



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
ESCOLA DE SAÚDE E BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO ODONTOLÓGICA

GIOVANNA ANDRAUS KIRSTEN

**Efeito de diferentes técnicas restauradoras sobre a
microdureza e a composição química do esmalte e da dentina:
um estudo *in situ***

Curitiba

2013



GIOVANNA ANDRAUS KIRSTEN

**Efeito de diferentes técnicas restauradoras sobre a
microdureza e a composição química do esmalte e da dentina:
um estudo *in situ***

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Doutor(a) em Odontologia, Área de Concentração Dentística.

Profa. Orientadora: Dra. Evelise Machado de Souza.

Curitiba

2013

Dados da Catalogação na Publicação
Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/PUCPR
Biblioteca Central

K61e
2013 Kirsten, Giovanna Andraus
Efeito de diferentes técnicas restauradoras sobre a microdureza e a composição química do esmalte e da dentina : um estudo *in situ* / Giovanna Andraus Kirsten ; orientadora, Evelise Machado de Souza. – 2013.
97 f. : il. ; 30 cm.

Tese (doutorado)– Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, 2013.

Inclui bibliografias
Texto em português e inglês

1. Restauração (Odontologia). 2. Cimentos dentários de ionômero de vidro. 3. Dentina. 4. Odontologia. I. Souza, Evelise Machado de. II. Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Odontologia. III. Título.

CDD 20. ed. – 617.6




Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Odontologia

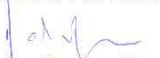
TERMO DE APROVAÇÃO

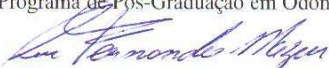
GIOVANNA ANDRAUS KIRSTEN


ESTUDO IN SITU DO EFEITO DA LIBERAÇÃO DO FLÚOR EM DIFERENTES TÉCNICAS
RESTAURADORAS SOBRE O ESMALTE E A DENTINA


Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, como parte dos requisitos parciais para a obtenção do Título de **Doutor em Odontologia**, Área de Concentração em **Dentística**.

Orientador (a): 
Prof^a Dr^a Evelise Machado de Souza
Programa de Pós-Graduação em Odontologia, PUCPR


Prof. Dr. Rodrigo Nunes Rached
Programa de Pós-Graduação em Odontologia, PUCPR


Prof. Dr. Rui Fernando Mazur
Programa de Pós-Graduação em Odontologia, PUCPR


Prof^a Dr^a Carla Castiglia Gonzaga
Programa de Pós-Graduação em Odontologia Clínica, UP


Prof^a Dr^a Bárbara Pick Ornaghi
Programa de Pós-Graduação em Odontologia Clínica, UP

Curitiba, 05 de Março de 2013.

Dedico esta dissertação ao meu grande amor, Marcelo Eidy Urano que sempre me estimulou a dar este grande passo. Ele com muita sabedoria, discernimento, bom senso e dedicação esteve sempre ao meu lado me encorajando nas horas difíceis e me aplaudindo nos momentos de glória. Obrigada por ser meu amigo, companheiro, ser minha fonte de inspiração, meu apoio e ensino diário. Dedico também ao fruto do nosso amor...

A **Deus**, que por sua presença, luz e força sempre me abençoa e capacita para tudo aquilo que Ele me destina.

À minha mãe, a **amy**, com muito carinho e apoio, não mediu esforços para que eu chegasse até esta etapa de minha vida. No entanto, é ela mesma a razão disto tudo, e é a ela que ofereço a minha vitória.

Ao meu companheiro de todas as horas, meu amor, meu **oção** pela inesgotável dedicação, paciência, força, amor, companheirismo, amizade e entusiasmo com tudo na vida. Meu muito Obrigado por me fazer à mulher mais feliz do mundo e me proporcionar uma vida.

A minha querida avó, **Izolette Andraus Nunes**, que pode me proporcionar essa vitória.

À família Urano, especialmente ao Julhio e a Vera, por estarem sempre presentes em minha vida, me encorajando, dando apoio e carinho em todos os momentos.

Aos meus familiares que sempre me deram amor e força, valorizando meu potencial, por todo apoio, carinho e amor, especialmente as minhas avós Aparecida Saltore Borges e Izolette Andraus Nunes e avô Juventino Teixeira Nunes.

Agradeço muito e dedico a vocês este trabalho

À **Profa. Dra. Evelise Machado de Souza**, pelo exemplo de persistência, determinação, coragem e competência. Pela amizade, companheirismo e orientadora desta tese, por todo empenho, sabedoria e imensa compreensão. Pela sua amizade, especialmente.

À **Prof. Dr. Marcelo Iannini**, co-orientador desta dissertação, por seu apoio e contribuição para a pesquisa.

eu agradecimento sincero e profunda admiração

À Pontifícia Universidade Católica do Paraná, na pessoa da diretora Prof. Dr. Sergio Vieira, pelas condições oferecidas para a execução deste trabalho.

Aos coordenadores do Programa de Pós-Graduação em Odontologia pela oportunidade de crescimento, aprendizado, realização profissional e pessoal e pela confiança em mim depositada.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da PUCPR, especialmente aos professores da Área de Concentração Dentística. Prof. Dr. Rodrigo Nunes Rached, Prof. Dr. Rui Fernando Mazur e Prof. Dr. Sérgio Vieira, pela dedicação ao programa e pelo estímulo acadêmico e pela valorização cultural que atribuem ao processo pedagógico. Pela amizade que se construiu para além dos espaços da universidade.

À secretária Neide Borges dos Reis por sua força, pelo carinho, dedicação, competência e paciência. A todos os demais funcionários da clínica odontológica da PUCPR.

Ao Prof. Dr. Ricardo Diego Torres e ao técnico Jerson Sanders L. Hoste, ambos do Laboratório de Caracterização e Ensaio de Materiais do Curso de Engenharia Mecânica da PUCPR, pela autorização ao teste e pela assistência na execução dos testes de microdureza.

A Rosângela Borges Freitas e ao técnico Deonir Agustini, ambos do Centro de Microscopia Eletrônica da UFPR, pela disposição, atenção e assistência no teste utilizando o microscópio eletrônico de varredura acoplado a espectroscopia por dispersão de elétrons.

eus sinceros agradecimentos

Aos meus colegas de Pós-graduação, tanto de Mestrado quanto de Doutorado, pela força e incentivo e por estarem presentes em minha vida.

A todos os meus **amigos** e **amigas** que sempre estiveram presentes me aconselhando e incentivando com carinho e dedicação.

A todas as pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para a execução desta Tese de Doutorado agradeço, profundamente, e dedico a vocês o resultado do trabalho.

Agradeço

SUÁRIO

1. Artigo em português.....	2
1.1. Página Título.....	2
1.2. Resumo.....	4
1.3. Introdução.....	5
1.4. Materiais e Método.....	7
1.5. Resultados.....	15
1.5.1. Análise de microdureza.....	15
1.5.2. Análise química por Espectroscopia de Energia Dispersiva.....	16
1.6. Discussão.....	17
1.7. Conclusões.....	20
1.8. Referências Bibliográficas.....	22
2. Normas da Revista.....	27
3. Artigo em inglês.....	31
3.1 Title page	31
3.2. <i>Abstract</i>	33
3.3. <i>Introduction</i>	34
3.4. <i>Materials and Methods</i>	36
3.5. <i>Results</i>	43
3.5.1. <i>Knoop microhardness analysis</i>	43
3.5.2. <i>Chemical Analysis using Energy Dispersive Spectroscopy</i>	44
3.6. <i>iscussion</i>	45
3.7. <i>onclusions</i>	48
3.8. <i>References</i>	49
4. Anexos.....	54
4.1. Resumos dos artigos da discussão.....	54
4.2. Materiais e Método completo.....	68
4.3. Termo de consentimento livre e esclarecido.....	80
4.4. Informações e Instruções aos participantes da pesquisa.....	83
4.5. Tabelas e Gráficos da análise estatística.....	84

1. Artigo em português

1.1. Página Título

Título:

Efeito de diferentes técnicas restauradoras sobre a microdureza e a composição química do esmalte e da dentina: um estudo *in situ*

Giovanna Andraus Kirsten, DDS, MSD

Aluna de Doutorado, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Área de Concentração Dentística, Escola de Saúde e Biociências, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, PR, Brasil

R. Cel. Temistocles de Souza Brasil, 208 Jd. Social
82520-210

Curitiba-PR

Brasil

Tel: 55 (41) 3018-1408

E-mail: giovanna.kirsten@gmail.com

Rodrigo N Rached, DDS, MSD, PhD

Rui F Mazur, DDS, MSD, PhD

Sergio Vieira, DDS, MSD, PhD

Evelise Machado de Souza, DDS, MSD, PhD (Autor correspondente)

Professora Titular, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Área de Concentração Dentística, Escola de Saúde e Biociências, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, PR, Brasil

R. Imaculada Conceição, 1155 - Prado Velho

CEP: 80215-901

Curitiba – PR

Brasil

Tel: 55 (41) 3271-2511

Fax: 55 (41) 3271-1504

E-mail: evelise.souza@pucpr.br

Palavras-Chave: Estudo *In situ*, fluoreto, sistema adesivo, desafio cariogênico, cimento de ionômero de vidro, microdureza, espectroscopia de energia dispersiva.

1.2. Resumo

Objetivo: Avaliar *in situ* o desempenho de diferentes técnicas restauradoras com materiais fluoretados sobre a desmineralização do esmalte e da dentina frente a um desafio cariogênico. **étodos:** Trinta terceiros molares humanos receberam preparos cavitários de Classe V, tanto na face vestibular quanto lingual, com margens oclusais em esmalte e cervicais em dentina. Os dentes foram divididos aleatoriamente em 4 grupos (n=15) e seccionados em blocos. Em cada grupo as seguintes técnicas foram utilizadas: Ketac Molar (F1) e Vitrebond (F2) como técnica de sanduíche aberto, Optibond Solo Plus (A1) e Adper Single Bond 2 (A2) como técnica adesiva convencional. Todas as cavidades foram restauradas com resina composta nanoparticulada. Quinze voluntários utilizaram durante 7 dias um dispositivo palatal contendo um espécime de cada grupo. O desafio cariogênico foi realizado com solução de sacarose 20 % 8 x ao dia. Após a fase *in situ*, os blocos foram seccionados ao meio para execução do teste de microdureza Knoop e análise quantitativa de cálcio e fósforo em espectroscopia de energia dispersiva (EDS), em diferentes profundidades (25- μm , 50- μm e 100- μm) e distâncias (25- μm e 75- μm) a partir da interface. Os dados foram analisados por ANOVA a dois critérios e teste de Games-Howell ($\alpha=5\%$). **Resultados:** Ambos os cimentos de ionômero de vidro na técnica de sanduíche aberto resultaram em maiores valores de dureza no esmalte e na dentina, com exceção do ponto 25 x 25 μm onde o F1 resultou em maior dureza ($p<0,05$). F2 e A1 apresentaram dureza na dentina semelhante na distância de 25- μm em todas as profundidades ($p>0,05$). As quantidades detectadas de Ca e P, tanto em esmalte como em dentina, foram similares para todos os materiais avaliados. **Conclusões:** A técnica de sanduíche aberto com cimento de ionômero de vidro convencional demonstrou ser mais efetiva na redução da desmineralização do esmalte e da dentina sob desafio cariogênico, em profundidade de até 100- μm .

1.3. Introdução

Restaurações com margens cervicais em dentina e cimento são mais suscetíveis a manchamentos marginais, sensibilidade pós-operatória e cárie secundária.¹ Estudos têm demonstrado que a cárie secundária é o mais importante fator etiológico de falhas e a causa mais comum de substituições de restaurações.²⁻⁵ A cárie secundária é frequentemente encontrada nas margens cervicais de restaurações devido a inúmeras dificuldades, como: acesso à margem radicular, isolamento do campo, remoção do tecido cariado e inserção do material restaurador.⁶ Fatores como estes podem levar ao aparecimento de fendas na interface, o que está relacionado a uma maior probabilidade de desenvolvimento de cárie secundária devido à invasão de fluidos e de microrganismos cariogênicos nesta região.³ O desenvolvimento de cáries secundárias pode ser mais frequente na dentina radicular, uma vez que a perda mineral pode ocorrer duas vezes mais rapidamente na raiz do que no esmalte.⁷

Durante o processo de desmineralização, os microorganismos presentes na placa bacteriana formam ácidos orgânicos, o que promove o aumento da concentração de H^+ na placa. Estes íons se ligam aos íons PO_4^{3-} formando $H_2PO_4^-$.⁸ Os íons PO_4^{3-} e OH^- são liberados da estrutura dentária sob baixo pH para manter o equilíbrio nas proximidades da superfície de esmalte. Este processo leva à liberação do cálcio da estrutura dentária, causando desmineralização.⁸

O processo carioso pode ser influenciado pelo efeito antimicrobiano do flúor.⁹ Íons flúor têm sido incorporados em alguns materiais restauradores com o objetivo de inibir a cárie secundária nas margens cavitárias.¹ Porém, a capacidade dos materiais restauradores liberarem flúor e da estrutura dentária adjacente de incorporá-lo são importantes fatores que podem afetar o efeito cariostático dos materiais.¹⁰⁻¹¹ O flúor pode ser adicionado à formulação do material com a intenção específica de ser liberado ou a liberação pode ocorrer como parte da reação de presa.¹² Porém, de acordo com Hahn *et al.*,¹³ o potencial anticariogênico com a incorporação do flúor não seria suficiente para eliminar totalmente a cárie secundária. A concentração de flúor e a duração

desta liberação variam de acordo com os materiais e, normalmente, uma maior quantidade de flúor é liberada somente nas primeiras 24 horas.^{5,10,14-15}

Itota *et al.*¹⁶ afirmam que os sistemas adesivos que liberam flúor são efetivos na prevenção da lesão na parede interna da cavidade, mas não são capazes de reduzir a profundidade da lesão. Estes autores¹⁶ concluíram que somente a combinação de um sistema adesivo fluoretado com um material restaurador que também libera flúor seria capaz de inibir a formação de cárie secundária. Também, segundo Hara *et al.*,¹⁷ o flúor liberado pelos sistemas adesivos é capaz de evitar lesões de parede, porém não previnem cárie secundária. Deste modo, ainda permanece controversa a capacidade do flúor encontrado nos materiais restauradores e sistemas adesivos em reduzir a incidência de cárie secundária.

Entre os materiais restauradores que contêm flúor estão os cimentos de ionômero de vidro, os cimentos de ionômero de vidro modificados por resina, os compômeros, algumas resinas compostas e os selantes de cicatrículas e fissuras.¹² Alguns sistemas adesivos apresentam flúor na sua composição, o que poderia levar a uma atividade anticariogênica devido ao aumento da resistência da dentina aos ataques ácidos presentes no meio oral.¹⁸ Íons flúor provenientes de sistemas adesivos são liberados em direção às paredes do preparo cavitário onde estão em contato, penetrando e difundindo em direção a dentina através da camada híbrida.¹⁹

Os modelos *in situ* têm recebido reconhecimento crescente como ferramenta para o estudo aplicado fundamental da cárie dentária.²⁰ Nesse modelo, o desafio cariogênico promove uma desmineralização da superfície dentária, tanto no esmalte quanto na dentina, reproduzindo a dinâmica envolvida no desenvolvimento da cárie e permitindo analisar de maneira controlada o efeito de tratamentos na prevenção ou inibição das lesões cariosas.²¹ Estudos *in situ* envolvem o uso de dispositivos que criam condições definidas na cavidade bucal, servindo de ponte entre a situação clínica natural e a situação laboratorial altamente controlada.²⁰ Estes modelos tem sido aplicados no estudo do mecanismo de ação do flúor em materiais restauradores,²²⁻²⁸ dentifrícios,²⁹ e aplicação tópica de flúor.³⁰

Embora o potencial cariostático dos cimentos ionoméricos seja bem documentado na literatura, faz-se necessário avaliar a efetividade do seu uso

como material de forramento, associado a uma técnica adesiva convencional comparada com outros materiais fluoretados. Atualmente, a incorporação de íons fluoreto nos sistemas adesivos tem demonstrado resultados inconclusivos a respeito do seu efeito cariogênico *in vitro*, e ainda pouco se sabe sobre seu efeito frente a um desafio cariogênico *in situ*.

Desta forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar *in situ* o efeito de diferentes técnicas restauradoras utilizando materiais fluoretados sobre a desmineralização do esmalte e da dentina frente a um desafio cariogênico, por meio de teste de microdureza Knoop e análise química por espectroscopia de energia dispersiva (EDS). A hipótese a ser investigada é de que não haverá diferenças na dureza e na concentração de cálcio e fósforo no esmalte e na dentina subjacentes aos materiais avaliados utilizando as diferentes técnicas restauradoras.

1.4. materiais e métodos

Preparo dos dentes

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (CEP/PUCPR – 2131). Trinta terceiros molares humanos hígidos, com indicação para exodontia, obtidos junto ao Banco de Dentes da PUCPR. Os dentes foram limpos, imediatamente após a extração, utilizando curetas manuais e estocados em solução de cloramina T 0,05 % a 4 °C por, no máximo, 3 meses.

Infecção dos preparos cavitários

Preparos cavitários de Classe V (Figura 1-A) com 1,5 mm de profundidade, 2 mm de diâmetro foram preparados com ponta diamantada cilíndrica auto-limitante # 2294 (KG Sorensen, São Paulo, SP, Brasil), em alta rotação (Kavo do Brasil, Joinville, SC, Brasil) sob refrigeração constante. Os preparos apresentavam margem oclusal em esmalte e margem cervical em

dentina. Os dentes foram armazenados em umidade relativa em estufa a 37 °C, durante 24 horas.

Os dentes foram seccionados no sentido mesio-distal (Figura 1-B), separando a face vestibular da lingual (Figura 1-C), utilizando disco diamantado (Extec Corp., Enfield, CT) em cortadeira metalográfica de alta precisão (Isomet 1000, Buehler, Lake Bluff, IL) em baixa rotação com irrigação constante.

Sessenta blocos (5 mm X 5 mm) (Figura 1-D E) foram obtidos e desgastados até a obtenção de 2 mm de espessura em uma politriz rotatória (APL-4, Arotec, Cotia, SP, Brasil) (Figura 1-E F) com lixas de SiC com granulação de #600, #800 e #1200 (3M do Brasil, Sumaré, SP, Brasil). As dimensões finais dos espécimes foram verificadas com paquímetro digital (CD-15CX, Mitutoyo Corp., Tóquio, Japão).

sterilização dos fragmentos dentais

Após a realização dos preparos cavitários, os fragmentos dentais foram esterilizados em autoclave (Cristófoli Biossegurança – Autoclave Vitale Plus 21, Campo Mourão, PR, Brasil).

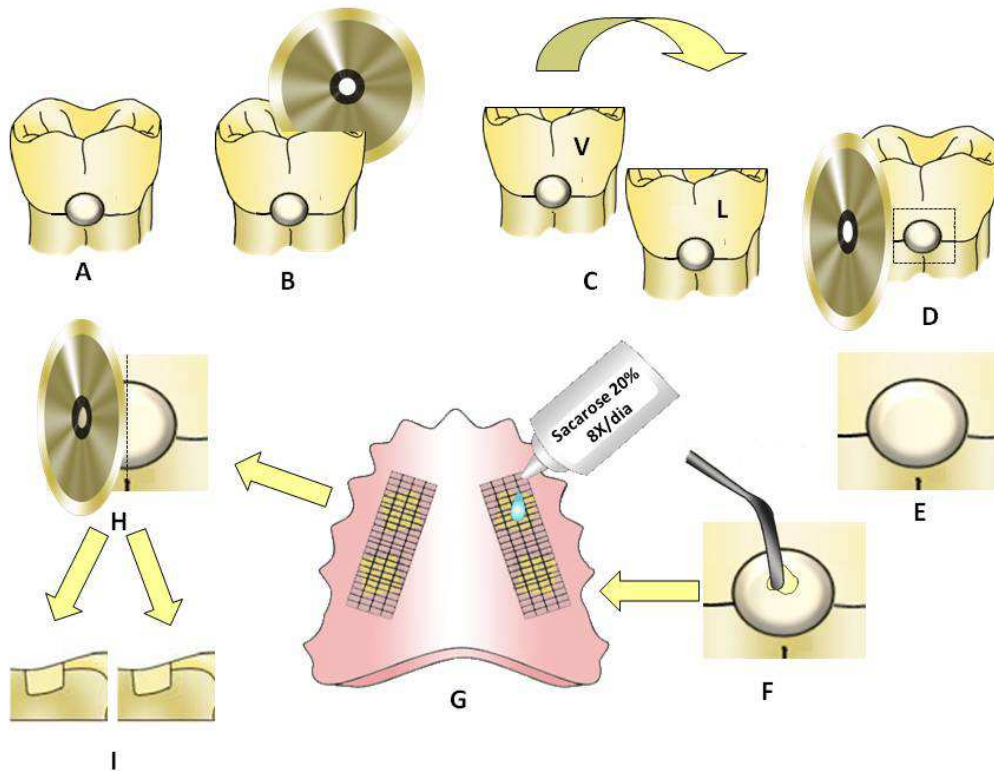


Figura 1: A- Cavidade Classe V, B- Corte mesio-distal com disco diamantado, C- Após a separação das faces vestibular e lingual, D- Secção para a obtenção do bloco, E- Bloco de dente com a restauração com margem em esmalte e dentina, F- Restauração em incrementos, G- Dispositivo intra-oral com a solução de sacarose 20%, H- Secção do bloco em 2 partes e I- Separando os 2 blocos com exposição das margens das restaurações.

Formação dos rupos experimentais e restaurações

Os fragmentos dentais foram divididos aleatoriamente em quatro grupos experimentais com 15 espécimes cada, de acordo com os materiais utilizados.

No grupo F1 (controle positivo), foi utilizada a técnica de sanduíche aberto, na qual o forramento das paredes axial e cervical em dentina foi realizado com cimento de ionômero de vidro convencional Ketac Molar EasyMix (3M ESPE, St. Paul, MN) com uma espessura de aproximadamente 1 mm, medido com sonda milimetrada, até a superfície externa em dentina (Figura 2-A). Foi aguardado o tempo de espera para presa inicial de 3 min e 30

s para a presa inicial do material protegido com gaze umedecida em água destilada.

Tabela 1. Descrição dos materiais utilizados nos grupos do estudo.

Grupo	Técnica	Material	Classificação	Composição
F1	Forramento sanduíche aberto	Ketac Molar EasyMix 3M ESPE	Cimento de ionômero de vidro convencional	Pó: Vidro de fluorsilicato de alumínio, lantânio e cálcio. Líquido: Água, copolímero de ácido acrílico e ácido maleico, ácido tartareo e ácido benzoico.
F2	Forramento sanduíche aberto	Vitrebond 3M ESPE	Cimento de ionômero de vidro resino-modificado	Pó: Vidro de flúor-alumino-silicato Líquido: Copolímero do ác. polialcenóico, água, HEMA e fotoativador
A1	Técnica adesiva de condic. total	Optibond Solo FL Kerr Dental	Sistema adesivo convencional de 3 passos	Bis-GMA, HEMA, GPDM, fluorsilicato de sódio, fotoiniciador, etanol e água
A2	Técnica adesiva de condic. total	Adper Single Bond 2 3M ESPE	Sistema adesivo convencional de 2 passos	BisGMA, HEMA, sílica coloidal, água e etanol

Bis-GMA=bisfenol-glicidil-dimetacrilato; HEMA=hidroxietilmetacrilato; PDM=glicidilfosfato-dimetacrilato.

No grupo F2, o cimento de ionômero de vidro modificado Vitrebond (3M ESPE Dental Products, St. Paul, MN) foi utilizado como forramento. O material foi manipulado e inserido na cavidade da mesma forma que o grupo anterior, mantendo também uma espessura de 1 mm, até a superfície externa em dentina (Figura 2-A). Imediatamente após a inserção, o material foi fotopolimerizado com um aparelho de luz halógena com 600 mW cm² de irradiância (Optilux VLC 501, Demetron Research Corp, Danbury, CT) por 40 s.

Para os grupos F1 e F2, após a presa dos materiais, o esmalte foi condicionado com ácido fosfórico 37% (3M ESPE, St. Paul, MN) durante 30 s, lavado com spray água ar durante 20 s e seco com jato de ar indireto por 10 s. O adesivo Scotchbond Multi Purpose Plus (3M ESPE, St. Paul, MN) foi aplicado sobre o esmalte e o cimento de ionômero de vidro e fotoativado durante 20 s. As cavidades foram restauradas com resina composta nanoparticulada Filtek Z350 XT (3M ESPE, St. Paul, MN), utilizando 2 incrementos oblíquos, fotopolimerizados por 20 s cada, com a mesma unidade fotopolimerizadora.

Para o grupo A1, foi utilizado o sistema adesivo OptiBond Solo Plus (Kerr Dental, Orange, CA). No grupo A2 (controle negativo), as cavidades receberam o sistema adesivo Adper Single Bond 2 (3M ESPE, St. Paul, MN) (Figura 2-B). Ambos os adesivos foram utilizados de acordo com as orientações do fabricante e as cavidades foram restauradas com resina composta nanoparticulada Filtek Z350 XT (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA) (Figura 1-F), utilizando 4 incrementos oblíquos, fotopolimerizados por 20 s cada utilizando a mesma unidade fotopolimerizadora citada anteriormante.

Em seguida, todos os espécimes foram armazenados em um recipiente à prova de luz em umidade relativa e em estufa a 37 °C, durante 24 h. Os espécimes foram polidos com discos abrasivos finos e extra-finos (Sof-Lex, 3M ESPE, St. Paul, MN) e pasta diamantada com discos de feltro (Diamond Master, FGM Produtos Odontológicos Ltda., Joinville, SC, Brasil), durante 15 s cada.

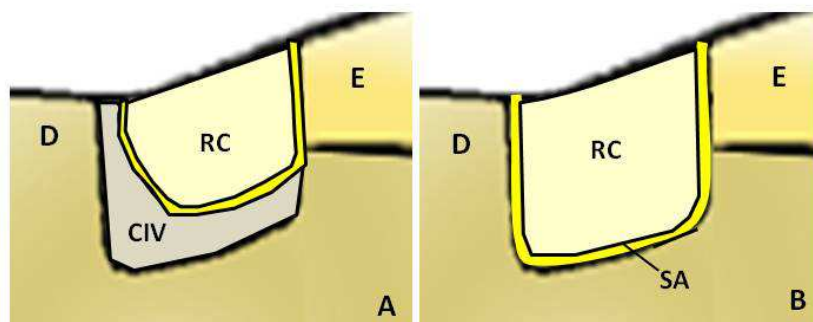


Figura 2: Desenho esquemático representando as técnicas restauradoras. A- Técnica de sanduíche aberto com cimento de ionômero de vidro (CIV) como forramento, e resina composta como material restaurador (RC); B- Técnica adesiva convencional com sistema adesivo (SA) e resina composta como material restaurador (RC) .

Fase clínica

Para a fase clínica foram selecionados quinze voluntários adultos para participarem da pesquisa. Os critérios de inclusão dos voluntários foram: 1) apresentar bom estado de saúde geral e oral; 2) não ter utilizado antibióticos nos últimos dois meses, pois afetam a microbiota oral e, com isso, a resposta

ao modelo adotado; 3) não ser fumante; 4) não ter consumido medicamentos que afetam o fluxo salivar. Os critérios de exclusão adotados foram: 1) apresentar algum processo infeccioso durante o experimento; 2) não utilizar a solução de sacarose conforme as recomendações da pesquisa; 3) apresentar má higiene oral durante o período de uso do dispositivo. Os voluntários assinaram um termo de Consentimento Livre e Esclarecido contendo os principais aspectos da pesquisa (Anexo 4.4).

Todas as recomendações e orientações sobre os procedimentos realizados durante o experimento foram impressos e entregues aos voluntários (Anexo 4.5).

Preparação dos dispositi os palatais

Os voluntários tiveram seus arcos superiores moldados com alginato (Cavex Orthotrace, Cavex, Haarlem, Holanda) e os modelos confeccionados em gesso pedra (Vigodent, Rio de Janeiro, Brasil). Os dispositivos foram confeccionados em resina acrílica e 4 cavidades (6 mm X 6 mm X 3 mm) foram confeccionadas na região dos molares, 2 de cada lado (Figura 1-G). De um lado, foram fixados com cera pagajosa os fragmentos restaurados com os cimentos de ionômero de vidro como forramento (sanduíche aberto). Do outro lado, os fragmentos restaurados com na técnica adesiva restauradora. Os fragmentos receberam uma tela de poliéster sobre a sua superfície a fim de permitir o acúmulo de biofilme e protegê-los de perturbação mecânica.

Fase intra-oral

Durante os 7 dias de tratamento intra-oral, os voluntários utilizaram o dispositivo contendo os espécimes. A higiene oral com dentifício fluoretado (Dentifício Sorriso Dentes Brancos, 1.500 mgF g, Colgate-Palmolive, São Paulo, SP, Brasil) e escova dental de cerdas macias (Procter & Gamble do Brasil, São Paulo, SP, Brasil) três vezes ao dia, durante 5 min, depois das refeições e nos horários em que os voluntários habitualmente realizavam sua higiene oral. Os dispositivos não foram escovados, apenas lavados com água corrente para evitar a perturbação do biofilme. Todos os voluntários foram

autorizados a retirar os dispositivo somente durante as refeições e para o desempenho da higiene oral.

Para o desafio cariogênico, os voluntários foram orientados a tirar o dispositivo da boca, remover o excesso de saliva com gaze e gotejar uma gota de solução de sacarose 20% em cada tela acima do espécime (Figura 1-G), oito vezes por dia em horários pré-determinados. Antes de recolocar o dispositivo palatal na boca, um período de 5 min de espera foi instruído para permitir a difusão de sacarose no biofilme dental.²³

Preparo dos espécimes para análise

Os espécimes foram seccionados longitudinalmente no centro da restauração com disco diamantado (Extec Corp., Enfield, CT) em cortadeira metalográfica de alta precisão (Isomet 1000, Buehler, Lake Bluff, IL) em baixa rotação com irrigação constante, separando-os em 2 blocos com exposição das margens das restaurações (Figura 1-H). Uma parte foi incluída em resina epóxica (Resina Epóxi, Epoxiglass, Diadema, Brasil) para a análise de microdureza Knoop e a outra parte foi seccionada longitudinalmente para obtenção de uma lâmina com 500 μm de espessura para análise em EDS (Figura 1-I). Ambas as partes foram polidas em politriz rotatória com lixas de SiC com granulação #800 e #1200, sob irrigação.

