

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
CÂMPUS DE ARARAQUARA**



Gislaine Cristina Padovani

**Avaliação, in vitro, da atividade antibacteriana, liberação
de fluoreto e capacidade de recarga de cimentos de
ionômero de vidro para base forradora**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Dentística Restauradora, da Faculdade de Odontologia de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista para obtenção do título de Mestre em Dentística.

Orientadora:
Prof^ª. Dr^ª. Maria Salete Machado Candido

ARARAQUARA

2008

GISLAINE CRISTINA PADOVANI

**Avaliação, in vitro, da atividade antibacteriana, liberação
de fluoreto e capacidade de recarga de cimentos de
ionômero de vidro para base forradora**

COMISSÃO JULGADORA

DISSERTAÇÃO PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE

Presidente e Orientador: Prof^ª. Dr^ª. Maria Salete Machado Candido

2º Examinador: Prof Dr. José Roberto Cury Saad

3º Examinador: Prof. Dr. Rossano Gimenes

Araraquara, 25 de março de 2008.

Gislaine Cristina Padovani

Nascimento	24 de novembro de 1979 Araraquara – SP
Filiação	Luiz Carlos Padovani Jovelina Padovani
2001-2004	Curso de Graduação em Odontologia, na Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP. Araraquara – UNESP.
2006-2008	Curso de Pós-Graduação em nível de Mestrado na área de Dentística, na Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP. Araraquara – UNESP.
Associações	CRO - Conselho Regional de Odontologia do Estado de São Paulo. GBPD – Grupo Brasileiro de Professores de Dentística. SBPqO – Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica

Dedicatória

A **Deus e aos seus mensageiros**, por sempre me proporcionarem saúde, proteção e força, imprescindíveis durante toda a vida e em mais esta jornada.

Em especial aos meus pais, **Luiz Carlos e Jovelina**, pois mesmo diante dos obstáculos, conduziu nossas vidas pelo caminho do bem e da verdade, a quem devo a vida e minha formação moral. Meu reconhecimento e gratidão pela paciência, compreensão e incentivar todos os meus sonhos.

Ao meu irmão **Juliano**, exemplo de vida, apoio, determinação e amizade, representante verdadeiro da palavra irmão.

Ao **Amauri**, pelo incentivo, dedicação, tranquilidade e segurança que me mantiveram firme durante toda esta jornada.

A todos vocês, com os quais aprendi o sentido de viver, amar e ser feliz.....

Agradecimentos Especiais

À minha querida orientadora, **Prof^ª. Maria Salete**, grande exemplo de honestidade e dedicação ao ensino. Acima de tudo é uma pessoa verdadeira. Obrigada por todos os momentos que compartilhamos, pelos seus ricos ensinamentos e por sempre acreditar em minhas idéias.

Ao **Prof. Dr. Pizzolito**, modelo de simplicidade, sabedoria e doçura, ao qual foi fundamental para o desenvolvimento desta pesquisa.

Ao **Prof. Dr. Márcio**, parceiro de trabalho e novo amigo imprescindível na realização deste trabalho.

Aos amigos de turma do mestrado **João Paulo, Juliana, Willian**, pois aprendi com cada um de vocês a como ser diferente e principalmente a respeitar essa diferença, realmente nos completamos.

Aos meus amigos da **Dentística**: Darlon, Adriano, Simone, Milko, Benícia Ubiracy, Priscila, Renato pelos momentos de descontração, aprendizado, e amizade leal.

A minha amiga **Indri**, pelos incentivos, idéias, e longas conversas.

À **D. Maria (IQ), D. Cida, Marinho, Vanderlei, Adriana, Creuza** pela amizade, carinho e apoio técnico-laboratorial.

À Faculdade de Odontologia de Araraquara – Universidade Estadual Paulista, representados pela digníssima Diretora representados pela digníssima Diretora Profa. Dra. Rosemary Adriana Chiérice Marcantonio e pelo Vice – Diretor Prof. Dr. José Cláudio Martins Segalla.

Ao Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP representados pelo Chefe de Departamento Prof. Dr. Prof. Dr. Fábio Luiz Camargo Villela Berbert e Vice-Chefe Prof. Dr. Osmir Batista de Oliveira Jr.

Aos professores da Disciplina de Dentística da Faculdade de Odontologia de Araraquara - FOAr – UNESP, pelos conhecimentos transmitidos.

À Coordenação da Pós – Graduação em Dentística Restauradora, da Faculdade de Odontologia de Araraquara – FOAr – UNESP, representadas pelos Professores Doutores Osmir Batista de Oliveira Júnior e Maria Saete Machado Candido.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pelo apoio financeiro concedido para a realização desta pesquisa.

Aos funcionários da Secretaria de Pós – Graduação da Faculdade de Odontologia de Araraquara – FOAr – UNESP, Mara, Rosângela, Vera, Sylvia e Alexandre pela atenção que sempre nos dispensaram em todos os momentos.

A todos os funcionários da biblioteca pela amizade e atenção: Adriano, Ceres, Eliane, Maria Helena, Maria Inês, Marley, Odete e Silvia.

A todos os professores e funcionários da Faculdade de Odontologia de Araraquara.

Agradecer é reconhecer que o homem jamais poderá lograr para si o dom de ser auto-suficiente. Ninguém e nada crescem sozinhos; sempre é preciso um olhar de apoio, uma palavra de incentivo, um gesto de compreensão uma atitude de amor. A todos aqueles que, embora não estejam aqui citados, mas que colaboraram para o desenvolvimento deste trabalho, a mais profunda gratidão e respeito.

SUMÁRIO

RESUMO	11
ABSTRACT	13
1 INTRODUÇÃO.....	16
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	24
2.1 Liberação e reincorporação de fluoreto.....	24
2.2 Atividade antibacteriana.....	47
3 PROPOSIÇÃO.....	60
4 MATERIAL E MÉTODO.....	62
4.1 Material.....	62
4.2 Métodos.....	64
4.2.1 Liberação e reincorporação de fluoreto.....	64
4.2.2 Atividade antibacteriana.....	71
4.2.3 Planejamento estatístico.....	74
5 RESULTADO.....	78
5.1 Liberação e reincorporação de fluoreto.....	78
5.2 Atividade antibacteriana.....	81
6 DISCUSSÃO.....	88
7 CONCLUSÃO.....	100
8 REFERÊNCIAS.....	102
ANEXOS.....	116

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ADT	Teste da difusão do ágar
Al ₂ O ₃	Alumina
CaF ₂	Fluorita ou fluoreto de cálcio
CaO	Óxido de cálcio
ATF	Aplicação tópica de flúor
BHI	Brain Heart Infusion (Infusão de cérebro e coração)
CHX	Clorexidina
CIV	Cimento de ionômero de vidro
CIVMR	Cimento de ionômero de vidro modificado por resina
DCT	Contato direto
Des	Desmineralização
DPICl	Difeniliodoniumchloride
Exp	Experimental
F ⁻	Fluoreto
HEMA	Hidroxietil metacrilato
ÍON F	Ionomaster F
μL	Microlitro
mM	Milimolar
mol/l	Mol por litro ou mol.L ⁻¹
mg/cm ²	Miligrama por centímetro quadrado

p	Nível de significância estatística
pH	Potencial hidrogeniônico
ppm	Parte por milhão
Re	Remineralização
SiO ₂	Sílica
TEGDMA	Trietileno glicoldimetacrilato
TISAB	Total Ionic Strength Adjustor
Vit	Vitrebond
ZnSO ₄	Sulfato de zinco
µgF/cm ² /h	Micrograma de flúor por centímetro quadrado por hora
µgF-/mm ²	Micrograma de flúor por milímetro quadrado

Padovani GC. Avaliação, in vitro, da atividade antibacteriana, liberação de fluoreto e capacidade de recarga de cimentos de ionômero de vidro para base forradora [dissertação mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2008.

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar in vitro a liberação de fluoreto, capacidade de recarga e a atividade inibitória dos cimentos de ionômero de vidro: Vitrebond (Fotoativado), Ionomaster F (quimicamente ativado), além de um cimento de ionômero de vidro experimental, também quimicamente ativado. Para a avaliação da liberação de fluoreto foram confeccionados 10 espécimes padronizados para cada um dos cinco grupos experimentais (GI – Vitrebond, GII – Ionomaster F, GIII – Experimental + Vitrebond, GIV – Experimental + Ionomaster F, GV – Experimental + Experimental). Todos os espécimes foram submetidos a um modelo de ciclagem de pH, sendo imersos alternadamente em soluções Des/Re, para simular condição de alto risco à cárie, durante 15 dias. Após este período todos os espécimes foram submetidos a uma aplicação de flúor tópico acidulado 1,23%, pH 3,6-3,9, por 4 minutos. Em seguida, lavados e novamente submetidos à mesma ciclagem de pH por mais 15 dias. A concentração de fluoreto (mg/L) nas soluções foi quantificada por um período de trinta dias através de um eletrodo flúor específico. Para o teste microbiológico os cinco grupos experimentais foram mantidos sobre *S. mutans*, *L. acidophilus* e *A. viscosus* utilizando o teste de difusão em ágar. Os inóculos foram obtidos por meio da semeadura das cepas bacterianas padrão em caldo BHI e incubação a 37° C por 24 horas. Em placas de Petri foram preparadas camadas base contendo 15 ml de BHI ágar acrescido de 300 µl da suspensão bacteriana selecionada. Seis poços medindo 4 mm de diâmetro foram confeccionados em cada placa e completamente preenchidos com um dos materiais teste. Uma solução de digluconato de clorexidina a 0,2% foi utilizada como grupo controle. Os experimentos foram repetidos em dez placas de petri. Após a incubação das placas a 37 °C, por 24, 48 e 72 horas, os halos de inibição formados ao redor dos poços foram medidos. Este estudo demonstrou maior

liberação de fluoreto para o Ionomaster F, seguido do Vitrebond, e com características similares para os três grupos que utilizaram o pó experimental; todos os grupos aumentaram sua liberação de fluoreto com a recarga, porém padrões de liberação foram diferentes. A atividade antibacteriana para dois cimentos ionoméricos fotoativados foi altamente significante, sendo que, o GI – vitrebond apresentou a melhor atividade antibacteriana contra *A. Viscosus* e *L. Acidophilus*.

Palavras-chave: Cimento de ionômero de vidro; flúor; cárie dentária; *streptococcus mutans*.

Padovani GC. Evaluation, in vitro, of inhibitory activity, fluoride release, uptake ability with glass ionomero cement – liners [dissertação mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2008.

Abstract

The aim of this work was to evaluate the in vitro fluoride release, uptake ability, and the inhibitory activity dealing with the glass ionomer cements: Vitrebond (3M ESPE), Ionomaster (WILCOS), and also an experimental glass ionomer cement. In order to study the fluoride release ten specimens were fabricated according to the instructions of the manufacturer for each of the five experimental groups (GI – Vitrebond, GII – Ionomaster F, GIII – Experimental + Vitrebond, GIV – Experimental + Ionomaster F, GV – Experimental + Experimental). All of the specimens were subjected to a pH cycling model. They were alternately immersed into de- and remineralization solutions in order to simulate a high cavity risk condition during 15 days. Afterwards, all the specimens were subjected to the application of acidulated phosphate fluoride (APF, 1.23% at pH 3.6-3.9) for four minutes. Thereafter the specimens were washed and subjected to the same pH cycling for additionally 15 days. The solution fluoride concentration was determined during a period of 30 days by using a fluoride ion-selective electrode. For the microbiological test, the five experimental groups were evaluated on *S. mutans*, *L. acidophilus*, and *A. viscosus* using the agar diffusion testing. The inocula were obtained by seeding the bacterial strains into BHI medium and then were incubated at 37 °C for 24 hours. Bottom layers were prepared into Petri dishes containing BHI agar (15 mL) with 300 µl of the desired bacterial suspension. Six wells (4 mm diameter) were punched in each agar plate and completely filled with one of the testing materials. A 0.2% clorexidine digluconate solution was used as the control. The experimental method was repeated in ten Petri dishes. Then the Petri dishes were incubated at 37 °C, for 24, 48, and 72 hours. The inhibition zones around the wells were subsequently measured. This study revealed a higher fluoride release for Ionomaster F, followed by the Vitrebond, along with similar features for the three groups using the experimental cement; all the experimental groups presented a rise in fluoride

release upon uptake, despite the different release features. The antibacterial activity for two CIVMRs was highly significant. The GI - Vitrebond presented the best antibacterial activity on *A. Viscosus* and *L. Acidofilus*.

Keywords: Glass ionomer cements; fluoride; dental carie; *streptococcus mutans*.

1 Introdução

A manutenção da vitalidade do tecido pulpar é fundamental para a vida funcional do dente, devendo ser considerada prioridade na escolha das estratégias de tratamento odontológico. Tal importância é explicada pelo fato de que as células pulpares mantêm a homeostase tecidual após o desenvolvimento dentário, promovem eventos de reparo a uma injúria tecidual, que levam à regeneração dentinária⁹², controlam as reações de defesa em resposta à difusão de resíduos metabólicos, enzimas e toxinas bacterianas, provenientes do processo cariioso⁸ e de componentes tóxicos liberados pelos materiais restauradores²³. Além disso, a presença do fluido que percorre os túbulos dentinários é fundamental para a manutenção da sensibilidade e propriedades mecânicas da dentina^{17,72}.

Para evitar irritação ou até danos irreversíveis ao tecido pulpar, materiais indicados protetores da polpa são indicados para forramento de cavidades profundas, com reduzida espessura de dentina remanescente (menos que 0,5 mm)⁶³. Esses materiais devem ser biocompatíveis quando aplicados em dentina, sendo capazes de permitir e/ou estimular a reparação tecidual,²³ além de promoverem um bom selamento da interface dente-restauração, diminuindo a possibilidade de microinfiltração bacteriana¹⁸.

Dentre os materiais protetores pulpares, o cimento de hidróxido de cálcio é o mais utilizado, apesar de seu mecanismo de ação ainda não ser completamente elucidado^{77,88}. Alguns autores sugeriram que a ação antibacteriana desse cimento, associada à sua alcalinidade, poderia impedir a progressão do processo

carioso^{41,95}. Entretanto estudos, *in vitro*, têm apresentado resultados contraditórios em relação à atividade antibacteriana desses cimentos, os quais vão desde nenhum ou mínimo efeito^{38,97}, até a inibição marcante de algumas bactérias bucais⁴⁶. Além disso, o cimento de hidróxido de cálcio apresenta algumas propriedades desfavoráveis como, alta solubilidade, baixa resistência à compressão e ausência de adesão ao substrato dentinário⁴⁷ quando comparado a outros materiais forradores.

Outro material também indicado para a proteção pulpar indireta é o cimento de ionômero de vidro, por apresentar capacidade de adesão à estrutura dentinária, coeficiente de expansão térmico e módulo de elasticidade apropriados além, da liberação de fluoreto e biocompatibilidade quando aplicado sobre dentina^{1,25,73}. A atividade antibacteriana do cimento de ionômero de vidro também foi demonstrada em alguns estudos, *in vitro*^{62,69,76}. Porém, esses cimentos apresentam limitações como todo material dentário, sendo as propriedades mecânicas uma das principais causas de restrição de seu uso. Os cimentos de ionômero de vidro convencionais (CIV) possuem baixa resistência à tração e à compressão com indicação em regiões de pouco *stress* (Navarro, Pascotto,⁷⁵ 1998). A estética do CIV é comprometida, principalmente nos convencionais, devido à alta opacidade. Segundo Culbertson,²⁷ 2001, os CIV modificados por resina (CIVMR) apresentam melhor estética em algumas formulações.

A descoberta do cimento de ionômero de vidro ocorreu na década de 70, com os estudos sobre o cimento de silicato, no qual o ácido fosfórico foi substituído por ácidos orgânicos para diminuir a irritação da polpa dentária.

O cimento de ionômero de vidro é um material odontológico resultante de uma reação do tipo ácido - base entre íons liberados de pó de vidro e uma solução de ácido orgânico geralmente o ácido poliacrílico. Durante a reação inicial, a superfície das partículas de vidro é degradada pelo ácido poliacrílico liberando Al^{3+} e Ca^{2+} . Esses cátions liberados fazem ligações cruzadas com as cadeias de poliácidos. Assim, o cimento é constituído de uma matriz polimérica embebida com partículas de vidro (Figura 1). A introdução de copolímeros à solução aquosa de ácido poliacrílico, como por exemplo, ácido tartárico e itacônico, tornaram possível a obtenção de tempos de presa e de trabalho clinicamente mais compatíveis.

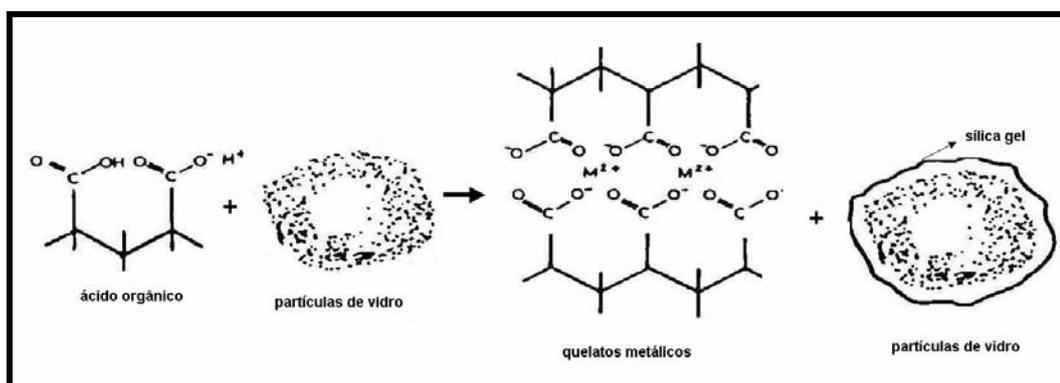


FIGURA 1 - Representação esquemática da interação entre o ácido orgânico e as partículas de vidro.

De acordo com Wilson, McLean¹⁰³ (1988) a reação de obtenção dos cimentos, pode ser dividida nos seguintes estágios:

- 1) ataque à rede vítrea e liberação dos íons metálicos, principalmente, Al^{3+} e Ca^{2+} ;
- 2) migração dos íons liberados para dentro da fase aquosa do cimento;

- 3) gelatinização do poliácido pelos outros íons metálicos;
- 4) endurecimento do cimento após a gelatinização.

Essas etapas estão exemplificadas no seguinte esquema (Figura 2) de Wilson, McLean,¹⁰³ (1988) que explica a reação de obtenção dos cimentos. Como ilustrado na Figura 2, quando ocorre o ataque ácido os íons Al^{3+} , Ca^{2+} e F^- vão sendo liberados da rede vítrea, a qual vai sendo rompida e forma-se uma camada rica em ácido silícico, o qual se geleifica, resultando em uma camada de sílica gel.

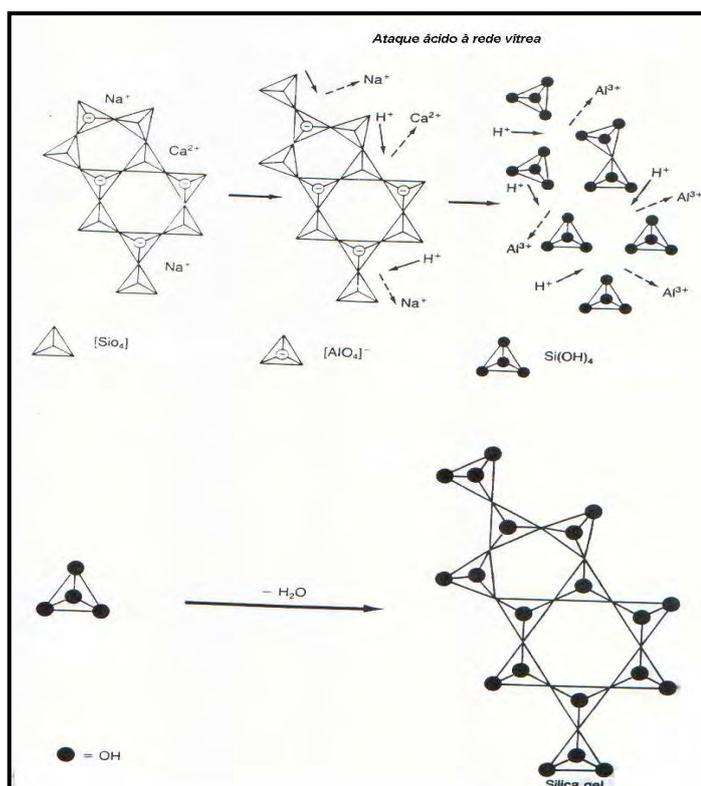


FIGURA 2 - Etapas envolvidas na reação de obtenção dos cimentos de ionômero de vidro.

A composição dos vidros utilizados como formadores de cimentos, pode ser complexa e variada. Embora, haja essa diferença, pode-se dizer que há alguns constituintes essenciais, como: sílica (SiO_2), alumina (Al_2O_3) e fluoreto presentes em todas as composições dos vidros precursores dos cimentos ($\text{SiO}_2\text{-Al}_2\text{O}_3\text{-CaO}$ ou $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-CaO-CaF}_2$), (Wilson, McLean,¹⁰³ 1988).

Recentemente, observou-se que o cimento de ionômero de vidro atua na prevenção da cárie na interface dente/restauração, além de ser capaz de inibir, in vitro, o crescimento de algumas bactérias bucais, como: *Streptococcus mutans*, *Lactobacilos* e conseqüentemente reduzir a formação de cárie secundária, isso devido ao seu pH inicial e/ou capacidade de liberação de fluoreto^{56,61,97}.

