

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA**

**EFEITO DA COMPOSIÇÃO DO INFILTRANTE E DA ZONA  
HISTOLÓGICA SOBRE A VARIAÇÃO NA MICRODUREZA DO  
ESMALTE CARIADO INFILTRADO EXPOSTO A DEGRADAÇÃO  
EM ÁGUA**

**MARINA TAVARES COSTA NÓBREGA**

**SAPIENTIA AEDIFICAT**

**2017**

**MARINA TAVARES COSTA NÓBREGA**

**EFEITO DA COMPOSIÇÃO DO INFILTRANTE E DA ZONA  
HISTOLÓGICA SOBRE A VARIAÇÃO NA MICRODUREZA DO  
ESMALTE CARIADO INFILTRADO EXPOSTO A DEGRADAÇÃO  
EM ÁGUA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia – Área de Concentração em Ciências Odontológicas.

Orientador: Prof. Dr. Frederico Barbosa de Sousa  
Co-orientadora: Profa. Dra. Regina Maria PuppimRontani

João Pessoa

2017

Catálogo na Publicação  
Seção de Catalogação e Classificação

N754e Nóbrega, Marina Tavares Costa.  
Efeito da composição do infiltrante e da zona histológica sobre a variação na microdureza do esmalte cariado infiltrado exposto a degradação em água / Marina Tavares Costa Nóbrega. - João Pessoa, 2017.  
44 f. : il. -

Orientador: Frederico Barbosa de Sousa.  
Dissertação (Mestrado) - UFPB/PPGO

1. Cárie dentária. 2. Esmalte dentário. 3. Infiltração resinosa. I. Título.

UFPB/BC

CDU - 616.314-002(043)

MARINA TAVARES COSTA NÓBREGA

**EFEITO DA COMPOSIÇÃO DO INFILTRANTE E DA ZONA  
HISTOLÓGICA SOBRE A VARIAÇÃO NA MICRODUREZA DO  
ESMALTE CARIADO INFILTRADO EXPOSTO A DEGRADAÇÃO  
EM ÁGUA**

Banca Examinadora



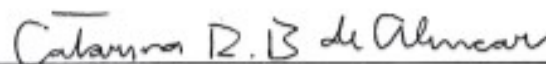
---

Prof. Dr. Frederico Barbosa De Sousa  
Orientador



---

Prof. Dr. Yuri Wanderley Cavalcanti  
Examinador - UFPB



---

Profa. Dra. Catarina Ribeiro Barros de Alencar  
Examinador Externo

## **DEDICATÓRIA**

À minha mãe Eliane, que com muito carinho, me apoiou e incentivou desde o início da vida acadêmica. E ao meu pai, Leonardo, que esteve ao meu lado mesmo estando longe.

Ao meu namorado Felipe, que com toda paciência e amor, me encorajou e sofreu comigo durante esse tempo.

Às minhas avós, Maria de Lourdes e Josefa, que tenho certeza que intercedem pela minha vida no céu.

A Deus e Nossa Senhora, que foram e continuarão sendo meu alicerce, minha fortaleza e meu refúgio, todos os dias da minha vida.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao professor Frederico, pela orientação, ensinamentos e convivência diária.

À minha co-orientadora, professora Regina, por compartilhar ideias e por sua disponibilidade em tirar dúvidas e fazer considerações.

Aos professores do PPGO, pelos quais tenho grande admiração.

Aos meus colegas de laboratório (Laryssa, Eugênia, Basílio, Maria Luíza, Lúcia e Gabriel), que tornaram meus dias mais agradáveis e leves.

À Rebeca, técnica do LABIO, que me ajudou muitas vezes na parte laboratorial e Renatinha e Isabelle, que juntamente com Rebeca, foram minhas ouvintes e amigas em vários momentos.

Aos técnicos do LSR, em especial Meyson, que foi sempre muito solícito em me ajudar e disponibilizar o uso do microdurômetro.

À Leopoldina e Loyse, que me auxiliaram na parte microbiológica do estudo, com muita paciência e boa vontade.

Aos meus colegas de turma, por compartilhar dessa experiência. Em especial à Ohana, que está comigo desde a graduação e é uma amiga para a vida toda.

À Julliana, que desde o primeiro dia da graduação é minha companheira inseparável, que com todo brilhantismo e dedicação já voa alto e me enche de orgulho. Obrigada pela amiga, companheira de trabalho e pessoa que você é!

A Eduardo, que foi um amigo e professor.

Aos meus familiares e amigos, por todo o apoio e incentivo.

A Capes pelo apoio financeiro.

E a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para essa conquista!

## EPÍGRAFE

“No mundo haveis de ter aflições. Coragem! Eu venci o mundo”  
(João 16,33)

## RESUMO

O presente estudo teve como objetivo avaliar a microdureza em dentes bovinos com lesão de cárie artificial, submetidos a infiltração resinosa com diferentes composições, antes e após degradação hidrolítica. Foram formados 4 grupos de 26 amostras com diferentes composições monoméricas: 1 – Controle comercial; 2 – TEGDMA, UDMA, HEMA; 3 – TEGDMA, HEMA; 4 – TEGDMA, BisEMA. Blocos de esmalte bovino (5x5mm), foram usados para a indução de cárie artificial, e em seguida, analisados em radiomicrografia para a certificação da lesão de cárie em esmalte. Seguidamente, as amostras foram submetidas a infiltração resinosa, de acordo com o grupo ao qual pertencia. Realizou-se, então, a secção da amostra preservando área hígida e área infiltrada para posterior análise transversal em microdurômetro, com carga de 200g por 10s, a 30 e 90µm da superfície. Colocou-se os espécimes em água destilada durante 21 dias, e a análise de microdureza foi novamente realizada, com os mesmos parâmetros. Por fim, foi feita a microscopia de fluorescência em todas as amostras para avaliar a homogeneidade da infiltração. Todos os grupos apresentaram distribuição normal. O infiltrante 4 (TEGDMA + BisEMA) resultou numa menor variação da microdureza após imersão em água que os demais infiltrantes, com uma grande magnitude de efeito (g de Hedge de 0,83 a 1,19) e alto poder (de 84% a 99%), sem diferença entre as profundidades. Constatou-se que a composição do infiltrante resinoso interfere na alteração da microdureza do esmalte infiltrado exposto à água. A microdureza do esmalte não foi influenciada pela zona histológica e sua interação com a composição do infiltrante.

**Palavras-chave:** Cárie dentária; Esmalte dentário; Permeabilidade; Infiltração.

## ABSTRACT

The present study aims to evaluate microhardness in bovine teeth with artificial caries lesion, submitted to resin infiltration with different compositions, before and after hydrolytic degradation. Four groups of 26 samples with different monomeric compositions were formed: 1 - Commercial control; 2 - TEGDMA, UDMA, HEMA; 3-TEGDMA, HEMA; 4 - TEGDMA, BisEMA. Bovine enamel blocks (5x5mm) were used for induction of artificial caries, and then analyzed in radiomicrography for the certification of caries lesions. Afterwards, the samples were submitted to resin infiltration, according to the group to which they belonged. The sample was then cut in half, preserving a healthy area and infiltrated area for posterior cross-sectional analysis in a microdurometer, with a load of 200g for 10s, at 30 and 90µm of the surface. The specimens were placed in distilled water for 21 days, and microhardness analysis was performed again, with the same parameters. Finally, fluorescence microscopy was performed on all samples to evaluate the homogeneity of the infiltration. All groups presented normal distribution. The infiltrator 4 (TEGDMA + BisEMA) resulted in a lower microhardness variation after immersion in water than the other infiltrators, with a great magnitude of effect (g of Hedge from 0.83 to 1.19) and high power (from 84% to 99%), with no difference between depths. It was verified that composition of the resinous infiltrate interferes in the alteration of the microhardness of the infiltrated enamel exposed to water. Enamel microhardness was not influenced by histological zone and its interaction with resin composition.

**Keywords:** Dental caries; Dentalenamel; Permeability; Infiltrant.

## Listadefiguras

Figura 1 - Corte por desgaste de Lesão de Mancha Branca em MLP (com filtro de retardo vermelho de 540 nm) imerso em água, gentilmente cedida por Andressa Cavalcanti Pires, onde podemos observar a camada superficial (CS) e o corpo da lesão (CL).....	5
Figura 2 - Remoção da raiz do dente com disco diamantado.....	13
Figura 3 - Bloco de esmalte bovino hígido com 5x5mm .....	14
Figura 4 - Aparato para indução biológica de cárie.....	15
Figura 5 - Imagem de lesão cariiosa (em microCT) induzida pelo método biológico utilizado. Camada superficial (seta branca) e corpo da lesão (seta preta) .....	16
Figura 6 - Microdurômetro.....	17
Figura 7 - Aspecto típico de lesão cariiosa artificial de esmalte em radiomicrografia digital .....	21
Figura 8 - Aspectos de lesões de cárie infiltradas (A - Icon®; B - TEGDMA/UDMA/HEMA; C - TEGDMA/HEMA; D - TEGDMA/BisEMA) ao microscópio de fluorescência .....	21

## Sumário

1.	INTRODUÇÃO .....	1
2.	REVISÃO DA LITERATURA .....	3
2.1	Cárie dentária .....	3
2.2	Avaliação do efeito dos infiltrantes resinosos na progressão da lesão cariosa .....	5
2.2.1	Composições das resinas infiltrantes.....	7
2.2.2	Infiltração de lesão cariosa de esmalte.....	8
3.	OBJETIVOS .....	11
3.1	Geral.....	11
3.2	Específicos .....	11
4.	MATERIAL E MÉTODOS.....	12
4.1	Universo e amostra.....	12
4.1.2	Cálculo amostral .....	12
4.2	Locais de realização do estudo .....	13
4.3	Indução de cárie por método biológico .....	13
4.3.1	Preparação das amostras para a indução de cárie.....	13
4.3.2	Aparato para indução da cárie .....	14
4.3.3	Protocolo para desenvolvimento da cárie .....	15
4.4	Avaliação das lesões de cárie em radiomicrografia.....	16
4.5	Infiltração das resinas no esmalte cariado.....	16
4.6	Microdureza .....	16
4.6.1	Preparo das amostras para o ensaio de microdureza .....	16
4.6.2	Determinação da microdureza dos espécimes .....	17
4.7	Microscopia de fluorescência.....	18
4.8	Análise dos dados .....	19
5.	RESULTADOS .....	20
6.	DISCUSSÃO .....	24
7.	CONCLUSÃO .....	28
8.	REFERÊNCIAS.....	29

## 1. INTRODUÇÃO

A cárie dentária é uma doença oriunda da interação entre hospedeiro, substrato (dieta cariogênica) e micro-organismos<sup>1</sup>. As bactérias produtoras de ácido e outros fatores facilitam o desenvolvimento da cárie, mas a presença de carboidratos é a causa dietética necessária para o desenvolvimento das lesões cariosas<sup>2</sup>. É uma das doenças crônicas mais prevalentes em humanos no mundo inteiro, afetando grande parte da população<sup>3,4</sup>.

