCVL, no modo de reflexão e fluorescência combinado, de um espécime do grupo AdheSE®, lado com condicionamento do esmalte.

Para o grupo Tetric N-Bond®, no lado sem condicionamento a Figura 14 mostra que o material penetrou superficialmente no esmalte e que houve descolamento do material. Quando houve o condicionamento do esmalte, observou-se a formação dos *tags* e maior espessura do material (Figura 15).

Figura 14. Imagem obtida através do MCVL, no modo de reflexão e fluorescência combinado, de um espécime do grupo Tetric N-Bond®, lado sem condicionamento do esmalte.

Figura 15. Imagem obtida através do MCVL, no modo de reflexão e fluorescência combinado, de um espécime do grupo Tetric N-Bond®, lado com condicionamento do esmalte.

Quando o adesivo Single Bond® foi aplicado sem o condicionamento prévio da superfície observou-se pouca penetração do material no interior do esmalte e na imagem selecionada o material não se descolou do esmalte (Figura 16). Para o lado em que houve o condicionamento, observa-se que a penetração no esmalte foi maior (Figura 17).

Figura 16. Imagem obtida através do MCVL, no modo de reflexão e fluorescência combinado, de um espécime do grupo Single Bond®, lado sem condicionamento do esmalte.

Figura 17. Imagem obtida através do MCVL, no modo de reflexão e fluorescência combinado, de um espécime do grupo Single Bond®, lado com condicionamento do esmalte.

O lado do espécime sem condicionamento no grupo Heliobond Clear® apresentou penetração superficial no interior do esmalte e apresentou maior espessura de todos os grupos em estudo (Figura 18). No entanto, no lado condicionado do espécime foi observada formação homogênea de *tags* do material (Figura 19).

Figura 18. Imagem obtida através do MCVL, no modo de reflexão e fluorescência combinado, de um espécime do grupo Heliobond Clear®, lado sem condicionamento do esmalte.

Figura 19. Imagem obtida através do MCVL, no modo de reflexão e fluorescência combinado, de um espécime do grupo Heliobond Clear®, lado com condicionamento do esmalte.

No grupo Icon® - infiltrante, o lado sem condicionamento da superfície, apresentou considerável espessura e penetração, sendo que além da penetração apresentar maior comprimento em relação aos grupos anteriores, houve também maior área de penetração e homogeneidade (Figura 20). Para o lado com condicionamento, houve maior comprimento dos *tags* e a área de penetração foi bastante homogênea, apresentando melhor qualidade de penetração (maior comprimento e área) do que os outros grupos em estudo (Figura 21).

Figura 20. Imagem obtida através do MCVL, no modo de reflexão e fluorescência combinado, de um espécime do grupo Icon® - infiltrante, lado sem condicionamento do esmalte.

Figura 21. Imagem obtida através do MCVL, no modo de reflexão e fluorescência combinado, de um espécime do grupo Icon® - infiltrante, lado com condicionamento do esmalte.

“Tu julgarás a ti mesmo, respondeu-lhe o rei. É o mais difícil. É bem mais difícil julgar a si mesmo que julgar os outros. Se consegues julgar-te bem, eis um verdadeiro sábio.”

Antoine de Saint-Exupéry (O pequeno príncipe)

6 Discussão

6 DISCUSSÃO

6.1 Considerações sobre a metodologia empregada

O presente estudo se propôs a utilizar a metodologia de fluorescência para Microscopia Confocal de Varredura a Laser, previamente utilizada para avaliação da penetração de materiais adesivos em esmalte hígido ou com lesão de cárie (PIOCH *et al.*, 1997; WATSON *et al.*, 2000; SCHMIDLIN *et al.*, 2004; MEYER-LUECKEL *et al.*, 2005; D'ALPINO *et al.*, 2006a; MEYER-LUECKEL *et al.*, 2006; OGAARD *et al.*, 2009; PARIS *et al.*, 2009; RAMESH KUMAR *et al.*, 2011), visando avaliar a penetração de materiais dentários no interior de lesões de erosão iniciais.

Estudos recentes, avaliando a penetração de materiais resinosos no interior de lesões de cárie têm utilizado a técnica indireta de dupla fluorescência (MEYER-LUECKEL; PARIS, 2010; ARAÚJO *et al.*, 2013; PARIS *et al.*, 2012; PARIS *et al.*, 2013). Essa técnica, preconizada por Paris *et al.* (2009), consiste em primeiramente corar a lesão de cárie com uma solução de rodamina B e depois aplicar o material. Posteriormente, os mesmos são imersos em peróxido de hidrogênio, para que a rodamina presente nos poros da lesão que não foram infiltrados pela resina seja eliminada. Dessa forma, com o objetivo de corar as estruturas que permaneceram porosas, os espécimes são imersos em uma solução de fluoresceína de sódio por 3 minutos. Assim, o material que penetrou nos poros da lesão ficará corado em vermelho e os poros que não foram penetrados pelo material apresentarão cor verde. A técnica indireta ao ser comparada com a técnica direta, na qual o material é corado com solução de rodamina, demonstrou ser uma metodologia mais confiável para a visualização e mensuração da profundidade de lesão de cárie e penetração de material (infiltrante) em seu interior (PARIS *et al.*, 2009).

Devido às diferenças estruturais entre a lesão de cárie e a lesão de erosão, essa metodologia parece não possuir os mesmos benefícios para visualização desses parâmetros na lesão de erosão. Na lesão de cárie, a desmineralização ocorre abaixo de uma camada superficial mineralizada (HONÓRIO *et al.*, 2008). Portanto, o ácido clorídrico a 15% é utilizado com o objetivo de reduzir/romper essa camada superficial, permitindo que a rodamina B penetre nos

poros da lesão (PARIS *et al.*, 2009). Entretanto, na lesão de erosão a desmineralização ocorre na superfície (HONÓRIO *et al.*, 2008) e isso faz com que a aplicação do ácido clorídrico previamente a utilização da rodamina, possa alterar a extensão da lesão ou até mesmo remover a camada amolecida (desmineralizada) superficial.