Desta maneira, os CIVs funcionam como um reservatório de fluoreto, que é continuamente liberado diminuindo a incidência de cáries. A liberação de fluoreto pelos CIVs ocorre com maior intensidade no período de 24 a 48 horas, e continua em menor intensidade por um longo período.

De acordo com Ten Cate, Featherstone⁹⁵, em 1991, sabe-se que a presença contínua de baixas concentrações de fluoreto pode inibir a desmineralização e favorecer a remineralização .

Segundo Chan et al.²¹, 2006, o fluoreto favorece a formação da fluorapatita. Altos níveis de fluoreto na superfície do esmalte podem torná-lo mais resistente à dissolução ácida, diminuindo a viabilidade bacteriana.

A liberação de fluoreto pode está relacionada com dois mecanismos básicos: a) liberação inicial - pela ação da água na dissolução dos componentes com fluoreto e por difusão devido à degradação da matriz e formação de *cracks*;

b) longo prazo - devido à interação iônica entre o cimento e o meio bucal, sendo facilmente influenciada por alguns fatores, tais como: concentração de fluoreto extrínseco, pH, e erosão ácida^{26,52,94}.

Um outro aspecto interessante é a capacidade que os CIVs possuem de reincorporar fluoreto do meio para posterior liberação, prolongando o tempo no qual, o fluoreto ficará disponível no meio bucal^{4,84}. Mesmo após a presa final do cimento, a matriz permanece suficientemente porosa para a movimentação livre desses íons^{52,98}.

Clinicamente o que se espera de um material forrador é que este apresente importante propriedade antibacteriana. Segundo Maltz,⁷⁰ os resultados microbiológicos indicaram que a remoção superficial da cárie, o forramento com um material antibacteriano e o selamento da cavidade reduziram o metabolismo e o crescimento bacteriano, desacelerando a progressão da lesão e favorecendo a resposta do complexo dentino-pulpar.

Streptococcus do grupo *mutans* e *Lactobacilos* são microrganismos oportunistas que habitam comumente a cavidade bucal e expressam sua patogenicidade em condições ambientais favoráveis. São encontrados freqüentemente na dentina, podendo ser facilmente detectados por meio de métodos microbiológicos⁶¹.

Com o intuito de melhorar suas propriedades, constantemente vêm sendo desenvolvidas novas formulações de cimento de ionômero de vidro, as quais são lançadas rotineiramente no mercado. Importante distinguir compômero de compósito. O termo compômero deriva da combinação das partes de duas

palavras, compósito e ionômero, pois o material apresenta características de composição dos dois materiais. Compósito um material odontológico composto por três fases distintas, ou sejam, uma fase inorgânica representada por partículas de carga mineral, uma segunda fase representada pela matriz resinosa, Bisfenol-glicidil-metacrilato e de uma terceira fase que constitui-se na união da primeira e segunda fase, ou seja, o silano. Assim é basicamente um material em cuja composição entram dois ou mais tipos de materiais diferentes^{75,104}.

Recentemente, o Instituto de Química de Araraquara – UNESP têm se dedicado ao desenvolvimento de um cimento ionomérico experimental, acrescido de nióbio, composto este semi-inerte, no qual forma ligações mais estáveis com a cadeia do material inonomérico, dificultando a ação da água na quebra dessas ligações e retardando a degradação do material. Este novo cimento também é fabricado pelo inovador método Sol-Gel, que consiste em uma distribuição homogênea das partículas do material e conseqüentemente tem-se um material mais estável. Assim, é de grande interesse o início de estudos sobre o comportamento deste novo material, ainda em fase experimental, e como tal, o objetivo principal deste trabalho é avaliar comparativamente, por meio de estudo *in vitro* as propriedades de liberação/recarga de flúor, bem como a atividade antibacteriana, propriedades estas já apresentadas e conhecidas nos cimentos ionoméricos até então comercializados.

2 Revisão da literatura

Para melhor compreensão, este capítulo está dividido em duas etapas, apresentando primeiramente os estudos que avaliam as características da liberação e capacidade de recarga de fluoreto em cimentos de ionômero de vidro convencionais e modificados por resina, e depois os estudos que avaliam a atividade antibacteriana dos materiais odontológicos propostos.

2.1 Liberação e reincorporação de fluoreto

O cimento de silicato foi o primeiro material restaurador com presença de fluoreto na sua composição, tendo contribuído para um decréscimo no desenvolvimento de cáries recorrentes. No início dos anos 70 surgiram os CIVs, os quais, em função de sua atuação principalmente no aspecto de dificultar a desmineralização do esmalte e favorecer a remineralização, estão sendo indicados no tratamento preventivo da doença cárie.

Assim, tem sido constante a tentativa de se adicionar flúor nos materiais odontológicos e, conseqüentemente, a necessidade por estudos para avaliar o comportamento destes materiais frente à liberação de flúor.

Perrin et al.,⁸¹ 1994, compararam a liberação de fluoreto de cimentos de ionômero de vidro convencionais e cimento de ionômero de vidro modificado por

resina, após um ano. Todos os materiais liberaram íons flúor em padrão similar, sendo a liberação de fluoreto maior no primeiro dia, diminuindo durante uma semana, com formação de platô. Após 1 ano, todos os espécimes liberaram concentrações diárias do fluoreto acima de 0.5 ppm, alcançando 7 ppm. As menores razões pó-líquido conduziram a maior liberação de fluoreto.

Forsten,⁴⁴ 1995, analisou a liberação a curto (semanalmente) e longo prazo (após 9 meses) de fluoreto, em cimento de ionômero de vidro modificado por resina. O objetivo foi também determinar o efeito do fluoreto nos espécimes, a consistência da mistura, e o pH do ambiente após liberação. Os espécimes foram armazenados em 5 mL de água deionizada, e a liberação de fluoreto foi mensurada semanalmente. Cimento de ionômero de vidro modificado por resina, com partículas menores resultou em liberação elevada de fluoreto. O pH ácido aumentou a liberação de fluoreto para todos os materiais.

Featherstone,⁴⁰ 1996, observou que o metabolismo da bactéria oral fermenta carboidratos produzindo ácidos orgânicos (acético, láctico e propiônico). Estes ácidos se difundem no esmalte e dentina dissolvendo mineral. Esta desmineralização pode ser inibida por muitos fatores, como: cálcio e fosfato da saliva, proteínas salivares, agentes antibacterianos e flúor.

Donly, Ingram,³⁵ em 1997, avaliaram a inibição de cárie por cimento de ionômero de vidro fotoativado (Vitrebond) comparado à resina composta como

controle (Pertac universal Bond). Duas cavidades classe V padronizadas foram confeccionadas em trinta molares permanentes, a margem cervical localizada abaixo da junção esmalte/cimento. As cavidades foram restauradas com Vitrebond e Pertac Universal Bond, de acordo com instruções do fabricante. Os dentes foram revestidos com um verniz ácido-resistente, 2 mm das margens da restauração. Todos os dentes foram submetidos a desafio cariogênico (pH 4.2) durante cinco dias, sendo posteriormente, confeccionado seções axiais de 100 µm. Desta maneira, não houve diferença estatisticamente significativa na inibição da demineralização entre os dois compostos, porém demonstrou-se menor desmineralização para o cimento de ionômero de vidro.

Em 1998, Forsten⁴⁵ discutiu vários aspectos relacionados aos materiais restauradores que liberam fluoreto, atribuindo o efeito anticariogênico dos CIVs à sua efetiva capacidade de liberar íons flúor. De acordo com o autor, os materiais apresentam uma alta liberação de fluoreto diminuindo rapidamente até atingir níveis constantes. Esta atividade mais intensa no início corresponde ao período de endurecimento do CIV, já que o processo de liberação de fluoreto está intimamente ligado à reação de endurecimento deste material, sem interferir em suas propriedades físicas.

Bilgin, Ozalp,¹² em 1998, avaliaram a liberação de fluoreto de três tipos de cimento de ionômero de vidro após exposição à solução de NaF e ao gel acidulado, de mesma concentração. Depois de ter determinado o fluoreto liberado

durante 28 dias em saliva artificial, os espécimes foram divididos em dois grupos e expostos à solução pré-determinada, por 2 min durante 20 dias. Para todos os materiais, a liberação de fluoreto foi elevada no primeiro dia. Kromoglass obteve maior quantidade de fluoreto liberado, seguidos do Vitrabond e Dyract. Após o terceiro dia não houve diferença estatisticamente significativa. Posteriormente a exposição à solução de NaF e ao gel, os cimentos de ionômero de vidro foram recarregados. Os espécimes expostos ao gel da ATF foram mais recarregados que a solução de NaF. Assim, cimento de ionômero de vidro pode agir como sistema recarregável lentamente, e aplicações tópicas de NaF associados a materiais ionoméricos poderiam ser recomendadas como medida preventiva.

Attin et al.⁵, 1999, avaliaram a liberação de fluoreto de compostos poliácidos-modificados por resina (compômeros) em solução neutra e ácida. Dois compômeros (Dyract e Compoglass) foram testados e o cimento de ionômero de vidro convencional (CIV) Vivaglass Base foi utilizado como controle. Quarenta espécimes foram fabricados de cada um dos materiais. Vinte destes espécimes foram colocados em saliva artificial e em outros 20 espécimes em uma pasta de dentifício fluoretada por 5 min. Logo após, 10 espécimes fluoretados e 10 espécimes não fluoretados foram imersos em solução neutra (pH 6,8), e os outros espécimes imersos em uma solução ácida (pH 4,0). Após 5 dias, as amostras foram colocadas outra vez em uma pasta de dentifício fluoretada ou em saliva artificial por 5 min. A liberação de fluoreto de todos os materiais diminuiu continuamente durante o período, com maior liberação em solução ácida. O CIV

convencional revelou maior liberação de fluoreto após a fluoretação, porém para os compômeros o comportamento foi inverso. Portanto, Dyract e Compoglass não podem ser reabastecidos com fluoreto, independente do valor do pH do meio.

A liberação de fluoreto de diferentes materiais submetidos a desafio cariogênico com ciclos de desmineralização e remineralização foi também avaliada por Vieira et al.¹⁰¹, em 1999. Foram confeccionados espécimes padronizados de CIV convencional (Chelon Fill), CIVMR (Vitremer), compômeros (Variglass VLC e Dyract) e resina composta (Heliomolar Radiopaque), os quais foram submetidos à ciclagem de pH, expostos por um período de 8 dias a ciclos de desmineralização – pH 4,3 (6 H) e remineralização – pH 7,0 (17 H). Posteriormente, além da ciclagem de pH, os espécimes receberam tratamento adicional com dentifrício fluoretado, 2 vezes ao dia, até completar 14 dias de experimento. Todos os materiais foram capazes de incorporar fluoreto do dentifrício para posterior liberação. Ocorreu maior liberação de íons flúor nos materiais em meio ácido (solução desmineralizadora), o que, segundo os autores, parece ser favorável na prevenção da perda mineral do esmalte em condição de desafio cariogênico.

Carvalho, Cury²⁰ 1999 compararam a liberação de fluoreto em CIV, resina modificada por poliácido e compósito utilizando solução convencional (água deionizada e saliva artificial) e modelo de ciclagem de pH. 18 espécimes de cada material foram preparados seguindo as instruções do fabricante e

fotopolimerizado por 40 s ou reação química. Após as reações os espécimes foram protegidos com camada de verniz e estocados em umidade relativa 100%, 37 °C, por 24 H. 6 espécimes de cada material foram estocados em 2 mL de solução específica por 15 dias em agitação constante. Saliva e água deionizada foram trocadas a cada 24 H e a ciclagem de pH trocada a cada 6 H - solução desmineralizadora, e 18 H - solução remineralizadora. Os autores demonstraram grande liberação de fluoreto no modelo de ciclagem de pH, semelhante ao processo dinâmico da cárie, seguido da água deionizada e saliva artificial. A liberação de fluoreto foi maior nas 24 H iniciais, diminuindo progressivamente até formar um platô, em consequência da perda constante de íons. A saliva artificial teria efeito iônico na solubilidade. Portanto, a liberação de íon fluoreto é altamente influenciada pelo meio.

Ainda em 1999, Preston et al.,⁸³ compararam o potencial de recarga de CIV, CIV modificado por resina, compômero e um composto contendo fluoreto, em saliva artificial. Dois discos de cada material foram realizados de acordo com as normas do fabricante e estocados em saliva sem íons flúor. O fluoreto contido na saliva foi medido 57, 64, 120 dias após a imersão. Os discos foram submetidos a uma exposição de solução de NaF por 2 min, lavado por 10 s em água destilada e novamente inserido em 5 mL de saliva artificial por 1H. Novas leituras foram realizadas após 1 H, 4 H, e 24 H. A liberação de fluoreto de todos os materiais aumentou com a exposição de NaF, porém no composto contendo íons fluoreto

foi menor. O CIV modificado por resina tem alto potencial para recarga de fluoreto após 54 e 67 dias.

Peng et al.,⁸⁰ em 2000, avaliaram a liberação de íons fluoreto de três cimentos de ionômero de vidro convencionais (ChemFlex, Fuji IX GP, Ionofil molar), quatro poliácidos-modificados por resina composta (o compômeros) (Dyract AP, Compoglass F, Freedom, F2000), e uma resina composta híbrida (Ariston pHc). A quantidade de fluoreto liberado dos espécimes de 3 x 2.7 mm foi medida durante seis semanas, utilizando eletrodo íon-seletivo de fluoreto. Após seis semanas, os espécimes foram recarregados com 2 mL de gel acidulado de fluoreto de fosfato de 1.23 % (APF) por quatro minutos. Os espécimes recarregados foram avaliados sobre outras seis semanas. Os CIVs e o Compoglass F demonstraram taxa de liberação de fluoreto inicial significativamente mais elevada nos dois primeiros dias, diminuindo rapidamente e tornaram-se estabilizada dentro de 3-5 semanas, em modalidade exponencial. Após a recarga dos espécimes com gel tópico houve aumento significativo na liberação do fluoreto para todos os materiais. Compoglass F liberou relativamente mais fluoreto e Ariston pHc menos, após a aplicação do gel acidulado. Dyract AP e Freedom liberaram as quantidades menores do estudo. Os compômeros e CIVs parecem agir como reservatórios de fluoreto.

Vermeersch et al.,⁹⁹ em 2001, mensuraram a liberação de fluoreto a curto e longo prazo de 16 marcas comerciais. Cimento de ionômero de vidro (Ketac-Fil

aplicap, Ketac Molar, Fuji II, Fuji IX, Hi Fi, Vivaglass base); cimento de ionômero fotopolimerizável (Photac-Fil, Fuji II LC, Fuji II LC, Hi Dense, Vitrebond, Vitremer); compômero (Compoglass, Dyract) e resina composta (Tetric T e Heliomolar), buscando uma correlação entre liberação de fluoreto e o tipo de material em diferentes intervalos de tempo. A liberação de fluoreto inicial foi alta para todos os materiais durante as primeiras 24 H e diminuiu drasticamente após uma semana. Somente grupos de materiais demonstraram diferença significativa entre 7 e 91 dias tornando-se impossível correlacionar liberação de fluoreto ao tipo de material, exceto se comparar produtos do mesmo fabricante. A relação entre liberação de fluoreto e reação do tipo ácido-base está bem confirmada. A composição do cimento de ionômero de vidro (partículas, tipo de poliácido, razão pó/líquido) pode ter maior influência na liberação de fluoreto que o tipo do material.

Gao, Smales⁵², 2001 avaliaram a liberação e reincorporação de fluoreto nos CIV e CIV modificado por resina após aplicação de flúor tópico. Cinco espécimes de cada material foram preparados de acordo com as instruções do fabricante e estocados por 1 H em umidade relativa 100%. Depois de removidos do molde, os espécimes foram imersos em 2 mL de saliva artificial tamponada. As leituras ocorreram 1H, 6H, 2 dias e semanalmente durante 6 semanas. Após esse período, os espécimes foram imersos em 2 mL de 1.23% ATP gel por 4 min, lavados com água deionizada e novamente imersos em 2 mL de saliva artificial a 37 °C por mais 6 semanas. Os resultados demonstraram a formação de curva

convencional com perda de fluoreto nas primeiras 24 H, diminuindo gradativamente até formar um platô, com a recarga a mesma representação se repete especialmente nos CIV convencionais. O MEV demonstrou fraturas no CIV, seguido do CIV modificado por resina. O ionômero de vidro mais viscoso liberou menos fluoreto, sendo necessário avaliar seu uso na prática clínica. A recarga dos materiais ionoméricos, ocorreu devido ao efeito reservatório dos CIVs e a destruição superficial causada pelo tratamento hídrico. Liberação maior nas 24 H provavelmente ocorre devido à viscosidade do material, que nos CIV convencionais fica mais fácil a remoção dos íons das fraturas e poros que nos CIV modificados por resina. Assim, a liberação de fluoreto ocorreu devido às alterações superficiais e morfológicas, e não necessariamente pelo efeito da recarga.

Helvatjoglu-Antoniades et al.,⁵⁹ em 2001, avaliaram a liberação de fluoreto em água destilada de diferentes tipos de materiais restauradores ionoméricos (Miracle-Mix, Fuji tipo III, o Fuji II LC, e Ketac-Silver), (Ketac Cem), compômero (Compoglass Flow), selantes (Fissurit F, Helioseal F), resina composta (Tetric). Os espécimes foram mensurados em intervalos do tempo de 4, 8, 12, e 24 horas e de 2, 3, 7, 14, 28, 56, e 112 dias. Assim, os cimentos de ionômero de vidro e compômeros liberaram maior quantidade de fluoreto que selante e resina composta.

Czarnecka et al.,²⁹ 2002, avaliaram a liberação de íons em condição ácida e neutra. Os espécimes de um cimento de ionômero de vidro experimental foram armazenados em água (pH 5,9) e em solução de ácido láctico (pH 2,7) por 6 semanas. Alteração de massa, liberação de fluoreto e pH da solução foram medidos em intervalos semanais. Os demais íons foram mensurados na 1, 2, 4 e 6 semanas. A liberação do fluoreto foi maior, em meio ácido, na primeira semana do experimento com um declínio gradual. A determinação do fluoreto com e sem o reagente descomplexante TISAB mostrou que 70-75% de fluoreto total foi liberado na forma livre em água, enquanto que, em meio ácido, por estimativa, 96% do fluoreto total liberado estava complexado.

A fase aquosa dos cimentos de ionômero de vidro permite que íons de flúor se difundam e sejam liberados do material. Asmussen, Peutzfeldt³, em 2002, estudaram a influência da formulação da matriz resinosa na liberação do fluoreto em compostos resinosos experimentais, baseados em monômeros de metacrilato e no HEMA (2-hidroxiethyl methacrilato). Os compostos resinosos contiveram 1 w% ou 5 w% de $\text{AlF}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$. Um cimento de ionômero de vidro e um compômero foram utilizados como controles. Cinco discos de cada material foram armazenados na água destilada na temperatura ambiente. Por meio de um eletrodo sensível a fluoreto, a liberação de íons flúor dos espécimes foi determinada periodicamente durante 3 anos. O cimento de ionômero de vidro liberou a maior quantidade de fluoreto ($154 \pm 4 \text{ mug/cm}^2$ após 1 ano e $248 \pm 7 \text{ mug/cm}^2$ após 3 anos). O compômero liberou relativamente menos fluoreto durante o 1º ano (30

+/- 1 mug/cm²), mas posteriormente, a taxa da liberação de fluoreto se tornou igual àquela do cimento de ionômero de vidro, tendo por resultado uma liberação de 122 +/- de 8 mug/cm² após 3 anos. A respeito da resina composta, a liberação de fluoreto aumentou com o caráter ácido e hidrofílico da matriz polimérica. A liberação, entretanto, foi significativamente menor do que aquela do cimento de ionômero de vidro e do compômero e variando de 1.2 +/- de 0.07 a de 42 +/- de 3.9 mug/cm² em 1 ano e de 2.3 +/- de 0.16 a de 79 +/- de 6 mug/cm² em 3 anos.

Guida et al.,⁵⁵ em 2002, avaliaram a liberação de fluoreto através de nove vidros experimentais, tendo como base 4.5SiO(2)-3Al(2)O(3)-1.5P(2)O(5)-(5-Z)CaO-ZCaF(2). As medidas foram realizadas em função da hora, por até 140 dias. A liberação cumulativa do fluoreto foi proporcional ao tempo da raiz quadrada.