A primeira evidência de cárie é vista no esmalte dentário, como uma área branco-opaca<sup>5</sup>. As lesões de mancha branca foram caracterizadas com quatro zonas histopatológicas (camada superficial; corpo da lesão; zona escura; zona translúcida). Cada uma com volumes e diâmetros de poros diferentes, com base em imagens de microscopia de luz polarizada (MLP)<sup>6,7</sup>.

Os poros do esmalte cariado são preenchidos por água (fortemente e fracamente aderidas) e matéria orgânica. Após a desidratação clínica que precede o procedimento de infiltração da lesão cariada de esmalte, restam a água fortemente aderida, adjacente a volumes de ar e matéria orgânica<sup>8</sup>.

Como alternativa para o tratamento da lesão de mancha branca, temos a resina infiltrante, que é caracterizada como o material resinoso que apresente coeficiente de penetração igual ou superior a 50 cm/s. O objetivo de qualquer infiltração de resina deve ser a oclusão, tanto quanto possível, dos poros das lesões da cárie<sup>9,10</sup>.

Após a infiltração de resina, o volume dos poros mostra-se preenchido por uma combinação de matéria orgânica, água fortemente aderida, ar e resina<sup>8</sup>. Os diferentes volumes e tamanhos de poros influenciam na permeabilidade do esmalte, sendo o controle desta permeabilidade, bastante significativo para o transporte de agentes remineralizadores e/ou resinas infiltrantes<sup>11</sup>.

Estudos mostram que há uma maior dificuldade em eliminar o ar, no interior dos poros das zonas histológicas mais profundas, dificultando a infiltração<sup>12</sup>. Além disso, é possível que exista uma maior quantidade de matéria orgânica no fundo do corpo da lesão. Assim, a zona histológica pode afetar a quantidade de água firmemente aderida e, conseqüentemente, o contato do infiltrante com a água<sup>8-10,13</sup>.

A composição dos infiltrantes influencia diretamente em suas propriedades<sup>14</sup>. A adição de solventes e monômeros podem alterar propriedades como grau de conversão, a dureza da superfície e o módulo de elasticidade<sup>15</sup>.

Combinações hidrofílicas, como as que têm como base o TEGDMA<sup>16</sup>, talvez devido a essa propriedade, possam penetrar melhor nos poros do esmalte, o que é ocasionado pela presença da água firmemente aderida já existente nos mesmos<sup>8</sup>. No entanto, essa característica, pode levar o material a sofrer degradação no ambiente oral, reduzindo o desempenho clínico<sup>17</sup>.

A adição de monômeros hidrofóbicos e com viscosidade mais baixa que o TEGDMA, como UDMA ou BisEMA<sup>16,18</sup>, este último com conhecida menor taxa de degradação que os citados anteriormente<sup>19</sup>, podem melhorar o desempenho clínico, sendo interessante na composição de uma resina infiltrante.

Alguns estudos evidenciam a redução no valor da microdureza em dentes submetidos ao tratamento desmineralizador<sup>20-22</sup>. A infiltração resinosa mostra ser uma alternativa para a melhora dessa propriedade em lesões de cárie em esmalte<sup>23-25</sup>.

A degradação promovida pela combinação das águas fortemente aderida (no interior dos poros) e a água em contato com a superfície do esmalte pode influenciar clinicamente<sup>26,27</sup> e, correlacionando com o presentetrabalho, pode acarretar no aumento do volume de poros não preenchidos por infiltrante, reduzindo a proteção à progressão da lesão cariosa e o efeito estético do infiltrante.

Diante do exposto, o presente estudo avaliou se variações na composição das resinas infiltrantes e as zonas histológicas da lesão cariosa, interferem na alteração da microdureza de lesões cariosas de esmalte infiltradas, após exposição à água.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Cárie dentária

A cárie dentária é uma doença resultante da interação entre os fatores determinantes: hospedeiro, substrato (dieta cariogênica) e micro-organismos<sup>1</sup>. As bactérias produtoras de ácido e outros fatores facilitam o desenvolvimento da cárie, mas a presença de carboidratos é a causa dietética necessária para o desenvolvimento das lesões cariosas<sup>2</sup>. Tanto no nível individual quanto na população, muitos desses fatores (higiene bucal, dieta, etc.) são altamente influenciados pelas condições comportamentais e socioeconômicas existentes<sup>28</sup>.

O esmalte é o tecido mais mineralizado do corpo humano, recobre a coroa do elemento dental e é esse tecido que sofre os primeiros efeitos da doença. Aproximadamente 90% de sua constituição é formada por minerais, juntamente com matéria orgânica e água<sup>29-31</sup>. A hidroxiapatita é o principal constituinte do volume mineral do esmalte, se apresentando na forma de cristais alongados que, em sua maioria, percorrem toda a espessura do esmalte, da junção amelodentinária à superfície externa do esmalte. Esses cristais possuem largura de 60-70 nm e espessura de 25-30 nm, e se compactam em colunas denominadas de prismas<sup>32,33</sup>.

A forma de organização dos cristais leva a formação de poros no esmalte. Eles são de dois tipos principais: os que se localizam no interior dos prismas e do esmalte interprismático (entre os cristais de hidroxiapatita), com cerca de 1-2 nm de diâmetro; e os que estão ao redor de cada prisma (bainhas), possuindo 4-6 nm de diâmetro. Em sua constituição, esses poros apresentam componentes orgânicos hidrofóbicos e hidrofílicos representados por lipídios e proteínas, que provavelmente estão em contato direto com a hidroxiapatita<sup>32-35</sup>.

Além do conteúdo mineral e orgânico, a água se apresenta como outro componente do esmalte. Ela pode estar presente de duas maneiras, fracamente e fortemente aderidas, sendo a primeira mais facilmente removida<sup>29</sup>.

De acordo com Shellis (1996)<sup>36</sup>, a formação da lesão cariosa resulta de dois processos parcialmente independentes: penetração do ácido e desmineralização. A penetração, definida como o processo de dissolução do material nas bainhas dos prismas pela difusão rápida do ácido, ocorre com pouca perda mineral, mas com um aumento significativo dos poros das bainhas. A desmineralização, perda mineral principalmente no interior dos prismas, é resultado de uma difusão lenta

do ácido nos poros intraprismáticos. Ressalta o autor que a penetração não ocorre totalmente sem desmineralização. Assim, a dissolução cariosa do esmalte é grandemente influenciada pela distribuição anatômica e largura das bainhas dos prismas.

Essa perda mineral pode gerar a formação de uma cavidade e na ausência de tratamento, esse processo progride até destruir quase totalmente a estrutura dentária<sup>37,38</sup>.

A primeira evidência de cárie é vista no esmalte dentário como uma área branco-opaca, e corresponde a desmineralização da camada superficial do esmalte<sup>5,39</sup>. A superfície do esmalte possui poros que se comunicam com os espaços existentes entre os cristais que compõem os prismas de esmalte. Nestes espaços existe o líquido que hidrata os cristais e transporta os íons da superfície para o interior do esmalte<sup>40</sup>.

Os ácidos acumulados no biofilme, infiltram nos poros e alcançam os espaços intercrystalinos, levando à desmineralização dos cristais. A continuidade da ação dos ácidos gera o aumento em volume, dos espaços intercrystalinos, no esmalte<sup>41</sup>. A redução do volume e o aumento dos poros entre os cristais da subsuperfície do esmalte, resultam na presença da mancha branca na superfície do elemento dentário<sup>39</sup>.

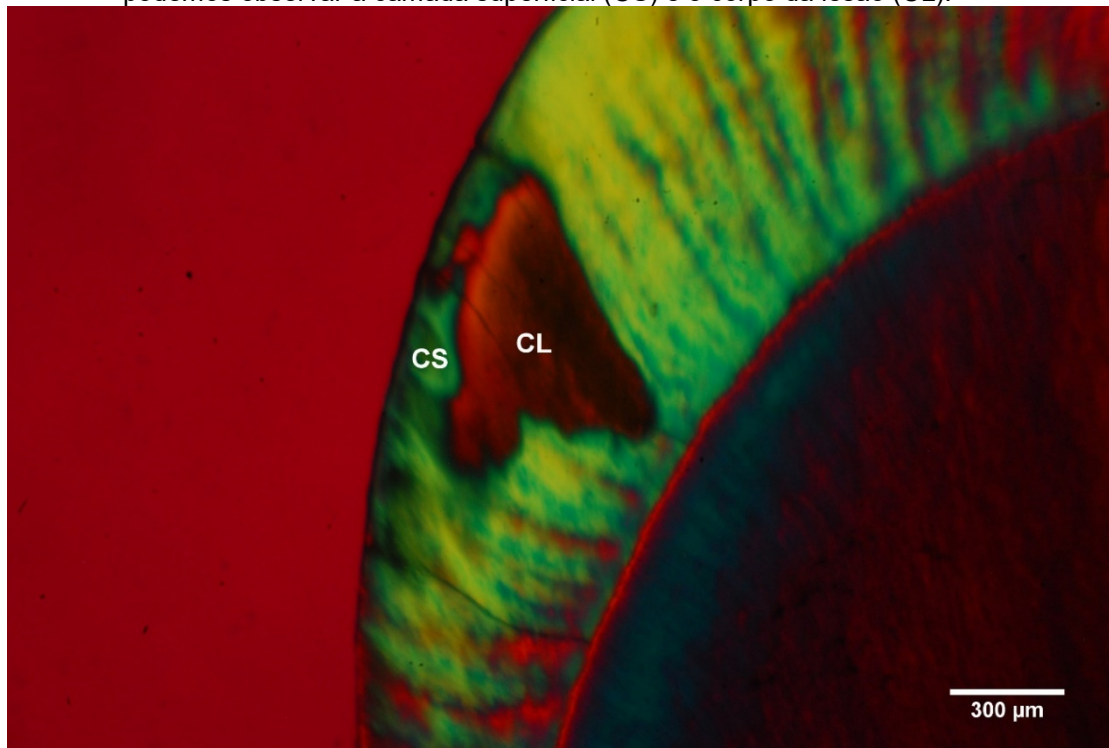
As lesões de mancha branca foram caracterizadas com quatro zonas histopatológicas (Figura 1), com base em imagens de microscopia de luz polarizada (MLP)<sup>6,7</sup>:

- Camada superficial: camada mais externa da lesão, apresentando um volume de poros menor que 5%, que persiste até a cavitação;
- Corpo da lesão: é a zona com maior perda mineral, apresentando um volume de poros de 25-50%;
- Zona escura: apresenta um volume de poros de 2-4%;
- Zona translúcida: camada mais profunda da lesão, com cerca de 1% de volume de poros.

