

GIOVANNA ANDRAUS KIRSTEN

**MICRODUREZA DA DENTINA SUBJACENTE A SISTEMAS  
ADESIVOS COM FLÚOR SOB DESAFIO CARIOGÊNICO E  
FLUORTERAPIA**

**Curitiba**

**2009**

GIOVANNA ANDRAUS KIRSTEN

**MICRODUREZA DA DENTINA SUBJACENTE A SISTEMAS  
ADESIVOS COM FLÚOR SOB DESAFIO CARIOGÊNICO E  
FLUORTERAPIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Odontologia, Área de Concentração Dentística.

Profa. Orientadora Dra. Evelise Machado de Souza.

Curitiba

2009

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

K61m  
2009

Kirsten, Giovanna Andraus  
Microdureza da dentina subjacente a sistemas adesivos com flúor sob  
desafio cariogênico e fluoroterapia / Giovanna Andraus Kirsten ; orientadora,  
Evelise Machado de Souza. – 2009.  
85 f. : il. ; 30 cm

Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Paraná,  
Curitiba, 2009  
Bibliografia: f. 22-25

1. Restauração (Odontologia). 2. Fluoretos - Uso terapêutico. 3. Cáries  
dentárias - Prevenção. 4. Dentina. I. Souza, Evelise Machado. II. Pontifícia  
Universidade Católica do Paraná. Programa de Pós-Graduação em  
Odontologia. III. Título.

CDD 20. ed. – 617.675



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

## TERMO DE APROVAÇÃO

**GIOVANNA ANDRAUS KIRSTEN**

**MICRODUREZA DA DENTINA SUBJACENTE A SISTEMAS ADESIVOS COM  
FLÚOR SOB DESAFIO CARIOGÊNICO**

Dissertação 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 Mestre em Odontologia, Área de Concentração em Dentística.

Orientador(a):

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Evelise Machado de Souza  
Programa de Pós-Graduação em Odontologia, PUCPR

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

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Stella Kossatz Pereira  
Programa de Pós-Graduação em Odontologia, UEPG

Curitiba, 28 de maio de 2009.

*Dedico esta dissertação ao meu exemplo de vida, minha mãe, Soraya Andraus Rocha Kirsten que sempre me estimulou a dar este grande passo. Ela com muita sabedoria, discernimento, bom senso e dedicação esteve ao meu lado me encorajando nas horas difíceis e me aplaudindo nos momentos de glória. Obrigada por me educar, ser minha fonte de inspiração, meu apoio e ensino diário.*

A **Deus**, por ter ele em meu coração e em todos os momentos de minha vida.

À minha mãe, a **Mamy**, 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 **Mozão** pela inesgotável dedicação, paciência, força, amor, companheirismo, amizade e entusiasmo com tudo na vida.

Aos meus familiares que sempre me deram amor e força, valorizando meu potencial, por todo apoio, carinho e amor, especialmente as minhas avós e avôs.

**Agradeço muito e dedico a vocês este trabalho**

À **Profa. Dra. Evelise Machado de Souza**, por ser companheira e orientadora desta dissertação, por todo empenho, sabedoria e imensa compreensão. Sempre incentivando na busca do crescimento, sendo exemplo de competência, garra, determinação e disciplina. Pela sua amizade, especialmente.

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

**Meu 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. Danilo Biazzetto de Menezes Caldas, Profa. Dra. Janaína Bertencelo de Almeida, 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.

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

À CAPES pela concessão da bolsa, possibilitando a realização do meu Mestrado.

**Meus sinceros agradecimentos**

Ao Prof. Dr. Rodrigo Nunes Rached pela colaboração, e suas arguições no meu exame de qualificação, suas considerações foram de grande valia.

Ao Marcos Kenzo Takahashi pelo auxílio na análise estatística, pela competência, sugestões, discussões, busca de resultados e empenho. E, acima de tudo, pela grande amizade, pelo incentivo, força, carinho que partilhamos durante nosso caminhar... nas viagens, congressos, nas "festas", enfim, pelo companheirismo.

À secretária Neide Borges dos Reis por sua força, pelo carinho, dedicação, competência e paciência.

A funcionária da Clínica de Pós-Graduação, Silvana Casagrande Gabardo, pela atenção dispensada e pelo zelo na execução de seu trabalho.

A todos os demais funcionários da clínica odontológica da PUCPR.

**Meu agradecimento especial**

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.

À família do Marcelo, por estarem sempre presentes em minha vida. Pelo apoio e carinho em todos os momentos.

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

**Agradeço**

## SUMÁRIO

1. Página Título.....	2
2. Artigo em português.....	3
2.1. Resumo.....	3
2.2. Introdução .....	4
2.3. Materiais e Método.....	7
2.4. Resultados .....	12
2.5. Discussão .....	17
2.6. Agradecimentos .....	21
2.7. Referências Bibliográficas.....	22
3. Normas da Revista .....	26
4. Artigo em Inglês .....	31
4.1. Abstract.....	31
4.2. Introduction .....	32
4.3. Materials and Methods.....	35
4.4. Results.....	40
4.5. Discussion .....	45
4.6. References .....	49
5. Anexos .....	53
5.1. Resumos dos artigos da discussão .....	53
5.2. Materiais e Método completo .....	65
5.3. Tabelas e Gráficos da análise estatística .....	76
5.4. Aprovação do CEP .....	85

## 1. Página Título

Título: Microdureza da dentina subjacente a sistemas adesivos com flúor sob desafio cariogênico.

Kirsten, GA – Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, PR, Brasil  
Souza, EM – Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, PR, Brasil

Título curto: Microdureza da dentina com sistemas adesivos com flúor

Palavras-chave: dentina; microdureza; sistemas adesivos; desmineralização; fluoreto; flúor tópico; ciclo de pH

Autor correspondente:

Evelise Machado de Souza, DDS, MDS, PhD

Pós-Graduação em Odontologia

R. Imaculada Conceição, 1155

Prado Velho

CEP: 80215-901

Curitiba – PR

Brasil

Tel: 55 (41) 3271-2511

Fax: 55 (41) 3271-1504

E-mail: [evesouza@yahoo.com](mailto:evesouza@yahoo.com)

## 2. Artigo em português

### 2.1. *Resumo*

O objetivo deste estudo foi 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  $\mu\text{m}$  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 $\mu\text{m}$  e 100 $\mu\text{m}$ , 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 100 $\mu\text{m}$ , com todos os materiais avaliados.

## 2.2. Introdução

Restaurações com margens cervicais em dentina e cimento são mais suscetíveis à microinfiltração, sensibilidade pós-operatória e incidência de lesões de cárie secundária [Pereira et al., 1998]. De acordo com Mjör et al. [2000], cárie secundária pode ser definida como uma lesão limitada à margem de restaurações já existentes, onde a microbiota encontrada é muito semelhante à da cárie primária.

Estudos têm demonstrado que a cárie secundária é o mais importante fator etiológico de falhas e a causa mais comum de substituições de restaurações [Qvist et al., 1990; Kidd *et al.*, 1992; Mjör et al., 1998; Attar e Onen, 2003]. De acordo com Burgess [1995], a cárie secundária é frequentemente encontrada nas margens cervicais de restaurações devido a inúmeras dificuldades, como acesso à margem radicular, realização de isolamento adequado, remoção do tecido cariado e inserção do material restaurador. Fatores como estes levam fatalmente à presença de microfendas 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 [Kidd et al., 1992]. Adicionalmente, um estudo *in vitro* demonstrou que o desenvolvimento de cáries secundárias pode ser mais comum na dentina radicular, uma vez que a perda mineral pode ocorrer duas vezes mais rapidamente na raiz do que no esmalte [Feathstone, 1994].

Íons flúor têm sido incorporados em alguns materiais restauradores com o objetivo de inibir a cárie secundária nas margens cavitárias pela liberação e incorporação de flúor [Pereira et al., 1998]. A capacidade de liberação de flúor dos materiais restauradores e de incorporação do mesmo pela estrutura dentinária adjacente são fatores importantes que influenciam no seu efeito cariostático [Hsu et al., 1998; Tam et al., 1997]. De acordo com Hahn et al. [1999], este potencial não seria suficiente para eliminar totalmente a cárie secundária, e 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 [Hsu et al., 1998; Attar e Onen, 2002; Attar e Turgut, 2003; Cildir e Sandalli, 2005]. Itota et al. [2002] afirmam 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. Estes autores [Itota et al.,

2002] 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. Segundo Hara et al., [2005], o flúor liberado pelos sistemas adesivos é capaz de manter a integridade das 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.

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 [Burke et al., 2006]. Recentemente, alguns fabricantes de sistemas adesivos introduziram componentes fluoretados em sua composição. Segundo Ferracane et al. [1998], íons flúor provenientes de sistemas adesivos são liberados em direção às paredes do preparo cavitário onde estão em contato, penetrando e difundindo facilmente na dentina através da camada híbrida.

Inúmeros modelos *in vitro* de desafio cariogênico têm sido utilizados para a simulação do pH bucal e também para a produção de lesões artificiais de cárie em esmalte e dentina. Estes modelos podem ser do tipo químico-estático, com imersão em soluções como o ácido acético com pH 4,5 [Pereira et al., a1998; Itthagarun et al., 2001], saliva artificial com pH 7,0 [Karantakis et al., 2000; Hara et al., 2005] ou géis acidulados com pH 4,25 [Hicks e Flaitz, 2000]. Porém, a maior parte dos estudos utiliza o modelo químico-dinâmico, com ciclos de desmineralização e remineralização por meio de imersão em soluções com pH ácido e neutro durante um determinado período de tempo [Pereira et al., b1998; Carvalho e Cury, 1999; Hahn et al., 1999; Kotsanos, 2001; Hara et al., b2002; Hara et al., b2002 Argenta et al., 2003; Gonzalez et al., 2004; Peris et al., 2007; Knight et al., 2007; Silva et al., 2007]. Alguns estudos utilizaram soluções com pH 5,0 e 7,0, durante 6 e 18 horas, respectivamente, para simular o desafio cariogênico [Carvalho e Cury, 1999; Hara et al., a2002; Hara et al., b2002; Gonzalez et al., 2004; Hara et al., 2005; Silva et al., 2007]. Existem ainda modelos biológicos que expõem o substrato a uma ou mais espécies de microrganismos cariogênicos como agentes produtores de ácidos [Hsu et al., 1998; Kitasako et al., 2003; Itota et al., 2005; Itota et al., 2006]. Porém, acredita-se que o método de

ciclo de pH seja o mais próximo do desenvolvimento natural da lesão, pois simula os episódios de desmineralização e remineralização [Ten Cate, 1990] e é capaz de originar lesões de cárie semelhantes às lesões *in vivo* [Featherstone et al., 1996; Argenta et al., 2003].

Diferentes métodos têm sido utilizados para avaliar o grau de desmineralização da dentina radicular. Featherstone [1996], em seu estudo de revisão afirma que para a avaliação quantitativa de lesões cáries subsuperficiais, tanto a microrradiografia quanto o teste de microdureza podem ser utilizados. Para detectar alterações de consistência na superfície, o teste de microdureza é o método de escolha [Featherstone, 1996]. O teste de microdureza Knoop realizado na zona de inibição de cárie em dentina radicular adjacente a restaurações com materiais fluoretados já foi reportado na literatura [Pereira et al., 1998; Hosoya et al., 2000; Hotta et al., 2001; Hara et al., 2002; Hara et al., 2002; Kitasako et al., 2003; Hara et al., 2003; Vieira et al., 2005; Silva et al., 2007; Chu e Lo, 2008]. Porém, ainda existe uma lacuna na literatura a respeito do efeito de soluções fluoretadas aplicadas topicamente associadas ao uso de materiais que contêm flúor, sob desafio cariogênico.

O objetivo deste estudo *in vitro* foi avaliar a microdureza da dentina subjacente à interface adesiva de restaurações em resina composta utilizando sistemas adesivos com flúor, submetidos a desafio cariogênico com e sem associação de terapia fluoretada diária e semanal.

Uma das hipóteses a serem testadas neste estudo é de que não sejam detectadas diferenças na microdureza da dentina subjacente aos sistemas adesivos fluoretados, quando comparados a um cimento de ionômero de vidro convencional. A outra hipótese é a de que as terapias com flúor tópico aumentem a microdureza da dentina, independente do material utilizado.

### **2.3. Materiais e Método**

#### *Preparo dos espécimes*

O projeto deste estudo foi revisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (CEP/PUCPR 0001312/07). Trinta terceiros molares humanos hígidos, com indicação para exodontia, obtidos junto ao Banco de Dentes da PUCPR, foram utilizados neste estudo. Os dentes foram limpos, imediatamente após a extração utilizando curetas manuais e estocados em solução de cloramina T 0,05% a 4<sup>o</sup> C por, no máximo, 6 meses.

Cavidades de Classe V com 2mm de profundidade, 4mm de largura mesio-distal e 3mm de altura gengivo-oclusal foram realizadas nas superfícies linguais e vestibulares dos molares, com margens oclusais em esmalte e margens cervicais em dentina (Fig. 1-A). Os preparos cavitários foram realizados com broca carbide esférica (#4 - KG Sorensen, São Paulo, SP, Brasil), em alta rotação (Dabi Atlante, Ribeirão Preto, SP, Brasil), sob refrigeração constante água-ar. Depois de cinco preparos concluídos, a broca foi substituída por nova. Os dentes foram então divididos aleatoriamente em seis grupos, contendo cinco dentes, ou seja, dez restaurações cada. Os dentes foram seccionados no sentido mesio-distal com disco diamantado (Fig. 1-B,C) (#7020 - KG Sorensen, São Paulo, SP, Brasil) acoplado a um mandril e peça de mão reta (Dabi Atlante, Ribeirão Preto, SP, Brasil).

Para a restauração das cavidades, cada um dos materiais (Tabela 1) foi utilizado de acordo com as instruções dos fabricantes. O cimento de ionômero de vidro Ketac Molar (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA) foi utilizado como controle positivo na forma de forramento recobrimdo toda a dentina até a margem cervical do preparo, determinando uma camada de aproximadamente 1mm de espessura. O sistema adesivo Scotchbond Multi Purpose (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA) foi utilizado de acordo com o fabricante. As cavidades foram restauradas com a resina composta Filtek Z350 (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA), utilizando 4 incrementos (Fig. 1-D) oblíquos, fotopolimerizados por 20 segundos cada com

uma unidade fotopolimerizadora de luz halógena com 560mW/cm<sup>2</sup> de potência (Optilux VLC 501, Demetron Research Corp, Danbury, CT, EUA).

Tabela 1. Descrição dos materiais utilizados neste estudo.

Cód	Nome comercial	Classificação	Composição
KM	Ketac Molar Easy Mix (3M ESPE, St Paul, MN, EUA) Controle positivo	Cimento de ionômero de vidro convencional	Líquido: ácido polietileno policarbonônico, ácido tartárico e água Pó: vidro de <b>fluorsilicato de alumínio-cálcio-lantânio</b>
OU	One Up Bond F Plus (Tokuyama Corp., Tóquio, Japão)	Sist. adesivo auto-cond. de 1 passo	MMA, HEMA, MAC-10, <b>fluorsilicato de alumínio</b> , partículas de vidro, água e iniciadores
NT	Prime&Bond NT (Dentsply Caulk Milford, DE, EUA)	Sist. adesivo convencional de 2 passos	Resinas de di e trimetacrilato, sílica coloidal nanométrica, PENTA, <b>hidrofluoreto de cetilamina</b> , fotoiniciadores, estabilizadores, acetona
CF	Clearfil Protect Bond (Kuraray Comp. Ltda, Tóquio, Japão)	Sist. adesivo auto-cond. de 2 passos	Bis-GMA, 10-MDP, sílica coloidal, canforoquinona, iniciadores, aceleradores, <b>fluoreto de sódio</b>
OP	Optibond Solo Plus (Kerr Corp., Orange, CA, EUA)	Sist. adesivo convencional de 2 passos	Bis-GMA, HEMA, GPDM, <b>fluorsilicato de sódio</b> , fotoiniciador, etanol e água
SB2	Adper Single Bond 2 (3M ESPE, St Paul, MN, EUA) Controle negativo	Sist. adesivo convencional de 2 passos	Bis-GMA, HEMA, sílica coloidal, água e etanol

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.

Os dentes foram armazenados em um recipiente à prova de luz sob umidade relativa, em estufa a 37°C±1°C, durante 24h. As restaurações foram submetidas ao acabamento com borrachas siliconadas (Enhance, Dentsply Caulk, Milford, DE, EUA), discos abrasivos seqüenciais de granulação fina e extrafina (Sof-Lex, 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA) e polidas com discos de feltro e pasta de polimento de granulação extrafina (Diamond Master, FGM, Joinville, SC, Brasil).

Cada restauração foi seccionada com disco de alta concentração de diamantes (Exttec Corp., Enfield, CT, EUA) em cortadeira metalográfica de alta precisão (Isomet 1000, Buehler, Lake Buff, IL, EUA), em baixa rotação e sob irrigação constante com água destilada. Foram obtidas 4 lâminas (Fig.1-E), com espessura de aproximadamente 150 µm. Cada lâmina foi polida manualmente com lixas de Carboneto de Silício (SiC) com granulações de #800, #1200 e #1600

até a obtenção de lâminas com  $100\mu\text{m} \pm 20\mu\text{m}$  de espessura. Estas espessuras foram verificadas com um micrômetro (Mitutoyo 25 103-125, Tóquio, Japão).

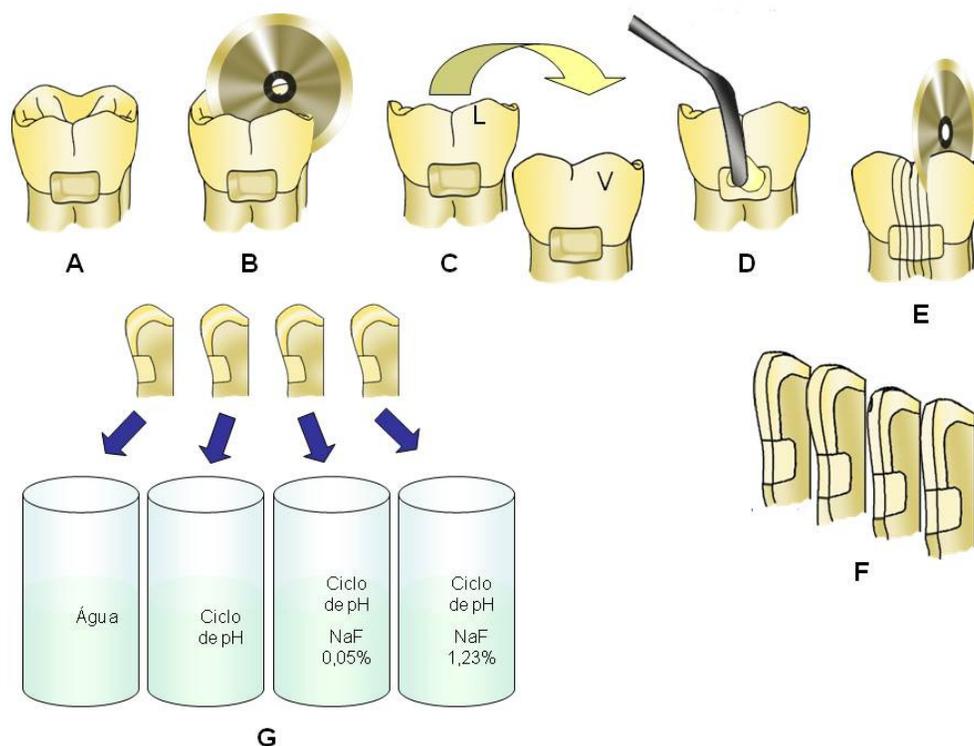


Figura 1. A- Cavidade Classe V, B- Corte méso-distal com disco diamantado, C- Após a separação das faces vestibular e lingual, D- Restauração em incrementos, E- Secção da restauração em cinco cortes seriados, para obtenção de 4 lâminas de cada restauração (F) e G- Separação das lâminas nos recipientes de armazenamento.

#### *Armazenamento das lâminas*

As lâminas de cada grupo de materiais ( $n=10$ ) foram armazenadas separadamente em recipientes plásticos (Fig. 1-G) com tampa. As descrições dos tipos de armazenamento e tratamentos estão contidas na Tabela 2. O ciclo de pH realizado neste estudo foi baseado no descrito no estudo de Carvalho e Cury [1999], com imersões de 6h em solução desmineralizante (11,4 mM Ca, 0,9 mM P e 0,05 M tampão acetato, com pH 5,0) e 18h em solução remineralizante (1,5 mM Ca, 0,9 mM P e 0,1 M tampão Tris, com pH 7,0) durante um período de 15 dias.

Entre as trocas de soluções desmineralizantes e remineralizantes, as lâminas foram lavadas com água deionizada e secas com papel absorvente.

A solução de fluoreto de sódio 0,05% foi utilizada após a imersão em solução remineralizante durante 1 minuto diariamente. O fluoreto de sódio 1,23% utilizado neste estudo apresentava-se na forma de espuma com pH neutro (Flúor Care, FGM Produtos Odontológicos, Joinville, SC, Brasil), e foi aplicado durante 1 minuto, no sétimo e décimo quarto dias de ciclo de pH.

Tabela 2. Tipos de armazenamento e terapias fluoretadas utilizados neste estudo.