Além do mais, estudos mostram que a profundidade da lesão de erosão é em média cerca de 10 μm (STENHAGEN *et al.*, 2013), e para a lesão inicial de cárie a profundidade pode variar de 300-600 μm (PARIS *et al.*, 2009; PARIS *et al.*, 2013). Devido à lesão de erosão não ser tão profunda como a lesão inicial de cárie, e apresentar profundidade semelhante a que ocorre após o condicionamento ácido de um dente hígido para aplicação do material (cerca de 15-20 μm) (HOLZMEIER *et al.*, 2008), o presente estudo optou por utilizar a técnica direta de adição de rodamina aos materiais. Por meio dessa técnica, estudos anteriormente realizados observaram que foi possível verificar a formação de *tags* e da camada híbrida dos materiais resinosos em dentes hígidos (WATSON; BOYDE, 1987, PIOCH *et al.*, 1997; WATSON *et al.*, 2000; D'ALPINO *et al.*, 2006a). No entanto, para não causar alterações nas propriedades dos materiais resinosos, concentrações mínimas de rodamina B devem ser adicionadas aos materiais (WATSON, 1991; D'ALPINO *et al.*, 2006b). D'alpino *et al.* (2006b) verificaram que a adição de 0,16 mg/ml de corante não alterou propriedades como pH, a conversão de monômero, ou valores de microtração de resistência de união dos materiais analisados. Um estudo conduzido por Bim Júnior (2013), mostrou que o material foi facilmente detectado e visualizado no Microscópio Confocal com uma concentração mínima de 0,02 mg/ml. No presente estudo, após a realização de uma pesquisa piloto para verificar a menor concentração de corante que permitisse a visualização dos materiais, adotou-se a concentração de 0,02 mg/ml. Pelo fato da concentração ser pequena, se pressupôs que não houve alterações nos materiais em estudo, no entanto não foram realizados testes para verificar a influência do corante nas propriedades física dos materiais.

Como apenas o material foi corado, o modo de fluorescência do Microscópio Confocal de Varredura a Laser não foi capaz de gerar imagens do substrato dental. Sabe-se que a associação de informações obtidas nos modos de reflexão e de fluorescência da imagem garantem informações mais confiáveis à técnica investigativa (WATSON, 1997). Assim sendo, optou-se por associar os

modos de fluorescência para a visualização do material e de reflexão da luz para a visualização do esmalte dental.

6.2 Considerações sobre os resultados

A literatura relata como alternativa para o tratamento minimamente invasivo das lesões de erosão, a aplicação de materiais resinosos sobre a estrutura dentária erodida. Esses materiais correspondem aos selantes, adesivos e mais recentemente o infiltrante. Por meio da formação de uma barreira mecânica sobre o esmalte, eles são capazes de proteger a estrutura dentária contra o desafio erosivo (AZZOPARDI *et al.*, 2001; AZZOPARDI *et al.*, 2004; SUNDARAM *et al.*, 2007a; BARTLETT *et al.*, 2011; WEGEHAUPT *et al.*, 2012; OLIVEIRA, 2013; WEGEHAUPT *et al.*, 2013). Recentemente, a durabilidade desta proteção vem sendo estudada, na qual duas propriedades dos materiais resinosos possuem grande importância, a resistência à degradação no ambiente bucal e sua adesão à estrutura dentária. Uma vez que esses materiais resinosos são aplicados sobre uma estrutura porosa promovida pela desmineralização erosiva, seria importante conhecer o grau de penetração dos materiais na lesão, pois isso poderá influenciar o seu efeito protetor e sua durabilidade. No entanto, não há relato sobre a capacidade de penetração desses materiais no interior da lesão de erosão e todos os estudos publicados avaliaram a penetração desses materiais apenas no interior de lesão de cárie (RODDA, 1983; GOEPFERD; OLBERDING, 1989; DONLY; RUIZ, 1992; ROBINSON *et al.*, 2001; GRAY; SHELLIS, 2002; SCHMIDLIN *et al.*, 2004; MEYER-LUECKEL *et al.*, 2006; PARIS *et al.*, 2007; MEYER-LUECKEL; PARIS, 2008b; PARIS *et al.*, 2012), a qual se difere estruturalmente da lesão de erosão. Levando esse aspecto em consideração, o presente estudo avaliou a profundidade de penetração de materiais resinosos em lesões iniciais de erosão, verificando se o condicionamento prévio da superfície de esmalte erodida interferiu na penetração.

No presente estudo a profundidade média da lesão de erosão, correspondente à região do espécime sem condicionamento do esmalte, foi de $10,28 \pm 0,74 \mu\text{m}$. Este valor está de acordo com o estudo de Honório *et al.* (2010), o qual verificou por meio de dureza longitudinal uma média de $10 \mu\text{m}$ de amolecimento do esmalte após desafio erosivo in situ 3x/5 min em refrigerante tipo cola por 14 dias.

Resultados semelhantes de 12 μm , foram encontrados após a imersão de esmalte em solução de ácido cítrico a 1% (pH = 2.5) por 30 min avaliados por meio de microradiografia transversal (Amaechi *et al.*, 2010). Cabe ressaltar que nos referidos estudos os desafios erosivos foram maiores resultando em perda de esmalte e não somente em amolecimento (Amaechi *et al.*, 2010). No entanto, o amolecimento e posterior perda são eventos cíclicos que compõem as fases de evolução da erosão. Logo, a ação ácida sobre uma superfície amolecida pela erosão não aumenta muito a profundidade de desmineralização, pois antes disso ocorre a perda do esmalte superficial, muito desestruturado fisicamente pela erosão. Nos resultados apresentados, observou-se diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre a profundidade da lesão de erosão – área não condicionada (10,28 μm) e a profundidade da lesão que sofreu o condicionamento para receber os materiais (11,16 $\pm$ 1,22 μm). No entanto, numericamente e talvez clinicamente esta diferença seja pequena, confirmando que a ação progressiva de ácidos interfere menos na profundidade de amolecimento do esmalte e mais na sua perda (desgaste) em relação à superfície. Dessa forma, apesar do desgaste do esmalte não ter sido avaliado, em alguns grupos como no Icon® (infiltrante), Tetric N-Bond® (adesivo unicomponente), Single Bond® (adesivo unicomponente) e Heliobond Clear® (selante de fósulas e fissuras), nos quais houve uma ação adicional na lesão pelos ácidos clorídrico 15% por 120 s e fosfórico 37% por 15 e 30 segundos, respectivamente, supõe-se que houve perda de estrutura. Estudos mostram que o ataque com ácido fosfórico por 15 e 30 s remove 5 e 7 μm de esmalte (HERMSEN; VRIJHOEF, 1993; PARIS; DÖRFER; MEYER-LUECKEL, 2010) e com ácido clorídrico por 60 segundos, 15 μm (PARIS; DÖRFER; MEYER-LUECKEL, 2010).