Os diferentes volumes e tamanhos de poros influenciam na permeabilidade do esmalte, sendo a camada superficial considerada a porta de entrada de substâncias extrínsecas ao esmalte<sup>11</sup>. Os poros das lesões naturais são mais susceptíveis de serem contaminados ou mesmo ocluídos por materiais orgânicos como proteínas salivares e detritos alimentares<sup>8-10,13</sup>. Por isso, o controle desta

permeabilidade pode influenciar no transporte de agentes remineralizadores e/ou resinas infiltrantes<sup>11</sup>.

Figura 1 - Corte por desgaste de Lesão de Mancha Branca em MLP (com filtro de retardo vermelho de 540 nm) imerso em água, gentilmente cedida por Andressa Cavalcanti Pires, onde podemos observar a camada superficial (CS) e o corpo da lesão (CL).



Para a identificação da lesão de cárie, é recomendado utilizar o ICDAS, que em português significa sistema internacional de detecção e avaliação de lesões de cárie. Este sistema foi desenvolvido objetivando padronizar a detecção de lesões cariosas, podendo ser utilizado para clínica, pesquisa, ensino e epidemiologia.

O ICDAS propõe uma escala ordinal (0-6) que deve ser empregada de acordo com a característica do elemento dentário examinado, que vai da superfície hígida à cavitação extensa<sup>42</sup>.

## **2.2 Avaliação do efeito dos infiltrantes resinosos na progressão da lesão cariosa**

Pode-se chamar de resina infiltrante, o material resinoso que apresente coeficiente de penetração igual ou superior a 50 cm/s<sup>9</sup>. A eficiência do processo

de infiltração tem sido demonstrada, reduzindo a progressão da lesão, o que é constatado por estudos clínicos randomizados<sup>23,24,43-46</sup>.

Paris; Hopfenmuller; Meyer-Luckel (2010)<sup>43</sup>, com seus resultados, mostraram que o grupo submetido ao tratamento com resinas infiltrantes apresentou progressão de 7% das lesões de cárie, enquanto o grupo sem esse tratamento apresentou uma progressão de 37% das lesões.

Meyer-Lueckel; Bitter; Paris (2012)<sup>44</sup> acompanharam pacientes com lesões de mancha branca submetidas a infiltração resinosa por três anos, e perceberam que, comparados a indivíduos que não foram submetidos ao tratamento, 42% das lesões do grupo controle evoluíram, enquanto 4% das do grupo teste apresentaram evolução.

Martignon et al. (2012)<sup>45</sup>, utilizaram infiltrantes e selantes para tratar lesões de mancha branca proximais, e juntamente com um grupo não submetido a essas terapias, realizaram um acompanhamento por três anos. Concluíram que a infiltração e o uso de selantes são significativamente melhores que o tratamento com placebo para controlar a progressão da cárie em lesões proximais. Não houve diferença significativa entre o uso de selantes e a infiltração.

Paris et al. (2013)<sup>23</sup>, em estudo com resinas infiltrantes experimentais e a comercial Icon®, concluíram que a infiltração melhora significativamente a dureza e a resistência à desmineralização de lesões de esmalte, e não encontraram diferenças entre as resinas experimentais e o infiltrado comercial.

Arslan et al. (2015)<sup>24</sup> avaliaram e compararam os efeitos da infiltração de Icon® e de vários tipos de selantes sobre as propriedades mecânicas da superfície do esmalte submetidos a desmineralização in vitro. Os resultados mostraram que a aplicação do Icon® produziu significativamente menor valor de rugosidade superficial e maior microdureza do que os outros grupos testados, evidenciando que a infiltração de resina em lesões de esmalte poderia dificultar a progressão de lesões cariosas.

Mais recentemente, Neres et al. (2017)<sup>46</sup> relataram que a infiltração não protegeu a lesão cariosa de esmalte de sofrer progressão quando exposta a desafio cariogênico. Isto é consistente com os indícios de que os poros não são totalmente preenchidos por infiltrante<sup>8,10,47</sup>.

A técnica em questão apresenta-se ainda, como alternativa estética à microabrasão e ao tratamento restaurador, sem alterar substancialmente a

estrutura dentária. Manchas brancas em dentes esteticamente comprometidos, além de obterem a diminuição da progressão da lesão, quando infiltrados, perdem a aparência esbranquiçada e assemelhando-se ao esmalte sadio<sup>48</sup>.

Em estudo acerca da durabilidade da melhora estética de lesões de mancha branca submetidas a infiltração resinosa, foi visto que houve melhora significativa da aparência estética dos dentes desmineralizados. Com o acompanhamento feito por 6 meses, foi possível verificar que esse ganho se manteve durante esse tempo<sup>49</sup>.

### **2.2.1 Composições das resinas infiltrantes**

A composição dos infiltrantes influencia diretamente em suas propriedades<sup>14</sup>. A adição de solventes e monômeros hidrofóbicos podem alterar o grau de conversão, a dureza da superfície e o módulo de elasticidade. A adição dos monômeros hidrófobos leva ao aumento dessas propriedades, enquanto a adição de solventes causa uma diminuição das mesmas<sup>15</sup>.

Os materiais à base de TEGDMA mostram características apropriadas para um material infiltrante, incluindo baixa viscosidade e alto grau de conversão<sup>17</sup>. Combinações a base de TEGDMA são hidrofílicas<sup>16</sup>, e talvez devido a essa propriedade, possam penetrar melhor nos poros do esmalte, o que é ocasionado pela presença da água firmemente aderida já existente nos mesmos<sup>8</sup>.

No entanto, essa característica, pode levar o material a sofrer degradação em um ambiente oral, reduzindo o desempenho clínico<sup>17</sup>. A adição de UDMA ou BisEMA, que são considerados monômeros hidrofóbicos e com viscosidade mais baixa do que o TEGDMA, podem melhorar o desempenho clínico<sup>16,18</sup>.

Meyer-Lueckel; Paris (2010)<sup>50</sup> realizaram pesquisa com o objetivo de investigar a influência do coeficiente de penetração e da adição de etanol, na penetração de infiltrantes experimentais em lesões naturais de cárie de esmalte, in vitro. Foi possível concluir que materiais com alto coeficiente de penetração, consistindo principalmente em TEGDMA foram capazes de penetrar profundamente no corpo das lesões.

Inagaki et al. (2016)<sup>51</sup>, em estudo sobre propriedades como sorção/solubilidade, resistência à flexão e módulo de elasticidade, perceberam que misturas de TEGDMA/BisEMA e a resinalcon® mostraram a menor

dentre as misturas analisadas, que consistiam em combinações de TEGDMA, UDMA, BisEMA e Clorexidina. A resina Icon® foi o material mais solúvel. Para o módulo de elasticidade, todas as misturas eram diferentes da Icon®. Para a resistência à flexão, as misturas com TEGDMA foram semelhantes a Icon®, mostrando as médias mais baixas.

Em estudo com o objetivo de avaliar zona de inibição microbiana, grau de conversão e dureza de infiltrados experimentais, cuja composição poderia conter clorexidina, Inagaki et al. (2016)<sup>52</sup> concluíram que, quanto a microdureza, as misturas baseadas em TEGDMA/UDMA mostraram os valores mais elevados, o que foi influenciado pela base monomérica, independentemente da concentração de clorexidina. O grau de conversão não foi afetado pela composição da mistura, nem pela concentração de clorexidina.

Andrade Neto et al. (2016)<sup>25</sup> realizaram um trabalho no qual foi feita a incorporação de nanopartículas de hidroxiapatita em resina infiltrante. Concluíram que a incorporação de nanopartículas de hidroxiapatita mais cristalinas nesses materiais, levou a melhora do grau de conversão e conseguiu melhor resistência do esmalte infiltrado à desmineralização. O que pode ser um método viável para potencializar o desempenho geral na prevenção de desmineralização recorrente em esmalte submetido a infiltração, além do subjacente e circundante.

### **2.2.2 Infiltração de lesão cariosa de esmalte**

A infiltração de lesão cariosa se mostra como uma alternativa para o controle da progressão das lesões de cárie em esmalte. O infiltrante penetra por capilaridade no esmalte cariado desidratado, substituindo o ar no interior dos poros da lesão cariosa, contribuindo para reduzir a penetração de ácidos vindos do biofilme cariogênico. Assim, o processo de desmineralização pode ser interrompido, mesmo na presença de ácidos<sup>53</sup>.

Os dados quantitativos de volume de poros preenchido por infiltrante são conflitantes. Robinson et al (1976; 2001)<sup>54,55</sup> relataram que aproximadamente 100% do volume de poros é preenchido por infiltrante, porém a metodologia usada por eles ignorou os volumes orgânico e de água firmemente aderida dos poros, o que resulta numa superestimação do volume preenchido por

infiltrante<sup>8,47</sup>. Dados recentes em esmalte fluorótico indicam que apenas uma pequena fração do volume dos poros é preenchida por infiltrante<sup>8</sup>.

Dentre as características importantes para esse material, podem ser citadas: baixa viscosidade, baixa tensão superficial e menor ângulo de contato com a superfície do esmalte<sup>9</sup>.

Meira et al. (2015)<sup>47</sup> mostraram que após 24 h de infiltração de solução com alto coeficiente de penetração (> 2000 cm/s), o esmalte cariado ainda continha ar nos seus poros, juntamente com outros volumes: volume de solução infiltrante, volume de água fortemente aderida e volume orgânico. Considerando que o infiltrante comercial atual tem coeficiente de penetração muito mais baixo (147 cm/s) e seu tempo de aplicação é muito menor (4 minutos)<sup>23</sup>. É provável que o infiltrante seja rodeado por água que, por sua vez, pode alterar os padrões de conversão dos monômeros em polímeros e com o passar do tempo, alterar as propriedades do infiltrante. Além do ambiente no interior dos poros, o infiltrante também vai estar exposto à água contida na saliva. Assim, tanto a água dos poros como a água em contato com a superfície externa do esmalte podem afetar a degradação do infiltrante.

O objetivo de qualquer infiltração de resina deve ser a oclusão, tanto quanto possível, dos poros das lesões da cárie. No entanto, estudos mostram que há uma maior dificuldade em eliminar o ar, no interior dos poros das zonas histológicas mais profundas, dificultando a infiltração. Além disso, os poros das lesões naturais são mais susceptíveis de serem contaminados ou mesmo ocluídos por materiais orgânicos como proteínas salivares e detritos alimentares<sup>8-10</sup>.

