



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de São José dos Campos
Instituto de Ciência e Tecnologia

STEFHANY COSTA BARBIZAN ASTUTI

**ANÁLISE COMPARATIVA DE MATERIAIS
RESTAURADORES BIOATIVOS: Adesão bacteriana,
alterações ópticas e capacidade remineralizante**

STEFHANY COSTA BARBIZAN ASTUTI

**ANÁLISE COMPARATIVA DE MATERIAIS RESTAURADORES
BIOATIVOS: Adesão bacteriana, alterações ópticas e capacidade
remineralizante**

Tese apresentada ao Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de São José dos Campos, como parte dos requisitos para obtenção do título de DOUTOR, pelo Programa de Pós-Graduação em ODONTOLOGIA RESTAURADORA.

Área: Dentística Linha de pesquisa: Avaliação Clínica e Laboratorial de alterações da Estrutura Dental, Materiais e de Técnicas de prevenção e Tratamento em Dentística.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Filomena Rocha Lima Huhtala

São José dos Campos

2021

Instituto de Ciência e Tecnologia [internet]. Normalização de tese e dissertação [acesso em 2021]. Disponível em <http://www.ict.unesp.br/biblioteca/normalizacao>

Apresentação gráfica e normalização de acordo com as normas estabelecidas pelo Serviço de Normalização de Documentos da Seção Técnica de Referência e Atendimento ao Usuário e Documentação (STRAUD).

Astuti, Stefhany Costa Barbizan

Análise comparativa de materiais restauradores bioativos: adesão bacteriana, alterações ópticas e capacidade remineralizante / Stefhany Costa Barbizan Astuti. - São José dos Campos : [s.n.], 2021.
118 f. : il.

Tese (Doutorado em Odontologia Restauradora) - Pós-Graduação em Odontologia Restauradora - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos, 2021.

Orientadora: Maria Filomena Rocha Lima Huhtala.

1. Cárie dental. 2. Biomateriais. 3. Remineralização dentária. 4. Streptococcus mutans. I. Huhtala, Maria Filomena Rocha Lima, orient. II. Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos. III. Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho' - Unesp. IV. Universidade Estadual Paulista (Unesp). V. Título.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Maria Filomena Rocha Lima Huhtala (Orientadora)

Universidade Estadual Paulista (UNESP)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

Prof. Assoc. Eduardo Bresciani

Universidade Estadual Paulista (UNESP)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

Prof. Tit. Sérgio Eduardo de Paiva Gonçalves

Universidade Estadual Paulista (UNESP)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

Prof. Dra. Tânia Mara da Silva

Faculdade Anhanguera

Campus São José dos Campos

Prof. Dra. Débora Cristina Barbosa Dantas

Faculdade Unyleya

Campus Guaratingueta

São José dos Campos, 10 de Agosto de 2021.

DEDICATÓRIA

*Dedico esse trabalho a **Deus**, que por tantas vezes me mostrou que eu não estava sozinha. Ele nunca me prometeu que a jornada seria fácil, muito pelo contrário...Mas ele prometeu que nunca sairia do meu lado!*

E mesmo sem merecimento ou capacidade, ele cumpriu cada uma de suas promessas em minha vida. Toda honra e toda glória seja sempre dada a ele.

*Dedico aos **meus pais Maria Tereza e Edmilson**, que agarram o meu sonho com todas as forças, abriram mão de tantas coisas e me ajudaram a chegar até aqui. Não me permitiam sequer pensar em desistir, pois no fundo eles sabiam que eu estava no lugar certo e que tudo valeria a pena.*

*Dedico ao meu parceiro de vida, **meu marido Thiago**, que foi muito além de tudo que eu esperava em todos esses anos. Foi meu porto seguro, meu ombro amigo e meu maior incentivador.*

*Dedico a **minha irmã Gabrielle**, minha alma gêmea, que mesmo na maior das minhas dificuldades, com sua paz sublime me dizia: “Você já conseguiu”.*

*Dedico a **minha avó Terezinha**, que me ensinou que tudo nessa vida se resolve com oração e amor. Cuidou e cuida de mim até hoje, sonha os meus sonhos, vive intensamente cada conquista e quando eu mais precisei, me pegou no colo e me fez entender que tudo acontece no tempo certo.*

*Dedico ao **meu avô Orlando**, que partiu tão cedo e deixou tanta saudade.*

Obrigada por ainda ser meu anjo e por me permitir sentir seu amor. Você sempre disse que independente da minha profissão, eu seria Doutora, e olha só onde chegamos! Pra sempre meu ursão.