<i>Armazenamento</i>	<i>Tempo</i>	<i>Trocas</i>	<i>Terapia com flúor</i>
Água destilada	15 dias	diárias	-
Ciclo de pH	15 dias	6h- Des 18h- Re	-
Ciclo de pH	15 dias	6h- Des 18h- Re	NaF 0,05% - 1 min. diário
Ciclo de pH	15 dias	6h- Des 18h- Re	NaF 1,23% - 1 min. semanal

#### *Avaliação da microdureza Knoop*

Para a verificação do efeito dos diferentes tipos de armazenamento sobre a dentina foram realizados testes de microdureza Knoop na dentina subjacente à interface adesiva localizada na margem cervical das restaurações. Um microdurômetro (HMV 2000, Shimadzu, Tóquio, Japão) com indentador de diamante Knoop e uma carga estática de 10g foi aplicada sobre a dentina durante 15 seg [Hara et al., 2002a]. Três indentações foram realizadas nas profundidades de 50 µm, 100 µm, 150 µm e 300 µm, a partir da interface da restauração em dentina (Fig. 2), totalizando 12 indentações por lâmina. Os valores de microdureza Knoop (KHN) foram registrados e a média das três indentações em cada profundidade foi utilizada para a análise estatística dos resultados.

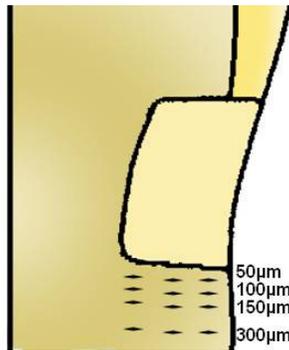


Figura 2. Indentações nas profundidades de 50 µm, 100 µm, 150 µm e 300 µm, a partir da interface da restauração em dentina

### *Análise estatística*

Os valores médios de microdureza foram submetidos ao teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov e de Levene para a verificação da homogeneidade de variâncias. A análise de variância a três critérios (ANOVA) foi utilizada, onde os fatores considerados foram material, armazenamento e profundidade, para detectar diferenças estatisticamente significantes entre os grupos. As comparações múltiplas foram realizadas por meio de teste de Tukey HSD. Todos os testes foram realizados com nível de significância de 5%. Os programas utilizados para análises estatísticas foram Statistica 7.0 (StatSoft Inc., Tulsa, EUA) e SPSS 15.0 (SPSS Inc.Chicago, IL, EUA).

## **2.4. Resultados**

A análise de variância revelou diferenças estatisticamente significantes entre os fatores material, armazenamento e profundidade, assim como interações entre todos os fatores ( $p < 0,05$ ).

As Tabelas 3 a 8 apresentam as comparações entre as médias de microdureza da dentina em diferentes profundidades e com os diferentes tipos de armazenamento para cada material separadamente.

O armazenamento em água destilada, ou seja, sem a presença de alterações de pH, não resultou em diferença nos valores de microdureza da dentina para todos os materiais utilizados, nas profundidades de 100  $\mu\text{m}$ , 150  $\mu\text{m}$  e 300  $\mu\text{m}$  ( $p > 0,05$ ). Na profundidade de 50  $\mu\text{m}$ , somente o cimento de ionômero de vidro resultou em valores superiores de microdureza, quando comparado aos sistemas adesivos fluoretados ( $p < 0,05$ ).

O sistema adesivo OU não promoveu diferenças estatisticamente significantes na microdureza, tanto entre os diferentes tipos de armazenamento, quanto nas diferentes profundidades da dentina ( $p > 0,05$ ). Os materiais fluoretados, quando submetidos a somente ciclo de pH, não apresentaram diferenças estatisticamente significantes nos valores de microdureza nas diferentes profundidades ( $p > 0,05$ ).

Os tratamentos com NaF 0,05% e NaF 1,23% associados ao ciclo de pH resultaram em valores de microdureza semelhantes para todos os sistemas adesivos, quando comparadas as diferentes profundidades. Porém, para o cimento ionomérico KM, os tratamentos com NaF 0,05% e NaF 1,23% resultaram em diferenças significantes entre as profundidades de 50  $\mu\text{m}$  e 300  $\mu\text{m}$  ( $p < 0,05$ ). Por outro lado, o sistema CF resultou em microdureza significativamente superior nas profundidades de 100  $\mu\text{m}$  e 300  $\mu\text{m}$ , quando comparado à profundidade de 50  $\mu\text{m}$ , após tratamento com NaF 1,23% ( $p < 0,05$ ).

O sistema adesivo não fluoretado (SB2) promoveu valores de microdureza estatisticamente superiores em água destilada, quando comparados aos tratamentos de ciclo de pH associado a NaF 1,23%. Porém, não houve diferença significativa entre a imersão em água destilada e o tratamento com ciclo de pH

associado a NaF 0,05% ( $p > 0,05$ ). De uma forma geral, todos os sistemas adesivos com flúor resultaram em valores de microdureza superiores quando submetidos ao ciclo de pH com tratamento à base de NaF 0,05% diariamente.

Tabela 3. Valores médios (desvio padrão) de microdureza da dentina com o cimento de ionômero de vidro Ketac Molar Easy Mix em diferentes meios de armazenamento e profundidades.

Mat.	Prof. ( $\mu\text{m}$ )	Água Destilada	Ciclo de pH	Ciclo de pH + NaF 0,05%	Ciclo de pH + NaF 1,23%
KM	50	44,85 (5,60)Aab	36,39 (5,07) Ab	48,15 (7,33) Aa	42,02 (3,76) Aab
	100	36,89 (4,49) Ba	33,53 (4,24) Aa	40,82 (4,32) Ba	39,40 (6,79) ABa
	150	34,98 (2,40) Ba	34,69 (5,62) Ab	45,91 (7,12)ABa	36,35 (4,46)BCab
	300	34,46 (3,27) Ba	34,00 (3,28) Aa	34,32 (3,29) Ca	33,19 (3,21) Ca

Grupos com a mesma letra não apresentam diferença estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ). Letras maiúsculas representam comparações na mesma coluna e letras minúsculas representam comparações na mesma linha.

Tabela 4. Valores médios (desvio padrão) de microdureza da dentina com o sistema adesivo One Up Bond F Plus em diferentes meios de armazenamento e profundidades.

Mat.	Prof. ( $\mu\text{m}$ )	Água Destilada	Ciclo de pH	Ciclo de pH + NaF 0,05%	Ciclo de pH + NaF 1,23%
OU	50	35,74 (4,19) Aa	32,11 (8,82) Aa	35,22 (4,81) Aa	39,25 (4,52) Aa
	100	32,47 (2,86) Aa	31,83 (7,72) Aa	34,97 (5,46) Aa	36,53 (6,54) Aa
	150	31,29 (3,32) Aa	32,21 (7,85) Aa	34,40 (5,55) Aa	36,40 (6,70) Aa
	300	31,71 (2,83) Aa	33,34 (8,36) Aa	32,90 (4,20) Aa	36,21 (4,68) Aa

Grupos com a mesma letra não apresentam diferença estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ). Letras maiúsculas representam comparações na mesma coluna e letras minúsculas representam comparações na mesma linha.

Tabela 5. Valores médios (desvio padrão) de microdureza da dentina com o sistema adesivo Prime&Bond NT em diferentes meios de armazenamento e profundidades.

Mat.	Prof. ( $\mu\text{m}$ )	Água Destilada	Ciclo de pH	Ciclo de pH + NaF 0,05%	Ciclo de pH + NaF 1,23%
NT	50	30,16 (2,19)Aab	22,78 (3,92) Ab	37,86 (5,58) Aa	28,82 (5,66) Aab
	100	29,16 (2,83)Aa	27,12 (17,27)Aa	35,52 (8,35) Aa	29,73 (6,36) Aa
	150	29,81 (2,48)Aab	25,14 (5,71) Ab	34,84 (6,67) Aa	29,12 (5,23) Aab
	300	31,11 (2,65)Aa	27,14 (6,81) Aa	35,44 (5,93) Aa	30,90 (6,54) Aa

Grupos com a mesma letra não apresentam diferença estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ). Letras maiúsculas representam comparações na mesma coluna e letras minúsculas representam comparações na mesma linha.

Tabela 6. Valores médios (desvio padrão) de microdureza da dentina com o sistema adesivo Clearfil Protect Bond em diferentes meios de armazenamento e profundidades.

Mat.	Prof. ( $\mu\text{m}$ )	Água Destilada	Ciclo de pH	Ciclo de pH + NaF 0,05%	Ciclo de pH + NaF 1,23%
CF	50	30,53 (2,55) Aa	21,48 (6,66) Ab	25,60 (3,57)Aab	22,75 (3,16) Bab
	100	28,65 (3,28) Aa	21,12 (4,36) Aa	27,02 (3,96) Aa	28,25 (17,16) Aa
	150	28,77 (3,11) Aa	20,45 (5,83) Aa	27,96 (4,52) Aa	26,09 (6,01) ABa
	300	31,10 (3,18) Aa	22,83 (4,22) Aa	29,69 (3,97) Aa	28,77 (6,47) Aa

Grupos com a mesma letra não apresentam diferença estatisticamente significativa ( $p>0,05$ ). Letras maiúsculas representam comparações na mesma coluna e letras minúsculas representam comparações na mesma linha.

Tabela 7. Valores médios (desvio padrão) de microdureza da dentina com o sistema adesivo Optibond Solo Plus em diferentes meios de armazenamento e profundidades.

Mat.	Prof. ( $\mu\text{m}$ )	Água Destilada	Ciclo de pH	Ciclo de pH + NaF 0,05%	Ciclo de pH + NaF 1,23%
OP	50	34,82 (3,87) Aa	25,70 (6,60) Ab	38,25 (0,99) Aa	35,26 (8,22) Aab
	100	32,78 (3,75)Aab	25,6 (5,48) Ab	36,14 (5,39) Aa	32,01 (6,58) Aab
	150	32,60 (3,48)Aab	25,68 (5,13) Ab	36,05 (6,54) Aa	34,79 (7,64) Aab
	300	31,67 (3,15) Aa	28,77 (5,32) Aa	35,54 (6,02) Aa	33,08 (5,59) Aa

Grupos com a mesma letra não apresentam diferença estatisticamente significativa ( $p>0,05$ ). Letras maiúsculas representam comparações na mesma coluna e letras minúsculas representam comparações na mesma linha.

Tabela 8. Valores médios (desvio padrão) de microdureza da dentina com o sistema adesivo Adper Single Bond 2 em diferentes meios de armazenamento e profundidades.

Mat.	Prof. ( $\mu\text{m}$ )	Água Destilada	Ciclo de pH	Ciclo de pH + NaF 0,05%	Ciclo de pH + NaF 1,23%
SB2	50	29,38 (2,74) Aa	16,47 (3,05) ABb	20,82 (4,69) Aab	18,42 (4,10) Ab
	100	28,98 (2,12) Aa	15,96 (2,80) Bb	22,11 (5,78) Aab	17,90 (4,08) Ab
	150	28,56 (2,40) Aa	16,19 (4,27) Bb	21,37 (7,20) Aab	15,45 (2,18) Ab
	300	30,52 (2,95) Aa	21,85 (8,23) Aab	24,59 (6,08) Aab	18,90 (3,72) Ab

Grupos com a mesma letra não apresentam diferença estatisticamente significativa ( $p>0,05$ ). Letras maiúsculas representam comparações na mesma coluna e letras minúsculas representam comparações na mesma linha.

As Tabelas 9 a 12 apresentam as comparações das médias de microdureza de dentina entre os materiais testados e submetidos aos diferentes armazenamentos, em diferentes profundidades, separadamente.

Na profundidade de 50 $\mu\text{m}$ , o uso do cimento de ionômero de vidro KM resultou em valores de microdureza da dentina significativamente superiores, independente do tratamento. Porém, não houve diferença significativa quando comparado ao sistema adesivo fluoretado OU em ciclo de pH, e também OU e OP em ciclo de pH associado a NaF 1,23%.

Na profundidade de 100 $\mu$ m, o uso dos sistemas OU, OP e NT resultaram em valores de microdureza estatisticamente semelhantes ao cimento de ionômero de vidro KM, após o ciclo de pH e este associado à fluoroterapia diária e semanal. Com exceção do adesivo NT, submetido ao ciclo de pH com NaF 1,23%.

Nas profundidades de 150 $\mu$ m e 300 $\mu$ m, todos os adesivos com flúor e o cimento de ionômero de vidro apresentaram valores de microdureza estatisticamente semelhantes com todos os tipos de armazenamento, com exceção de CF na profundidade de 150 $\mu$ m, quando submetido ao ciclo de pH associado à NaF 1,23%.

Não houve diferenças estatisticamente significantes nos valores de microdureza para todos os materiais avaliados, quando imersos em água destilada ( $p>0,05$ ), com exceção do cimento de ionômero de vidro, que resultou em microdureza significativamente superior aos demais materiais na profundidade de 50 $\mu$ m.

O controle negativo SB demonstrou diferenças significantes na microdureza em todas as profundidades com ciclo de pH, seguido ou não de terapia fluoretada, quando comparado aos materiais KM e OU ( $p<0,05$ ). Porém, não foram encontradas diferenças significantes entre SB e CF após o tratamento de ciclo de pH com NaF 0,05% e 1,23%, nas profundidades de 50 e 100 $\mu$ m ( $p>0,05$ ).

Tabela 9. Médias dos valores (desvio-padrão) de microdureza da dentina com os materiais e tratamentos avaliados na profundidade 50 $\mu$ m.

<i>Materiais</i>		<i>Água Destilada</i>	<i>Ciclo de pH</i>	<i>Ciclo de pH + NaF 0,05%</i>	<i>Ciclo de pH + NaF 1,23%</i>
KM	50 $\mu$ m	44,85 (5,60) a	36,39 (5,07) a	48,15 (7,33) a	42,02 (3,76) a
OU		35,74 (4,19) b	32,11 (8,82) ab	35,22 (4,81) b	39,25 (4,52) a
NT		30,16 (2,19) b	22,78 (3,92) bc	37,86 (5,58) b	28,82 (5,66) bc
CF		30,53 (2,55) b	21,48 (6,66) c	25,60 (3,57) c	22,75 (3,16) cd
OP		34,82 (3,87) b	25,70 (6,60) bc	38,25 (0,99) b	35,26 (8,22) ab
SB2		29,38 (2,74) b	16,47 (3,05) c	20,82 (4,69) c	18,42 (4,10) d

Grupos com a mesma letra não apresentam diferença estatisticamente significante ( $p>0,05$ ), na mesma coluna.

Tabela 10. Médias dos valores (desvio-padrão) de microdureza da dentina com os materiais e tratamentos avaliados na profundidade 100µm.

<i>Materiais</i>		<i>Água Destilada</i>	<i>Ciclo de pH</i>	<i>Ciclo de pH + NaF 0,05%</i>	<i>Ciclo de pH + NaF 1,23%</i>
KM	100 µm	36,89 (4,49) a	33,53 (4,24) a	40,82 (4,32) a	39,40 (6,79) a
OU		32,47 (2,86) a	31,83 (7,72) ab	34,97 (5,46) ab	36,53 (6,54) ab
NT		29,16 (2,83) a	27,12 (17,27)ab	35,52 (8,35) ab	29,73 (6,36) bc
CF		28,65 (3,28) a	21,12 (4,36) bc	27,02 (3,96) bc	28,25(17,16)bcd
OP		32,78 (3,75) a	25,60 (5,48) abc	36,14 (5,39) ab	32,01 (6,58) ab
SB2		28,98 (2,12) a	15,96 (2,80) c	22,11 (5,78) c	17,90 (4,08) d

Grupos com a mesma letra não apresentam diferença estatisticamente significante ( $p>0,05$ ), na mesma coluna.

Tabela 11. Médias dos valores (desvio-padrão) de microdureza da dentina com os materiais e tratamentos avaliados na profundidade 150µm.

<i>Materiais</i>		<i>Água Destilada</i>	<i>Ciclo de pH</i>	<i>Ciclo de pH + NaF 0,05%</i>	<i>Ciclo de pH + NaF 1,23%</i>
KM	150 µm	34,98 (2,40) a	34,69 (5,62) a	45,91 (7,12) a	36,35 (4,46) a
OU		31,29 (3,32) a	32,21 (7,85) a	34,40 (5,55) a	36,40 (6,70) ab
NT		29,81 (2,48) a	25,14 (5,71) ab	34,84 (6,67) a	29,12 (5,23) ac
CF		28,77 (3,11) a	20,45 (5,83) b	27,96 (4,52) ab	26,09 (6,01) c
OP		32,60 (3,48) a	25,68 (5,13) ab	36,05 (6,54) a	34,79(7,64)abc
SB2		28,56 (2,40) a	16,19 (4,27) b	21,37 (7,20) b	15,45 (2,18) b

Grupos com a mesma letra não apresentam diferença estatisticamente significante ( $p>0,05$ ), na mesma coluna.

Tabela 12. Médias dos valores (desvio-padrão) de microdureza da dentina com os materiais e tratamentos avaliados na profundidade 300µm.

<i>Materiais</i>		<i>Água Destilada</i>	<i>Ciclo de pH</i>	<i>Ciclo de pH + NaF 0,05%</i>	<i>Ciclo de pH + NaF 1,23%</i>
KM	300 µm	34,46 (3,27) a	34,00 (3,28) a	34,32 (3,29) a	33,19 (3,21) a
OU		31,71 (2,83) a	33,34 (8,36) a	32,90 (4,20) a	36,21 (4,68) a
NT		31,11 (2,65) a	27,14 (6,81) ab	35,44 (5,93) a	30,90 (6,54) a
CF		31,10 (3,18) a	22,83 (4,22) b	29,69 (3,97) ab	28,77 (6,47) a
OP		31,67 (3,15) a	28,77 (5,32) ab	35,54 (6,02) a	33,08 (5,59) a
SB2		30,52 (2,95) a	21,85 (8,23) b	24,59 (6,08) b	18,90 (3,72) b

Grupos com a mesma letra não apresentam diferença estatisticamente significante ( $p>0,05$ ), na mesma coluna.

## **2.5. Discussão**

O ambiente oral é constantemente sujeito a ciclos de desmineralização e remineralização baseados em mudanças de pH. Assim, modelos laboratoriais que simulam este ciclo de pH têm o objetivo de avaliar apropriadamente a liberação de flúor de materiais restauradores e sistemas adesivos [Carvalho e Cury, 1999; Hara et al., 2005; Peris et al., 2007]. O modelo de desafio cariogênico proposto por Carvalho e Cury [1999] foi utilizado no presente estudo para avaliação do potencial anticariogênico de sistemas adesivos sob diferentes condições de acessibilidade ao flúor como terapia tópica. Este método visa simular uma situação clínica de um paciente de alto risco à cárie, que recebe tratamento restaurador com materiais fluoretados, e, concomitantemente, uma fonte adicional de flúor tópico.

Neste estudo, os testes de microdureza em dentina foram realizados em 4 distâncias a partir da interface adesiva dentina-restauração (50, 100, 150 e 300  $\mu\text{m}$ ). Hara et al. [2002] não observaram diferenças nos valores de microdureza da dentina acima de 300 $\mu\text{m}$ , uma vez que o potencial de penetração dos íons flúor é limitado.

Os menores valores de microdureza da dentina encontrados com o uso de alguns sistemas adesivos fluoretados, quando comparados aos obtidos com o cimento de ionômero de vidro, podem ser explicados pelo fato de o adesivo ser aplicado em uma fina e única camada e a quantidade exposta ser extremamente restrita [Itota et al., 2002]. Por este motivo, o cimento de ionômero de vidro foi utilizado como material de forramento neste estudo, onde somente uma fina camada permanece exposta ao meio externo. Esta técnica é chamada Técnica do Sanduíche Aberto, que seria indicada para a restauração de cavidades com margens cervicais em dentina, devido à capacidade de selamento marginal do cimento de ionômero de vidro [McLean, 1992].

Estudos *in vitro* [Pereira et al., 1998; Hotta et al., 2001; Hara et al., 2002; Chu e Lo, 2008] reportaram que a presença de ionômero de vidro em cavidades com margens em dentina radicular promove um aumento da microdureza

dentinária, com maior penetração do flúor quando um ionômero de vidro convencional é utilizado [Hotta et al., 2001; Hara et al., a2002; Hara et al., b2002; Pereira et al., b1998]. Houve um aumento na microdureza em dentina quando o cimento ionomérico convencional Ketac Molar foi utilizado sob ciclo de pH associado a terapias fluoretadas à base de solução de NaF 0,05%, nas profundidades de 50 e 150µm. De fato, estudos *in vitro* demonstraram a capacidade dos cimentos de ionômero de vidro de se recarregarem quando fontes externas de flúor, como soluções [Attar e Onen, 2002; Dionysopoulos et al., 2003; Cildir e Sandalli, 2005; Okuyama et al., 2006], géis acidulados [Attar e Turgut, 2003] e dentifrícios [Cildir e Sandalli, 2005] são utilizados.

Entre os sistemas adesivos utilizados neste estudo, os sistemas Prime&Bond NT e Optibond FL são considerados sistemas convencionais de dois e três passos e os sistemas One Up Bond F Plus e Clearfil Protect Bond são sistemas adesivos autocondicionantes de um e dois passos, respectivamente. Itota et al. [2005] avaliaram a liberação de flúor de vários sistemas adesivos e concluíram que sistemas convencionais são mais recomendados, pois promovem maior liberação de flúor e inibem mais efetivamente a cárie secundária, quando comparados aos sistemas autocondicionantes. Porém, ao contrário, no presente estudo, o sistema adesivo autocondicionante One Up Bond F Plus proporcionou valores de microdureza de dentina semelhantes aos valores encontrados após o uso do cimento de ionômero de vidro Ketac Molar, na profundidade de 50µm, quando submetido ao ciclo de pH e também o sistema adesivo OptiBond FL sob ciclo de pH associado à terapia de NaF 1,23%. Nas demais profundidades, o sistema One Up Bond F Plus também apresentou comportamento semelhante ao cimento de ionômero de vidro, porém em alguns casos, sem diferença aos demais sistemas adesivos fluoretados avaliados. Adicionalmente, a microdureza da dentina subjacente ao sistema adesivo One Up Bond F Plus se manteve constante após o desafio cariogênico, com ou sem associação de terapia fluoretada, em todas as profundidades avaliadas.