Após a infiltração de resina, o volume dos poros mostra-se preenchido por uma combinação de matéria orgânica, água fortemente aderida, ar e resina<sup>8</sup>. Sousa et al. (2017)<sup>8</sup> quantificaram volumes de constituintes dentro dos poros do esmalte após infiltração resinosa. Concluíram em seu estudo, que o volume de água fracamente aderida antes da infiltração foi de 15,17%. Após infiltração, havia apenas 10,13% de volume de resina no interior dos poros; e um volume de ar existente aproximado de 5%, concluindo que não há garantia que a resina substitua totalmente a água fracamente aderida nas lesões de mancha branca, devido a competição com o ar.

Tendo em vista que as resinas infiltrantes são uma realidade da clínica odontológica, torna-se interessante o aprimoramento de suas propriedades. Com isso, o presente estudo pretende analisaramicrodureza de esmalte cariado infiltrado com diferentes combinações monoméricas.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Geral**

- Avaliar a microdureza em espécimes bovinos com lesão de cárie artificial de esmalte, submetidos a infiltração resinosa com diferentes composições, antes e após degradação hidrolítica.

#### **3.2 Específicos**

- Quantificar a microdureza de diferentes zonas histológicas de lesões cariosas artificiais de esmalte, logo após a aplicação de infiltrantes com composições monoméricas distintas;
- Quantificar a microdureza de diferentes zonas histológicas de lesões cariosas artificiais de esmalte, infiltradas com infiltrantes resinosos com composições diferentes e submetidas a degradação em água destilada por 21 dias;
- Quantificar a variação entre a microdureza inicial e após a degradação em água destilada, do esmalte bovino infiltrado;

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

Este é um estudo quantitativo, experimental, analítico, laboratorial, transversal, com técnica de observação direta no qual foram usadas amostras de esmalte dental bovino.

### 4.1 Universo e amostra

Foram utilizados 104 (cento e quatro) incisivos bovinos divididos em 4 grupos de 26. Estes dentes foram oriundos de animais destinados ao abate. Para limpeza e desinfecção dos elementos dentários, foi realizada a remoção dos remanescentes de tecido mole com auxílio de uma cureta periodontal (Trinity, Brasil) e escovação utilizando uma pasta composta por pedra pomes (SS White, Rio de Janeiro, Brasil) e água em escova de Robinson (Microdont, São Paulo, Brasil) montada em micromotor de baixa rotação e contra-ângulo (Gnatus SL30, Brasil). Em seguida, foram imersos e armazenados em solução aquosa de azida sódica 0,02% até sua utilização.

#### 4.1.2 Cálculo amostral

No presente estudo, foram utilizados 4 grupos de infiltrantes: 1 – controle comercial (Icon®) composto por Trietilenoglicoldimetacrilato (TEGDMA); 2 – (TEGDMA), Uretano dimetacrilato (UDMA), 2-Hidroxietil Metacrilato (HEMA); 3 – TEGDMA, HEMA; 4 – TEGDMA, bisfenol-A-glicildi-metacrilatoetoxilado (BisEMA) (Tabela 1). Para chegarmos ao número de blocos da amostra, foi realizado o cálculo amostral para uma hipótese de diferença dos dois grupos não pareados mais díspares, o que é advogado para o caso de hipótese de diferença com mais de dois grupos<sup>56</sup>. Utilizando uma magnitude de efeito alta (0,8), erro tipo I 5% bicaudal e poder de 80%, chegamos ao n de 26 por grupo, totalizando um N de 104.

Tabela 1 - Infiltrantes utilizados e suas composições

Infiltrante	Composição
1	Icon® (TEGDMA)
2	TEGDMA (60%), UDMA (20%) e HEMA (20%)
3	TEGDMA (80%) e HEMA (20%)
4	TEGDMA (75%) e BisEMA (25%)

## **4.2 Locais de realização do estudo**

As resinas foram confeccionadas no laboratório da Unian (Universidade Anhanguera), pela Professora doutora Roberta C B Alonso.

As etapas do presente estudo foram desenvolvidas no Laboratório de Microbiologia Oral, no Núcleo de Medicina Tropical, e no Laboratório de Microscopia e Imagem Biológica (LAMIB), ambos no Centro de Ciências da Saúde. Além do Laboratório de Solidificação Rápida (LSR) no Centro de Tecnologia. Todos na Universidade Federal da Paraíba.

## **4.3 Indução de cárie por método biológico**

### **4.3.1 Preparação das amostras para a indução de cárie**

Para indução de cárie por método biológico, cada elemento dental teve sua raiz removida utilizando-se um disco diamantado dupla face (KG Sorensen, São Paulo, Brasil), montado em mandril para peça de mão em baixa rotação sob refrigeração (Dabi Atlante, Ribeirão Preto, Brasil) (Figura 2).

Figura 2 - Remoção da raiz do dente com disco diamantado



Em seguida, com o auxílio de uma régua e lápis grafite, foram feitas marcações na face vestibular das coroas dentárias para que fosse possível obter blocos de esmalte 5x5mm, com o mesmo disco diamantado dupla face (KG Sorensen, São Paulo, Brasil), montado em mandril para peça de mão em baixa rotação sob refrigeração (Dabi Atlante, Ribeirão Preto, Brasil) (Figura 3).

Figura 3 - Bloco de esmalte bovino hígido com 5x5mm



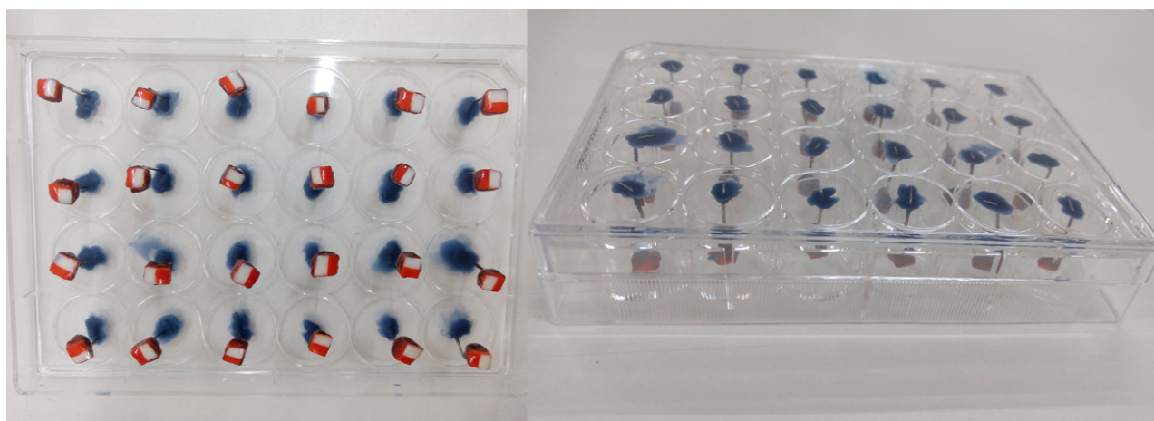
Lixas d'água de granulação 320 foram utilizadas para planificar a dentina dos blocos e em seguida, lixas d'água de granulação decrescente (600, 1200, 2500 e 4000) foram utilizadas para obtenção de superfície lisa e plana do esmalte. Os mesmos foram lavados em ultrassom (BioWash – BioArt, São Carlos, Brasil), para remoção de detritos, por 480 segundos, após a utilização de cada uma das lixas. O polimento superficial foi realizado utilizando-se pasta polidora de alumina com partículas 3  $\mu\text{m}$  (ExtecCorp, Einfield, EUA) e disco de feltro, e novamente os mesmos foram lavados em ultrassom.

Uma única camada de verniz para unhas na cor vermelha (Colorama, Brasil) foi aplicada em metade da face vestibular do espécime, para que a indução de cárie só acontecesse na outra metade, e fosse possível utilizar essa região como controle.

#### **4.3.2 Aparato para indução da cárie**

Foram confeccionados dispositivos com fio ortodôntico de metal CrNi 0,7mm (Morelli Ortodontia, Brasil), para deixar os espécimes suspensos nas placas de 24 poços utilizadas. Para fixar o dispositivo na placa, utilizou-se cera para escultura, que auxiliou na fixação do dispositivo na tampa da placa, e também na fixação do espécime ao dispositivo. As placas foram esterilizadas em óxido de etileno (Figura 4).

Figura 4 - Aparato para indução biológica de cárie



#### 4.3.3 Protocolo para desenvolvimento da cárie

Inicialmente, foi realizado um esfregaço da cepa UA 159 do *Streptococcus mutans* numa placa de petri com meio MSA, que foi colocada em microaerofilia por 24 horas.

Em seguida, colônias de bactérias foram coletadas com alça e colocadas em meio BHI (Brain Heart Infusion – BD Difco Laboratories), em um tubo falcon, retornando para a microaerofilia por 24 horas, juntamente com um meio sem micro-organismo para controle de esterilização e crescimento.