A aliação de microdureza Knoop da dentina e do esmalte

A avaliação da microdureza Knoop foi realizada na interface adesiva das restaurações (n=15) com o microdurômetro (HMV-2T, Shimadzu Corp., Tóquio, Japão) e uma carga estática de 10 g aplicada durante 15 s sobre a dentina e com uma carga de 25 g por 15 s para o esmalte. A Figura 3 apresenta pontos das endentações, os quais foram realizados a 25 μm , 50 μm e 100 μm da superfície externa (profundidades) e em 25 μm e 75 μm a partir da interface (distâncias).

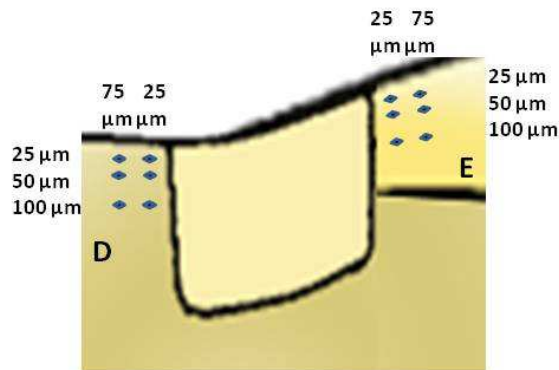


Figura 3: Desenho esquemático demonstrando as distâncias e profundidades para das endentações no teste de microdureza Knoop e das leituras em EDS.

spectroscopia de energia dispersiva ()

Para a análise de espectroscopia de energia dispersiva (EDS) foram utilizados 5 espécimes de cada grupo. As lâminas dos fragmentos foram armazenados em um dessecador com sílica para a desidratação, durante 10 dias. As amostras foram observadas em microscópio eletrônico de varredura (JSM – 5600 – JEOL Inc, Tóquio, Japão), equipado com um espectroscópio de dispersão de energia (EDS), sob 20.0 kV de voltagem e 450X de magnificação. As avaliações em EDS quantificaram os níveis de cálcio, fósforo e outros componentes dos tecidos nas mesmas profundidades e distâncias já descritas no teste de microdureza Knoop.

Análise estatística

Os valores médios de microdureza Knoop e porcentagem por peso dos elementos químicos foram submetidos aos testes de normalidade de Kolmogorov-Smirnov e de Lèvene para a verificação da homogeneidade de variâncias. Para análise dos resultados de microdureza, ANOVA a dois critérios foi utilizada, considerando os fatores “tratamento” e “localização”. As comparações múltiplas foram realizadas por meio de teste de Games-Hoell para variâncias heterogêneas. Para análise dos resultados de EDS, ANOVA a um critério foi utilizada considerando somente o fator “tratamento”. As comparações múltiplas foram realizadas por meio de teste de Games-Hoell.

Todos os testes foram realizados com nível de significância de 5%. Os programas utilizados para análises estatísticas foram Statistica 7.0 (StatSoft Inc., Tulsa, AZ) e SPSS 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL).

1.5. Resultados

1.5.1. Microdureza Knoop

As Tabelas 2 e 3 apresentam as comparações das médias de microdureza Knoop de esmalte e dentina entre as técnicas avaliadas nas diferentes distâncias e profundidades.

O grupo F1 apresentou os maiores valores de dureza no esmalte em todas as distâncias e profundidades ($p < 0,05$), com exceção do ponto 25 μm x 100 μm , onde houve semelhança com o grupo F2. O grupo A2 (controle negativo) e o grupo A1 demonstraram menor microdureza Knoop no esmalte em todas as distâncias e profundidades, quando comparados aos grupos F1 e F2 ($p < 0,05$). Além disso, não foram encontradas diferenças significantes entre A1 e A2 em todas as distâncias e profundidades avaliadas ($p > 0,05$).

Tabela 2. Valores médios (DP) de microdureza Knoop do esmalte com os materiais avaliados nas diferentes distâncias e profundidades.

Dist	Prof	F1	F2	A1	A2
25	25	212,83 (14,70)ABa	190,57 (11,42)ABb	167,38 (12,06)ABc	153,07(18,97)Ac
25	50	219,09 (13,17)Aa	199,37 (9,28)Ab	168,69 (11,19)ABc	156,75 (17,83)Ac
25	100	221,07 (12,60)Aa	203,02 (12,51)Aa	177,26 (12,44)Ab	163,30 (18,41)Ab
75	25	198,99 (11,58)Ba	177,37 (7,24)Bb	156,56 (10,59)Bc	153,14 (13,29)Ac
75	50	203,86 (12,26)ABa	181,18 (7,47)Bb	160,11 (9,89)Bc	156,29 (11,65)Ac
75	100	205,72 (11,66)ABa	186,78 (9,68)ABb	162,51 (11,65)ABc	161,29 (12,11)Ac

Grupos com letras maiúsculas distintas apresentam diferença estatisticamente significativa em coluna e grupos com letras minúsculas distintas apresentam diferenças significantes em linha ($p < 0,05$).

O grupo F1 apresentou os maiores valores de dureza na dentina na distância de 25 μm e profundidade de 25 μm ($p < 0,05$). O grupo F2 e A1

apresentaram dureza semelhante na distância 25 µm em todos as profundidades. O grupo A2 demonstrou os menores valores de dureza em todas as distâncias e profundidades, quando comparado aos grupos F1 e F2 ($p < 0,05$). Também não foram encontradas diferenças significantes entre A1 e A2 em todas as distâncias e profundidades, com exceção de 25 µm x 25 µm.

Tabela 3. Valores médios (DP) de microdureza Knoop da dentina com os materiais avaliados nas diferentes distâncias e profundidades.

Dist	Prof	KM	VB	OP	SB2
25	25	56,64(3,70)Aa	48,31 (4,06)ABb	44,61 (5,31)ABCb	34,65(2,02)Cc
25	50	56,71 (5,74)ABa	50,77 (3,86)ABab	47,17 (4,31)ABbc	40,60 (5,63)ABCc
25	100	59,21 (3,88)Aa	53,89 (3,57)Aab	49,69 (4,76)Abc	44,25 (2,78)Ac
75	25	48,40 (6,36)Ba	47,45 (3,08)Ba	39,57 (4,90)Cb	34,93 (3,85)Cb
75	50	50,40(7,45)ABab	5,43 (4,75)Aba	42,22 (5,24)BCbc	35,72(4,11)BCc
75	100	52,93 (4,67)ABa	52,42 (3,13)Aa	45,23 (5,24)ABCb	40,39 (3,24)ABb

Grupos com letras maiúsculas distintas apresentam diferença estatisticamente significante em coluna e grupos com letras minúsculas distintas apresentam diferenças significantes em linha ($p < 0,05$).

1.5.2. Análise Química por espectroscopia de energia dispersiva

A análise de variância para porcentagem em peso de Cálcio no esmalte e na dentina apresentou significância somente para o fator tratamento ($p < 0,05$). Na análise da porcentagem em peso de Fósforo no esmalte não houve diferença significativa para todos os fatores ($p > 0,05$), enquanto na dentina houve significância para o fator tratamento e na interação tratamento x localização ($p < 0,05$). Uma vez que o fator localização não apresentou significância estatística em nenhuma das análises, os valores de porcentagem em peso de Cálcio e Fósforo no esmalte e na dentina foram submetidos a uma média considerando todas as distâncias e profundidades (Tabela 4).

Tabela 4. Valores médios (DP) da % em peso de Cálcio e Fósforo no esmalte e na dentina.

Elemento	Substrato	F1	F2	A1	A2
Cálcio	Esmalte	47,91 (5,43)a	44,88 (4,73)a	43,45 (4,68)a	40,99 (3,46)b
	Dentina	43,36 (7,17)a	35,12 (3,90)b	29,86 (6,16)c	33,20 (4,87)bc
Fósforo	Esmalte	13,03 (0,62)a	13,37 (1,06)a	13,38 (0,84)a	13,15 (0,85)a
	Dentina	11,36 (2,18)c	12,32 (0,80)bc	12,08 (1,06)bc	12,98 (0,71)a

Grupos com letras distintas apresentam diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

1.6. Discussão

O ambiente oral é constantemente sujeito a ciclos de desmineralização e remineralização baseados em mudanças de pH.³¹ O método *in situ* fornece uma medição apurada da perda de tecido mineral no meio bucal com a presença de saliva, com o desenvolvimento de película adquirida e a rotina de cuidados orais.³² Neste estudo, os espécimes foram submetidos ao desafio cariogênico intraoral para avaliação do potencial anticariogênico de sistemas adesivos e cimentos de ionômero de vidro. A variação nos valores de dureza encontrados quando comparados os grupos experimentais com o controle negativo demonstram uma possível desmineralização devido ao modelo de desafio cariogênico utilizado no presente estudo.

A hipótese formulada para este estudo foi rejeitada, uma vez que houve diferenças na dureza e na concentração de cálcio e fósforo na dentina e no esmalte subjacentes aos materiais avaliados utilizando as diferentes técnicas restauradoras.

Para detectar alterações de consistência na superfície, a avaliação da microdureza Knoop do esmalte e da dentina é um dos métodos de escolha.³³ Estudos tem reportado a realização do ensaio de microdureza na zona de inibição de cárie adjacente a restaurações com materiais fluoretados.^{17-18,27,34-40} Já a espectroscopia por energia dispersiva (EDS) é um método de análise semi-quantitativa que permite a detecção de mudanças na superfície e sub-superfície por meio de monitoramento de variações químicas.²⁵ Os resultados da porcentagem em peso de Cálcio e Fósforo obtidos demonstraram valores semelhantes, independente da localização da detecção, tanto no esmalte

quanto na dentina. O estudo prévio *in situ* com análise do conteúdo de Cálcio e Fósforo por EDS encontrou uma maior porcentagem de cálcio no esmalte adjacente ao cimento de ionômero de vidro convencional, mas este material não evitou a formação de cárie secundária após desafio cariogênico.²⁵ No presente estudo, a concentração de cálcio na dentina foi maior para a técnica restauradora onde o cimento de ionômero de vidro convencional foi utilizado como forramento.

A presença do flúor no tecido dentário não foi detectado por EDS, por se um elemento químico que pode ser mensurado mais precisamente utilizando a espectroscopia por dispersão de comprimento de onda (WDS) e não por meio de EDS, uma vez que o flúor é um elemento químico muito leve para ser detectado por este equipamento.²⁵

Os testes de microdureza Knoop em dentina foram realizados em 2 distâncias a partir da interface adesiva dentina-restauração (25 e 75 μm) e em 3 profundidades a partir da superfície externa (25, 50 e 100 μm). Os menores valores de microdureza Knoop da dentina encontrados foram com o uso da técnica adesiva, quando comparada aos obtidos utilizando o cimento de ionômero de vidro convencional como forramento. Estes resultados podem ser explicados pelo fato do adesivo ser aplicado em uma fina e única camada e a quantidade exposta ser extremamente restrita¹⁶ e também pela baixa quantidade de flúor presente nesses materiais. Já os cimentos de ionômero de vidro foram utilizados como forramento em uma fina camada, permanecendo expostos ao meio externo nas margens em dentina.¹⁸ Esta técnica, denominada sanduíche aberto, está indicada para situações clínicas em que as margens cervicais do preparo cavitário se encontram em dentina ou cimento devido à capacidade de selamento marginal do cimento de ionômero de vidro.⁴¹

Os cimentos ionoméricos são materiais que sofrem uma reação ácido-base em que uma variedade de constituintes iônicos é liberada a partir do vidro, incluindo flúor.⁴² Uma das melhores características dos cimentos de ionômero de vidro é a sua capacidade de união química tanto em esmalte quanto em dentina, por meio de um mecanismo de trocas iônicas. Em cimentos de ionômero de vidro usados como materiais forradores, os íons flúor liberados penetram e se difundem facilmente nas paredes cavitárias, constituindo uma excelente estratégia para remineralizar a dentina desmineralizada.⁴³ De acordo

com Tam *et al.*,¹¹ a absorção de flúor a partir de materiais fluoretados é maior na dentina e cimento do que em esmalte, mas é influenciada pela interface dente restauração. A formação de fendas entre o material restaurador e as paredes cavitárias levam ao transporte de flúor através da mesma, elevando a concentração de flúor e criando um maior potencial de difusão no local.⁴² Parte destes íons é adsorvido nos cristais de apatita e se tornam firmemente aderidos a estes. Um estudo prévio demonstrou que a interface entre o ionômero de vidro e a dentina é composta por carbonatoapatita fluoretada e que a presença deste mineral menos solúvel na interface dente restauração pode promover resistência à cárie.⁴⁴

O efeito da liberação de flúor de sistemas adesivos tem sido investigado por diversos estudos.^{16-18,28,31,42,45,47} Sistemas adesivos convencionais são mais recomendados, pois promovem maior liberação de flúor e inibem mais efetivamente a cárie secundária, quando comparados aos sistemas autocondicionantes.¹⁶ O sistema adesivo OptiBond FL utilizado no presente estudo (grupo A1) apresenta o vidro de fluorsilicato de sódio como partícula inorgânica. A técnica restauradora utilizando esse sistema adesivo proporcionou dureza na dentina semelhante a encontrada com a técnica utilizando cimento de ionômero de vidro modificado por resina, na distância de 25 µm e em todas as profundidades avaliadas.

Este estudo foi delineado para explorar o efeito de diferentes técnicas restauradoras próximo à interface dente restauração em condições *in situ*. Na microdureza Knoop, foi observada uma redução da desmineralização do esmalte ao redor das restaurações onde os cimentos de ionômero de vidro foram utilizados na técnica de sanduíche aberto, corroborando com outros estudos.^{22,27,47-49} Em um estudo *in situ*,²² a microdureza do esmalte subjacente a cimentos ionoméricos e resina composta foi avaliada após desafio cariogênico e colonização bacteriana durante somente 45 minutos, e mesmo assim, foram observadas diferenças entre os materiais. Outro estudo *in situ*⁴⁷ avaliou a perda mineral e a microdureza do esmalte utilizando cimento ionomérico modificado associado ou não a diferentes sistemas adesivos com e sem flúor. Os autores concluíram que nenhuma das associações foi capaz de evitar a desmineralização.⁴⁷ Os resultados do presente estudo concordam com os de Hara *et al.*,²³ os quais demonstraram uma redução da desmineralização

ao redor das restaurações realizadas com o cimento de ionômero de vidro convencional na dentina.

De acordo com Barbosa *et al.*,⁴⁸ em seu estudo *in situ*, o acúmulo de biofilme e a presença do desafio cariogênico promoveram uma rápida degradação do cimento de ionômero de vidro e não nos materiais resinosos. Entretanto, no presente estudo foi observada uma grande quantidade de biofilme sobre os espécimes no dispositivo palatal, o que contudo não impediu o efeito anticariogênico dos cimentos de ionômero de vidro na técnica restauradora de sanduíche aberto.

O processo de desmineralização não depende somente da composição do esmalte e da dentina, mas também da placa bacteriana que circunda os dentes. Esta situação explica tanto os diferentes valores de pH críticos para esmalte (5,5) e dentina (6,3), e também as variações na atividade de cárie uma vez que a concentração de cálcio, fósforo e flúor na saliva e na placa pode variar de paciente para paciente.⁵⁰

No presente estudo, a avaliação de perda mineral sob desafio cariogênico *in situ* não foi adequadamente observada por meio de EDS. A microdureza Knoop se mostrou um método mais eficaz para avaliar a remineralização de estruturas dentárias quando em contato com materiais fluoretados. O cimento de ionômero de vidro convencional apresentou capacidade de aumentar a dureza do esmalte e da dentina, mesmo sob desafio cariogênico, em profundidade de até 100 µm.

1.7. Conclusão

Dentro das limitações deste estudo, foi possível concluir que:

- após o desafio cariogênico *in situ*, a técnica de sanduíche aberto com cimentos de ionômero de vidro convencional e modificado por resina promoveram aumento da dureza do esmalte. Porém, somente o cimento ionomérico convencional foi capaz de promover maior dureza na dentina;
- na técnica adesiva utilizando sistema adesivo com flúor, a microdureza foi semelhante a obtida com o cimento de ionômero de vidro modificado

na técnica de sanduíche aberto, a uma distância de 25 μm e em todas as profundidades avaliadas;

- a concentração de cálcio na dentina foi maior para a técnica restauradora onde o cimento de ionômero de vidro convencional foi utilizado como forramento.

1.8. Referências Bibliográficas

1. Pereira PNR, Inokoshi S, Tagami J. In vitro secondary caries inhibition around fluoride releasing materials. *Journal of dentistry* 1998; **26**: 505-10.
2. Qvist V, Qvist J, Mjör IA. Placement and longevity of tooth-colored restorations in Denmark. *Acta Odontologica Scandinavica* 1990; **48**: 305-11.
3. Mjör IA, Toffenetti F. Secondary caries: a literature review with case reports. *Quintessence International* 2000; **31**: 165-79.
4. Mjör IA, Toffenetti F. The location of clinically diagnosed secondary caries. *Quintessence International* 1998; **29**: 313-17.
5. Attar N, Onen A. Fluoride release and uptake characteristics of aesthetic restorative materials. *Journal of Oral Rehabilitation* 2002; **29**: 791-98.
6. Burgess JO. Dental materials for the restorative of root surface caries. *American Journal of dentistry* 1995; **5**: 342-51.
7. Featherstone JDB: Fluoride, remineralization and root caries. *American Journal of dentistry* 1994; **7**:271-74.
8. Davies C: What is the critical pH and why does a tooth dissolve in acid? *Journal Canadian Dental Association* 2003; **69**: 722-4.
9. Davies C. Fluorides: Mechanisms of action and recommendations for use. *Journal Canadian Dental Association*. 1989; **55**: 721-3.
10. Hsu CYS, Donly KJ, Drake DR, Wefel JS. Effects of aged fluoride-containing restorative materials on recurrent root caries. *Journal of dental Research* 1998; **77**: 418-25.
11. Tam LE, Chan GP-L, Yim D. In vitro caries inhibition effects by conventional and resin-modified glass ionomer restorations. *Operative dentistry* 1997; **22**: 4-14.
12. Burke FM, Ray NJ, Mc Connell RJ: Fluoride-containing restorative materials. *International dental Journal* 2006; **56**: 33-43.

13. Hahn P, Schaller HG, Gerhardt C, Hellwig E. Influence of tooth dentin bonding systems on the demineralization of the root surface. *Operative dentistry* 1999; **24**: 344-50.
14. Attar N, Turgut MD. Fluoride release and uptake capacities of fluoride-releasing restorative materials. *Operative dentistry* 2003; **28**: 395-402.
15. Cildir SK, Sandalli N. Fluoride release uptake of glass ionomer cements and polyacid-modified composite resins. *Dental Materials Journal* 2005; **24**: 92-7.
16. Itota T, Nakabo S, Imai Y, Konishi N, Nagamine M, Torii Y. Inhibition of artificial secondary caries by fluoride-releasing adhesives on root dentin. *Journal of Oral Rehabilitation* 2002; **29**: 523-27.
17. Hara AT, Queiroz CS, Freitas PM, Giannini M, Serra MC, Cury JA. Fluoride release and secondary caries inhibition by adhesive systems on root dentin. *European Journal of Oral Science* 2005; **113**: 245-50.
18. Kirsten GA, Takahashi MK, Rached RN, Giannini M, Souza EM. Microhardness of dentin underneath fluoride-releasing adhesive systems subjected to cariogenic challenge and fluoride therapy. *Journal of dentistry* 2010; **38**: 460-8.
19. Ferracane JL, Mitchem JC, Adey JD. Fluoride penetration into the hybrid layer from a dentin adhesive. *American Journal of dentistry* 1998; **11**: 23-8.
20. Zero DT. In situ caries model. *Advances in Dental Research*. 1995; **9**: 214-30.
21. Casals E, Boukpepsi T, McQueen CM, Eversole SL, Faller RV. Anticaries potential of commercial dentifrices as determined by fluoridation and remineralization efficiency. *Journal of Contemporary Dental Practice* 2007; **8**: 1-10.
22. Tenuta LM, Ribeiro CC, Gonçalves NC, Del Bel Cury AA, Aires CP, Tengan C, Tagliaferro EP, Pecharki GD, Napimoga MH, Tabchoury CP, Cury JA. The short-term in situ model to evaluate the anticariogenic potential of ionomeric materials. *Journal of dentistry* 2005; **33**: 491-7.
23. Hara AT, Turssi CP, Ando M, González-Cabezas C, Zero DT, Rodrigues AL Jr, Serra MC, Cury JA. Influence of fluoride-releasing restorative

- material on root dentine secondary caries in situ. *aries Research* 2006; **40**: 435-9.
24. Cenci MS, Tenuta LM, Pereira-Cenci T, Del Bel Cury AA, ten Cate JM, Cury JA. Effect of microleakage and fluoride on enamel-dentine demineralization around restorations. *aries Research* 2008; **42**: 369-79.
25. Paradella TC, Koga-Ito CY, Jorge AO. Ability of different restorative materials to prevent in situ secondary caries: analysis by polarized light-microscopy and energy-dispersive X-ray. *uropean Journal of Oral ciences* 2008; **116**: 375-80.
26. Lima FG, Romano AR, Correa MB, Demarco FF. Influence of microleakage, surface roughness and biofilm control on secondary caries formation around composite resin restorations: an in situ evaluation. *Journal of Applied Oral ciencia* 2009; **17**: 61-5.
27. Sousa RP, Zanin IC, Lima JP, Vasconcelos SM, Melo MA, Beltrão HC, Rodrigues LK. In situ effects of restorative materials on dental biofilm and enamel demineralization. *Journal of entistry* 2009; **37**: 44-51.
28. Peris AR, Mitsui FH, LOBO MM, Bedran-Russo AK, Marchi GM. Adhesive systems and secondary caries formation: Assessment of dentin bond strength, caries lesions depth and fluoride release. *ental Materials* 2007; **23**: 308-16.
29. Stephen KW, Damato FA, Strang R. An in situ enamel section model for assessment of enamel re demineralization potential. *Journal of ental Research* 1992; **71**: 856-9.
30. Jardim JJ, Pagot MA, Maltz M. Artificial enamel dental caries treated with different topical fluoride regimes: an in situ study. *Journal of entistry* 2008; **36**: 396-401.
31. Carvalho AS and Cury JA. Fluoride released from some materials in different solutions. *Operati e entistry* 1999; **24**: 14-9.
32. West NX, Davies M, Amaechi. In vitro and in situ erosion models for evaluating tooth substance loss. *aries Research* 2011; **45**: 43-52.
33. Featherstone JDB. Modeling the caries- inhibitory effects of dental materials. *ental Materials* 1996; **12**: 194-7.

34. Pereira (b) PNR, Inokoshi S, Yamada T, Tagami J. Microhardness of in vitro caries inhibition zone adjacent to conventional and resin-modified glass ionomer cements. *ental Materials* 1998; **14**: 179-85.
35. Hotta M, Li Y, Sekine I. Mineralization in bovine dentin adjacent to glass ionomer restorations. *Journal of entistry* 2001; **29**: 211-15.
36. Hara AT, Magalhães CS, Serra MC, Rodrigues Jr. AL. Cariostatic effect of fluoride-containing restorative systems associated with dentifrices on root dentin. *Journal of entistry* 2002; **30**: 205-12.
37. Hara AT, Turssi CP, Serra MC, Nogueira MCS. Extent of the cariostatic effect on root dentin provided by fluoride-containing restorative materials. *Operati e entistry* 2002; **27**: 480-87.
38. Vieira A, Hancock R, Dumitriu M, Sch artz M, Limeback H, Grynypas M. How does fluoride affect dentin microhardness and mineralization?. *Journal of ental Research* 2005; **84**: 951-7.
39. Silva KG, Pedrini D, Delbem ACB, Cannon M. Effect of pH variations in a cycling model in the properties of restorative materials. *Operati e entistry* 2007; **32**: 328-35.
40. Chu CH, Lo EC. Microhardness of dentine primary teeth after topical fluoride applications. *Journal of entistry* 2008; **36**: 387-91.
41. McLean JW. Clinical applications of glass ionomer cements. *Operati e entistry* 1992; **5**: 184-90.
42. Wiegand A, Buchalla W, Attin T. Review on fluoride-releasing restorative materials: Fluoride release and uptake characteristics, antibacterial activity and influence on caries formation. *ental Materials* 2007; **23**: 343-62.
43. Itota T, Nakabo S, Torii Y, Narukami T, Doi J, Yoshiyama M. Effect of fluoride-releasing liner on demineralized dentin. *Quintessence International* 2006; **37**: 297-303.
44. Geiger SB e Weiner S. Fluoridated carbonatoapatite in the intermediate layer between glass ionomer and dentin. *ental Materials* 1993; **9**: 33-6.
45. Itota T, Nakabo S, Narukami T, Tashiro Y, Torii Y, McCabe JF, Yoshiyama M. Effect of two-step adhesive systems on inhibition of secondary caries around fluoride-releasing resin composite restorations in root dentine. *Journal of entistry*. 2005; **33**: 147-54.

46. Okuyama K, Murata Y, Pereira PN, Miguez PA, Komatsu H, Sano H. Prevention of Artificial Caries: effect of bonding agent, resin composite and topical fluoride application. *Operative dentistry* 2006; **31**: 135-42.
47. Wang L, Honorio HM, Rios D, Delbem ACB, Palma-Dibb, Buzalaf MAR, Atta MT. Short-term in situ ex vivo study of the anticariogenic potential of a resin-modified glass-ionomer cement associated with adhesive system. *Quintessence International* 2010; **41**: 192-99.
48. Barbosa RPS, Pereira-Cenci T, Silva WM, Coelho-de-Souza FH, Demarco FF, Cenci MS. Effect of cariogenic biofilm challenge on the surface hardness of direct restorative materials in situ. *Journal of dentistry* 2012; **40**: 359-63.
49. Honorio HM, Rios D, Santos CF, Magalhães AC, Buzalaf MAR, Machado MAAM. Effects of erosive, cariogenic or combined erosive cariogenic challenges on human enamel. *Caries Research* 2008; **42**: 454-59.
50. Lussi A, Hellwig E, Klimek J. Fluorides – Mode of action and recommendations for use. *Schweiz Monatsschr Zahnmed.* 2012; **122**:1030-42.

2. Normas da Revista

JOURNAL OF DENTISTRY

- **Editor-in-Chief**

Christopher D. Lynch
School of Dentistry
Cardiff University
Heath Park, Cardiff,
CF14 4NQ, UK
Email: lynchcd@cardiff.ac.uk

Editorial Office

Elsevier Ltd
Stover Court
Bampfylde Street
Exeter
EX1 2AH, UK
Tel: +44 (0) 1392 285879
Fax: +44 (0) 1865 853132
E-mail: JOD@elsevier.com

The *Journal of dentistry* is the leading international dental journal within the field of Restorative Dentistry. Placing an emphasis on publishing novel and high-quality research papers, the Journal aims to influence the practice of dentistry at clinician, research, industry and policy-maker level on an international basis. Topics covered include the management of dental disease, periodontology, endodontology, operative dentistry, fixed and removable prosthodontics, and dental biomaterials science, long-term clinical trials including epidemiology and oral health, dental education, technology transfer of new scientific instrumentation or procedures, as well as clinically relevant oral biology and translational research. Submissions are welcomed from other clinically relevant areas, however, the Journal places an emphasis on publishing high-quality and novel research.

Queries in relation to manuscript content should be directed to the Journal Editorial Office in the first instance.

Submissions

The requirements for submission are in accordance with the "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals," *Annals of Internal Medicine*, 1977, **126**, 36-47.

Authors are requested to submit their original manuscript and figures via the online submission and editorial system for *Journal of dentistry*. Using this online system, authors may submit manuscripts and track their progress through the system to publication. Reviewers can download manuscripts and submit their opinions to the editor. Editors can manage the whole submission review/publish process.

Please register at: <http://ees.elsevier.com/jiod>

Authors unable to submit online should contact the Editorial office: Matt Walmsley, Journal Manager, *Journal of dentistry*, Elsevier, Bampfylde Street, Exeter, UK, EX1 2AH. m.walmsley@elsevier.com TEL: +44 (0)1392 285879 Fax: +44 (0)1865 853132.

Contributions falling into the following categories will be considered for publication:

- Original Research Reports: maximum length 6 printed pages approximately 20 typescript pages, including illustrations and tables.
 - Review articles: maximum length 10 printed pages, approximately 33 typescript pages, including illustrations and tables.
 - Short communication for rapid publication: maximum length 2 printed pages, approximately 7 typescript pages, including illustrations.
 - Letters providing informed comment and constructive criticism of material previously published in the Journal.
-

All typescripts must be accompanied by a Permission Note. This is a letter signed by each author (not just the corresponding author), affirming that the paper has been submitted solely to *Journal of dentistry* and

that it is not concurrently under consideration for publication in another journal. Prospective authors should confirm that the submitted work, including images, are original. Authors are reminded that if included images (e.g. Tables and Figures) have been previously published may require copyright permission.

Authorship: Only those persons who have made a significant contribution to the manuscript submitted should be listed as authors. The Editor-in-Chief expects that a manuscript should normally have no more than 6 authors, unless a case is made by the corresponding author within the article cover letter to include other authors. All of the named authors should have been involved in the work leading to the publication of the paper and should have read the paper before it is submitted for publication.

Notes for Typescript Preparation

The **title page** should contain the following information:

- Title of paper
- Short title
- Name(s), job titles and address(es) of author(s) (no academic degrees necessary)
- Name, address, telephone, fax and e-mail of the corresponding author
- Up to 6 keywords

Spelling: International English.

Authors are urged to write as concisely as possible.

The house style of *Journal of Endistry* requires that articles should be arranged in the following order:

Title, Abstract, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Conclusions,

Acknowledgements, References, Tables, Figures. A **cover letter** should accompany the new manuscript submission, within which the authors should indicate the significance of the work being submitted in a statement no more than 100 words. A signed **permission note** (details below) must also be included.