No que se refere ao grupo AdheSE® (adesivo autocondicionante), Holzmeier *et al.* (2008), observaram que o autocondicionamento aplicado por 30 s promove uma média de 1 μm de profundidade de desmineralização em comparação a 15-20 μm do ácido fosfórico 35%, em esmalte hígido. Nos resultados do presente estudo referentes à profundidade da lesão, houve diferença estatística significativa apenas entre o Icon® e o AdheSE® ($p < 0,05$), este último apresentando menor área de amolecimento na superfície. Esse fato pode ter ocorrido devido ao ácido clorídrico utilizado para o preparo da superfície do Icon® ser mais forte do que o acrilato de ácido fosfórico presente no primer do AdheSE® e também devido as diferenças quanto ao tempo de condicionamento que foi de 30 segundos para o

.....
primer do AdheSE® e 2 minutos para o ácido clorídrico a 15%. Contudo, clinicamente, supõe-se que apenas o adesivo autocondicionante não seja capaz de promover perda de esmalte, quando realizado o condicionamento da superfície, o que para lesões erosivas é um fator importante a se considerar, pois se trata de uma lesão superficial.

Por outro lado, mais importante do que a profundidade da lesão é a penetração dos materiais resinosos nas microporosidades do esmalte, pois esta característica determina a adesão micromecânica do material ao substrato dental (KUGEL; FERRARI, 2000), podendo influenciar no efeito protetor e na durabilidade desses materiais. Quanto à penetração dos materiais em estudo, houve maior profundidade de penetração para a região do espécime em que foi realizado o condicionamento do que para a região que não foi condicionada, com diferença estatística significativa ($p < 0,05$). O ataque com ácido fosfórico promove a dissolução interprismática e prismática no esmalte, na qual o material resinoso pode fluir, possibilitando a retenção mecânica por meio das irregularidades criadas nos primas (KUGEL; FERRARI, 2000). Além disso, sabe-se que o padrão de desmineralização do esmalte depende do pH do ácido e do tempo de condicionamento (KUGEL; FERRARI, 2000). A lesão de erosão inicial avaliada nesse estudo foi gerada através da imersão em HCl 0,01 por 30 segundos visando uma desmineralização parcial da superfície do esmalte, ou seja, apenas o amolecimento do esmalte sem perda de estrutura. Em adição, o valor do pH da solução utilizada para criar a lesão de erosão foi 2,3, ao passo que o pH do ácido utilizado para o condicionamento apresenta valor menor do que 1,0. Consequentemente, o baixo tempo de exposição ao ácido e o maior pH da solução podem ter contribuído para que a lesão de erosão, por si só, produzisse uma desmineralização menos adequada para retenção do material.

O material Icon® apresentou maior profundidade de penetração do que os outros materiais, seguido pelo Heliobond Clear® ($p < 0,05$). Dos materiais estudados, apenas o Icon® e o Heliobond Clear® possuem TEGDMA em sua composição, porém o Icon® é constituído basicamente pelo monômero TEGDMA (tri-etilenoglicol dimetacrilato) e o Heliobond Clear® é constituído pelo TEGDMA e BisGMA (bisfenol glicidil metacrilato). Os materiais a base de TEGDMA apresentam maior capacidade de penetração devido a sua baixa viscosidade, alto grau de conversão e consequentemente alto coeficiente de penetração (PARIS et al., 2007; ARAÚJO et al., 2013). A adição de BisGMA ao material faz com que a viscosidade seja

.....

aumentada e o coeficiente de penetração diminuído (PARIS *et al.*, 2007). Portanto, maior profundidade de penetração é encontrada nos materiais essencialmente constituídos por TEGDMA (PARIS *et al.*, 2007; PARIS; MEYER-LUECKEL, 2010; ARAÚJO *et al.*, 2013). Resultados similares ao presente estudo foram encontrados por Meyer-Lueckel e Paris (2010) em lesões de cárie. Os autores avaliaram a penetração de materiais experimentais, variando a concentração de BisGMA, TEGDMA e etanol, e notaram que os materiais constituídos principalmente de TEGDMA possuíam maior capacidade de penetração. Além disso, observaram que o material experimental que apresentava somente TEGDMA apresentou maior porcentagem de penetração do que os que continham TEGDMA + BisGMA ou TEGDMA + etanol. Cabe ressaltar que o TEGDMA é altamente hidrofílico (ORTENGREN *et al.*, 2001). Por esse motivo, existe uma preocupação quanto a maior suscetibilidade à degradação do Icon® (99% de TEGDMA) no ambiente bucal comparado as resinas que possuem menor conteúdo de TEGDMA (WIEGAND *et al.*, 2011). Essa maior suscetibilidade do infiltrante foi demonstrada em um estudo que avaliou a desmineralização em ácido láctico por 21 dias de materiais aplicados em espécimes hígidos e com lesão de cárie, através da taxa de perda de apatita. Os resultados mostraram que tanto para o esmalte hígido como para a lesão de cárie, a aplicação de adesivo + selante foi capaz de proteger quase que completamente a superfície contra a dissolução, ao passo que o infiltrante aplicado sozinho apresentou maior perda de apatita do que os grupos adesivo e adesivo + infiltrante (SCHMIDLIN *et al.*, 2012). No entanto, o estudo *in vitro* de Oliveira *et al.* (2013), verificou que o Icon® permaneceu sobre a estrutura dentária, protegendo-a contra desafio erosivo de 5 dias com HCl por 2 min, 4 vezes ao dia. No entanto mais estudos são necessários para se avaliar o grau de degradação do infiltrante (Icon®) no ambiente bucal (*in situ*) durante desafios erosivos prolongados.

A presença de HEMA (hidroxietilmetacrilato) e solventes (etanol ou água) nos adesivos AdheSE®, Tetric N-Bond® e Single Bond® pode ter prejudicado a penetração e a adesão desses materiais à estrutura dentária. Apesar dos materiais que contêm HEMA e etanol em sua composição apresentarem alto coeficiente de penetração, essa combinação faz com que, em muitos casos, o material não polimerize suficientemente, apresentando consistência borrachóide ou líquida (PARIS *et al.*, 2007; ARAÚJO *et al.*, 2013). Além disso, ocorre uma redução na

.....
dureza, o que pode prejudicar suas propriedades mecânicas (PARIS *et al.*, 2007; ARAÚJO *et al.*, 2013).