Em materiais forradores, como cimentos de ionômero de vidro, os íons flúor liberados penetram e se difundem facilmente nas paredes cavitárias, constituindo uma excelente estratégia para remineralizar a dentina desmineralizada [Itota et al., 2006]. De acordo com Tam et al. [1997], 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 fenda, elevando a concentração de flúor e criando um maior potencial de difusão no local [Wiegand et al., 2007]. Parte destes íons são adsorvido nos cristais de apatita e se tornam firmemente aderidos a estes. O estudo de Geiger e Weiner [1993] demonstrou que a interface entre o ionômero de vidro e dentina é composta por carbonatoapatita fluoretada. De acordo com estes autores, a presença deste mineral menos solúvel na interface dente/restauração pode promover resistência à cárie [Geiger e Weiner, 1993].

Os diferentes comportamentos dos materiais fluoretados sobre o efeito inibitório de cárie secundária dependem de fatores como a solubilidade, o tipo de componente ativo, bem como à fase, orgânica ou inorgânica, na qual o flúor está adicionado [Rawls, 1991]. O sistema adesivo One Up Bond F Plus tem um radical de ácido dicarboxílico na extremidade da molécula de MAC-10. A hidrofiliçidade dada pelo radical presente provavelmente permitiu a dissociação iônica do fluoreto a partir das partículas de fluorsilicato em meio aquoso. Além disso, os radicais dicarboxílicos exercem um efeito tampão, com seqüestro de íons  $\text{OH}^-$  e  $\text{H}^+$  do meio externo, o que pode ter impedido o efeito de desmineralização da dentina sob ciclo de pH. Este pode ter sido o motivo pelo qual o sistema adesivo One Up Bond F Plus não revelou diferenças significativas na microdureza da dentina quando submetido a desafio cariogênico, seguido ou não de terapia fluoretada, em todas as profundidades. Porém outros sistemas adesivos fluoretados também não apresentaram diferenças na microdureza da dentina em diferentes meios de armazenamentos.

Cimentos de ionômero de vidro são compostos de vidro de silicato contendo íons flúor e ácido poliacrílico, que sofrem presa por meio de uma reação ácido-base em que uma variedade de constituintes iônicos é liberada a partir do vidro, incluindo flúor [Wiegand et al., 2007]. Ambos os sistemas One Up Bond F Plus e OptiBond FL têm fluorsilicato como o componente ativo, onde o segundo contém fluoreto de sódio e o primeiro fluorsilicato de alumínio. De fato, os sistemas OptiBond FL e One Up Bond F Plus proporcionaram microdureza da dentina semelhante ao cimento de ionômero de vidro, em ciclo de pH associado a

NaF 1,23% na profundidade de 50µm. Já os sistemas adesivos Prime & Bond NT e Clearfil Protect Bond apresentam íons fluoreto incorporados à parte orgânica, na forma de hidrofluoreto de cetilamina e fluoreto de sódio, respectivamente. De acordo com Peris *et al.* [2007], os íons fluoreto que se encontram na matriz resinosa se tornam confinados no interior da camada híbrida após a polimerização dos sistemas adesivos, dificultando sua liberação. Neste estudo, o sistema adesivo Clearfil Protect Bond resultou em valores de microdureza semelhantes ao sistema não fluoretado Single Bond 2, nas profundidades de 50µm e 100µm, quando submetido ao desafio cariogênico associado ou não a terapias fluoretadas.

Este estudo utilizou terapias de flúor tópico com a intenção de simular bochechos de uso diário (0,05%) e aplicação tópica semanal (1,23%). O emprego de solução de NaF 0,05% resultou em valores superiores de microdureza de dentina até mesmo quando o sistema não fluoretado Single Bond 2 foi utilizado. Para todos os materiais avaliados, a microdureza original da dentina, obtida após o armazenamento com água destilada, foi recuperada após o desafio cariogênico com a associação de NaF 0,05% nas profundidades de 50µm e 100 µm. Estes dados corroboram com o estudo de Okuyama *et al.* [2006], onde uma combinação de materiais restauradores com flúor e sistemas adesivos fluoretados foi mais eficiente com aplicações tópicas diárias de flúor.

A primeira hipótese formulada para este estudo foi rejeitada, uma vez que houve diferença entre a microdureza da dentina obtida com o uso de cimento de ionômero de vidro e a maior parte dos sistemas adesivos fluoretados. A segunda também foi rejeitada, pois apenas a terapia fluoretada 0,05% diária foi capaz de aumentar a microdureza da dentina.

Dentro das limitações deste estudo, foi possível concluir que a incorporação da terapia diária de NaF 0,05% ao ciclo de pH foi capaz de recuperar a microdureza original da dentina em 50 e 100µm para todos os materiais avaliados. A microdureza da dentina subjacente ao sistema adesivo One-Up Bond F Plus se manteve constante após o desafio cariogênico, com ou sem associação de terapia fluoretada, em todas as profundidades avaliadas.

## **2.6. Agradecimentos**

Os autores gostariam de agradecer 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 assistência na execução dos testes de microdureza.

## **2.7. Referências Bibliográficas**

1. Argenta RMO, Tabchoury CPM, Cury JA: A modified pH-cycling model to evaluate fluoride effect on enamel demineralization. *Pesq Odontol Bras* 2003;17: 241-246.
2. Attar N, Onen A: Fluoride release and uptake characteristics of aesthetic restorative materials. *J Oral Rehabil* 2002;29:791-798.
3. Attar N, Turgut MD: Fluoride release and uptake capacities of fluoride-releasing restorative materials. *Oper Dent* 2003; 28:395-402.
4. Burgess JO: Dental materials for the restorative of root surface caries. *Am J Dent* 1995;5:342-351.
5. Burke FM, Ray NJ, Mc Connell RJ: Fluoride-containing restorative materials. *Int Dent J* 2006;56:33-43.
6. Carvalho AS and Cury JA: Fluoride released from some materials in different solutions. *Oper Dent* 1999;24:14-19.
7. Cildir SK, Sandalli N: Fluoride release/uptake of glass ionomer cements and polyacid-modified composite resins. *Dent Mater J* 2005; 24:92-97.
8. Chu CH, Lo EC: Microhardness of dentine primary teeth after topical fluoride applications. *J Dent* 2008;36:387-391.
9. Dionysopoulos P, Kotsanos N, Pataridou A: Fluoride release and uptake by four new fluoride releasing restorative materials. *J Oral Rehabil* 2003;30:866-872.
10. Featherstone JDB: Fluoride, remineralization and root caries and root caries. *Am J Dent* 1994;7:271-274.
11. Featherstone JDB: Modeling the caries- inhibitory effects of dental materials. *Dent Mater* 1996;12:194-197.
12. Ferracane JL, Mitchem JC, Adey JD: Fluoride penetration into the hybrid layer from a dentin adhesive. *Am J Dent* 1998;11:23-28.
13. Geiger SB e Weiner S: Fluoridated carbonatoapatite in the intermediate layer between glass ionomer and dentin. *Dent Mater* 1993;9:33-6.
14. Gonzalez EH, Yap AUJ, Hsu SCY: Demineralization inhibition of direct tooth-colored restorative materials. *Oper Dent* 2004;29:578-585.
15. Hahn P, Schwaller HG, Gerhardt C, Hellwig E: Influence of two dentin bonding systems on the demineralization of the root surface. *Oper Dent* 1999;24:344-350.

16. Hara AT, Magalhães CS, Serra MC, Rodrigues Jr. AL: Cariostatic effect of fluoride-containing restorative systems associated with dentifrices on root dentin. *J Dent* 2002;30:205-212.
17. Hara AT, Turssi CP, Serra MC, Nogueira MCS: Extent of the cariostatic effect on root dentin provided by fluoride-containing restorative materials. *Oper Dent* 2002;27:480-487.
18. Hara AT, Queiroz CS, Paes Leme AF, Serra MC, Cury JA: Caries Progression and inhibition in human and bovine root dentine in situ. *Caries Res* 2003;37:339-344.
19. 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.
20. Hictz MJ, Flaitz CM: resin-modified glass ionomer restorations and in vitro secondary caries formation in coronal enamel. *Quintessence Int* 2000;31:570-578.
21. Hosoya Y, Marshall SJ, Watanabe LG, Marshall GW: Microhardness of carious deciduous dentin. *Oper Dent* 2000;25:81-89.
22. Hotta M, Li Y, Sekine I: Mineralization in bovine dentin adjacent to glassionomer restorations. *J Dent* 2001;29:211-215.
23. Hsu CYS, Donly KJ, Drake DR, Wefel JS: Effects of aged fluoride-containing restorative materials on recurrent root caries. *J Dent Res* 1998;77:418-425.
24. 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.
25. 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.
26. 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.
27. Itthagarum A, King NM, Wefel JS, Tay FR, Pasley DH: The effect of fluoridated and non-fluoridated rewetting agents on in vitro recurrent caries. *J Dent* 2001;29:255-273.
28. Karantakis P, Helvatjoglou-Antoniades M, Theodoridou-Pahini S, Papadogiannis Y: Fluoride release from three glass ionomers, a compomer, and a

- composite resin in water, artificial saliva, and lactic acid. *Oper Dent* 2000;25:20-25.
29. Kidd EA, Toffenetti F, Mjör IA: Secondary caries. *Int Dent Res* 1992;42:127-138.
30. Kitasako Y, Nakajima M, Foxton RM, Aoki K, Pereira PN, Tagami J: Physiological remineralization of artificially demineralized dentin beneath glass ionomer cements with and without bacterial contamination in vivo. *Oper Dent* 2003;28:274-280.
31. Knight GM, McIntyre JM, Craig GG: Electron probe microanalysis of ion exchange of selected elements between dentine and adhesive restorative materials. *Aust Dent J* 2007;52:128-132.
32. Kotsanos N: An intraoral study of caries induced on enamel in contact with fluoride-releasing restorative materials. *Caries Res* 2001;35:200-204.
33. McLean JW: Clinical applications of glass ionomer cements. *Oper Dent* 1992;Suppl 5:184-190
34. Mjör IA, Toffenetti F: The location of clinically diagnosed secondary caries. *Quintessence Int* 1998;29:313-317.
35. Mjör IA: Secondary caries: A literature review with case reports. *Quintessence Int* 2000;31:165-179.
36. 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.
37. Pereira PNR, Inokoshi S, Tagami J: In vitro secondary caries inhibition around fluoride releasing materials. *J Dent* 1998;26:505-510.
38. Pereira 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.
39. 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.
40. Qvist V, Qvist J, Mjör IA: Placement and longevity of tooth-colored restorations in Denmark. *Acta Odontol Scand* 1990;48:305-311.
41. Rawls AR: Preventive dental materials sustained delivery of fluoride and other therapeutic agents. *Adv Dent Res* 199;5:50-55.

42. Silva KG, Pedrini D, Delbem ACB, Cannon M: Effect of pH variations in a cycling model on the properties of restorative materials. *Oper Dent* 2007;32:328-335.
43. 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.
44. Ten Cate JM: In vitro studies on the effects of fluoride on de- and remineralization. *J Dent Res* 1990;69:614-619.
45. Vieira A, Hancock R, Dumitriu M, Schwartz M, Limeback H, Grynpas M: How does fluoride affect dentin microhardness and mineralization? *J Dent Res* 2005;84:951-7.
46. 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.

### 3. Normas da Revista

# Caries Research

#### Guidelines for Authors

[www.karger.com/cre\\_guidelines](http://www.karger.com/cre_guidelines)

---

#### Conditions

All manuscripts are subject to editorial review. Manuscripts are received with the explicit understanding that the data they contain have not previously been published (in any language) and that they are not under simultaneous consideration by any other publication.

Submission of an article for publication implies the transfer of the copyright from the author to the publisher upon acceptance. Accepted papers become the property of 'Caries Research' and may not be reproduced by any means, in whole or in part, without the written consent of the publisher.

It is the author's responsibility to obtain permission to reproduce illustrations, tables, etc., from other publications.

---

#### Types of Papers

*Original papers or Short Communications* are reports of original work (including systematic reviews and meta-analyses). Both have the structure outlined below but for Short Communications the abstract should be less than 100 words and the manuscript should not exceed 3 printed pages, equivalent to about 9 manuscript pages (including tables, illustrations and references).

*Reviews* can have a freer format but should nevertheless commence with a Title page, an Abstract and an Introduction defining the scope.

*Current topics* are concise articles that present critical discussion of a topic of current interest, or a fresh look at a problem, and should aim to stimulate discussion.

*Letters to the Editor*, commenting on recent papers in the journal, are published occasionally, together with a response from the authors of the paper concerned.

---

#### Preparation of Manuscripts

Text should be one-and-a-half-spaced, with wide margins. All pages should be numbered, starting from the title page. A conventional font, such as Times New Roman or Arial, should be used, with a font size of 11 or 12. Avoid using italics except for Linnaean names of organisms and names of genes.

Manuscripts should be prepared as a text file plus separate files for illustrations. The text file should contain the following sequence of sections: Title page; Declaration of interests; Abstract; Introduction; Materials and Methods; Results; Discussion; Acknowledgements; References; Legends; Tables. Each section should start on a new page, except for the body of the paper (Introduction to Acknowledgements), which should be continuous.

**Title page:** The first page of each manuscript should show, in order:

- the title, which should be informative but concise;

- the authors' names and initials, without degrees or professional status, followed by their institutes;
- a short title, maximum length 60 characters and spaces, for use as a running head;
- a list of 3-10 key words, for indexing purposes;
- the name of the corresponding author and full contact details (postal address, telephone and fax numbers, and e-mail address).

**Declaration of Interests:** Potential conflicts of interest should be identified for each author or, if there are no such conflicts, this should be stated explicitly. Conflict of interest exists where an author has a personal or financial relationship that might introduce bias or affect their judgement. Examples of situations where conflicts of interest might arise are restrictive conditions in the funding of the research, or payment to an investigator from organisations with an interest in the study (including employment, consultancies, honoraria, ownership of shares). The fact that a study is conducted on behalf of a commercial body using funds supplied to the investigators' institution by the sponsor does not in itself involve a conflict of interest. Investigators should disclose potential conflicts to study participants and should state whether they have done so.

The possible existence of a conflict of interest does not preclude consideration of a manuscript for publication, but the Editor might consider it appropriate to publish the disclosed information along with the paper.

**Abstract:** The abstract should summarise the contents of the paper in a single paragraph of no more than 250 words (to ensure that the abstract is published in full by on-line services such as PubMed). No attempt should be made to give numerical results in detail. References are not allowed in the abstract.

**Introduction:** This section should provide a concise summary of the background to the relevant field of research, introduce the specific problem addressed by the study and state the hypotheses to be tested.

**Materials and Methods (or Subjects and Methods):** All relevant attributes of the material (e.g. tissue, patients or population sample) forming the subject of the research should be provided. Experimental, analytical and statistical methods should be described concisely but in enough detail that others can repeat the work. The name and brief address of the manufacturer or supplier of major equipment should be given.

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. Sole reliance on statistical hypothesis testing, such as the use of P values, should be avoided. Details about eligibility criteria for subjects, randomization and the number of observations should be included. The computer software and the statistical methods used should be specified. See Altman et al.: Statistical guidelines for contributors to medical journals [Br Med J 1983;286:1489-93] for further information.

Manuscripts reporting studies on human subjects should include evidence that the research was ethically conducted in accordance with the Declaration of Helsinki ([World Medical Association](#)). In particular, there must be a statement in Materials and Methods that the consent of an appropriate ethical committee was obtained prior to the start of the study, and that subjects were volunteers who had given informed, written consent.

Clinical trials should be reported according to the standardised protocol of the [CONSORT Statement](#). The CONSORT checklist must be submitted together with papers reporting clinical trials.

In studies on laboratory animals, the experimental procedures should conform to the principles laid down in the [European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes](#) and/or the [National Research Council Guide for the Care and Use of Laboratory Animals](#).

Unless the purpose of a paper is to compare specific systems or products, commercial names of clinical and scientific equipment or techniques should only be cited, as appropriate, in the

'Materials and Methods' or 'Acknowledgements' sections. Elsewhere in the manuscript generic terms should be used.

**Results:** Results should be presented without interpretation. The same data should not be presented in both tables and figures. The text should not repeat numerical data provided in tables or figures but should indicate the most important results and describe relevant trends and patterns.

**Discussion:** This section has the functions of describing any limitations of material or methods, of interpreting the data and of drawing inferences about the contribution of the study to the wider field of research. There should be no repetition of preceding sections, e.g. reiteration of results or the aim of the research. The discussion should end with a few sentences summarising the conclusions of the study. However, there should not be a separate 'Conclusions' section.

**Acknowledgements:** Acknowledge the contribution of colleagues (for technical assistance, statistical advice, critical comment etc.) and also acknowledge the source of funding for the project. The position(s) of author(s) employed by commercial firms should be included.

**Legends:** The table headings should be listed first, followed by the legends for the illustrations.

**Tables:** Tables should be numbered in Arabic numerals. Each table should be placed on a separate page. Tables should not be constructed using tabs but by utilising the table facilities of the word-processing software.

#### **Illustrations:**

- Illustrations should be numbered in Arabic numerals in the sequence of citation. Figure numbers must be clearly indicated on the figures themselves, outside the image area.
- Black and white half-tone illustrations must have a final resolution of 300 dpi after scaling, line drawings one of 800-1200 dpi.
- Figures with a screen background should not be submitted.
- When possible, group several illustrations in one block for reproduction (max. size 180 x 223 mm).

---

#### Color Illustrations

**Online edition:** Color illustrations are reproduced free of charge. In the print version, the illustrations are reproduced in black and white. Please avoid referring to the colors in the text and figure legends.

**Print edition:** Up to 6 color illustrations per page can be integrated within the text at CHF 760.00 per page.

---

#### References

Reference to other publications should give due acknowledgement to previous work; provide the reader with accurate and up-to-date guidance on the field of research under discussion; and provide evidence to support lines of argument. Authors should select references carefully to fulfil these aims without attempting to be comprehensive.

Cited work should already be published or officially accepted for publication. Material submitted for publication but not yet accepted should be cited as 'unpublished results', while unpublished observations communicated to the authors by another should be cited as 'personal communication', with credit in both cases being given to the source of the information. Neither unpublished nor personally communicated material should be included in the list of references. Abstracts more than 2 years old and theses should not be cited without a good reason, which should be explained in the covering letter accompanying the paper.

References should be cited by naming the author(s) and year. Where references are cited in parenthesis, both names and date are enclosed in square brackets. Where the author is the subject or object of the sentence, only the year is enclosed in brackets.

One author: [Frostell, 1984] or Frostell [1984].  
 Two authors: [Dawes and ten Cate, 1990] or Dawes and ten Cate [1990].  
 More than two authors: [Trahan et al., 1985] or Trahan et al. [1985].

Several references cited in parenthesis should be in date order and separated by semi-colons:  
 [Frostell, 1984; Trahan et al., 1985; Dawes and ten Cate, 1990].

Material published on the World Wide Web should be cited like a reference to a print publication, and the URL included in the reference list (not in the text), together with the year when it was accessed.

The reference list should include all the publications cited in the text, and only those publications. References, formatted as in the examples below, should be arranged in strict alphabetical order. All authors should be listed. For papers by the same authors, references should be listed according to year. Papers published by the same authors in the same year should be distinguished by the letters a, b, c, ... immediately following the year, in both the text citation and the reference list. For abbreviation of journal names, use the Index Medicus system. For journals, provide only the year, volume number and inclusive page numbers.

*Examples:*

(a) *Papers published in periodicals:* Lussi A, Longbottom C, Gygax M, Braig F: Influence of professional cleaning and drying of occlusal surfaces on laser fluorescence in vivo. *Caries Res* 2005;39:284-286.

(b) *Papers published only with DOI numbers:* Theoharides TC, Boucher W, Spear K: Serum interleukin-6 reflects disease severity and osteoporosis in mastocytosis patients. *Int Arch Allergy Immunol* DOI: 10.1159/000063858.

(c) *Monographs:* Matthews DE, Farewell VT: *Using and Understanding Medical Statistics*. Basel, Karger, 1985.

(d) *Edited books:* DuBois RN: Cyclooxygenase-2 and colorectal cancer; in Dannenberg AJ, DuBois RN (eds): *COX-2*. *Prog Exp Tum Res*. Basel, Karger, 2003, vol 37, pp 124-137.

(e) *Patents:* Diggens AA, Ross JW: Determining ionic species electrochemically. UK Patent Application GB 2 064 131 A, 1980.

(f) *World Wide Web:* Chaplin M: Water structure and behavior. [www.lsbu.ac.uk/water](http://www.lsbu.ac.uk/water), 2004.

---

Digital Object Identifier (DOI)

S. Karger Publishers supports DOIs as unique identifiers for articles. A DOI number will be printed on the title page of each article. DOIs can be useful in the future for identifying and citing articles published online without volume or issue information. More information can be found at [www.doi.org](http://www.doi.org)

---

*Author's Choice*<sup>™</sup>

With this option the author can choose to make his article freely available online against a one-time fee of CHF 2,750.00. This fee is independent of any standard charges for supplementary pages, color images etc. which may apply. More information can be found at [www.karger.com/authors\\_choice](http://www.karger.com/authors_choice).