Xu, Burgess,¹⁰⁴ 2003, avaliaram neste trabalho a força de compressão, liberação e capacidade de recarga de fluoreto de 15 materiais restauradores comerciais. Estes materiais incluem cimento de ionômero de vidro (Fuji IX, Ketac Molar, Ketac Silver, e Miracle Mix), cimento de ionômero modificado por resina (Fuji II LC Improved, Photac-Fil, e Vitremer), compômeros (Compoglass, Dyract AP, F2000, e Hytac) e resina composta (Ariston pHc, Solitaire, Surefil e Tetric Ceram). A correlação linear foi realizada entre a força de compressão e a liberação de fluoreto ($r^2 = 0.7741$), i.e., materiais restauradores com alta liberação de fluoreto apresentam-se com propriedades mecânicas baixas. A capacidade de

liberação de fluoreto pode ser modificada pela capacidade de recarga de um material quando exposto a um agente fluoretado tópico. Em geral, materiais com alta liberação de fluoreto têm capacidade de recarga alta ($r^2 = 0.7088$). Cinco equações foram utilizadas na análise da liberação de fluoreto, mas a equação que melhor descreve a liberação cumulativa de fluoreto para cimento de ionômero de vidro e resina modificada por cimento de ionômero de vidro $[F]_c = [F]_I (1 - e^{-ht}) + \beta\sqrt{t}$. Para compômeros e resina composta a liberação cumulativa de fluoreto é melhor representada por $[F]_c = [F]_I / (t_{1/2} + t) + \alpha t$

Preston et al.,⁸² 2003, analisaram o potencial relativo de recarga de fluoreto em materiais restauradores estéticos em um período de dois anos. Cinco discos (12 mm X 2 mm) de cada material foram fabricados e estocados em saliva artificial pH neutro. Os materiais testados foram: cimento de ionômero de vidro (Chemfil, Ketac-Fil); cimento de ionômero de vidro modificado por resina (Photac-Fil Aplicap, Vitremer); compômero (Dyract, Compoglass), compósitos (Heliomolar e Concise). Em treze intervalos durante o período de dois anos os espécimes foram submetidos a uma recarga de NaF 500 ppm por dois minutos. Os valores de fluoreto liberado foram mensurados no pré e pós-recarga. Os resultados nos intervalos de pós-recarga durante os dois anos foram todos significativamente diferentes. Chemfil:10.3, Ketac 3.0, Vitremer 9.0, Photac-Fil Aplicap 12.1, Compoglass 5.0, Dyract 3.6, Concise 0.3, Heliomolar 0.2 (unidade = $\mu\text{gF}/\text{cm}^2/\text{h}$). Os CIVs apresentam maior potencial de liberação e recarga de fluoreto que os compósitos, porém não se pode dizer que a liberação de fluoreto é diretamente

proporcional ao potencial cariostático, esses resultados sugerem que material a base de CIV devem ser utilizados em paciente alto risco à cárie.

Attar, Turgut,⁴ em 2003, investigaram as características e liberação de fluoreto de resinas compostas flow (Heliomolar Flow, Tetric Flow, Wave, Perma Flo), compomer flow (Dyract flow), cimento de ionômero de vidro convencional com diferente razão pó/líquido (ChemFlex e ChemFlex condensável), resina composta (SureFil), compósito liberador de íons (Ariston pHc) e cimento de ionômero de vidro modificado por resina (Vitremer). 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 da água deionizada e armazenado em 37 °C. A água deionizada foi mudada a cada 24 H e a liberação do fluoreto foi medida por 30 dias. No fim deste período, as amostras foram recarregadas com 2 mL de gel acidulado de fluoreto de Fosfato 1.23% (APF) por quatro minutos. Então, todos os espécimes foram mensurados por 10 dias adicionais. A liberação de fluoreto de todos os materiais foi maior após o primeiro dia que segue a refluoretação e o Ariston pHc liberou a maior quantidade entre todos os materiais. Após dois dias da refluoretação, a taxa de liberação do fluoreto para todos os materiais caiu rapidamente e estabilizou-se dentro de três dias.

Dionysopoulos et al.,³⁴ em 2003, avaliaram a capacidade de materiais restauradores na liberação de fluoreto em cavidade radicular. Classes V foram preparadas na superfície lingual de 30 pré - molares extraídos e restauradas por

poliácido modificado por resina composta (F-2000, Hytac e Compoglass F), cimento de ionômero de vidro modificado por resina (Fuji II LC), ionômero de vidro convencional (Ketac-Fil), e resina composta (Z-100). Após cinco semanas em um gel ácido para formação de lesão cariiosa, os dentes foram seccionados longitudinalmente e examinados por luz polarizada. Os resultados demonstraram que a restauração com poliácido modificado por resina composta e cimento de ionômero de vidro modificado por resina podem ter grande relevância na prevenção da cárie secundária.

Em 2003, Pedrini et al.,⁷⁹ analisaram a liberação de fluoreto em materiais restauradores (Vitremer, Ketac-Fil II LC e Freedom), durante dois períodos de 15 dias, antes e após aplicação tópica de fluorfosfato acidulado. Foram confeccionados 6 espécimes de cada material e estocados em 2 mL de água deionizada, as leituras foram realizadas a cada 24 H durante 15 dias. Após este período os espécimes foram tratados com ATF 1.23%, pH 3,6 a 3,9, por 4 min, lavados com água deionizada e novamente imersos em tubos com água deionizada. As soluções foram coletadas diariamente e estocadas a 4 °C. A análise de variância e o teste de Tukey ($p < 0,05$) mostraram que a média total de fluoreto liberado durante os 15 dias iniciais foi maior para o Vitremer e o Ketac-Fil e menores para o Fuji II LC e Freedom; e nos 15 dias finais apresentaram diferença de liberação, com maior valor para o Vitremer, seguido pelo Fuji II LC, Ketac-Fil e Freedom. A comparação dos resultados entre o 1^o dia e o 16^o dia (após aplicação do gel) mostrou uma maior liberação de flúor no 16^o para o Vitremer, Fuji II LC e

Freedom e igual para o Ketac-Fil. Alguns fatores devem ser levados em conta, como: diferença na composição, difusão do F em cada material, energia de superfície, porosidade, solubilidade do material. A maior liberação nas primeiras 24 horas, ocorreu provavelmente devido a reação de presa do cimento ser gradual, facilitando a liberação iônica dos elementos ativos. O mecanismo exato da liberação do F⁻ não é sabido, entretanto, fatores como permeabilidade, forma e concentração do material podem estar envolvidos. Embora todos os materiais avaliados reincorporaram fluoreto pela aplicação de fluorfosfato acidulado, os dados sugerem que, os cimentos de ionômero de vidro modificados por resina são mais eficientes para liberar íons flúor que os outros materiais.

A evolução e inibição do processo de cárie através de modelo de ciclagem de pH, e avaliação do efeito do fluoreto na desmineralização de esmalte foi observado por Argenta et al.,² 2003. Espécimes com molares humanos foram preparados, polidos e protegidos por verniz. A dureza foi realizada no baseline, 25g por 5s, sendo escolhido aleatoriamente 32 espécimes para formar 4 grupos: água destilada (controle), soluções com 70, 140, 280 ppm de íons flúor – soluções diluídas para simular uma higiene oral. Cada espécime foi submetido à ciclagem de pH durante 5 dias (3H – desmineralização) e permaneceram em solução remineralizadora por 2 dias para preservar o esmalte e sugerir lesão de cárie incipiente. A leitura da microdureza superficial foi realizada nos mesmos parâmetros do baseline e análise da microscopia. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos estudados, pois todos os espécimes

apresentaram lesão de cárie incipiente, com perda de mineral e redução em volume, sendo o fluoreto responsável por diminuir a profundidade da lesão de cárie. Íon flúor em baixa concentração não interfere na resposta do tratamento. Portanto, foi possível avaliar a variação de mineral ocorrida nas camadas mais superficiais do esmalte durante o desenvolvimento da cárie, e foi observado o efeito dose-resposta do F⁻, reduzindo a desmineralização do esmalte.

Em 2003, Carey,¹⁹ avaliou, *in vitro*, a hipótese que o pH afeta significativamente a liberação de fluoreto no CIV. Durante o processo da cárie, um ambiente ácido ataca os tecidos dentais bem como o cimento de ionômero de vidro. Assim, através do método de fluxo contínuo, os autores verificaram a liberação de fluoreto do CIV (Ketac Fil) em pH neutro e ácido. Os resultados demonstraram que o grau de liberação de íons flúor em água destilada com pH neutro foi significativamente menor que a liberação em solução com pH 4,0. No período de 72 H, a taxa de liberação do fluoreto inicial apresentava-se com níveis altos diminuindo gradativamente em 3 dias.

Nicholson, Czarnecka,⁷⁶ em 2004, realizaram um estudo, *in vitro*, para comparar a interação de três compômeros (Dyract AP, Compoglass F e F2000) em diferente meio de imersão, água pH 5,9 e ácido láctico pH 2,7. Discos fotoativados destes materiais (12.8 mm de diâmetro x 1 mm de profundidade) foram preparados e armazenados em 5 cm da solução determinada. Após uma semana, alteração de massa, pH e liberação de íons foram mensurados. Para os espécimes

armazenados em água, o efeito da maturação sob circunstâncias neutras foi estudado por 3 meses. Para o armazenamento no ácido láctico, por uma semana adicional, depois do qual, a liberação do íon e a mudança de pH foram determinadas. Através do teste t' student, os três compômeros absorveram água e alteraram o pH das soluções, embora este fosse somente estatisticamente significativo no ácido láctico. Foram encontrados, pela liberação de íons, Na, CA, Sr, Al, Si, P e F, sendo liberadas em maiores quantidades em meio ácido que em meio neutro, sendo a proporção do fluoreto livre (não complexado) menor que em circunstâncias neutras. Isto foi atribuído à formação de fortes complexos com alumínio. Espécimes maturados por 3 meses tiveram pequena diferença em sua interação com a solução ácida, à exceção da liberação total do fluoreto, que foi duas à três vezes maior que dos espécimes não maturados.

Devido às propriedades anticariogênicas presente no alumínio (Al^{3+}) e fluoreto (F^-), Hayacibara et al.,⁵⁷ em 2004, avaliaram a liberação do Al^{3+} e F^- dos materiais ionoméricos alterando o meio de imersão. A liberação simultânea do F^- e do Al^{3+} foi avaliada sobre 15 dias em três meios: água destilada e deionizada (H_2O), saliva artificial (AS) e soluções que simulam um desafio cariogênico (pH - dando um ciclo nas soluções desmineralizadora e remineralizadora, Des/Re). Seis espécimes cilíndricos de cada material testado (Ketac-Fil, Vitremer, Fuji LC e F ortho 2000) foram preparados e suspensos individualmente em 1.0 mL de cada solução, trocadas diariamente. O F^- e Al^{3+} foram determinados pelo eletrodo íon - seletivo e por absorção atômica O ionômero de vidro modificado por resina,

Vitremer, liberou quantidade significativa de F^- e de Al^{3+} nas soluções Des/Re comparado aos outros materiais. Diferença estatisticamente significante entre os materiais também foram observados em H_2O e AS.

Bertolini et al.,¹⁰ 2004, estudaram a preparação de dois sistemas vítreos para o uso como cimentos de ionômero de vidro. Os vidros baseados na composição $SiO_2-Al_2O_3-Nb_2O_5-CaO$ foram preparados pela via química a $700^\circ C$. Os autores reportam que foi possível a obtenção dos CIVs a partir dos vidros preparados, sendo essas estruturas essenciais para obter-se o controle do tempo de adaptação.

Sá et al.,⁸⁴ em 2004, analisaram as propriedades anticariogênicas de três materiais contendo fluoreto na superfície radicular, utilizando dois diferentes modelos de cárie. Cavidades padronizadas foram preparadas em espécimes de dentina e restauradas com cimento de ionômero de vidro, cimento de ionômero de vidro modificado por resina, poliácido modificado por resina composta ou resina composta. 56 espécimes utilizaram modelo de cárie microbiológico por três dias, e 56 espécimes foram desmineralizados utilizando um modelo químico por três dias. Cimento de ionômero de vidro demonstrou significativa propriedade anti-cariogênica quando exposto ao modelo químico, entretanto, nenhuma propriedade anti-cariogênica foi observada no modelo microbiológico.

Yli-Urpo et al.,¹⁰⁷ em 2004, avaliaram a liberação de sílica (Si), cálcio (Ca^{++}), fósforo (P^{++}), e fluoreto (F^-) de cimento de ionômero de vidro convencional e cimento de ionômero de vidro modificado por resina, contendo quantidades diferentes do vidro bioativo. Um objetivo adicional foi avaliar a biomineralização da dentina, *in vitro*. A liberação da sílica aumentou proporcionalmente ao tempo de imersão nos espécimes com biovidros, visto que a quantidade de Ca e de P diminuiu, indicando, *in vitro*, uma bioatividade dos materiais. Cimento de ionômero de vidro modificado por resina com o 30 wt% de vidro bioativo demonstrou maior bioatividade. Portanto, materiais restauradores contendo CIV e biovidros podem iniciar a biomineralização na superfície da dentina, *in vitro*.

Bertolini et al.,¹¹ 2005, prepararam pós-referente ao sistema ternário $\text{SiO}_2 - \text{Al}_2\text{O}_3 - \text{CaO}$ (a base de vidros usados na preparação dos cimentos de ionômeros de vidro) pelo método dos precursores poliméricos, visando aplicações odontológicas. Os cimentos preparados a partir do vidro obtido pelo processo químico apresentaram características como manipulação e tempo de presa similar ao CIV comercial.

Ainda em 2005, Bertolini et al.,⁹ prepararam e caracterizaram sistemas vítreos à base de aluminossilicato de cálcio. As propriedades para os cimentos de ionômero de vidro experimental como: a microdureza e tração diametral foram influenciadas pela razão pó/líquido.

Yli-Urpo et al.,¹⁰⁶ 2005, determinaram a força de compressão, módulo de elasticidade e dureza de cimento de ionômero de vidro convencional e CIV modificado por resina após adição de partículas de vidro bioativas. Um CIV experimental foi misturado com partículas de vidro bioativas em 10 ou 30% tendo como presa: convencional ou fotoativada (CIV modificada por resina). Os espécimes foram confeccionados em moldes cilíndricos aguardados 1 hora e estocados em 20 mL de água deionizada, sendo os testes realizados no 1, 3, 7, 14, 30, 180 dias. O MEV foi efetivado para acompanhar mudanças topográficas superficiais. A força de compressão diminuiu com a adição de vidros bioativos. A força de compressão dos CIVs modificados por resina aumentou com a imersão, mas, diminuiu nos outros materiais. O CIV convencional teve aumento de 55% na dureza em relação ao CIV modificado por resina. Houve a detecção de Ca^{2+} nos materiais bioativos. A concentração de F^- foi maior nos materiais bioativos e CIVRM após 180 dias de imersão. Esses materiais poderiam ser utilizados na clínica odontológica, em aplicações na qual, a força compressiva não é essencial, como proteção de raiz e base forradora.

Itota et al.,⁶⁴ 2006, realizaram um estudo, *in vitro*, cujo objetivo foi avaliar a remineralização da dentina residual desmineralizada e protegida por material forrador com ação de liberar fluoreto. Dois cimentos de ionômero de vidro foram utilizados, Lining Cements e RK-141 A, e dois cimentos forradores resinosos com e sem 5 wt% NaF. Cavidades classe V foram preparadas em pré-molares extraídos

por indicação ortodôntica. A dentina desmineralizada foi induzida por sistema bacteriano e as cavidades foram restauradas com resina composta após a confecção de base protetora. A análise radiográfica permitiu concluir que o fluoreto liberado dos materiais forradores pode permitir uma remineralização dentinária.

Em 2006, Gandolfi et al.,⁵⁰ avaliaram a liberação de flúor de dois cimentos de ionômero de vidro imersos por tempo pré-estabelecido, em soluções de pH variando entre 2,5 a 7. Outro objetivo foi avaliar a eficácia de tratamento adicional com NaF na liberação de fluoreto. Assim, informações adicionais da morfologia foram obtidas por MEV antes e pós-tratamento. Dois CIVs (Fuji VII e Fuji IX) foram analisados e manipulados de acordo com as instruções do fabricante. 36 espécimes foram preparados e divididos em três grupos: pH 2, pH 5, pH 7. Os espécimes foram estocados em solução de pH específico e armazenados em estufa 37 °C por três semanas, sendo realizadas as trocas de soluções nos dias 1, 4, 7, 14, 21. Após 21 dias, os espécimes foram imersos em solução de NaF 1100ppm de F, por três minutos, simulando higiene oral. Novamente foram submetidos às soluções de pH específico e mensurados durante 3 dias os valores de fluoreto liberado, posteriormente realizado MEV. Os resultados demonstraram que houve destruição significativa dos espécimes submetidos às soluções de pH 2, não havendo diferenças significantes nos espécimes de pH 5 e pH 7. Ocorreu grande liberação de fluoreto com o passar do tempo e após 14 dias, a concentração alcançou um platô, sendo que o processo de recarga demonstrou resultados

estatisticamente significantes apenas no pH 2, em particular no 1^o dia. Os autores discutiram a liberação do fluoreto por três métodos: Lavagem superficial, difusão por poros e fraturas (ocorreu no 1^o dia), e difusão em massa (requer mais tempo em estocagem). Soluções ácidas afetam a reação dos CIVs.

Chan et al.,²¹ 2006 compararam a liberação de fluoreto de materiais ionoméricos comercial, CIVs modificado por resina e resina composta, além de entender o processo de liberação de fluoreto. Os materiais foram preparados de acordo com as instruções do fabricante, armazenados em 25 mL de água deionizada à 37 °C por um período de 300 dias, após a água foi analisada por um eletrodo específico par íons flúor. A velocidade de liberação do fluoreto mostrou-se maior no primeiro dia com decréscimo significativo após uma semana. A velocidade de liberação para os CIVs e CIV modificado por resina foi maior que os compósitos. Alguns materiais apresentaram a liberação de fluoreto por rápido processo de dissolução. Contudo, a adição de HEMA faz com que ocorra uma liberação inicial menor que os convencionais, e isso só é benéfico se essa liberação de flúor for constante.

Yan et al.,¹⁰⁵ 2007, avaliaram o efeito da temperatura ambiente na liberação do fluoreto e habilidade de recarga dos cimentos de ionômero de vidro. Cinco espécimes (15 mm no diâmetro e 1 mm de espessura) foram confeccionados de cada um materiais: ionômero de vidro forrador convencional, dois ionômero de vidro restaurador de alta viscosidade e ionômero de vidro

restaurador modificado por resina composta. A liberação do fluoreto de cada material foi medida em 4 °C, 37 °C, e 55 °C. Os espécimes foram armazenados em água destilada por 30 dias e recarregados em solução de fluoreto de 250 ppm por cinco minutos. Em todas as temperaturas, o ionômero de vidro convencional demonstrou maior liberação de fluoreto e habilidade de recarga, seguido pelo ionômero de vidro modificado por resina, e os ionômero vidro com alta viscosidade. Para todos os materiais, a liberação de fluoreto aumenta com o aumento da temperatura e todos os ionômeros de vidro demonstraram uma habilidade de recarga maior em altas temperaturas.

2.2 Atividade antibacteriana

Deschepper et al.,³⁰ em 1989, avaliaram o potencial bactericida de diversos materiais forradores fotoativados em cepas de *Streptococcus mutans* # 6715. A liberação de fluoreto, os testes de determinação de pH, e teste de difusão em ágar foram executados para definir a atividade antibacteriana. Dois materiais forradores liberaram fluoreto no ágar em excesso ao valor inibitório mínimo de 20 ppm. Outros quatro materiais liberaram o fluoreto abaixo dos valores inibitório relatados, e não alcançaram pH abaixo de 4,0. Assim, sugere-se que o cimento de ionômero de vidro fotoativado reage similarmente ao cimento de ionômero de vidro convencional, no que diz respeito, a atividade antibacteriana do *Streptococcus mutans*. A atividade antibacteriana foi dependente em pH baixo. A liberação de fluoreto pode não ser o principal mecanismo de ação antibacteriana, entretanto, não se pode ignorada.

Deschepper et al.,³¹ em 1989, analisaram o efeito antibacteriano, e o pH de 11 cimentos de ionômero de vidro. Os componentes individuais: pó e líquido, e um cimento de ionômero de vidro resinoso forrador com alta concentração de fluoreto foram testados sobre cepas de *Streptococcus mutans* # 6715. Através do teste de difusão em ágar, todos os cimentos de ionômero de vidro convencionais apresentaram atividade inibitória para *Streptococcus mutans*. A atividade antibacteriana dos componentes foi testada pela variação de pH, sendo observado perda do efeito bactericida quando o pH foi ajustado a 5. O cimento de ionômero resinoso foi inativo para o *Streptococcus mutans* e não liberaram concentrações

inibitórias de fluoreto. Portanto, os cimentos de ionômero de vidro apresentam atividade antibacteriana ao *Streptococcus mutans* e o mecanismo de ação é provavelmente em função do fluoreto e do pH embora fatores adicionais possam estar envolvidos.

Eli et al.,³⁷ em 1995, avaliaram a atividade antibacteriana de cimentos forradores: Vitrebond, Dycal, e Life. O teste foi baseado no teste de difusão em ágar modificado, em que as amostras foram colocadas nas placas de ágar inoculadas previamente com *Streptococcus mutans*, e removidas após períodos de tempo pré-determinado. O efeito do material no crescimento bacteriano foi avaliado. Os resultados demonstram que o Vitrebond apresenta efeito antibacteriano mais efetivo que o Dycal e Life, evidente após 1 minuto do contato direto com as bactérias inoculadas.

Friedl et al.,⁴⁸ em 1997, avaliaram a liberação de fluoreto de cimento de ionômero de vidro, cermet, cimento de ionômero de vidro modificado por resina, compômero, e a influência de cada material no crescimento bacteriano. Os espécimes foram armazenados em solução salina por 180 dias. A cada 2 dias, as soluções foram trocadas e o índice de fluoreto mensurado. Em 48 H, 14, 90, e 180 dias foram inoculados com *Streptococcus mutans* e o crescimento bacteriano foi gravado nefelometricamente. A liberação do fluoreto caiu de 6.2 (Ketac-Silver) e 29.3 (Photac-Fil) ppm após 48 H a valores entre 0.6 (Ketac-Silver) e 1.7 (Ketac-Fil, Vitremer) ppm após 180 dias. Todos os materiais reduziram o crescimento

bacteriano, mas o efeito bacteriano inibitório diminuiu significativamente com o tempo, em crescimento máximo de 71.7% (Ketac-Fil) a 85.6% (Ketac-Silver) após 48 h e 94.7 (Vitremer) a 99.0% (Ketac-Silver) após 180 dias (controle do crescimento = 100%). O Ketac-Silver e Dyract mostraram menor efeito inibindo. Porém todos os materiais diminuíram drasticamente a ação inibitória sobre o período 180 dias.