Quanto à espessura dos materiais estudados, o lado do espécime em que a superfície foi condicionada apresentou maior espessura do que o lado em que não houve o condicionamento. Isso ocorreu devido ao grande número de espécimes que apresentou descolamento do material na região não condicionada. Quando o condicionamento da superfície não é realizado o mecanismo de adesão é prejudicado (KUGEL; FERRARI, 2000), podendo resultar em descolamento do material. Nos casos em que o material descolou, apenas o que penetrou ou a espessura aderida ao esmalte foram considerados. Esse fato diminuiu a média de espessura e aumentou o desvio padrão, no lado sem condicionamento, dos espécimes dos grupos AdheSE®, Tetric N-Bond® e Single Bond® que apresentaram grande número de espécimes descolados. O maior descolamento do material no lado não condicionado do espécime pode ter ocorrido devido ao padrão de desmineralização da lesão de erosão que não permitiu boa adesão do material. Além disso, no presente estudo, os adesivos AdheSE®, Tetric N-Bond® e Single Bond® apresentaram consistência borrachóide mesmo após a polimerização. Esse fato pode ter contribuído para o descolamento desses materiais, mesmo na região do espécime em que a superfície foi condicionada, diminuindo a média de espessura de material desses grupos. No grupo Heliobond Clear® nenhum espécime, na região condicionada, apresentou descolamento de material.

Independentemente do condicionamento da superfície, o material Heliobond Clear®, seguido pelo Icon®, apresentou maior espessura do que os adesivos AdheSE®, Tetric N-Bond® e Single Bond®. Esse fato pode ter ocorrido devido à própria composição dos materiais e também devido à função dos mesmos, pois a principal função do adesivo é a formação de camada híbrida e de *tags* resinosos, o Icon® possui como objetivo penetrar no interior das lesões de cárie, protegendo contra desmineralização futura e o selante possui a função de formar uma camada protetora espessa sobre a superfície de esmalte.

Embora a presença de material resinoso sobre o esmalte garanta a proteção superficial contra a desmineralização erosiva devido à formação de uma barreira mecânica, faz-se necessário investigar se a presença do material resinoso nas porosidades do esmalte é capaz de manter o efeito protetor mesmo quando ocorre o descolamento superficial do material.

.....

" Tu te tornas eternamente responsável por aquilo que cativas."

Antoine de Saint-Exupéry (O pequeno príncipe)

7 Conclusão

7 CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo *in vitro* permitem concluir que para todos os materiais resinosos estudados, o condicionamento prévio da superfície de esmalte aumentou a penetração do material no interior da lesão. Além disso, o material que apresentou maior profundidade de penetração no interior do esmalte, independentemente do condicionamento da superfície, foi o infiltrante (Icon®). Desta forma, as hipóteses nulas testadas foram rejeitadas, uma vez que:

1. Houve diferença entre os materiais avaliados quanto à penetração em lesão inicial de erosão, sendo que o infiltrante (Icon®), seguido pelo selante de fóssulas e fissuras (Helioseal Clear®) apresentaram maior profundidade de penetração comparados aos adesivos (AdheSE®, Tetric N-Bond®, Single Bond®).
2. O condicionamento prévio da superfície promoveu maior penetração dos materiais em estudo, no interior do esmalte.

.....

“Eis o meu segredo. É muito simples: só se vê bem com o coração. O essencial é invisível aos olhos.”

Antoine De Saint-Exupéry (O pequeno príncipe)

Referências

REFERÊNCIAS

- Altarabulsi MB, Alkilzy M, Splieth CH. Clinical applicability of resin infiltration for proximal caries. *Quintessence Int.* 2013;44(2): 97-104.
- Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM. Factors influencing the development of dental erosion in vitro: enamel type, temperature and exposure time. *J Oral Rehabil.* 1999;26(8):624-30.
- Amaechi BT, Higham SM. Eroded enamel lesion remineralization by saliva as a possible factor in the site-specificity of human dental erosion. *Arch Oral Biol.* 2001;46(8):697-703.
- Amaechi BT, Higham SM. Dental erosion: possible approaches to prevention and control. *J Dent.* 2005;33(3):243-52.
- Amaechi BT, Karthikeyan R, Mensinkai PK, Najibfard K, Mackey AC, Karlinsey RL. Remineralization of eroded enamel by a NaF rinse containing a novel calcium phosphate agent in an in situ model: a pilot study. *Clin Cosmet Investig Dent.* 2010;25(2):93-100.
- Araújo GS, Sfalcin RA, Araújo TG, Alonso RC, Puppini-Rontani RM. Evaluation of polymerization characteristics and penetration into enamel caries lesions of experimental infiltrants. *J Dent.* 2013;41(11):1014-9.
- Auad SM, Waterhouse PJ, Nunn JH, Steen N, Moynihan PJ. Dental erosion amongst 13- and 14-year-old Brazilian schoolchildren. *Int Dent J.* 2007;57(3):161-7.
- Azzopardi A, Bartlett DW, Watson TF, Sherriff M. The measurement and prevention of erosion and abrasion. *J Dent.* 2001;29(6):395-400.
- Azzopardi A, Bartlett DW, Watson TF, Sherriff M. The surface effects of erosion and abrasion on dentine with and without a protective layer. *Br Dent J.* 2004;196(6):351-4.
- Barbour ME, Lussi A, Shellis RP. Screening and prediction of erosive potential. *Caries Res.* 2011;45:124-32.
- Bartlett D. Intrinsic causes of erosion. *Monogr Oral Sci.* 2006;20:119-39.
- Bartlett D, Sundaram G, Moazzez R. Trial of protective effect of fissure sealants, in vivo, on the palatal surfaces of anterior teeth, in patients suffering from erosion. *J Dent.* 2011;39(1):26-9.
- Belli, R ; Rahiots, C ; Schubert, W. E ; Baratieri, N. L ; Petschelt, A ; Lohbauer, U. Wear and morphology of infiltrated white spot lesions. *J Dent.* 2011;39:376-385.
- Bergman G, Lind PO. A quantitative microradiographic study of incipient enamel caries. *J Dent Res.* 1966;45(5):1477-84.
- Bim Júnior O. Estratégias para a adição de rodamina B em sistemas adesivos [dissertação]. Bauru (SP): Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo; 2013.

BRASIL. Pesquisa Nacional de Saúde Bucal – Resultados Principais - Projeto SB Brasil 2010. In: Saúde Md, ed. 2010.

Buzalaf MA, Hannas AR, Kato MT. Saliva and dental erosion. *J Appl Oral Sci.* 2012;20(5):493-502.

Chaves SC. Oral health in Brazil: the challenges for dental health care models. *Braz Oral Res.* 2012;26:171-80.

Crombie F, Manton D, Palamara J, Reynolds E. Resin infiltration of developmentally hypomineralised enamel. *Int J Paediatr Dent.*, Feb. 2013. [Epub ahead of print]

D'Alpino PH, Pereira JC, Svizero NR, Rueggeberg FA, Carvalho RM, Pashley DH. A new technique for assessing hybrid layer interfacial micromorphology and integrity: two-photon laser microscopy. *J Adhes Dent.* 2006a;8(5):279-84.