Abstract: should not exceed 250 words and should be presented under the following subheadings: Objectives, Methods; Results; Conclusions (For Reviews: Objectives; Data; Sources; Study selection; Conclusions). A 50 word 'Clinical Significance' statement should appear at the end of the abstract advising readers of the clinical importance and relevance of their work. These subheadings should appear in the text of the abstract. Please repeat the title of the article at the top of the abstract page.

Introduction: must be presented in a structured format, covering the following subjects, although not under subheadings: succinct statements of the issue in question, and the essence of existing knowledge and understanding pertinent to the issue. In keeping with the house style of *Journal of Endistry*, the final paragraph of the introduction should clearly state the aims and or objective of the work being reported. Prospective authors may find the following form of words to be helpful: "The aim of this paper is to ..." Where appropriate, a hypothesis (e.g. null or a priori) should then be stated.

Keywords: up to 6 keywords should be supplied.

Abbreviations and acronyms: terms and names to be referred to in the form of abbreviations or acronyms must be given in full when first mentioned.

Units: SI units should be used throughout. If non-SI units must be quoted, the SI equivalent must immediately follow in parentheses.

The complete names of individual teeth must be given in the text. In tables and legends for illustrations individual teeth should be identified using the FDI two-digit system.

Statistics

Statistical methods should be described with enough detail to enable a knowledgeable reader with access to the original data to verify the reported results. When possible, findings should be quantified and appropriate measures of error or uncertainty (such as confidence intervals) given. Details about eligibility criteria for subjects, randomization and the number of observations should be included. The computer software and the statistical method(s) used should be specified with references to standard works when possible (with pages specified). See http://www.icmje.org/manuscript_1prepare.html for more detailed guidelines.

References: These should appear in the text in numerical order and should follow a modified form of the Vancouver Reference system (details may be found at <http://www.icmje.org/index.html#reference>). Please note that the house style of the *Journal of Endistry* is different from the standard Vancouver reference style in that it includes a requirement:

- to refer to the name of the Journal in full
- to put the name of the Journal in Italics
- to put the volume number in bold

Examples as follows:

Journal articles

Lynch CD, Frazier KB, McConnell RJ, Blum IR, Wilson NHF. State-of-the-art techniques in Operative Dentistry: contemporary teaching of posterior composites in UK and Irish dental schools. *British Dental Journal* 2010; **209**: 129 - 36.

Wilson NHF, Mjör I. The teaching of class I and class II direct composite restorations in European dental schools. *Journal of Dentistry* 2000; **28**: 15-21.

Please note that in-press accepted articles that are awaiting assignment of page numbers should be cited including their DOI number (Digital Object Identifier), for example:

Books

Lynch CD. Successful posterior composites. London: Quintessence Publishing Co., 2008.

Book chapters

Phillips SJ, Whisnant JP. The role of dentine under restorations. In: Laragh JH, Brenner BM, editors. The science of restorative dentistry. 2nd ed. Oxford: Elsevier; 2003. p.266-78.

If there are seven or more authors please list the first six and et al., otherwise list all authors. Journal titles should be given in full. If websites are used as references, the full URL should be cited, along with the date on which it was accessed.

Illustrations: should be submitted electronically using appropriate commercial software. Prospective authors should follow the relevant guidelines (available from: <http://www.elsevier.com/art/orkinstructions>). In addition, it is noted that while authors sometimes need to manipulate images for clarity, manipulation for purposes of deception or fraud will be seen as scientific ethical abuse and will be dealt with accordingly. For graphical images, journals published by Elsevier apply the following policy: no specific feature within an image may be enhanced, obscured, moved, removed, or introduced. Adjustments of brightness, contrast, or color balance are acceptable if and as long as they do not obscure or eliminate any information present in the original. Nonlinear adjustments (e.g. changes to gamma settings) must be disclosed in the figure legend.

Offprints and page charges: no page charges are levied on articles published in *Journal of Dentistry*.

The corresponding author, at no cost, will be provided with a PDF file of the article via e-mail. The PDF file is a watermarked version of the published article and includes a cover sheet with the journal cover image and a disclaimer outlining the terms and conditions of use.

The Editor and Publisher reserve the right to make such corrections to typescripts as may be necessary for clarity of expression, or to conform to the style required.

Randomised controlled trials: All randomised controlled trials submitted for publication in *Journal of Dentistry* should include a completed Consolidated Standards of Reporting Trials (CONSORT) flow chart. Submitted manuscripts that do not include this flow chart, where appropriate, will be rejected without entering the review process. Please refer to the CONSORT statement website at <http://www.consort-statement.org> for more information. *Journal of Dentistry* has adopted the proposal from the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) which require, as a condition of consideration for publication of clinical trials, registration in a public trials registry. Trials must register at or before the onset of patient enrolment. The clinical trial registration number should be included at the end of the abstract of the article. For this purpose, a clinical trial is defined as any research study that prospectively assigns human participants or groups of humans to one or more health-related interventions to evaluate the effects of health outcomes. Health-related interventions include any intervention used to modify a biomedical or health-related outcome (for example drugs, surgical procedures, devices, behavioural treatments, dietary interventions, and process-of-care changes). Health outcomes include any biomedical or health-related measures obtained in patients or participants, including pharmacokinetic measures and adverse events. Purely observational studies (those in which the assignment of the medical intervention is not at the discretion of the investigator) will not require registration. Further information can be found at <http://www.icmje.org>

Disclosure of Clinical Trial Results: In line with the position of the International Committee of Medical Journal Editors, the journal will not consider results posted in the same clinical trials registry in which primary registration resides to be prior publication if the results posted are presented in the form of a brief structured (less than 500 words) abstract or table. However, divulging results in other circumstances (eg, investors' meetings) is discouraged and may jeopardise consideration of the manuscript. Authors should fully disclose all posting in registries of results of the same or closely related work.

Patient consent: Studies on patients or volunteers require ethics committee approval and informed consent which should be documented in your paper. Patients have a right to privacy. Therefore identifying information, including patients images, names, initials, or hospital numbers, should not be included in videos, recordings, written descriptions, photographs, and pedigrees unless the information is essential for

scientific purposes and you have obtained written informed consent for publication in print and electronic form from the patient (or parent, guardian or next of kin where applicable). If such consent is made subject to any conditions, Elsevier must be made aware of all such conditions. Written consents must be provided to Elsevier on request. Even where consent has been given, identifying details should be omitted if they are not essential. If identifying characteristics are altered to protect anonymity, such as in genetic pedigrees, authors should provide assurance that alterations do not distort scientific meaning and editors should so note. If such consent has not been obtained, personal details of patients included in any part of the paper and in any supplementary materials (including all illustrations and videos) must be removed before submission.

Proofs: Proofs will be sent to the author (first-named author if no corresponding author is identified on multi-authored papers) by PDF wherever possible and should be returned within 48 hours of receipt, preferably by e-mail. Corrections should be restricted to typesetting errors; any other amendments made may be charged to the author. Any queries should be answered in full. Elsevier will do everything possible to get your article corrected and published as quickly and accurately as possible. Therefore, it is important to ensure that all of your corrections are returned to us in one all-inclusive e-mail or fax. Subsequent additional corrections will not be possible, so please ensure that your first communication is complete. Should you choose to mail your corrections, please return them to: Log-in Department, Elsevier, Stover Court, Bampfylde Street, Exeter, Devon EX1 2AH, UK.

Funding body agreements and policies

Elsevier has established agreements and developed policies to allow authors whose articles appear in journals published by Elsevier, to comply with potential manuscript archiving requirements as specified as conditions of their grant awards. To learn more about existing agreements and policies please visit <http://www.elsevier.com/fundingbodies>

3. Artigo em inglês

3.1. Title Page

Title:

Effect of open-sandwich adhesive restorative techniques on enamel and dentin demineralization: An in situ study.

Short title:

In situ study on the enamel and dentin demineralization

Authors:

Giovanna A Kirsten, DDS, MSD, PhD candidate

Graduate Program in Dentistry, School of Health and Biosciences, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, PR, Brazil

R. Cel. Temistocles de Souza Brasil, 208

82520-210

Curitiba-PR

Brazil

Tel: +55 41 3018-1408

E-mail: giovanna.kirsten@gmail.com

Rodrigo N Rached, DDS, MSD, PhD

Graduate Program in Dentistry, School of Health and Biosciences, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, PR, Brazil.

Rui F Mazur, DDS, MSD, PhD

Graduate Program in Dentistry, School of Health and Biosciences, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, PR, Brazil.

Sergio Vieira, DDS, MSD, PhD

Graduate Program in Dentistry, School of Health and Biosciences, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, PR, Brazil.

Evelise M Souza, DDS, MSD, PhD (corresponding author)

Graduate Program in Dentistry, School of Health and Biosciences, Pontifícia
Universidade Católica do Paraná, Curitiba, PR, Brazil.

Imaculada Conceição, 1155 - Prado Velho

80215-901

Curitiba – PR

Brazil

Tel: +55 41 3271-2511

Fax: +55 41 3271-1504

E-mail: evelise.souza@pucpr.br

Keywords: *In situ* study, glass ionomer cement, adhesive system, cariogenic challenge, Knoop microhardness, energy dispersive spectroscopy.

3.2. Abstract

Objective: To assess *in situ* the effect of different restorative techniques used with fluoride-releasing materials on enamel and dentin demineralization in the presence of a cariogenic challenge. Methods: Thirty human molars were prepared for class V cavities on both the buccal and lingual faces, with occlusal margins in enamel and cervical margins in dentin. The teeth were sectioned into two blocks and divided randomly into four groups (n=15). The following techniques were used in each group: the open-sandwich technique in the L1 (Ketac Molar) and L2 (Vitrebond) groups and conventional bonding in the A1 (Optibond Solo Plus) and A2 (Adper Single Bond 2) groups. All the cavities were restored with a nanofilled composite. Fifteen volunteers used a palatal appliance containing a specimen from each group for seven days. The cariogenic challenge was produced with a 20% sucrose solution applied eight times a day. After the *in situ* phase, the blocks were sectioned down the middle for the Knoop microhardness test and quantitative energy dispersive spectroscopy analysis of calcium and phosphorus at different depths below the external surface (25, 50 and 100 μm) and distances from the tooth-restoration interface (25 and 75 μm). The data were analyzed by two-way ANOVA and the Games-Howell test ($\alpha=5\%$). Results: Both glass ionomer cements resulted in higher hardness values in enamel and dentin at all depth-and-distance combinations except 25 x 25 μm , where L1 produced a higher hardness value ($p<0.05$). L2 and A1 produced similar hardness values in dentin at a distance of 25 μm for all depths ($p \geq 0.05$). Calcium and phosphorus content in both the enamel and dentin were similar for all the materials evaluated. Conclusion: The open-sandwich technique using conventional glass ionomer proved more effective in reducing enamel and dentin demineralization at depths of up to 100 μm in the presence of a cariogenic challenge.

3.3. Introduction

Restorations with cervical margins in dentin and cementum are more susceptible to marginal staining, postoperative sensitivity and secondary caries.¹ Studies have shown that secondary caries are the most important etiologic factor in the failure of restorations and the most common reason for replacement.²⁻⁵ According to Burgess,⁶ secondary caries are frequently found in the cervical margins of restorations for many reasons, including difficulty gaining access to the cervical margin, difficulty in rubber dam isolation and problems associated with removing carious tissue and inserting the restorative material. These factors inevitably lead to gaps at the interface, which are associated with a greater susceptibility of secondary caries developing because of an influx of fluids and cariogenic microorganisms into this region.³ Secondary caries can develop more frequently in root dentin as mineral loss can happen twice as fast in the dentin as in the enamel.⁷

During cariogenic acid attack, the microorganisms from plaque form organic acids, which induces an increase in the H^+ concentration. These ions protonate phosphate ions (PO_4^{3-}) in the plaque fluid to $H_2PO_4^-$.⁸ The PO_4^{3-} and OH^- ions dissolve out of the tooth under low pH in order to maintain the equilibrium at the vicinity of the dental surface. This process finally leads to the release of calcium from tooth substance dissolving it.⁸

The carious process can be influenced by the antimicrobial effect of fluoride.⁹ Indeed, fluoride has been incorporated in some restorative materials to prevent secondary caries in cavity margins.¹ However, the ability of restorative materials to release fluoride and of the adjacent dental structure to incorporate it are important factors that can affect the cariostatic effect of these materials.¹⁰⁻¹¹ Although fluoride can be added to the formulation of the material specifically to be released, or the release can occur as part of the curing reaction,¹² the anticariogenic potential produced by the fluoride incorporation might be not sufficient to completely prevent secondary caries.¹³ The concentration of fluoride and the period of time for which it is released depend on the materials, with a greater amount normally only being released during the first 24 hours.^{5,10,14-15}

Itota et al.¹⁶ report that bonding systems that release fluoride are effective at preventing lesions in cavity walls but are not able to reduce the depth of the lesion. The authors¹⁶ pointed out that secondary caries can only be prevented by a combination of a fluoride-releasing bonding system and restorative material that also releases fluoride. Furthermore, according to Hara et al.,¹⁷ although fluoride released by bonding systems is able to avoid lesions in the cavity wall, it does not prevent secondary caries. Hence, the question whether the fluoride found in restorative materials and bonding systems is able to reduce the incidence of caries continues to be the subject of debate.

Restorative materials that contain fluoride include glass ionomer cements, resin-modified glass ionomer cements, compomers, composite resins and pit and fissure sealants.¹² Some bonding systems include fluoride in their composition, which can lead to anticariogenic activity as a result of the increased resistance of dentin to acid attacks in the mouth.¹⁸ Fluoride ions from bonding systems are released toward the walls of the cavity they are in contact with, as they penetrate and spread through the hybrid layer toward the dentin.¹⁹

In situ models have gained increasing recognition as tools for fundamental applied studies of dental caries.²⁰ In *in situ* models, the cariogenic challenge produces demineralization on the tooth surface in both the enamel and dentin, reproducing the dynamics of caries development and allowing the effect of different treatments on the prevention or inhibition of carious lesions to be analyzed in a controlled manner.²¹ *In situ* studies involve the use of devices that can create specific conditions in the oral cavity and act as a middle ground between the natural clinical situation and the highly controlled laboratory environment.²⁰ Models of this kind have been used in studies into the mechanism of action of fluoride in restorative materials,²²⁻²⁸ dentifrices²⁹ and topically applied fluoride.³⁰

Although the cariostatic potential of ionomer cements has been well documented in the literature, there is a need to evaluate the effectiveness of its use as a lining material associated to an adhesive restorative technique compared to the use of other fluoride-releasing materials. Recently, the incorporation of fluoride into bonding systems have demonstrated inconclusive outcomes regarding its cariogenic effect when tested *in vitro*, and even less when under an *in situ* cariogenic challenge.

In light of this, the aim of this study was to evaluate *in situ* the effect of different restorative techniques using fluoride-releasing materials on the demineralization of enamel and dentin in the presence of a cariogenic challenge by Knoop microhardness and energy dispersive spectroscopy (EDS)-based chemical analysis. The hypothesis to be investigated was that there would be no difference between the different restorative techniques in terms of microhardness and calcium and phosphorus concentrations in enamel and dentin underneath the materials evaluated.

3.4. Materials and Methods

Preparation of the teeth

The study was approved by the Research Ethics Committee at the Pontifícia Universidade Católica do Paraná (CEP/PUCPR – n. 2131). Thirty healthy human third molars that had been extracted and stored in the PUCPR Tooth Bank were used. The teeth were cleaned manually immediately after extraction and stored in 0.05% chloramine-T solution at 4 °C for a maximum of 3 months.

Preparation of the tooth cavities

The teeth received a class V cavity preparation (Figure 1-A) 1.5 mm deep and 2 mm in diameter with a #2294 self-limiting diamond bur (KG Sorensen, São Paulo, SP, Brazil) in a high-speed drill (Kavo do Brasil, Joinville, SC, Brazil) with constant cooling. The preparations had occlusal margins in enamel and cervical margins in dentin. The teeth were stored in an incubator at 37°C and 100% relative humidity for 24 h.

The teeth were sectioned mesiodistally (Figure 1-B) to separate the buccal and lingual faces (Figure 1-C) with a diamond disc (Extec Corp., Enfield, CT) in a high-precision saw (Isomet 1000, Buehler, Lake Bluff, IL) at low speed with constant water cooling.

Sixty 5 X 5 mm blocks (Figure 1-D E) were produced and then ground to a thickness of 2 mm on a polishing machine (APL-4, Arotec S.A. Ind. and Com., Cotia, SP, Brazil) (Figure 1-E F) with #600, #800 and #1200 grit SiC paper. The

final dimensions of the specimens were checked with a digital caliper (CD-15CX, Mitutoyo Corp., Tokyo, Japan).

sterilization of the specimens

After the cavities had been prepared, the specimens were sterilized in an autoclave (Autoclave Vitale Plus 21, Cristófoli Biossegurança, Campo Mourão, PR, Brazil).

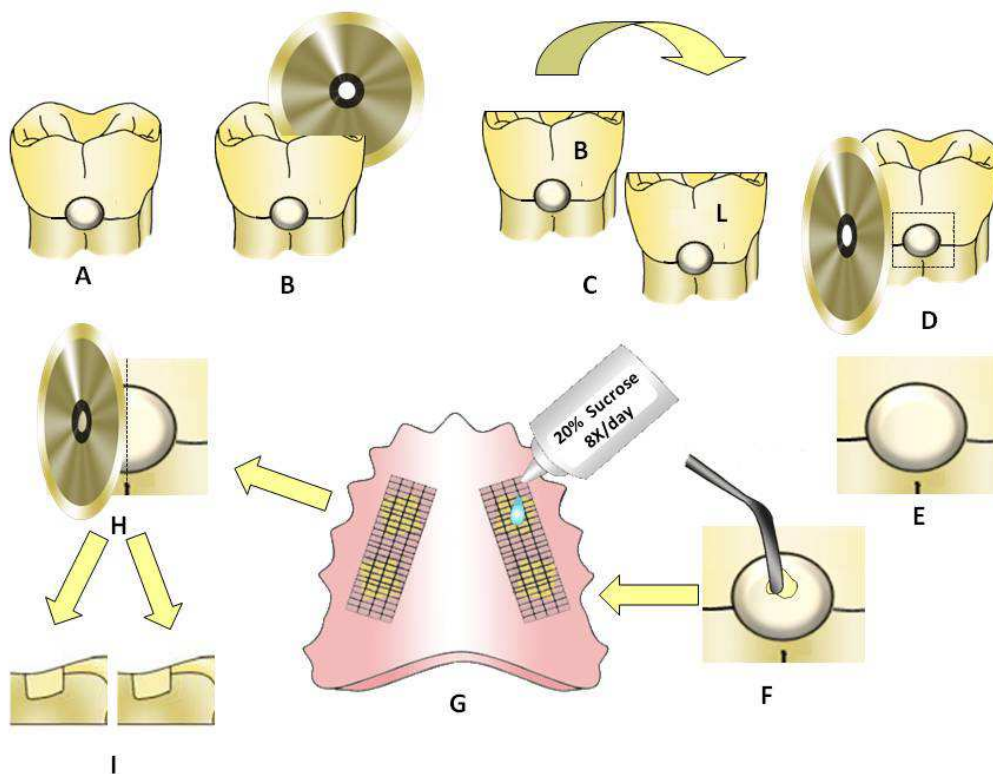


Figure 1: A - Class V cavity; B - Mesiodistal cut with a diamond disc; C - Tooth after the buccal and lingual faces were separated; D – Section used to produce the specimens; E – Specimen with cavity margin in enamel and dentin; F – Incremental restoration; G – Palatal appliance with 20% saccharose solution; H – Specimen sectioned into two parts; I – Separating the two blocks to expose the margins of the restorations.

experimental groups and restorations

The specimens were randomly divided into four experimental groups, and different restorative materials were assigned to each group.

In the L1 group (positive control), the open-sandwich technique was used. The axial and cervical walls in dentin were lined with Ketac Molar EasyMix conventional glass ionomer cement (3M ESPE, St. Paul, MN) to a thickness of approximately 1 mm (measured with a periodontal probe) up to the outer surface of the dentin (Figure 2-A). A setting time of 3 min and 30 s was allowed for the material while it was protected with gauze moistened in distilled water.

Table 1. Description of the materials used in the study

Group	Restorative Technique	Material	Classification	Composition
L1	open-sandwich	Ketac Molar EasyMix 3M ESPE	Conventional glass ionomer cement	Powder: Aluminium-calcium-lanthanum-fluorosilicate glass. Liquid: Water, copolymer of acrylic acid and maleic acid, tartaric acid and benzoic acid.
L2	open-sandwich	Vitrebond 3M ESPE	Resin-modified glass ionomer cement	Powder: Fluoroaluminosilicate glass Liquid: Copolymer of polyalkenoic acid, water, HEMA and photoinitiator
A1	Total-etch bonding	Optibond Solo FL Kerr Dental	3-step etch-and-rinse bonding system	Bis-GMA, HEMA, GPDM, Sodium fluorosilicate, photo-initiator, ethanol and water
A2	Total-etch bonding	Adper Single Bond 2 3M ESPE	2-step etch-and-rinse bonding system	BisGMA, HEMA, colloidal silica, water and ethanol

Bis-GMA=bisphenol-glycidyl-dimethacrylate; HEMA=hydroxyethylmethacrylate; GPDM=glycerol phosphate-dimethacrylate.

In group L2, Vitrebond resin-modified glass ionomer cement (3M ESPE Dental Products, St. Paul, MN) was used as a liner. The material was handled and placed in the cavities using the same method as in the KM group, i.e., the liner was 1 mm thick and extended to the external dentin surface (Figure 2-A). Immediately after placement, the material was cured with a 600 mW cm² halogen curing light (Optilux VLC 501, Demetron Research Corp, Danbury, CT) for 40 s.

After the material in groups L1 and L2 had set, the enamel was etched with 37% phosphoric acid (3M ESPE, St. Paul, MN) for 30 s, washed with an

air water spray for 20 s and dried with an indirect blast of air for 10 s. Scotchbond Multi Purpose Plus adhesive (3M ESPE, St. Paul, MN) was applied to the enamel and glass ionomer cement and cured for 20 s. The cavities were restored with a nanofilled composite (Filtek Z350 XT, 3M ESPE, St. Paul, MN) using two oblique increments cured for 20 s each with the same light curing unit.

In groups A1 and A2, the OptiBond Solo Plus (Kerr Dental, Orange, CA) and Adper Single Bond 2 (3M ESPE, St. Paul, MN) bonding systems, respectively, were used. Both bonding systems were used in accordance with the manufacturer's instructions, and the cavities were restored with a nanofilled composite (Filtek Z350 XT 3M ESPE, St. Paul, MN, USA) (Figure 1-F) using four oblique increments. The material was then light cured for 20 s with the same light curing unit used for groups KM and VB.

Finally, all the specimens were stored in a light-proof container in an incubator at 100% relative humidity and 37 °C for 24 h, after which they were polished with fine and superfine polishing discs (Sof-Lex, 3M ESPE, St. Paul, MN) and diamond paste with felt disks (Diamond Master, FGM Dental Products Ltd., Joinville, SC, Brazil) for 15 s each.

Clinical Phase

For the clinical phase, fifteen adult volunteers were selected to take part in the study. Inclusion criteria were: 1) having good general and oral health; 2) not having used antibiotics in the previous six months as these affect oral microbiota and, hence, the response to the model used here; 3) being a non-smoker; and 4) not having used any medicine that affects salivary flow. Exclusion criteria were: 1) presenting with some infectious process during the experiment; 2) not using the sucrose solution in accordance with the study recommendations; and 3) exhibiting poor oral hygiene while the appliance was being used. Volunteers signed a voluntary informed-consent form covering the main aspects of the study. All the recommendations and guidance regarding the procedures used during the experiment were printed and given to the volunteers.

Preparation of the palatal appliances

Impressions of the volunteers' upper arches were taken with alginate (Cavex Orthotrace, Cavex, Haarlem, Netherlands), and the models were made in dental stone (Vigodent S.A. Ind. Com., Rio de Janeiro, RJ, Brazil). The appliances were built in acrylic resin, and four 6 X 6 X 3 mm cavities (two on either side) were made in the molar region (Figure 1-G). The specimens restored with the total-etch bonding technique were attached with sticky wax to the one side of the appliance, while those restored with composite resin and lined with ionomer cements (open-sandwich technique) were attached to the other side. The surface of the specimens was covered with a polyester screen to allow a biofilm to build up and to protect the specimens from mechanical disturbances.

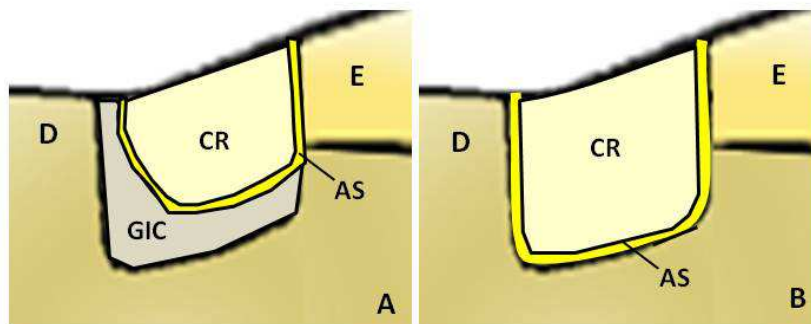


Figure 2: Schematic drawing illustrating the restorative techniques. A - Open-sandwich technique associating glass ionomer cement (GIC) lining both axial and cervical walls until the dentin margin and composite resin as the restorative material (CR); B - Total-etch bonding technique with adhesive system (AS) and composite resin (CR).

Intra-oral phase

The volunteers used the appliances containing the specimens for seven days (the intra-oral phase of the experiment). They carried out oral hygiene with fluoridated dentifrice (Sorriso, 1,500 mgF/g, Colgate-Palmolive, São Paulo, SP, Brazil) and toothbrushes with soft bristles (Procter & Gamble do Brasil, São Paulo, SP, Brazil) three times a day for five minutes after meals and at the same times as they would normally perform oral hygiene. The palatal appliances were not brushed but washed with running water to avoid disturbing

the biofilm. The volunteers were only allowed to remove the appliances during meals and to carry out oral hygiene.

For the cariogenic challenge, volunteers were instructed to remove the appliance from their mouth, remove any excess saliva with gauze and apply one drop of 20% sucrose solution over each specimen (Figure 1-G) eight times a day at predetermined times. They were told to wait five minutes before replacing the appliances in their mouths to allow the sucrose to spread over the biofilm on the teeth.²³

Specimens Preparation

The specimens were sectioned longitudinally along the middle of the restorations with a diamond disc (Extec Corp., Enfield, CT) in a high-precision saw (IsoMet 1000, Buehler, Lake Bluff, IL) at low speed with constant water cooling to produce two blocks with exposed restoration margins (Figure 1-H). One part was mounted in epoxy resin (Epoxyglass, Diadema, SP, Brazil) for Knoop microhardness testing, and the other was cut longitudinally to provide a 500 µm-thick wafer for EDS analysis (Figure 1-I). Both parts were polished in a polishing machine with #800 and #1200 grit SiC paper under water cooling.

Knoop microhardness testing of dentin and enamel

Knoop microhardness testing was performed at the adhesive interface of the restorations (n=15) with a microhardness tester (HMV-2T, Shimadzu Corp., Tokyo, Japan) and a 10 g static load applied for 15 s to the dentin and a 25 g load applied for 15 s to the enamel. The indentations were made at depths of 25, 50 and 100 µm from the external surface and at distances of 25 and 75 µm from the interface (Figure 3).

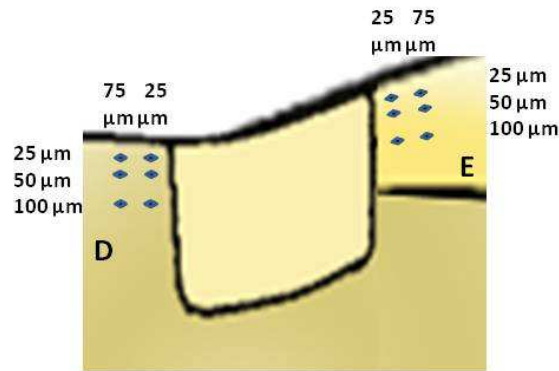


Figure 3: Schematic drawing showing the distances and depths at which the Knoop microhardness and EDS readings were taken.

Energy Dispersive Spectroscopy Analysis

Five specimens from each group were used for the EDS analysis. The specimens were stored in a desiccator with silica for ten days to dehydrate and then observed at 20.0 kV and 450X magnification in a scanning electron microscope (JSM 5600, JEOL Inc, Tokyo, Japan) with an energy dispersive x-ray spectroscope (EDS). The SEM EDS analysis quantified the levels of calcium, phosphorus and other elements in the dental tissues at the same locations as those used in the Knoop microhardness tests.

Statistical Analysis

The mean microhardness and mean percentage percentage of the chemical elements were tested for normality by the Kolmogorov-Smirnov Test and for homogeneity of variance by Levene Test. Two-way ANOVA was used using “treatment” and “location” as the two main variables. The Games-Howell Test for heterogeneous variances made the multiple comparisons among the groups. The amount of chemical elements was submitted to a one-way ANOVA with “treatment” as the main factor. Multiple comparisons were made also by the Games-Howell test. A 5% significance level was used for all the tests. The statistical software used for the analysis were Statistica 7.0 (StatSoft Inc., Tulsa, AZ) and SPSS 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL).

3.5. Results

3.5.1. Knoop microhardness

Tables 2 and 3 show the mean microhardness of the enamel and dentin at different depths and distances for each of the techniques tested.

The L1 group had the highest enamel hardness values for all distances and depths ($p < 0.05$) except for the point at a distance of 25 μm and depth of 100 μm , for which the hardness value was similar to that for the L2 group. The A2 group (negative control) and A1 group had lower enamel Knoop microhardness values at all distances and depths than the specimens in the L1 and L2 groups ($p < 0.05$). No significant differences were found between the A1 and A2 groups at all distances and depths tested ($p > 0.05$).