Does your funding agency/institute require you to deposit your article in an institutional archive (e.g. PubMedCentral)? You will be pleased to hear that Karger journals are fully geared up for this requirement. All you have to do is opt for open access publication of your article through Karger's Author's Choice<sup>™</sup>. Karger will also take care of the immediate deposit in the PubMedCentral archive and what's more, not of the manuscript, but of the final, published article. The article will

also be available with open access right away, and not just after 12 months. The cost of Author's Choice™ is a permissible cost in your grant, so please take care to budget for it.

---

#### Page Charges

There are no page charges for papers of seven or fewer printed pages (including tables, illustrations and references). A charge of CHF 650.00 will be levied for each page in excess of the allotted seven printed pages. The allotted size of a paper is equal to approximately 21 typescript pages (including tables, illustrations and references).

---

#### Proofs

Unless indicated otherwise, proofs are sent to the first-named author and should be returned with the least possible delay. Alterations made in proofs, other than the correction of printer's errors, are charged to the author. No page proofs are supplied to the author.

---

#### Reprints

Order forms and a price list are sent with the proofs. Orders submitted after this issue is printed are subject to considerably higher prices.

## 4. Artigo em Inglês

### 4.1. Abstract

The aim of this study was to evaluate the microhardness of dentin subjacent to the bonding interface of composite restorations using fluoride-releasing adhesive systems, under a pH-cycling regimen associated or not to topical fluoride therapies. Thirty human third molars were prepared with cavities in the labial and lingual surfaces with cervical margins at dentin. The fluoride containing bonding systems One-Up Bond F Plus (OU), Prime&Bond NT (NT), Clearfil Protect Bond (CF), Optibond Solo Plus (OP) and also the controls [-] Single Bond 2 (SB) and [+] Ketac Molar (KM) were used previously to composite resin restorations (n=10). The restorations were sectioned into four slabs and submitted to different storage media for 15 days: distilled water, pH-cycling, pH-cycling associated to NaF 0.05% and pH-cycling associated to NaF 1.23%. The Knoop microhardness test was performed in dentin at 50, 100, 150 and 300µm from the adhesive interface. The results were analyzed by a three-way ANOVA and Tukey HSD test ( $p < 0.05$ ). There was not found significant differences in dentin microhardness with OU submitted to pH-cycling, associated or not to NaF association, at all dentin depths. Microhardness of dentin was significantly higher with all the tested materials, when pH-cycling was associated to NaF 0.05%, at 50µm and 100µm. Microhardness of dentin treated with OU was not affected by cariogenic challenge, with or without fluoride therapy. The incorporation of daily fluoride treatment with NaF 0.05% to the cariogenic challenge was capable to recover the original microhardness of dentin at 50 and 100µm with all the tested materials.

## **4.2. Introduction**

Restorations with cervical margins in dentin and cementum are more susceptible to microleakage, postoperative sensitivity and secondary caries [Pereira et al., a1998]. According to Mjör et al. [2000], secondary caries can be defined as lesions that are limited to margins of existing restorations, where the microbiota is very similar to that found in the primary caries.

Studies have shown that secondary caries are the most important etiologic factor in restoration failure and the most common reason for replacing restorations [Qvist et al., 1990; Kidd et al., 1992; Mjör et a.,1998; Attar e Onen, 2003]. According to Burgess [1995], secondary caries are often found in the cervical margins of restorations because of the difficulties involved in getting access to the root margin, ensuring sufficient insulation, removing carious tissue and inserting the restorative material. Factors such as these inevitably lead to microgaps at the interface, which are associated with a greater probability of secondary caries developing as a result of the influx of fluids and cariogenic microorganisms into this region [Kidd et al.,1992]. In addition, an in vitro study showed that secondary caries are found to develop more often in root dentin, as minerals can be lost twice as fast in the root as in enamel [Feathestone, 1994].

Fluoride has been incorporated in some restorative materials so that they can release this ion, which is incorporated by the tooth hard tissue, preventing secondary caries in cavity margins [Pereira et al., a1998]. The ability of restorative materials to release fluoride and of the adjacent dentin to incorporate it are important factors which influence the cariostatic effect of fluoride [Hsu et al., 1998; Tam et al., 1997]. According to Hahn et al. [1999], this potential is not sufficient to completely prevent secondary caries, as the fluoride concentration and the length of time during which fluoride is released depend on the materials, with a greater amount normally only being released during the first 24 hours [Hsu et al., 1998; Attar e Onen, 2002; Attar e Turgut, 2003; Cildir e Sandalli, 2005]. Itota et al. [2002] report that adhesive systems that release fluoride are effective at preventing lesions in cavity walls but are not able to reduce the depth of the lesion. They concluded that the formation of secondary caries can only be prevented by a combination of a fluoride-releasing adhesive system and restorative material that

also releases fluoride [Itota et al, 2002]. Furthermore, while the fluoride released by adhesive systems is able to ensure the integrity of the cavity wall, it does not prevent secondary lesions [Hara et al., 2005]. Hence, the question whether the fluoride found in restorative materials and adhesive systems is able to reduce the incidence of caries continues to be the subject of debate.

Restorative materials that contain fluoride include glass ionomer cement, resin-modified glass ionomer cement, compomers, some composite resins, surface sealants and dental amalgam [Burke et al.,2006]. Recently, a number of manufacturers of adhesive systems have included fluoride releasing components in their products. According to Ferracane et al. [1998], the fluoride ions in adhesive systems are released in the direction of the walls of the cavity with which the adhesive system is in contact. The ions then penetrate the walls and diffuse easily through the dentin across the hybrid layer.

A very large number of in vitro models of cariogenic challenges have been used to simulate the pH of the oral cavity and produce artificial caries in enamel and dentin. These models can be static chemical models involving immersion in solutions such as acetic acid with a pH of 4.5 [Pereira et al., a1998; Itthagaran et al., 2001], artificial saliva with a pH of 7.0 [Karantakis et al., 2000; Hara et al., 2005] or acidified gels with a pH of 4.25 [Hicks e Flaitz, 2000]. However, most studies use a dynamic chemical model with demineralization and remineralization cycles involving immersion in acid and neutral solutions for specific lengths of time [Pereira et al., b1998; Carvalho e Cury, 1999; Hahn et al., 1999; Kotsanos, 2001; Hara et al., b2002; Hara et al., b2002 Argenta et al., 2003; Gonzalez et al., 2004; Peris et al., 2007; Knight et al., 2007; Silva et al., 2007]. Some studies have used solutions with pHs of 5.0 and 7.0 for 6 and 18 hours, respectively, to simulate the cariogenic challenge (Carvalho e Cury, 1999; Hara et al., a2002; Hara et al., b2002; Gonzalez et al., 2004; Hara et al., 2005; Silva et al., 2007). Biological models that expose the substrate to one or more species of cariogenic microorganisms as a source of acid are also used [Hsu et al., 1998; Kitasako et al., 2003; Itota et al., 2005; Itota et al., 2006]. Nevertheless, pH cycling is believed to be the method that most closely reflects the natural development of caries, as it simulates periods of demineralization and remineralization [Ten Cate, 1990] and is

able to produce caries similar to those produced in vivo [Featherstone et al.,1996; Argenta et al., 2003].

Different methods have been used to evaluate the degree of demineralization of root dentin. In a review, Featherstone [1996] reported that both microradiography and microhardness tests can be used to evaluate subsurface carious lesions quantitatively [Featherstone, 1996]. Microhardness testing is the method of choice for detecting changes in the consistency of the surface. Use of the Knoop microhardness test in the caries inhibition zone in root dentin adjacent to restorations with fluoride-releasing materials has also been reported in the literature [Pereira et al., b1998, Hosoya et al., 2000; Hotta et al., 2001; Hara et al., a2002; Hara et al., b2002; Kitasako et al., 2003; Hara et al., 2003; Vieira et al., 2005; Silva et al., 2007; Chu e Lo, 2008]. However, there is a dearth of material in the literature regarding the effect of fluoridated solutions in association with fluoride-releasing materials following a cariogenic challenge.

The aim of this in vitro study was to evaluate the microhardness of dentin underneath the adhesive interface of composite resin restorations using fluoride-releasing adhesive systems subjected to a cariogenic challenge with and without daily and weekly fluoride therapy.

One of the hypotheses to be tested in this study was that differences between the microhardness of dentin underneath fluoride-releasing adhesive systems and under conventional glass ionomer cement would not be detected. The other hypothesis to be tested was that topical fluoride therapies would increase dentin microhardness, irrespective of the material used.

### **4.3. Materials and Methods**

#### *Preparation of the specimens*

This study was approved by the Research Ethics Committee of the Pontifical Catholic University of Paraná (CEP/PUCPR 0001312/07). Thirty healthy human third molars that had been extracted and stored in the PUCPR Tooth Bank were used. The teeth were cleaned immediately after extraction using manual curettes and stored in 0.05% chloramine-T solution at 4 °C for a maximum of 6 months.

Class V cavities with a depth of 2mm, mesiodistal width of 4mm and gingival/occlusal height of 3mm were made on the lingual and vestibular surfaces of the molars, with the occlusal margins in enamel and cervical margins in dentin (Fig. 1-A). The cavities were prepared with a spherical carbide (#4 - KG Sorensen, São Paulo, SP, Brazil) burr rotating (Dabi Atlante, Ribeirão Preto, SP, Brazil) at high speed with constant air and water cooling. After five teeth had been prepared, the burr was replaced with a new one. The teeth were then divided at random into six groups of five teeth (i.e., ten restorations) each and sectioned mesiodistally with a diamond disc (Fig. 1-B,C) (#7020 - KG Sorensen, São Paulo, SP, Brazil) fitted to a chuck and a straight handpiece (Dabi Atlante, Ribeirão Preto, SP, Brazil) under a constant water spray.

The materials for the cavity restorations were used in accordance with the manufacturers' instructions (Table 1). Ketac Molar glass ionomer cement (3MV ESPE, St. Paul, MN, USA) was used as a positive control in the form of a 1 mm thick lining over all the dentin up to the cervical margin of the preparation. The adhesive system ScotchBond Multi Purpose (3M ESPE, St. Paul, MN, USA) was used in accordance to the manufacturers' instructions. The cavities were restored with Filtek Z350 composite resin (3M ESPE, St. Paul, MN, USA) using four oblique increments (Fig. 1-D) that were light cured for 20 seconds each With a halogen curing unit with an irradiance of 560mW/cm<sup>2</sup> (Optilux VLC 501, Demetron Research Corp, Danbury, CT, USA).

Table 1. Description of materials used in this study.

Code	Brand (manufacturer)	Classification	Composition
KM	Ketac Molar Easy Mix (3M ESPE, St Paul, MN, USA) Positive control	Convencional glass ionomer cement	Liquid: polyethylene and polycarbonic acid, tartaric acid and water Powder: fluorosilicate glass
OU	One Up Bond F Plus (Tokuyama Corp., Tokyo, Japan)	Self-etching adhesive system	A: Methacrylates, MMA, HEMA, MAC-10 B: methacrylates, water, fluoroaluminosilicate, glass filler
NT	Prime&Bond NT (Dentsply Caulk Milford, DE, USA)	Etch & Rinse adhesive system	Di and Tri-methacrylates resins, PENTA, nanofillers, photoinitiators, stabilizers, cetylamine hydrofluoride, acetone
CF	Clearfil Protect Bond (Kuraray Comp. Ltda, Tokyo, Japan)	Self-etching adhesive system	Bis-GMA, HEMA, 10-MDP, MDPB, colloidal silica, camphorquinone, initiators, sodium fluoride and water
OP	Optibond Solo Plus (Kerr Corp., Orange, CA, USA)	Etch & Rinse adhesive system	Bis-GMA, HEMA, GPDM, sodium hexafluorosilicate, photoinitiators, ethanol and water
SB2	Adper Single Bond 2 (3M ESPE, St Paul, MN, USA) Negative control	Etch & Rinse adhesive system	Bis-GMA, HEMA, colloidal silica, water and ethanol

Bis-GMA= bisphenol A diglycidylmethacrylate; HEMA= 2-hydroxyethyl methacrylate; MMA, methyl methacrylate; MAC-10= methacryloxyundecane dicarboxylic acid; 10-MDP= 10-methacryloyloxydecyl dihydrogen phosphate; MDPB= 12-methacryloyloxydodecyl pyridinium bromide; GPDM= glycidylphosphate dimethacrylate; PENTA= dipentaerythritol penta

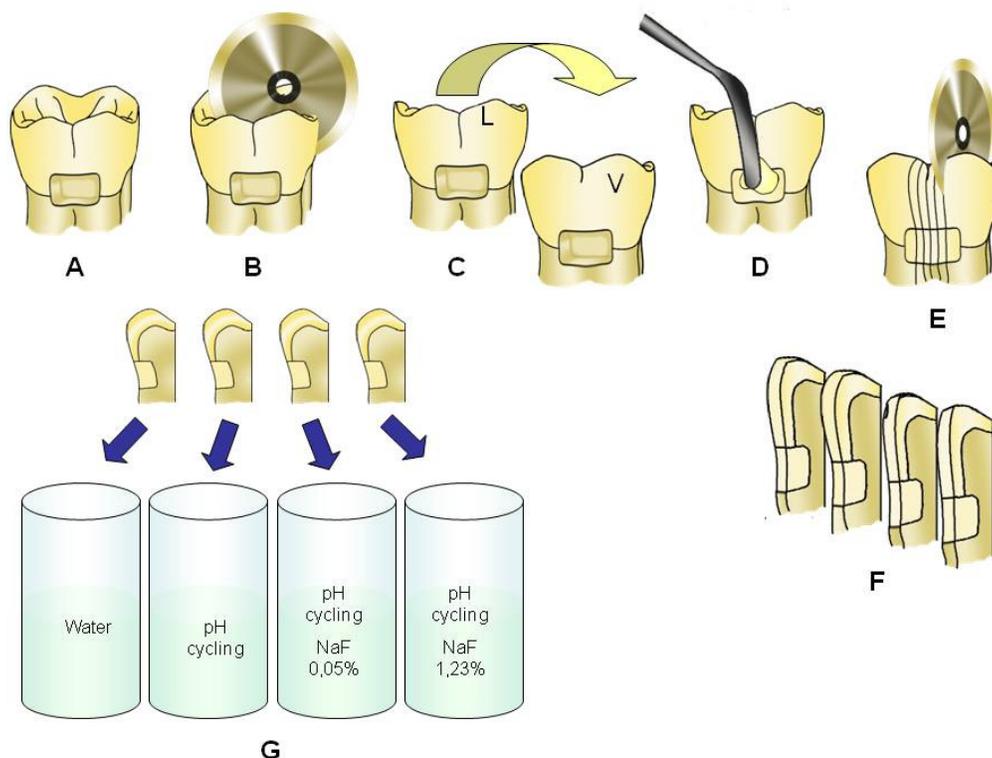


Figure 1. A- Class V cavities, B- Mesio-distal section with diamond disk, C- After the separation of the buccal and lingual halves, D- Restoration in increments, E- Section of restoration to obtain the 4 slabs for each restoration (F) and G- separation of the slabs into each storage media.

The teeth were stored in a light-tight container in an incubator at a relative humidity of 100% and temperature of  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  for 24 hours. The restorations were then finished with rubber polishing cups (Enhance, Dentsply Caulk, Milford, DE, USA) and fine and extra-fine abrasive discs in increasing grit number (Sof-Lex, 3M ESPE, St. Paul, MN, USA), after which they were polished with felt disks and extra-fine polishing paste (Diamond Master, FGM, Joinville, SC, Brazil).

Each restoration was sectioned with a diamond disc (Extec Corp., Enfield, CT, USA) in a high-precision microtome operating (Isomet 1000, Buehler, Lake Buff, IL, USA) at low speed with constant cooling under distilled water. Four sections approximately  $150\ \mu\text{m}$  thick were obtained (Fig.1-E). The sections were manually polished with 800-, 1200- and 1600-grit silicon carbide paper until they were  $100\ \mu\text{m} \pm 20\ \mu\text{m}$  thick. These thicknesses were confirmed with a micrometer (Mitutoyo 25 103-125, Tokyo, Japan).

### *Storage of the sections*

The sections from each group of restorations (n=10) were stored separately in plastic containers with a lid (Fig. 1-G). The storage conditions are shown in Table 2. The pH cycling model used was based on that described by Carvalho and Cury [1999], and consisted of cycles of immersion for 6h in a demineralizing solution (11.4 mM Ca, 0.9 mM P and 0.05 M acetate buffer, with pH 5.0) followed by immersion for 18h in a remineralizing solution (1.5 mM Ca, 0.9 mM P and 0.1 M tris buffer, with pH 7.0) over a period of 15 days. Between changes of demineralizing and remineralizing solutions, the sections were washed with distilled water and dried with tissue paper.

A 0.05% sodium fluoride solution was used for 1 minute every day after the sections had been immersed in the remineralizing solution. The 1.23% sodium fluoride used in this study was in the form of a foam and had a neutral pH (Fluor Care, FGM Produtos Odontológicos, Joinville, SC, Brazil). This was applied for 1 minute on the seventh and fourteenth days of the pH cycle.

Table 2. Storage media and fluoride therapies used in this study.

Storage media	Time	Storage conditions	Fluoride therapies
Distilled water	15 days	Daily	-
pH cycling	15 days	6h- Demineralizing solution 18h- Remineralizing solution	-
pH cycling	15 days	6h- Demineralizing solution 18h- Remineralizing solution	NaF 0.05% - 1min. daily
pH cycling	15 days	6h- Demineralizing solution 18h- Remineralizing solution	NaF 1.23% - 1 min. weekly

### *Knoop microhardness testing*

To determine the effects of the different types of storage on dentin, Knoop microhardness tests were carried out on the dentin underneath the adhesive interface at the cervical margin of the restorations. A microhardness tester with a Knoop diamond indenter (HMV 2000, Shimadzu, Tokyo, Japan) and a static load of 10 g was applied to the dentin for 15 seconds [Hara et al., 2002a]. Three indentations were made at depths of 50 µm, 100 µm, 150 µm and 300 µm from

the cervical margin of the restoration in dentin (Fig. 2), giving a total of 12 indentations per section. The Knoop microhardness numbers (KHN) were recorded and the averages of the three indentations for each depth were used in the statistical analysis.

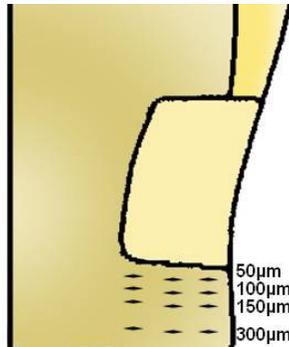


Figure 2. Indentations at dentin depths of 50  $\mu\text{m}$ , 100  $\mu\text{m}$ , 150  $\mu\text{m}$  and 300  $\mu\text{m}$  from the interface of the composite restoration.

#### *Statistical analysis*

The average microhardness values were tested for normality and homogeneity in the Kolmogorov-Smirnov and Levene tests, respectively. Three-way ANOVA for which of the three factors (material, storage and depth) was used to detect any statistically significant differences between the groups. Multiple comparisons were made using the Tukey HSD test. A significance level of 5% was used for all the tests. The computer software used for the analyses were Statistica 7.0 (StatSoft Inc., Tulsa, USA) and SPSS 15.0 (SPSS Inc. Chicago, IL, USA).

#### **4.4. Results**

ANOVA revealed statistically significant differences between the factors material, storage and depth, as well as interactions between all these factors ( $p < 0.05$ ).

The tables 3 to 8 show a comparison of the mean microhardness of the dentin at different depths and using different types of storage for each material.

Storage in distilled water did not result in any changes in the microhardness of the dentin for any of the materials used at depths of 100  $\mu\text{m}$ , 150  $\mu\text{m}$  and 300 $\mu\text{m}$  ( $p > 0.05$ ). At 50  $\mu\text{m}$ , only the glass ionomer cement resulted in greater microhardness values than those for fluoride-releasing adhesive systems ( $p < 0.05$ ).

The OU adhesive system did not produce any statistically significant differences in microhardness, either for the different storage conditions or at different depths on dentin ( $p < 0.05$ ). When the fluoride-releasing materials were submitted to pH cycling alone, they did not produce statistically significant differences between the microhardness values at different depths ( $p < 0.05$ ).

The treatments consisting of 0.05% and 1.23% NaF in association with pH cycling resulted in similar microhardness values for all the adhesive systems at each of the depths. However, for the KM ionomer cement, treatment with 0.05% NaF or 1.23% NaF resulted in significant differences between the microhardness values at 50 $\mu\text{m}$  and those at 300 $\mu\text{m}$  ( $p < 0.05$ ). The microhardness values for the CF system also varied with depth, with significantly higher values being observed at depths of both 100 $\mu\text{m}$  and 300 $\mu\text{m}$  than at 50 $\mu\text{m}$  after treatment with 1.23% NaF ( $p < 0.05$ ).

The non-fluoride releasing adhesive system (SB2) produced statistically higher microhardness values for sections stored in distilled water than for those subjected to pH cycling in association with 1.23% NaF. However, there was no statistically significant difference between sections immersed in distilled water and those subjected to pH cycling in association with 0.05% NaF ( $p > 0.05$ ). In general, all the fluoride-releasing adhesive systems yielded higher microhardness values

when the sections were subjected to pH cycling together with daily rinses with 0.05% NaF.

Table 3. Mean dentin microhardness values (standard deviation) with the glass ionomer cement Ketac Molar Easy Mix in different storage media and dentin depths.