*Dedico ao **meu avô Euclydes**, que talvez não se lembre a todo tempo quem eu sou, mas todas as vezes que vou até ele para lembra-lo, me mostra que o amor transcende todas as barreiras.*

*Dedico a toda **minha grande família**, , esse doutorado não é só meu, essa*

conquista é nossa! Vocês sonharam junto comigo, oraram por mim e estiveram presentes em cada etapa desse processo, então sim, essa vitória é NOSSA!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a **Deus**, pelo dom da vida, pela saúde, por ter me guardado de tantas coisas para viver esse momento! Por escrever minha história, sem que muitas vezes eu entendesse ou aceitasse, mas ao final de cada capítulo me fez entender o que realmente era importante e onde eu realmente deveria estar. Agradeço por ter guiado meus passos para que eu chegasse à uma das melhores universidades da América Latina, onde conquistei o sonho da minha profissão e pude sonhar ainda mais alto, estar em lugares que nunca imaginei e colher frutos que eu nem sabia plantar.

Quando eu estava prestes a concluir meu mestrado, minha mãe me disse: “O Mestrado foi seu sonho e o Doutorado é o meu, se você não quiser eu entendo, sei que você está com medo, mas Deus me prometeu que mandaria um anjo para cuidar de você, então se você se inscrever, abrir essa possibilidade, você já vai me fazer muito feliz”. E eu fui, mesmo com medo, mesmo achando que não passaria na seleção. E eu passei, foram quase 4 anos de muita dificuldade, chorei muito, me desesperei quando um prazo estava próximo e achei que não daria certo! Mas também tive muitos momentos de alegria, ajudei tantas pessoas, fui presenteada com oportunidades incríveis, com professores maravilhosos, conheci pessoas que levarei pro resto da vida, cresci como pessoa, vivi um doutorado em plena pandemia e descobri que a cura estava em mim mesma! Então eu agradeço imensamente a **minha mãe** por me enganar, por me fazer acreditar que tudo isso era um presente pra ela, quando na verdade, tudo isso foi um grande presente

pra mim. Ela sabia o tempo todo que daria certo! Ela tinha certeza! E
essa sua certeza foi a minha força por 4 anos!

Obrigada por ser essa mulher guerreira, que não desiste de
absolutamente nada! Obrigada por ter saído “do nada” e conquistado
TUDO! Obrigada por ser minha melhor amiga, minha parceira, por me
entender e por olhar meus defeitos e erros com o maior amor do
mundo! Eu te amo tanto, mas tanto, que quero fazer de você, a mãe
mais feliz desse mundo!

Em cada etapa dessa minha jornada, Deus foi me amparando de formas
diferentes e únicas. De um lado, eu tinha essa super mãe e do outro,
meu grande Herói, **meu pai**. Aquele que sempre me olhou com
confiança e orgulho. Que fez o primeiro percurso de ônibus da viagem
de São Paulo para São José ao meu lado e me mostrou que sempre
estaria ali, e realmente sempre esteve. Obrigada pai por me mostrar que
as dificuldades vem para nos fortalecer e que sempre podemos contar
um com o outro! Obrigada por me estender as mãos quando mais
precisei! Quero ser para sempre sua menina, quero te mostrar que
esses anos em que você se dedicou a trabalhar tanto para cuidar de nós
e realizar nossos sonhos, valeram a pena! Obrigada por não ter deixado
faltar o principal, sua presença e seu amor! Você é o meu cara e eu te
amo muito!

Agradeço ao meu anjo da guarda, minha **Vó Teka**. Quando entrei na
Unesp pela primeira vez, ela estava comigo; aquele dia sonhamos tão
alto, mas ainda sim, os planos de Deus foram muito maiores. Ela
cuidou de mim e foi minha fortaleza nos 4 anos da graduação. Batia na
porta do quarto enquanto eu estudava e perguntava se eu queria uma

fruta e se estava com dificuldade, porque se estivesse, ela faria uma oração. E ela fazia. Se eu consegui alcançar sonhos tão impossíveis, foi graças a ela. Ela almejou tanto esse Doutorado! E hoje eu te entrego mais esse presente, fruto do nosso trabalho, porque sem a Sra, eu nada seria. Obrigada por tudo e por ser meu oxigênio, meu coração que bate fora do peito. Eu te amo muito!

Agradeço ao meu outro anjo, **minha irmã**, meu presente de Deus! Obrigada por estar sempre ao meu lado e vivendo cada desafio junto comigo. Obrigada por ter olhado nos meus olhos quando eu pensei que iria desistir e falado que eu ia conseguir. Obrigada por ser a parte leve da minha vida, a metade que me completa e por sonhar os meus sonhos. Você tem uma participação enorme nesse trabalho, no meu coração e na minha vida! Eu te amo!