The L1 group had the highest dentin hardness values at a distance of 25 μm and depth of 25 μm ($p < 0.05$). The L2 and A1 groups produced similar hardness at a distance of 25 μm for all depths. The A2 group had lower hardness values than the specimens in the L1 and L2 groups at all distances and depths ($p < 0.05$). No significant differences were found between the A1 and A2 groups at all distances and depths tested ($p > 0.05$) except for the point at a distance of 25 μm and depth of 25 μm .

Table 2. Mean (standard deviation) of Knoop microhardness of enamel at different distances and depths for the various materials evaluated.

Dist	Depth	L1	L2	A1	A2
25	25	212.83 (14.70)ABa	190.57 (11.42)ABb	167.38 (12.06)ABc	153.07(18.97)Ac
25	50	219.09 (13.17)Aa	199.37 (9.28)Ab	168.69 (11.19)ABc	156.75 (17.83)Ac
25	100	221.07 (12.60)Aa	203.02 (12.51)Aa	177.26 (12.44)Ab	163.30 (18.41)Ab
75	25	198.99 (11.58)Ba	177.37 (7.24)Bb	156.56 (10.59)Bc	153.14 (13.29)Ac
75	50	203.86 (12.26)ABa	181.18 (7.47)Bb	160.11 (9.89)Bc	156.29 (11.65)Ac
75	100	205.72 (11.66)ABa	186.78 (9.68)ABb	162.51 (11.65)ABc	161.29 (12.11)Ac

Groups with distinct upper case letters exhibit statistically significant differences in a column. Groups with distinct lower case letters exhibit statistically significant differences in a row ($p < 0.05$).

Table 3. Mean (standard deviation) of Knoop microhardness of dentin at different distances and depths for the various materials evaluated.

Dist	Depth	L1	L2	A1	A2
25	25	56.64(3.70)Aa	48.31 (4.06)ABb	44.61 (5.31)ABCb	34.65(2.02)Cc
25	50	56.71 (5.74)ABa	50.77 (3.86)ABab	47.17 (4.31)ABbc	40.60 (5.63)ABCc
25	100	59.21 (3.88)Aa	53.89 (3.57)Aab	49.69 (4.76)Abc	44.25 (2.78)Ac
75	25	48.40 (6.36)Ba	47.45 (3.08)Ba	39.57 (4.90)Cb	34.93 (3.85)Cb
75	50	50.40(7.45)ABab	50.43 (4.75)Aba	42.22 (5.24)BCbc	35.72(4.11)BCc
75	100	52.93 (4.67)ABa	52.42 (3.13)Aa	45.23 (5.24)ABCb	40.39 (3.24)ABb

Groups with distinct upper case letters exhibit statistically significant differences in a column. Groups with distinct lower case letters exhibit statistically significant differences in a row ($p < 0.05$).

3.5.2. Chemical Analysis

ANOVA of the percentage by weight of calcium in enamel and dentin was only significant for the variable "treatment" ($p < 0.05$). The same analysis for phosphorus in enamel failed to yield a significant difference for any of the variables ($p < 0.05$) while in dentin there was a statistically significant result for the variable "treatment" and the interaction between "treatment" and "location" ($p < 0.05$). Once the "location" variable was not statistically significant in any of the analyzes, the percentage by weight values for calcium and phosphorus in enamel and dentin were averaged despite all the distances and depths (Table 4).

Table 4. Mean (standard deviation) of the percentage by weight of calcium (Ca) and phosphorus (P) in enamel and dentin.

Element	Substrate	L1	L2	A1	A2
Ca	Enamel	47.91 (5.43)a	44.88 (4.73)a	43.45 (4.68)a	40.99 (3.46)b
	Dentin	43.36 (7.17)a	35.12 (3.90)b	29.86 (6.16)c	33.20 (4.87)bc
P	Enamel	13.03 (0.62)a	13.37 (1.06)a	13.38 (0.84)a	13.15 (0.85)a
	Dentin	11.36 (2.18)c	12.32 (0.80)bc	12.08 (1.06)bc	12.98 (0.71)a

Groups with distinct exhibit statistically significant differences ($p < 0.05$).

3.6. Discussion

The oral environment is constantly subjected to demineralizing and remineralizing cycles as a result of changes in its pH.³¹ The *in situ* method provides an accurate measure of the amount of mineral tissue lost in the oral environment, where saliva is present, an acquired enamel pellicle develops and regular oral hygiene is performed.³² In this study specimens were subjected to an intra-oral cariogenic challenge to assess the anticariogenic potential of bonding systems and glass ionomer cements. The variation in hardness values found when comparing the experimental groups with the negative control group demonstrates a possible demineralization due to the cariogenic challenge model used in this study.

The study hypothesis was rejected as the hardness and amount of calcium and phosphorus in dentin and enamel underneath the materials evaluated differed between the various restorative techniques.

Measurement of the Knoop microhardness of enamel and dentin is one of the methods of choice for detecting changes in consistency at the tooth surface,³³ and the use of microhardness tests in the caries inhibition area next to restorations with fluoride-releasing materials has been reported in the literature.^{17-18,27,34-40} EDS, on the other hand, is a semi-quantitative analytical method for detecting changes in the surface and subsurface by monitoring variations in chemical composition.²⁵ The results for the percentage by weight of calcium and phosphorus obtained by this method were similar regardless of location for both enamel and dentin. A previous *in situ* study that analyzed calcium and phosphorus content by EDS found that there was a greater percentage of the former in enamel next to conventional glass ionomer cement. The presence of calcium, however, failed to prevent secondary caries after a cariogenic challenge.²⁵ In the present study, the amount of calcium in the dentin was higher in the restorative technique where the glass ionomer cement was used as a liner.

Here, EDS was not able to detect fluoride at the dental tissues, probably because it has a low mass to be detected by this equipment. A more accurate

method of detection could be performed by using wavelength dispersive spectroscopy (WDS).

Dentin Knoop microhardness tests were carried out at two distances from the dentin-restoration interface (25 and 75 μm) and at three depths below the external surface (25, 50 and 100 μm). The results showed that dentin microhardness was lower when the total-etch bonding technique was used when compared with the open-sandwich technique with conventional glass ionomer cement. These results can be explained not only by the fact that the adhesive is applied in a single, thin layer and only an extremely small amount of adhesive is exposed¹⁶, but also by the very small amount of fluoride in these materials. The glass ionomer cements, in contrast, were used as a liner, with a small layer remaining exposed to the external environment at the margins in dentin.¹⁸ This technique, which is known as the open-sandwich technique, is recommended for clinical situations in which the cervical margins of the cavity are in dentin or cementum because of the marginal-sealing capacity of glass ionomer cement.⁴¹

Ionomer cements undergo an acid-base reaction in which a variety of ionic constituents, including fluoride, are released from aluminium fluoride silicate glass.⁴² One of the most important properties of glass ionomer cements is their ability to bond chemically in both enamel and dentin by means of a mechanism involving ion exchange. In glass ionomer cements used as lining materials, the fluoride ions can easily penetrate and diffuse through the cavity walls in a process that is effectively an excellent strategy for remineralizing demineralized dentin.⁴³ According to Tam *et al.*,¹¹ the absorption of fluoride from fluoride-releasing materials is greater in dentin and cementum than in enamel but is influenced by the tooth-restoration interface. When gaps are formed between the restorative material and cavity walls, fluoride is transported across the gap, increasing fluoride concentration and creating a greater potential for fluoride diffusion in the area.⁴² Some of this fluoride is absorbed in apatite crystals, to which it adheres very strongly. A previous study showed that the interface between glass ionomer and dentin is composed of fluoridated carbonatoapatite and that the presence of this less soluble mineral at the tooth-restoration interface can promote resistance to caries.⁴⁴

The effect of fluoride release on bonding systems has been investigated in several studies.^{16-18,28,31,42,45,47} Etch-and-rinse adhesive systems are preferable as they promote the release of larger amounts of fluoride and inhibit secondary caries more effectively than self-etching systems.¹⁶ The OptiBond FL (A1 group) bonding system used in this study contains fluorosilicate glass as the filler particle. The restorative technique using this adhesive system resulted in similar dentin hardness as the one using resin-modified glass ionomer cement, at 25 µm distance, at all depths evaluated.

This study was designed to investigate the effect of different restorative techniques at the vicinity of the tooth-restoration interface in *in situ* conditions. Knoop microhardness tests revealed reduced enamel demineralization around restorations performed with glass ionomer cements as liners, agreeing with the findings of other studies.^{22,27,47-49} In one *in situ* study,²² the microhardness of enamel underneath ionomer cements and composite resin was investigated after a cariogenic challenge and bacterial colonization lasting only 45 min; despite this short period, the microhardness was found to differ between the materials. Another *in situ* study⁴⁷ assessed enamel microhardness and mineral loss when resin-modified ionomer cement was used with fluoride and non-fluoride containing adhesive systems. The authors concluded that none of the combinations was able to avoid demineralization.⁴⁷ The results of the present study agree with those of Hara et al.,²³ in which a reduction in demineralization around restorations made in dentin was observed with a conventional glass ionomer cement.

A previous *in situ* study pointed out that the build-up of biofilm and the presence of the cariogenic challenge can lead to a rapid deterioration of glass ionomer cement but not of resin-based materials.⁴⁸ Although a large amount of biofilm was observed on the specimens inserted in the palatal appliances in the present study, that fact did not prevent the anticariogenic effect of glass ionomer cements used as liners in open-sandwich restorations.

The demineralization process depends not only on the composition of the enamel and dentin, but also on the plaque surrounding the tooth. This situation explains both the different critical pH values for enamel (5.5) and dentin (6.3), and to a certain extent the variations in caries activity, because the calcium,

phosphate or fluoride content of the saliva and plaque can vary from patient to patient.⁵⁰

Mineral loss in the presence of an *in situ* cariogenic challenge could not be assessed in this study because EDS was not sufficiently sensitive for this purpose. Knoop microhardness measurements proved to be more effective for assessing the remineralization of dental structures in contact with fluoride-releasing materials. Finally, conventional glass ionomer cement increased the hardness of dentin and enamel at depths of up to 100 μm even in the presence of a cariogenic challenge.

3.7. Conclusion

Within the limitations of this study, it can be concluded that:

- the open-sandwich technique used with conventional and resin-modified glass ionomer cements produced an increase in the hardness of enamel in the presence of an *in situ* cariogenic challenge. However, only the conventional glass ionomer cement was able to increase the hardness of dentin.
- The use of the etch-and-rinse fluoride-containing adhesive system provided similar hardness to that obtained with the resin-modified glass ionomer cement in an open-sandwich technique at a margin distance of 25 μm at all depths evaluated; and
- the amount of calcium found in the dentin was higher when the open-sandwich restorative technique with the conventional glass ionomer cement was used.

3.8. References

1. Pereira PNR, Inokoshi S, Tagami J. In vitro secondary caries inhibition around fluoride releasing materials. *Journal of Dentistry* 1998; **26**: 505-10.
2. Qvist V, Qvist J, Mjör IA. Placement and longevity of tooth-colored restorations in Denmark. *Acta Odontologica Scandinavica* 1990; **48**: 305-11.
3. Mjör IA , Toffenetti F. Secondary caries: a literature review with case reports. *Quintessence International* 2000; **31**: 165-79.
4. Mjör IA, Toffenetti F. The location of clinically diagnosed secondary caries. *Quintessence International* 1998; **29**: 313-17.
5. Attar N, Onen A. Fluoride release and uptake characteristics of aesthetic restorative materials. *Journal of Oral Rehabilitation* 2002; **29**: 791-98.
6. Burgess JO. Dental materials for the restorative of root surface caries. *American Journal of Dentistry* 1995; **5**: 342-51.
7. Featherstone JDB: Fluoride, remineralization and root caries. *American Journal of Dentistry* 1994; **7**:271-74.
8. Dawes C: What is the critical pH and why does a tooth dissolve in acid? *Journal Canadian Dental Association* 2003; **69**: 722–4.
9. Dawes C. Fluorides: Mechanisms of action and recommendations for use. *Journal Canadian Dental Association*. 1989; **55**: 721-3.
- 10.Hsu CYS, Donly KJ, Drake DR, Wefel JS. Effects of aged fluoride-containing restorative materials on recurrent root caries. *Journal of Dental Research* 1998; **77**: 418-25.
- 11.Tam LE, Chan GP-L, Yim D. In vitro caries inhibition effects by conventional and resin-modified glass ionomer restorations. *Operative Dentistry* 1997; **22**: 4-14.
- 12.Burke FM, Ray NJ, Mc Connell RJ: Fluoride-containing restorative materials. *International Dental Journal* 2006; **56**: 33-43.
- 13.Hahn P, Schaller HG, Gerhardt C, Hellwig E. Influence of two dentin bonding systems on the demineralization of the root surface. *Operative Dentistry* 1999; **24**: 344-50.

14. Attar N, Turgut MD. Fluoride release and uptake capacities of fluoride-releasing restorative materials. *Operative Dentistry* 2003; **28**: 395-402.
15. Cildir SK, Sandalli N. Fluoride release/uptake of glass ionomer cements and polyacid-modified composite resins. *Dental Materials Journal* 2005; **24**: 92-7.
16. Itota T, Nakabo S, Iwai Y, Konishi N, Nagamine M, Torii Y. Inhibition of artificial secondary caries by fluoride-releasing adhesives on root dentin. *Journal of Oral Rehabilitation* 2002; **29**: 523-27.
17. Hara AT, Queiroz CS, Freitas PM, Giannini M, Serra MC, Cury JA. Fluoride release and secondary caries inhibition by adhesive systems on root dentin. *European Journal of Oral Science* 2005; **113**: 245-50.
18. Kirsten GA, Takahashi MK, Rached RN, Giannini M, Souza EM. Microhardness of dentin underneath fluoride-releasing adhesive systems subjected to cariogenic challenge and fluoride therapy. *Journal of Dentistry* 2010; **38**: 460-8.
19. Ferracane JL, Mitchem JC, Adey JD. Fluoride penetration into the hybrid layer from a dentin adhesive. *American Journal of Dentistry* 1998; **11**: 23-8.
20. Zero DT. In situ caries model. *Advances in Dental Research*. 1995; **9**: 214-30.
21. Casals E, Boukpepsi T, McQueen CM, Eversole SL, Faller RV. Anticaries potential of commercial dentifrices as determined by fluoridation and remineralization efficiency. *Journal of Contemporary Dental Practice* 2007; **8**: 1-10.
22. Tenuta LM, Ribeiro CC, Gonçalves NC, Del Bel Cury AA, Aires CP, Tengan C, Tagliaferro EP, Pecharki GD, Napimoga MH, Tabchoury CP, Cury JA. The short-term in situ model to evaluate the anticariogenic potential of ionomeric materials. *Journal of Dentistry* 2005; **33**: 491-7.
23. Hara AT, Turssi CP, Ando M, González-Cabezas C, Zero DT, Rodrigues AL Jr, Serra MC, Cury JA. Influence of fluoride-releasing restorative material on root dentine secondary caries in situ. *Caries Research* 2006; **40**: 435-9.

24. Cenci MS, Tenuta LM, Pereira-Cenci T, Del Bel Cury AA, ten Cate JM, Cury JA. Effect of microleakage and fluoride on enamel-dentine demineralization around restorations. *Caries Research* 2008; **42**: 369-79.
25. Paradella TC, Koga-Ito CY, Jorge AO. Ability of different restorative materials to prevent in situ secondary caries: analysis by polarized light-microscopy and energy-dispersive X-ray. *European Journal of Oral Sciences* 2008; **116**: 375-80.
26. Lima FG, Romano AR, Correa MB, Demarco FF. Influence of microleakage, surface roughness and biofilm control on secondary caries formation around composite resin restorations: an in situ evaluation. *Journal of Applied Oral Science* 2009; **17**: 61-5.
27. Sousa RP, Zanin IC, Lima JP, Vasconcelos SM, Melo MA, Beltrão HC, Rodrigues LK. In situ effects of restorative materials on dental biofilm and enamel demineralization. *Journal of Dentistry* 2009; **37**: 44-51.
28. Peris AR, Mitsui FH, LOBO MM, Bedran-Russo AK, Marchi GM. Adhesive systems and secondary caries formation: Assessment of dentin bond strength, caries lesions depth and fluoride release. *Dental Materials* 2007; **23**: 308-16.
29. Stephen KW, Damato FA, Strang R. An in situ enamel section model for assessment of enamel re/demineralization potential. *Journal of Dental Research* 1992; **71**: 856-9.
30. Jardim JJ, Pagot MA, Maltz M. Artificial enamel dental caries treated with different topical fluoride regimes: an in situ study. *Journal of Dentistry* 2008; **36**: 396-401.
31. Carvalho AS and Cury JA. Fluoride released from some materials in different solutions. *Operative Dentistry* 1999; **24**: 14-9.
32. West NX, Davies M, Amaechi. In vitro and in situ erosion models for evaluating tooth substance loss. *Caries Research* 2011; **45**: 43-52.
33. Featherstone JDB. Modeling the caries- inhibitory effects of dental materials. *Dental Materials* 1996; **12**: 194-7.
34. Pereira (b) PNR, Inokoshi S, Yamada T, Tagami J. Microhardness of in vitro caries inhibition zone adjacent to conventional and resin-modified glass ionomer cements. *Dental Materials* 1998; **14**: 179-85.

35. Hotta M, Li Y, Sekine I. Mineralization in bovine dentin adjacent to glass ionomer restorations. *Journal of Dentistry* 2001; **29**: 211-15.
36. Hara AT, Magalhães CS, Serra MC, Rodrigues Jr. AL. Cariostatic effect of fluoride-containing restorative systems associated with dentifrices on root dentin. *Journal of Dentistry* 2002; **30**: 205-12.
37. Hara AT, Turssi CP, Serra MC, Nogueira MCS. Extent of the cariostatic effect on root dentin provided by fluoride-containing restorative materials. *Operative Dentistry* 2002; **27**: 480-87.
38. Vieira A, Hancock R, Dumitriu M, Schwartz M, Limeback H, Grynepas M. How does fluoride affect dentin microhardness and mineralization?. *Journal of Dental Research* 2005; **84**: 951-7.
39. Silva KG, Pedrini D, Delbem ACB, Cannon M. Effect of pH variations in a cycling model in the properties of restorative materials. *Operative Dentistry* 2007; **32**: 328-35.
40. Chu CH, Lo EC. Microhardness of dentine primary teeth after topical fluoride applications. *Journal of Dentistry* 2008; **36**: 387-91.
41. McLean JW. Clinical applications of glass ionomer cements. *Operative Dentistry* 1992; **5**: 184-90.
42. Wiegand A, Buchalla W, Attin T. Review on fluoride-releasing restorative materials: Fluoride release and uptake characteristics, antibacterial activity and influence on caries formation. *Dental Materials* 2007; **23**: 343-62.
43. Itota T, Nakabo S, Torii Y, Narukami T, Doi J, Yoshiyama M. Effect of fluoride-releasing liner on demineralized dentin. *Quintessence International* 2006; **37**: 297-303.
44. Geiger SB e Weiner S. Fluoridated carbonatoapatite in the intermediate layer between glass ionomer and dentin. *Dental Materials* 1993; **9**: 33-6.
45. Itota T, Nakabo S, Narukami T, Tashiro Y, Torii Y, McCabe JF, Yoshiyama M. Effect of two-step adhesive systems on inhibition of secondary caries around fluoride-releasing resin composite restorations in root dentine. *Journal of Dentistry*. 2005; **33**: 147-54.
46. Okuyama K, Murata Y, Pereira PN, Miguez PA, Komatsu H, Sano H. Prevention of Artificial Caries: effect of bonding agent, resin composite and topical fluoride application. *Operative Dentistry* 2006; **31**: 135-42.

47. Wang L, Honorio HM, Rios D, Delbem ACB, Palma-Dibb, Buzalaf MAR, Atta MT. Short-term in situ/ex vivo study of the anticariogenic potential of a resin-modified glass-ionomer cement associated with adhesive system. *Quintessence International* 2010; **41**: 192-99.
48. Barbosa RPS, Pereira-Cenci T, Silva WM, Coelho-de-Souza FH, Demarco FF, Cenci MS. Effect of cariogenic biofilm challenge on the surface hardness of direct restorative materials in situ. *Journal of Dentistry* 2012; **40**: 359-63.
49. Honorio HM, Rios D, Santos CF, Magalhães AC, Buzalaf MAR, Machado MAAM. Effects of erosive, cariogenic or combined erosive/cariogenic challenges on human enamel. *Caries Research* 2008; **42**: 454-59.
50. Lussi A, Hellwig E, Klimek J. Fluorides – Mode of action and recommendations for use. *Schweiz Monatsschr Zahnmed.* 2012; **122**:1030-42.

4. Anexos

4.1. Resumos dos artigos da discussão

30. Carvalho AS and Cury JA: Fluoride released from some materials in different solutions. Oper Dent 1999; 24: 14-19.

Determinaram o nível de flúor liberado a partir de diferentes materiais restauradores em soluções de armazenamento, utilizando uma simulação *in vitro* do processo de cárie por meio de ciclo de pH. Seis espécimes de cada material (Chelon-Fil, Dyract, Variglass, Vitremer e Tetric) foram preparados e suspensos individualmente em 2,0 mL de cada solução de armazenamento. Os meios avaliados foram água deionizada, saliva artificial, e soluções des- (pH 4,3) e remineralizante (pH 7,0) em ciclo de pH. Todas as soluções foram trocadas diariamente durante 15 dias. A liberação de flúor foi determinada após neutralização com a solução tampão com volume igual de TISAB. A liberação de flúor foi maior em ciclo de pH do que em outras soluções e se mostrou dependente do tipo de material. Os dados sugerem que a comparação do flúor liberado a partir de diferentes materiais dentários é dependente do meio utilizado na avaliação.

31. West NX, Davies M, Amaechi. In vitro and in situ erosion models for evaluating tooth substance loss. Caries Res 2011;45(suppl1):43-52.

O objetivo desta revisão foi reunir os dados disponíveis sobre modelos projetados para avaliar os desafios erosivos que são graves o suficiente para causar a perda de tecido ao invés de apenas amolecimento da estrutura de superfície. Os objetivos deste trabalho foi orientar o pesquisador baseado em evidências e em metodologia de desgaste erosivo de dente *in vitro* e *in situ*, sugerir melhores práticas dado conhecimento atual. Devido às dificuldades na medição da erosão *in vivo*, um certo número de ensaios *in vitro* e em modelos *in situ*, foram desenvolvidos e validados. Estes modelos são flexíveis e informativo, permitindo variáveis individuais, bem como múltiplos a ser examinado sob condições específicas, utilizando técnicas de medição precisas sobre prazos definidos, obtendo informações úteis, sem efeitos prejudiciais sobre os indivíduos. Esta informação, juntamente com os achados clínicos, é essencial para os profissionais aconselham pacientes suscetíveis adequadamente sobre a gestão de sua condição.

32. Featherstone JDB: Modeling the caries- inhibitory effects of dental materials. Dent Mater 1996;12:194-197.

O objetivo desta revisão foi comparar os modelos que são usados para simular o processo de cárie na pesquisa de cariologia e sugerir como esses modelos podem ser usados para avaliar a inibição de cárie as propriedades dos materiais dentários. Avaliar simulação de cárie nas seguintes classificações: 1) na desmineralização *in vitro* usando solução tampão, 2) na desmineralização *in vitro* utilizando ácidos gerados pelas bactérias, 3) *in vitro* desmineralização / remineralização, utilizando um sistema de ciclagem de pH, 4) uma boca artificial onde um desafio com bactérias acidogênicas é intercalado com um tratamento salivar, 5) modelo animal *in vivo* (em geral com ratos), 6) na desmineralização *in situ* e / ou a remineralização do esmalte

utilizando blocos ou fatias de dentina na boca humana, e 7) estudos in vivo utilizando dentes agendados para extração na boca humana. A maioria dos estudos de materiais odontológicos usaram modelos in vitro de desmineralização ou experimentos de liberação de componentes, cada um dos quais é insuficiente para responder às perguntas que estão sendo feitas sobre as propriedades inibitórias de cárie do material a ser testado. Métodos experimentais devem ser escolhidos com cuidado para assegurar que o material a ser testado é examinado em um modo apropriado. O objetivo final é o de prever corretamente os resultados clínicos. O desenho ou redesenho de um modelo deve finalmente ser ligada a documentar os resultados clínicos para melhorar o modelo e permitir o bom desenvolvimento futuro de novos materiais.

33. Pereira (b) PNR, Inokoshi S, Yamada T, Tagami J: Microhardness of in vitro caries inhibition zone adjacent to conventional and resin-modified glass ionomer cements. *Dent Mater* 1998;14:179-185.

Avaliaram a microdureza das zonas de inibição de cárie e dentina desmineralizada adjacentes a restaurações confeccionadas com cimentos de ionômero de vidro convencional e modificados por resina. Cavidades em forma de caixa foram preparadas na dentina radicular de dentes bovinos e restauradas com um cimento de ionômero de vidro convencional Fuji II e dois cimentos de ionômero de vidro modificados por resina Fuji II LC e Vitremer. Após a confecção das restaurações, estas foram isoladas com esmalte para unha, mantendo-se uma área de 1 mm ao redor das margens expostas. Os espécimes foram imersos durante três dias em 25 ml de solução desmineralizante contendo CaCl_2 , NaH_2PO_4 e ácido acético ajustados ao pH de 4,5. Em seguida, foram realizadas seções longitudinais de aproximadamente 150 μm paralelamente ao longo eixo das raízes. Estas seções foram desgastadas até uma espessura de 100 μm para visualização em microscópio de luz polarizada. A análise de microdureza Knoop foi realizada na lesão cariosa e na dentina normal. Já a microdureza da zona de inibição foi mensurada por meio de microdureza triangular, uma vez que a ponta do indentador Knoop era maior que a largura da zona de inibição. Foram observadas lesões desmineralizadas e zonas de inibição em todos os espécimes. A microdureza em dentina normal foi significativamente maior em comparação à microdureza da dentina desmineralizada. A microdureza da zona de inibição dos espécimes restaurados com Fuji II foi similar à microdureza da dentina normal, com valores significativamente maiores que a microdureza encontrada na zona de inibição dos espécimes restaurados com ionômero de vidro modificado por resina.

34. Hotta M, Li Y, Sekine I: Mineralization in bovine dentin adjacent to glassionomer restorations. *J Dent* 2001;29:211-215.

Avaliaram a mineralização da dentina bovina adjacente a restaurações com ionômero de vidro. Cavidades cilíndricas foram confeccionadas na dentina radicular de incisivos bovinos e restauradas com cimento de ionômero de vidro convencional (Bond Glassionomer F) e resina modificada por poliácidos (Geristore). Os dentes foram armazenados individualmente em água destilada por 30 dias. Após este período, os espécimes foram seccionados e a dentina da parede axial do preparo cavitário foi analisada para determinar a presença de flúor, cálcio e fosfato por meio de micro-análise com sonda eletrônica

(EPMA – *Electron Probe Microanalysis*). Foi avaliada também a microdureza Knoop da dentina adjacente à restauração. A micro-análise demonstrou uma zona rica em flúor, cálcio e fosfato na parede axial das cavidades restauradas com cimento de ionômero de vidro convencional. Entretanto, para resina modificada por poliácido não houve a presença desta zona. Para análise de microdureza, as cavidades restauradas com cimento de ionômero convencional apresentaram maiores valores de microdureza na dentina adjacente. Os autores concluíram que o flúor penetrou mais profundamente na dentina restaurada com cimento de ionômero convencional em comparação à restaurada com resina modificada por poliácido. Ocorreu uma hipermineralização da dentina restaurada com ionômero de vidro.

35. Hara AT, Magalhães CS, Serra MC, Rodrigues Jr. AL: Cariostatic effect of fluoride-containing restorative systems associated with dentifrices on root dentin. *J Dent* a2002;30:205-212.

Avaliaram a interação entre as duas fontes de flúor na inibição da cárie radicular. Cento e oitenta segmentos dentes foram embebidos em resina e cavidades de 1,0 mm de profundidade e 1,5 mm de diâmetro foram preparadas em dentina radicular e restauradas aleatoriamente com materiais contendo flúor: Ketac-fil (Ke), Fuji II LC (Fj), F2000 (F2), Surefil (Su) ou um controle, Filtek Z250 (Z2). Dez grupos experimentais foram feitos para testar a associação entre os cinco sistemas e dois dentifrícios: com flúor (-) (Sensodyne bicarbonato de sódio) ou sem flúor (-) (Sensodyne Original). Após o polimento, uma margem de cerca de 1,0 mm de largura das restaurações foi demarcada e realizada a microdureza Knoop inicial (KHNi). Os espécimes foram submetidos a um ciclo de pH e aplicações de suspensões de dentifrício. Os valores finais de microdureza Knoop da dentina (KHN f) foram medidos. A interação entre materiais e dentifrícios foi estatisticamente significativa. Todos os materiais de alguma forma promoveram proteção contra a cárie artificial, quando associado ao dentifrício contendo flúor.

46. Hara AT, Turssi CP, Serra MC, Nogueira MCS: Extent of the cariostatic effect on root dentin provided by fluoride-containing restorative materials. *Oper Dent* b2002;27:480-487.

Avaliaram a amplitude do efeito cariostático em dentina radicular fornecidos por quatro sistemas restauradores contendo flúor: Ketac-Fil [Ke], Fuji II LC Improved [Fj], Dyract AP [Dy] e Surefil [Su], e um controle sem flúor, Filtek Z250. Noventa e cinco fragmentos de dentina radicular bovina (5,0 x 6,0 mm) foram obtidos. Cavidades (1,5 x 3,5 x 1,0 mm) foram feitas e restauradas com cinco materiais em um delineamento em blocos. Após 24 horas, a superfície de dentina/restauração foi polida. A superfície da restauração e uma zona adjacente de 3,0 x 3,0 mm foram demarcadas e submetidas a um modelo de ciclo de pH. O teste de microdureza Knoop da dentina foi realizado nas distâncias de 10, 50, 100, 150, 300, 600, 900, 1200, 1500, 1800 e 2100µm a partir da margem da restauração. A interação entre o sistema e a distância foi estatisticamente significativa. O teste Tukey e a análise de regressão mostraram que [Ke] e [Fj] foram similares até 300µm, com [Ke] mais elevado do que Z250 nas distâncias 50, 100, 150 e 300µm. [Fj] foi superior ao controle nas distâncias de 50, 100 e 150µm. Os materiais [Dy] e [Su] não foram estatisticamente diferentes do controle e mantiveram-se estáveis durante todo

o estudo. Este estudo concluiu que a extensão do efeito cariostático em dentina radicular foi de 300µm para [Ke] e 150µm [Fj]. [Dy] e [Su] não mostraram qualquer efeito cariostático.