Code	$\mu\text{m}$	Distilled water	pH cycling	pH cycling + NaF 0.05%	pH cycling + NaF 1.23%
KM	50	44.85 (5.60)Aab	36.39 (5.07) Ab	48.15 (7.33) Aa	42.02 (3.76) Aab
	100	36.89 (4.49) Ba	33.53 (4.24) Aa	40.82 (4.32) Ba	39.40 (6.79) ABa
	150	34.98 (2.40) Ba	34.69 (5.62) Ab	45.91 (7.12)ABa	36.35 (4.46)BCab
	300	34.46 (3.27) Ba	34.00 (3.28) Aa	34.32 (3.29) Ca	33.19 (3.21) Ca

Groups with the same letter are not statistically different ( $p>0.05$ ). Upper case letters represent comparisons in the same column and lower case letters represent comparisons in the same line.

Table 4. Mean dentin microhardness values (standard deviation) with adhesive system One Up Bond F Plus in different storage media and dentin depths.

Code	$\mu\text{m}$	Distilled water	pH cycling	pH cycling + NaF 0.05%	pH cycling + NaF 1.23%
OU	50	35.74 (4.19) Aa	32.11 (8.82) Aa	35.22 (4.81) Aa	39.25 (4.52) Aa
	100	32.47 (2.86) Aa	31.83 (7.72) Aa	34.97 (5.46) Aa	36.53 (6.54) Aa
	150	31.29 (3.32) Aa	32.21 (7.85) Aa	34.40 (5.55) Aa	36.40 (6.70) Aa
	300	31.71 (2.83) Aa	33.34 (8.36) Aa	32.90 (4.20) Aa	36.21 (4.68) Aa

Groups with the same letter are not statistically different ( $p>0.05$ ). Upper case letters represent comparisons in the same column and lower case letters represent comparisons in the same line.

Table 5. Mean dentin microhardness values (standard deviation) with adhesive system Prime&Bond NT in different storage media and dentin depths.

Code	$\mu\text{m}$	Distilled water	pH cycling	pH cycling + NaF 0.05%	pH cycling + NaF 1.23%
NT	50	30.16 (2.19)Aab	22.78 (3.92) Ab	37.86 (5.58) Aa	28.82 (5.66) Aab
	100	29.16 (2.83)Aa	27.12 (17.27)Aa	35.52 (8.35) Aa	29.73 (6.36) Aa
	150	29.81 (2.48)Aab	25.14 (5.71) Ab	34.84 (6.67) Aa	29.12 (5.23) Aab
	300	31.11 (2.65)Aa	27.14 (6.81) Aa	35.44 (5.93) Aa	30.90 (6.54) Aa

Groups with the same letter are not statistically different ( $p>0.05$ ). Upper case letters represent comparisons in the same column and lower case letters represent comparisons in the same line.

Table 6. Mean dentin microhardness values (standard deviation) with adhesive system Clearfil Protect Bond in different storage media and dentin depths.

Code	$\mu\text{m}$	Distilled water	pH cycling	pH cycling + NaF 0.05%	pH cycling + NaF 1.23%
CF	50	30.53 (2.55) Aa	21.48 (6.66) Ab	25.60 (3.57)Aab	22.75 (3.16) Bab
	100	28.65 (3.28) Aa	21.12 (4.36) Aa	27.02 (3.96) Aa	28.25 (17.16) Aa
	150	28.77 (3.11) Aa	20.45 (5.83) Aa	27.96 (4.52) Aa	26.09 (6.01) ABa
	300	31.10 (3.18) Aa	22.83 (4.22) Aa	29.69 (3.97) Aa	28.77 (6.47) Aa

Groups with the same letter are not statistically different ( $p>0.05$ ). Upper case letters represent comparisons in the same column and lower case letters represent comparisons in the same line.

Table 7. Mean dentin microhardness values (standard deviation) with adhesive system Optibond Solo Plus in different storage media and dentin depths.

Code	$\mu\text{m}$	Distilled water	pH cycling	pH cycling + NaF 0,05%	pH cycling + NaF 1,23%
OP	50	34,82 (3,87) Aa	25,70 (6,60) Ab	38,25 (0,99) Aa	35,26 (8,22) Aab
	100	32,78 (3,75) Aab	25,6 (5,48) Ab	36,14 (5,39) Aa	32,01 (6,58) Aab
	150	32,60 (3,48) Aab	25,68 (5,13) Ab	36,05 (6,54) Aa	34,79 (7,64) Aab
	300	31,67 (3,15) Aa	28,77 (5,32) Aa	35,54 (6,02) Aa	33,08 (5,59) Aa

Groups with the same letter are not statistically different ( $p>0.05$ ). Upper case letters represent comparisons in the same column and lower case letters represent comparisons in the same line.

Table 8. Mean dentin microhardness values (standard deviation) with adhesive system Adper Single Bond 2 in different storage media and dentin depths.

Code	$\mu\text{m}$	Distilled water	pH cycling	pH cycling + NaF 0,05%	pH cycling + NaF 1,23%
SB2	50	29,38 (2,74) Aa	16,47 (3,05) ABb	20,82 (4,69) Aab	18,42 (4,10) Ab
	100	28,98 (2,12) Aa	15,96 (2,80) Bb	22,11 (5,78) Aab	17,90 (4,08) Ab
	150	28,56 (2,40) Aa	16,19 (4,27) Bb	21,37 (7,20) Aab	15,45 (2,18) Ab
	300	30,52 (2,95) Aa	21,85 (8,23) Aab	24,59 (6,08) Aab	18,90 (3,72) Ab

Groups with the same letter are not statistically different ( $p>0.05$ ). Upper case letters represent comparisons in the same column and lower case letters represent comparisons in the same line.

Tables 9 to 12 represent comparisons of the mean dentin microhardness at the various depths for all the materials tested and all the storages conditions individually.

At a depth of 50 $\mu\text{m}$  the KM glass ionomer cement resulted in significantly higher dentin microhardness values, irrespective of the type of treatment used. However, no significant difference when compared to OU fluoride-releasing adhesive system with pH cycling, and also OU and OP with pH cycling associated with 1.23% NaF.

At a depth of 100 $\mu\text{m}$  the OU, OP and NT systems yielded microhardness values that were statistically similar to those obtained with KM glass ionomer cement after pH cycling in association with daily and weekly fluoride therapy, with the exception of the NT adhesive submitted to pH cycling with 1.23% NaF.

At depths of 150 $\mu\text{m}$  and 300 $\mu\text{m}$  all the fluoride releasing adhesives and the glass ionomer cement produced statistically similar microhardness values for all storage conditions, with the exception, at 150 $\mu\text{m}$ , of CF adhesive subjected to pH cycling in association with 1.23% NaF.

None of the materials analyzed produced statistically significant differences in microhardness values after they had been immersed in distilled water ( $p>0.05$ ),

with the exception of the glass ionomer cement, which had a significantly higher microhardness value than that of the other materials at a depth of 50 $\mu$ m.

While significant differences were found between the microhardness of the SB negative control at all depths, whether followed or not by fluoride therapy, and the microhardness of the KM cement and OU adhesive ( $p < 0.05$ ), no significant differences were observed between the SB and CF cements at depths of 50 $\mu$ m and 100 $\mu$ m after pH cycling and treatment with 0.05% and 1.23% NaF.

Table 9. Mean dentin microhardness values (standard deviation) with the different materials and storage media at 50 $\mu$ m depth.

Code		<i>Distilled water</i>	<i>pH cycling</i>	<i>pH cycling+ NaF 0.05%</i>	<i>pH cycling + NaF 1.23%</i>
KM	50 $\mu$ m	44,85 (5,60) a	36,39 (5,07) a	48,15 (7,33) a	42,02 (3,76) a
OU		35,74 (4,19) b	32,11 (8,82) ab	35,22 (4,81) b	39,25 (4,52) a
NT		30,16 (2,19) b	22,78 (3,92) bc	37,86 (5,58) b	28,82 (5,66) bc
CF		30,53 (2,55) b	21,48 (6,66) c	25,60 (3,57) c	22,75 (3,16) cd
OP		34,82 (3,87) b	25,70 (6,60) bc	38,25 (0,99) b	35,26 (8,22) ab
SB2		29,38 (2,74) b	16,47 (3,05) c	20,82 (4,69) c	18,42 (4,10) d

Groups with the same letter are not statistically different ( $p > 0.05$ ), in the same column.

Table 10. Mean dentin microhardness values (standard deviation) with the different materials and storage media at 100 $\mu$ m depth.

Code		<i>Distilled water</i>	<i>pH cycling</i>	<i>pH cycling+ NaF 0.05%</i>	<i>pH cycling + NaF 1.23%</i>
KM	50 $\mu$ m	36,89 (4,49) a	33,53 (4,24) a	40,82 (4,32) a	39,40 (6,79) a
OU		32,47 (2,86) a	31,83 (7,72) ab	34,97 (5,46) ab	36,53 (6,54) ab
NT		29,16 (2,83) a	27,12 (17,27) ab	35,52 (8,35) ab	29,73 (6,36) bc
CF		28,65 (3,28) a	21,12 (4,36) bc	27,02 (3,96) bc	28,25 (17,16) bcd
OP		32,78 (3,75) a	25,60 (5,48) abc	36,14 (5,39) ab	32,01 (6,58) ab
SB2		28,98 (2,12) a	15,96 (2,80) c	22,11 (5,78) c	17,90 (4,08) d

Groups with the same letter are not statistically different ( $p > 0.05$ ), in the same column.

Table 11. Mean dentin microhardness values (standard deviation) with the different materials and storage media at 150 $\mu$ m depth.

Code		<i>Distilled water</i>	<i>pH cycling</i>	<i>pH cycling+ NaF 0.05%</i>	<i>pH cycling + NaF 1.23%</i>
KM	50 $\mu$ m	34,98 (2,40) a	34,69 (5,62) a	45,91 (7,12) a	36,35 (4,46) a
OU		31,29 (3,32) a	32,21 (7,85) a	34,40 (5,55) a	36,40 (6,70) ab
NT		29,81 (2,48) a	25,14 (5,71) ab	34,84 (6,67) a	29,12 (5,23) ac
CF		28,77 (3,11) a	20,45 (5,83) b	27,96 (4,52) ab	26,09 (6,01) c
OP		32,60 (3,48) a	25,68 (5,13) ab	36,05 (6,54) a	34,79 (7,64) abc
SB2		28,56 (2,40) a	16,19 (4,27) b	21,37 (7,20) b	15,45 (2,18) b

Groups with the same letter are not statistically different ( $p > 0.05$ ), in the same column.

Table 12. Mean dentin microhardness values (standard deviation) with the different materials and storage media at 300 $\mu$ m depth.

Code		<i>Distilled water</i>	<i>pH cycling</i>	<i>pH cycling+ NaF 0.05%</i>	<i>pH cycling + NaF 1.23%</i>
KM	50 $\mu$ m	34.46 (3.27) a	34.00 (3.28) a	34.32 (3.29) a	33.19 (3.21) a
OU		31.71 (2.83) a	33.34 (8.36) a	32.90 (4.20) a	36.21 (4.68) a
NT		31.11 (2.65) a	27.14 (6.81) ab	35.44 (5.93) a	30.90 (6.54) a
CF		31.10 (3.18) a	22.83 (4.22) b	29.69 (3.97) ab	28.77 (6.47) a
OP		31.67 (3.15) a	28.77 (5.32) ab	35.54 (6.02) a	33.08 (5.59) a
SB2		30.52 (2.95) a	21.85 (8.23) b	24.59 (6.08) b	18.90 (3.72) b

Groups with the same letter are not statistically different ( $p>0.05$ ), in the same column.

#### **4.5. Discussion**

The oral environment is constantly subjected to demineralizing and remineralizing cycles caused by changes in pH. Laboratory models that simulate this pH cycle are therefore used to evaluate the release of fluoride by restorative materials and adhesive systems [Carvalho e Cury, 1999; Hara et al., 2005; Peris et al., 2007]. The model proposed by Carvalho and Cury [1999] to simulate a cariogenic challenge was used in this study to evaluate the anticariogenic potential of adhesive systems under different conditions of exposure to fluoride, such as topical therapy. This method is intended to simulate the clinical situation of a patient at high risk of caries who is receiving restorative treatment with fluoride-releasing material and, at the same time, an external source of topical fluoride.

In the present study, the microhardness tests were carried out in the dentin at four different distances from the dentin-restoration interface (50, 100, 150 and 300  $\mu\text{m}$ ). Hara et al. [a2002] did not find any differences in the microhardness of the dentin above 300 $\mu\text{m}$ , a finding which can be explained by the fact that fluoride ions have a limited ability to penetrate dentin.

The lower dentin microhardness values found when some fluoride-containing adhesive systems were used, when compared to those obtained with glass ionomer cements, may be explained by the fact that the adhesive is applied in a single thin layer and that an extremely small amount is exposed [Itota et al., 2002]. For this reason, glass ionomer cement was used as lining material in this study, and only a thin layer was left exposed to the external environment. This technique is called the Open Sandwich technique and is recommended for restoring cavities with cervical margins in dentin because of the margin-sealing ability of glass ionomer cement [McLean, 1992].

In in vitro studies [Pereira et al, b1998; Hotta et al.,2001; Hara et al., b2002; Chu e Lo, 2008], the presence of glass ionomer cement in cavities with margins in root dentin has been reported to produce an increase in the microhardness of dentin, with greater fluoride penetration when a conventional glass ionomer is

used [Hotta et al.,2001; Hara et al., a2002; Hara et al., b2002; Pereira et al, b1998]. The conventional glass ionomer cement used in the present study resulted in higher dentin microhardness under pH cycling associated to 0.05% NaF solution, at depths of 50 and 150µm. Indeed, *in vitro* studies have shown that glass ionomer cements can recharge when external fluoride sources, such as fluoride in the form of solutions [Attar e Onen, 2002; Dionysopoulos et al., 2003; Cildir e Sandalli, 2005; Okuyama et al., 2006], acidified gels [Attar e Turgut, 2003] or dentifrices [Cildir e Sandalli, 2005], are used.

Among the adhesive systems used in the present study, the Prime&Bond NT and Optibond FL systems are considered conventional two- and three-step systems, and One Up Bond F Plus and Clearfil Protect Bond are one- and two-step self-etching adhesive systems, respectively. Itota et al. [2005] analyzed the release of fluoride by various adhesive systems and concluded that conventional systems are preferable, as they promote the release of larger amounts of fluoride and inhibit secondary caries more effectively than self-etching systems. In contrast, in the present study the One Up Bond F Plus self-etching adhesive system yielded microhardness values for dentin similar to those obtained using Ketac Molar glass ionomer cement at a depth of 50µm following pH cycling and also OptiBond FL under pH cycling associated to 1.23% NaF therapy. At the other depths, the One Up Bond F Plus system also showed similar behavior to the glass ionomer cement, although in some cases there was no difference from the other fluoride-containing adhesive systems examined. In addition, the microhardness of the dentin underneath the One Up Bond F Plus adhesive system remained constant after the cariogenic challenge, both with and without fluoride therapy, at all the depths at which measurements were taken.

In lining materials, such as glass ionomer cements, the fluoride ions released can easily penetrate and diffuse through the cavity walls in a process that is effectively an excellent strategy for remineralizing demineralized dentin [Itota et al., 2006]. According to Tam et al. [1997], more fluoride is absorbed from fluoride-containing materials by dentin and cement than by enamel, but this 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 enhancing diffusion of this ion in the area [Wiegand et al.,

2007]. Some of this fluoride is adsorbed on apatite crystals, to which it adheres very strongly. A study by Geiger and Weiner [1993] showed that the glass ionomer-dentin interface is made up of fluoridated carbonatoapatite. According to them, the presence of this less soluble mineral at the tooth-restoration interface can confer resistance to secondary caries [Geiger e Weiner, 1993].

The different effects that fluoride-releasing materials have on the inhibition of secondary caries depend on factors such as solubility and the type of active component, as well as the phase (organic or inorganic) in which fluoride is added [Rawls, 1991]. The One Up Bond F Plus adhesive system has a dicarboxylic acid radical at one end of the monomer MAC-10 molecule. The hydrophilicity given by this radical probably allowed the ionic dissociation of fluoride from the fluorsilicate particles in an aqueous environment. Additionally, dicarboxylic acid radical has a buffering potential by sequestering  $\text{OH}^-$  and  $\text{H}^+$  ions, which could have prevented the demineralization effect of pH cycling in dentin. This might be the reason why One Up Bond F Plus did not revealed significant differences in dentin microhardness when submitted to pH cycling associated or not to fluoride therapy, at all dentin depths. However, other fluoride-containing bonding systems also did not revealed differences in dentin microhardness in all of the evaluated storage media.

Glass ionomer cements are composed of fluoride-containing silicate glass and polyalkenoic acids which are set by an acid-base reaction in which a variety of ionic constituents is released from the glass, including fluoride [Wiegand et al., 2007]. Both systems One Up Bond F Plus and Optibond FL have fluorosilicate as the active component, where the later contains fluoride as sodium hexafluorosilicate and the first has fluoroaluminosilicate. Indeed, OptiBond FL and One Up Bond F Plus provided dentin microhardness similar to the glass ionomer cement, under pH cycling associated to NaF 1.23%. In the Prime & Bond NT and Clearfil Protect Bond systems, the fluoride ions are incorporated in the organic part as cetylamine hydrofluoride and sodium fluoride, respectively. According to Peris et al. [2007], the fluoride ions in the resin matrix become confined to the inside of the hybrid layer after the adhesive system polymerizes, preventing them being released. In the present study, the Clearfil Protect Bond adhesive system produced similar microhardness values to those obtained with the non-fluoride

releasing Single Bond 2 system at depths of 50 $\mu$ m and 100 $\mu$ m after the cariogenic challenge both with and without fluoride therapy.

Topical fluoride therapies were used in this study to simulate daily rinses (0.05%) and weekly topical application (1.23%). The use of a 0.05% NaF solution produced higher microhardness values for dentin even when the non-fluoride releasing Single Bond 2 system was used. For all the materials examined, the original microhardness of the dentin after storage in distilled water was recovered after the cariogenic challenge in association with 0.05% NaF at depths of 50 $\mu$ m and 100 $\mu$ m. These data corroborate the findings of the study by Okuyama *et al.* [2006], in which the combination of restorative materials containing fluoride and fluoride-releasing adhesive systems was more efficient with daily topical applications of fluoride.

The first hypothesis used in the present study was rejected, as the microhardness of dentin obtained when glass ionomer cement was used was different from that when various fluoride-releasing adhesive systems were used. The second hypothesis was also rejected since only the 0.05% fluoride therapy was able to increase the microhardness of dentin.

Our findings indicate that glass ionomer cement used in the open sandwich technique is still the preferred material for restorations with cervical margins in dentin and that this material is even more effective when used in association with a daily rinse with 0.05% NaF. However, the One Up Bond F Plus adhesive system proved to be equally effective at remineralizing dentin.

Within the limitations of this study, it can be concluded that the inclusion of daily therapy with 0.05% NaF in the pH cycling allowed the original microhardness of the dentin at 50 $\mu$ m and 100 $\mu$ m to be recovered for all the materials analyzed. The microhardness of the dentin underneath the One Up Bond F Plus adhesive system remained constant after the cariogenic challenge, both with and without fluoride therapy, at all the depths at which measurements were taken.

#### **4.6. References**

1. Argenta RMO, Tabchoury CPM, Cury JA: A modified pH-cycling model to evaluate fluoride effect on enamel demineralization. *Pesq Odontol Bras* 2003;17: 241-246.
2. Attar N, Onen A: Fluoride release and uptake characteristics of aesthetic restorative materials. *J Oral Rehabil* 2002;29:791-798.
3. Attar N, Turgut MD: Fluoride release and uptake capacities of fluoride-releasing restorative materials. *Oper Dent* 2003; 28:395-402.
4. Burgess JO: Dental materials for the restorative of root surface caries. *Am J Dent* 1995;5:342-351.
5. Burke FM, Ray NJ, Mc Connell RJ: Fluoride-containing restorative materials. *Int Dent J* 2006;56:33-43.
6. Carvalho AS and Cury JA: Fluoride released from some materials in different solutions. *Oper Dent* 1999;24:14-19.
7. Cildir SK, Sandalli N: Fluoride release/uptake of glass ionomer cements and polyacid-modified composite resins. *Dent Mater J* 2005; 24:92-97.
8. Chu CH, Lo EC: Microhardness of dentine primary teeth after topical fluoride applications. *J Dent* 2008;36:387-391.
9. Dionysopoulos P, Kotsanos N, Pataridou A: Fluoride release and uptake by four new fluoride releasing restorative materials. *J Oral Rehabil* 2003;30:866-872.
10. Featherstone JDB: Fluoride, remineralization and root caries and root caries. *Am J Dent* 1994;7:271-274.
11. Featherstone JDB: Modeling the caries- inhibitory effects of dental materials. *Dent Mater* 1996;12:194-197.
12. Ferracane JL, Mitchem JC, Adey JD: Fluoride penetration into the hybrid layer from a dentin adhesive. *Am J Dent* 1998;11:23-28.
13. Geiger SB e Weiner S: Fluoridated carbonatoapatite in the intermediate layer between glass ionomer and dentin. *Dent Mater* 1993;9:33-6.
14. Gonzalez EH, Yap AUJ, Hsu SCY: Demineralization inhibition of direct tooth-colored restorative materials. *Oper Dent* 2004;29:578-585.
15. Hahn P, SWchaller HG, Gerhhardt C, Hellwig E: Influence of two dentin bonding systems on the demineralization of the root surface. *Oper Dent* 1999;24:344-350.