Geurtsen et al.,⁵⁴ 1998, avaliaram a liberação de íons em meio aquoso de cimentos de ionômero de vidro fotoativados, compômero, e a citotoxicidade destas substâncias eliminadas. Os espécimes foram preparados e armazenados em água ou meio de cultura por 24 horas (relação superfície-líquido 42.4 mm²/mL).. Em todos os extratos, diversas substâncias orgânicas foram encontradas: (Co) monômeros (especialmente HEMA e compostos de etileno glicol), aditivos (canforoquinona e difeniliodoniumclorido), e produtos de decomposição. O Vitrebond liberou iniciador DPICl, e o Dyract Cem segregou uma quantidade relativamente elevada do comonômero TEGDMA [2966 %CF]. Os dados atuais mostram que TEGDMA e DPICl podem ser considerados como principais causas para reações de citotoxicidade envolvendo cimento de ionômero de vidro fotoativado Conseqüentemente, a liberação destas substâncias deve ser minimizada ou impedida.

Herrera et al.,⁶² em 2000, utilizaram 103 amostras clínicas de dentina cariada para avaliar a ação antibacteriana de diferentes materiais adesivos

resinosos (Gluma 2000, Syntac, Prisma Universal Bond 3, Scotchbond Multi-Purpose e Prime&Bond 2.0), cimento de ionômero de vidro (Ketac-Cem, Ketac-Bond, Ketac-Silver, Ketac-Fil), cimento de ionômero de vidro modificado por resina (Fuji II LC, Vitremer e Vitrebond) e compômero (Dyract). O método da difusão em placa de ágar foi utilizado para culturas microbiológicas e controle com clorexidina. O crescimento dos microorganismos foi inibido eficazmente pelos cimentos Vitremer e Vitrebond, e a pouca influência pelo sistema adesivo Scotchbond Multi-Purpose.

Kozai et al.,⁶⁶ em 2000, avaliaram as propriedades antibacteriana e adesiva de selantes fluoretados (Teethmate F-1, TF; UltraSea-1 XT, E. U.), e não fluoretados (Teethmate A, Ta) - e ionômero de vidro para forramento fluoretado (Vitrebond) frente às bactérias orais, in vivo. Vitrebond inibiu o crescimento do *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*. e do *Lactobacillus casei* aeróbico e anaeróbico, o Ta e os E. U. inibiram o crescimento somente do *Streptococcus mutans* aeróbico. Vitrebond demonstrou maior concentração de fluoreto liberado durante quatro semanas, e obteve o maior valor de pH. Evidenciando ação antibacteriana superior comparado com outros três materiais.

Gálvez et al.,⁴⁹ em 2000, avaliaram, in vitro, a liberação de flúor em água deionizada por 14 dias e a atividade antimicrobiana contra o *Streptococcus mutans* # GS-5, de dois compômeros restauradores, o Dyract e o Compoglass. A atividade contra o *Streptococcus mutans* foi medida através do teste de fermentação em

caldo por um período de 7 dias, com leitura do pH a cada 24 horas; da quantificação de carboidratos e proteínas depositados sobre os espécimes; e do teste de difusão em ágar. O Dyract liberou de $0,039 \pm 0,011 \mu\text{gF}/\text{mm}^2$ no primeiro dia a $0,019 \pm 0,004 \mu\text{gF}/\text{mm}^2$ no 14^o dia, enquanto o Compoglass liberou $0,039 \pm 0,017 \mu\text{gF}/\text{mm}^2$ a $0,008 \pm 0,002 \mu\text{gF}/\text{mm}^2$, com diferença significativa entre ambos a partir do 4^o dia ($p < 0,05$). Os compômeros não evitaram a fermentação pelo microrganismo, permanecendo o pH abaixo de 4,5 em todos os dias, e não inibiram o crescimento no teste de difusão. Apenas no teste de produção de placa sobre os compômeros e pastilhas de aço, foi verificada menor quantidade de proteína no depósito produzido sobre o Dyract, que no controle ($p < 0,05$). Por esses resultados, os materiais em questão podem não ser os mais indicados em situações de risco à cárie.

Herrera et al.,⁶¹ em 2001, avaliaram, in vitro, a atividade antibacteriana dos cimentos de ionômero de vidro restaurador (Ketac-Cem, Ketac-Bond, Ketac-Silver e Vitrebond) por meio de cinco bactérias envolvidas no desenvolvimento da cárie: *Streptococcus spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Actinomyces spp.*, *Porphyromonas spp.* e *Clostridium spp.* O método de difusão em placa de ágar foi usado para as culturas, que incluíram um controle do positivo do clorexidina. Todos os cimentos de ionômero de vidro testados inibiram o crescimento bacteriano, porém com diferenças consideráveis. Dos quatro cimentos, o Vitrebond, um cimento de ionômero de vidro modificado por resina, foi o inibidor bacteriano mais eficaz.

Sanders et al.,⁸⁶ em 2002, determinaram o efeito em propriedades mecânicas e a atividade antibacteriana de um cimento de ionômero de vidro modificado por resina e acrescido de diclogunato de clorexidina 5% (CHX). Os espécimes foram testados para dureza, tração diametral e erosão em 24 H com intervalos de 6 semanas e atividade antibacteriana semanalmente por 6 semanas. Assim, a adição de CHX ao material Photac-fil, não alterou as propriedades físicas durante o período de tempo testado, resultando em maior redução de *Streptococcus mutans* quando comparado ao cimento de ionômero de vidro sem adição de clorexidina.

Boeckh et al.,¹³ em 2002, avaliaram o efeito antibacteriano com *Streptococcus mutans* de uma resina composta micro-híbrido (FH-RC; Tetric Ceram), resina composta (Ariston pHc), cimento de ionômero de vidro convencional (SC-GIC; Ketac-Molar), cimento de ionômero de vidro modificado por resina (RM-GIC; Photac-Fil), e um cimento de óxido do zinco e eugenol (ZOE; IRM). A suspensão bacteriana foi colocada em cavidades cônicas de 20-microL dos materiais. Após 0, 4, 8, 24, 48 H e 1 semana de incubação, as suspensões foram removidas e o número de bactérias viável foi determinado. A maior atividade antibacteriana observada foi com ZOE. O efeito inibitório do Ariston pHc foi similar ao SC-GIC e do RM-GIC.

Botelho¹⁵ em 2003, avaliou a capacidade antibacteriana do cimento de ionômero de vidro do acrescido de agentes antibacterianos, através do teste de

difusão em ágar. O hidróclorido de Clorexidina, o cloreto de cetilpiridina, o cetrímide e o cloreto de benzalconium foram adicionados ao GIC, Fuji IX em 0, em 1, em 2 e em 4% w/w. Os espécimes foram colocados em placas de ágar inoculadas com espécies bacterianas (*Streptococcus*, *Lactobacillus*, e *Actinomyces*, dois cada) e o halo de inibição foi calculado após 24H. A adição de agentes antibacterianos ao Fuji IX permitiu, *in vitro*, o desenvolvimento de material com ação microbiológica significativa, sendo este dependente da concentração e do tipo de agente antibacteriano, e parece estar associada com liberação inicial do agente antibacteriano da camada superficial do espécime.

Os materiais ionoméricos liberam proporções diferentes do fluoreto e de alumínio. Hayacibara et al.,⁵⁸ em 2003, avaliaram o efeito simultâneo na acidogenicidade e na composição do biofilme do *Streptococcus mutans* de diferentes compostos. Seis espécimes cilíndricos de cada material (Ketac-fil, Vitremer, Fuji-Ortho LC, F-2000, e Z-100) foram incubados com *Streptococcus mutans* GS-5, no meio de cultura contendo 5% (w/v) de sacarose. Os meios foram mudados diariamente durante sete dias, e mensurado pH, concentração de fluoreto e alumínio. Além disso, as concentrações destes íons e polissacarídeos insolúveis foram determinadas no biofilme. Os resultados demonstraram que todos os materiais testados liberaram fluoreto. Entretanto, o Vitremer liberou a maior quantidade de alumínio, sendo mais eficaz em reduzir a acidogenicidade de biofilmes com *Streptococcus mutans*. Além de afetar significativamente a

formação e a composição do biofilme. Assim, o alumínio liberado por materiais ionoméricos pode ressaltar os efeitos biológicos do fluoreto.

Costa et al.,²⁵ 2003, avaliaram a resposta do complexo dentino-pulpar em cavidades profundas de dentes humanos, submetidos a ação do cimento de ionômero de vidro modificado por resina ou sistema adesivo. Cavidades classe V foram preparadas na superfície lingual de 26 pré-molares. No grupo 1 as paredes da cavidade (dentina) e o esmalte foram condicionados com ácido fosfórico 32% e aplicado sistema adesivo de um passo (Bisco). Nos grupos 2 e 3, antes do condicionamento ácido e sistema adesivo, o assoalho da cavidade foi forrado com cimento de ionômero de vidro modificado por resina - Vitrebond ou o cimento de hidróxido de cálcio - Dycal (grupo controle), respectivamente. As cavidades foram restauradas com resina composta Z-100. Os dentes foram extraídos entre 5 e 30 dias e preparados para a avaliação microscópica. No grupo 1, a resposta inflamatória foi mais evidente que nos grupos 2 e 3. A difusão de componentes dos materiais através dos túbulos dentinários foi observada somente no grupo 1, em que a intensidade da resposta pulpar aumentou, enquanto a espessura restante de dentina diminuiu. As bactérias foram evidenciadas nas paredes laterais de duas amostras (grupo 2), porém não demonstraram resposta inflamatória do tecido. O condicionamento ácido total seguido por aplicação de sistema adesivo não pode ser recomendado como procedimentos adequados em cavidades profundas. Nestas condições clínicas as paredes da cavidade devem protegidas com material biocompatível, tal como Vitrebond ou Dycal.

Costa et al.,²⁴ em 2003, avaliaram os efeitos citotóxicos de cinco cimentos de ionômero de vidro em cultura de células odontoblastóides (MDPC-23). Discos de cada material foram preparados e divididos em grupos 1: Vitrebond, Grupo 2: Vitremer, Grupo 3: Fuji II Lc, Grupo 4: Fuji IX GP, Grupo 5: Ketac-Molar, Grupo 6: Z-100 (controle positivo), grupo 7: solução salina de tampão fosfato foi aplicada em papel-filtro (controle negativo). Após ter colocado os espécimes no fundo dos poços, as células (30.000 céls/cm²) foram plaqueadas e incubadas por 72 H. O número de células foi contado, a morfologia avaliada através de microscopia eletrônica de varredura e o metabolismo celular avaliado. Apesar de todos os materiais testados apresentarem citotoxicidade às células MDPC-23, os cimentos de ionômero de vidro demonstraram menor ação citotóxica, enquanto que os cimentos de ionômero de vidro modificado por resinas obtiveram os maiores valores.

Lewinstein et al.,⁶⁸ em 2005, avaliaram as propriedades antibacterianas de 3 cimentos (Durelon, Harvad, Ketac Cem), utilizando teste de contato direto e teste de difusão em ágar. Para o teste de difusão em ágar, os espécimes dos cimentos, em triplicata, foram inseridos em poços uniformes (5 mm de diâmetro) perfurado na placa de ágar e inoculado com *Streptococcus mutans*. Após a incubação em 37 °C por 24 horas, as placas de ágar foram examinadas para o crescimento bacteriano e o diâmetro do halo foi mensurado. Em ambos os testes, cada cimento foi misturado em 2 relações distintas de razão pó/liquido No teste de

difusão em ágar, nenhuma atividade antibacteriana foi observada para os cimentos testados. As relações distintas da razão pó/líquido tiveram um efeito insignificante nas propriedades antibacterianas dos cimentos testados. Os cimentos de Duralon e de Harvard possuíram propriedades antibacterianas prolongadas, enquanto Ketac-Cem não exibiu nenhuma atividade antibacteriana.

Duque et al.,³⁶ em 2005, avaliaram a atividade antibacteriana dos cimentos de ionômero de vidro Vitrebond, Ketac Molar, e Fuji IX em presença do *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Lactobacillus acidophilus* e *viscosus*, utilizando o teste de difusão em ágar. Os inóculos foram semeados em caldo BHI e inoculados a 37 °C por 24 horas. As camadas que continham 15 mL de ágar BHI e 300 microL de cada bactérias em suspensão foram preparadas em placas de Petri. Seis poços de 4 mm de diâmetro foram confeccionados em cada placa e preenchidos completamente com os materiais testando. Uma solução do clorexidina 0.2% aplicada em papéis de filtro redondos foi usada como controle. Os testes foram executados em duplicata para cada material e bactéria. Após a incubação das placas em 37 °C por 24 horas, o halo de inibição do crescimento bacteriano foi medido. Os resultados mostraram a seguinte seqüência da atividade antibacteriana: Vitrebond > Clorexidina 0.2% > Ketac Molar > Fuji IX, de acordo com testes estatísticos de Kruskal-Wallis e de Mann-Whitney. Este estudo confirmou a atividade antibacteriana significativa para dois cimentos de ionômero de vidro convencionais e um cimento de ionômero de vidro modificado por resina. O Vitrebond, independente do modo de ativação, apresentou a melhor atividade

antibacteriana para *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus*. A atividade antibacteriana para *Actinomyces viscosus* do Vitrebond foi similar a clorexidina 0.2%.

Vermeersch et al.,¹⁰⁰ em 2005, avaliaram a atividade antibacteriana de cimento de ionômero de vidro convencional, cimento de ionômero de vidro modificado por resina, poliácido-modificado por resina e resina composta, em *Streptococcus mutans*. O teste de difusão em ágar foi utilizado com quatro meios diferentes para avaliar. A relação entre pH do material e atividade antibacteriana foi mensurada. Todos os CIVs demonstraram propriedades antibacterianas, em contraste a resina composta e poliácido-modificado por resina. O Vitrebond exibiu maior ação antibacteriana, provavelmente por causa de um foto-iniciador citotóxico (difeniliodoniumcloride). Foi observada relação direta entre pH do material e inibição do crescimento do *Streptococcus mutans*.

Silva et al.,⁹⁰ em 2007, avaliaram a atividade antibacteriana de quatro cimentos de ionômero de vidro (Fuji IX, molar de Ketac, Vidrion R e Vitromolar) em bactérias envolvidas no desenvolvimento de doenças orais, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Lactobacillus acidophilus* e *viscosus* e *Actinomyces*. O teste de difusão em ágar foi utilizado para as culturas, e incluíram a clorexidina como controle positivo. Todos os cimentos avaliados apresentaram atividade antibacteriana. O Fuji IX e o Ketac Molar demonstraram atividade antibacteriana mais eficaz.

Slutsky et al.,⁹¹ em 2007, avaliaram as propriedades antibacterianas de 4 cimentos usando o teste do contato direto (DCT) e o teste da difusão do ágar (ADT). O ADT foi executado usando placas de ágar do *Mitis salivarius*. Cada placa foi inoculada uniformemente com os *Streptococcus mutans* recentemente crescidos. Duas amostras de cada material testado – Relyx ARC, Variolink II, GC Fuji CEM, e Controle - foram colocadas, e o halo da inibição foi mensurado após 48 horas. No ADT, o GC Fuji CEM mostrou uma zona da inibição de 2.0 +/- 0.3 mm, e o controle demonstrou uma zona da inibição de 1.2 +/- 0.2 mm. Nenhum dos cimentos testados neste estudo possui propriedades antibacterianas em longo prazo.

3 Proposição

Avaliar, in vitro, comparativamente a atividade antibacteriana, liberação e capacidade de recarga de fluoreto de dois cimentos de ionômeros de vidro comerciais e um cimento de ionômero de vidro experimental desenvolvido no Instituto de Química – UNESP – Araraquara, submetido a um modelo de ciclagem de pH.

4 Material e método

4.1 Material

Para o presente estudo foram utilizados dois materiais ionoméricos, já comercializados e consagrados e um cimento desenvolvido no Instituto de Química de Araraquara – UNESP composto de um pó e de um líquido experimentais que deram origem a cinco Grupos de estudo. Estes materiais e respectivos Grupos se encontram apresentados na Figura 3 e no Quadro 1, a seguir:



FIGURA 3 – Materiais utilizados no estudo.

Quadro 1 - Grupos, materiais, fabricante, classificação, composição e lote

Grupos	Materiais	Fabricante	Classificação	Composição	Lote No.
Grupo I	Vitrebond (pó + líquido)	3M ESPE (USA)	CIV fotoativado	Pó: vidro de fluoraluminossilicato Líquido: Copolímero do ácido polialcenólico, água, HEMA, fotoativador	6KA
Grupo II	Ionomaster F (pó + líquido)	WILCOS (ARGENTINA)	CIV quimicamente ativado	Pó: vidro de fluoraluminossilicato de cálcio Líquido: solução aquosa de ácido poliacrílico e tartárico	ADS0890
Grupo III	Pó Experimental + Líquido Vitrebond	QUÍMICA – UNESP + 3M ESPE (USA)	CIV fotoativado	Pó: fluoraluminossilicato de cálcio contendo nióbio Líquido: Copolímero do ácido polialcenólico, água, HEMA, fotoativador	IQ + 6KA
Grupo IV	Pó Experimental + Líquido Ionomaster F	QUÍMICA – UNESP + WILCOS (BRASIL)	CIV quimicamente ativado	Pó: fluoraluminossilicato de cálcio contendo nióbio Líquido: solução aquosa de ácido poliacrílico e tartárico	IQ + ADS0890
Grupo V	Pó Experimental + Líquido Experimental	QUÍMICA - UNESP	CIV quimicamente ativado	Pó: fluoraluminossilicato de cálcio contendo nióbio Líquido: solução aquosa de ácido poliacrílico + aditivos	IQ

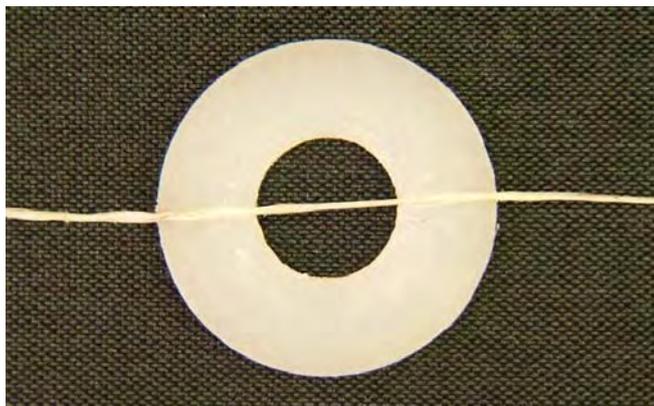
Quadro 2 - Grupo, material, relação Pó/Líquido

GRUPO	MATERIAL	RELAÇÃO PÓ/LÍQUIDO
GI	Vitrebond	Fabricante (P/L-0,77)
GII	Ionomaster F	Fabricante (P/L-1,3)
GIII	Pó Experimental + Líquido Vitrebond	1 colher dosadora do Vitrebond (0,0412 g) + 1 gota do Líquido (P/L-0,54)
GIV	Pó Experimental + Líquido Ionomaster F	1 colher dosadora do Ionomaster F (0,0587 g) + 1 gota do Líquido (P/L-0,90)
GV	Pó Experimental + Líquido Experimental	1 colher dosadora do Experimental (0,0500 g) + 1 gota do Líquido (ácido poliacrílico + aditivos) (P/L-0,56)
GVI	Digluconato de clorexidina 0,2% (controle)	-----

4.2 Métodos

4.2.1 Liberação e reincorporação de fluoreto

Para a análise da liberação e capacidade de recarga de fluoreto foram confeccionados 10 espécimes para cada um dos cinco grupos experimentais, os quais foram distribuídos uniformemente em sistema de ciclagem de pH (soluções de desmineralização/remineralização alternadamente). Foi utilizada uma matriz de *nylon* com 26 mm de diâmetro e 1,5 mm de espessura, com orifício central de 11 mm de diâmetro e uma fenda para a colocação de fio dental (Figura 4), possibilitando a suspensão dos espécimes para sua imersão.

FIGURA 4 – Matriz de *Nylon*.

Desta forma, à temperatura ambiente, de aproximadamente 25 °C, e com a matriz colocada sobre uma placa de vidro, devidamente resfriada, estando o fio dental convenientemente posicionado (Figura 5), os materiais foram manipulados de acordo com as instruções de cada fabricante, e a inserção dos mesmos, para o preenchimento da matriz, foi realizada com auxílio da seringa Centrix (Figura 6).



FIGURA 5 – Placa de vidro inferior, matriz e fio dental.

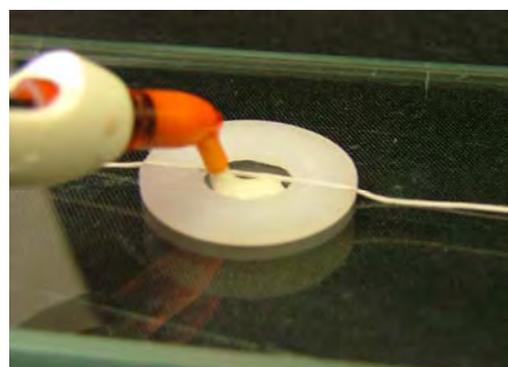


FIGURA 6 – Preenchimento da matriz com seringa centrix.