16. Hara AT, Queiroz CS, Freitas PM, Giannini M, Serra MC, Cury JA: Fluoride release and secondary caries inhibition by adhesive systems on root dentin. *Eur J Oral Science* 2005;113:245-250.

Testaram os índices de liberação de flúor e efeito inibitório da cárie dental em dentina radicular de diferentes sistemas adesivos. Na fase 1, o flúor liberado a partir de espécimes dos adesivos OptiBond Solo, One-Up Bond F Plus, Prime & Bond NT, Tenure Quick e também dos controles [+] cimento ionômero de vidro e [-] adesivo sem flúor foi quantificado diariamente durante ciclo de pH, simulando um desafio cariogênico. Na fase 2, foram feitas restaurações em dentina radicular bovina com os mesmos adesivos associados a um compósito não-fluoretado. Os espécimes-controles [+] foram restaurações feitas inteiramente com cimento de ionômero de vidro. Os espécimes foram termociclados e submetidos ao ciclo de pH. Áreas de desmineralização e a presença de lesão de parede e de zona de inibição foram determinadas por meio de microscopia de luz polarizada na dentina adjacente à restauração. A maior concentração de flúor foi liberado pelo material controle [+]. Os adesivos OptiBond Solo, One-Up Bond F Plus e Prime & Bond NT também liberaram flúor. Não foram detectadas quantidades mínimas de flúor para o sistema Tenure Quick e para o controle [-]. Áreas menores de desmineralização foram encontradas com o uso de cimento de ionômero de vidro, enquanto as áreas de desmineralização dos adesivos fluoretados e do não-fluoretado não diferiram umas das outras. Não foi detectada lesão de parede e maiores porcentagens de zona de inibição foram registrados para o cimento de ionômero de vidro e para o adesivo OptiBond Solo. Embora alguns adesivos odontológicos terem sido capazes de liberar flúor, não foram capazes de inibir cárie secundária tão bem quanto o cimento de ionômero de vidro.

37. Vieira A, Hancock R, Dumitriu M, Schwartz M, Limeback H, Grynypas M: How does fluoride affect dentin microhardness and mineralization. *J Dent Res* 2005;84:951-7.

Neste estudo o objetivo foi avaliara influência daconcentração de flúor do dente ([F]) e a gravidade da fluorose dental(DF) sobre a microdureza da dentina em mineralização. Foram coletados 137 dentes em Montreal-Toronto, no Canadá, e em Fortaleza, Brasil, onde níveis de F na água foram de 0,2ppm, 1ppm e 0,7ppm, respectivamente. Os dentes foram analisados por gravidade DF, dentina [F], o esmalte [F], microdureza da dentina em mineralização da dentina. Dentina [F] correlação com a gravidade DF; esmalte [F] correlacionada com dentina microdureza e mineralização da dentina; gravidade DF correlacionada com dentina microdureza. Fatores genéticos (por exemplo, a gravidade DF) e fatores ambientais (por exemplo, dente [F]) influenciou as propriedades mecânicas (microdureza) dos dentes, enquanto que apenas os fatores ambientais influenciaram suas propriedades materiais (por exemplo, mineralização). Os dentes de Fortaleza eram mais difíceis e menos mineralizadas e apresentou maiores valores de microdureza da dentina [F]. Os dentes de Montreal apresentaram menores níveis de DF, quando comparado com Toronto e dentes de Fortaleza.

38. Silva KG, Pedrini D, Delbem ACB, Cannon M: Effect of pH variations in a cycling modelo n the properties of restorative materials. Oper Dent 2007;32:328-335.

Este estudo avaliou o efeito dos ciclos de pH de diversas soluções desmineralizantes sobre a dureza superficial, liberação de flúor e propriedades da superfície de materiais restauradores (Ketac-Fil Plus, Vitremer, Fuji II LC, Liberdade e Fluorofil). Trinta amostras de cada material foram feitas e a dureza da superfície foi medida. Os espécimes foram divididos aleatoriamente em cinco grupos de acordo com o pH (4,3; 4,6; 5,0; 5,5 e 6,2) da solução desmineralizante. Os espécimes foram submetidos à ciclagem de pH por 15 dias. Os espécimes permaneceram na solução desmineralizante durante seis horas, e à solução remineralizante por 18 horas. Em seguida, a dureza da superfície (SH) foi medido de novo e as propriedades de superfície foram avaliadas. A liberação de flúor foi determinada diariamente. Os dados de SH e a percentagem de alteração na dureza da superfície foram analisadas por análise de variância ($p < 0,05$), o teste de Kruskal-Wallis foi realizada para os resultados de liberação de fluoreto. Quando foi comparada com a dureza, a variação do pH elevado a uma correlação positiva para cimentos de ionômero de vidro e uma correlação negativa para a liberação de fluoreto. Para os cimentos ionoméricos modificadas de resina, uma correlação negativa com relação à liberação de flúor; nenhuma correlação significativa foi observada para a dureza. As propriedades de superfície foram influenciados: um pH ácido levou a uma maior alteração, exceto para os cimentos ionoméricos modificadas de resina. O pH da solução desmineralizante influenciou na liberação de fluoreto a partir dos materiais testados.

39. Chu CH, Lo EC: Microhardness of dentine primary teeth after topical fluoride applications. J Dent 2008;36:387-391.

Demonstraram a microdureza da cárie dentinária em dentes decíduos que receberam aplicações regulares de flúor após 30 meses. Dentes decíduos cariados de crianças pré-escolares foram divididos aleatoriamente para receber diaminofluoreto de prata 38%, a cada 12 meses, ou verniz de fluoreto de sódio 5%, a cada 3 meses. Aos 30 meses, os dentes foram extraídos, seccionados, polidos e submetidos ao teste de microdureza Knoop no centro da lesão cariada a cada 25 μ m na dentina, em direção à polpa. Três conjuntos de medições foram feitas paralelamente com aproximadamente 150-200 μ m de espessura. Foi concluído que a aplicação tópica de flúor foi eficaz nas lesões cariosas, detendo-as.

26. Sousa RP, Zanin IC, Lima JP, Vasconcelos SM, Melo MA, Beltrão HC, Rodrigues LK. In situ effects of restorative materials on dental biofilm and enamel demineralization. J Dent. 2009 Jan;37(1):44-51.

Este estudo avaliou os efeitos de diferentes materiais restauradores sobre a composição microbiológica do biofilme dental e na desmineralização do esmalte ao redor da restauração. Um estudo randomizado, duplo-cego, boca dividida em design situ foi realizado em uma fase de 14 dias, durante os quais, 20 voluntários utilizaram dispositivos palatinos contendo cinco blocos de esmalte dental humano. Cada espécime foi aleatoriamente restaurados com

um dos seguintes materiais: Bond Filtek-Z-250/Single, grupo controle (resina), Permite (amálgama), Fuji II (encapsulado modificado por resina de ionômero de vidro), Vitremer (resina de vidro modificado ionômero) e Ketac Molar (ionômero de vidro convencional). Os voluntários utilizaram dentifrício fluoretado, 3x/dia e uma solução de sacarose a 20% foi gotejada sobre os espécimes 8x/dia. A formação de biofilmes sobre as placas foram analisados para determinar as contagens de estreptococos totais, estreptococos mutans e lactobacilos. A desmineralização do esmalte foi determinada por corte transversal de microdureza (PDS), a 20 e 70 a partir da margem da restauração. Teste de Kruskal-Wallis e análise de variância, seguida por mínimos quadrados (LMS) de teste, foram utilizados para avaliar a microbiota e PDS entre os grupos. O nível de significância utilizado foi de 5%. Estatisticamente não foram encontradas diferenças significativas na microbiota cariogênica crescido nos espécimes. A uma distância de 20, apenas Fuji II diferiu estatisticamente dos outros grupos, mostrando o menor desmineralização. A 70, Fuji II inibiu significativamente quando comparada com desmineralização Permite, Filtek-Z-250 e Ketac Molar. No contexto do dentifrício fluoretado e sob as condições de exposição cariogênicas do presente estudo, apenas o material encapsulado de resina de ionômero de vidro modificado proporcionou uma proteção adicional contra a cárie.

17. Kirsten GA, Takahashi MK, Rached RN, Giannini M, Souza EM. Microhardness of dentin underneath fluoride-releasing adhesive systems subjected to cariogenic challenge and fluoride therapy. *J Dent.* 2010 Jun;38(6):460-8.

Tiveram como objetivo avaliar a microdureza da dentina subjacente à interface adesiva de restaurações em resina composta utilizando sistemas adesivos com flúor e armazenamento sob ciclo de pH, com e sem associação de terapias fluoretadas. Trinta terceiros molares humanos hígidos receberam cavidades nas superfícies vestibulares e linguais, com margens cervicais em dentina. Os sistemas adesivos com flúor One-up Bond F Plus (OU), Prime & Bond NT (NT), Clearfil Protect Bond (CF), OptiBond Solo Plus (OP) e também os controles negativo Single Bond 2 (SB) e o cimento ionomérico Ketac Molar (KM) como positivo foram utilizados previamente à restauração com resina composta (n=10). As restaurações foram seccionadas até a obtenção de quatro lâminas de $100 \pm 20 \mu\text{m}$. Cada lâmina foi submetida a um tipo de armazenamento durante 15 dias: água deionizada, ciclo de pH, ciclo de pH + NaF 0,05% diário e ciclo de pH + NaF 1,23% semanal. A microdureza Knoop da dentina foi avaliada em 50, 100, 150 e 300 μm a partir da interface adesiva. Os resultados foram analisados por ANOVA a três critérios e teste Tukey HSD ($p < 0,05$). Não houve diferença significativa na microdureza para OU após ciclo de pH, com ou sem associação com NaF, em todas as profundidades. A microdureza da dentina foi significativamente maior em todos os materiais, nas profundidades de 50 μm e 100 μm , quando NaF 0,05% foi incorporado ao ciclo de pH. A microdureza da dentina subjacente ao sistema adesivo OU não foi afetada pelo desafio cariogênico, com ou sem associação de terapia fluoretada. A incorporação da terapia diária com NaF 0,05% ao

desafio cariogênico foi capaz de recuperar a microdureza original da dentina nas profundidades de 50 e 100µm, com todos os materiais avaliados.

24. Paradella TC, Koga-Ito CY, Jorge AO. Ability of different restorative materials to prevent in situ secondary caries: analysis by polarized light-microscopy and energy-dispersive X-ray. Eur J Oral Sci. 2008 Aug;116(4):375-80.

O objetivo deste estudo foi analisar o esmalte adjacente a diferentes materiais restauradores depois em desafio cariogênico in situ usando microscopia de luz polarizada (PLM), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e energia dispersiva de análise de raios-X (EDS). Doze voluntários, com um baixo nível de placa bacteriana, um baixo nível de estreptococos mutans e fluxo salivar normal, utilizaram aparelhos removíveis em acrílico palatinos contendo espécimes de esmalte restaurados com Z250 compósitos, IX Fuji cimento de ionômero de vidro ou resinoso Vitremer- cimento de ionômero de vidro modificado por 14 dias. Os voluntários pingavam uma gota de solução de sacarose a 20% (n = 10) ou água destilada (grupo de controle) em cada amostra 8 vezes por dia. Os espécimes foram removidos dos aparelhos e submetidos a PLM para exame da área da lesão (em mm) (2), seguido de desidratação, cobertura de ouro, e para SEM e EDS. O conteúdo de cálcio (Ca) e fósforo (P) foram avaliadas (em peso%). Foram encontradas diferenças entre Z250 e Vitremer, e entre Z250 e FujilX, quando analisados usando PLM. Por energia dispersiva de raios-X os resultados de análise mostrou diferenças entre os materiais estudados em relação a concentração de Ca%. Em conclusão, o esmalte adjacente ao cimento de ionômero de vidro apresentou um peso mais elevado de Ca, mas este material não evitou completamente a formação de cáries secundárias no esmalte sob a desafio cariogênico in situ.

15. Itota T, Nakabo S, Iwai Y, Konishi N, Nagamine M, Torii Y: Inhibition of artificial secondary caries by fluoride-releasing adhesives on root dentin. J Oral Rehabil 2002;29:523-527.

Avaliaram o efeito dos sistemas adesivos com flúor na inibição de cárie secundária. Foram utilizados dois sistemas adesivos que liberam flúor, Reactmer Bond (RB) e One-Up Bond F Plus (OB), e um sistema adesivo que não libera flúor, Mac-Bond (MB). Como materiais restauradores foram utilizados dois materiais que não liberam flúor, Lite-fil II A (LF) e Estelite (EL), e um material fluoretado Reactmer Paste (RP). Cavidades classe V foram preparadas na junção esmalte-cimento e restauradas com várias associações: MB/EL, OB/EL, RB/LF e RB/RP. As restaurações foram incubadas em meio contendo sacarose e *Streptococcus mutans* por 14 dias. A profundidade da lesão e sua extensão foram verificadas com microrradiografias, as quais demonstraram presença de lesão cariosa em todas as amostras e uma zona "ácido-resistente" adjacente às restaurações. Para a combinação OB EL, RB/LF e RB/RP não houve diferença estatisticamente significativa na espessura dessa zona "ácido-resistente". MB EL apresentou menor espessura e RB RP apresentou menor profundidade de lesão. Os autores concluíram que os sistemas adesivos que liberam flúor são efetivos na prevenção da lesão na parede cavitária. Entretanto, não são capazes de reduzir a profundidade da lesão. Somente a combinação de um sistema adesivo que libera flúor com um

material restaurador que também libera flúor é capaz de inibir a formação de cárie secundária.

40. McLean JW: Clinical applications of glass ionomer cements. Oper Dent 1992;Suppl 5:184-190

Afirmou em sua revisão de literatura que a aplicação clínica dos cimentos de ionômeros de vidro já se encontra bem estabelecida. Eles apresentam propriedades únicas, que incluem a adesão à estrutura dentária, compatibilidade biológica e propriedades anticariogênicas devido a sua liberação de flúor. A sua utilização no tratamento da cárie precoce e lesões de erosão tem sido amplamente investigadas. A técnica de "sanduíche" utilizando cimento de ionômero de vidro como "substituto da dentina" permite que restaurações com resinas compostas sejam utilizadas com maior segurança. As deficiências dos cimentos de ionômeros de vidro são bem conhecidas, incluindo a falta de tenacidade, sorção precoce de água e baixa resistência à abrasão, e levando a porosidade.

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

Publicaram uma revisão onde relatam a liberação de flúor e a capacidade de recarga e as propriedades antibacterianas de materiais que contêm flúor. Os autores discutem a situação atual da prevenção ou inibição do desenvolvimento de cárie e sua progressão. Informações de trabalhos científicos originais listados no PubMed, publicados entre 1980 a 2004, foram incluídas na revisão. Materiais dentais contendo fluoretos mostram claras diferenças na liberação de flúor e características de absorção. As liberações de flúor a curto e longo prazo estão relacionadas às suas matrizes, mecanismo de presa e conteúdo de flúor e dependem de várias condições ambientais. A liberação de fluoretos de materiais restauradores pode atuar como um reservatório de flúor e pode aumentar o nível de flúor na saliva, placa dental e tecidos duros. No entanto, estudos clínicos apresentaram dados conflitantes quanto à efetividade destes materiais em impedir ou inibir cárie secundária e afetar o crescimento de bactérias associados à cárie em comparação aos materiais não-fluoretados. A liberação de fluoretos de materiais restauradores, predominantemente o cimento de ionômero de vidro e compômeros, mostraram propriedades cariostáticas e podem afetar o metabolismo bacteriano sob condições simuladas de cárie *in vitro*. No entanto, não é comprovada por estudos clínicos se a incidência de cárie secundária pode ser significativamente reduzida pela liberação de flúor dos materiais restauradores.

42. Itota T, Nakabo S, Torii Y, Narukami T, Doi J, Yoshiyama M: Effect of fluoride-releasing liner on demineralized dentin. Quintessence Int 2006;37:297-303.

Avaliaram a remineralização da dentina desmineralizada sob forramento com liberação de flúor *in vitro*. Dois cimentos de ionômero de vidro e duas resinas fotoativadas com e sem 5% em peso de NaF foram utilizados neste estudo. Cavidades de Classe V foram preparadas em pré-molares humanos extraídos. Desmineralizações na dentina foram produzidas com um sistema de indução bacteriana de cárie no fundo da cavidade. As cavidades foram

restauradas com resina composta após a aplicação de cada material. Os espécimes foram então armazenados durante 4 semanas e cortados na espessura de 80µm. Microrradiografias foram realizadas e a radiopacidade da dentina desmineralizada na camada abaixo do material foi analisada. A radiopacidade da dentina desmineralizada sob a liberação de fluoreto foi significativamente maior do que aquela sob o forramento de resina sem liberação de flúor. Não houve diferença na radiopacidade encontrada na dentina subjacente aos três materiais forradores com flúor. Apesar do flúor liberado reforçar a remineralização da dentina desmineralizada a quantidade de liberação não afetou o grau de radiopacidade da dentina remineralizada.

10. Tam LE, Chan GP-L, Yim D: In vitro caries inhibition effects by conventional and resin-modified glass ionomer restorations. *Oper Dent* 1997;22:4-14.

Desenvolveram um perfil anticariogênico inicial (de liberação de flúor, absorção de fluoreto e resistência à cárie artificial), testando a capacidade dos cimentos de ionômero de vidro convencionais versus ionômero de vidro modificados por resina. A liberação de flúor foi medida a partir da imersão dos espécimes em forma de disco em água destilada deionizada por 24 horas, 1, 2, 4 e 10 semanas. Para a captação de flúor e cárie artificial, restaurações padronizadas foram colocadas ao longo da junção cimento-esmalte de molares humanos extraídos. Espectroscopia de massa iônica foi utilizada para determinar a profundidade do flúor na captação adjacente à restauração após 1 e 10 semanas. Para o ensaio de cárie artificial, os dentes foram imersos em um gel acidificado (pH 4,0), durante 10 semanas. O desenvolvimento de cárie foi avaliada utilizando microscopia de luz polarizada. Houve maior liberação de flúor e absorção do ionômero de vidro convencional, equivalente ou inferior a do ionômero de vidro modificado por resina. A utilização de um ácido e primer do sistema adesivo aumentou significativamente a profundidade da absorção de flúor, em 1 semana. A utilização de uma base intermediária na camada adesiva, no entanto, diminuiu significativamente a absorção de flúor. A profundidade de captação máxima de flúor em dentina foi de 300µm, após 10 semanas. Ambos os CIV convencionais e modificados por resina transmitiram resistência à dentina contra o desenvolvimento de lesões cariosas recorrentes *in vitro*.

43. Geiger SB e Weiner S: Fluoridated carbonatoapatite in the intermediate layer between glass ionomer and dentin. *Dent Mater* 1993;9:33-6.

Analisaram morfológicamente a camada intermediária entre o cimento de ionômero de vidro e a dentina por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia infravermelha transformada de Fourier (FTIR). MEV mostrou forte adesão entre a dentina e o ionômero de vidro e a formação de uma camada intermediária entre eles. Os espectros FTIR das sucessivas profundidades através da interface ionômero/dentina mostraram que a camada intermediária é composta, principalmente, por minerais de carbonatoapatita fluoretada. A presença deste mineral moderadamente solúvel na interface entre o dente e a restauração pode fornecer alta resistência à cárie secundária e, assim, ser de grande importância clínica.

44. Itota T, Nakabo S, Narukami T, Tashiro Y, Torii Y, McCabe JF, Yoshiyama M: Effect of two-step adhesive systems on inhibition of secondary caries around fluoride-releasing resin composite restorations in root dentine. *J Dent.* 2005;33:147-154.

Investigaram o efeito de dois sistemas adesivos sobre a inibição de cárie secundária. Dois sistemas autocondicionantes, Clearfil SE Bond (SE) e Unifil Bond (UB), e dois sistemas convencionais de frasco único, Single Bond (SB) e One-Step (OS), foram utilizados antes da colocação de resinas compostas, com (Reactmer) ou sem (Z100) liberação de flúor. Cavidades classe V preparadas em premolares humanos extraídos foram restauradas com diferentes combinações de materiais: Reactmer / SE, Reactmer / UB, Reactmer / SB, Reactmer / OS, Z100/SE, Z100/UB, Z100/SB e Z100/OS. Após armazenamento por 14 dias, os dentes foram restaurados e incubados com bactérias em meio contendo sacarose com *Streptococcus mutans*, durante 2 semanas. A sorção e solubilidade dos adesivos e resinas também foram determinadas. Os autores concluíram que o sistema adesivo convencional de frasco único libera mais flúor e a associação com resinas compostas fluoretadas pode contribuir para a inibição de cárie secundária em relação ao sistema autocondicionante.

14. Cildir SK, Sandalli N: Fluoride release/uptake of glass ionomer cements and polyacid-modified composite resins. *Dent Mater J* 2005; 24:92-97.

Investigaram a liberação de flúor e a capacidade de recarga de dois cimentos de ionômeros de vidro convencionais e dois cimentos de ionômeros modificados por resina, após exposição a bochechos e dentifrício com flúor. A liberação de flúor foi medida nos dias 1, 2, 3, 4, 7, 14, 21 e 28. No 28º dia, os espécimes foram divididos em três grupos. Amostras do grupo-controle foram armazenados em água deionizada. Para os outros dois grupos, os espécimes foram expostos a 0,05% NaF solução e dentifrício fluoretado por um mês. Após refluoretação, o fluoreto foi medido nos dias 30, 31, 32, 36, 44, 52 e 60. Todos os materiais liberaram flúor. A maior quantidade de flúor foi obtida durante as primeiras 24 horas. Houve diferença estatisticamente significativa entre a quantidade de flúor liberado a partir de cimentos convencionais e os modificados por resina. Após a exposição a bochechos fluoretados e dentifrício, todos os materiais foram recarregados e continuaram liberando flúor. Embora a quantidade de liberação de flúor dos materiais tenha aumentado após refluoretação, o aumento foi maior nos cimentos de ionômero de vidro convencionais.

21. Tenuta LM, Ribeiro CC, Gonçalves NC, Del Bel Cury AA, Aires CP, Tengan C, Tagliaferro EP, Pecharki GD, Napimoga MH, Tabchoury CP, Cury JA. The short-term in situ model to evaluate the anticariogenic potential of ionomeric materials. *J Dent.* 2005 Jul;33(6):491-7.

Com o intuito de contribuir para o estudo dos mecanismos envolvidos nas propriedades anticariogênicas de materiais dentários, o presente estudo avaliou a adequação de um curto prazo de modelo in situ para avaliar o potencial anticariogênico de materiais ionoméricos. O estudo utilizou um crossover de 3 fases, design duplo-cego, e em cada fase de oito voluntários utilizaram dispositivos palatinos contendo quatro blocos de esmalte restaurados com um dos seguintes materiais: resina composta (RC-Z250) (controle

negativo), um ionômero de vidro convencional cimento (GIC-Ketac-Fil) ou um modificado por resina GIC (CIV-RM-Vitremer). Os blocos restaurados foram cobertos com uma "placa de ensaio" de *S. mutans*, colocadas em placas palatinas e um desafio cariogênico foi feita durante 1 min com solução de sacarose a 20%. Após 45 min, a placa de teste foi colhido para análise de flúor (F). A microdureza do esmalte foi previamente determinada de um dos lados da restauração e a percentagem de mudança de microdureza superficial (% SMC) em relação à linha de base (do outro lado) foi calculado. A concentração de flúor no esmalte também foi avaliada. ANOVA mostrou um SMC% estatisticamente menor no esmalte ao redor dos materiais ionoméricos do que em todo a RC ($p < 0,05$). Este resultado foi suportado por uma concentração de F estatisticamente maior na placa de teste ($P < 0,001$) e no esmalte ($P < 0,001$) restauradas com os materiais ionoméricos quando comparado com a RC. Os resultados sugerem que a curto prazo o modelo in situ testado é útil para o estudo do potencial anticariogênico de materiais dentários que liberam fluoreto.

22. Hara AT, Turssi CP, Ando M, González-Cabezas C, Zero DT, Rodrigues AL Jr, Serra MC, Cury JA. Influence of fluoride-releasing restorative material on root dentine secondary caries in situ. *Caries Res.* 2006;40(5):435-9.

Este estudo testou a hipótese de que as restaurações de cimento de ionômero de vidro, com idade ou novas, não impedem a cárie radicular secundárias, quando dentifrício fluoretado é freqüentemente usada. Dezesseis voluntários utilizaram dispositivos palatinos em duas fases de 14 dias, de acordo com um desenho cruzado 2 x 2. Em cada fase o aparelho estava carregado com blocos de raiz com dentina bovina restaurados com ou ionômero de vidro ou resina composta, seja envelhecido ou nova. As amostras foram expostas a desafio cariogênico 4 vezes / dia e expostas a dentifrício fluoretado 3 vezes / dia. O conteúdo de flúor no biofilme (FB), formado nos espécimes e da perda mineral (DeltaZ) ao redor das restaurações foram analisadas. Não foram encontradas diferenças entre os materiais restauradores sobre o FB eo DeltaZ, para qualquer idade ($p = 0,792$ e $p = 0,645$, respectivamente) ou novas ($p = 1,00$ e $p = 0,278$, respectivamente). Sob o desafio cariogênico e condições de exposição de flúor dos dentifrícios deste estudo, a restauração de ionômero de vidro, seja envelhecido ou nova, não forneceu proteção adicional contra a cárie secundária radicular.

45. Okuyama K, Murata Y, Pereira PN, Miguez PA, Komatsu H, Sano H: Prevention of Artificial Caries: effect of bonding agent, resin composite and topical fluoride application. *Oper Dent* 2006;31:135-142.

Mediram a quantidade de flúor liberado a partir de materiais que contêm flúor, antes e após aplicações diárias de flúor. Para o estudo, um cimento de ionômero de vidro convencional: Fuji II (F2), um cimento ionômero de vidro modificado por resina Fuji II LC (LC), dois "giômeros" Reactmer Colar (RP), e Beautifil (BT), uma resina composta contendo flúor Unifil F (UF) e uma resina composta sem flúor AP-X (AP) foram utilizados. Os discos com os materiais foram armazenados em frascos com 8 ml de água deionizada por 24 horas. A quantidade de flúor liberado na água foi medida durante um período de 24 horas com um eletrodo específico para flúor acoplado a um analisador de íons. Estes procedimentos foram repetidos nos dias 2, 3, 7, 14 e 21. Após 21 dias, todos os espécimes foram expostos a uma solução com 1000 ppm de NaF

durante 5 minutos, uma vez por dia. Este procedimento e a medição da liberação de flúor continuaram durante 14 dias. Após 14 dias, as amostras foram colocadas em água por 7 dias e a liberação de flúor foi medida novamente. No 22º dia (1 dia após o início da exposição ao fluoreto), não houve diferença entre F2 e RP, embora houvesse diferenças significantes entre os grupos de ionômero de vidro e BT e UF. Depois daquele dia, houve diferenças entre os grupos de ionômero de vidro e RP, BT e UF. Todos os materiais mostraram uma diminuição na liberação de flúor 7 dias após o final do período da imersão em solução de flúor. F2, LC, e UF não mostraram diferenças na liberação de flúor. Por outro lado, RP e BT revelaram menor liberação de flúor 1 dia após o término do período de imersão, em comparação com o dia 21. Para AP, a liberação de flúor não foi detectada após o período de imersão no flúor.

27. Peris AR, Mitsui FH, LOBO MM, Bedran-Russo AK, Marchi GM: Adhesive systems and secondary caries formation: Assessment of dentin bond strength, caries lesions depth and fluoride release. Dent Mater 2007;23:308-316.

Avaliaram o comportamento de sistemas adesivos com e sem flúor frente à indução químicodinâmica (ciclagem de pH) de cárie secundária por meio de testes de microtração, análise da profundidade de lesão de cárie e quantificação de liberação de flúor. Foram utilizadas 80 coroas de incisivos bovinos com a dentina vestibular exposta. Sobre essa dentina, foram confeccionados blocos de restaurações utilizando quatro sistemas adesivos (n=20), sendo dois sem flúor (Single Bond e Clearfil SE Bond), e dois com flúor (Optibond Solo Plus e Clearfil Protect Bond), além do compósito resinoso Filtek Z250. Após a confecção das restaurações, metade dos corpos-de-prova foi submetida à indução química de cárie e a outra metade foi considerada controle. Foram realizados sete cortes seriados, com espessura de aproximadamente 1 mm, para obtenção de seis fatias, nas quais foram confeccionadas constrições na interface de união de forma a obter-se uma área de, aproximadamente, 1 mm^2 . Em seguida, isolou-se as amostras com verniz para unha mantendo-se uma área de, aproximadamente, 4 mm^2 de dentina exposta ao redor da interface. Estes espécimes foram submetidos à ciclagem de pH durante 4 dias, sendo 4 horas em solução desmineralizante (DES) e 20 horas diárias imersas em solução remineralizante (RE). Após a ciclagem, quatro espécimes experimentais e os espécimes dos grupos controles foram submetidos ao ensaio de microtração. Após o ensaio, as duas porções fraturadas de cada espécime foram avaliadas em MEV para análise dos padrões de fratura. Os dois espécimes restantes foram avaliados quanto à profundidade de lesão em microscópio de luz polarizada, nas distâncias de 5, 10 e $25 \mu\text{m}$ a partir da interface. A concentração de íons flúor nas soluções DES-RE foi quantificada utilizando eletrodo específico calibrado com soluções preparadas com TISAB III. Para a resistência à microtração, independente do sistema adesivo, não foi verificada diferença significativa entre os espécimes do grupo controle. Após a ciclagem, foi observada uma redução nos valores de resistência de união significativa para todos os adesivos, mantendo-se, no entanto, a ausência de diferença significativa entre os adesivos. Em relação à profundidade de cárie, houve apenas diferença significativa entre os adesivos na distância de $5 \mu\text{m}$, na qual o adesivo com flúor Optibond Solo Plus

apresentou menor lesão. Para a quantificação de flúor, encontrou-se concentração de flúor abaixo de 0,03 ppm, ou seja, abaixo da curva de sensibilidade do eletrodo. A cárie secundária reduziu a resistência de união das restaurações e o flúor presente nos sistemas adesivos não se mostrou efetivo na manutenção dos valores de resistência de união e redução da profundidade da lesão após a indução de cárie secundária.