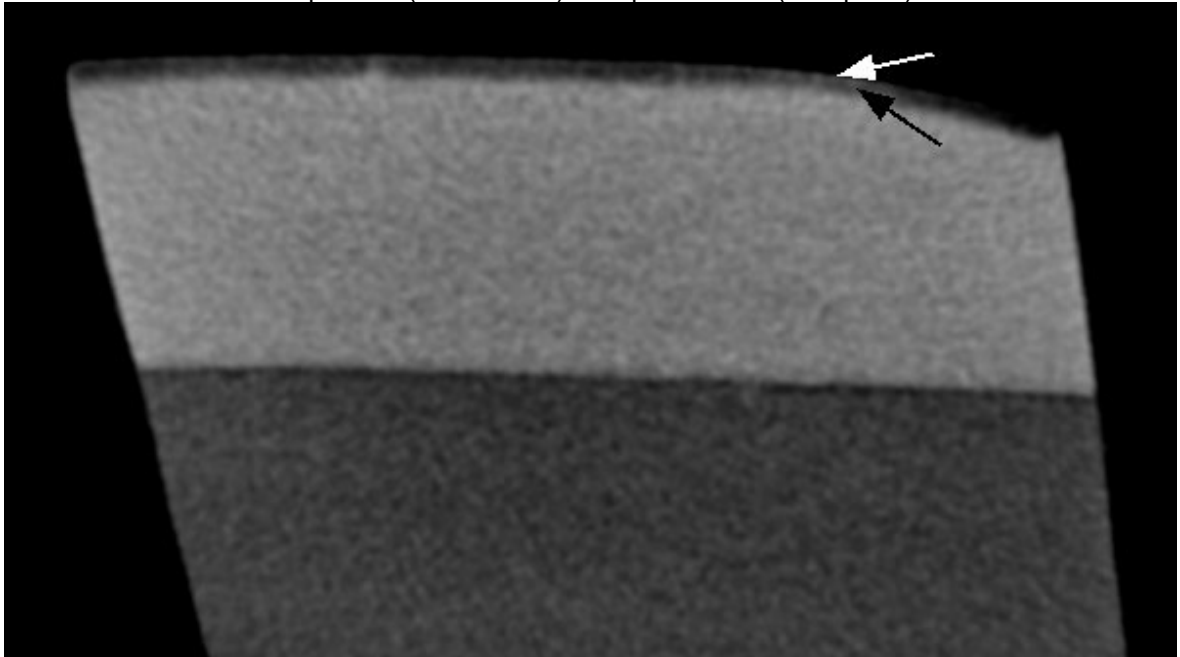
Sequencialmente, a sacarose em concentração inicial de 20% foi diluída em BHI esterilizado, para obtenção da concentração de 1% no meio. Com o objetivo da obtenção de 1 ml da solução em cada poço, foi utilizada a seguinte equação para a determinação do volume de sacarose a ser utilizado:

$$C1 \times V1 = C2 \times V2 \text{ (Equação 1).}$$

Leituras de absorvância foram realizadas no comprimento de onda de 550 nanômetros (A550nm). Previamente à leitura, o aparelho foi zerado (Blank) com o valor do BHI puro. O valor obtido do BHI com inóculo crescido após as 24 horas foi o C1 da Eq. (1). A concentração bacteriana starter (C2) teve um valor fixo de A550=0,05. Dessa forma, foi identificado quanto dessa solução (V1) deveria ser adicionada ao BHI + sacarose, previamente preparado, despejando o excesso do meio antes da adição, para que fosse possível obter o volume final (V2) necessário para preencher todos os poços.

1ml da solução final foi colocado em cada poço, colocados em microaerofilia e após 48 horas, os espécimes foram retirados da placa e lavados com solução salina, obtendo-se a lesão inicial de cárie em esmalte (ICDAS 1) como resultado.

Figura 5 - Imagem de lesão cariosa (em microCT) induzida pelo método biológico utilizado. Camada superficial (seta branca) e corpo da lesão (seta preta)



#### **4.4 Avaliação das lesões de cárie em radiomicrografia**

Todos os espécimes foram avaliados em radiomicrografia digital (PCBA Inspector, General Electric, Alemanha), usando 47V e 93microA para que fosse confirmada a presença da lesão cariosa.

#### **4.5 Infiltração das resinas no esmalte cariado**

As lesões de cárie foram condicionadas com gel de ácido fosfórico 37% (Vigodent, Rio de Janeiro, Brasil) por 60 segundos<sup>57</sup>.

Em seguida, foram lavadas com jato de água e secas com jato de ar por 15 segundos. Os infiltrantes foram aplicados uma única vez com o auxílio de microbrush e deixados por 60 segundos para penetrar na lesão. Em seguida foram submetidas a fotopolimerização por 60 segundos com o Free Light 2 (3M Espe, St Paul, MN, USA), com intensidade de luz de 1000 mW/cm<sup>2</sup>. Foram usados os seguintes infiltrantes: Icon®; infiltrante com TEGDMA (60%), UDMA (20%) e HEMA (20%); infiltrante com TEGDMA (80%) e HEMA (20%); e infiltrante com TEGDMA(75%) e BisEMA(25%)<sup>15</sup>.

#### **4.6 Microdureza**

##### **4.6.1 Preparo das amostras para o ensaio demicrodureza**

Os blocos de esmalte infiltrados foram seccionados ao meio perpendicular ao esmalte de unha, no sentido esmalte/dentina, utilizando-se um disco diamantado dupla face (KG Sorensen, São Paulo, Brasil), montado em mandril para peça de mão em baixa rotação sob refrigeração (Dabi Atlante, Ribeirão Preto, Brasil), preservando-se áreas híidas e infiltradas.

A superfície transversal foi polida em lixas d'água de granulação decrescente (1200, 2500, 4000) utilizadas na região seccionada. Os mesmos foram lavados em ultrassom (BioWash – BioArt, São Carlos, Brasil), para remoção de detritos, por 480 segundos, após a utilização de cada lixa. O polimento foi complementado utilizando-se pasta polidora (ExtecCorp, Einfield, EUA) e novamente os mesmos foram lavados em ultrassom.

#### **4.6.2 Determinação da microdureza dos espécimes**

A análise foi realizada utilizando-se um microdurômetro com ponta indentadora do tipo Vickers(HMV II; Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan), aplicando-se uma carga de 200g pelo período de 10s<sup>58</sup>, por um único examinador calibrado. Análises foram feitas em diferentes distâncias da superfície (30 µm, na camada superficial; e 90µm, no fundo do corpo da lesão), sendo obtida uma média do Valor de Dureza Vickers (VHN) de três indentações em cada uma das distâncias supracitadas.

Figura 6 - Microdurômetro



Foram realizadas análises de microdureza logo após a infiltração das resinas, e após o período de 21 dias de degradação das amostras, por imersão em água destilada, deixadas em temperatura ambiente. Estas indentações foram feitas paralelas as realizadas inicialmente, livrando a nova indentação das bordas da anterior.

Através de teste piloto realizado previamente, foi constatado que esse período de tempo seria adequado para o presente estudo. A variação de microdureza (desfecho) foi calculada por:

$$[(MH_{\text{final}} - Mh_{\text{inicial}})/MH_{\text{inicial}}] \times 100 \text{ (Equação 2)}$$

Considerando os dois fatores (composição do infiltrante e zona histológica da lesão), os grupos (n = 26) foram distribuídos conforme descrito na Tabela 2.

Tabela 2 - Divisão dos grupos de acordo com a composição do esmalte e com a profundidade da indentação

Grupo 1 (IC <sub>30</sub> )	Icon® na camada superficial (a 30 µm da superfície do esmalte)
Grupo 2 (TUH <sub>30</sub> )	TEGDMA, UDMA, HEMA na camada superficial
Grupo 3 (TH <sub>30</sub> )	TEGDMA, HEMA na camada superficial
Grupo 4 (TB <sub>30</sub> )	TEGDMA, BisEMA na camada superficial
Grupo 5 (IC <sub>90</sub> )	Icon® no fundo do corpo da lesão (a 90 µm da superfície do esmalte)
Grupo 6 (TUH <sub>90</sub> )	TEGDMA, UDMA, HEMA no fundo do corpo da lesão
Grupo 7 (TH <sub>90</sub> )	TEGDMA, HEMA no fundo do corpo da lesão
Grupo 8 (TB <sub>90</sub> )	TEGDMA, BisEMA no fundo do corpo da lesão

#### 4.7 Microscopia de fluorescência

Na etapa seguinte, cada amostra foi fotografada (Nikon D7000, Tóquio, Japão) através da técnica de microscopia de fluorescência, utilizando um sistema de epi-iluminação acoplado ao tubo de uma das oculares de um microscópio óptico (Axioskop 40, Carl Zeiss, Jena, Alemanha). O sistema (Through-eye tube epi-fluorescence illuminator, Mightex, Boston, EUA) foi composto de filtro de excitação

de 470 nm, filtro de emissão de 510 nm. Para cada amostra, foram obtidas fotomicrografias com uso das objetivas de 4x e 10x, para que o campo de visão abrangesse boa parte do esmalte, e pudesse ser feita a análise da homogeneidade de infiltração das diferentes misturas.

#### **4.8 Análise dos dados**

Os dados foram analisados com um teste ANOVA de dois fatores de modelo misto (com nível de significância de 5% bicaudal). O modelo misto se aplica para este caso porque os níveis do fator infiltrante eram independentes, enquanto que os níveis do fator camada histológica eram relacionados (cada amostra tinha as duas camadas)<sup>59</sup>.

Para a realização da análise estatística, foram criados 8 grupos (Tabela 2).

O teste ANOVA de dois fatores e modelo misto testou as seguintes hipóteses:

- 1) Hipótese 1 (fator 1): composição do infiltrante afeta o desfecho
- 2) Hipótese 2 (fator 2): distância da superfície afeta o desfecho
- 3) Hipótese 3 (de interação): distância da superfície do esmalte e a composição do infiltrante afetam o desfecho

A normalidade dos dados e a homogeneidade das variâncias foram testadas. Os dois testes foram aplicados separadamente para os níveis dos fatores (analisado pela ANOVA) e pelos grupos (analisados pelo teste T). Para o teste de normalidade, foram considerados normais os dados que apresentassem variações de até  $\pm 2$  na assimetria e na curtose<sup>60</sup>. Considerando os valores centrais para assimetria (zero) e curtose (três), foram considerados normais valores com assimetria entre -2 e 2 e valores de curtose entre 1 e 5.

Para testar homogeneidade das variâncias, as variâncias dos níveis dos fatores e dos grupos do teste post hoc entre pares de grupos foram consideradas homogêneas, caso a razão entre a maior variância e a menor variância não ultrapassasse 3<sup>61</sup>. Os critérios de normalidade e homogeneidade são considerados mais adequados do que testes de hipótese de diferença (Shapiro-Wilk e Levene) devido ao fato de que, nos testes de hipótese de diferença, grandes diferenças são toleradas em amostras pequenas e pequenas diferenças não são toleradas em amostras grandes ( $> 100$ )<sup>60</sup>.

No pós-teste, foi usado o teste T não pareado para variâncias homogêneas e não homogêneas (nível de significância de 5% bicaudal) para comparação entre

pares de grupos. O teste t pareado foi aplicado para comparar grupos relacionados (dados de duas camadas das mesmas amostras). Não foi feita correção para o erro tipo I devido todas as análises terem sido planejadas no projeto<sup>62</sup>. Foram analisados significância (valor de p), magnitude de efeito g de Hedge, seu intervalo de confiança de 95% e o poder estatístico.

## **5. RESULTADOS**

O modelo microbiológico de lesão cariosa resultou na formação de lesões com escore ICDAS 1 distinta radiolucidez em todas as amostras (Figura 7). A aplicação dos infiltrantes em todo o corpo da lesão foi confirmada em todas as amostras pela microscopia de fluorescência (Figura 8).