Após preenchimento da matriz com o material em ligeiro excesso, uma fina tira de poliéster foi colocada sobre o conjunto (Figura 7) e sobre esta, nova placa de vidro foi posicionada (Figura 8) permanecendo nessa posição durante 7 minutos, tempo este necessário para que ocorresse a reação de endurecimento dos materiais ionoméricos quimicamente ativados.

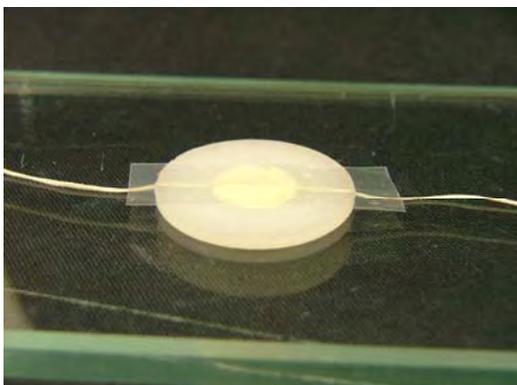


FIGURA 7 – Tira de poliéster posicionada sobre o material e a matriz.



FIGURA 8 – Placa de vidro superior sobre o conjunto.

Para os materiais, cujo endurecimento se fazia através da interação luz/espécime, foi utilizado aparelho fotopolimerizador CL-K200 – Kondortech, com 600 mW/cm^2 de intensidade, aferida a cada grupo de três espécimes com auxílio de radiômetro (Demetron Research Corp.) (Figuras 9a e 9b).



FIGURA 9a – Fotopolimerizador CL-K200.

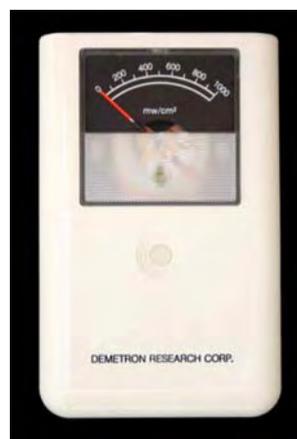


FIGURA 9b – Radiômetro.

A fotopolimerização foi realizada, de tal forma que o aparelho ao ser ativado, a ponta fotopolimerizadora permanecesse em ativação por 40 segundos,

em contato direto, com cada uma das placas de vidro, ou seja, superior (Figura 10a) e inferior (Figura 10b).

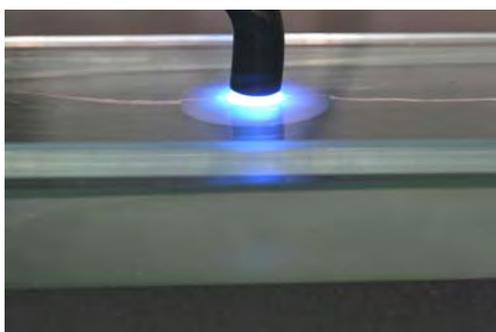


FIGURA 10a – Fotopolimerização do material através da placa de vidro superior.



FIGURA 10b – Fotopolimerização do material através da placa de vidro inferior.

A seguir, após o tempo final da presa inicial, determinado visualmente pela perda de brilho, os espécimes foram separados da matriz e protegidos com vaselina pastosa para evitar a sinérese e embebição (Figura 11). Em seguida, os espécimes foram armazenados em um recipiente que permitiu a obtenção de umidade relativa 100%, por 24 horas, em estufa a 35-37 °C (Figura 12). Decorrido este tempo, os excessos foram removidos com lâminas de bisturi e discos para polimento de resina composta Sof-lex – 3M (Figura 13).



FIGURA 11 – Proteção superficial dos espécimes com vaselina pastosa.



FIGURA 12 – Armazenamento dos espécimes em umidade relativa 100%.



FIGURA 13 – Materiais para acabamento e polimento dos espécimes.

A seguir, procedeu-se o início do desafio cariogênico (ciclos de Des/Re). Para tal, as amostras foram suspensas pelo fio dental, previamente inserido nos materiais quando da obtenção dos espécimes, em tubos de ensaio plásticos com tampa, os quais foram vedados com cera 7 para evitar evaporação da solução de imersão (Figura 14).



FIGURA 14 – Espécime imersa em solução Des/Re.

Assim, conforme acima demonstrado, os espécimes, da ordem de 50 (cinquenta) foram imersos em 2,0 mL de solução do sistema de ciclagem de pH, permanecendo 6 horas na solução desmineralizadora e 18 horas na solução remineralizadora durante um período de 15 dias.

O sistema de ciclagem de pH utilizado foi semelhante ao desenvolvido por Featherstone,³⁹ 1986 e empregado por Carvalho, Cury,²⁰ 1999, sendo composto por uma solução de desmineralização contendo 2,0 mM P e 75 mM tampão acetato, pH 4,3 e uma solução de remineralização composta de 1,5 mM Ca, 0,9 mM P, 150 mM KCl e 20 mM cacodilato, pH 7,0 (Figura 15).

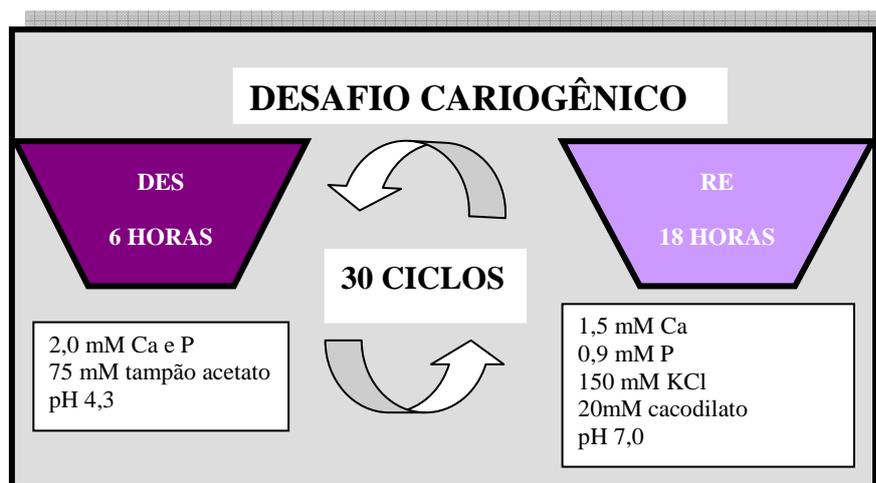


FIGURA 15 – Desafio cariogênico durante um mês.

Os espécimes permaneceram em máquina específica para Banho-Maria, (Figura 16) numa temperatura de 37 °C, interrompidos somente nos períodos de troca da solução. Durante as trocas, os espécimes foram removidos das soluções e o excesso de umidade foi retirado com papel absorvente. Em seguida, os espécimes foram colocados em nova solução que havia sido mantida em estufa à

37 °C por uma hora. Os tubos foram armazenados em câmara fria à temperatura de aproximadamente 4 °C, por um período máximo de 60 dias até a leitura.



FIGURA 16 – Máquina para Banho-Maria a 37 °C.

Após um ciclo de 15 dias, os espécimes foram submetidos a uma aplicação tópica de flúor acidulado 1,23%, pH variando de 3,6 à 3,9, por 4 minutos. Decorrido o tempo de aplicação do flúor tópico, cada espécime foi lavado abundantemente por 30 segundos em água deionizada. A seguir, a umidade foi removida com papel absorvente e os espécimes submetidos à nova ciclagem de pH, objetivando análise da reincorporação do fluoreto ao material quando submetido ao desafio cariogênico simulando situação de alto risco à cárie^{14,52}.

A concentração de fluoreto liberada nas soluções foi mensurada diariamente, durante 30 dias, com um eletrodo combinado específico para íon flúor, o qual foi calibrado previamente a leitura com solução-padrão (0,05 a 12,8 µg F/ml em TISAB II) (Figura 17).



FIGURA 17 – Eletrodo F específico Orion modelo 9609-BN.

Assim, os valores das leituras de F^- , em milivoltagem, nas soluções foram transformados em concentração de F^- liberado por material (mg F/L).

Para análise do F^- liberado, para cada 2 mL da amostra foi adicionado igual volume de TISAB II (1,0 M tampão acetato, pH 5,0 contendo 1,0 M NaCl e EDTA 0,4%). Tanto os tubos da amostra, como os frascos preparados com TISAB II foram agitados em um agitador de tubos previamente às leituras.

Os resultados encontrados nas soluções de desmineralização e remineralização foram somados para a obtenção da liberação de fluoreto em 24 H.

4.2.2 Atividade antibacteriana

A atividade antibacteriana de cada material foi avaliada para as seguintes bactérias: *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus* e *Actinomyces viscosus* utilizando o teste de difusão em ágar. As cepas indicadoras foram semeadas em Brain Heart Infusion (BHI, Difco Laboratories, Detroit, MI), por 48

H, a 35-37 °C, de acordo com as características fisiológicas de cada microrganismo.

Deste crescimento, as bactérias resultantes foram replicadas para 5 mL de BHI, por 24 horas, a 35-37 °C, para obtenção de uma suspensão, denominada inocúlo (turbidez 0.5 da escala MacFarland – aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC por mL de meio de cultura) (Figura 18).



FIGURA 18 – Obtenção do inocúlo.

O teste de sensibilidade foi realizado segundo a técnica de “Hole-plate”, por difusão em ágar. Após a confecção do meio de cultura em placa de Petri, seis poços, medindo 4 mm de diâmetro, foram efetuados por meio de perfurações em pontos equidistantes de cada placa, com auxílio de moldes metálicos estéreis, permitindo uma maior concentração das substâncias e facilidade de leitura (Figura 19).

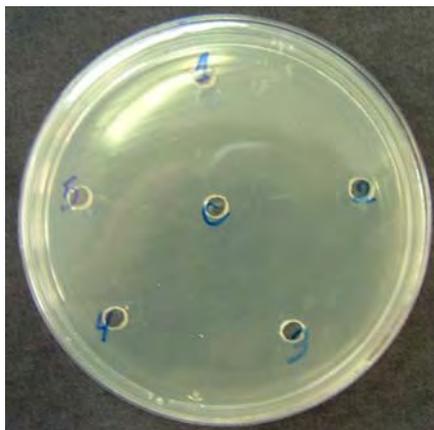


FIGURA 19 – Poços confeccionados em BHI ágar (4 mm de diâmetro).

Para cada material e cepa bacteriana foram confeccionados dez poços, distribuídos igualmente em trinta placas de Petri. Os poços foram numerados previamente a inserção dos materiais para facilitar a distinção entre os grupos, sendo completamente preenchidos com os materiais-teste utilizando uma seringa Centrix (DFL Indústria e Comércio Ltda, Rio de Janeiro, Brasil). Todos os materiais foram manipulados, sob condições assépticas, de acordo com as instruções do fabricante. Como controle positivo (GVI), digluconato de clorexidina a 0,2% na forma aquosa foi inserido também nos orifícios. Para os cimentos de ionômero quimicamente ativados a reação de presa ocorreu naturalmente em 7 min. Para os cimentos de ionômero de vidro fotoativados após a inserção dos materiais nos orifícios ocorreu a fotopolimerização direta 40s sobre a placa de Petri, por meio de aparelho fotopolimerizador CL-K200 – Kondortech, com 600 mW/cm^2 , sem qualquer alteração na atividade bacteriana, testada através da realização de teste piloto e com base na literatura^{22,36}. As placas foram mantidas em temperatura ambiente por 2 horas, para pré-difusão dos materiais e depois incubadas a $37 \text{ }^\circ\text{C}$, por 24, 48, 72 horas. Os halos de inibição foram

medidos durante o período de incubação, utilizando uma régua milimetrada e o método visual, auxiliado pelo estereomicroscópio (Figura 20).

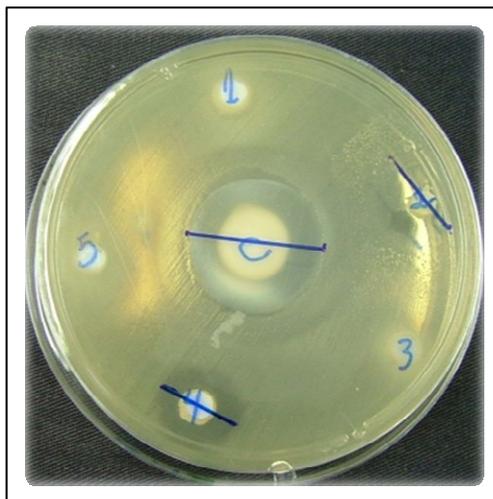


FIGURA 20 – Formação do halo de inibição bacteriano.

Todas as medidas foram determinadas a partir de dois pontos opostos localizados nos limites mais interno do diâmetro do halo de inibição formado ao redor de cada poço.

4.2.3. Planejamento Estatístico

Liberação de Fluoreto

Na liberação de fluoreto, os dados foram avaliados previamente pelo teste de Kolmogorov-Smirnov, $P < 0,05$, buscando possível distribuição normal. Com os resultados aderidos á distribuição normal, os testes realizados foram testes paramétricos: ANOVA teste de Tukey e Scheffé ($p < 0,05$), por meio do programa

XLSTAT Microsoft Excel (Microsoft, EUA). Estes testes visam comparar os cinco grupos quanto às diferenças estatisticamente significantes. A representação gráfica será realizada pelo programa Origin 7.0 (Microcal Inc, EUA).

Atividade antimicrobiana

No presente estudo, o halo de inibição para cada microrganismo será considerado como uma variável distinta. Os dados iniciais para os três materiais, que apresentaram atividade antibacteriana, em cada um dos tempos experimentais, serão analisados por meio do teste de Kruskal-Wallis. Esse é um método não paramétrico de comparação entre três ou mais grupos independentes, pelo qual é testada a hipótese de que os grupos apresentam postos médios semelhantes. Essa comparação visa apenas comprovar que os halos de inibição apresentavam as mesmas medidas, independente do tempo e do material. O uso de estatística não paramétrica justificou-se quando a maioria dos grupos não adere à distribuição normal (teste de Kolmogorov-Smirnov, $P < 0,05$), apesar da homogeneidade de variâncias para duas das três espécies testadas (teste de Levene, $P > 0,05$).

No caso do teste de Kruskal-Wallis apontar diferença significativa entre os diversos níveis, uma comparação *post hoc* será realizada por meio do teste de Dunn. Essa análise será feita aos pares, onde se compara apenas os diferentes níveis de um fator de acordo com o mesmo nível do segundo. Em outras palavras, o teste não considerará par como, por exemplo, Vitrebond (24 horas) x Controle (48 horas). Independente do teste, o nível de significância foi de 0,05. Para a execução dos cálculos estatísticos em geral, será utilizado o programa

computacional SPSS 12.0.0 for Windows (SPSS Inc, Chicago, Ill., EUA) e para o teste de Dunn, o programa InStat 3.06 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, EUA).

5 Resultado

5.1 Liberação e reincorporação de fluoreto

Os dados de liberação de fluoreto dos 5 Grupos dos cimentos (mg/L) foram analisados pelo programa ANOVA e teste de Tukey e Scheffé ($p < 0,05$) encontram-se na Tabela 1 e anexo 2. Nesses testes os períodos analisados foram de 24 H, 7, 15, 16, 21 28 e 30 dias.

Tabela 1 – Resultados (médias $\pm \sigma$, n= 10) de fluoreto liberados (mg/L) em função dos grupos analisados e tempo de imersão nas soluções Des/Re

PERÍODOS (dias)	GRUPOS				
	GI	GII	GIII	GIV	GV
	VIT	ION	EX P+ VIT	EXP + ION	EXP + EXP
1	32,1 \pm 2,7 ^a	72,3 \pm 3,3 ^b	3,8 \pm 0,3 ^c	5,4 \pm 0,6 ^c	6,9 \pm 0,5 ^c
7	19,9 \pm 1,5 ^a	33,5 \pm 2,3 ^b	1,8 \pm 0,1 ^c	2,4 \pm 0,2 ^c	1,9 \pm 0,2 ^c
15	19,0 \pm 1,0 ^a	30,5 \pm 2,9 ^b	1,7 \pm 0,1 ^c	1,3 \pm 0,07 ^c	1,3 \pm 0,1 ^c
16	70,0 \pm 5,0 ^a	84,0 \pm 5,3 ^b	40,4 \pm 2,0 ^c	42,7 \pm 2,9 ^c	33,0 \pm 3,3 ^c
21	30,6 \pm 1,6 ^a	21,7 \pm 1,8 ^b	14,1 \pm 0,9 ^c	4,3 \pm 0,4 ^d	3,0 \pm 0,4 ^d
28	19,0 \pm 1,0 ^a	20,0 \pm 2,0 ^a	3,0 \pm 0,4 ^b	1,3 \pm 0,1 ^b	1,9 \pm 0,07 ^b
30	17,5 \pm 1,6 ^a	21,0 \pm 1,6 ^b	2,4 \pm 0,1 ^c	2,2 \pm 0,1 ^c	2,7 \pm 0,2 ^c
TOTAL	208,1 \pm 15,4	283,0 \pm 19,2	67,2 \pm 3,9	59,6 \pm 4,4	50,7 \pm 4,8

Letras diferentes demonstram diferença estatisticamente significante ($p < 0,05$) na vertical e horizontal

A Tabela 1 demonstra uma relação tempo-dependente desses materiais, que do 1^o ao 16^o dia e no 30^o o Grupo GI (Vitrebond (P/L) apresentou diferença estatisticamente significante de todos os Grupos testados. O Grupo GII –

Ionomaster F (P/L) apresentou diferença estatisticamente significativa frente aos Grupos GIII (Pó Experimental + Líquido Vitrebond), Grupo GIV (Pó Experimental + Ionomaster F) e Grupo GV (Pó Experimental + Líquido Experimental), os quais não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre si. Assim, pode ser apresentado em ordem de maior ou menor significância em relação à liberação que $GII > GI > GIII = GIV = GV$, onde a maior liberação de Fluoreto foi observada no Grupo GII.

No 21^o dia, os Grupos GI, GII e GIII demonstraram diferença significativa entre si enquanto os Grupos GIV, GV apresentaram-se estatisticamente semelhantes entre si, o que pode ser apresentado em ordem de maior ou menor significância em relação à liberação que, $GI > GII$, sendo que $GI > GII > GIII > GIV = GV$ onde a maior liberação de Fluoreto foi observada no Grupo GI.

No 28^o dia, os Grupos GI e GII apresentaram semelhança estatística entre si, e diferenças dos Grupos GIII, GIV e GV estatisticamente semelhantes entre si, podendo estas ocorrências serem apresentadas em ordem de maior ou menor significância em relação à liberação que, $GI = GII > GIII = GIV = GV$ onde a maior liberação de Fluoreto foi observada nos Grupos GI e GII.

Estes resultados podem ser visualizados nas Figuras 21 e 22.

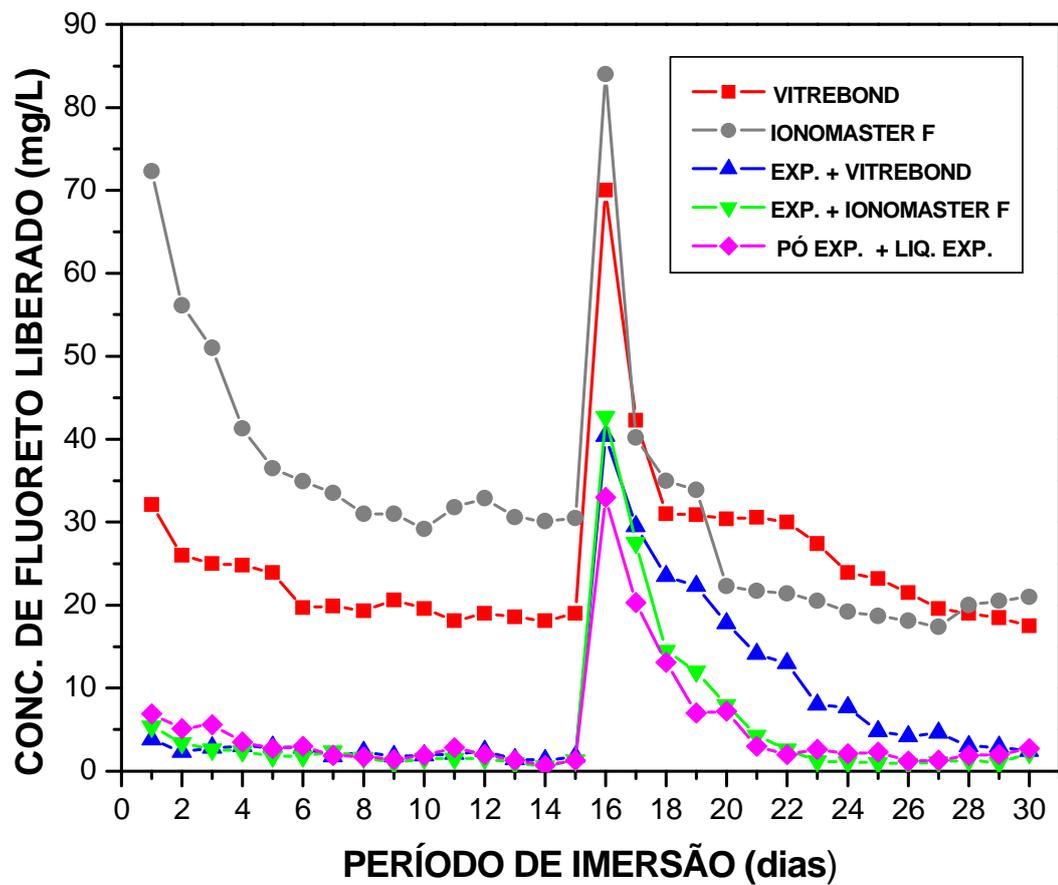


FIGURA 21 – Gráfico dos valores médios de fluoreto liberado em Solução Des/Re durante os 30 dias de avaliação dos grupos testados.