23. Cenci MS, Tenuta LM, Pereira-Cenci T, Del Bel Cury AA, ten Cate JM, Cury JA. Effect of microleakage and fluoride on enamel-dentine demineralization around restorations. *Caries Res.* 2008;42(5):369-79.

Este estudo aleatório, duplo-cego e cruzado, foi realizado para avaliar in situ o efeito de infiltração ao redor de cárie de esmalte-dentina na presença de F a partir de materiais dentários ou dentífrico, isoladamente ou em combinação. Em 4 fases de 14 dias cada, 14 voluntários utilizaram dispositivos palatinos contendo blocos dentários restaurados com resina composta (RC) ou cimento de ionômero de vidro modificado por resina (GI). Restaurações foram feitas sem fendas (L-), seguindo os procedimentos recomendados, e com fendas (L+), na ausência de procedimentos adesivos. A placa do biofilme (PLB) foi deixada a acumular-se sobre os espécimes restaurados, que foram expostos a solução de sacarose a 20% 10x/day. Os voluntários utilizado um dentífrico livre de flúor (NF) ou um com F (FD) 3x/dia, dependendo da fase experimental. Não foram encontradas diferenças entre L+ ou L- ($p > 0,05$). Maior desmineralização em esmalte e dentina ao redor de restaurações CR foi observado sob NF ($p < 0,05$). A concentração de F foi mais elevada no fluido de PLB exposto a FD ou formada na restauração GI ($p < 0,05$). Estes resultados sugerem que, embora a infiltração não afete o desenvolvimento da cárie, GI ou FD podem manter os níveis de F aumentou da PLB, diminuindo assim a progressão da cárie.

46. Wang L, Honorio HM, Rios D, Delbem ACB, Palma-Dibb, Buzalaf MAR, Atta MT. \short-term in situ/ex vivo study of the anticariogênico potencial of a resin-modified glass-ionomer cement associated with adhesive system. *Quintessence Int.* 2010;41:e192-e199.

Este estudo investigou o comportamento de um cimento ionomérico modificado por resina CIVRM associado com sistema adesivo convencional etch-and-rinse in situ e ex vivo sob desafio cariogênico. Blocos de esmalte bovino foram aleatoriamente designados para o grupo VP, Vitremer + com seu próprio primer (3M ESPE); VSB grupo, Vitremer + Single Bond (3M ESPE) e VPB grupo, Vitremer + Prime e Bond 2.1 (Dentsply). Dois blocos de cada grupo foram aleatoriamente colocados em um aparelho palatal de acrílico, de modo que cada aparelho incluía seis blocos. Os voluntários ($n = 10$) utilizaram estes dispositivos de acordo com as instruções dadas para promover um desafio de sacarose oito vezes / dia durante 15 dias. Após este período, os blocos foram removidos dos dispositivos e limpos, e a desmineralização foi avaliada através de análise de microdureza (Knoop penetrador, 25 g / 5 s). Os dados foram submetidos a ANOVA e teste de Tukey ($P < 0,05$). Nenhum tratamento foi capaz de evitar completamente a desmineralização. Todos os materiais apresentaram uma diferença estatisticamente significativa na perda de mineral, quando a microdureza do esmalte exterior foi comparada com as regiões mais profundas ($P < .05$). Associação dos CIVMRs testado com sistemas adesivos etch-and-

rinse DBAs não parecem ser mais benéfico contra a cárie do que o tratamento convencional com CIVMR.

47. Barbosa RPS, Pereira-Cenci T, Silva WM, Coelho-de-Souza FH, Demarco FF, Cenci MS. Effect of cariogênico biofilm challenge on the surface hardness of direct restorative materials in situ. J Dent 2012; 40: 359-363.

Este estudo avaliou *in situ* as alterações na microdureza da superfície de materiais sob acúmulo de biofilme e desafio cariogênico. Em split-mouth, duplo-cego, cruzado, 10 voluntários utilizaram dispositivos palatais intra-orais contendo blocos de esmalte bovinos restaurados com resina composta (RC - Z250) ou cimento de ionômero de vidro modificado por resina (RMGI - Vitremer). Duas fases de 14 dias foram realizadas, um para cada material restaurador. Em um dos lados do dispositivo, o biofilme foi acumulada sob uma malha de plástico, enquanto que no lado oposto, os espécimes foram escovados regularmente três vezes / dia com um dentífrico contendo 1100 F. A solução de sacarose a 20% foi aplicada extra-oralmente 10 x / dia em cada espécime. O teste de microdureza Knoop foi utilizado para calcular a porcentagem de perda de dureza de superfície (% SS). Todos os materiais mostraram uma diminuição na dureza da superfície após o período *in situ*. Os materiais restauradores apresentaram o seguinte média para % SS: RMGI sem biofilme acumulação = 8,9 e com acúmulo de biofilme = 25,6, CR sem biofilme acumulação = 14,7 e com acúmulo de biofilme = 17,0. A acumulação de biofilme e a presença de desafio cariogênico promoveu degradação mais rápida dos materiais ionoméricos, mas isto não foi observado para o compósito.

48. Honorio HM, Rios D, Santos CF, Magalhaes AC, Buzalaf MAR, Machado MAAM. Effects of erosive, cariogenic or combined erosive/cariogenic challenges on human enamel. Caries Res 2008;42:454-459.

Para testar *in situ* / *ex vivo* de uma combinação desses desafios, 11 indivíduos utilizaram dispositivos intra-orais contendo quatro blocos de esmalte aleatoriamente. Durante a primeira fase de 2 semanas, os aparelhos foram mergulhadas em uma bebida de cola 3 vezes / dia. Dois blocos foram livres de placa (erosão apenas: EO) e dois blocos foram cobertos com placa (erosão + placa: EP). Na segunda fase de 2 semanas, quatro novos blocos estavam cobertas com placas e submetida a uma solução de sacarose a 8 vezes / dia. Entre os quatro novos blocos, dois foram também submetidas à bebida de cola 3 vezes / dia (erosão + cárie: EC), enquanto os outros dois não foram (cárie apenas: CO). Assim, de óxido de etileno, os espécimes foram fixados no nível de aparelho intraoral. Em PE, CE e CO foram fixados 1,0 milímetro sob o nível do aparelho e coberto com malhas de plástico para o acúmulo de placa bacteriana. Alterações no desgaste e dureza foram medidas. Os dados foram testados por ANOVA e teste de Tukey ($p < 0,05$). Os dados sugerem que a presença de placa dentária pode diminuir o ataque ácido de uma bebida erosiva e a associação dos desafios erosivos e cariogênico mostraram alterações menos do esmalte, quando comparado aos desafios erosivos ou cariogênico somente.

4.2. Materiais e Método completo

Preparo dos dentes

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (CEP PUCPR – 5810 2010). Trinta terceiros molares humanos hígidos, com indicação para exodontia, obtidos junto ao Banco de Dentes da PUCPR. Os dentes foram limpos, imediatamente após a extração, utilizando curetas manuais e estocados em solução de cloramina T 0,05 % a 4 °C por, no máximo, 3 meses.

Confecção dos preparos cavitários

Preparos cavitários de Classe V (Figura 1) com 1,5 mm de profundidade, 2 mm de diâmetro foram preparados com ponta diamantada cilíndrica auto-limitante #2294 (KG Sorensen, São Paulo, SP, Brasil), em alta rotação (Kavo do Brasil, Joinville, SC, Brasil) sob refrigeração constante. Os preparos apresentavam margem oclusal em esmalte e margem cervical em dentina. Os dentes foram armazenados em umidade relativa em estufa a 37 °C, durante 24 horas.



Figura 1: Aspecto da cavidade classe V com margem cervical em dentina e esmalte.

Os dentes foram seccionados no sentido mesio-distal, separando a face vestibular da lingual utilizando disco diamantado (Extec Corp., Enfield, CT) em cortadeira metalográfica de alta precisão (Isomet 1000, Buehler, Lake Bluff, IL) em baixa rotação com irrigação constante.

Sessenta blocos (5 mm X 5 mm) (Figura 2) foram obtidos e desgastados até a obtenção de 2 mm de espessura em uma politriz rotatória (APL-4, Arotec,

Cotia, SP, Brasil) (Figura 1-E/F) com lixas de SiC com granulação de #600, #800 e #1200 (3M do Brasil, Sumaré, SP, Brasil). As dimensões finais dos espécimes foram verificadas com paquímetro digital (CD-15CX, Mitutoyo Corp., Tóquio, Japão).

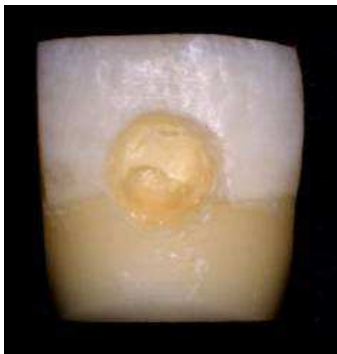


Figura 2: Aspecto do bloco seccionado com 5 mmX 5 mm.

Esterilização dos fragmentos dentais

Após a realização dos preparos cavitários, os fragmentos dentais foram esterilizados em autoclave (Cristófoli Biossegurança – Autoclave Vitale Plus 21, Campo Mourão, Paraná, Brasil).

Formação dos grupos experimentais e restaurações

Os fragmentos dentais foram divididos aleatoriamente em quatro grupos experimentais com 15 espécimes cada, de acordo com os materiais utilizados (Tabela 1, Figura 3).

Tabela 1. Descrição dos materiais utilizados nos grupos do estudo.

Grupo	Nome comercial	Classificação	Composição
KM	Ketac Molar EasyMix 3M ESPE	Cimento de ionômero de vidro convencional	Pó: Vidro de fuorsilicato de alumínio, lantânio e cálcio. Líquido: Água, copolímero de ácido acrílico e ácido maleico, ácido tartárico e ácido benzoico.
VB	Vitrebond 3M ESPE	Cimento de ionômero de vidro resino-modificado	Pó: Vidro de flúor-alumino-silicato Líquido: Copolímero do ác. polialcenóico, água, HEMA e fotoativador
OP	Optibond Solo Plus Kerr Dental	Sistema adesivo convencional de 3 passos	Bis-GMA, HEMA, GPDM, fluorsilicato de sódio, fotoiniciador, etanol e água
SB2	Adper Single Bond 2 3M ESPE	Sistema adesivo convencional de 2	BisGMA, HEMA, sílica coloidal, água e etanol

passos

Bis-GMA=bisfenol-glicidil-dimetacrilato; HEMA=hidroxietilmetacrilato; MMA= metil metacrilato; MAC-10=metacriloxiundecano ácido dicarboxílico; 10 MDP=10-metacriloloxidecil dihidrogenio fosfato; GPDM=glicidilfosfato-dimetacrilato; PENTA= dipentaeritritol penta acrilato monofosfato.



Figura 3: Materiais utilizados no estudo.

Para o grupo KM, foi realizado o forramento da parede de fundo e cervical em dentina com cimento de ionômero de vidro convencional, na técnica de sanduíche aberto, Ketac Molar EasyMix (3M ESPE, St. Paul, MN). O pré-condicionamento da dentina foi realizado com o líquido do produto (Figura 4-A), o qual foi aplicado ativamente sobre a dentina durante 30 s com um aplicador descartável (KG Brush, KG Sorensen, São Paulo, Brasil). Em seguida, as cavidades foram lavadas abundantemente com spray água/ar durante 20 s e secas com jato de ar livre de óleo durante 10 s. A proporção pó/líquido utilizada foi de 1:1, conforme recomendação do fabricante. A manipulação do cimento foi realizada sobre uma placa de vidro de 20 mm de espessura, aglutinando o pó ao líquido com espátula plástica (#142 – SSWhite, Rio de Janeiro, Brasil) (Figura 4-B) até a formação de uma pasta homogênea com brilho superficial. O cimento ionomérico foi inserido na cavidade com uma espessura de aproximadamente 1 mm (Figura 4-C) até a margem externa em dentina e protegido do meio externo com a colocação de uma gaze umedecida com água destilada durante 3,5 min.



Figura 4: A- Pré-condicionamento da dentina, B- Manipulação do cimento, C- Aplicação do cimento na cavidade.

No Grupo VB, o cimento de ionômero de vidro modificado Vitrebond (3M ESPE DentalProducts, St. Paul, MN) foi utilizado. O material foi manipulado (Figura 5-A) e inserido (Figura 5-B) na cavidade da mesma forma que o grupo anterior, mantendo também uma espessura de 1 mm (Figura 5-C). Imediatamente após a inserção, o material foi fotopolimerizado com um aparelho de luz halógena com 600 mW/cm² de irradiância (Optilux VLC 501, Demetron Research Corp, Danbury, CT) por 40 s.

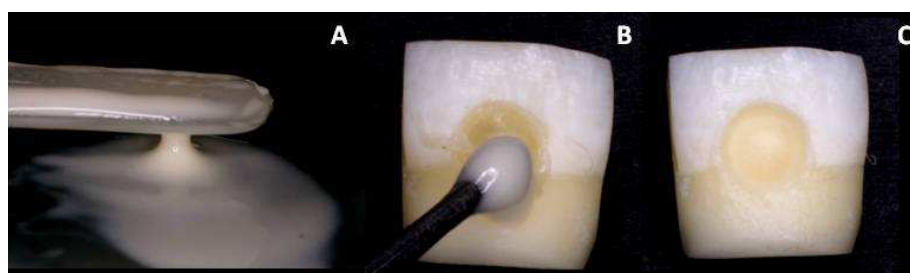


Figura 5: Manipulação do cimento, B- Aplicação do cimento na cavidade, C- Aspecto da cavidade com o cimento aplicado.

Para os grupos KM e VB, após a polimerização dos materiais, o esmalte foi condicionado com ácido fosfórico 37% (3M ESPE, St. Paul, MN) (Figura 6-A) durante 30 s, lavado com spray água/ar durante 20 s e seco com jato de ar por 10 s. O adesivo Scotchbond Multi Purpose (3M ESPE, St. Paul, MN) foi aplicado sobre o esmalte e o cimento de ionômero de vidro com um aplicador descartável (KGBrush, KG Sorensen, São Paulo, SP, Brasil) (Figura 6-B) e fotoativado durante 20 s com aparelho fotopolimerizador de luz halógena (Optilux VLC 501, Demetron Research Corp, Danbury, CT). As cavidades foram restauradas com resina composta Filtek Z350 (3M ESPE, St. Paul, MN), utilizando 4 incrementos oblíquos (Figura 6-C), fotopolimerizados por 20 s cada, com a mesma unidade fotopolimerizadora.

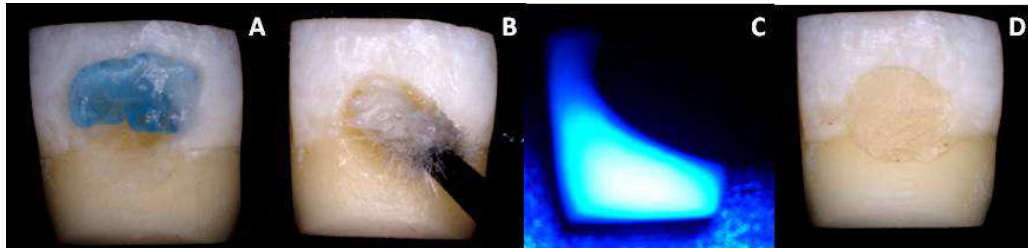


Figura 6: A- Aplicação de ácido fosfórico no esmalte, B- Aplicação do adesivo, C- Fotopolimerização durante 20 s com aparelho de luz halógena (Optilux VLC 501, Demetron Research Corp, Danbury, CT, EUA) e D-Cavidade restaurada.

Para o grupo OP, foi utilizado o sistema adesivo OptiBond Solo Plus (Kerr Dental, Orange, CA). O condicionamento com ácido fosfórico 37% (3M-ESPE, St. Paul, MN) (Figura 7-A) foi iniciado pela margem de esmalte e, em seguida, aplicado na dentina por 20 s. Após este tempo, as cavidades foram lavadas com spray água/ar durante 20 s e o excesso de água removido com papel absorvente (Figura 7-B), tomando o cuidado para não secar demais as cavidades, deixando a dentina com brilho. O primer foi aplicado com aplicador descartável (KG Brush, KG Sorensen, São Paulo, SP, Brasil) (Figura 7-C) esfregando na cavidade durante 15 s, seguido de leve jato de ar durante 5s. Em seguida o adesivo foi aplicado (Figura 7-D) com outro aplicador também esfregando na cavidade durante 15 s, seguido de leve jato de ar durante 3 s. O adesivo foi fotopolimerizado durante 20 s, com a mesma unidade fotopolimerizadora.

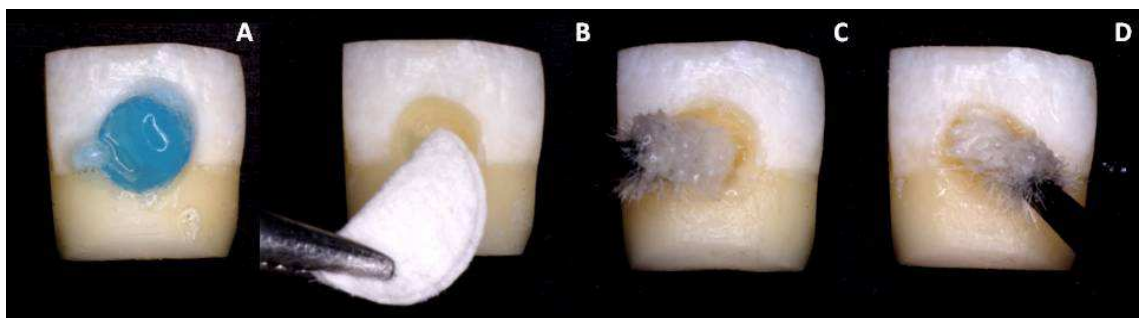


Figura 7: A- Condicionamento ácido na cavidade, B-Remoção do excesso de água com papel absorvente, C- Aplicação do Primer, D- Aplicação do Adesivo.

No grupo SB2, as cavidades receberam o sistema adesivo Adper Single Bond 2 (3M ESPE, St. Paul, MN). O condicionamento com ácido fosfórico 37% (3M- ESPE, St. Paul, MN) (Figura 8-A) foi iniciado pela margem de esmalte e, em seguida, aplicado na dentina por 20 s. Após este tempo, as cavidades foram lavadas com spray água/ar durante 20 s e o excesso de água removido com papel absorvente (Figura 8-B), tomando o cuidado para não secar demais as cavidades, deixando a dentina com brilho. O sistema adesivo foi aplicado com aplicador descartável (KG Brush, KG Sorensen, São Paulo, SP, Brasil) (Figura 8-C) esfregando na cavidade durante 15 s, seguido de leve jato de ar durante 5 s. O adesivo foi fotopolimerizado durante 10 s, com a mesma unidade fotopolimerizadora.

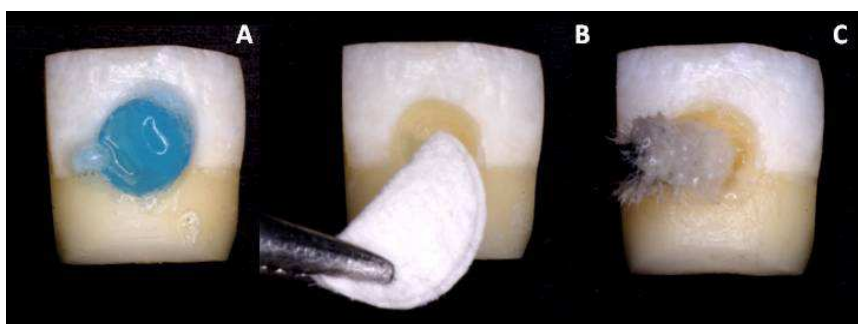


Figura 8: A- Condicionamento ácido na cavidade, B-Remoção do excesso de água com papel absorvente, C- Aplicação do sistema adesivo.

Para os grupos OP e SB2, as cavidades foram restauradas com resina composta Filtek Z350 (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA) (Figura 8-A), utilizando 4 incrementos oblíquos, fotopolimerizados utilizando um aparelho fotopolimerizador de luz halógena (Optilux VLC 501, Demetron Research Corp, Danbury, CT) (Figura 8-B) por 20 s cada incremento. Em seguida, todos os espécimes foram armazenados em um recipiente à prova de luz em umidade relativa e em estufa a 37°C, durante 24h. Os espécimes foram polidos com discos abrasivos finos e extra-finos (Sof-Lex, 3M ESPE, St. Paul, MN) (Figura 9) e pasta diamantada com discos de feltro (Diamond Master, FGM Produtos Odontológicos Ltda., Joinville, Brasil), durante 15 s cada.

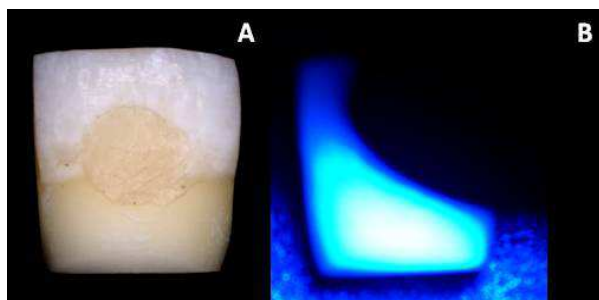


Figura 8: A-Restauração em resina composta Filtek Z350XT(3M ESPE, St. Paul, MN, EUA). B- Fotopolimerização durante 20 s com aparelho de luz halógena (Optilux VLC 501, Demetron Research Corp, Danbury, CT, EUA).

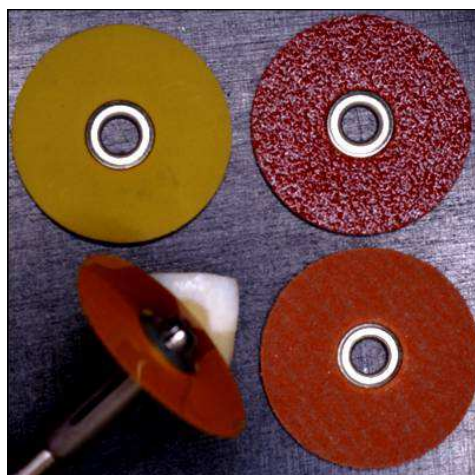


Figura 9: Discos abrasivos de granulação fina e extrafina (Sof-Lex, 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA).

Fase Clínica

Para a fase clínica foram selecionados quinze voluntários adultos para participarem da pesquisa. Os critérios de inclusão dos voluntários foram: 1) apresentar bom estado de saúde geral e oral; 2) não ter utilizado antibióticos nos últimos dois meses, pois afetam a microbiota oral e, com isso, a resposta ao modelo adotado; 3) não ser fumante; 4) não ter consumido medicamentos que afetam o fluxo salivar. Os critérios de exclusão adotados foram: 1) apresentar algum processo infeccioso durante o experimento; 2) não utilizar a solução de sacarose conforme as recomendações da pesquisa; 3) apresentar má higiene oral durante o período de uso do dispositivo. Os voluntários

assinaram um termo de Consentimento Livre e Esclarecido contendo os principais aspectos da pesquisa (Anexo 4.4).

Todas as recomendações e orientações sobre os procedimentos realizados durante o experimento foram impressos e entregues aos voluntários (Anexo 4.5). As recomendações incluíam a ingestão de água necessariamente de abastecimento público da cidade de moradia (Curitiba, Brasil); durante o estudo e 10 dias antes, apenas o dentifrício fluoretado e a escova dental fornecidos deveriam ser utilizados, não podendo utilizar outro produto contendo flúor; o dispositivo palatal deveria ser utilizado diariamente, inclusive para dormir, e retirado somente durante as refeições e higiene oral; para a higiene oral, o voluntário deveria remover o dispositivo e higienizá-lo fora da boca 3 vezes ao dia utilizando somente a escova e o dentifrício fornecidos pelo pesquisador; a solução de sacarose 20% deveria ser gotejada 8x ao dia sobre os espécimes, seguido de um tempo de espera de 5 min e recolocação do dispositivo na boca; qualquer dano ou problema com o dispositivo intrabucal deveria ser comunicado imediatamente ao pesquisador.

Preparação do dispositivo palatal

Os voluntários tiveram seus arcos superiores moldados com alginato (Cavex Orthotrace, Cavex, Haarlem, Holanda) e os modelos confeccionados em gesso pedra (Vigodent, Rio de Janeiro, Brasil). Os dispositivos foram confeccionados em resina acrílica (Figura 10) e 4 cavidades (6 mm X 6 mm X 3 mm) foram confeccionadas na região dos molares, 2 de cada lado (Figura 11-A). No lado esquerdo, foram fixados com cera pagajosa os fragmentos restaurados com resina composta e sistemas adesivos fluoretados. No lado direito, os fragmentos restaurados com resina composta e forramento com cimentos ionoméricos (sanduíche aberto). Os fragmentos receberam uma tela de poliéster sobre a sua superfície a fim de permitir o acúmulo de biofilme e protegê-los de perturbação mecânica (Figura 11-B).



Figura 10: Dispositivo palatal.

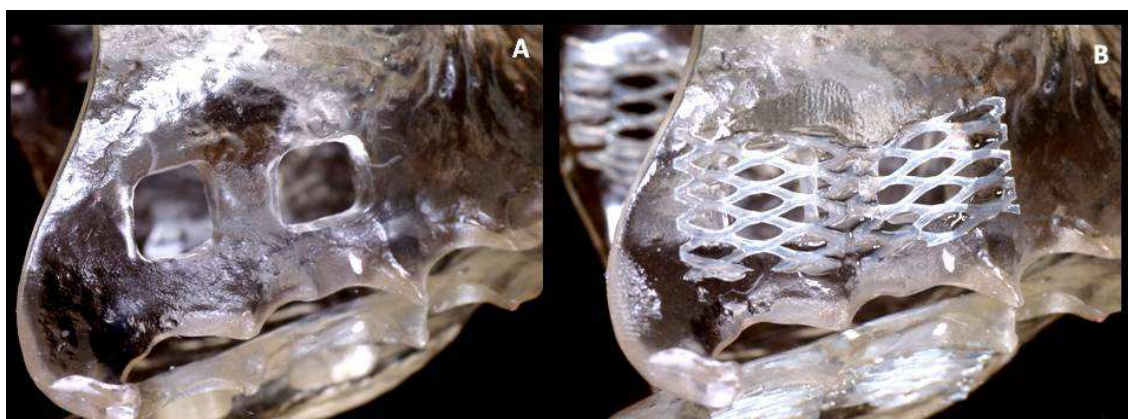


Figura 11: A- Cavidades confeccionadas no dispositivo palatal, B- tela de poliéster

Fase intra-oral

Durante os 7 dias de tratamento intra-oral, os voluntários utilizaram o dispositivo contendo os espécimes. A higiene oral com dentifrício fluoretado (Dentifrício Sorriso Dentes Brancos, 1.500 mgF/g, Colgate-Palmolive, São Paulo, SP, Brasil) e escova dental de cerdas macias (Procter & Gamble do Brasil, São Paulo, SP, Brasil) três vezes ao dia, durante 5 min, depois das refeições e nos horários em que os voluntários habitualmente realizavam sua higiene oral. Os dispositivos não foram escovados, apenas lavados com água corrente para evitar a perturbação do biofilme. Todos os voluntários foram autorizados a retirar os dispositivos somente durante as refeições e para o desempenho da higiene oral.

Para o desafio cariogênico, os voluntários foram orientados a tirar o dispositivo da boca, remover o excesso de saliva com gaze e gotejar uma gota de solução de sacarose 20% em cada tela acima do espécime (Figura 12), oito

vezes por dia em horários pré-determinados. Antes de recolocar o dispositivo palatal na boca, um período de 5 min de espera foi instruído para permitir a difusão de sacarose no biofilme dental.

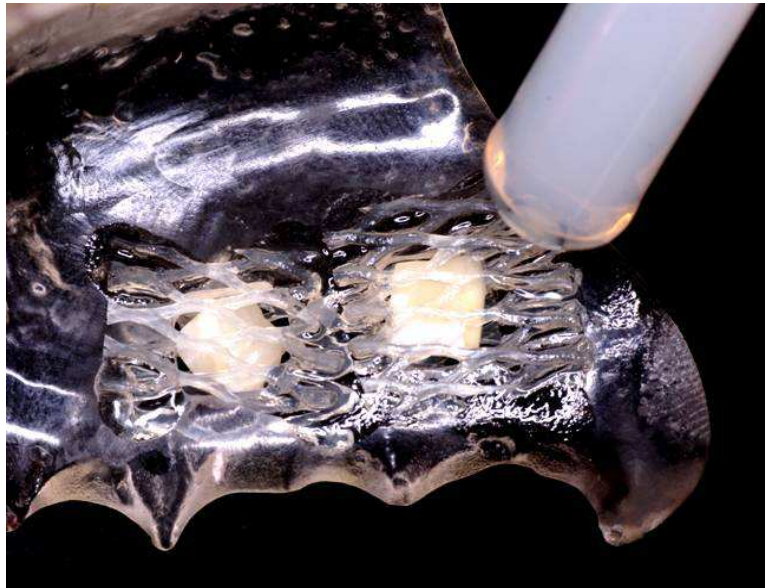


Figura 12: Gotejamento da solução de sacarose 20% em cada tela acima do espécime.

Preparo dos blocos

Os espécimes foram seccionados longitudinalmente no centro da restauração com disco diamantado (Extec Corp., Enfield, CT) em cortadeira metalográfica de alta precisão (Isomet 1000, Buehler, Lake Bluff, IL) em baixa rotação com irrigação constante, separando-os em 2 blocos com exposição das margens das restaurações (Figura 13). Uma parte foi incluída em resina epóxica (Resina Epóxi, Epoxiglass, Diadema, Brasil) para a análise de microdureza Knoop e a outra parte foi seccionada longitudinalmente para obtenção de uma lâmina com 500 μm de espessura para análise em EDS (Figura 1-I). Ambas as partes foram polidas em politriz rotatória com lixas de SiC com granulação #800 e #1200, sob irrigação.