16. Hara AT, Magalhães CS, Serra MC, Rodrigues Jr. AL: Cariostatic effect of fluoride-containing restorative systems associated with dentifrices on root dentin. *J Dent* 2002;30:205-212.
17. Hara AT, Turssi CP, Serra MC, Nogueira MCS: Extent of the cariostatic effect on root dentin provided by fluoride-containing restorative materials. *Oper Dent* 2002;27:480-487.
18. Hara AT, Queiroz CS, Paes Leme AF, Serra MC, Cury JA: Caries Progression and inhibition in human and bovine root dentine in situ. *Caries Res* 2003;37:339-344.
19. 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.
20. Hictz MJ, Flaitz CM: resin-modified glass ionomer restorations and in vitro secondary caries formation in coronal enamel. *Quintessence Int* 2000;31:570-578.
21. Hosoya Y, Marshall SJ, Watanabe LG, Marshall GW: Microhardness of carious deciduous dentin. *Oper Dent* 2000;25:81-89.
22. Hotta M, Li Y, Sekine I: Mineralization in bovine dentin adjacent to glassionomer restorations. *J Dent* 2001;29:211-215.
23. Hsu CYS, Donly KJ, Drake DR, Wefel JS: Effects of aged fluoride-containing restorative materials on recurrent root caries. *J Dent Res* 1998;77:418-425.
24. 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.
25. 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.
26. 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.
27. Itthagarum A, King NM, Wefel JS, Tay FR, Pasley DH: The effect of fluoridated and non-fluoridated rewetting agents on in vitro recurrent caries. *J Dent* 2001;29:255-273.
28. Karantakis P, Helvatjoglou-Antoniades M, Theodoridou-Pahini S, Papadogiannis Y: Fluoride release from three glass ionomers, a compomer, and a

- composite resin in water, artificial saliva, and lactic acid. *Oper Dent* 2000;25:20-25.
29. Kidd EA, Toffenetti F, Mjör IA: Secondary caries. *Int Dent Res* 1992;42:127-138.
30. Kitasako Y, Nakajima M, Foxton RM, Aoki K, Pereira PN, Tagami J: Physiological remineralization of artificially demineralized dentin beneath glass ionomer cements with and without bacterial contamination in vivo. *Oper Dent* 2003;28:274-280.
31. Knight GM, McIntyre JM, Craig GG: Electron probe microanalysis of ion exchange of selected elements between dentine and adhesive restorative materials. *Aust Dent J* 2007;52:128-132.
32. Kotsanos N: An intraoral study of caries induced on enamel in contact with fluoride-releasing restorative materials. *Caries Res* 2001;35:200-204.
33. McLean JW: Clinical applications of glass ionomer cements. *Oper Dent* 1992;Suppl 5:184-190
34. Mjör IA, Toffenetti F: The location of clinically diagnosed secondary caries. *Quintessence Int* 1998;29:313-317.
35. Mjör IA: Secondary caries: A literature review with case reports. *Quintessence Int* 2000;31:165-179.
36. 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.
37. Pereira PNR, Inokoshi S, Tagami J: In vitro secondary caries inhibition around fluoride releasing materials. *J Dent* 1998;26:505-510.
38. Pereira 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.
39. 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.
40. Qvist V, Qvist J, Mjör IA: Placement and longevity of tooth-colored restorations in Denmark. *Acta Odontol Scand* 1990;48:305-311.
41. Rawls AR: Preventive dental materials sustained delivery of fluoride and other therapeutic agents. *Adv Dent Res* 199;5:50-55.

42. Silva KG, Pedrini D, Delbem ACB, Cannon M: Effect of pH variations in a cycling model on the properties of restorative materials. *Oper Dent* 2007;32:328-335.
43. 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.
44. Ten Cate JM: In vitro studies on the effects of fluoride on de- and remineralization. *J Dent Res* 1990;69:614-619.
45. Vieira A, Hancock R, Dumitriu M, Schwartz M, Limeback H, Grynpas M: How does fluoride affect dentin microhardness and mineralization? *J Dent Res* 2005;84:951-7.
46. 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.

## 5. Anexos

### 5.1. Resumos dos artigos da discussão

Carvalho e Cury (1999) 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.

Hara *et al.*, em 2005, 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.

Peris et al. em 2007, 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,  $1 \text{ mm}^2$ . Em seguida, isolou-se as amostras com verniz para unha mantendo-se uma área de, aproximadamente,  $4 \text{ mm}^2$  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 5µm, 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.

Hara *et al.* (2002a) 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.

Itota *et al.* (2002) 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.

Mc Lean, em 1992, 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.

Pereira *et al.*(b), em 1998, 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  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  e ácido acético ajustados ao pH de 4,5. Em seguida, foram realizadas secções longitudinais de aproximadamente 150  $\mu\text{m}$  paralelamente ao longo eixo das raízes. Estas secções foram desgastadas até

uma espessura de 100 µm para visualização em microscópio de luz polarizada. A análise de microdureza Knoop foi realizada na lesão cariiosa 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.

Hotta *et al.* (2001) 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.

Hara *et al.*(b), em 2002, 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 2100 $\mu$ m 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 300 $\mu$ m, com [Ke] mais elevado do que Z250 nas distâncias 50, 100, 150 e 300 $\mu$ m. [Fj] foi superior ao controle nas distâncias de 50, 100 e 150 $\mu$ m. 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 300 $\mu$ m para [Ke] e 150 $\mu$ m [Fj]. [Dy] e [Su] não mostraram qualquer efeito cariostático.

Chu *et al.*, em 2008, 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 diamino fluoreto 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 cariosa a cada 25 $\mu$ m na dentina, em direção à polpa. Três conjuntos de medições foram feitas paralelamente com aproximadamente 150-200 $\mu$ m de espessura. Foi concluído que a aplicação tópica de flúor foi eficaz nas lesões cariosas, detendo-as.

Attar e Onen, em 2002, investigaram as características da liberação de flúor de duas resinas compostas (Tetric e Valux Plus), dois cimentos de ionômero de vidro modificado por resina (Dyract e Compoglass), e cimento ionômero de vidro convencional (Ceramfil beta). Quinze discos (6 mm de diâmetro e 1,5 mm de altura) foram preparados para cada material. Cada disco foi imerso em 4 mL de água deionizada em um frasco de plástico. A liberação de flúor foi medida diariamente em 1, 2, 3, 4, 5, 15, 30 e 60 dias. Após os 60 dias, as amostras foram refluoretadas em 1000-ppm de fluoreto de sódio (NaF). As soluções (pH 6,6) foram utilizadas por 10 min e a liberação de flúor foi medida novamente diariamente por mais 5 dias. A liberação de flúor de materiais foi medida

utilizando eletrodo específico de flúor acoplado a um analisador de íons. Os resultados revelaram que todos os materiais que contêm flúor (Ceramil beta, Compoglass, Dyract, Tetric) apresentaram liberação de flúor e que esta foi maior no primeiro dia. Em todos os momentos, Ceramil beta liberou mais. Não foi detectável qualquer liberação de flúor para Valux Plus. A exposição aos 1000 ppm de NaF aumentou a liberação de flúor de todos os materiais que contêm flúor, nas primeiras 24h. Esta diferença durou apenas 24-48 h após a exposição.

Dionysopoulos *et al.* (2003) compararam a liberação de flúor antes e após a refluoretação de cimento de ionômero de vidro convencional Ketac-Molar, um cimento de ionômero de vidro modificado por resina, Vitremer, e dois compômeros F-2000 e Hytac. Quinze amostras foram preparadas para cada marca e imersas em água deionizada. O flúor liberado foi medido a cada 2 dias durante 22 dias. As amostras sofreram refluoretação com soluções de 0,02, 0,04 e 0,2% NaF por 5 min nos dias 22, 30, 38 e 46. O flúor liberado a partir de espécimes recarregados foi medido a cada 2 dias até o dia 54. A liberação de flúor foi maior durante os primeiros dias, diminuindo drasticamente e, em seguida, mais lentamente. Os quatro materiais se tornaram "recarregados" com flúor após exposição repetida de flúor. A solução NaF 0,2% foi o meio mais eficaz para o recarregamento. De um ponto de vista clínico, os resultados deste estudo implicam que todos os materiais restauradores testados podem atuar como dispositivos intra-oral de reservatório de flúor para controlar o risco de cárie recorrente.

Cildir e Sandalli, em 2005, 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.

Okuyama *et al.*, em 2006, 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.

Attar e Turgut, em 2003, investigaram a liberação e absorção de flúor de quatro resinas compostas *flow* (Heliomolar Flow, Tetric Flow, Wave, Repre Flo), um compômero *flow* (Dyract flow), cimentos de ionômero de vidro convencionais (ChemFlex Syringeable e ChemFlex Condensable), uma resina composta adaptável (Surefil), um compósito (Ariston PHC) e um cimento de ionômero de vidro modificado por resina (Vitremmer). Sete discos (6 mm de diâmetro e 1,5 mm de altura) foram preparados para cada material. Cada disco foi imerso em 3,5 ml

de água deionizada em um frasco de plástico e armazenadas a 37°C. A água deionizada foi trocada a cada 24 horas e a liberação de flúor foi medida durante 30 dias. No final deste período, as amostras foram recarregadas com 2 ml de flúor fosfato acidulado (APF) 1,23% em gel, durante quatro minutos. Então, todas as amostras foram re-avaliadas por mais 10 dias. A liberação de fluoreto de todas as amostras foi medida com um eletrodo específico para flúor acoplado a um analisador de íons. Para todos os materiais testados, a maior liberação de flúor foi observada após o primeiro dia do estudo, mas diminuiu progressivamente com o tempo. Tetric Flow liberou a menor quantidade de flúor, no entanto, não houve diferença estatisticamente significativa para Wave e Heliomolar Flow. Ariston PHC liberou a maior quantidade de flúor, seguido por ChemFlex Syringeable, Vitremer e ChemFlex Condensable. Houve diferenças estatisticamente significativas entre estes materiais ( $p < 0,05$ ). A liberação de fluoretos de todos os materiais aumentou significativamente após o primeiro dia de refluoretação. Ao final de dois dias de refluoretação, a taxa de liberação de flúor para cada material caiu rapidamente e estabilizou depois de três dias.

Itota *et al.*, em 2005, 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.

Itota *et al.*, em 2006, avaliaram a remineralização da dentina desmineralizada sob forramento com liberação de flúor *in vitro*. Dois cimentos de íonômero 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 80 $\mu$ m. 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.

Tam et al. em 1997, 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 300 $\mu$ m, após 10 semanas. Ambos os CIV convencionais e modificados por resina transmitiram resistência à dentina contra o desenvolvimento de lesões cariosas recorrentes *in vitro*.

Wiegand *et al.*, em 2007, 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.

Geiger e Weiner [1993] 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.

Rawls, em uma revisão de literatura publicada em 1991, afirmou que, a partir das décadas de 1970 e 1980, foi notável a ênfase na utilização de materiais odontológicos para fins de prevenção. O cimento de ionômero de vidro, a versão

moderna do cimento de silicato, libera flúor. Várias resinas com liberação de fluoretos foram recentemente comercializadas. Estes materiais são a vanguarda de uma nova classe de materiais que servem como agentes preventivos de liberação controlada e/ou fontes específicas de agentes terapêuticos. Entretanto, os diferentes comportamentos dos materiais fluoretados sobre o efeito inibitório de cárie secundária dependem de fatores como a solubilidade, o tipo de componente ativo, bem como à fase, orgânica ou inorgânica, na qual o flúor está adicionado.

## 5.2 Materiais e Método completo

### *Preparo dos espécimes*

O projeto deste estudo foi revisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (CEP/PUCPR 0001312/07). Trinta terceiros molares humanos hígidos, com indicação para exodontia, obtidos junto ao Banco de Dentes da PUCPR, foram utilizados neste estudo. Os dentes foram limpos imediatamente após a extração utilizando curetas manuais e estocados em solução de cloramina T 0,05% a 4<sup>o</sup> C por no máximo, 6 meses.

Cavidades de Classe V com 2mm de profundidade, 4mm de largura mesio-distal e 3mm de altura gengivo-oclusal foram realizadas nas superfícies linguais e vestibulares dos molares, com margens oclusais em esmalte e margens cervicais em dentina (Fig. 1). Os preparos cavitários foram realizados com broca carbide esférica (#4 - KG Sorensen, São Paulo, SP, Brasil), em alta rotação (Dabi Atlante, Ribeirão Preto, SP, Brasil), sob refrigeração constante água-ar. Depois de cinco preparos concluídos, a broca foi substituída por nova. Os dentes foram então divididos aleatoriamente em seis grupos, contendo cinco dentes, ou seja, dez restaurações cada. Os dentes foram seccionados no sentido mesio-distal com disco diamantado (#7020 - KG Sorensen, São Paulo, SP, Brasil) acoplado a um mandril e peça de mão reta (Dabi Atlante, Ribeirão Preto, SP, Brasil).



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

Para a restauração das cavidades, cada um dos materiais (Tabela 1, Figura 2) foi utilizado de acordo com as instruções dos fabricantes. As cavidades forradas com cimento de ionômero de vidro Ketac Molar (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA) utilizado como controle positivo, sofreram um pré-condicionamento da dentina com o líquido do produto, o qual foi aplicado ativamente sobre a dentina durante 30 segundos com um aplicador descartável (KGbrush, KG Sorensen, São Paulo, SP, Brasil). Em seguida, as cavidades foram lavadas abundantemente com spray água/ar durante 20 segundos e secas com jato de ar livre de óleo durante 10 segundos. A proporção pó/líquido utilizada foi de 1:1, o que corresponde a uma colher plena de pó para uma gota de líquido, conforme recomendação do fabricante. A manipulação do cimento foi realizada sobre uma placa de vidro de 20mm de espessura, aglutinando o pó ao líquido com espátula plástica (#142 – SSWhite, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) até a formação de uma pasta homogênea com brilho superficial (Fig 3-A). A inserção do material nas cavidades foi realizada com aplicador de hidróxido de cálcio recobrimdo toda a dentina até a margem cervical do preparo (Fig 3-B), determinando uma camada de aproximadamente 1mm de espessura. Imediatamente após a inserção, o material foi protegido do meio externo com a colocação de uma gaze úmida com água destilada durante 3,5 minutos (Fig 3-C). Após o término da presa do material (Fig 3-D), o esmalte foi condicionado com ácido fosfórico 37% (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA) durante 20 segundos, lavado com spray água/ar durante 20 segundos e seco com jato de ar por 10 segundos. O adesivo Scotchbond Multi Purpose (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA) foi aplicado sobre o esmalte e o cimento de ionômero de vidro com um aplicador descartável (KGBrush, KG Sorensen, São Paulo, SP, Brasil) e fotoativado durante 20 segundos com aparelho fotopolimerizador de luz halógena com  $560\text{mW}/\text{cm}^2$  de potência (Optilux VLC 501, Demetron Research Corp, Danbury, CT, EUA). As cavidades foram restauradas com resina composta Filtek Z250 (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA), utilizando 4 incrementos oblíquos, fotopolimerizados por 20 segundos cada, com a mesma unidade fotopolimerizadora.

Tabela 1. Descrição dos materiais utilizados neste estudo.

Cód	Nome comercial	Classificação	Composição
KM	Ketac Molar Easy Mix (3M ESPE, St Paul, MN, EUA)  Controle positivo	Cimento de ionômero de vidro convencional	Líquido: ácido polietileno policarbônico, ácido tartárico e água  Pó: vidro de <b>fluorsilicato de alumínio-cálcio-lantânio</b>
OU	One Up Bond F Plus (Tokuyama Corp., Tóquio, Japão)	Sist. adesivo auto-cond. de 1 passo	MMA, HEMA, MAC-10, <b>fluorsilicato de alumínio</b> , partículas de vidro, água e iniciadores
NT	Prime&Bond NT (Dentsply Caulk Milford, DE, EUA)	Sist. adesivo convencional de 2 passos	Resinas de di e trimetacrilato, sílica coloidal nanométrica, PENTA, <b>hidrofluoreto de cetilamina</b> , fotoiniciadores, estabilizadores, acetona
CF	Clearfil Protect Bond (Kuraray Comp. Ltda, Tóquio, Japão)	Sist. adesivo auto-cond. de 2 passos	Bis-GMA, 10-MDP, sílica coloidal, canforoquinona, iniciadores, aceleradores, <b>fluoreto de sódio</b>
OP	Optibond Solo Plus (Kerr Corp., Orange, CA, EUA)	Sist. adesivo convencional de 2 passos	Bis-GMA, HEMA, GPDM, <b>fluorsilicato de sódio</b> , fotoiniciador, etanol e água
SB2	Adper Single Bond 2 (3M ESPE, St Paul, MN, EUA)  Controle negativo	Sist. adesivo convencional de 2 passos	Bis-GMA, HEMA, sílica coloidal, água e etanol

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

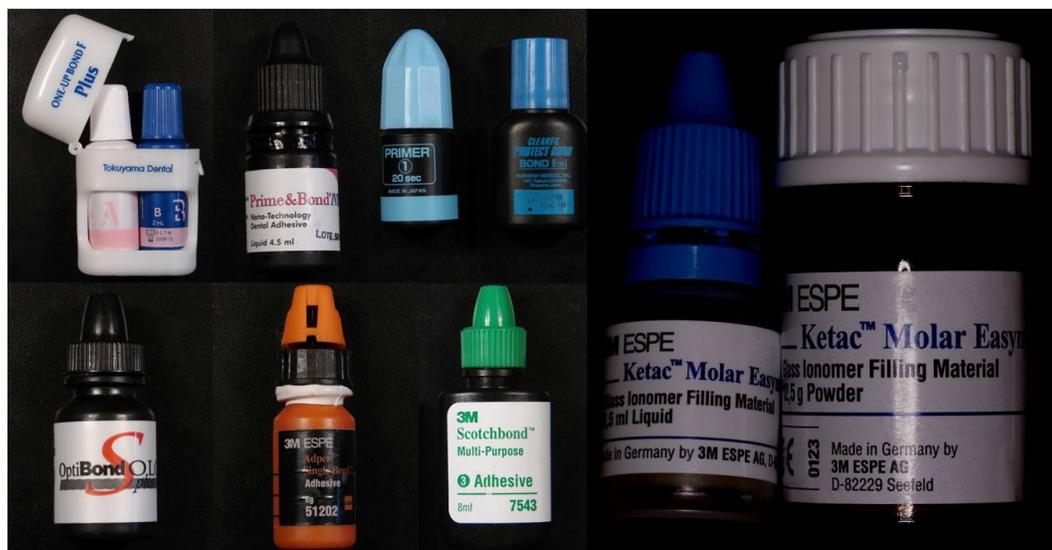


Figura 2. Materiais utilizados no estudo.

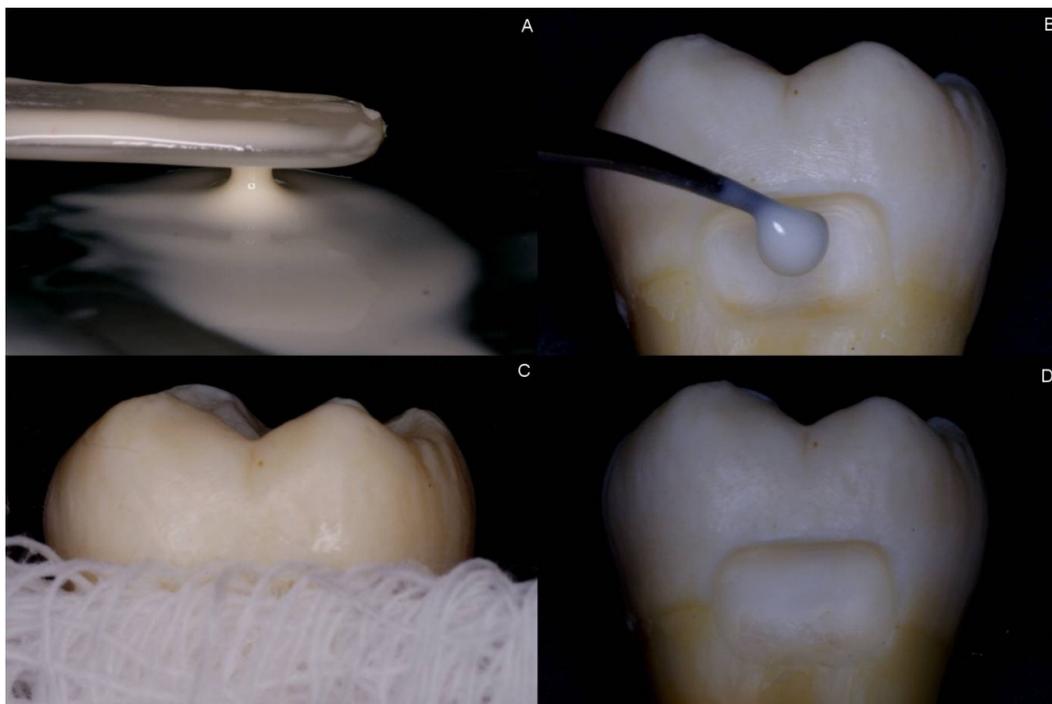


Figura 3. A- Espatulação do cimento de ionômero de vidro com espátula plástica. B- Aplicação do cimento na cavidade com aplicador de hidróxido de cálcio. C- Proteção do forramento com gaze úmida. D- Aspecto final do forramento.

Nas cavidades que receberam os sistemas adesivos convencionais Prime&Bond NT (Denstply Caulk, Milford, DE, EUA), OptiBond Solo Plus (Kerr Dental, Orange, CA, EUA) e Adper Single Bond 2 (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA), o condicionamento com ácido fosfórico 37% (3M ESPE, St. Paul, MN, USA) foi iniciado pela margem de esmalte e, em seguida, aplicado na dentina por 20 segundos (Fig 4-A). Após este tempo, as cavidades foram lavadas com spray água/ar durante 20 segundos e o excesso de água removido com papel absorvente (Fig 4-B), tomando o cuidado para não secar demais as cavidades, deixando a dentina com um pequeno brilho (Fig 4-C). A aplicação dos adesivos foi feita com aplicador descartável (KGbrush, KG Sorensen, São Paulo, SP, Brasil) (Fig 4-D) e seguiu as recomendações de cada fabricante com relação ao número de camadas e tempo de fotopolimerização.