D'Alpino PH, Pereira JC, Svizero NR, Rueggeberg FA, Pashley DH. Factors affecting use of fluorescent agents in identification of resin-based polymers. *J Adhes Dent.* 2006b;8(5):285-92.

D'Alpino PH, Pereira JC, Svizero NR, Rueggeberg FA, Pashley DH. Use of fluorescent compounds in assessing bonded resin-based restorations: a literature review. *J Dent.* 2006c;34(9):623-34. (b)

Donly KJ, Ruiz M. In vitro demineralization inhibition of enamel caries utilizing an unfilled resin. *Clin Prev Dent.* 1992;14(6):22-4.

Eccles JD. Dental erosion of nonindustrial origin. A clinical survey and classification. *J Prosthet Dent.* 1979;42(6):649-53.

Eisenburger M, Addy M, Hughes JA, Shellis RP. Effect of time on the remineralisation of enamel by synthetic saliva after citric acid erosion. *Caries Research.* 2001;35(3):211-5.

El Aidi H, Bronkhorst EM, Huysmans MC and Truin GJ. Dynamics of tooth erosion in adolescents: a 3-year longitudinal study. *J Dent.* 2010;38(2):131-7.

Esberard R, Esberard RR, Esberard RM, Consolaro A, Pameijer CH. Effect of bleaching on the cemento-enamel junction. *Am J Dent.* 2007;20(4):245-9.

Featherstone JD, Lussi A. Understanding the chemistry of dental erosion. *Monogr Oral Sci.* 2006;2066-76.

Fejerskov O, Thylstrup A, Larsen MJ. Rational use of fluorides in caries prevention. A concept based on possible cariostatic mechanisms. *Acta Odontol Scand.* 1981;39(4):241-9.

Fejerskov O. Changing paradigms in concepts on dental caries: consequences for oral health care. *Caries Res.* 2004;38(3):182-91.

Frazao P. Epidemiology of dental caries: when structure and context matter. *Braz Oral Res.* 2012;26:1108-14.

- Gambon DL, Brand HS, Veerman EC. Dental erosion in the 21st century: what is happening to nutritional habits and lifestyle in our society? *Br Dent J.* 2012;213(2):55-7.
- Ganss C, Klimek J, Giese K. Dental erosion in children and adolescents--a cross-sectional and longitudinal investigation using study models. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2001;29(4):264-71.
- Ganss C, Lussi A, Grunau O, Klimek J, Schlueter N. Conventional and anti-erosion fluoride toothpastes: effect on enamel erosion and erosion-abrasion. *Caries Res.* 2011;45(6):581-9.
- Garcia-Godoy F, Summitt JB, Donly KJ. Caries progression of white spot lesions sealed with an unfilled resin. *J Clin Pediatr Dent.* 1997;21(2):141-3.
- Gelani R, Zandona A, Lippert F, Kamocka M, Eckert G. In Vitro Progression of Artificial White Spot Lesions Sealed With an Infiltrant Resin. *Oper Dent.* 2013 Dec 19. [Epub ahead of print]
- Goepferd SJ, Olberding P. The effect of sealing white spot lesions on lesion progression in vitro. *Pediatr Dent.* 1989;11(1):14-6.
- Gray GB, Shellis P. Infiltration of resin into white spot caries-like lesions of enamel: an in vitro study. *Eur J Prosthodont Restor Dent.* 2002;10(1):27-32.
- Gray JA. Kinetics of the dissolution of human dental enamel in acid. *J Dent Res.* 1962;41:633-45. Griffiths BM, Watson TF. Resin-dentin interface of Scotchbond Multi-Purpose dentin adhesive. *Am J Dent.* 1995;8(4):212-6.
- Gurgel CV, Rios D, Buzalaf MA, da Silva SM, Araujo JJ, Pauletto AR, *et al.* Dental erosion in a group of 12- and 16-year-old Brazilian schoolchildren. *Pediatr Dent.* 2011;33(1):23-8.
- Gurgel CV, Rios D, de Oliveira TM, Tessarolli V, Carvalho FP, Machado MA. Risk factors for dental erosion in a group of 12- and 16-year-old Brazilian schoolchildren. *Int J Paediatr Dent.* 2011;21(1):50-7.
- Gwinnett AJ. Histologic changes in human enamel following treatment with acidic adhesive conditioning agents. *Arch Oral Biol.* 1971;16(7):731-8.
- Hannig M, Joiner A. The structure, function and properties of the acquired pellicle. *Monogr Oral Sci.* 2006;19:29-64.
- Hara AT, Lussi A, Zero DT. Biological factors. *Monogr Oral Sci.* 2006;20:88-99.
- Heurich E, Beyer M, Jandt KD, Reichert J, Herold V, Schnabelrauch M, Sigusch BW. Quantification of dental erosion--a comparison of stylus profilometry and confocal laser scanning microscopy (CLSM). *Dent Mater.* 2010;26(4):326-36.
- Hermesen RJ, Vrijhoef MM. Loss of enamel due to etching with phosphoric or maleic acid. *Dent Mater.* 1993;9(5):332-6.