Figura 13: Aspecto do espécime após o corte com disco diamantado.

Avaliação de microdureza Knoop da dentina e do esmalte

A avaliação da microdureza Knoop foi realizada na interface adesiva das restaurações com o microdurômetro (HVM-2T, Shimadzu Corp., Tóquio, Japão) e uma carga estática de 10 g aplicada durante 15 s sobre a dentina e com uma carga de 25 g por 15 s para o esmalte. A Figura 3 apresenta pontos das endentações, os quais foram realizados a 25 μm , 50 μm e 100 μm da superfície externa (profundidades) e em 25 μm e 75 μm a partir da interface (distâncias) (Figura 14).

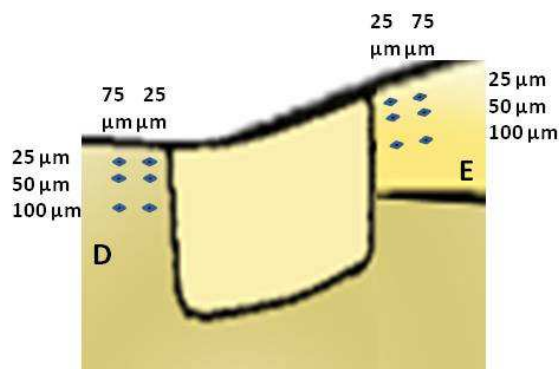


Figura 14: Desenho esquemático demonstrando as distâncias e profundidades para das endentações no teste de microdureza Knoop e das leituras em EDS.

Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS)

Para a análise de espectroscopia de energia dispersiva (EDS) foram utilizados 5 espécimes de cada grupo. Os fragmentos foram armazenados em um dissecador com sílica para a desidratação, durante 10 dias. As amostras foram observadas em microscópio eletrônico de varredura (JSM – 5600 – JEOL Inc, Tóquio, Japão), equipado com um espectroscópio de dispersão de energia (EDS), sob 20.0 kV de voltagem e 450X de magnificação. As avaliações em EDS quantificaram os níveis de cálcio, fósforo e outros componentes dos tecidos nas mesmas profundidades e distâncias já descritas no teste de microdureza Knoop (Figura 14-16).

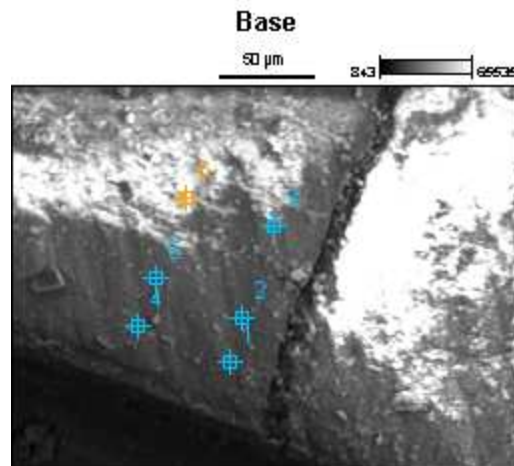


Figura 15: Espectroscópio de dispersão de energia (EDS).

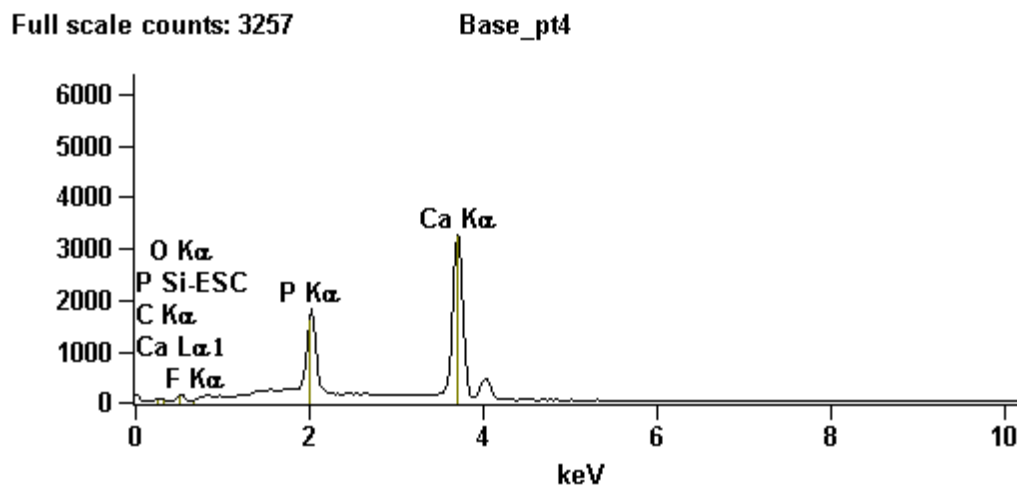


Figura 16: Gráfico da espectroscopia de dispersão de energia (EDS).

Análise estatística

Os valores médios de microdureza foram submetidos ao teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov e de Teste de Lèvene para a verificação da homogeneidade de variâncias. A análise de variância a dois critérios (ANOVA) foi utilizada, onde os fatores considerados foram material e localização. As comparações múltiplas foram realizadas por meio de teste de Games-Howell. Todos os testes foram realizados com nível de significância de 5%. Os programas utilizados para análises estatísticas foram Statistica 7.0 (StatSoft Inc., Tulsa, AZ) e SPSS 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL).

4.3. Termo de consentimento livre e esclarecido



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
ESCOLA DE SAÚDE E BIOCÊNCIAS
CURSO DE ODONTOLOGIA

O DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, _____, de
nacionalidade _____, nascido em ____/____/_____, estado civil
_____, residente na Rua
_____, número _____, complemento _____, bairro
_____, CEP _____- _____, portador do RG
_____, trabalho com _____,
telefone _____, estou sendo convidado a participar de um
estudo denominado “Avaliação *in situ* do efeito anticariogênico de materiais
fluoretados sobre os tecidos dentários”, cujo objetivo é avaliar a capacidade de
materiais fluoretados na inibição de cárie secundária e sua progressão.

Atualmente, os sistemas adesivos têm sido modificados para uma melhora na
adesão aos tecidos dentais, mas pouco se sabe sobre os efeitos dos adesivos
fluoretados frente ao desafio cariogênico e se os componentes adicionais são eficazes
para evitar o desenvolvimento de cárie. Embora o potencial cariostático de materiais
que liberam íons flúor seja bem documentado na literatura, tanto em esmalte como em
dentina, faz-se necessário uma avaliação entre esse recurso de prevenção da
formação e progressão da cárie adjacente à restauração.

Estou ciente que terei de usar por 07 dias consecutivos um aparelho removível
de resina acrílica, no arco superior, com 4 fragmentos de dentes, provenientes do
Banco de Dentes Humanos da PUCPR. Os dentes estarão devidamente esterilizados.
Os materiais envolvidos na referida pesquisas serão: Ketac™ Molar Easy Mix (3M –
ESPE), Vitremer (3M – ESPE), Single Bond 2 (3M – ESPE), OptiBond Solo Plus (Kerr)
e resina composta Filtek Z350 XT (3M – ESPE). E ainda que terei que gotejar
sacarose 8X ao dia sobre as amostras fixadas no dispositivo palatal, aguardar 5
minutos e recolocar o dispositivo na boca. O gotejamento deverá ser feito às 8:00h,
9:30h, 11:00h, 14:00h, 15:30h, 17:00h, 19:00h e 21:00h. Para a higiene, deverei

remover o dispositivo e higienizá-lo fora da boca, utilizando somente a escova e o dentífrico fornecido. A higiene deverá ser realizada três vezes ao dia. Depois desse tempo, devolverei o aparelho para a pesquisadora que fará os testes da pesquisa nos fragmentos de dente restaurados com os materiais utilizados no estudo.

Recebi, por outro lado, os esclarecimentos necessários sobre os possíveis desconfortos e riscos decorrentes do estudo, levando-se em conta que é uma pesquisa, e os resultados positivos ou negativos somente serão obtidos após a sua realização. Estou ciente de que pode acontecer uma discreta halitose durante o período experimental, o que poderá ser atenuado com adequada higiene oral bem como limpeza do dispositivo. O uso da sacarose será apenas como gotas sobre os blocos de esmalte presentes nos dispositivos intra-orais, não implicando em qualquer aumento de cárie dental. Fui advertido(a) que o dispositivo intra-oral pode causar um leve desconforto, que é semelhante ao desconforto causado por um aparelho ortodôntico móvel e que deverei utilizar durante o período da pesquisa apenas dentífricos fluoretados. Fui orientado a realizarem uma melhor higiene bucal e, além disso, eles continuarão ingerindo água de abastecimento de Curitiba, que é fluoretada. O benefício será um auxílio indireto, contribuindo para a realização deste projeto e para a ciência como um todo.

Estou ciente de que minha privacidade será respeitada, ou seja, meu nome ou qualquer outro dado ou elemento que possa, de qualquer forma, me identificar, será mantido em sigilo.

Também fui informado de que posso me recusar a participar do estudo, ou retirar meu consentimento a qualquer momento, sem precisar justificar, e que, por desejar sair da pesquisa, não sofrerei qualquer prejuízo à assistência que venho recebendo.

Os pesquisadores envolvidos com o referido projeto são a aluna de Pós-Graduação Giovanna Andraus Kirsten e Orientadora Prof. Evelise Machado de Souza, e poderei manter contato pelos telefones (41) 84445343 ou (41) 91348384 ou email : giovanna.kirsten@gmail.com

É assegurada a assistência durante toda pesquisa, bem como me é garantido o livre acesso a todas as informações e esclarecimentos adicionais sobre o estudo e suas consequências, tudo o que eu queira saber antes, durante e depois da minha participação.

Tendo sido orientado quanto ao teor de tudo aqui mencionado e compreendido a natureza e o objetivo do já referido estudo, manifesto meu livre consentimento em participar, estando totalmente ciente de que não há nenhum valor econômico, a receber ou a pagar, por minha participação.

No entanto, caso eu tenha qualquer despesa decorrente da participação na pesquisa, haverá ressarcimento na forma seguinte: após a apresentação da nota fiscal constando o valor, após 2 dias úteis será depositado em conta-corrente. De igual maneira, caso ocorra algum dano decorrente da minha participação no estudo, serei devidamente indenizado, conforme determina a lei.

Em caso de reclamação ou qualquer tipo de denúncia sobre este estudo devo ligar para o CEP PUCPR (41) 3271-2292 ou mandar um *email* para nep@pucpr.br

Curitiba, _____ de _____ de _____.

Nome e assinatura do sujeito da pesquisa

Nome(s) e assinatura(s) do(s) pesquisador(es) responsável(responsáveis)

4.4. Informações e Instruções aos participantes da pesquisa



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ ESCOLA DE SAÚDE E BIOCÊNCIAS CURSO DE ODONTOLOGIA

Informações e Instruções aos participantes da pesquisa intitulada “Avaliação *in situ* do efeito anticariogênico de materiais fluoretados sobre os tecidos dentários”.

1. A água ingerida deverá ser necessariamente a de abastecimento público de Curitiba.
2. Durante o estudo e 10 dias antes, apenas o dentifrício fluoretado fornecido deverá ser utilizado, não podendo utilizar outro produto contendo flúor.
3. O dispositivo palatal deverá ser utilizado diariamente, inclusive para dormir, exceto durante as refeições e higiene oral, sendo que, nestes períodos, os aparelhos deverão ser acondicionados na caixa plástica fornecido contendo no seu interior um algodão umedecido;
4. Para a higiene, remover o dispositivo e higieniza-lo fora da boca, utilizando somente a escova e o dentifrício fornecido. A higiene deverá ser realizada três vezes ao dia.
5. Será fornecido solução de sacarose 20% em frasco conta-gotas. O voluntário deverá gotejar sacarose 8X ao dia sobre as amostras, esperar 5 minutos e colocar o dispositivo na boca. O gotejamento deverá ser feito às 8:00h, 9:30h, 11:00h, 14:00h, 15:30h, 17:00h, 19:00h e 21:00h.
6. Não será solicitada nenhuma mudança nos hábitos de higiene bucal ou alimentares, somente os fragmentos dentais não poderão ser higienizado;
7. Qualquer dano ou problema com o dispositivo intrabucal deverá ser comunicado imediatamente, pelos telefones: (41) 84445343 ou (41) 91348384 ou email : giovanna.kirsten@gmail.com

4.5. Tabelas e Gráficos da análise estatística

Material x Profundidade		Kolmogorov-Smirnov ²			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Valor p	Statistic	df	Valor p
Ca Esmalte	KM/25 x 25	,262	5	0,20000	,905	5	0,43811
	KM/25 x 50	,216	5	0,20000	,878	5	0,29934
	KM/25 x 100	,203	5	0,20000	,972	5	0,88717
	KM/75 x 25	,218	5	0,20000	,965	5	0,84074
	KM/75 x 50	,242	5	0,20000	,925	5	0,56077
	KM/75 x 100	,213	5	0,20000	,973	5	0,89638
	VB/25 x 25	,267	5	0,20000	,854	5	0,20678
	VB/25 x 50	,333	5	0,07351	,813	5	0,10336
	VB/25 x 100	,234	5	0,20000	,943	5	0,68681
	VB/75 x 25	,263	5	0,20000	,825	5	0,12677
	VB/75 x 50	,232	5	0,20000	,887	5	0,34050
	VB/75 x 100	,400	5	0,00869	,629	5	0,00149
	OB/25 x 25	,220	5	0,20000	,953	5	0,75639
	OB/25 x 50	,433	5	0,00255	,673	5	0,00488
	OB/25 x 100	,229	5	0,20000	,926	5	0,56695
	OB/75 x 25	,190	5	0,20000	,972	5	0,88805
	OB/75 x 50	,248	5	0,20000	,894	5	0,37645
	OB/75 x 100	,173	5	0,20000	,955	5	0,76936
	SB2/25 x 25	,287	5	0,20000	,903	5	0,42869
	SB2/25 x 50	,184	5	0,20000	,967	5	0,85568
	SB2/25 x 100	,195	5	0,20000	,956	5	0,78211
	SB2/75 x 25	,209	5	0,20000	,926	5	0,56677
	SB2/75 x 50	,220	5	0,20000	,929	5	0,59245
	SB2/75 x 100	,259	5	0,20000	,945	5	0,70045
P Esmalte	KM/25 x 25	,215	5	0,20000	,897	5	0,39421
	KM/25 x 50	,224	5	0,20000	,919	5	0,52650
	KM/25 x 100	,169	5	0,20000	,969	5	0,86919
	KM/75 x 25	,205	5	0,20000	,973	5	0,89280
	KM/75 x 50	,340	5	0,05959	,825	5	0,12665
	KM/75 x 100	,237	5	0,20000	,922	5	0,54446
	VB/25 x 25	,182	5	0,20000	,980	5	0,93696
	VB/25 x 50	,272	5	0,20000	,917	5	0,51150
	VB/25 x 100	,190	5	0,20000	,965	5	0,84107
	VB/75 x 25	,257	5	0,20000	,894	5	0,37542
	VB/75 x 50	,388	5	0,01346	,687	5	0,00689
	VB/75 x 100	,231	5	0,20000	,909	5	0,46356
	OB/25 x 25	,173	5	0,20000	,973	5	0,89127
	OB/25 x 50	,190	5	0,20000	,961	5	0,81723
	OB/25 x 100	,210	5	0,20000	,940	5	0,66611
	OB/75 x 25	,271	5	0,20000	,833	5	0,14624
	OB/75 x 50	,223	5	0,20000	,935	5	0,62783
	OB/75 x 100	,158	5	0,20000	,969	5	0,87119
	SB2/25 x 25	,215	5	0,20000	,956	5	0,77697
	SB2/25 x 50	,189	5	0,20000	,936	5	0,64028
	SB2/25 x 100	,234	5	0,20000	,901	5	0,41371
	SB2/75 x 25	,239	5	0,20000	,869	5	0,26045
	SB2/75 x 50	,303	5	0,15142	,741	5	0,02466
	SB2/75 x 100	,207	5	0,20000	,905	5	0,43655

Ca Dentina	KM/25 x 25	,241	5	0,20000	,956	5	0,78040	
	KM/25 x 50	,209	5	0,20000	,919	5	0,52158	
	KM/25 x 100	,223	5	0,20000	,912	5	0,48032	
	KM/75 x 25	,243	5	0,20000	,857	5	0,21911	
	KM/75 x 50	,296	5	0,17468	,820	5	0,11730	
	KM/75 x 100	,185	5	0,20000	,965	5	0,84160	
	VB/25 x 25	,298	5	0,16868	,812	5	0,10162	
	VB/25 x 50	,211	5	0,20000	,929	5	0,58762	
	VB/25 x 100	,217	5	0,20000	,891	5	0,36180	
	VB/75 x 25	,221	5	0,20000	,956	5	0,78065	
	VB/75 x 50	,287	5	0,20000	,889	5	0,34964	
	VB/75 x 100	,185	5	0,20000	,934	5	0,62158	
	OB/25 x 25	,183	5	0,20000	,963	5	0,83033	
	OB/25 x 50	,258	5	0,20000	,937	5	0,64686	
	OB/25 x 100	,312	5	0,12458	,798	5	0,07758	
	OB/75 x 25	,235	5	0,20000	,876	5	0,29227	
	OB/75 x 50	,290	5	0,19561	,814	5	0,10566	
	OB/75 x 100	,201	5	0,20000	,960	5	0,80869	
	SB2/25 x 25	,274	5	0,20000	,894	5	0,37796	
	SB2/25 x 50	,155	5	0,20000	,983	5	0,94954	
	SB2/25 x 100	,192	5	0,20000	,958	5	0,79155	
	SB2/75 x 25	,217	5	0,20000	,972	5	0,89041	
	SB2/75 x 50	,190	5	0,20000	,959	5	0,80276	
	SB2/75 x 100	,343	5	0,05489	,808	5	0,09361	
	P Dentina	KM/25 x 25	,286	5	0,20000	,845	5	0,17857
		KM/25 x 50	,263	5	0,20000	,791	5	0,06811
		KM/25 x 100	,331	5	0,07656	,819	5	0,11395
		KM/75 x 25	,368	5	0,02579	,834	5	0,15023
		KM/75 x 50	,342	5	0,05686	,847	5	0,18664
		KM/75 x 100	,390	5	0,01250	,678	5	0,00558
		VB/25 x 25	,180	5	0,20000	,944	5	0,69433
		VB/25 x 50	,252	5	0,20000	,929	5	0,58667
VB/25 x 100		,295	5	0,17936	,840	5	0,16566	
VB/75 x 25		,313	5	0,12233	,798	5	0,07767	
VB/75 x 50		,136	5	0,20000	,983	5	0,95108	
VB/75 x 100		,223	5	0,20000	,875	5	0,28584	
OB/25 x 25		,315	5	0,11738	,786	5	0,06235	
OB/25 x 50		,227	5	0,20000	,867	5	0,25335	
OB/25 x 100		,258	5	0,20000	,917	5	0,51222	
OB/75 x 25		,231	5	0,20000	,909	5	0,46452	
OB/75 x 50		,275	5	0,20000	,866	5	0,25223	
OB/75 x 100		,203	5	0,20000	,919	5	0,52643	
SB2/25 x 25		,213	5	0,20000	,966	5	0,85101	
SB2/25 x 50		,203	5	0,20000	,926	5	0,56825	
SB2/25 x 100		,215	5	0,20000	,925	5	0,56075	
SB2/75 x 25		,152	5	0,20000	,985	5	0,95728	
SB2/75 x 50		,227	5	0,20000	,923	5	0,54810	
SB2/75 x 100		,298	5	0,16895	,821	5	0,11972	

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variance

		Levene Statistic	df1	df2	Valor p
Ca Esmalte	Based on Mean	2,131	23	96	0,00573
P Esmalte	Based on Mean	2,145	23	96	0,00535
Ca Dentina	Based on Mean	2,105	23	96	0,00645
P Dentina	Based on Mean	5,033	23	96	0,00000

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Ca Esmalte	KM	30	47,9130	5,43258	,99185	45,8844	49,9416	36,02	62,06
	VB	30	44,8867	4,73564	,86461	43,1183	46,6550	35,12	52,86
	OB	30	43,4487	4,67762	,85401	41,7020	45,1953	34,23	55,58
	SB2	30	40,9940	3,45965	,63164	39,7021	42,2859	35,04	51,82
	Total	120	44,3106	5,21748	,47629	43,3675	45,2537	34,23	62,06
P Esmalte	KM	30	13,0267	,62347	,11383	12,7939	13,2595	11,78	14,29
	VB	30	13,3677	1,05762	,19309	12,9727	13,7626	10,51	14,78
	OB	30	13,3840	,84373	,15404	13,0689	13,6991	11,27	14,66
	SB2	30	13,1533	,85072	,15532	12,8357	13,4710	11,05	14,45
	Total	120	13,2329	,86013	,07852	13,0774	13,3884	10,51	14,78
Ca Dentina	KM	30	43,3630	7,17067	1,30918	40,6854	46,0406	33,21	61,59
	VB	30	35,1200	3,90039	,71211	33,6636	36,5764	28,13	41,17
	OB	30	29,8623	6,16015	1,12468	27,5621	32,1626	20,52	42,15
	SB2	30	33,2080	4,87102	,88932	31,3891	35,0269	24,16	43,48
	Total	120	35,3883	7,49768	,68444	34,0331	36,7436	20,52	61,59
P Dentina	KM	30	11,3653	2,18401	,39874	10,5498	12,1809	6,29	18,22
	VB	30	12,3257	,80383	,14676	12,0255	12,6258	10,61	14,01
	OB	30	12,0843	1,05612	,19282	11,6900	12,4787	10,11	13,61
	SB2	30	12,9840	,70952	,12954	12,7191	13,2489	11,12	14,23
	Total	120	12,1898	1,43256	,13077	11,9309	12,4488	6,29	18,22

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Ca Esmalte	25 x 25	20	44,4660	6,22311	1,39153	41,5535	47,3785	34,23	59,29
	25 x 50	20	44,4930	4,79354	1,07187	42,2496	46,7364	35,32	51,82
	25 x 100	20	45,3335	4,56129	1,01994	43,1988	47,4682	35,53	55,58
	75 x 25	20	43,9465	7,07243	1,58144	40,6365	47,2565	35,04	62,06
	75 x 50	20	42,9680	4,83028	1,08008	40,7074	45,2286	35,12	50,54
	75 x 100	20	44,6565	3,36299	,75199	43,0826	46,2304	38,42	52,12
	Total	120	44,3106	5,21748	,47629	43,3675	45,2537	34,23	62,06
P Esmalte	25 x 25	20	13,1100	1,02395	,22896	12,6308	13,5892	11,05	14,66
	25 x 50	20	13,2580	,88099	,19700	12,8457	13,6703	11,87	14,66
	25 x 100	20	13,5160	,65905	,14737	13,2076	13,8244	12,49	14,78
	75 x 25	20	13,3465	,76175	,17033	12,9900	13,7030	11,78	14,66
	75 x 50	20	13,1245	,72982	,16319	12,7829	13,4661	11,56	14,56
	75 x 100	20	13,0425	1,04725	,23417	12,5524	13,5326	10,51	14,45
	Total	120	13,2329	,86013	,07852	13,0774	13,3884	10,51	14,78
Ca Dentina	25 x 25	20	32,9850	8,22325	1,83878	29,1364	36,8336	20,52	55,75
	25 x 50	20	36,6215	8,59868	1,92272	32,5972	40,6458	24,35	61,59
	25 x 100	20	34,9120	5,82185	1,30180	32,1873	37,6367	22,68	44,89
	75 x 25	20	35,9815	8,81729	1,97161	31,8549	40,1081	21,71	52,92
	75 x 50	20	36,3000	6,24957	1,39745	33,3751	39,2249	22,43	46,47
	75 x 100	20	35,5300	7,11643	1,59128	32,1994	38,8606	22,84	53,93
	Total	120	35,3883	7,49768	,68444	34,0331	36,7436	20,52	61,59
P Dentina	25 x 25	20	12,0870	1,09803	,24553	11,5731	12,6009	10,36	14,23
	25 x 50	20	12,4975	1,16348	,26016	11,9530	13,0420	10,27	14,17
	25 x 100	20	12,4140	1,64749	,36839	11,6430	13,1850	10,52	18,22
	75 x 25	20	11,3100	2,12378	,47489	10,3160	12,3040	6,29	13,80
	75 x 50	20	12,1970	,94375	,21103	11,7553	12,6387	10,11	13,63
	75 x 100	20	12,6335	,99644	,22281	12,1672	13,0998	10,61	14,44
	Total	120	12,1898	1,43256	,13077	11,9309	12,4488	6,29	18,22

Descriptives									
		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Ca Esmalte	KM25 x 25	5	49,9560	6,86358	3,06949	41,4337	58,4783	43,15	59,29
	KM25 x 50	5	49,2420	1,45126	,64903	47,4400	51,0440	47,43	50,61
	KM25 x 100	5	45,4980	4,10491	1,83577	40,4011	50,5949	40,50	51,41
	KM75 x 25	5	49,5260	9,34588	4,17960	37,9216	61,1304	36,02	62,06
	KM75 x 50	5	45,5060	5,08391	2,27359	39,1935	51,8185	37,71	50,54
	KM75 x 100	5	47,7500	3,07718	1,37616	43,9292	51,5708	43,58	52,12
	VB/25 x 25	5	46,6640	3,76107	1,68200	41,9940	51,3340	43,55	52,86
	VB/25 x 50	5	42,1920	5,35807	2,39620	35,5391	48,8449	35,32	46,86
	VB/25 x 100	5	47,1000	3,46414	1,54921	42,7987	51,4013	42,94	51,45
	VB/75 x 25	5	46,1500	6,21708	2,78036	38,4305	53,8695	35,90	50,79
	VB/75 x 50	5	42,4040	6,14394	2,74765	34,7753	50,0327	35,12	48,85
	VB/75 x 100	5	44,8100	1,57485	,70429	42,8546	46,7654	44,00	47,61
	OB/25 x 25	5	40,7100	5,97095	2,67029	33,2961	48,1239	34,23	49,12
	OB/25 x 50	5	42,8200	1,85020	,82744	40,5227	45,1173	41,58	46,10
	OB/25 x 100	5	47,3340	5,22523	2,33679	40,8460	53,8220	41,56	55,58
	OB/75 x 25	5	41,3600	4,27683	1,91266	36,0496	46,6704	36,20	46,96
	OB/75 x 50	5	44,2960	4,76049	2,12895	38,3851	50,2069	36,57	48,86
	OB/75 x 100	5	44,1720	3,94397	1,76380	39,2749	49,0691	38,42	48,29
	SB2/25 x 25	5	40,5340	2,52449	1,12898	37,3994	43,6686	36,45	43,10
	SB2/25 x 50	5	43,7180	5,98736	2,67763	36,2837	51,1523	36,91	51,82
SB2/25 x 100	5	41,4020	3,79659	1,69789	36,6879	46,1161	35,53	45,62	
SB2/75 x 25	5	38,7500	2,49063	1,11384	35,6575	41,8425	35,04	41,31	
SB2/75 x 50	5	39,6660	,53482	,23918	39,0019	40,3301	39,06	40,39	
SB2/75 x 100	5	41,8940	2,09586	,93730	39,2916	44,4964	39,38	45,14	
Total		120	44,3106	5,21748	4,7629	43,3675	45,2537	34,23	62,06
P Esmalte	KM25 x 25	5	12,9680	,86190	,38545	11,8978	14,0382	11,88	13,81
	KM25 x 50	5	13,0380	,94147	,42104	11,8690	14,2070	12,10	14,29
	KM25 x 100	5	13,0280	,10616	,04748	12,8962	13,1598	12,90	13,16
	KM75 x 25	5	12,7240	,73473	,32858	11,8117	13,6363	11,78	13,75
	KM75 x 50	5	13,1560	,55554	,24845	12,4662	13,8458	12,68	14,10
	KM75 x 100	5	13,2460	,35949	,16077	12,7996	13,6924	12,84	13,69
	VB/25 x 25	5	13,7320	,62631	,28010	12,9543	14,5097	12,85	14,56
	VB/25 x 50	5	13,0400	1,14711	,51300	11,6157	14,4643	11,87	14,66
	VB/25 x 100	5	14,2540	4,4529	,19914	13,7011	14,8069	13,62	14,78
	VB/75 x 25	5	13,9500	,74233	,33198	13,0283	14,8717	12,73	14,66
	VB/75 x 50	5	13,0420	,53303	,23838	12,3802	13,7038	12,10	13,36
	VB/75 x 100	5	12,1880	1,33784	,59830	10,5269	13,8491	10,51	13,55
	OB/25 x 25	5	13,0080	1,34427	,60118	11,3389	14,6771	11,27	14,66
	OB/25 x 50	5	13,5380	,85216	,38110	12,4799	14,5961	12,23	14,49
	OB/25 x 100	5	13,7400	,52460	,23461	13,0886	14,3914	13,08	14,32
	OB/75 x 25	5	13,0600	,65632	,29351	12,2451	13,8749	12,56	14,13
	OB/75 x 50	5	13,4660	1,05924	,47370	12,1508	14,7812	11,82	14,56
	OB/75 x 100	5	13,4920	,53011	,23707	12,8338	14,1502	12,77	14,09
	SB2/25 x 25	5	12,7320	1,15656	,51723	11,2959	14,1681	11,05	13,98
	SB2/25 x 50	5	13,4160	,71357	,31912	12,5300	14,3020	12,35	14,13
SB2/25 x 100	5	13,0420	,50633	,22644	12,4133	13,6707	12,49	13,66	
SB2/75 x 25	5	13,6520	,27517	,12306	13,3103	13,9937	13,21	13,88	
SB2/75 x 50	5	12,8340	,74450	,33295	11,9096	13,7584	11,56	13,30	
SB2/75 x 100	5	13,2440	1,31969	,59018	11,6054	14,8826	11,37	14,45	
Total		120	13,2329	,86013	,07852	13,0774	13,3884	10,51	14,78