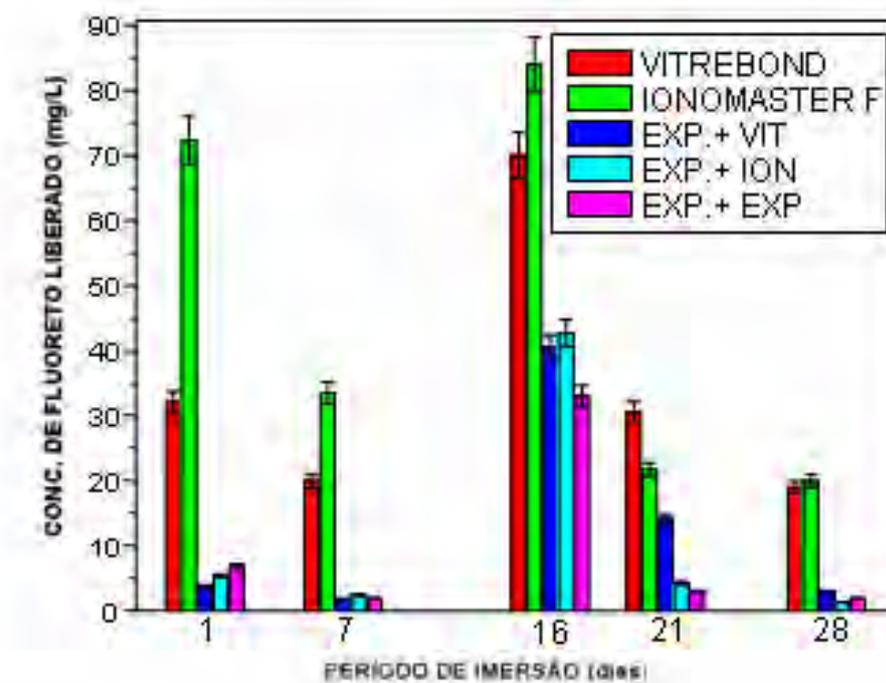


FIGURA 22 - Representação gráfica dos valores médios liberado em solução Des/Re nos períodos de 1, 7, 16, 21, 28 dias, dos cinco Grupos testados.

5.2 Atividade Antibacteriana

As Figuras de 23 a 25 mostram gráficos do tipo *box-plot* com os resultados obtidos para o halo de inibição, por espécie avaliada. Importante ressaltar que os Grupos GII, GIV e GV não apresentaram atividade antibacteriana, e o Grupo VI representou o controle positivo (solução de digluconato de clorexidina a 0,2%).

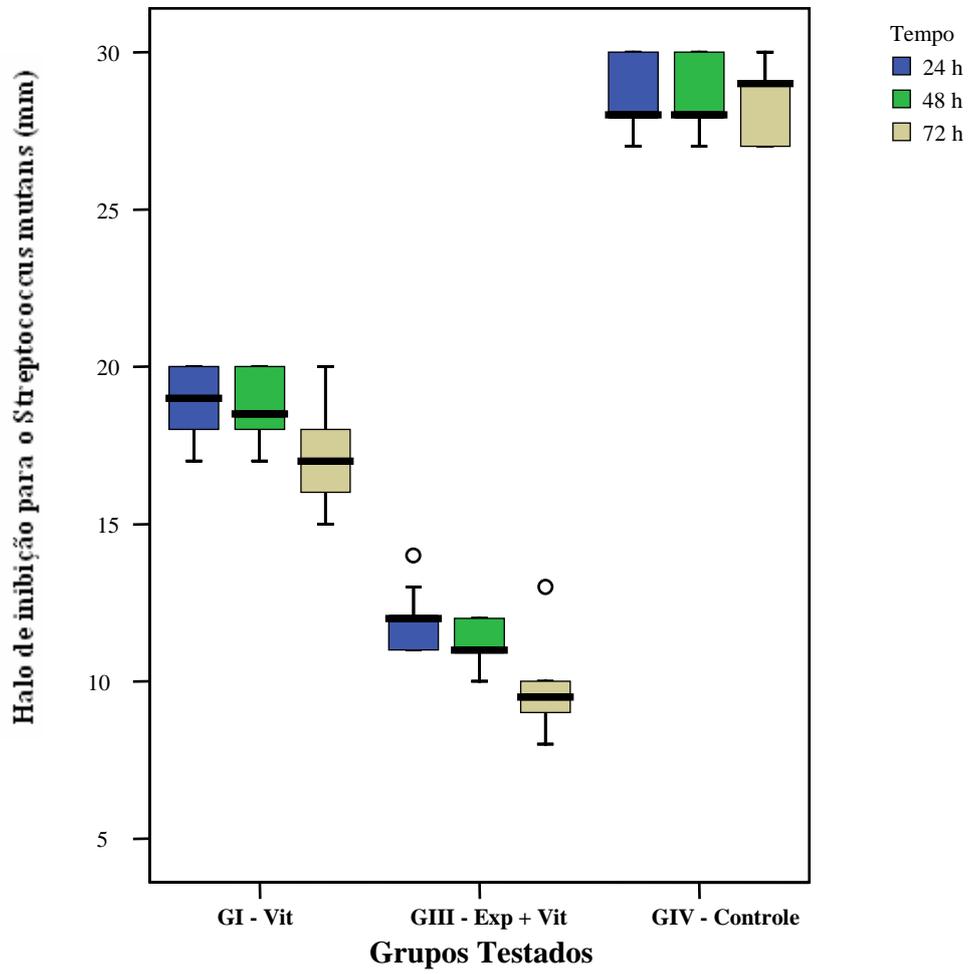


FIGURA 23 - Halo de inibição frente ao *Streptococcus mutans*, para cada Grupo e tempos testados.

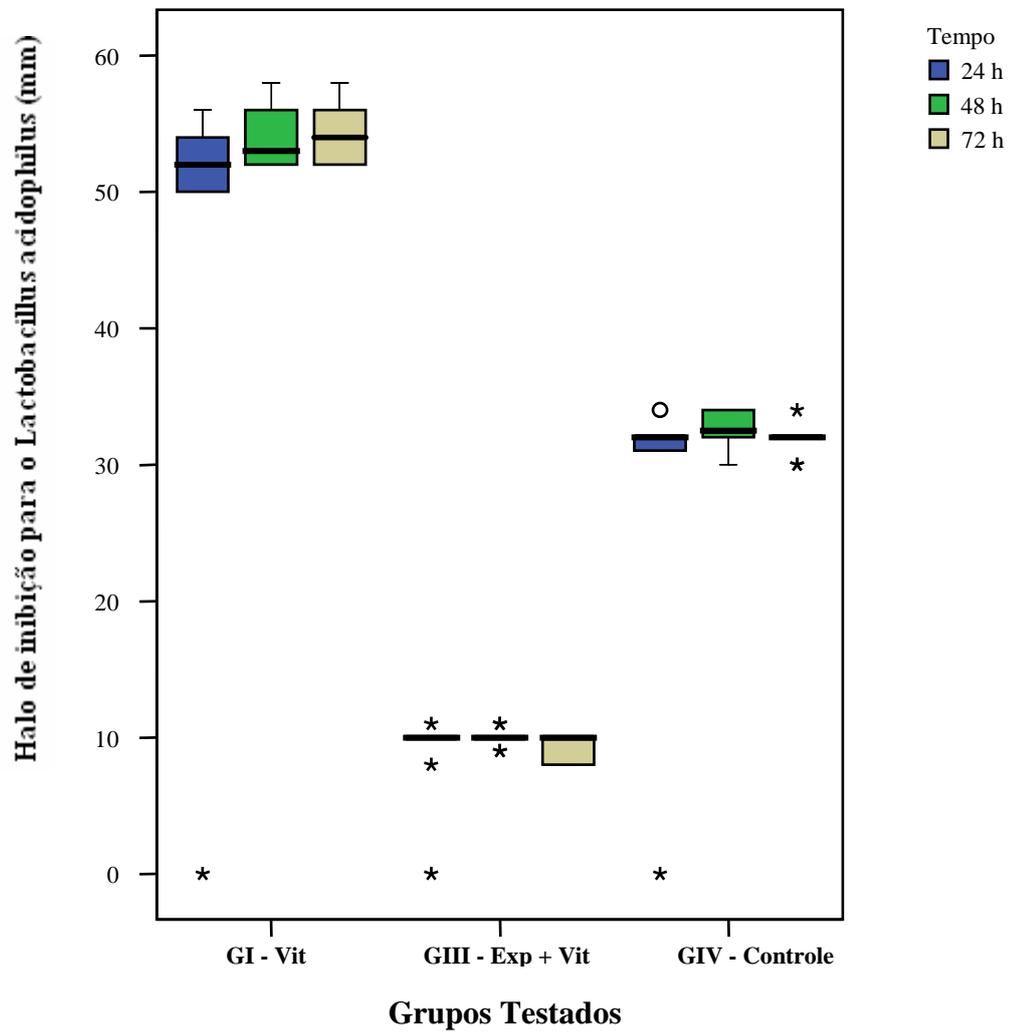


FIGURA 24 - Halo de inibição frente ao *Lactobacillus acidophilus*, para cada Grupo e tempos testados.

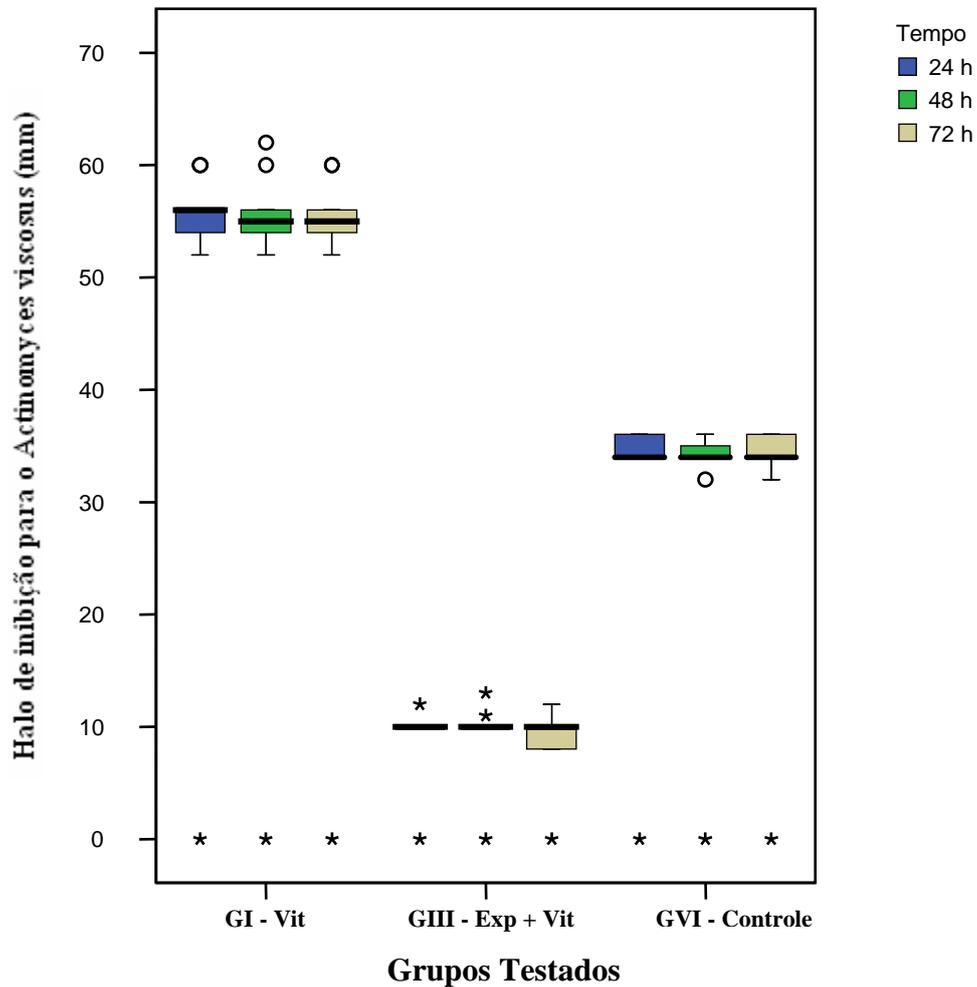


FIGURA 25 - Halo de inibição frente ao *Actinomyces viscosus*, para cada Grupo e tempos testados.

O teste de Kruskal-Wallis encontrou diferença significativa entre as situações experimentais para as três espécies testadas (*S. mutans*: $H=82,194$, $P<0,001$; *L. acidophilus*: $H=73,028$, $P<0,001$; *A. viscosus*: $H=53,192$, $P<0,001$).

As Tabelas de 2 a 4 contêm os postos médios para cada situação e respectivos resultados do teste de Dunn.

Tabela 2 - Postos médios para o halo de inibição frente ao *Streptococcus mutans*, e comparação entre os materiais e tempos testados*

Grupos	Tempo		
	24 h	48 h	72 h
GI	49,15 ABa	48,40 ABa	38,95 ABa
G III	22,25 Aa	16,50 Aa	7,75 Aa
Controle	76,05 Ba	75,35 Ba	75,10 Ba

* Verticalmente, letras maiúsculas semelhantes indicam semelhança entre os materiais. Horizontalmente, letras minúsculas semelhantes indicam semelhança entre os tempos.

Tabela 3 - Postos médios para o halo de inibição frente ao *Lactobacillus acidophilus*, e comparação entre os materiais e tempos testados*

Grupos	Tempo		
	24 h	48 h	72 h
G I	65,10 Aa	76,85 Aa	78,65 Aa
G III	17,85 Ba	20,00 Ba	14,55 Ba
Controle	40,40 ABa	50,90 ABa	45,20 ABa

* Verticalmente, letras maiúsculas semelhantes indicam semelhança entre os materiais. Horizontalmente, letras minúsculas semelhantes indicam semelhança entre os tempos.

Tabela 4 - Postos médios para o halo de inibição frente ao *Actinomyces viscosus*, e comparação entre os materiais e tempos testados*

Grupos	Tempo		
	24 h	48 h	72 h
G I	70,30 Aa	69,70 Aa	69,40 Aa
G III	21,95 Ba	23,15 Ba	18,50 Ba
Controle	46,25 ABa	44,90 ABa	45,35 ABa

* Verticalmente, letras maiúsculas semelhantes indicam semelhança entre os materiais. Horizontalmente, letras minúsculas semelhantes indicam semelhança entre os tempos.

6 Discussão

O fluoreto é um dos principais elementos de combate à lesão de cárie. Para Larsen⁶⁷ em 1990, o aumento na concentração de fluoreto parece alterar o nível de saturação mineral, favorecendo a formação de fluorapatita e reduzindo a dissolução da hidroxiapatita, causada pela produção de ácidos da placa bacteriana. Desta forma, salienta-se a importância do fluoreto constantemente presente na cavidade oral e na utilização em materiais odontológicos que tenham capacidade de liberar e recarregar fluoreto à estrutura dentária, deixando-a mais resistente à solubilidade em meio ácido^{32,85}.

Para Carvalho, Cury²⁰ em 1999, é importante que a análise quantitativa de fluoreto liberado seja realizada utilizando-se espécimes imersos em solução que reproduzam o ambiente bucal, ou seja, onde haja períodos de desmineralização e remineralização, pela ciclagem de pH. Assim, no presente estudo foi empregado um modelo dinâmico de des/re, modificado a partir do modelo desenvolvido por Featherstone et al.⁴⁰. Este método idealizado por Featherstone et al.,³⁹ em 1986, consegue representar uma situação intrabucal de alta cariogenicidade, momento este, que mais necessita da ação do fluoreto.

Segundo Cury et al.,²⁸ em 1993, a água deionizada normalmente utilizada para a avaliação da liberação de fluoreto, não simula a composição inorgânica, as interações superficiais, força iônica, pH do meio e grau de saturação, sendo que estes fatores são importantes para determinar a velocidade com que os fluoretos são liberados.

Diversos estudos^{19,28,42,43,44,89} demonstram que em pH ácido ocorre um aumento na liberação de fluoreto, opinião esta compartilhada também por Carvalho, Cury²⁰ em 1999, que observaram maior liberação de fluoreto em materiais restauradores durante ciclagem de pH (Des/Re) quando comparada à liberação em água e saliva artificial. É sugerido que, esta maior liberação em pH ácido ocorre por causa do aumento da dissolução das partículas de vidro, favorecendo perdas constantes de íons^{42,51}. Para, Bell et al.⁶ em 1999, a saliva artificial promove menor liberação de fluoreto, devido ao seu baixo gradiente de difusão entre os íons da saliva e material testado, sugerindo ainda que houvesse a formação de uma película na superfície do material que impediria a liberação de íons.

Antes da aplicação tópica de flúor (Tabela 1), os resultados desse estudo demonstraram maior liberação de fluoreto para o Ionomaster F, seguido do Vitrebond, e comportamento similar para os três grupos que utilizaram o pó experimental (composição semelhante). A concentração de fluoreto liberada foi maior nas primeiras 24 horas, diminuindo gradativamente até 7 dias, após esse período, a liberação tende a ficar constante, com formação de platô. Estes resultados estão de acordo com Dionysopoulos et al.,³³ 2003; Dionysopoulos et al.,³⁴ 2003; Karantakis et al.,⁶⁵ 2000; Swift,⁹⁴ 1988.

A maior concentração de fluoreto liberada foi observada nos períodos iniciais a manipulação dos cimentos ionoméricos pode ser explicada pelo fato de que estes materiais, tanto os convencionais quanto os modificados por resina em menor quantidade, possuem reação de presa gradual variando de 12 a 24 horas.

Assim, pode ocorrer grande movimentação iônica, facilitando a liberação de elementos ativos ionicamente, entre eles o fluoreto⁷⁹.

A liberação de fluoreto pode está relacionada com dois mecanismos básicos: a) liberação inicial - pela ação da água na dissolução dos componentes com fluoreto e por difusão devido à degradação da matriz e formação de *cracks*; e, b) longo prazo - devido à interação iônica entre o cimento e o meio bucal, sendo facilmente influenciada por alguns fatores, tais como: concentração de fluoreto extrínseco, pH, erosão ácida, permeabilidade, forma e concentração do material podem estar envolvidos^{52,83,94}.

Uma capacidade extremamente importante dos materiais ionoméricos é a habilidade de recarga de fluoreto. Em geral, materiais com alta liberação de fluoreto inicial apresentam elevada capacidade de recarga^{4,19,51}.

No 16^o dia, os espécimes foram submetidos a uma aplicação tópica de flúor demonstrando maior liberação de fluoreto para o Ionomaster, Vitrebond e os três grupos de pó experimental, porém todos os materiais apresentaram características de liberação de fluoreto diferentes entre si.

No 17^o dia ocorreu uma queda aguda na liberação de fluoreto para o Ionomaster ($84,0 \pm 5,3 - 40,2 \pm 2,5$) e o Vitrebond ($70,0 \pm 5,0 - 42,3 \pm 1,8$), diminuindo gradativamente até próximo ao 21^o dia. Após este período até o final do ciclo de 30 dias estes cimentos de ionômero de vidro tenderam a uma liberação constante. Para os grupos Experimental + Vitrebond ($40,4 \pm 2,0 - 29,5 \pm 2,4$); Experimental + Ionomaster ($42,7 \pm 2,9 - 27,5 \pm 2,0$) e Experimental + Experimental ($33,0 \pm 3,3 - 20,3 \pm 2,3$) a liberação de fluoreto foi menor que os

materiais comerciais, sugerindo a necessidade de maior adição de fluoreto na composição do pó, ou alterações na proporção pó/Líquido, entretanto, o grupo do cimento de ionômero de vidro modificado por resina (Experimental + Vitrebond) apresentou-se relativamente maior na liberação de fluoreto que os outros dois grupos do mesmo pó experimental. Ademais, o padrão de liberação também foi mais constante para o pó experimental, o que o tornaria interessante devido à presença contínua de fluoreto na cavidade bucal. De acordo com Ten Cate, Featherstone,⁹⁵ em 1991, sabe-se que a presença contínua de baixas concentrações de fluoreto pode inibir a desmineralização e favorecer a remineralização .

A liberação de fluoreto foi maior nas 24H após a aplicação de flúor tópico (16^o dia), para todos os grupos. Tal fato pode estar relacionado ao gel de flúor acidulado penetrar no material, reduzir a dureza superficial dos cimentos de ionômero de vidro, em intensidades diferentes dependente do material, e devido à viscosidade do gel acidulado, a remoção pela lavagem inicial após aplicação tópica de flúor dificultaria a remoção completado gel dentro dos poros e *cracks*^{52,93} .

Após o período inicial de 24 horas, a liberação de fluoreto passa a não ser exclusivamente por difusão iônica, mas por quebra de ligações intrínsecas ao material^{52,104} .

A liberação de fluoreto se dá por um processo complexo, no qual várias características microestruturais do compósito (porosidade, tamanho das partículas) e fatores intrínsecos podem afetar severamente esta dinâmica. Para Wiegand et al.,¹⁰² 2007, a solução de armazenamento, composição do material, pH da saliva,

formação de placa bacteriana ou película, razão pó/líquido, tempo de presa do material, superfície de área exposta, devem ser analisados. Alguns autores têm demonstrado que a razão pó/líquido pode alterar a velocidade de liberação do fluoreto (Vermeersch et al.,⁹⁹ 2001).