- Holbrook WP, Furuholm J, Gudmundsson K, Theodors A, Meurman JH. Gastric reflux is a significant causative factor of tooth erosion. *J Dent Res*. 2009;88(5):422-6.
- Holzmeier M, Schaubmayr M, Dasch W, Hirschfelder U. A new generation of self-etching adhesives: comparison with traditional acid etch technique. *J OrofacOrthop*. 2008;69(2):78-93.
- Honório HM, Rios D, Santos CF, Magalhães AC, Buzalaf MA, Machado MA. Effects of erosive, cariogenic or combined erosive/cariogenic challenges on human enamel: an in situ/ex vivo study. *Caries Res*. 2008;42(6):454-9.
- Honório HM, Rios D, Santos CF, Magalhães AC, Delbem AC, Buzalaf MA, *et al*. Cross-sectional microhardness of human enamel subjected to erosive, cariogenic or combined erosive/cariogenic challenges. *Caries Res*. 2010;44(1):29-32.
- Huysmans MC, Chew HP, Ellwood RP. Clinical studies of dental erosion and erosive wear. *Caries Res*. 2011;45:160-8.
- Imfeld T. Prevention of progression of dental erosion by professional and individual prophylactic measures. *Eur J Oral Sci*. 1996;104(22):215-20.
- Jaeggi T, Lussi A. Prevalence, incidence and distribution of erosion. *Monogr Oral Sci*. 2006;2044-65.
- Jarvinen VK, Rytomaall, Heinonen OP. Risk factors in dental erosion. *J Dent Res*. 1991;70(6):942-7.
- Johansson AK, Lingstrom P, Birkhed D. Comparison of factors potentially related to the occurrence of dental erosion in high- and low-erosion groups. *Eur J Oral Sci*. 2002;110(3):204-11.
- Kato MT, Leite AL, Hannas AR, Oliveira RC, Pereira JC, Tjaderhane L, *et al*. Effect of iron on matrix metalloproteinase inhibition and on the prevention of dentine erosion. *Caries Res*. 2010;44(3):309-16.
- Kreulen CM, Van 't Spijker A, Rodriguez JM, Bronkhorst EM, Creugers NH, Bartlett DW. Systematic review of the prevalence of tooth wear in children and adolescents. *Caries Res*. 2010;44(2):151-9.
- Kugel G, Ferrari M. The science of bonding: from first to sixth generation. *J Am Dent Assoc*. 2000;131:20S-25S.
- Lagerweij MD, Buchalla W, Kohnke S, Becker K, Lennon AM, Attin T. Prevention of erosion and abrasion by a high fluoride concentration gel applied at high frequencies. *Caries Res*. 2006;40(2):148-53.
- Lasfargues JJ, Bonte E, Guerrieri A, Fezzani L. Minimal intervention dentistry: part 6. Caries inhibition by resin infiltration. *Br Dent J*. 2013;214(2):53-9.
- Lauris JR, da Silva Bastos R, de Magalhaes Bastos JR. Decline in dental caries among 12-year-old children in Brazil, 1980-2005. *Int Dent J*. 2012;62(6):308-14.

- Lazarchik DA, Frazier KB. Dental erosion and acid reflux disease: an overview. *Gen Dent*. 2009;57(2):151-6.
- Levine M. Susceptibility to dental caries and the salivary proline-rich proteins. *International J Dent*. 2011;2011:1-12.
- Li H, Zou Y, Ding G. Dietary factors associated with dental erosion: a meta-analysis. *PLoS One*. 2012;7(8):e42626.
- Liu YH, Ge LH, Zhang ZY, Chi XQ, Hou FC, Chen HZ. An experimental study on the penetration abilities of resin infiltration into proximal caries lesions in primary molars. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*. 2012;47(11):684-8.
- Lussi A, Schaffner M. Progression of and risk factors for dental erosion and wedge-shaped defects over a 6-year period. *Caries Res*. 2000;34(2):182-7.
- Lussi A, Kohler N, Zero D, Schaffner M, Megert B. A comparison of the erosive potential of different beverages in primary and permanent teeth using an in vitro model. *Eur J Oral Sci*. 2000;108(2):110-4.
- Lussi A, Jaeggi T, Zero D. The role of diet in the aetiology of dental erosion. *Caries Res*. 2004;38:134-44.
- Lussi A. Erosive tooth wear - a multifactorial condition of growing concern and increasing knowledge. *Monogr Oral Sci*. 2006;201-8.
- Lussi A, Jaeggi T. Extrinsic causes of erosion. Diet. Chemical factors. In: Schi MO, ed. *Dental Erosion: From Diagnosis to Therapy*. Basel, Karger 2006:77-87.
- Lussi A, Schlueter N, Rakhmatullina E, Ganss C. Dental erosion--an overview with emphasis on chemical and histopathological aspects. *Caries Res*. 2011;45:12-12.
- Magalhães AC, Comar LP, Rios D, Delbem AC, Buzalaf MA. Effect of 4% titanium tetrafluoride (TiF4) varnish on demineralization and remineralization of bovine enamel in vitro. *J Dent*. 2008a;36(2):158-62.
- Magalhães AC, Rios D, Honório HM, Jorge AM Jr, Delbem AC, Buzalaf MA. Effect of 4% titanium tetrafluoride solution on dental erosion by soft drink: an in situ/ ex vivo study. *Arch Oral Biol*. 2008b;53(5):399-404.
- Magalhaes AC, Wiegand A, Rios D, Honorio HM, Buzalaf MA. Insights into preventive measures for dental erosion. *J Appl Oral Sci*. 2009;17(2):75-86.
- Magalhaes AC, Levy FM, Rizzante FA, Rios D, Buzalaf MA. Effect of NaF and TiF(4) varnish and solution on bovine dentin erosion plus abrasion in vitro. *Acta Odontol Scand*. 2012;70(2):160-4.
- Martignon S, Ekstrand KR, Gomez J, Lara JS, Cortes A. Infiltrating/sealing proximal caries lesions: a 3-year randomized clinical trial. *J Dent Res*. 2012;91(3):288-92.

- Meurman JH, Murtomaa H. Effect of effervescent vitamin C preparations on bovine teeth and on some clinical and salivary parameters in man. *Scand J Dent Res*. 1986;94(6):491-9.
- Meurman JH, Frank RM. Scanning electron microscopic study of the effect of salivary pellicle on enamel erosion. *Caries Res*. 1991;25(1):1-6.
- Meurman JH, ten Cate JM. Pathogenesis and modifying factors of dental erosion. *Eur J Oral Sci*. 1996;104(2):199-206.
- Meyer-Lueckel H, Mueller J, Paris S, Hummel M, Kielbassa AM. The penetration of various adhesives into early enamel lesions in vitro. *Schweiz Monatsschr Zahnmed*. 2005;115(4):316-23.
- Meyer-Lueckel H, Paris S, Mueller J, Colfen H, Kielbassa AM. Influence of the application time on the penetration of different dental adhesives and a fissure sealant into artificial subsurface lesions in bovine enamel. *Dent Mater*. 2006;22(1):22-8.
- Meyer-Lueckel H, Paris S, Kielbassa AM. Surface layer erosion of natural caries lesions with phosphoric and hydrochloric acid gels in preparation for resin infiltration. *Caries Res*. 2007;41(3):223-30.
- Meyer-Lueckel H, Paris S. Improved resin infiltration of natural caries lesions. *J Dent Res*. 2008a;87(12):1112-6.
- Meyer-Lueckel H, Paris S. Progression of artificial enamel caries lesions after infiltration with experimental light curing resins. *Caries Res*. 2008b;42(2):117-24.
- Meyer-Lueckel H, Paris S. Infiltration of natural caries lesions with experimental resins differing in penetration coefficients and ethanol addition. *Caries Res*. 2010;44(4):408-14.
- Meyer-Lueckel H, Bitter K, Paris S. Randomized controlled clinical trial on proximal caries infiltration: three-year follow-up. *Caries Res*. 2012;46(6):544-8.
- 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;31(3):338-45.
- Muñoz MA, Arana-Gordillo LA, Gomes GM, Gomes OM, Bombarda NH, Reis A, Loguercio AD. Alternative esthetic management of fluorosis and hypoplasia stains: blending effect obtained with resin infiltration techniques. *J Esthet Restor Dent*. 2013;25(1):32-9.
- Murakami C, Oliveira LB, Sheiham A, Nahas Pires Correa MS, Haddad AE, Bonecker M. Risk indicators for erosive tooth wear in Brazilian preschool children. *Caries Res*. 2011;45(2):121-9.
- Neuhaus KW, Schlafer S, Lussi A, Nyvad B. Infiltration of natural caries lesions in relation to their activity status and acid pretreatment in vitro. *Caries Res*. 2012;47(3):203-210.