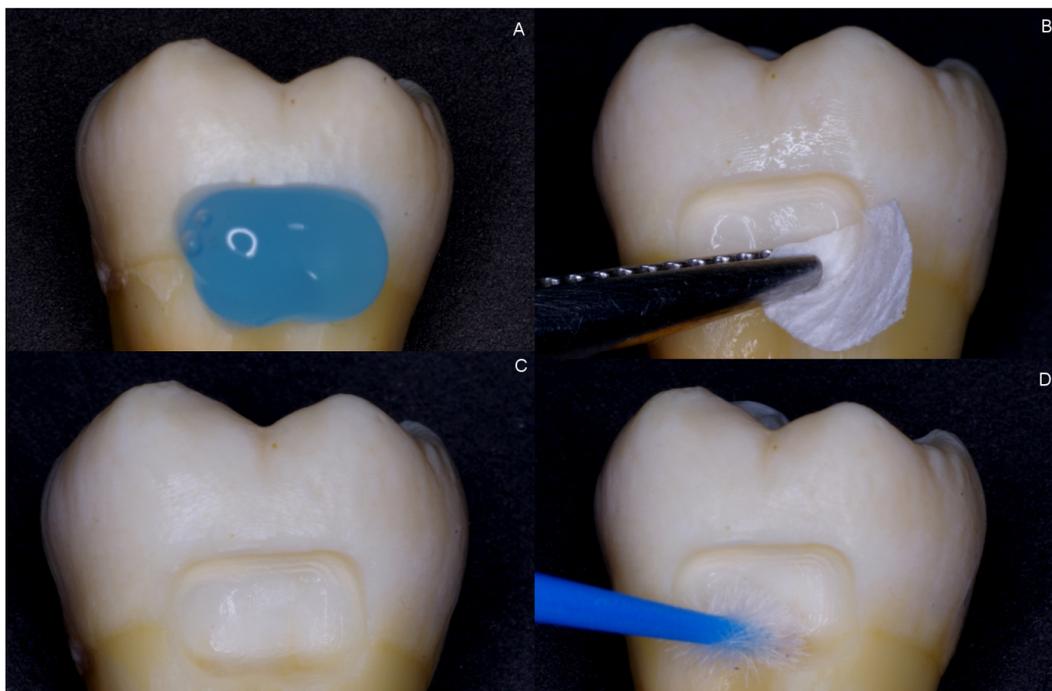


Figura 4. A- Aplicação do ácido fosfórico na cavidade. B- remoção do excesso de água com papel absorvente. C- Aspecto da dentina após remoção do excesso de água. D- Aplicação do sistema adesivo com microbrush.

O sistema adesivo autocondicionante One-Up Bond F Plus (Tokuyama, Toquio, Japão) foi aplicado nas cavidades após a mistura de uma gota do líquido A com uma gota do líquido B no recipiente plástico que acompanha o sistema (Fig 5). De acordo com o fabricante, a aplicação foi feita esfregando a cavidade com aplicador descartável (KGBrush, KG Sorensen, São Paulo, SP, Brasil) durante 20 segundos. Já a utilização do sistema adesivo autocondicionante Clearfill Protect Bond (Kuraray, Tóquio, Japão) incluiu a aplicação ativa do primer acidulado com aplicador descartável (KGBrush, KG Sorensen, São Paulo, SP, Brasil) durante 20 segundos, seguido de leve jato de ar. O líquido B foi aplicado em uma camada fina com outro aplicador descartável (KGBrush, KG Sorensen, São Paulo, SP, Brasil).

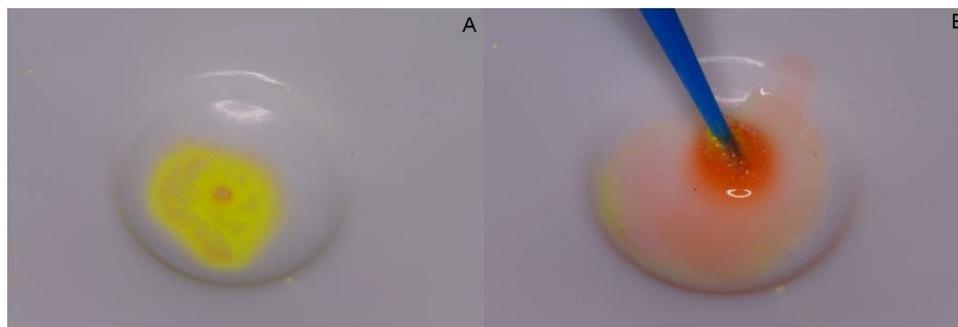


Figura 5. A- 1 gota do líquido A e do líquido B do sistema adesivo One-Up Bond F Plus (Tokuyama, Toquio, Japão). B- mistura dos líquidos com microbrush para a aplicação na cavidade.

Todos os sistemas adesivos foram fotopolimerizados de acordo com o tempo recomendado por cada fabricante, utilizando um aparelho de luz halógena com 500-600 mW/cm<sup>2</sup> de potência (Optilux VLC 501, Demetron Research Corp, Danbury, CT, EUA). As cavidades foram restauradas com a resina composta Filtek Z350 (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA) (Fig 6), utilizando 4 incrementos oblíquos (Fig 7-A), fotopolimerizados por 20 segundos cada com a mesma unidade fotopolimerizadora (Fig 7-B). A intensidade do aparelho foi verificada por meio de radiômetro (Demetron Research Corp, Danbury, CT, EUA) ao término de cada cinco restaurações.



Figura 6. Resina composta Filtek Z350 (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA) utilizada para confecção das restaurações.

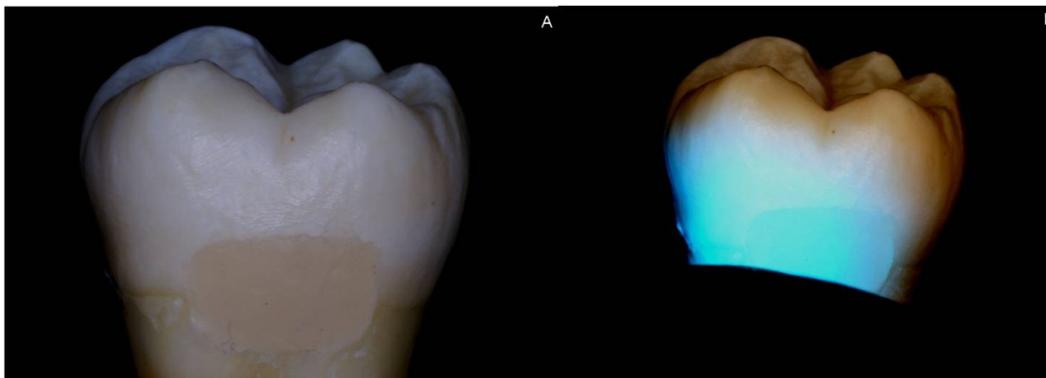


Figura 7. A- Restauração em resina composta Filtek Z350 (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA). B- Fotopolimerização durante 20 segundos com aparelho de luz halógena (Optilux VLC 501, Demetron Research Corp, Danbury, CT, EUA).

Os dentes foram armazenados em um recipiente à prova de luz sob 100% de umidade relativa, em estufa a  $37^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ , durante 24h. As restaurações foram submetidas ao acabamento com borrachas siliconadas (Enhance, Dentsply Caulk, Milford, DE, EUA), discos abrasivos seqüenciais de granulação fina e extrafina (Sof-Lex, 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA) (Fig 8) e polidas com discos de feltro e pasta de polimento de granulação extrafina (Diamond Master, FGM, Joinville, SC, Brasil).

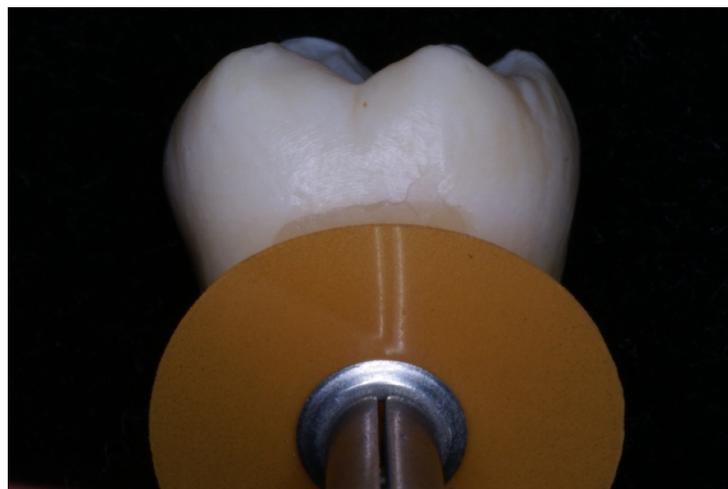


Figura 8. Acabamento da restauração com disco abrasivo granulação fina e extrafina (Sof-Lex, 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA).

Cada restauração foi seccionada com disco de alta concentração de diamantes (Exttec Corp., Enfield, CT, EUA) em cortadeira metalográfica de alta precisão (Isomet 1000, Buehler, Lake Buff, IL, EUA), em baixa rotação e sob irrigação constante com água destilada (Fig.9). Foram obtidas 4 lâminas (Fig.10), com espessura de aproximadamente 150  $\mu\text{m}$ . Cada lâmina foi polida manualmente com lixas de Carboneto de Silício (SiC) com granulações de #800, #1200 e #1600 até a obtenção de lâminas com  $100\mu\text{m} \pm 20\mu\text{m}$  de espessura. Estas espessuras foram verificadas com um micrômetro (Mitutoyo 25 103-125, Tóquio, Japão).

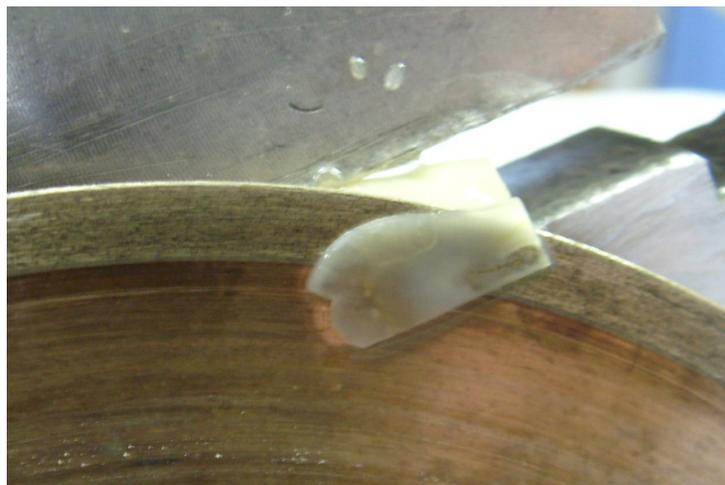


Figura 9. Corte da restauração para obtenção das lâminas com disco diamantado em máquina de corte de precisão (Isomet 1000, Buehler).

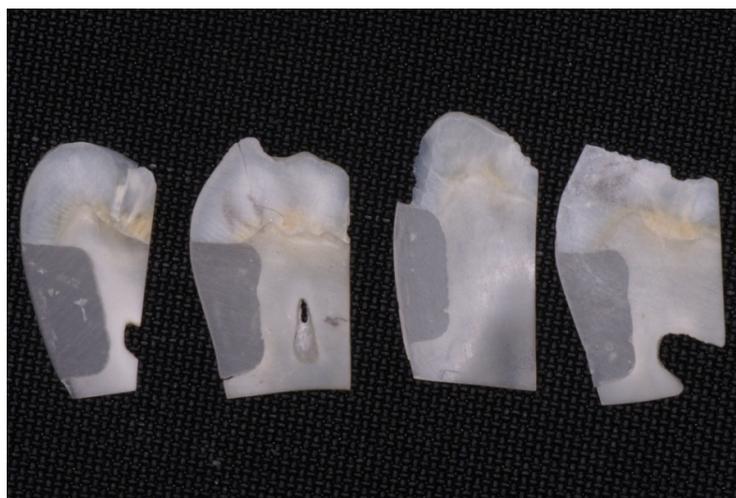


Figura 10. Aspecto das lâminas contendo as restaurações após o polimento.

### Armazenamento das lâminas

As lâminas de cada grupo de materiais (n=10) foram armazenadas separadamente em recipientes plásticos com tampa (Fig 11). As descrições dos tipos de armazenamento e tratamentos estão contidas na Tabela 2. O ciclo de pH realizado neste estudo foi baseado no descrito no estudo de Carvalho e Cury (1999), com imersões de 6h em solução desmineralizante (11,4 mM Ca, 0,9 mM P e 0,05 M tampão acetato, com pH 5,0) e 18h em solução remineralizante (1,5 mM Ca, 0,9 mM P e 0,1 M tampão Tris, com pH 7,0) durante um período de 15 dias. Entre as trocas de soluções desmineralizantes e remineralizantes, as lâminas foram lavadas com água deionizada e secas com papel absorvente.



Figura 11. Recipientes plásticos com tampa contendo as lâminas imersas no diferentes meios de armazenamento.

A solução de fluoreto de sódio 0,05% foi manipulada na farmácia escola da PUCPR, e utilizada após a imersão em solução remineralizante durante 1 minuto diariamente. O fluoreto de sódio 1,23% utilizado neste estudo apresentava-se na forma de espuma com pH neutro (Flúor Care, FGM Produtos Odontológicos, Joinville, SC, Brasil), e foi aplicado durante 1 minuto, no sétimo e décimo quarto dias de ciclo de pH.

Tabela 2. Tipos de armazenamento e terapias fluoretadas utilizados neste estudo.

<i>Armazenamento</i>	<i>Tempo</i>	<i>Trocas</i>	<i>Terapia com flúor</i>
Água destilada	15 dias	diárias	-
Ciclo de pH	15 dias	6h- Des 18h- Re	-
Ciclo de pH	15 dias	6h- Des 18h- Re	NaF 0,05% - 1min. diário
Ciclo de pH	15 dias	6h- Des 18h- Re	NaF 1,23% - 1 min. semanal

### *Avaliação da microdureza Knoop*

Para a verificação do efeito dos diferentes tipos de armazenamento sobre a dentina foram realizados testes de microdureza Knoop (Fig. 12) na dentina subjacente à interface adesiva localizada na margem cervical das restaurações (Fig. 13). Um microdurômetro (HMV 2000, Shimadzu, Tóquio, Japão) com indentador de diamante Knoop e uma carga estática de 10g foi aplicada sobre a dentina durante 15 seg (Hara et al., 2002a). Três indentações foram realizadas nas profundidades de 50  $\mu\text{m}$ , 100  $\mu\text{m}$ , 150  $\mu\text{m}$  e 300  $\mu\text{m}$ , a partir da interface da restauração em dentina, totalizando 12 indentações por lâmina. Os valores de microdureza Knoop (KHN) foram registrados e a média das três indentações em cada profundidade foi utilizada para a análise estatística dos resultados.



Figura 12. Teste de microdureza Knoop em microdurômetro HMV (Shimadzu).

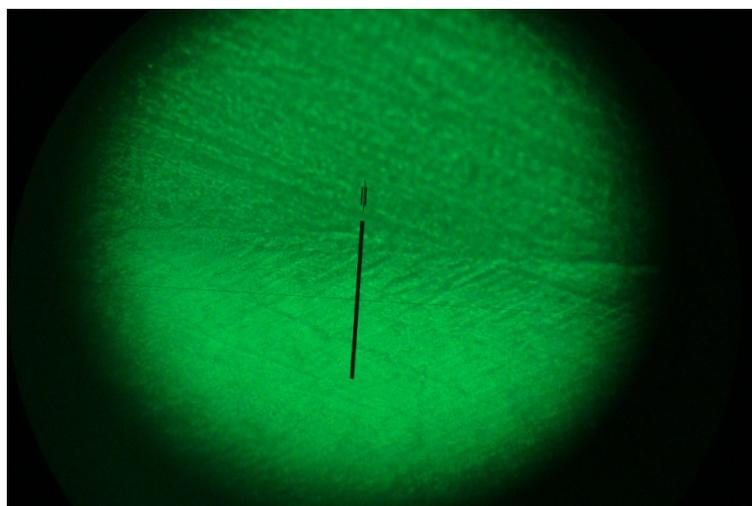


Figura 13. Visualização da dentina subjacente à interface adesiva em objetiva de 40X.

#### *Análise estatística*

Os valores médios de microdureza foram submetidos ao teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov e de Levene para a verificação da homogeneidade de variâncias. A análise de variância a três critérios (ANOVA) foi utilizada, onde os fatores considerados foram material, armazenamento e profundidade, para detectar diferenças estatisticamente significantes entre os grupos. As comparações múltiplas foram realizadas por meio de teste de Tukey HSD. Todos os testes foram realizados com nível de significância de 5%.

### 5.3. Tabelas e Gráficos da análise estatística

#### Tests of Normality

	Grupos	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
<b>Microdurez a50</b>	1	0,069	30	,200(*)	0,987	30	0,972
	2	0,141	30	0,13	0,957	30	0,266
	3	0,108	30	,200(*)	0,957	30	0,252
	4	0,075	30	,200(*)	0,986	30	0,947
	5	0,249	30	0	0,837	30	0
	6	0,182	30	<b>0,013</b>	0,925	30	0,037
	7	0,173	30	<b>0,022</b>	0,907	30	0,012
	8	0,114	30	,200(*)	0,958	30	0,273
	9	0,152	30	0,074	0,963	30	0,365
	10	0,067	30	,200(*)	0,991	30	0,995
	11	0,147	30	0,095	0,903	30	0,01
	12	0,148	30	0,091	0,968	30	0,488
	13	0,131	30	0,2	0,946	30	0,134
	14	0,133	30	0,183	0,958	30	0,282
	15	0,089	30	,200(*)	0,977	30	0,749
	16	0,118	30	,200(*)	0,985	30	0,932
	17	0,219	30	<b>0,001</b>	0,825	30	0
	18	0,147	30	0,096	0,974	30	0,658
	19	0,15	30	0,084	0,937	30	0,077
	20	0,123	30	,200(*)	0,966	30	0,444
	21	0,159	30	0,051	0,931	30	0,054
	22	0,132	30	0,191	0,915	30	0,02
	23	0,094	30	,200(*)	0,972	30	0,604
	24	0,149	30	0,087	0,959	30	0,293
<b>Microdurez a100</b>	1	0,125	30	,200(*)	0,947	30	0,138
	2	0,159	30	0,052	0,933	30	0,06
	3	0,132	30	0,193	0,943	30	0,108
	4	0,227	30	0	0,864	30	0,001
	5	0,142	30	0,126	0,955	30	0,228
	6	0,103	30	,200(*)	0,975	30	0,694
	7	0,27	30	0	0,808	30	0
	8	0,071	30	,200(*)	0,977	30	0,731
	9	0,349	30	0	0,423	30	0
	10	0,114	30	,200(*)	0,926	30	0,038
	11	0,137	30	0,154	0,912	30	0,016
	12	0,119	30	,200(*)	0,897	30	0,007
	13	0,105	30	,200(*)	0,979	30	0,804
	14	0,153	30	0,072	0,969	30	0,524
	15	0,322	30	0	0,446	30	0
	16	0,107	30	,200(*)	0,963	30	0,375
	17	0,175	30	<b>0,019</b>	0,94	30	0,093
	18	0,141	30	0,132	0,948	30	0,154
	19	0,095	30	,200(*)	0,98	30	0,818
	20	0,126	30	,200(*)	0,953	30	0,2
	21	0,113	30	,200(*)	0,97	30	0,546
	22	0,112	30	,200(*)	0,923	30	0,032
	23	0,163	30	<b>0,04</b>	0,942	30	0,106
	24	0,104	30	,200(*)	0,975	30	0,693
	1	0,1	30	,200(*)	0,965	30	0,413
	2	0,105	30	,200(*)	0,964	30	0,384
	3	0,151	30	0,077	0,918	30	0,024
	4	0,095	30	,200(*)	0,987	30	0,964

<b>Microdurez a150</b>	5	0,199	30	0,004	0,892	30	0,005	
	6	0,128	30	,200(*)	0,944	30	0,12	
	7	0,194	30	0,005	0,892	30	0,005	
	8	0,151	30	0,079	0,939	30	0,083	
	9	0,241	30	0	0,884	30	0,004	
	10	0,154	30	0,069	0,963	30	0,365	
	11	0,125	30	,200(*)	0,972	30	0,6	
	12	0,119	30	,200(*)	0,957	30	0,264	
	13	0,156	30	0,06	0,95	30	0,167	
	14	0,102	30	,200(*)	0,984	30	0,92	
	15	0,174	30	0,021	0,921	30	0,028	
	16	0,104	30	,200(*)	0,944	30	0,118	
	17	0,197	30	0,004	0,937	30	0,076	
	18	0,103	30	,200(*)	0,979	30	0,811	
	19	0,14	30	0,14	0,895	30	0,006	
	20	0,147	30	0,096	0,968	30	0,48	
	21	0,106	30	,200(*)	0,957	30	0,257	
	22	0,145	30	0,11	0,901	30	0,009	
	23	0,088	30	,200(*)	0,971	30	0,574	
	24	0,138	30	0,151	0,959	30	0,294	
	<b>Microdurez a300</b>	1	0,114	30	,200(*)	0,952	30	0,189
		2	0,131	30	,200(*)	0,938	30	0,081
		3	0,172	30	0,024	0,945	30	0,123
		4	0,102	30	,200(*)	0,976	30	0,722
5		0,191	30	0,007	0,912	30	0,017	
6		0,203	30	0,003	0,919	30	0,026	
7		0,191	30	0,007	0,949	30	0,158	
8		0,117	30	,200(*)	0,973	30	0,62	
9		0,24	30	0	0,864	30	0,001	
10		0,087	30	,200(*)	0,969	30	0,516	
11		0,14	30	0,14	0,88	30	0,003	
12		0,135	30	0,175	0,968	30	0,474	
13		0,08	30	,200(*)	0,965	30	0,406	
14		0,114	30	,200(*)	0,941	30	0,094	
15		0,181	30	0,013	0,83	30	0	
16		0,122	30	,200(*)	0,961	30	0,322	
17		0,143	30	0,117	0,934	30	0,061	
18		0,14	30	0,14	0,979	30	0,798	
19		0,145	30	0,108	0,964	30	0,399	
20		0,157	30	0,056	0,957	30	0,261	
21		0,121	30	,200(*)	0,933	30	0,06	
22		0,143	30	0,12	0,962	30	0,345	
23		0,086	30	,200(*)	0,982	30	0,867	
24		0,143	30	0,122	0,932	30	0,056	