Outro fator relevante na liberação de fluoreto é a porosidade do material antes e depois da recarga, pois materiais com alta porosidade obviamente apresentam alta capacidade de estocar e liberar fluoreto. Porém, alta porosidade presente nos materiais apresenta efeitos adversos às propriedades mecânicas. A presença de componentes resinosos podem também diminuir essa liberação¹⁰⁴.

Os resultados deste estudo indicaram que três dos cinco cimentos de ionômero de vidro avaliados apresentaram atividade antibacteriana para as bactérias cariogênicas selecionadas. Essa propriedade antimicrobiana tem sido relacionada ao baixo pH inicial, liberação de fluoreto ou a outros componentes químicos encontrados no pó dos cimentos de ionômero de vidro (DeSchepper et al.,³⁰ 1989; Loyola-Rodriguez et al.,⁶⁹ 1994).

Além de facilitar a remineralização dos tecidos dentários durante os processos cíclicos de desmineralização e remineralização, o fluoreto atua sobre microrganismos cariogênicos, alterando seu estado fisiológico. Os três principais mecanismos de inibição do crescimento bacteriano pelo fluoreto são: a adesão direta de F^-/HF a enzimas e outras proteínas bacterianas, a formação de complexos flúor-metal e a ação como um carregador de prótons transmembrana (Marquis et al.,⁷¹ 2003). Altas concentrações de flúor, variando de 0,16 a 0,3 mol/l podem inibir o crescimento bacteriano (Bowden,¹⁶ 1990; Wiegand et al.,¹⁰² 2007).

O teste de difusão em ágar é um método aceito para diferenciar inicialmente a atividade antibacteriana dos materiais, entretanto apresenta algumas limitações. Uma delas é a impossibilidade de determinar se o resultado obtido para um material específico refletiu seu efeito bactericida ou somente bacteriostático. Além disso, é extremamente difícil comparar dados de inibição bacteriana obtidos em diferentes estudos utilizando essa técnica, mesmo quando se trata do mesmo material, por causa das variáveis envolvidas (Tobias et al.,⁹⁶ 1985), como o tipo de meio de cultura e o número de microrganismos inoculados.

Neste estudo, o cimento de ionômero de vidro modificado por resina, Vitrebond, obteve os maiores halos de inibição contra *Actinomyces Viscosus* e *Lactobacillus. Acidophilus*, (mm), o controle foi superior para *Streptococcus mutans*, enquanto que o grupo experimental + Vitrebond apresentou valores de halo de inibição menores para todas as bactérias avaliadas. Importante ressaltar que os halos de inibição permaneceram sem variação de tamanho no decorrer do tempo (24, 48, 72H).

Para os grupos Ionomaster, Experimental + Ionomaster, e Experimental + Experimental nenhuma atividade inibitória mensurável foi observada contra *Streptococcus mutans*, *Actinomyces Viscosus* e *Lactobacillus acidophilus*, sugerindo a necessidade de incorporação de agentes antibacterianos, como a clorexidina, na composição desses cimentos.

Outros estudos também têm demonstrado excelente atividade antibacteriana para o Vitrebond (DeSchepper et al.,³¹ Loyola-Rodriguez et al.,⁶⁹ 1994; Donly, Ingram,³⁵ 1997; Herrera et al.,⁶² 2000). Kozai et al.,⁶⁶ (2000)

verificaram uma grande associação entre a liberação de flúor (em torno de 6,93mg/l no primeiro dia) e a atividade antibacteriana do Vitrebond.

A liberação de fluoreto pelos cimentos de ionômero de vidro fotoativado, ou cimentos ionoméricos modificados por resina (CIVMR), é maior que a dos cimentos convencionais (Vermeersch et al.,⁹⁹ 2001). Esse achado poderia ser justificado pelo fato da proporção pó-líquido afetar o padrão de liberação de flúor (Forsten,⁴⁴ 1995).

Uma diferença marcante entre os cimentos de ionômero de vidro convencionais e os modificados por resina está associada à adição de monômeros hidrofílicos ao líquido dos CIVMR. Como esses monômeros são convencionalmente metacrilatos hidroxietil solúveis em água (HEMA), muitos autores atribuem a melhor atividade antibacteriana observada pelo Vitrebond à presença desse componente (Coogan, Creaven,²² 1993; Benderli et al.,⁷ 1997; Meiers et al.,⁷⁴ 1996). De fato, além do flúor, os CIVMR liberam outros componentes, inclusive o HEMA (Geurtsen et al.,⁵⁴ 1998). Entretanto, foi demonstrado que HEMA não apresenta efeito inibitório sobre bactérias cariogênicas como *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* e *Lactobacillus acidophilus* (Schmalz,⁸⁷ 2004). Outros componentes químicos como o sulfato de zinco, podem melhorar a atividade antibacteriana dos cimentos de ionômero de vidro. A adição de ZnSO₄ aos produtos ionoméricos aumenta significativamente a inibição do crescimento de *Streptococcus mutans* e a liberação de flúor sem interferir nas propriedades mecânicas desses materiais (Osinaga et al.,⁷⁸ 2003). O

zinco é um dos componentes presentes nas partículas de vidro do Vitrebond, o qual poderia contribuir para aumentar sua atividade antibacteriana.

Quando Vitrebond é fotoativado, uma reação exotérmica é gerada, aumentando a temperatura em torno de 20 °C^{13,15}. Embora essa alteração na temperatura seja significativa, parece não influenciar a atividade antibacteriana desse cimento, desde que efeitos inibitórios similares sobre o crescimento bacteriano têm sido demonstrados para sua condição química de ativação (Coogan, Creaven,²² 1993). Neste estudo, a condição de ativação direta sobre os poços dos CIVMR, não influenciou a atividade inibitória dos materiais e não causou a morte prematura das bactérias, comprovados através de testes pilotos e na literatura.

A atividade antibacteriana do Vitrebond poderia também estar associada à presença de altos níveis de agentes tóxicos em sua composição (Coogan, Creaven,²² 1993). Quando avaliado sobre cultura de células, os CIVMR mostraram efeitos citotóxicos acentuados comparáveis àqueles obtidos para materiais restauradores resinosos (Costa et al.,²⁵ 2003). Entretanto, quando aplicado em cavidades profundas confeccionadas em dentes humanos, o Vitrebond foi comparável ao cimento de hidróxido de cálcio, quanto à compatibilidade biológica (Costa et al.,²⁴ 2003). Para Vermeersch et al.,¹⁰⁰ 2005, há uma relação direta entre o pH dos materiais e a inibição do crescimento do *Streptococcus mutans*, à exceção de um CIVMR (Vitrebond) que apresenta uma zona maior da crescimento-inibição do que a zona ácida correspondente. Assim, sugere que, para este material, o efeito nas bactérias não pode somente ser devido

à liberação do fluoreto e à queda do pH. Observou-se que o Vitrebond é extremamente citotóxico em várias culturas de células em comparação com outros cimentos ionoméricos^{30,31}. Em seu estudo, Geurtsen et al.,⁵⁴ demonstraram que Vitrebond foi citotóxico para cultura de fibroblastos principalmente por causa da liberação do iniciador diphenyliodoniumchloride (DPICl), que inibiu quase por completamente o crescimento dos fibroblastos 3T3. Podendo também ser a razão para inibição do crescimento de *Streptococcus. mutans*. Gerami-Nejad, Stretton⁵³ demonstraram que DPICl inibe a atividade da membrana-limita ATPase, a troca dos cations e a estimulação simultâneo da glicólise. DPICl inibe também todos as dehidrogenases. Em meio protegido, a atividade anti-bacteriana do Vitrebond intensificou provavelmente por causa da sensibilidade do pH de DPICl. No estudo por Gerami-Nejad, Stretton⁵³ a atividade anti-bacteriana de DPICl aumenta com o pH elevado. Explica que possivelmente, em valores de pH mais elevado, mais droga é absorvida seguida por um aumento aparente na atividade antibacteriana.

Assim, a liberação de fluoreto pelos materiais ionoméricos é um fator importante, porém, não primordial para a inibição do crescimento bacteriano, sendo outros fatores como ambiente químico (vários íons, tonicidade do meio, constante dielétrica) e físico (molhabilidade, rugosidade, porosidade) preponderantes.

Para a clorexidina a amostragem microbiológica demonstrou redução nas contagens das bactérias aeróbicas e anaeróbicas que variam de 54% a 97% a 6 (seis) meses do uso⁸⁶. Assim, a clorexidina foi escolhido como o controle positivo

por causa de seu uso clínico difundido, enquanto um ponto comum para referência nas comparações com outros estudos⁶².

Duas propriedades importantes, que são fundamentais na escolha de um material para uso clínico, foram determinadas nessa pesquisa. No entanto, observou-se que o cimento Ionomaster F disponível no mercado, apesar de liberar altas concentrações de fluoreto, durante todo o ciclo, não apresentou atividade antibacteriana contra os microrganismos cariogênicos testados. No entanto, o cimento Vitrebond apresentou alta liberação de fluoreto com potencial para inibir o crescimento bacteriano. Para o cimento experimental, observou-se uma baixa liberação relativa de fluoreto, porém, mais constante do que os outros materiais testados, sendo que a atividade antibacteriana, embora baixa, foi observada apenas para o cimento experimental fotoativado.

Portanto, como se trata de um material experimental algumas modificações devem ser realizadas antes de possível uso clínico, ressaltamos a sugestão de que haja um aprimoramento de tal material, ou seja: maior adição de fluoreto ao pó, adição de agentes bactericidas e/ou bacteriostáticos ao líquido, porém sem efeito citotóxico, além de estudos sobre a biocompatibilidade do mesmo.

Alem disso, ressalta-se também, que a indústria Brasileira necessita importar todo pó de cimento de ionômero de vidro para dar início à fabricação de um cimento nacional, o que resulta um custo final elevado tanto para o cirurgião-dentista e conseqüentemente, para o paciente. A técnica de confecção do pó do material data desde 1975, e neste trabalho, utilizamos um pó obtido através de

método moderno Sol-gel capaz de melhor aproveitar as características de todos os componentes do pó permitindo a obtenção de um controle da homogeneidade.

Pesquisas buscando desenvolver a tecnologia e autonomia de um país é de extrema relevância, neste caso, esperamos que nossos resultados venham estimular novos projetos e assim, a Universidade cumpra seu papel frente à Indústria e à sociedade brasileira.

7 Conclusão

De acordo com a proposição, metodologia utilizada e resultados obtidos pode-se concluir que:

- Quanto à liberação e reincorporação de fluoreto

Todos os materiais estudados apresentam potencial de liberação e recarga para o fluoreto;

O cimento de ionômero de vidro experimental apresentou-se com menor liberação/recarga de fluoreto quantitativa, frente aos cimentos ionoméricos comerciais.

- Quanto à atividade antibacteriana

Não são todos os cimentos de ionômero de vidro que apresentam capacidade antibacteriana, contra *S. mutans*, *L. acidophilus* e *A. viscosus*,

Os CIVMR, tanto o comercial quanto o experimental, demonstraram melhor efetividade na inibição do crescimento bacteriano.

6 Referências*

1. Abouch YEY, Torabzadeh H. Fluoride release from tooth colored restorative materials a 12 month report. J Can Dent Assoc. 1998; 64: 561-4.
2. Argenta RM, Tabchoury CP, Cury JA. A modified pH-cycling model to evaluate fluoride effect on enamel demineralization. Pesqui Odontol Bras. 2003; 17: 241-6.
3. Asmussen E, Peutzfeldt A. Long-term fluoride release from a glass ionomer cement, a compomer, and from experimental resin composites. Acta Odontol Scand. 2002; 60: 93-7.
4. Attar N, Turgut MD. Fluoride release and uptake capacities of fluoride-releasing restorative materials. Oper Dent. 2003; 28: 395-402.
5. Attin T, Buchalla W, Siewert C, Hellwig E. Fluoride release/uptake of polyacid-modified resin composites (compomers) in neutral and acidic buffer solutions. J Oral Rehabil. 1999; 26: 388-93.
6. Bell A, Creanor SL, Foye RH, Saunders W.P. The effect of saliva on fluoride release by a glass-ionomer filling material. J Oral Rehabil. 1999; 26: 407-12.
7. Benderli Y, Ulukapi H, Balkanli O, Kulekci G. In vitro plaque formation on some dental filling materials. J Oral Rehabil. 1997; 24: 80-3.

De acordo com o estilo Vancouver. Disponível em:
http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

8. Bergenholtz G. Inflammatory response of the dental pulp to bacterial irritation. *J Endod.* 1981; 7: 100-4.
9. Bertolini MJ, Palma Dibb RG, Zaghete MA, Gimenes R. Evaluation of glass ionomer cements properties obtained from niobium silicate glasses prepared by chemical process. *J Non-Crystalline Solids.* 2005; 351: 466-71.
10. Bertolini MJ, Zaghete MA, Gimenes R, Freitas RS, Vaz LG. Preparation of new glass systems by the polymeric precursor method for dental applications. *J Non-Crystalline Solids.* 2004; 344: 170-5.
11. Bertolini MJ, Zaghete MA, Gimenes R, Paiva-Santos CO, Palma Dibb RG. Caracterização de cimento odontológico obtido a partir de um vidro preparado pelo método dos precursores poliméricos. *Química Nova.* 2005; 28: 813-6.
12. Bilgin Z, Ozalp N. Fluoride release from three different types of glass ionomer cements after exposure to NaF solution and APF gel. *J Clin Pediatr Dent.* 1998; 22: 237-41.
13. Boeckh C, Schumacher E, Podbielski A, Haller B. Antibacterial activity of restorative dental biomaterials in vitro. *Caries Res.* 2002; 36: 101-7.
14. Bombonatti JFS. Liberação de flúor e potencial anticariogênico de um cimento de ionômero de vidro modificado por resina em diferentes proporções pó/líquido, comparativamente a selantes [tese doutorado]. Bauru: Faculdade de Odontologia da USP; 2004.
15. Botelho MG. Inhibitory effects on selected oral bacteria of antibacterial agents incorporated in a glass ionomer cement. *Caries Res.* 2003; 37: 108-14.

16. Bowden GHW. Effects of fluoride on the microbial ecology of dental plaque. *J Dent Res.* 1990; 69: 660-7.
17. Brännström M, Aström A. The hydrodynamics of the dentine: its possible relationship to dentinal pain. *Int Dent J.* 1972; 22: 219-27.
18. Brännström M, Vojinovic O. Response of the dental pulp to invasion of bacteria around three filling materials. *J Dent Child.* 1976; 43: 15-21.
19. Carey CM. Fluoride release from a resin-modified glass-ionomer cement in a continuous-flow system: effect of pH. *J Dent Res.* 2003; 82: 829-32.
20. Carvalho AS, Cury JA. Fluoride release from some dental materials in different solutions. *Oper Dent.* 1999; 24: 14-9.
21. Chan WD, Yang L, Wan W, Rizkalla AS. Fluoride release from dental cements and composites: a mechanistic study. *Dent Mater.* 2006; 22: 366-73.
22. Coogan MM, Creaven PJ. Antibacterial properties of eight dental cements. *Int Endod J.* 1993; 26: 355-61.
23. Costa CAS, Nascimento ABL, Teixeira HM. Response of human pulps following acid conditioning and application of a bonding agent in deep cavities. *Dent Mater.* 2002; 18: 543-51.
24. Costa CAS, Hebling J, Garcia-Godoy F, Hanks CT. In vitro cytotoxicity of five glass-ionomer cements. *Biomaterials.* 2003; 24: 3853-8.
25. Costa CAS, Girob EMA, Nascimento ABL, Teixeira HM, Hebling J. Short-term evaluation of the pulpo-dentin complex response to a resin-modified glass-ionomer cement and a bonding agent applied in deep cavities. *Dent Mater.* 2003; 19: 739-46.

-
26. Cranfield M, Kuhn AT, Winter GB. Factors relating to the rate of fluoride-ion release from glass-ionomer cement. *J Dent.* 1982; 10: 333-41.
 27. Culbertson BM. Glass-ionomer dental restoratives. *Prog Polym Sci.* 2001; 26: 577-604.
 28. Cury JA, Saad JRC, Rodrigues JR. Liberação de flúor do selante. *RGO.* 1993; 41: 273-5.
 29. Czarnecka B, Limanowska-Shaw H, Nicholson J W. Buffering and ion-release by a glass-ionomer cement under near-neutral and acidic conditions. *Biomaterials.* 2002; 23: 2783–88.
 30. Deschepper EJ, Thrasher MR, Thurmond BA. Antibacterial effects of light-cured liners. *Am J Dent.* 1989; 2: 74-6.
 31. Deschepper EJ, White RR, Von Der Lehr W. Antibacterial effects of glass ionomers. *Am J Dent.* 1989; 2: 51-6.
 32. Dijkman G, De Vries J, Lodding A, Arens J. Long term fluoride release of visible light-activated composites in vitro: a correlation with in situ demineralization data. *Caries Res.* 1993; 27: 117-23.
 33. Dionysopoulos P, Kotsanos N, Pataridou A. Fluoride release and uptake by four new fluoride releasing restorative materials. *J Oral Rehabil.* 2003; 30: 866-72.
 34. Dionysopoulos P, Kotsanos N, Koliniotou-Koubia E, Tolidi K. Inhibition of demineralization in vitro around fluoride releasing materials. *J Oral Rehabil.* 2003; 30: 1216–22.

-
35. Donly KJ, Ingram C. An in vitro caries inhibition of photopolymerized glass ionômero liners. *J Dent Child*. 1997; 64: 128-30.
 36. Duque C, Negrini TC, Hebling J, Spolidorio DM. Inhibitory activity of glass-ionomer cements on cariogenic bacteria. *Oper Dent*. 2005; 30: 636-40.
 37. Eli I, Cooper Y, Ben-Amar A, Weiss E. Antibacterial activity of three dental liners. *J Prosthodont*. 1995; 4: 178-82.
 38. Estrela C, Bammann LL, Estrela CRA, Silva RS, Pécora JD. Antimicrobial and chemical study of MTA, Portland cement, calcium hydroxide paste, Sealapex and Dycal. *Braz Dent J*. 2000; 11: 3-9.
 39. Featherstone JDB. Enhancement of remineralization in vitro and in vivo. In: Leacer SA. Factors relating to demineralization and remineralization of the teeth. Oxford: IRL; 1986. p. 23-4.
 40. Featherstone JDB. Modeling the caries-inhibitory effects of dental materials. *Dent Mater*. 1996; 12: 194-7.
 41. Fisher FJ. The effect of a calcium hydroxide-water past on microorganisms in carious dentine. *Br Dent J*. 1972; 133: 19-21.
 42. Forss H. Release of fluoride and other elements from light-cured glass ionomers in neutral and acidic conditions. *J Dent Res*. 1993; 72: 1257-62.
 43. Forsten L. Short-and long-term fluoride release from glass ionomers and other fluoride-containing filling materials in vitro. *Scand J Dent Res*. 1990; 98: 179-85.
 44. Forsten L. Resin-modified glass ionomer cements: fluoride release and uptake. *Acta Odontol Scand*. 1995; 53: 222-5.

-
45. Forsten L. Fluoride release and uptake by glass-ionomers and related materials and its clinical effect. *Biomaterials*. 1998; 19: 503-8.
 46. Forsten L, Söderling E. The alkaline and antibacterial effect of seven Ca(OH)₂ liners in vitro. *Acta Odontol Scand*. 1984; 42: 93-8.
 47. Freedman G. Bases and liners: to use or not to use, a paradigm shift. *Dent Today*. 1999; 18: 52-9.
 48. Friedl KH, Schmalz G, Hiller KA, Shams M. Resin-modified glass ionômero cements: fluoride release and influence on streptococcus mutans growth. *Eur J Oral Sci*. 1997; 105: 81-5.
 49. Gálvez DP, CA, Rosa OPS, Costa B, Da Silva SMB, Torres S. In vitro fluoride release and antimicrobial activity of restorative compomers. *Rev Fac Odontol Bauru*. 2000; 8: 59-64.
 50. Gandolfi MG, Chersoni S, Acquaviva GL, Pina G, Prati C, Mongiorgi R. Fluoride release and absorption at different pH from glass-ionomer cements. *Dent Mater*. 2006, 22: 441-9.
 51. Gao F. Erosion process of light-cured and conventional glass ionomer cement in citrate buffer solution. *Dent Mater J*. 1997; 16: 170-9.
 52. Gao W, Smales RJ. Fluoride release/uptake of conventional and resin-modified glass ionomers, and compomers. *J Dent*. 2001; 29: 301-6.
 53. Gerami-Nejad M, Stretton RJ. Aspects of antibacterial action of diphenyliodonium chloride. *Microbios*. 1981; 30: 97-107.

-
-
54. Geurtsen W, Spahl W, Leyhausen G. Residual monomer / additive release and variability in cytotoxicity of light-curing glass-ionomer cements and compomers. *J Dent Res.* 1998; 77: 2012-9.
 55. Guida A, Hill RG, Towler MR, Eramo S. Fluoride release from model glass ionomer cements. *J Mater Sci Mater Med.* 2002; 13: 645-9.
 56. Hamilton, J.R. Biochemical effects of fluoride on oral bacteria. *J Dent Res.* 1990; 69(Special Issue): 682-3.
 57. Hayacibara MF, Ambrozano GM, Cury JA. Simultaneous release of fluoride and aluminum from dental materials in various immersion media. *Oper Dent.* 2004; 29: 16-22.
 58. Hayacibara MF, Rosa OPS, Koo H, Torres AS, Costa B, Cury JA. Effects of fluoride and aluminum from ionomeric materials on *S. mutans* biofilm. *J Dent Res.* 2003, 82: 267-71.
 59. Helvatjoglu-Antoniades M, Karantakis P, Papadogiannis Y, Kapetanios H. Fluoride release from restorative materials and a luting cement. *J Prosthes Dent.* 2001; 86: 82-3.
 60. Hengtrakool C, Pearson GJ, Wilson M. Interaction between GIC and *S. sanguis* biofilms: antibacterial properties and changes of surface hardness. *J Dent.* 2006; 34: 588-97.
 61. Herrera M, Carrión P, Baca P, Liébana J, Castillo A. In vitro antibacterial activity of glass-ionomer cements. *Microbios.* 2001; 104: 141-8.