Figura 7 - Aspecto típico de lesão cariosa artificial de esmalte em radiomicrografia digital

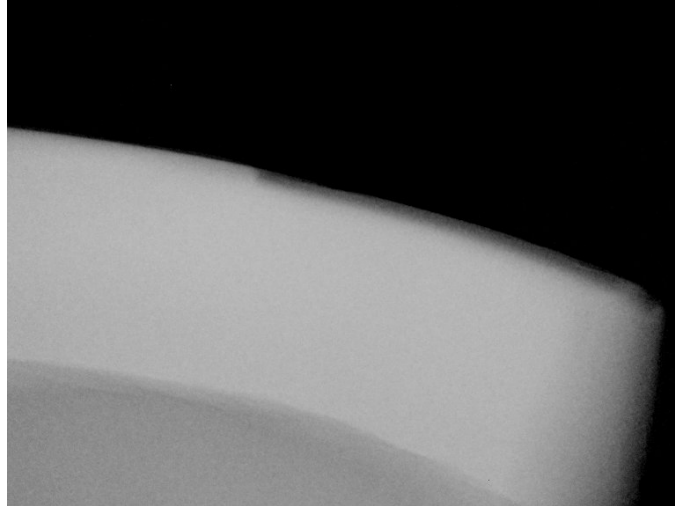
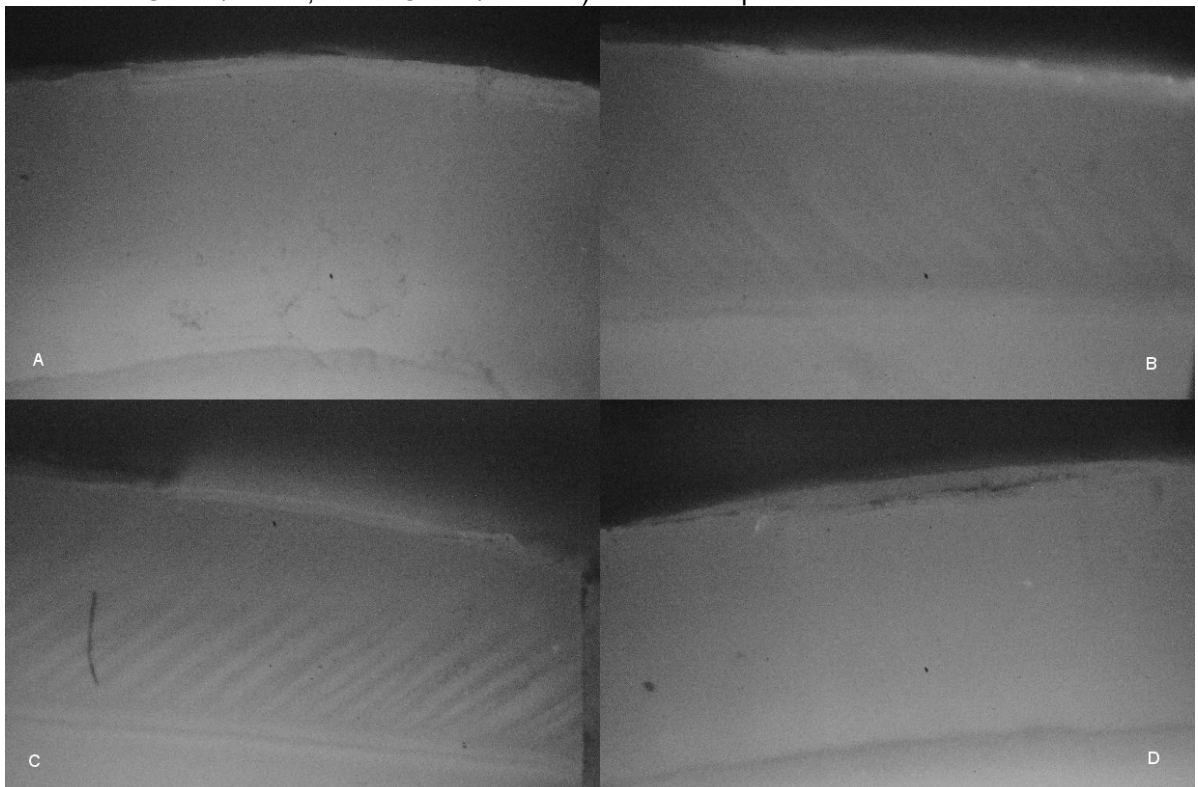


Figura 8 - Aspectos de lesões de cárie infiltradas (A - Icon®; B - TEGDMA/UDMA/HEMA; C - TEGDMA/HEMA; D - TEGDMA/BisEMA) ao microscópio de fluorescência



Dados descritivos (média e desvio padrão) do desfecho estão ilustrados na Tabela 3. Todos os grupos exceto TB<sub>30</sub> e TB<sub>90</sub> apresentaram cerca de 25% de

perda de microdureza, enquanto que estes grupos citados, apresentaram menos de 10% de perda de microdureza.

Tabela 3 - Média e Desvio Padrão da variável dependente (variação na microdureza) para cada grupo

Grupos	IC <sub>30</sub>	TUH <sub>30</sub>	TH <sub>30</sub>	TB <sub>30</sub>	IC <sub>90</sub>	TUH <sub>90</sub>	TH <sub>90</sub>	TB <sub>90</sub>
Média	-24,8%	-24,9%	-24,2%	-4,3%	-27,3%	-26,9%	-27,8%	-9,0%
Desvio padrão	19,1%	17,5%	16,8%	23,7%	17,5%	13,7%	14,4%	18,7%

As premissas da ANOVA de dois fatores foram satisfeitas. Os resultados da ANOVA de dois fatores e modelo misto estão descritos na Tabela 4. As hipóteses nulas 2 (distância da superfície) e 3 (interação) não foram rejeitadas. A hipótese nula 1 foi rejeitada ( $p < 0,00001$ ) com uma magnitude de efeito (eta ao quadrado) de 0,183, que é moderada, e poder  $> 99,9\%$ . O eta quadrado é considerado pequeno se for menor que 0,13, moderado se entre 0,13 e 0,26, e alto se igual ou maior que 0,26<sup>56</sup>.

Tabela 4 - Resultados teste ANOVA de dois fatores e modelo misto.

Fator	SQ	GL	Quadrados médios	F	P	$\eta^2$	Poder
Composição do infiltrante	14531,349	3	4843,783	15,063	$7,07 \times 10^{-9}$	0,183	0,999
Distância da superfície	525,365	1	525,365	1,634	0,203	0,007	0,209
Interação	56,325	3	18,775	0,009	0,998	0,0007	0,06

Os resultados da análise post hoc, entre pares de grupos, estão descritos na Tabela 5. Todos os pares de grupos tiveram variâncias homogêneas. O infiltrante 4 (TEGDMA + BisEMA) resultou num desfecho menor (menor degradação da microdureza após imersão em água) que os demais infiltrantes, com uma grande magnitude de efeito (g de Hedge de 0,83 a 1,19) e alto poder (de 84% a 99%) (Tabela 5).

A magnitude g de Hedge varia entre pequena (menor que 0,5), média (0,5 a menor que 0,8) e alta (igual ou superior a 0,8)<sup>56</sup>. Para as comparações que não envolvem o infiltrante 4, a magnitude de efeito foi bem pequena (de 0,01 a 0,22)(Tabela 5). Mesmo que outros estudos com tamanho amostral suficiente para detectar essas magnitudes de efeito sejam feitos, a significância prática das diferenças deverá ser pequena.

Tabela 5 - Resultados da análise post-hoc entre pares de grupos. Grupos com H0 rejeitada estão em vermelho

	<b>P value</b>	<b>G hedge</b>	<b>IC 95% sup</b>	<b>IC 95% inf</b>	<b>Power</b>
IC <sub>30</sub> x TUH <sub>30</sub>	0,489	-0,008	0,549	0,565	0,0234
IC <sub>30</sub> x TH <sub>30</sub>	0,464	0,032	0,589	-0,525	0,0324
<b>IC<sub>30</sub> x TB<sub>30</sub></b>	<b>0,000</b>	<b>0,945</b>	<b>1,535</b>	<b>0,360</b>	<b>0,917</b>
IC <sub>30</sub> x IC <sub>90</sub>	0,313	-0,136	0,421	-0,694	0,007
IC <sub>30</sub> x TUH <sub>90</sub>	0,373	-0,127	0,431	-0,684	0,008
IC <sub>30</sub> x TH <sub>90</sub>	0,264	-0,177	0,381	-0,735	0,005
<b>IC<sub>30</sub> x TB<sub>90</sub></b>	<b>0,002</b>	<b>0,834</b>	<b>1,415</b>	<b>0,253</b>	<b>0,837</b>
TUH <sub>30</sub> x TH <sub>30</sub>	0,454	0,0419	0,599	-0,515	0,0349
<b>TUH<sub>30</sub> x TB<sub>30</sub></b>	<b>0,0004</b>	<b>0,985</b>	<b>1,575</b>	<b>0,395</b>	<b>0,935</b>
TUH <sub>30</sub> x IC <sub>90</sub>	0,316	-0,134	0,423	-0,692	0,007
TUH <sub>30</sub> x TUH <sub>90</sub>	0,377	-0,125	0,433	-0,682	0,008
TUH <sub>30</sub> x TH <sub>90</sub>	0,264	-0,178	0,380	-0,736	0,005
<b>TUH<sub>30</sub> x G8</b>	<b>0,001</b>	<b>0,878</b>	<b>1,461</b>	<b>0,294</b>	<b>0,872</b>
<b>TH<sub>30</sub>x TB<sub>30</sub></b>	<b>0,0005</b>	<b>0,964</b>	<b>1,553</b>	<b>0,376</b>	<b>0,926</b>
TH <sub>30</sub> x IC <sub>90</sub>	0,262	-0,179	0,379	-0,737	0,005
TH <sub>30</sub> x TUH <sub>90</sub>	0,333	-0,175	0,383	-0,733	0,005
TH <sub>30</sub> x TH <sub>90</sub>	0,210	-0,228	0,330	-0,787	0,003
<b>TH<sub>30</sub> x TB<sub>90</sub></b>	<b>0,002</b>	<b>0,853</b>	<b>1,436</b>	<b>0,272</b>	<b>0,854</b>

$TB_{30}$ $\times$ $IC_{90}$	0,0001	1,098	1,696	0,509	0,972
$TB_{30}$ $\times$ $TUH_{90}$	0,0002	1,163	1,769	0,556	0,992
$TB_{30}$ $\times$ $TH_{90}$	0,0002	1,193	1,801	0,585	0,993
$TB_{30}$ $\times$ $TB_{90}$	0,217	0,218	0,777	-0,340	0,117
$IC_{90}$ $\times$ $TUH_{90}$	0,464	-0,025	0,532	-0,582	0,020
$IC_{90}$ $\times$ $TH_{90}$	0,456	-0,031	0,526	-0,588	0,0192
$IC_{90}$ $\times$ $TB_{90}$	0,0003	1,008	1,599	0,417	0,945
$TUH_{90}$ $\times$ $TH_{90}$	0,441	0,063	0,621	-0,494	0,041
$TUH_{90}$ $\times$ $TB_{90}$	0,002	1,092	1,689	0,495	0,971
$TH_{90}$ $\times$ $TB_{90}$	0,0001	1,125	1,724	0,525	0,978

## 6. DISCUSSÃO

O presente estudo fornece evidências que sugerem que a permeabilidade do esmalte cariado infiltrado (na camada superficial e no corpo da lesão) aumenta com o tempo, pois a diminuição da microdureza sugere uma degradação dos infiltrantes nos poros do esmalte. A exposição à água realizada neste estudo se assemelha mais àquela a que a camada superficial pode estar exposta quando a camada de infiltrante polimerizado remanescente na superfície da lesão cariada de esmalte é removida por ação das forças mecânicas na cavidade oral.