Ca Dentina	KM/25 x 25	5	43,5900	8,18429	3,66012	33,4279	53,7521	33,79
	KM/25 x 50	5	45,1300	11,14059	4,98222	31,2971	58,9629	34,64
	KM/25 x 100	5	40,2380	4,95127	2,21428	34,0902	46,3858	33,21
	KM/75 x 25	5	46,5780	6,11578	2,73506	38,9843	54,1717	39,95
	KM/75 x 50	5	42,0640	4,31812	1,93112	36,7024	47,4256	37,32
	KM/75 x 100	5	42,5780	8,31571	3,71890	32,2527	52,9033	33,29
	VB/25 x 25	5	30,3440	2,86067	1,27933	26,7920	33,8960	28,13
	VB/25 x 50	5	35,5040	3,67891	1,64526	30,9360	40,0720	30,23
	VB/25 x 100	5	34,1860	,82209	,36765	33,1652	35,2068	32,94
	VB/75 x 25	5	37,0000	2,34445	1,04847	34,0890	39,9110	33,47
	VB/75 x 50	5	35,8380	5,22332	2,33594	29,3524	42,3236	28,53
	VB/75 x 100	5	37,8480	3,31199	1,48117	33,7356	41,9604	32,84
	OB/25 x 25	5	26,1820	4,50578	2,01505	20,5873	31,7767	20,52
	OB/25 x 50	5	31,7100	6,88016	3,07690	23,1671	40,2529	24,35
	OB/25 x 100	5	29,9880	4,24744	1,89951	24,7141	35,2619	22,68
	OB/75 x 25	5	28,8800	8,31014	3,71641	18,5616	39,1984	21,71
	OB/75 x 50	5	34,2960	7,17824	3,21021	25,3830	43,2090	22,43
	OB/75 x 100	5	28,1180	4,24901	1,90021	22,8422	33,3938	22,84
	SB2/25 x 25	5	31,8240	4,11082	1,83841	26,7197	36,9283	27,88
	SB2/25 x 50	5	34,1420	6,02709	2,69540	26,6584	41,6256	26,74
	SB2/25 x 100	5	35,2360	7,15606	3,20000	26,3506	44,1214	25,73
	SB2/75 x 25	5	31,4680	5,21266	2,33117	24,9956	37,9404	24,16
	SB2/75 x 50	5	33,0020	5,25858	2,35171	26,4726	39,5314	24,93
	SB2/75 x 100	5	33,5760	,35858	,16036	33,1308	34,0212	33,04
Total	120	35,3883	7,49768	,68444	34,0331	36,7436	20,52	
P Dentina	KM/25 x 25	5	11,2260	,40029	,17901	10,7290	11,7230	10,89
	KM/25 x 50	5	11,4340	1,31967	,59017	9,7954	13,0726	10,27
	KM/25 x 100	5	13,0720	3,29498	1,47356	8,9807	17,1633	10,52
	KM/75 x 25	5	8,1040	1,08903	,48703	6,7518	9,4562	6,29
	KM/75 x 50	5	12,0080	,74362	,33256	11,0847	12,9313	11,22
	KM/75 x 100	5	12,3480	1,18088	,52810	10,8817	13,8143	11,63
	VB/25 x 25	5	11,8500	,58164	,26012	11,1278	12,5722	11,25
	VB/25 x 50	5	12,5040	,32254	,14424	12,1035	12,9045	12,11
	VB/25 x 100	5	12,0500	,64777	,28969	11,2457	12,8543	11,50
	VB/75 x 25	5	12,4060	,72134	,32259	11,5103	13,3017	11,90
	VB/75 x 50	5	11,9640	1,16305	,52013	10,5199	13,4081	10,61
	VB/75 x 100	5	13,1800	,66944	,29938	12,3488	14,0112	12,54
	OB/25 x 25	5	12,1140	1,45364	,65009	10,3091	13,9189	10,36
	OB/25 x 50	5	12,4780	1,18181	,52852	11,0106	13,9454	11,08
	OB/25 x 100	5	11,7220	,17065	,07632	11,5101	11,9339	11,52
	OB/75 x 25	5	12,2120	1,18550	,53017	10,7400	13,6840	10,38
	OB/75 x 50	5	12,1180	1,28502	,57468	10,5224	13,7136	10,11
	OB/75 x 100	5	11,8620	1,02400	,45795	10,5905	13,1335	10,61
	SB2/25 x 25	5	13,1580	,82690	,36980	12,1313	14,1847	12,06
	SB2/25 x 50	5	13,5740	,57003	,25492	12,8662	14,2818	12,85
	SB2/25 x 100	5	12,8120	,28900	,12924	12,4532	13,1708	12,35
	SB2/75 x 25	5	12,5180	1,05935	,47376	11,2026	13,8334	11,12
	SB2/75 x 50	5	12,6980	,48956	,21894	12,0901	13,3059	12,06
	SB2/75 x 100	5	13,1440	,52918	,23666	12,4869	13,8011	12,68
	Total	120	12,1898	1,43256	,13077	11,9309	12,4488	6,29

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Ca Esmalte

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Valor p	Observed Power ^b
Material	751,557	3	250,519	11,723	,000	,999
Profundidade	63,171	5	12,634	,591	,707	,208
Material *	373,235	15	24,882	1,164	,313	,693
Profundidade						
Error	2051,460	96	21,369			
Corrected Total	3239,424	119				

a. R Squared = ,367 (Adjusted R Squared = ,215)

b. Computed using alpha = ,05

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Ca Esmalte

(I) Material		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Valor p	Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
KM	VB	3,02633	1,31579	,110	-,4560	6,5087
	OB	4,46433*	1,30885	,006	1,0000	7,9286
	SB2	6,91900*	1,17590	,000	3,7922	10,0458
VB	KM	-3,02633	1,31579	,110	-6,5087	,4560
	OB	1,43800	1,21527	,640	-1,7765	4,6525
	SB2	3,89267*	1,07076	,003	1,0527	6,7326
OB	KM	-4,46433*	1,30885	,006	-7,9286	-1,0000
	VB	-1,43800	1,21527	,640	-4,6525	1,7765
	SB2	2,45467	1,06222	,108	-,3621	5,2714
SB2	KM	-6,91900*	1,17590	,000	-10,0458	-3,7922
	VB	-3,89267*	1,07076	,003	-6,7326	-1,0527
	OB	-2,45467	1,06222	,108	-5,2714	,3621

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: P Esmalte

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Valor p	Observed Power ^b
Material	2,696	3	,899	1,326	,271	,343
Profundidade	3,136	5	,627	,925	,468	,318
Material *	17,142	15	1,143	1,686	,066	,879
Profundidade						
Error	65,066	96	,678			
Corrected Total	88,039	119				

a. R Squared = ,261 (Adjusted R Squared = ,084)

b. Computed using alpha = ,05

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Ca Dentina

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Valor p	Observed Power ^b
Material	2968,735	3	989,578	30,038	,000	1,000
Profundidade	174,533	5	34,907	1,060	,388	,363
Material * Profundidade	383,701	15	25,580	,776	,700	,473
Error	3162,635	96	32,944			
Corrected Total	6689,604	119				

a. R Squared = ,527 (Adjusted R Squared = ,414)

b. Computed using alpha = ,05

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Ca Dentina

(I) Material		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Valor p	Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
KM	VB	8,24300*	1,49032	,000	4,2665	12,2195
	OB	13,50067*	1,72594	,000	8,9323	18,0690
	SB2	10,15500*	1,58267	,000	5,9519	14,3581
VB	KM	-8,24300*	1,49032	,000	-12,2195	-4,2665
	OB	5,25767*	1,33117	,001	1,7176	8,7978
	SB2	1,91200	1,13930	,345	-1,1058	4,9298
OB	KM	-13,50067*	1,72594	,000	-18,0690	-8,9323
	VB	-5,25767*	1,33117	,001	-8,7978	-1,7176
	SB2	-3,34567	1,43381	,103	-7,1442	,4528
SB2	KM	-10,15500*	1,58267	,000	-14,3581	-5,9519
	VB	-1,91200	1,13930	,345	-4,9298	1,1058
	OB	3,34567	1,43381	,103	-4,528	7,1442

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: P Dentina

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Valor p	Observed Power ^b
Material	40,202	3	13,401	10,920	,000	,999
Profundidade	13,545	5	2,709	2,207	,058	,728
Material * Profundidade	63,668	15	4,245	3,459	,000	,999
Error	117,814	96	1,227			
Corrected Total	235,229	119				

a. R Squared = ,518 (Adjusted R Squared = ,402)

b. Computed using alpha = ,05

Multiple Comparisons

Dependent Variable: P Dentina

(I) Material		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Valor p	Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
KM	VB	-,96033	,42489	,126	-2,1036	,1829
	OB	-,71900	,44292	,377	-1,9040	,4660
	SB2	-1,61867*	,41926	,003	-2,7493	-,4881
VB	KM	,96033	,42489	,126	-,1829	2,1036
	OB	,24133	,24232	,752	-,4010	,8836
	SB2	-,65833*	,19575	,007	-1,1764	-,1403
OB	KM	,71900	,44292	,377	-,4660	1,9040
	VB	-,24133	,24232	,752	-,8836	,4010
	SB2	-,89967*	,23229	,002	-1,5167	-,2826
SB2	KM	1,61867*	,41926	,003	,4881	2,7493
	VB	,65833*	,19575	,007	,1403	1,1764
	OB	,89967*	,23229	,002	,2826	1,5167

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Tests of Normality							
Material x Profundidade		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Valor p	Statistic	df	Valor p
Dureza do Esmalte	KM/25 x 25	,221	15	0,04793	,873	15	0,03716
	KM/25 x 50	,160	15	0,20000	,918	15	0,18037
	KM/25 x 100	,162	15	0,20000	,939	15	0,36504
	KM/75 x 25	,085	15	0,20000	,982	15	0,98192
	KM/75 x 50	,172	15	0,20000	,952	15	0,56148
	KM/75 x 100	,203	15	0,09669	,957	15	0,64683
	VB/25 x 25	,146	15	0,20000	,949	15	0,51209
	VB/25 x 50	,102	15	0,20000	,941	15	0,39835
	VB/25 x 100	,178	15	0,20000	,914	15	0,15771
	VB/75 x 25	,117	15	0,20000	,964	15	0,76613
	VB/75 x 50	,126	15	0,20000	,971	15	0,87888
	VB/75 x 100	,177	15	0,20000	,897	15	0,08458
	OB/25 x 25	,121	15	0,20000	,951	15	0,53956
	OB/25 x 50	,254	15	0,01037	,886	15	0,05882
	OB/25 x 100	,194	15	0,13329	,937	15	0,34817
	OB/75 x 25	,108	15	0,20000	,973	15	0,89408
	OB/75 x 50	,185	15	0,17986	,937	15	0,34513
	OB/75 x 100	,145	15	0,20000	,973	15	0,90579
	SB2/25 x 25	,123	15	0,20000	,936	15	0,33619
	SB2/25 x 50	,145	15	0,20000	,923	15	0,21125
SB2/25 x 100	,145	15	0,20000	,926	15	0,23644	
SB2/75 x 25	,100	15	0,20000	,980	15	0,97266	
SB2/75 x 50	,200	15	0,10588	,907	15	0,12046	
SB2/75 x 100	,202	15	0,10033	,925	15	0,22614	
Dureza da Dentina	KM/25 x 25	,151	15	0,20000	,932	15	0,29139
	KM/25 x 50	,155	15	0,20000	,931	15	0,28107
	KM/25 x 100	,156	15	0,20000	,926	15	0,23911
	KM/75 x 25	,217	15	0,05470	,840	15	0,01260
	KM/75 x 50	,252	15	0,01137	,871	15	0,03509
	KM/75 x 100	,263	15	0,00626	,867	15	0,03041
	VB/25 x 25	,111	15	0,20000	,977	15	0,94256
	VB/25 x 50	,191	15	0,14680	,924	15	0,21950
	VB/25 x 100	,166	15	0,20000	,940	15	0,38628
	VB/75 x 25	,145	15	0,20000	,950	15	0,53094
	VB/75 x 50	,152	15	0,20000	,890	15	0,06696
	VB/75 x 100	,168	15	0,20000	,939	15	0,36999
	OB/25 x 25	,185	15	0,17640	,887	15	0,05999
	OB/25 x 50	,135	15	0,20000	,959	15	0,67566
	OB/25 x 100	,172	15	0,20000	,930	15	0,27092
	OB/75 x 25	,173	15	0,20000	,927	15	0,24879
	OB/75 x 50	,166	15	0,20000	,926	15	0,23914
	OB/75 x 100	,225	15	0,03994	,839	15	0,01236
	SB2/25 x 25	,203	15	0,09802	,911	15	0,14202
	SB2/25 x 50	,188	15	0,16131	,919	15	0,18821
SB2/25 x 100	,102	15	0,20000	,979	15	0,95832	
SB2/75 x 25	,140	15	0,20000	,890	15	0,06630	
SB2/75 x 50	,146	15	0,20000	,939	15	0,37294	
SB2/75 x 100	,156	15	0,20000	,970	15	0,86296	

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variance

		Levene Statistic	df1	df2	Valor p
Dureza do Esmalte	Based on Mean	2,442	23	336	0,00031
Dureza da Dentina	Based on Mean	3,360	23	336	0,00000

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Dureza do Esmalte	KM	90	210,2612	14,76645	1,55652	207,1684	213,3540	178,20	239,00
	VB	90	189,7144	13,24949	1,39662	186,9394	192,4895	160,20	219,70
	OB	90	165,4200	12,91313	1,36116	162,7154	168,1246	139,80	199,00
	SB2	90	157,3056	15,71776	1,65680	154,0135	160,5976	126,70	193,00
	Total	360	180,6753	25,20607	1,32848	178,0627	183,2879	126,70	239,00
Dureza da Dentina	KM	90	54,0500	6,54904	,69033	52,6783	55,4217	38,20	65,30
	VB	90	50,5433	4,29727	,45297	49,6433	51,4434	40,50	61,00
	OB	90	44,7489	5,83716	,61529	43,5263	45,9715	33,20	57,70
	SB2	90	38,4247	5,13302	,54107	37,3496	39,4998	29,80	49,40
	Total	360	46,9417	8,09320	,42655	46,1029	47,7806	29,80	65,30

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Dureza do Esmalte	25 x 25	60	180,9633	26,98931	3,48431	173,9913	187,9354	127,90	230,00
	25 x 50	60	185,9750	28,00466	3,61539	178,7406	193,2094	134,20	237,40
	25 x 100	60	191,1617	26,48570	3,41929	184,3197	198,0036	139,60	239,00
	75 x 25	60	171,5150	21,35786	2,75729	165,9977	177,0323	126,70	218,40
	75 x 50	60	175,3610	21,70522	2,80213	169,7539	180,9681	141,10	225,00
	75 x 100	60	179,0758	21,61800	2,79087	173,4913	184,6604	140,00	225,50
	Total	360	180,6753	25,20607	1,32848	178,0627	183,2879	126,70	239,00
Dureza da Dentina	25 x 25	60	46,0520	8,84133	1,14141	43,7680	48,3360	30,20	61,50
	25 x 50	60	48,8133	7,61307	,98284	46,8467	50,7800	32,10	65,30
	25 x 100	60	51,7600	6,67028	,86113	50,0369	53,4831	38,50	64,40
	75 x 25	60	42,5883	7,27077	,93865	40,7101	44,4666	30,20	55,90
	75 x 50	60	44,6933	8,23070	1,06258	42,5671	46,8195	29,80	62,10
	75 x 100	60	47,7433	6,65408	,85904	46,0244	49,4623	34,10	58,20
	Total	360	46,9417	8,09320	,42655	46,1029	47,7806	29,80	65,30

Descriptives									
		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Dureza do Esmalte	KM/25 x 25	15	212,8267	14,69871	3,79519	204,6868	220,9665	188,20	230,00
	KM/25 x 50	15	219,0933	13,16616	3,39949	211,8022	226,3845	199,10	237,40
	KM/25 x 100	15	221,0667	12,59590	3,25225	214,0913	228,0420	198,60	239,00
	KM/75 x 25	15	198,9933	11,57858	2,98958	192,5813	205,4053	178,20	218,40
	KM/75 x 50	15	203,8640	12,26166	3,16595	197,0737	210,6543	182,80	225,00
	KM/75 x 100	15	205,7233	11,66284	3,01133	199,2647	212,1820	185,00	225,50
	VB/25 x 25	15	190,5733	11,42238	2,94924	184,2478	196,8988	174,00	211,00
	VB/25 x 50	15	199,3667	9,27652	2,39519	194,2295	204,5038	186,20	213,30
	VB/25 x 100	15	203,0200	12,50961	3,22997	196,0924	209,9476	184,00	219,70
	VB/75 x 25	15	177,3667	7,24082	1,86957	173,3568	181,3765	162,00	189,00
	VB/75 x 50	15	181,1800	7,47483	1,92999	177,0406	185,3194	166,60	197,90
	VB/75 x 100	15	186,7800	9,68269	2,50006	181,4179	192,1421	160,20	200,00
	OB/25 x 25	15	167,3800	12,05903	3,11363	160,7019	174,0581	146,00	184,00
	OB/25 x 50	15	168,6933	11,18516	2,88800	162,4992	174,8875	148,10	188,00
	OB/25 x 100	15	177,2600	12,43686	3,21118	170,3727	184,1473	149,00	199,00
	OB/75 x 25	15	156,5600	10,59352	2,73523	150,6935	162,4265	139,80	180,90
	OB/75 x 50	15	160,1133	9,88736	2,55290	154,6379	165,5888	145,00	183,50
	OB/75 x 100	15	162,5133	11,65056	3,00816	156,0615	168,9652	140,00	182,00
	SB2/25 x 25	15	153,0733	18,97368	4,89898	142,5661	163,5806	127,90	185,70
	SB2/25 x 50	15	156,7467	17,83171	4,60413	146,8718	166,6215	134,20	188,00
SB2/25 x 100	15	163,3000	18,40741	4,75277	153,1063	173,4937	139,60	193,00	
SB2/75 x 25	15	153,1400	13,28914	3,43124	145,7807	160,4993	126,70	174,80	
SB2/75 x 50	15	156,2867	11,65301	3,00879	149,8334	162,7399	141,10	175,00	
SB2/75 x 100	15	161,2867	12,10831	3,12635	154,5813	167,9920	145,00	184,00	
Total		360	180,6753	25,20607	1,32848	178,0627	183,2879	126,70	239,00
Dureza da Dentina	KM/25 x 25	15	56,6400	3,70112	,95562	54,5904	58,6896	50,10	61,50
	KM/25 x 50	15	56,7133	5,74243	1,48269	53,5333	59,8934	48,10	65,30
	KM/25 x 100	15	59,2133	3,87922	1,00161	57,0651	61,3616	52,90	64,40
	KM/75 x 25	15	48,4000	6,36059	1,64230	44,8776	51,9224	38,20	55,90
	KM/75 x 50	15	50,4000	7,45194	1,92408	46,2733	54,5267	38,40	62,10
	KM/75 x 100	15	52,9333	4,66716	1,20506	50,3487	55,5179	43,40	58,20
	VB/25 x 25	15	48,3067	4,06228	1,04888	46,0571	50,5563	40,50	55,70
	VB/25 x 50	15	50,7667	3,85758	,99602	48,6304	52,9029	42,80	55,60
	VB/25 x 100	15	53,8867	3,56789	,92122	51,9108	55,8625	49,20	61,00
	VB/75 x 25	15	47,4467	3,07893	,79498	45,7416	49,1517	42,20	52,10
	VB/75 x 50	15	50,4333	4,74954	1,22633	47,8031	53,0635	45,50	60,00
	VB/75 x 100	15	52,4200	3,12940	,80801	50,6870	54,1530	47,00	56,90
	OB/25 x 25	15	44,6067	5,30774	1,37045	41,6673	47,5460	36,60	51,70
	OB/25 x 50	15	47,1733	4,31202	1,11336	44,7854	49,5613	40,20	54,00
	OB/25 x 100	15	49,6867	4,75978	1,22897	47,0508	52,3225	38,50	57,70
	OB/75 x 25	15	39,5733	4,89963	1,26508	36,8600	42,2867	33,20	48,20
	OB/75 x 50	15	42,2200	5,24012	1,35299	39,3181	45,1219	35,10	53,90
	OB/75 x 100	15	45,2333	5,24127	1,35329	42,3308	48,1359	35,20	50,90
	SB2/25 x 25	15	34,6547	2,01961	,52146	33,5362	35,7731	30,20	39,50
	SB2/25 x 50	15	40,6000	5,62939	1,45350	37,4825	43,7175	32,10	49,40
SB2/25 x 100	15	44,2533	2,77923	,71759	42,7142	45,7924	38,50	48,60	
SB2/75 x 25	15	34,9333	3,85221	,99464	32,8001	37,0666	30,20	45,30	
SB2/75 x 50	15	35,7200	4,11412	1,06226	33,4417	37,9983	29,80	46,00	
SB2/75 x 100	15	40,3867	3,24321	,83739	38,5906	42,1827	34,10	45,50	
Total		360	46,9417	8,09320	,42655	46,1029	47,7806	29,80	65,30

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Dureza do Esmalte

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Valor p	Observed Power ^b
Material	156231,185	3	52077,062	329,750	,000	1,000
Profundidade	15170,691	5	3034,138	19,212	,000	1,000
Material *	3623,279	15	241,552	1,529	,093	,875
Profundidade						
Error	53064,087	336	157,929			
Corrected Total	228089,243	359				

a. R Squared = ,767 (Adjusted R Squared = ,751)

b. Computed using alpha = ,05

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Dureza do Esmalte

Games-Howell

(I) Material		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Valor p	Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
KM	VB	20,54678*	2,09124	,000	15,1226	25,9709
	OB	44,84122*	2,06773	,000	39,4777	50,2047
	SB2	52,95567*	2,27326	,000	47,0598	58,8515
VB	KM	-20,54678*	2,09124	,000	-25,9709	-15,1226
	OB	24,29444*	1,95021	,000	19,2366	29,3523
	SB2	32,40889*	2,16691	,000	26,7875	38,0302
OB	KM	-44,84122*	2,06773	,000	-50,2047	-39,4777
	VB	-24,29444*	1,95021	,000	-29,3523	-19,2366
	SB2	8,11444*	2,14424	,001	2,5515	13,6774
SB2	KM	-52,95567*	2,27326	,000	-58,8515	-47,0598
	VB	-32,40889*	2,16691	,000	-38,0302	-26,7875
	OB	-8,11444*	2,14424	,001	-13,6774	-2,5515

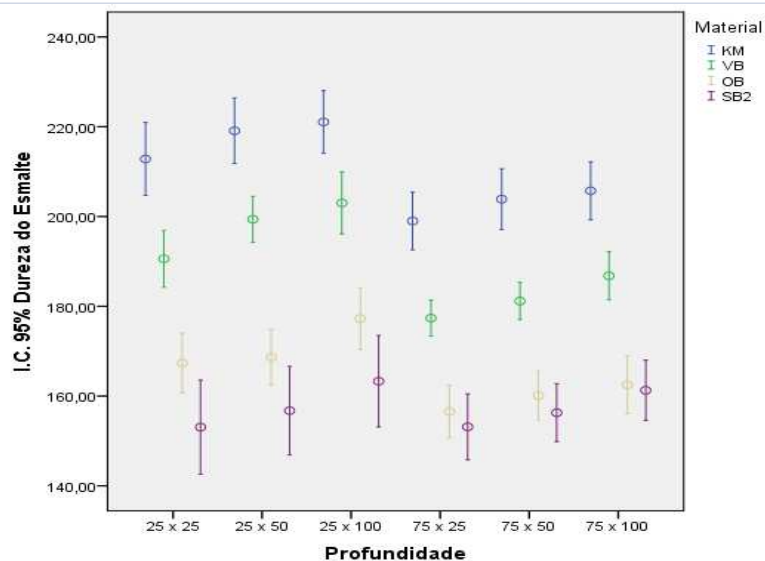
*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Dureza do Esmalte
Games-Howell

(I) Profundidade		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Valor p	Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
25 x 25	25 x 50	-5,01167	5,02110	,918	-19,5586	9,5353
	25 x 100	-10,19833	4,88179	,300	-24,3414	3,9448
	75 x 25	9,44833	4,44331	,281	-3,4356	22,3323
	75 x 50	5,60233	4,47128	,810	-7,3612	18,5659
	75 x 100	1,88750	4,46423	,998	-11,0560	14,8310
25 x 50	25 x 25	5,01167	5,02110	,918	-9,5353	19,5586
	25 x 100	-5,18667	4,97620	,903	-19,6039	9,2306
	75 x 25	14,46000*	4,54683	,023	1,2722	27,6478
	75 x 50	10,61400	4,57416	,195	-2,6514	23,8794
	75 x 100	6,89917	4,56727	,658	-6,3467	20,1450
25 x 100	25 x 25	10,19833	4,88179	,300	-3,9448	24,3414
	25 x 50	5,18667	4,97620	,903	-9,2306	19,6039
	75 x 25	19,64667*	4,39251	,000	6,9117	32,3816
	75 x 50	15,80067*	4,42080	,007	2,9850	28,6163
	75 x 100	12,08583	4,41367	,076	-,7095	24,8812
75 x 25	25 x 25	-9,44833	4,44331	,281	-22,3323	3,4356
	25 x 50	-14,46000*	4,54683	,023	-27,6478	-1,2722
	25 x 100	-19,64667*	4,39251	,000	-32,3816	-6,9117
	75 x 50	-3,84600	3,93123	,924	-15,2352	7,5432
	75 x 100	-7,56083	3,92321	,391	-18,9268	3,8051
75 x 50	25 x 25	-5,60233	4,47128	,810	-18,5659	7,3612
	25 x 50	-10,61400	4,57416	,195	-23,8794	2,6514
	25 x 100	-15,80067*	4,42080	,007	-28,6163	-2,9850
	75 x 25	3,84600	3,93123	,924	-7,5432	15,2352
	75 x 100	-3,71483	3,95486	,935	-15,1724	7,7428
75 x 100	25 x 25	-1,88750	4,46423	,998	-14,8310	11,0560
	25 x 50	-6,89917	4,56727	,658	-20,1450	6,3467
	25 x 100	-12,08583	4,41367	,076	-24,8812	,7095
	75 x 25	7,56083	3,92321	,391	-3,8051	18,9268
	75 x 50	3,71483	3,95486	,935	-7,7428	15,1724

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.



Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Dureza da Dentina

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Valor p	Observed Power ^b
Material	12676,317	3	4225,439	202,995	,000	1,000
Profundidade	3129,610	5	625,922	30,070	,000	1,000
Material *	714,526	15	47,635	2,288	,004	,980
Profundidade						
Error	6993,997	336	20,815			
Corrected Total	23514,450	359				

a. R Squared = ,703 (Adjusted R Squared = ,682)

b. Computed using alpha = ,05

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Dureza da Dentina

Games-Howell

(I) Material		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Valor p	Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
KM	VB	3,50667*	,82567	,000	1,3621	5,6512
	OB	9,30111*	,92474	,000	6,9025	11,6997
	SB2	15,62533*	,87710	,000	13,3494	17,9013
VB	KM	-3,50667*	,82567	,000	-5,6512	-1,3621
	OB	5,79444*	,76405	,000	3,8113	7,7776
	SB2	12,11867*	,70565	,000	10,2881	13,9493
OB	KM	-9,30111*	,92474	,000	-11,6997	-6,9025
	VB	-5,79444*	,76405	,000	-7,7776	-3,8113
	SB2	6,32422*	,81935	,000	4,1989	8,4495
SB2	KM	-15,62533*	,87710	,000	-17,9013	-13,3494
	VB	-12,11867*	,70565	,000	-13,9493	-10,2881
	OB	-6,32422*	,81935	,000	-8,4495	-4,1989

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Dureza da Dentina
Games-Howell

(I) Profundidade		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Valor p	Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
25 x 25	25 x 50	-2,76133	1,50625	,449	-7,1267	1,6040
	25 x 100	-5,70800*	1,42981	,002	-9,8555	-1,5605
	75 x 25	3,46367	1,47780	,185	-,8203	7,7476
	75 x 50	1,35867	1,55945	,953	-3,1596	5,8769
	75 x 100	-1,69133	1,42855	,844	-5,8352	2,4526
25 x 50	25 x 25	2,76133	1,50625	,449	-1,6040	7,1267
	25 x 100	-2,94667	1,30672	,221	-6,7334	,8401
	75 x 25	6,22500*	1,35906	,000	2,2875	10,1625
	75 x 50	4,12000	1,44743	,057	-,0738	8,3138
	75 x 100	1,07000	1,30535	,963	-2,7128	4,8528
25 x 100	25 x 25	5,70800*	1,42981	,002	1,5605	9,8555
	25 x 50	2,94667	1,30672	,221	-,8401	6,7334
	75 x 25	9,17167*	1,27382	,000	5,4808	12,8625
	75 x 50	7,06667*	1,36770	,000	3,1015	11,0319
	75 x 100	4,01667*	1,21634	,016	,4928	7,5405
75 x 25	25 x 25	-3,46367	1,47780	,185	-7,7476	,8203
	25 x 50	-6,22500*	1,35906	,000	-10,1625	-2,2875
	25 x 100	-9,17167*	1,27382	,000	-12,8625	-5,4808
	75 x 50	-2,10500	1,41779	,675	-6,2135	2,0035
	75 x 100	-5,15500*	1,27240	,001	-8,8418	-1,4682
75 x 50	25 x 25	-1,35867	1,55945	,953	-5,8769	3,1596
	25 x 50	-4,12000	1,44743	,057	-8,3138	,0738
	25 x 100	-7,06667*	1,36770	,000	-11,0319	-3,1015
	75 x 25	2,10500	1,41779	,675	-2,0035	6,2135
	75 x 100	-3,05000	1,36639	,231	-7,0114	,9114
75 x 100	25 x 25	1,69133	1,42855	,844	-2,4526	5,8352
	25 x 50	-1,07000	1,30535	,963	-4,8528	2,7128
	25 x 100	-4,01667*	1,21634	,016	-7,5405	-,4928
	75 x 25	5,15500*	1,27240	,001	1,4682	8,8418
	75 x 50	3,05000	1,36639	,231	-,9114	7,0114

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