-
62. Herrera M, Castilho A, Bravo M, Liébana J, Carrión P. Antibacterial activity of resin adhesives, glass ionomer and resin-modified glass ionomer and compomer in contact with dentin caries samples. *Oper Dent.* 2000; 25: 265-9.
 63. Hilton TJ. Cavity sealers, liners, and bases: current philosophies and indications for use. *Oper Dent.* 1996; 21: 134-46.
 64. 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.
 65. 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: 20-5.
 66. Kozai K, Suzuki J, Okada M, Nagasaka N. In vitro study of antibacterial and antiadhesive activities of fluoride-containing light-cured fissure sealants and a glass ionomer liner/base against oral bacteria. *J Dent Child.* 2000; 67: 117-22.
 67. Larsen MJ. Chemical events during tooth demineralization. *J Dent Res.* 1990; 69: 575-80.
 68. Lewinstein I, Matalon S, Slutzkey S, Weiss EI. Antibacterial properties of aged dental cements evaluated by direct-contact and agar diffusion tests. *J Prosthet Dent.* 2005; 93: 364-71.
 69. Loyola-Rodriguez JP, Garcia-Godoy F, Lindquist R. Growth inhibition of glass ionomer cements on mutans streptococci. *Pediatr Dent.* 1994; 16: 346-9.

-
70. Maltz M. A clinical, microbiologic and radiographic study of deep caries lesions after incomplete caries removal. *Quintessence Int.* 2002; 33:151-9.
 71. Marquis RE, Clock AS, Mota-Meira M . Fluoride and organic weak acids as modulators of microbial physiology. *FEMS Microbiology Reviews.* 2003; 26: 493-510.
 72. Marshall GWJr. The dentin substrate: structure and properties related to bonding. *J Dent.* 1997; 25: 441-58.
 73. Mathis RS, Ferrance JL. properties of glass ionômero resin composite hybrid materials. *Dent Mater.* 1989; 5: 355-8.
 74. Meiers JC, Miller CA. Antibacterial activity of dentin bonding systems, resin-modified glass ionomers, and polyacid-modified composite resins. *Oper Dent.* 1996; 2: 257-64.
 75. Navarro MFL, Pascotto RC. Cimentos de íonômero de vidro: aplicações clínicas em odontologia. São Paulo: Artes Médicas; 1998.
 76. Nicholson JW, Czarnecka B. The release of ions by compomers under neutral and acidic conditions. *J Oral Rehabil.* 2004; 31: 665-70.
 77. Nirschl RF, Avery DR. Evaluation of a new pulp-capping agent in indirect pulp therapy. *J Dent Child.* 1983; 50: 25-30.
 78. Osinaga PWR, Grande RHM, Ballester RY, Simionato MRL, Rodrigues CRMD, Muench A. Zinc sulfate addition to glass-ionomer-based cements: influence on physical and antibacterial properties, zinc and fluoride release. *Dent Mater.* 2003; 19: 212-7

-
79. Pedrini D, Delbem ACB, De França JGM, Machado T M. Fluoride release by restorative materials before and after a topical application of fluoride gel. *Pesqui Odontol Bras.* 2003; 17: 137-41.
 80. Peng D, Smales RJ, Yip HK, Shu M. In vitro fluoride release from aesthetic restorative materials following recharging with APF gel. *Aust Dent J.* 2000; 45: 198-203.
 81. Perrin C, Persin M, Sarrazin J. A comparison of fluoride release from four glass ionômero cements. *Quintessence Int.* 1994; 25: 603-8.
 82. Preston AJ, Agalamanyi EA, Higham SM, Mair LH. The recharge of esthetic dental restorative materials with fluoride in vitro – two years' results. *Dent Mater.* 2003; 19: 32-7.
 83. Preston AJ, Higham SM, Agalamanyi EA, Mair LH. Fluoride recharge of aesthetic dental materials. *J Oral Rehabil.* 1999; 26: 936-40.
 84. Sá LT, González-Cabezas C, Cochran M.A, Fontana M, Matis BA, Moore BK. Fluoride releasing materials: their anti-cariogenic properties tested in in vitro caries models. *Oper Dent.* 2004; 29: 524-31.
 85. Saad JRC. Liberação de flúor, dos cimentos de ionômero de vidro, indicados para base cavitária. Efeito de material, meio e tempo de imersão [tese doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP;1992.
 86. Sanders B J, Gregory R L, Moore K, Avery DR. Antibacterial and physical properties of resin modified glass-ionomers combined with chlorhexidine. *J Oral Rehabil.* 2002; 29: 553–8.

-
87. Schmalz G, Ergucu Z, Hiller KA. Effect of dentin on the antibacterial activity of dentin bonding agents. *J Endod.* 2004; 30: 352-8.
 88. Schröder U. Effects of calcium hydroxide-containing pulp capping agents on pulp cell migration, proliferation and differentiation. *J Dent Res.* 1985; 64 (Special Issue): 541-8.
 89. Serra MC, Cury JA. The in vitro effect of glass-ionomer cement restoration on enamel subjected to a desmineralization and remineralization model. *Quintessence Int.* 1992; 23: 143-7.
 90. Silva RC, Zuanon ACC, Spolidorio DMP, Campos JADB. Antibacterial activity of four glass ionomer cements used in atraumatic restorative treatment. *J Mater Sci Mater Med.* 2007; 18: 1859–62.
 91. Slutzky H, Weiss EI, Lewinstein I, Slutzky S, Matalon S. Surface antibacterial properties of resin and resin-modified dental cements. *Quintessence Int.* 2007; 38: 55-61.
 92. Smith AJ. Vitality of the dentin-pulp complex in health and disease: growth factors as key mediators. *J Dent Educ.* 2003; 67: 678-89.
 93. Smith GE. Surface deterioration of glass-ionomer cement during acid etching: an SEM evaluation. *Oper Dent.* 1988; 13: 3-7.
 94. Swift EJJ. Fluoride-containing restorative materials. *Clin Prev Dent.* 1988; 10: 19-24.
 95. Ten Cate JM, Featherstone JDB. Mechanistic aspects of the interactions between fluoride and dental enamel. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1991; 2: 283-96.

-
96. Tobias RS, Browne RM, Wilson CA. Antibacterial activity of dental restorative materials. *Int Endod J.* 1985; 18: 161-71.
 97. Tronstad L, Birkeland JM. in vitro studies on the influence of cements on the alkaline effect of calcium hydroxide. *Scand J Dent Res.* 1971; 79: 350-5.
 98. Verbeeck RMH. Fluoride release process of (resin modified) glass-ionomer cements versus (poliacid-modified) composite resins. *Biomaterials.* 1998; 19: 509-19.
 99. Vermeersch G, Leloup G, Vreven J. Fluoride release from glass-ionomer cements, compomers and resin composites. *J Oral Rehabil.* 2001; 28: 26-32.
 100. Vermeersch G, Leloup G, Delme´ EM, Vreven J. Antibacterial activity of glass– ionomer cements, compomers and resin composites: relationship between acidity and material setting phase. *J Oral Rehabil.* 2005, 32: 368–74.
 101. Vieira AR, Souza IPR, Modesto A. Fluoride uptake and release by composites and glass ionomers in a high caries challenge situation. *Am J Dent.* 1999; 12: 45-7.
 102. Wiegand A, Buchalla W, Attin Thomas. Review on fluoride-releasing restorative materials – fluoride release and uptake characteristics, antibacterial activity and influence on caries formation. *Dent Mater.* 2007; 23: 343-62.
 103. Wilson Ad, McLean Jw. *Glass-ionomer cement.* London: Quintessence Publishing; 1988.
 104. Xu X, Burgess JO. Compressive strength, fluoride release and recharge of fluoride-releasing materials. *Biomaterials.* 2003; 24: 2451-61.

-
105. Yan Z, Sidhu SK, Mahmoud GA, Carrick TE, McCabe JF. Effects of temperature on the fluoride release and recharging ability of glass ionomers. *Oper Dent.* 2007; 32: 138-43.
 106. Yli-Urpo H, Närhi M, Närhi T. Compound changes and tooth mineralization effects of glass ionomer cements containing bioactive glass (S53P4), an in vivo study. *Biomaterials.* 2005; 26: 5934-41.
 107. Yli-Urpo H, Vallittu PK, Närhi TO, Forsback AP, Väkiparta M. Release of silica, calcium, phosphorus, and fluoride from glass ionomer cement containing bioactive glass. *J Biomater Appl.* 2004; 19: 5-20.

ANEXOS

Anexo 1

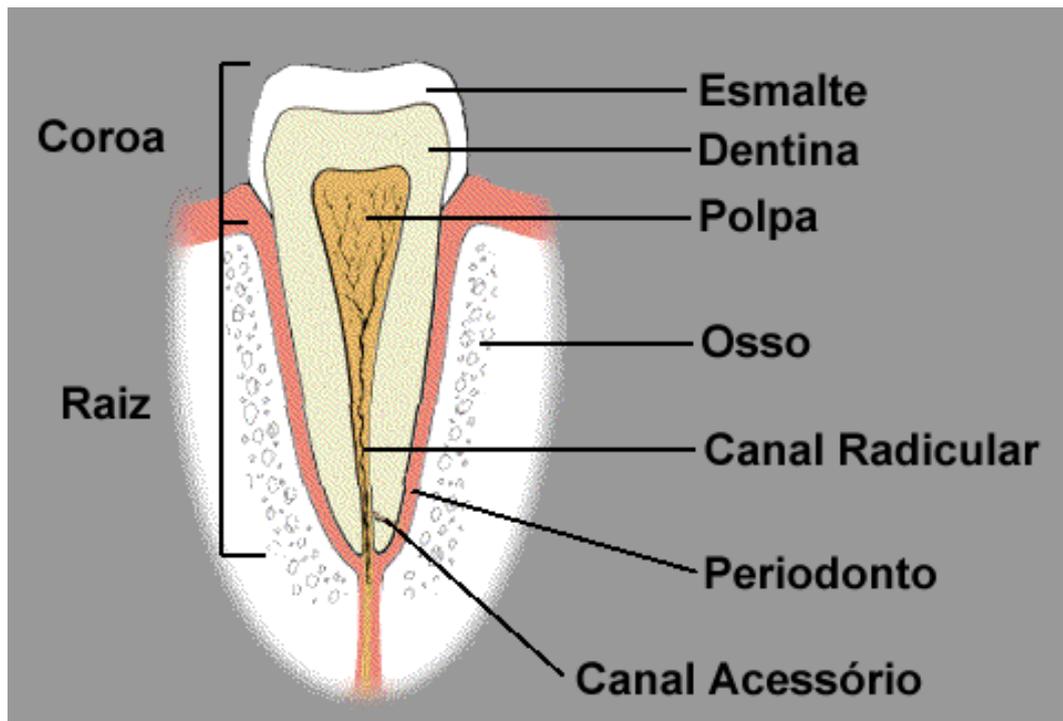


Figura A1 – Estrutura dental

Anexo 2

Tabela A1 - Médias (mg/L) e respectivos desvios-padrão, dos 5 grupos experimentais, durante os 30 dias de avaliação da liberação de fluoreto em solução Des/Re

PERÍODO (dias)	Vitrebond	Ionomaster	Experimental + Vitrebond	Experimental + Ionomaster	<i>Experimental + Experimental</i>
1	32,1 ± 2,7	72,3 ± 3,3	3,8 ± 0,3	5,4 ± 0,6	6,9 ± 0,5
2	26,0 ± 1,4	56,1 ± 5,1	2,3 ± 0,1	3,4 ± 0,4	5,1 ± 0,3
3	25,0 ± 4,1	51,0 ± 1,6	2,8 ± 0,3	2,6 ± 0,2	5,6 ± 0,3
4	24,8 ± 3,7	41,3 ± 3,7	3,0 ± 0,2	2,4 ± 0,2	3,5 ± 0,4
5	23,9 ± 0,8	36,5 ± 1,2	2,9 ± 0,1	1,8 ± 0,2	2,7 ± 0,3
6	19,7 ± 2,0	34,9 ± 2,1	2,8 ± 0,1	1,8 ± 0,1	3,0 ± 0,3
7	19,9 ± 1,5	33,5 ± 2,3	1,8 ± 0,1	2,4 ± 0,2	1,9 ± 0,2
8	19,3 ± 1,7	31,0 ± 1,4	2,3 ± 0,2	1,6 ± 0,2	1,7 ± 0,1
9	20,6 ± 2,2	31,0 ± 2,4	1,8 ± 0,2	1,0 ± 0,1	1,4 ± 0,07
10	19,6 ± 2,1	29,2 ± 1,9	1,9 ± 0,2	1,5 ± 0,1	1,9 ± 0,1
11	18,1 ± 1,6	31,8 ± 2,3	2,1 ± 0,3	1,5 ± 0,1	2,8 ± 0,2
12	19,0 ± 2,7	32,9 ± 1,4	2,4 ± 0,2	1,5 ± 0,1	2,0 ± 0,2
13	18,6 ± 1,4	30,6 ± 1,6	1,4 ± 0,1	1,0 ± 0,0	1,3 ± 0,08
14	18,1 ± 1,5	30,1 ± 2,4	1,3 ± 0,1	0,6 ± 0,0	0,7 ± 0,07
15	19,0 ± 1,0	30,5 ± 2,9	1,7 ± 0,1	1,3 ± 0,0	1,3 ± 0,1
16	70,0 ± 5,0	84,0 ± 5,3	40,4 ± 2,0	42,7 ± 2,9	33,0 ± 3,3
17	42,3 ± 1,8	40,2 ± 2,5	29,5 ± 2,4	27,5 ± 2,0	20,3 ± 2,3
18	31,0 ± 2,3	35,0 ± 3,2	23,5 ± 2,3	14,5 ± 1,5	13,1 ± 1,1
19	30,9 ± 1,6	33,9 ± 2,6	22,3 ± 1,6	12,0 ± 1,4	7,0 ± 0,7
20	30,4 ± 1,5	22,3 ± 1,0	17,8 ± 1,0	8,0 ± 0,7	7,2 ± 0,5
21	30,6 ± 1,6	21,7 ± 1,8	14,1 ± 0,9	4,3 ± 0,4	3,0 ± 0,4
22	30,0 ± 2,2	21,4 ± 1,1	13,0 ± 0,6	2,6 ± 0,3	2,0 ± 0,3
23	27,4 ± 1,4	20,5 ± 1,3	8,0 ± 0,8	1,2 ± 0,1	2,6 ± 0,3
24	23,9 ± 4,0	19,2 ± 1,0	7,7 ± 0,2	1,08 ± 0,1	2,1 ± 0,1
25	23,2 ± 1,6	18,7 ± 1,5	4,8 ± 0,6	1,00 ± 0,0	2,3 ± 0,1
26	21,5 ± 2,7	18,1 ± 1,5	4,2 ± 0,5	0,90 ± 0,1	1,2 ± 0,05
27	19,6 ± 1,5	17,4 ± 1,0	4,6 ± 0,2	1,10 ± 0,1	1,3 ± 0,06
28	19,0 ± 1,0	20,0 ± 2,0	3,0 ± 0,4	1,30 ± 0,1	1,9 ± 0,07
29	18,5 ± 0,7	20,5 ± 1,0	2,9 ± 0,4	1,00 ± 0,08	2,0 ± 0,1
30	17,5 ± 1,6	21,0 ± 1,6	2,4 ± 0,1	2,20 ± 0,09	2,7 ± 0,2
TOTAL PRÉ - RECARGA	323,7 ± 30,4	572,7 ± 35,6	34,3 ± 2,6	29,8 ± 2,6	41,8 ± 3,4
TOTAL PÓS - RECARGA	435,8 ± 30,5	413,9 ± 28,4	198,2 ± 13,6	121,4 ± 9,9	101,7 ± 9,5

Anexo 2

Tabela A2 - Médias (mg/L) e respectivos desvios-padrão, dos 5 grupos experimentais, durante os primeiros 15 dias de avaliação da liberação de fluoreto em solução Des/Re.

PERÍODO (dias)	Vitrebond	Ionomaster	Experimental + Vitrebond	Experimental + Ionomaster	<i>Experimental + Experimental</i>
1	32,1 ± 2,7	72,3 ± 3,3	3,8 ± 0,3	5,4 ± 0,6	6,9 ± 0,5
2	26,0 ± 1,4	56,1 ± 5,1	2,3 ± 0,1	3,4 ± 0,4	5,1 ± 0,3
3	25,0 ± 4,1	51,0 ± 1,6	2,8 ± 0,3	2,6 ± 0,2	5,6 ± 0,3
4	24,8 ± 3,7	41,3 ± 3,7	3,0 ± 0,2	2,4 ± 0,2	3,5 ± 0,4
5	23,9 ± 0,8	36,5 ± 1,2	2,9 ± 0,1	1,8 ± 0,2	2,7 ± 0,3
6	19,7 ± 2,0	34,9 ± 2,1	2,8 ± 0,1	1,8 ± 0,1	3,0 ± 0,3
7	19,9 ± 1,5	33,5 ± 2,3	1,8 ± 0,1	2,4 ± 0,2	1,9 ± 0,2
8	19,3 ± 1,7	31,0 ± 1,4	2,3 ± 0,2	1,6 ± 0,2	1,7 ± 0,1
9	20,6 ± 2,2	31,0 ± 2,4	1,8 ± 0,2	1,0 ± 0,1	1,4 ± 0,07
10	19,6 ± 2,1	29,2 ± 1,9	1,9 ± 0,2	1,5 ± 0,1	1,9 ± 0,1
11	18,1 ± 1,6	31,8 ± 2,3	2,1 ± 0,3	1,5 ± 0,1	2,8 ± 0,2
12	19,0 ± 2,7	32,9 ± 1,4	2,4 ± 0,2	1,5 ± 0,1	2,0 ± 0,2
13	18,6 ± 1,4	30,6 ± 1,6	1,4 ± 0,1	1,0 ± 0,07	1,3 ± 0,08
14	18,1 ± 1,5	30,1 ± 2,4	1,3 ± 0,1	0,6 ± 0,05	0,7 ± 0,07
15	19,0 ± 1,0	30,5 ± 2,9	1,7 ± 0,1	1,3 ± 0,07	1,3 ± 0,1
TOTAL	323,7 ± 30,4	572,7 ± 35,6	34,3 ± 2,6	29,8 ± 2,6	41,8 ± 3,4

Anexo 2

Tabela A3 - Médias (mg/L) e respectivos desvios-padrão, dos 5 grupos experimentais, durante os últimos 15 dias de avaliação da liberação de fluoreto em solução Des/Re.

PERÍODO (dias)	Vitrebond	Ionomaster	Experimental + Vitrebond	Experimental + Ionomaster	Experimental + Experimental
16	70,0 ± 5,0	84,0 ± 5,3	40,4 ± 2,0	42,7 ± 2,9	33,0 ± 3,3
17	42,3 ± 1,8	40,2 ± 2,5	29,5 ± 2,4	27,5 ± 2,0	20,3 ± 2,3
18	31,0 ± 2,3	35,0 ± 3,2	23,5 ± 2,3	14,5 ± 1,5	13,1 ± 1,1
19	30,9 ± 1,6	33,9 ± 2,6	22,3 ± 1,6	12,0 ± 1,4	7,0 ± 0,7
20	30,4 ± 1,5	22,3 ± 1,0	17,8 ± 1,0	8,0 ± 0,7	7,2 ± 0,5
21	30,6 ± 1,6	21,7 ± 1,8	14,1 ± 0,9	4,3 ± 0,4	3,0 ± 0,4
22	30,0 ± 2,2	21,4 ± 1,1	13,0 ± 0,6	2,6 ± 0,3	2,0 ± 0,3
23	27,4 ± 1,4	20,5 ± 1,3	8,0 ± 0,8	1,2 ± 0,1	2,6 ± 0,3
24	23,9 ± 4,0	19,2 ± 1,0	7,7 ± 0,2	1,08 ± 0,1	2,1 ± 0,1
25	23,2 ± 1,6	18,7 ± 1,5	4,8 ± 0,6	1,0 ± 0,07	2,3 ± 0,1
26	21,5 ± 2,7	18,1 ± 1,5	4,2 ± 0,5	0,9 ± 0,1	1,2 ± 0,05
27	19,6 ± 1,5	17,4 ± 1,0	4,6 ± 0,2	1,1 ± 0,1	1,3 ± 0,06
28	19,0 ± 1,0	20,0 ± 2,0	3,0 ± 0,4	1,3 ± 0,1	1,9 ± 0,07
29	18,5 ± 0,7	20,5 ± 1,0	2,9 ± 0,4	1,0 ± 0,08	2,0 ± 0,1
30	17,5 ± 1,6	21,0 ± 1,6	2,4 ± 0,1	2,2 ± 0,09	2,7 ± 0,2
TOTAL	435,8 ± 30,5	413,9 ± 28,4	198,2 ± 13,6	121,4 ± 9,9	101,7 ± 9,5

Autorizo a reprodução deste trabalho.
(Direitos de publicação reservado ao autor)

Araraquara, 25 de março de 2008.

GISLAINE CRISTINA PADOVANI