- Ogaard B, Duschner H, Ruben J, Arends J. Microradiography and confocal laser scanning microscopy applied to enamel lesions formed in vivo with and without fluoride varnish treatment. *Eur J Oral Sci.* 1996;104(4):378-83.
- Oliveira GC. Uso do infiltrante sobre o esmalte hígido e com lesão inicial de erosão submetido a desafio erosivo *in vitro*[dissertação]. Bauru (SP): Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo; 2013.
- Ortengren U, Wellendorf H, Karlsson S, Ruyter IE. Water sorption and solubility of dental composites and identification of monomers released in an aqueous environment. *J Oral Rehabil.* 2001;28:1106–15.
- O'Sullivan EA, Curzon ME, Roberts GJ, Milla PJ, Stringer MD. Gastroesophageal reflux in children and its relationship to erosion of primary and permanent teeth. *Eur J Oral Sci.* 1998;106(3):765-9.
- O'Sullivan EA, Curzon ME. A comparison of acidic dietary factors in children with and without dental erosion. *ASDC J Dent Child.* 2000;67(3):186-92.
- Paris S, Meyer-Lueckel H, Mueller J, Hummel M, Kielbassa AM. Progression of sealed initial bovine enamel lesions under demineralizing conditions in vitro. *Caries Res.* 2006;40:124-9.
- Paris S, Meyer-Lueckel H, Cölfen H, Kielbassa AM. Penetration coefficients of commercially available and experimental composites intended to infiltrate enamel carious lesions. *Dent Mater.* 2007;23(6):742-8.
- Paris S, Meyer-Lueckel H, Kielbassa AM. Resin infiltration of natural caries lesions. *J Dent Res.* 2007;86(7):662-6.
- Paris S, Bitter K, Renz H, Hopfenmuller W, Meyer-Lueckel H. Validation of two dual fluorescence techniques for confocal microscopic visualization of resin penetration into enamel caries lesions. *Microsc Res Tech.* 2009;72(7):489-94.
- Paris S, Meyer-Lueckel H. Infiltrants inhibit progression of natural caries lesions in vitro. *J Dent Res.* 2010;89(11):1276-80.
- Paris S, Dörfer CE, Meyer-Lueckel H. Surface conditioning of natural enamel caries lesions in deciduous teeth in preparation for resin infiltration. *J Dent.* 2010 Jan;38(1):65-71.
- Paris S, Soviero VM, Seddig S, Meyer-Lueckel H. Penetration depths of an infiltrant into proximal caries lesions in primary molars after different application times in vitro. *Int J Paediatr Dent.* 2012;22(5):349-55.
- Paris S, Soviero VM, Schuch M, Meyer-Lueckel H. Pretreatment of natural caries lesions affects penetration depth of infiltrants in vitro. *Clin Oral Investig.* 2013;17(9):2085-9.
- Paris S, Schwendicke F, Seddig S, Muller WD, Dorfer C, Meyer-Lueckel H. Micro-hardness and mineral loss of enamel lesions after infiltration with various resins:

- influence of infiltrant composition and application frequency in vitro. *J Dent.* 2013;41(6):543-8.
- Pioch T, Stotz S, Staehle HJ, Duschner H. Applications of confocal laser scanning microscopy to dental bonding. *Adv Dent Res.* 1997;11(4):453-61.
- Rakhmatullina E, Beyeler B, Lussi A. Inhibition of enamel erosion by stannous fluoride containing rinsing solutions. *Schweiz Monatsschr Zahnmed.* 2013;123(4):296-302.
- Ramesh Kumar KR, Shanta Sundari KK, Venkatesan A, Chandrasekar S. Depth of resin penetration into enamel with 3 types of enamel conditioning methods: a confocal microscopic study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2011;140(4):479-85.
- Rios D, Honorio HM, Magalhaes AC, Delbem AC, Machado MA, Silva SM, *et al.* Effect of salivary stimulation on erosion of human and bovine enamel subjected or not to subsequent abrasion: an in situ/ex vivo study. *Caries Res.* 2006;40(3):218-23.
- Rios D, Honorio HM, Magalhaes AC, Silva SM, Delbem AC, Machado MA, *et al.* Scanning electron microscopic study of the in situ effect of salivary stimulation on erosion and abrasion in human and bovine enamel. *Braz Oral Res.* 2008;22(2):132-8.
- Rios D, Honório HM, Magalhães AC, Wiegand A, de Andrade Moreira Machado MA, Buzalaf MA. Light cola drink is less erosive than the regular one: an in situ/ex vivo study. *J Dent.* 2009;37(2):163-6.
- Rodda JC. Impregnation of caries-like lesions with dental resins. *N Z Dent J.* 1983;79(358):114-7.
- Robinson C, Hallsworth AS, Weatherell JA, Kunzel W. Arrest and control of carious lesions: a study based on preliminary experiments with resorcionol-formaldehyde resin. *J Dent Res.* 1976;812-8.
- Robinson C, Brookes SJ, Kirkham J, Wood SR, Shore RC. In vitro studies of the penetration of adhesive resins into artificial caries-like lesions. *Caries Res.* 2001;35(2):136-41.
- Rytomaa I, Jarvinen V, Kanerva R, Heinonen OP. Bulimia and tooth erosion. *Acta Odontol Scand.* 1998;56(1):36-40.
- Sanhoury NM, Ziada HM, Ahmed GI, Kamis AH. Tooth surface loss, prevalence and associated risk factors among 12-14 years school children in Khartoum State, Sudan. *Community Dent Health.* 2010;27(4):206-12.
- Saxegaard E, Rolla G. Fluoride acquisition on and in human enamel during topical application in vitro. *Scand J Dent Res.* 1988;96(6):523-35.
- Scheutzel P. Etiology of dental erosion--intrinsic factors. *Eur J Oral Sci.* 1996;104(2):178-90.