Atualmente, a resina infiltrante se mostra como uma alternativa para o controle da progressão das lesões de cárie em esmalte, pois objetiva diminuir a progressão do processo de desmineralização<sup>53</sup>.

A água, adjacente a volumes de ar e matéria orgânica, existentes na lesão de mancha branca, após a desidratação clínica que precede o procedimento de infiltração<sup>8</sup>, pode facilitar que infiltrantes com componentes hidrofílicos, como TEGDMA e HEMA, utilizados nesse estudo, penetrem mais facilmente nos poros da lesão. Simultaneamente, essa característica pode favorecer a degradação do material em meio aquoso.

É sabido que a composição dos infiltrantes influencia diretamente em suas propriedades<sup>14</sup>. No presente estudo, foi visto que houve uma menor variação negativa nos valores de microdureza quando se tratava do infiltrante 4 (TEGDMA; BisEMA), no qual um dos componentes, o BisEMA, além de ter uma menor taxa de degradação que os demais utilizados no presente estudo<sup>19</sup>, tem uma característica hidrofóbica<sup>16,18</sup>, o que reforça a ideia de que componentes hidrofílicos.

As lesões de cárie foram condicionadas com gel de ácido fosfórico 37% (Vigodent, Rio de Janeiro, Brasil) por 60 segundos, pois devido as lesões artificiais no esmalte bovino possuírem camada superficial relativamente fina em comparação com a cárie natural, o ácido fosfórico mostrou ser mais adequado para o condicionamento ácido antes da infiltração de resina do que o ácido clorídrico clinicamente utilizado<sup>57</sup>.

Paris et al. (2013)<sup>23</sup> utilizaram resinas com composições de TEGDMA/BisGMA, sendo o BisGMA um componente que também apresenta característica hidrofóbica, e etanol, submeteram os espécimes ao tratamento desmineralizador e não encontraram diferenças nos valores de dureza entre os grupos. Enquanto Inagaki et al. (2016)<sup>52</sup> concluíram em estudo no qual não houve degradação, que

quanto a microdureza, as misturas baseadas em TEGDMA/UDMA mostraram os valores mais elevados. O que foi confirmado por Araújo et al.(2013)<sup>15</sup>, estudo no qual a adição de UDMA em misturas com TEGDMA, provocou o aumento da dureza, módulo de elasticidade e grau de conversão. Nenhum desses estudos rea

Segundo Sousa et al. (2017)<sup>8</sup>, após a infiltração de resina, o volume dos poros mostra-se preenchido por uma combinação de matéria orgânica, água fortemente aderida, ar e resina. A degradação promovida pela combinação das águas fortemente aderida (no interior dos poros) e a água em contato com a superfície do esmalte pode influenciar clinicamente<sup>26,27</sup>edirecionando para este trabalho,pode gerar um aumento do volume de poros não preenchidos por infiltrante, diminuindo a proteção à progressão da lesão cariiosa e o efeito estético do infiltrante.

Foram realizadas medidas de dureza em diferentes profundidades da lesão, pois tem sido relatado que a parte mais profunda do corpo da lesão apresenta menor penetração do infiltrante <sup>10</sup>. O volume e tamanho de poros varia nas diversas zonas histológicas e sabe-se que essa variação influencia na permeabilidade do esmalte podendo interferir na profundidade da infiltração resinosa<sup>6,7,11,14</sup>. Além disso, Asmussem et al (1977)<sup>12</sup> destacaram que presença de ar aprisionado no fundo do corpo da lesão pode reduzir a penetração de resina.

Porém, a hipótese nula do fator zona histológica não foi rejeitada. O que pode ter acontecido devido à estrutura relativamente uniforme de lesões artificiais de cárie<sup>9</sup>. O presente estudo utilizou um modelo in vitro de lesões artificiais em esmalte bovino. As lesões naturais geralmente apresentam maior variabilidade nas zonas histológicas<sup>13</sup>.No entanto, devido à sua estrutura e à profundidade da lesão, o modelo in vitro parece ser mais adequado para a comparação de vários materiais em comparação com lesões naturais<sup>9</sup>.

A menor degradação verificada nas amostras com o infiltrante 4 pode ter duas explicações. Primeiro, a conhecida menor taxa de degradação do BisEMA em relação aos outros monômeros.Segundo, a característica hidrofóbica do BisEma<sup>16,18,51</sup> pode ter resultado numa maior proporção de ar ao redor do infiltrante dentro dos poros do esmalte, impedindo o contato da água com o infiltrante e, assim diminuindo a degradação. Provavelmente os dois fatores

devem ter atuado em conjunto. Estudos da ultraestrutura do poro infiltrado são necessários para desvendar essa questão.

Neste contexto, particularmente com infiltrantes com componentes hidrofóbicos, o volume de poros ocluídos por infiltrante pode não ser diretamente correlacionado com a proteção à progressão do processo carioso, pois o volume de ar (que pode ser estabilizado pelo infiltrante hidrofóbico) também pode contribuir para a redução da permeabilidade do esmalte cariado<sup>8</sup>. Isto pode ser particularmente significativo quando se compara diferentes infiltrantes com e sem monômeros hidrofóbicos. Estudos futuros deveriam investigar se infiltrantes com monômeros hidrofóbicos resultam em maior volume de ar na lesão cariosa de esmalte, se este volume de ar é estável após exposição prolongada à água, e qual a taxa de redução da permeabilidade do esmalte comparativamente com infiltrantes com monômeros hidrofílicos e com o Icon®.

Somado a evidências recentes de que o esmalte cariado infiltrado com material 1 não protege a lesão de progredir *in vitro*<sup>46</sup>, nossos dados fornecem evidência de que a proteção à progressão da lesão deve diminuir com o tempo, devido à provável degradação do infiltrante no interior da lesão cariosa de esmalte.

## **7. CONCLUSÃO**

Através dos resultados obtidos, e dentro das limitações deste estudo in vitro, constatou-se que a composição do infiltrante resinoso interfere na alteração da microdureza do esmalte infiltrado exposto à água. A microdureza do esmalte não foi influenciada pela zona histológica e sua interação com a composição do infiltrante.

## 8. REFERÊNCIAS

1. Keyes PH. The infectious and transmissible nature of experimental dental caries. Findings and implications. *Arch Oral Biol.* 1960;1(1):304-320. doi:10.1016/0003-9969(60)90091-1.
2. Sheiham A, James WPT. Diet and Dental Caries. *J Dent Res.* 2015;94(10):1341-1347. doi:10.1177/0022034515590377.
3. Gomez J. Detection and diagnosis of the early caries lesion. *BMC Oral Health.* 2015;15(Suppl 1):1-7.
4. Marcenes W, Kassebaum NJ, Bernabé E, et al. Global burden of oral conditions in 1990-2010: a systematic analysis. *J Dent Res.* 2013;92(7):592-597. doi:10.1177/0022034513490168.
5. Silverstone LM. Structure of carious enamel, including the early lesion. *Oral Sci Rev.* 1973;3:1973;3:100-160.
6. Darling A. Studies of the early lesion of enamel caries. *Br Dent J.* 1958;105:119-135.
7. Darling AI. The selective attack of caries on the dental enamel. *Ann R Coll Surg Engl.* 1961;29(July):354-369.
8. Sousa FB de, Lelis IMP, Figueiredo RCBQ, Pires AC, Gerlach RF. Quantitative study of the proportion of the pore volume of human fluorotic enamel filled by resin infiltrant. *Arch Oral Biol.* 2017. doi:10.1016/j.archoralbio.2017.06.017.
9. Paris S, Meyer-Lueckel H, Colfen H, Kielbassa AM. Resin infiltration of artificial enamel caries lesions with experimental light curing resins. *Dent Mater J.* 2007;26(4):582-588.
10. Neuhaus KW, Schlafer S, Lussi A, Nyvad B. Infiltration of natural caries lesions in relation to their activity status and acid pretreatment in vitro. *Caries Res.* 2013;47(3):203-210. doi:10.1159/000345654.
11. Meyer-Lueckel H, Paris S. Improved resin infiltration of natural caries lesions. *J Dent Res.* 2008;87(12):1112-1116.
12. Asmussen E. Penetration of restorative resins into acid etched enamel. II: Dissolution of entrapped air in restorative resin monomers. *Acta Odontol Scand.* 1977;35(4):183-189. doi:10.3109/00016357709004653.
13. Meyer-Lueckel H, Paris S, Mueller J, Colfen H, Kielbassa AM. Influence of the application time on the penetration of different dental adhesives and a