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

a Lilliefors Significance Correction

### Test of Homogeneity of Variance

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Microdureza50	Based on Mean	6,419	23	696	0
	Based on Median	4,687	23	696	0
	Based on Median and with adjusted df	4,687	23	401,636	0
	Based on trimmed mean	6,167	23	696	0
Microdureza100	Based on Mean	2,495	23	696	0
	Based on Median	1,981	23	696	0,004
	Based on Median and with adjusted df	1,981	23	124,391	0,009
	Based on trimmed mean	2,077	23	696	0,002
Microdureza150	Based on Mean	5,438	23	696	0
	Based on Median	3,954	23	696	0
	Based on Median and with adjusted df	3,954	23	460,238	0
	Based on trimmed mean	5,179	23	696	0
Microdureza300	Based on Mean	6,377	23	696	0
	Based on Median	4,504	23	696	0
	Based on Median and with adjusted df	4,504	23	402,586	0
	Based on trimmed mean	6,054	23	696	0

**Médias, mediana, desvio padrão e coeficiente de variação dos valores de microdureza**

		Mean	Median	Standard Deviation	C.V.
Ketac Molar Des Re	Microdure za50	36,39	36,10	5,07	13,93
	Microdure za100	33,54	32,55	4,25	12,67
	Microdure za150	34,69	33,90	5,62	16,20
	Microdure za300	34,01	34,60	3,29	9,67
Ketac Molar Des Re 0,05	Microdure za50	48,15	47,20	7,33	15,22
	Microdure za100	40,83	41,70	4,32	10,58
	Microdure za150	45,91	47,25	7,12	15,51
	Microdure za300	34,32	34,20	3,29	9,59
Ketac Molar Des Re 1,23	Microdure za50	42,02	41,60	3,76	8,95
	Microdure za100	39,40	38,40	6,79	17,23
	Microdure za150	36,36	35,20	4,46	12,27
	Microdure za300	33,19	33,90	3,21	9,67
Ketac Molar H2O	Microdure za50	44,85	44,80	5,60	12,49
	Microdure za100	36,89	36,35	4,49	12,17
	Microdure za150	34,98	35,00	2,40	6,86
	Microdure za300	34,46	34,45	3,27	9,49
One Up Bond Plus Des Re	Microdure za50	32,11	35,75	8,82	27,47
	Microdure za100	31,83	32,80	7,72	24,25
	Microdure za150	32,22	34,80	7,85	24,36
	Microdure za300	33,35	36,10	8,36	25,07
One Up Bond Plus Des Re 0,05	Microdure za50	35,22	35,70	4,81	13,66
	Microdure za100	34,98	35,80	5,47	15,64
	Microdure za150	34,40	33,95	5,55	16,13
	Microdure za300	32,91	34,20	4,20	12,76
One Up Bond Plus Des Re 1,23	Microdure za50	39,25	38,50	4,52	11,52
	Microdure za100	36,55	35,10	6,54	17,89
	Microdure za150	36,40	36,90	6,70	18,41
	Microdure za300	36,21	36,60	4,69	12,95
One Up Bond Plus H2O	Microdure za50	35,74	35,50	4,19	11,72
	Microdure za100	32,47	32,60	2,86	8,81
	Microdure za150	31,29	30,55	3,32	10,61
	Microdure za300	31,71	31,40	2,83	8,92
Prime&Bond NT Des Re	Microdure za50	22,79	22,40	3,92	17,20
	Microdure za100	27,13	25,80	17,27	63,66
	Microdure za150	25,14	27,30	5,71	22,71

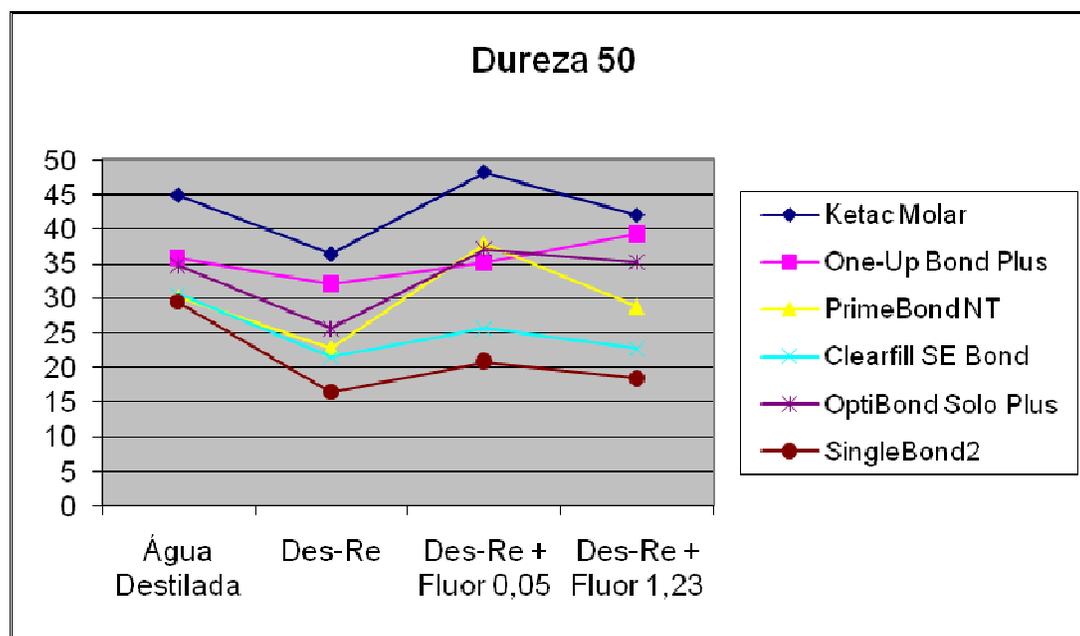
	Microdure za300	27,15	29,70	6,81	25,08
Prime&Bond NT Des Re 0,05	Microdure za50	37,87	38,35	5,58	14,73
	Microdure za100	35,52	34,10	8,35	23,51
	Microdure za150	34,84	35,35	6,67	19,14
	Microdure za300	35,45	35,50	5,94	16,76
	Microdure za50	28,83	28,15	5,66	19,63
Prime&Bond NT Des Re 1,23	Microdure za100	29,74	28,45	6,36	21,39
	Microdure za150	29,12	29,10	5,23	17,96
	Microdure za300	30,90	29,90	6,54	21,17
	Microdure za50	30,16	29,90	2,19	7,26
Prime&Bond NT H2O	Microdure za100	29,16	28,55	2,83	9,71
	Microdure za150	29,81	29,50	2,48	8,32
	Microdure za300	31,11	30,35	2,65	8,52
	Microdure za50	21,49	21,85	6,67	31,04
ClearFill SE Bond Des Re	Microdure za100	21,12	20,95	4,37	20,69
	Microdure za150	20,45	19,10	5,83	28,51
	Microdure za300	22,83	23,20	4,23	18,53
	Microdure za50	25,60	25,25	3,57	13,95
ClearFill SE Bond Des Re 0,05	Microdure za100	27,03	26,15	3,96	14,65
	Microdure za150	27,96	28,30	4,52	16,17
	Microdure za300	29,70	30,50	3,97	13,37
	Microdure za50	22,75	22,75	3,16	13,89
ClearFill SE Bond Des Re 1,23	Microdure za100	28,25	25,80	17,16	60,74
	Microdure za150	26,09	27,65	6,02	23,07
	Microdure za300	28,77	31,05	6,47	22,49
	Microdure za50	30,53	30,20	2,55	8,35
ClearFill SE Bond H2O	Microdure za100	28,65	28,85	3,28	11,45
	Microdure za150	28,77	28,60	3,11	10,81
	Microdure za300	31,10	31,15	3,18	10,23
	Microdure za50	25,70	25,25	6,60	25,68
OptiBond Solo Plus Des Re	Microdure za100	25,60	25,60	5,49	21,45
	Microdure za150	25,68	26,80	5,13	19,98
	Microdure za300	28,77	30,25	5,32	18,49
	Microdure za50	37,09	38,25	5,46	14,72
OptiBond Solo Plus Des Re 0,05	Microdure za100	36,14	35,70	5,40	14,94
	Microdure za150	36,06	36,20	6,54	18,14
	Microdure za300	35,55	36,95	6,02	16,93
OptiBond Solo Plus Des Re 1,23	Microdure	35,26	36,80	8,22	23,31

	za50				
	Microdure za100	32,01	32,80	6,58	20,56
	Microdure za150	34,79	36,65	7,64	21,96
	Microdure za300	33,09	32,85	5,59	16,89
<b>OptiBond Solo Plus H2O</b>	Microdure za50	34,82	35,00	3,87	11,11
	Microdure za100	32,78	32,95	3,75	11,44
	Microdure za150	32,60	33,15	3,48	10,67
	Microdure za300	31,67	31,15	3,15	9,95
<b>SingleBond2 Des Re</b>	Microdure za50	16,47	17,05	3,05	18,52
	Microdure za100	15,96	15,35	2,80	17,54
	Microdure za150	16,20	15,75	4,28	26,42
	Microdure za300	21,86	21,00	8,23	37,65
<b>SingleBond2 Des Re 0,05</b>	Microdure za50	20,83	19,90	4,69	22,52
	Microdure za100	22,12	22,45	5,79	26,18
	Microdure za150	21,37	19,35	7,21	33,74
	Microdure za300	24,59	25,10	6,08	24,73
<b>SingleBond2 Des Re 1,23</b>	Microdure za50	18,42	18,35	4,11	22,31
	Microdure za100	17,90	16,95	4,09	22,85
	Microdure za150	15,45	15,40	2,18	14,11
	Microdure za300	18,91	19,05	3,72	19,67
<b>SingleBond2 H2O</b>	Microdure za50	29,38	29,05	2,74	9,33
	Microdure za100	28,98	28,55	2,12	7,32
	Microdure za150	28,56	29,20	2,40	8,40
	Microdure za300	30,52	29,90	2,95	9,67

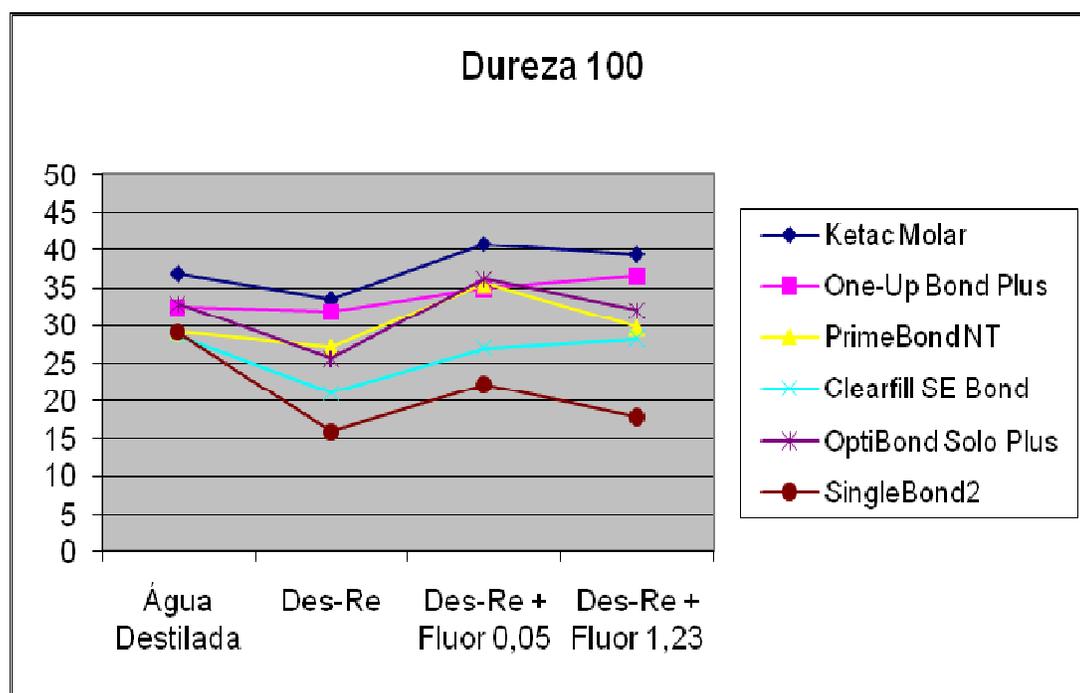
**ANOVA**

Effect	SS	DF	MS	F	P
Intercept	2678298	1	2678298	41867.35	0.000000
ADESIVO	81409	5	16282	254.52	0.000000
ARMAZENAMENTO	19166	3	6389	99.87	0.000000
ADESIVO* ARMAZENAMENTO	14339	15	956	14.94	0.000000
Error	44524	696	64		
PROFUNDI	761	3	254	11.60	0.000000
PROFUNDI*ADESIVO	6091	15	406	18.57	0.000000
PROFUNDI* ARMAZENAMENTO	1626	9	181	8.26	0.000000
PROFUNDI*ADESIVO* ARMAZENAMENTO	2859	45	64	2.91	0.000000
Error	45651	2088	22		

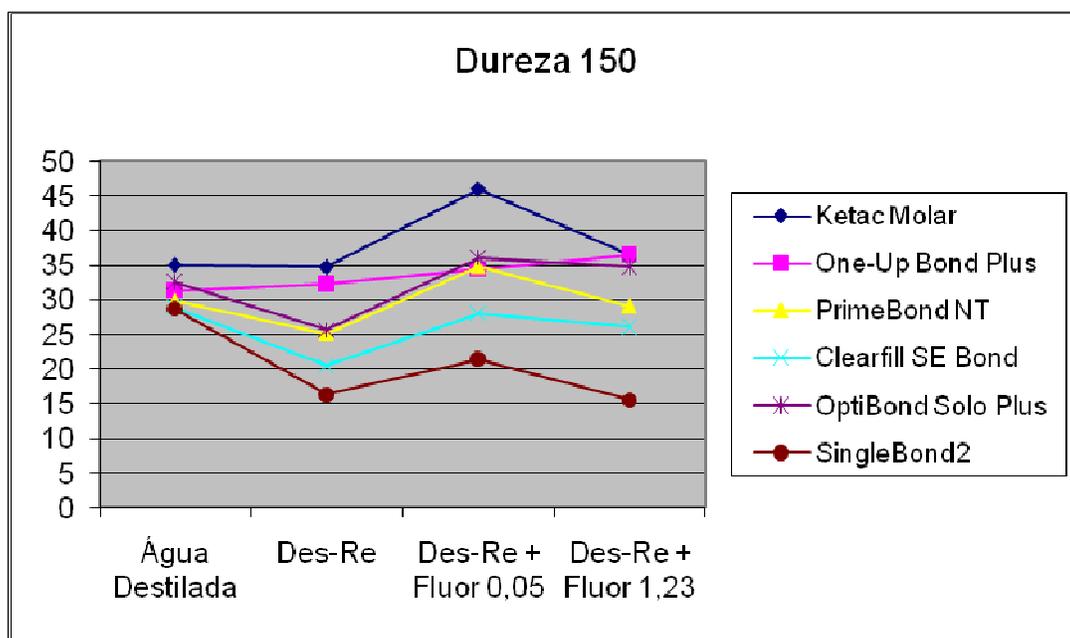
Microdureza Knoop da dentina em função do material e meio de armazenamento na profundidade de 50 $\mu$ m.



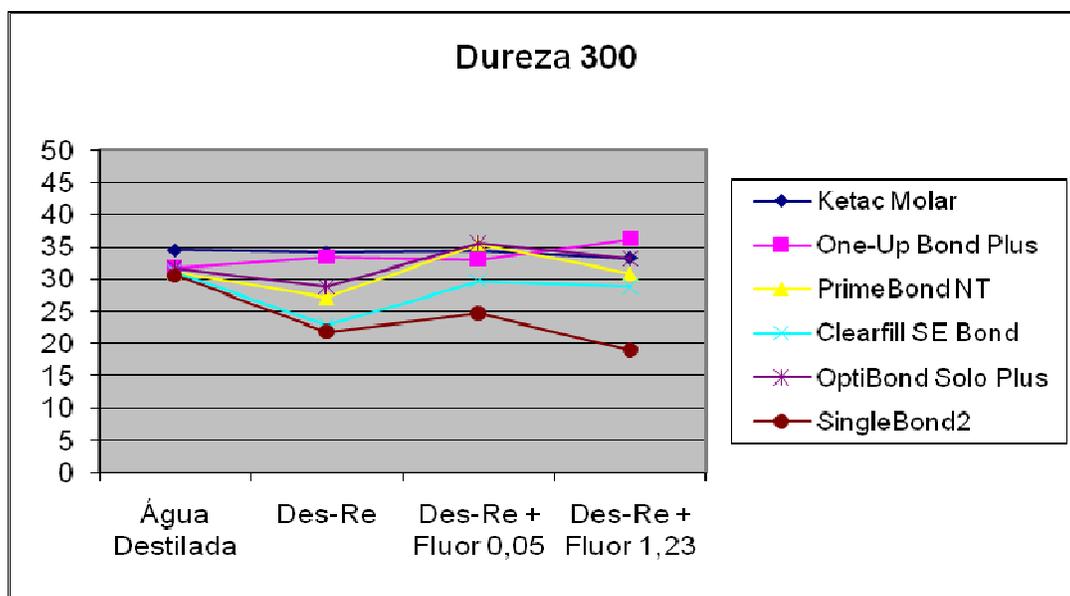
Microdureza Knoop da dentina em função do material e meio de armazenamento na profundidade de 100 $\mu$ m.



Microdureza Knoop da dentina em função do material e meio de armazenamento na profundidade de 150 $\mu$ m.



Microdureza Knoop da dentina em função do material e meio de armazenamento na profundidade de 300 $\mu$ m.



## 5.4. Aprovação do CEP



PUCPR

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ  
Núcleo de Bioética  
Comitê de Ética em Pesquisa

### PARECER CONSUBSTANCIADO DE PROTOCOLO DE PESQUISA

Parecer Nº **0001312/07**Protocolo CEP Nº **2131**Título do projeto **Liberção de flúor e inibição de cárie secundária por sistemas**Grupo **III****adesivos fluoretados**Versão **1**

Protocolo CONEP

Pesquisador responsável **Giovanna Andraus Kirsten**

Instituição

#### Objetivos

Os objetivos deste estudo serão:

- 1 Determinar a quantidade de flúor liberado por adesivos dentais em água deionizada e ciclo de pH (soluções desmineralizante e remineralizante).
- 2 Avaliar por meio de microscopia de luz polarizada o potencial de remineralização dos adesivos fluoretados, sob condições de ciclo de pH.

A hipótese a ser testada neste estudo é que não haja diferença na liberaçõ de flúor e o efeito cariostático de sistemas adesivos fluoretados quando comparados ao ionômero de vidro.

#### Comentários

A hipótese a ser testada neste estudo é que não haja diferença na liberaçõ de flúor e o efeito cariostático de sistemas adesivos fluoretados quando comparados ao ionômero de vidro.

#### Considerações

Estudo será realizado utilizando os dentes fornecido pelo Banco de Dentes da PUCPR.

#### Termo de consentimento livre e esclarecido

Não se aplica. Porém, a autorização para utilização do material (dentes) do Banco de Dentes da PUCPR, encontra-se assinado pelo responsável e presente no projeto

#### Recomendações

Ajustar cronograma

#### Conclusões

Projeto bem delineado, metodologicamente adequado, aprovado com recomendações (ajustar cronograma)

Devido ao exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa da PUCPR, de acordo com as exigências das Resoluções Nacionais 196/96 e demais relacionadas a pesquisas envolvendo seres humanos, em reunião realizada no dia: **05/12/2007**, manifesta-se por considerar o projeto **Aprovado com recomendações**.

#### Situação Aprovado com recomendações

Lembramos aos senhores pesquisadores que, no cumprimento da Resolução 196/96, o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) deverá receber relatórios anuais sobre o andamento do estudo, bem como a qualquer tempo e a critério do pesquisador nos casos de relevância, além do envio dos relatos de eventos adversos, para conhecimento deste Comitê. Salientamos ainda, a necessidade de relatório completo ao final do estudo.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP-PUCPR de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificado e as suas justificativas.

Se a pesquisa, ou parte dela for realizada em outras instituições, cabe ao pesquisador não iniciá-la antes de receber a autorização formal para a sua realização. O documento que autoriza o início da pesquisa deve ser carimbado e assinado pelo responsável da instituição e deve ser mantido em poder do pesquisador responsável, podendo ser requerido por este CEP em qualquer tempo.



Curitiba, 14 de Dezembro de 2007.

**Prof. Dr. Sergio Surugi de Siqueira**  
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa  
PUCPR