Schipper RG, Silletti E, Vingerhoeds MH. Saliva as research material: biochemical, physicochemical and practical aspects. *Arch Oral Biol.* 2007;52(12):1114-35.

Schlueter N, Klimek J, Ganss C. Efficacy of an experimental tin-F-containing solution in erosive tissue loss in enamel and dentine in situ. *Caries Res.* 2009;43(6):415-21.

Schmidlin PR, Zehnder M, Pasqualetti T, Imfeld T, Besek MJ. Penetration of a bonding agent into De- and remineralized enamel in vitro. *J Adhes Dent.* 2004;6(2):111-5.

Schmidlin PR, Sener B, Attin T, Wiegand A. Protection of sound enamel and artificial enamel lesions against demineralisation: caries infiltrant versus adhesive. *J Dent.* 2012;40(10):851-6.

Shellis RP, Ganss C, Ren Y, Zero DT, Lussi A. Methodology and models in erosion research: discussion and conclusions. *Caries Res.* 2011;45:169-77.

Sidhu SK, Watson TF. Interfacial characteristics of resinmodified glass-ionomer materials: a study on fluid permeability using confocal fluorescence microscopy. *J Dent Res.* 1998;77:1749–59.

Siqueira WL, Zhang W, Helmerhorst EJ, Gygi SP, Oppenheim FG. Identification of protein components in in vivo human acquired enamel pellicle using LC-ESI-MS/MS. *J Proteome Res.* 2007;6(6):2152-60.

Smith BGN, Knight JK. An index for measuring the wear of teeth. *Br Dent J.* 1984;156(12):435-8.

Soviero VM, Paris S, Leal SC, Azevedo RB, Meyer-Lueckel H. Ex vivo evaluation of caries infiltration after different application times in primary molars. *Caries Res.* 2013;47(2):110-6.

Stenhagen KR, Hove LH, Holme B, Tveit AB. Enamel erosion depths measured on impressions by a white light interferometer. *Acta Odontol Scand.* 2013;71(3-4):398-403.

Sundaram G, Wilson R, Watson TF, Bartlett D. Clinical measurement of palatal tooth wear following coating by a resin sealing system. *Oper Dent.* 2007a;32(6):539-43.

Sundaram G, Wilson R, Watson TF, Bartlett DW. Effect of resin coating on dentine compared to repeated topical applications of fluoride mouthwash after an abrasion and erosion wear regime. *J Dent.* 2007b;35(10):814-8.

Tahmassebi JF, Duggal MS, Malik-Kotru G, Curzon ME. Soft drinks and dental health: a review of the current literature. *J Dent.* 2006;34(1):2-11.

Taji S, Seow WK. A literature review of dental erosion in children. *Aust Dent J.* 2010;55(4):358-67; quiz 475.

Tantbirojn D, Rozzi SM, Mitra SB, Kedrowski BL, Douglas WH. In vitro inhibition of enamel demineralization by a polymerizable amphiphilic film. *Eur J Oral Sci.* 2000;108(6):564-8.

- Tirlet G, Chabouis HF, Attal JP. Infiltration, a new therapy for masking enamel white spots: a 19-month follow-up case series. *Eur J Esthet Dent*. 2013; 8(2):180-90.
- Tong LS, Pang MK, Mok NY, King NM, Wei SH. The effects of etching, micro-abrasion, and bleaching on surface enamel. *J Dent Res*. 1993;72(1):67-71.
- Turssi CP, Vianna LM, Hara AT, do Amaral FL, França FM, Basting RT. Counteractive effect of antacid suspensions on intrinsic dental erosion. *Eur J Oral Sci*. 2012 Aug;120(4):349-52.
- Wang X, Megert B, Hellwig E, Neuhaus KW, Lussi A. Preventing erosion with novel agents. *J Dent*. 2011;39(2):163-70.
- Watson TF, Boyde A. The use of fluorescent markers for studying the distribution of a dentine bonding agent between a composite restoration and tooth. *Clin Mater*. 1987;2(1):45-53.
- Watson TF. Applications of confocal scanning optical microscopy to dentistry. *Br Dent J*. 1991;171(9):287-91.
- Watson TF, Boyde A. Confocal light microscopic techniques for examining dental operative procedures and dental materials. A status report for the American Journal of Dentistry. *Am J Dent*. 1991;4(4):193-200.
- Watson TF1, Wilmot DM. A confocal microscopic evaluation of the interface between Syntac adhesive and tooth tissue. *J Dent*. 1992 Oct;20(5):302-10.
- Watson TF. Fact and artefact in confocal microscopy. *Adv Dent Res*. 1997;11(4):433-41.
- Watson TF, Azzopardi A, Etman M, Cheng PC, Sidhu SK. Confocal and multi-photon microscopy of dental hard tissues and biomaterials. *Am J Dent*. 2000;13:19D-24D.
- Wegehaupt FJ, Taubock TT, Sener B, Attin T. Long-term protective effect of surface sealants against erosive wear by intrinsic and extrinsic acids. *J Dent*. 2012;40(5):416-22.
- Wegehaupt FJ, Taubock TT, Attin T. Durability of the anti-erosive effect of surfaces sealants under erosive abrasive conditions. *Acta Odontol Scand*. 2013;71(5):1188-94.
- Wiegand A, Attin T. Occupational dental erosion from exposure to acids: a review. *Occup Med (Lond)*. 2007;57(3):169-76.
- Wiegand A, Waldheim E, Sener B, Magalhaes AC, Attin T. Comparison of the effects of TiF4 and NaF solutions at pH 1.2 and 3.5 on enamel erosion in vitro. *Caries Res*. 2009;43(4):269-77.
- Wiegand A, Stawarczyk B, Kolakovic M, Hammerle CH, Attin T, Schmidlin PR. Adhesive performance of a caries infiltrant on sound and demineralised enamel. *J Dent*. 2011;39(2):117-21.

Yetkiner E, Wegehaupt FJ, Attin R, Attin T. Caries infiltrant combined with conventional adhesives for sealing sound enamel in vitro. *Angle Orthod.* 2013;83(5):858-63.

Zero DT. Etiology of dental erosion--extrinsic factors. *Eur J Oral Sci.* 1996;104(2):162-77.

Zero DT, Lussi A. Erosion--chemical and biological factors of importance to the dental practitioner. *Int Dent J.* 2005;55(4):285-90.

Zero DT, Lussi A. Behavioral factors. *Monogr Oral Sci.* 2006;20100-5.