- fissure sealant into artificial subsurface lesions in bovine enamel. *Dent Mater.* 2006;22(1):22-28. doi:10.1016/j.dental.2005.03.005.
14. Paris S, Soviero VM, Chatzidakis AJ, Meyer-Lueckel H. Penetration of Experimental Infiltrants with Different Penetration Coefficients and Ethanol Addition into Natural Caries Lesions in Primary Molars. *CARIES Res.* 2012;46(2):113-117. doi:10.1159/000336961.
  15. Araújo GSA, Sfalcin RA, Araújo TGF, Alonso RCB, Puppim-Rontani RM. Evaluation of polymerization characteristics and penetration into enamel caries lesions of experimental infiltrants. *J Dent.* 2013;41(11):1014-1019. doi:10.1016/j.jdent.2013.08.019.
  16. Saxena P, Pant A, Gupta S, Pant V. Release and toxicity of dental resin composite. *Toxicol Int.* 2012;19(3):225. doi:10.4103/0971-6580.103652.
  17. Park J, Eslick J, Ye Q, Misra A, Spencer P. The influence of chemical structure on the properties in methacrylate-based dentin adhesives. *Dent Mater.* 2011;27(11):1086-1093. doi:10.1016/j.dental.2011.07.011.
  18. Kerby RE, Knobloch LA, Schricker S, Gregg B. Synthesis and evaluation of modified urethane dimethacrylate resins with reduced water sorption and solubility. *Dent Mater.* 2009;25(3):302-313. doi:10.1016/j.dental.2008.07.009.
  19. Yourtee DM, Smith RE, Russo KA, et al. The stability of methacrylate biomaterials when enzyme challenged: Kinetic and systematic evaluations. *J Biomed Mater Res.* 2001;57(4):522-531. doi:10.1002/1097-4636(20011215)57:4<522::AID-JBM1198>3.0.CO;2-9.
  20. Aydin B, Pamir T, Baltaci A, Orman MN, Turk T. Effect of storage solutions on microhardness of crown enamel and dentin. *Eur J Dent.* 2015;9(2):262-266. doi:10.4103/1305-7456.156848.
  21. Borges A, Zanatta R, Barros A, Silva L, Pucci C, Torres C. Effect of Hydrogen Peroxide Concentration on Enamel Color and Microhardness. *Oper Dent.* 2015;40(1):96-101. doi:10.2341/13-371-L.
  22. Cara ACB, Zezell DM, Ana PA, Maldonado EP, Freitas AZ. Evaluation of two quantitative analysis methods of optical coherence tomography for detection of enamel demineralization and comparison with microhardness. *Lasers Surg Med.* 2014;46(9):666-671. doi:10.1002/lsm.22292.
  23. Paris S, Schwendicke F, Seddig S, Müller W-D, Dörfer C, Meyer-Lueckel H.

- Micro-hardness and mineral loss of enamel lesions after infiltration with various resins: Influence of infiltrant composition and application frequency in vitro. *J Dent*. 2013;41(6):543-548. doi:10.1016/j.jdent.2013.03.006.
24. Arslan S, Zorba YO, Atalay MA, et al. Effect of resin infiltration on enamel surface properties and Streptococcus mutans adhesion to artificial enamel lesions. *Dent Mater J*. 2015;34(1):25-30. doi:10.4012/dmj.2014-078.
  25. Andrade Neto DM, Carvalho E V., Rodrigues EA, et al. Novel hydroxyapatite nanorods improve anti-caries efficacy of enamel infiltrants. *Dent Mater*. 2016;32(6):784-793. doi:10.1016/j.dental.2016.03.026.
  26. Abdalla AI, Feilzer AJ. Two-year water degradation of self-etching adhesives bonded to bur ground enamel. *Oper Dent*. 2009;34(6):732-740. doi:10.2341/09-020-L.
  27. Van Landuyt KL, Nawrot T, Geebelen B, et al. How much do resin-based dental materials release? A meta-analytical approach. *Dent Mater*. 2011;27(8):723-747. doi:10.1016/j.dental.2011.05.001.
  28. Fejerskov O. Changing paradigms in concepts on dental caries: Consequences for oral health care. *Caries Res*. 2004;38(3):182-191. doi:10.1159/000077753.
  29. Dibdin G. The water in human dental enamel and its diffusional exchange measured by clearance of tritiated water from enamel slabs of varying thickness. *Caries Res*. 1993;27(2):81-86.
  30. Sousa FB, Vianna SS, Santos-Magalhaes NS. A new approach for improving the birefringence analysis of dental enamel mineral content using polarizing microscopy. *J Microsc*. 2006;221(2):79-83. doi:10.1111/j.1365-2818.2006.01547.x.
  31. He LH, Swain M V. Understanding the mechanical behaviour of human enamel from its structural and compositional characteristics. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2008;1(1):18-29. doi:10.1016/j.jmbbm.2007.05.001.
  32. Kerebel B, Daculsi G, Kerebel LM. Ultrastructural studies of enamel crystallites. *J Dent Res*. 1979;58(Spec Issue B):844-851. doi:10.1177/00220345790580023701.
  33. Zahradnik RTT, Moreno ECC. Structural features of human dental enamel as revealed by isothermal water vapour sorption. *Arch Oral Biol*. 1975;20(5-6):317-325. doi:10.1016/0003-9969(75)90021-7.

34. Sakae T, Suzuki K, Kozawa Y. *Tooth Enamel Microstructure: A Short Review of Studies on Chemical and Physical Properties of Enamel Crystallites*. Rotterdam: Balkema; 1997.
35. Moreno EC, Zahradnik RT. The pore structure of human dental enamel. *Arch Oral Biol*. 1973;18(8):1063-1068. doi:10.1016/0003-9969(73)90187-8.
36. Shellis RP. A scanning electron-microscopic study of solubility variations in human enamel and dentine. *Arch Oral Biol*. 1996;41(5):473-484. doi:10.1016/0003-9969(96)00140-9.
37. Gustaffson BE, Quensel CE, Lanks LS, et al. The Vipeholm Dental Caries Study. *Acta Odontol Scand*. 1954;11:232-364.
38. Stephan RM, Miller WD, Williams JL, et al. Changes in Hydrogen-Ion Concentration on Tooth Surfaces and in Carious Lesions. *J Am Dent Assoc*. 1940;27(5):718-723. doi:10.14219/jada.archive.1940.0178.
39. Bergman G, Ove Lind P. A Quantitative Microradiographic Study of Incipient Enamel Caries. *J Dent Res*. 1966;45(5):1477-1484. doi:10.1177/00220345660450053701.
40. Esberard RR, Consolaro A, Esberard RM, Filho IB, Esberard RR. Efeitos das técnicas e dos agentes clareadores externos na morfologia da junção amelocementária e nos tecidos dentários que a compõem. *R Dent Press Estét*. 2004;1:58-72.
41. Frank R. *The Ultrastructure of the Caries-Resistant Teeth*. Londres; 1965.
42. Pitts NB, Ekstrand K. International caries detection and assessment system (ICDAS) and its international caries classification and management system (ICCMS) - Methods for staging of the caries process and enabling dentists to manage caries. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2013;41(1):41-52. doi:10.1111/cdoe.12025.
43. Paris S, Hopfenmuller W, Meyer-Lueckel H. Resin infiltration of caries lesions: An efficacy randomized trial. *J Dent Res*. 2010;89(8):823-826. doi:10.1177/0022034510369289.
44. Meyer-Lueckel H, Bitter K, Paris S. Randomized controlled clinical trial on proximal caries infiltration: Three-year follow-up. *Caries Res*. 2012;46(6):544-548. doi:10.1159/000341807.
45. Martignon S, Ekstrand KR, Gomez J, Lara JS, Cortes A. Infiltrating/sealing proximal caries lesions: a 3-year randomized clinical trial. *J Dent Res*.

- 2012;91(3):288-292. doi:10.1177/0022034511435328.
46. Neres É, Moda M, Chiba E, Briso A, Pessan J, Fagundes T. Microhardness and Roughness of Infiltrated White Spot Lesions Submitted to Different Challenges. *Oper Dent*. 2017;42(4):428-435. doi:10.2341/16-144-L.
  47. Simoes Meira KR, de Mattos Brito CS, De Sousa FB, Meira KRS, de Mattos Brito CS, De Sousa FB. Predicting infiltration of the surface layer of natural enamel caries. *Arch Oral Biol*. 2015;60(6):883-893. doi:10.1016/j.archoralbio.2015.03.001.
  48. Paris S, Meyer-Lueckel H. Masking of labial enamel white spot lesions by resin infiltration--a clinical report. *Quintessence Int*. 2009;40(9):713-718.
  49. Knoesel M, Eckstein A, Helms H-JH-J, et al. Durability of esthetic improvement following Icon resin infiltration of multibracket-induced white spot lesions compared with no therapy over 6 months: A single-center, split-mouth, randomized clinical trial. *Am J Orthod Dentofac Orthop*. 2013;144(1):86-96. doi:10.1016/j.ajodo.2013.02.029.
  50. Meyer-Lueckel H, Paris S. Infiltration of natural caries lesions with experimental resins differing in penetration coefficients and ethanol addition. *Caries Res*. 2010;44(4):408-414. doi:10.1159/000318223.
  51. Inagaki LT, Dainezi VB, Alonso RCB, et al. Evaluation of sorption/solubility, softening, flexural strength and elastic modulus of experimental resin blends with chlorhexidine. *J Dent*. 2016;49:40-45. doi:10.1016/j.jdent.2016.04.006.
  52. Inagaki LT, Bruschi Alonso RC, Spagnolo Araujo GA, et al. Effect of monomer blend and chlorhexidine-adding on physical, mechanical and biological properties of experimental infiltrants. *Dent Mater*. 2016;32(12):E307-E313. doi:10.1016/j.dental.2016.09.078.
  53. Cedillo Valencia JDJ, Cedillo Felix JE. Resinas Infiltrantes, una novedosa opción para las lesiones de caries no cavitadas en esmalte. *Rev ADM*. 2012;1(1):38-45.
  54. Robinson C, Hallsworth a S, Weatherell J a, Künzel W. Arrest and control of carious lesions: a study based on preliminary experiments with resorcinol-formaldehyde resin. *J Dent Res*. 1976;55(5):812-818. doi:10.1177/00220345760550051601.
  55. Robinson C, Brookes SJ, Kirkham J, Wood SR, Shore RC. In vitro Studies of the Penetration of Adhesive Resins into Artificial Caries-Like Lesions.

- Caries Res.* 2001;35(2):136-141. doi:10.1159/000047445.
56. Cohen J. *Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences (Revised Ed.)*; 1997.
  57. Meyer-Lueckel H, Paris S, Kielbassa AM. Surface layer erosion of natural caries lesions with phosphoric and hydrochloric acid gels in preparation for resin infiltration. *Caries Res.* 2007;41(3):223-230. doi:10.1159/000099323.
  58. Kim I-H, Son JS, Min BK, Kim YK, Kim K-H, Kwon T-Y. A simple, sensitive and non-destructive technique for characterizing bovine dental enamel erosion: attenuated total reflection Fourier transform infrared spectroscopy. *Int J Oral Sci.* 2016;8(1):54-60. doi:10.1038/ijos.2015.58.
  59. Cohen BH. Mixed anova design. In: Cohen BH, ed. *Explaining Psychological Statistics*. New York: WILEY; 2001.
  60. Field A. *Discovering Statistics Using SPSS*. London: SAGE; 2009.
  61. Dean A, Voss D. *Design and Analysis of Experiments*. New York: Springer; 1999.
  62. Armstrong RA. When to use the Bonferroni correction. *Ophthalmic Physiol Opt.* 2014;34(5):502-508. doi:10.1111/opo.12131.