Esses agradecimentos não estariam sendo escritos, se não fosse pelo apoio incondicional do meu marido! **Thiago**, eu te agradeço por ter entrado de cabeça nesse meu sonho louco e ter mudado toda sua vida por mim. Te agradeço por me acompanhar em um congresso até mesmo na nossa lua de mel e fazer isso com um sorriso no rosto. Te agradeço pelas noites que você ficou acordado no sofá me esperando pra dormir, enquanto eu estudava. Te agradeço pelas vezes que você me aconselhou e pelas vezes que você não precisou falar nada, apenas dobrou seus joelhos e entregou nossas vidas nas mãos de Deus. Te agradeço por todo apoio nesses anos difíceis, pelos beijos na testa enquanto eu estava no computador e pela sua paciência com meus surtos quando achei que não entregaria um trabalho a tempo. Sua paciência foi fundamental, sua ternura e sua vontade de me fazer

vencedora, fizeram toda diferença. Essa conquista é muito sua, é muito nossa! Minha vida só faz sentido ao seu lado!

Agradeço a minha sogra **Helena** e ao meu sogro **Luiz**, todo amor que vocês me deram nesses anos, foi combustível para chegar até aqui.

Obrigada por serem minha família e por sonharem junto comigo.

Agradeço às minhas referências, minhas tias **Carolina e Simone**.

Obrigada por serem essas mulheres que eu admiro tanto, por me acompanharem desde pequena com tanto amor e dedicação, por me darem os melhores conselhos e por me ensinarem que é preciso batalhar pelos nossos sonhos, independente das circunstâncias!

Agradeço aos meus padrinhos **Gabriela e Luiz**, por cada abraço apertado, por cada palavra de carinho e de coragem, e por me ensinarem que a humildade está acima da honra, que sem Deus não somos nada! Obrigada por sonharem esse sonho comigo!

Agradeço as minhas primas queridas **Vitória, Isabela e Beatriz**, que foram porto seguro em tempos difíceis e risadas de doer a barriga em dias tristes.

Agradeço a toda minha **GRANDE FAMÍLIA**, nossa união é incrível! Obrigada por acreditarem que esse sonho seria conquistado! Obrigada pelas orações, essas com certeza chegaram no céu! Que eu possa fazer a vida de vocês tão feliz, quanto vocês fazem a minha!

Agradeço a minha super amiga **Ayla**. Que presente lindo foi sua chegada em minha vida! Você tornou os dias de pós graduação mais leves, tornou as clínicas divertidas e me mostrou seu grande coração! Obrigada por ter ido pra longe, mas se fazer presente todos os dias, por ser a melhor amiga que alguém pode ter. Obrigada pela parceira e toda

ajuda nesse processo difícil, com certeza, sua amizade foi fundamental para que eu chegasse até aqui.

Agradeço imensamente a minha orientadora **Profa. Maria Filomena**. Foram quase 4 anos de uma convivência incrível e desde o primeiro dia, me senti acolhida, como se eu tivesse ganhado uma extensão da minha família. Dedicada e amorosa em todos os assuntos, fossem eles pertinentes a minha tese, ou nas reuniões cheias de ensinamentos de vida. Sou muito grata por ter convivido diariamente com alguém que ama lecionar, que ama o contato com os alunos na clínica e que tem um coração tão grande. Obrigada Profa., por me ensinar que ser professor vai muito além do preparo da aula, muito além de provas e notas e que sem amor, nós não atingimos as pessoas. Obrigada por entender cada momento difícil que passei, por me abraçar no meio da clínica quando eu recebi uma notícia triste e me garantir que ficaria tudo bem! Obrigada por me mostrar que existe vida na pesquisa, que a alegria e a fé, podem sim mudar o rumo das coisas e que quando acharmos que algo está bom é sinal de que podemos melhorar. Obrigada por ter acreditado em mim e o mais importante, por ter sempre demonstrado essa confiança. Obrigada pelos puxões de orelha, eles me fizeram crescer em proporções enormes! Aprendemos juntas até os últimos minutos e eu sou muito grata por Deus ter cuidado de cada detalhe do nosso trabalho. Espero que possamos colher muitos frutos da nossa parceria. Obrigada por ter participado da realização desse lindo sonho! Nunca estarei preparada para uma despedida, então saiba que a Sra. estará sempre no meu coração!

Agradeço ao meu grande amigo **Alexandre**, por ter sido muito além de um parceiro de pesquisa. Obrigada por me salvar dos perrengues de laboratório, por dar leveza aos meus dias e por ser a pessoa mais confusa e divertida (ao mesmo tempo) que eu tive o privilégio de trabalhar. Com certeza, nossa amizade ultrapassa os muros da Unesp e ganha lugar no coração.

Agradeço ao **Prof. Eduardo**, por ter sido minha grande inspiração nesses 10 anos de Unesp. Obrigada pela sua disposição em ajudar quem quer que seja, por transbordar amor nas clínicas e nas salas de aula. Sua dedicação e sua forma leve de levar a vida nos inspiram. Minha família toda conhece o “Edu” e eles sabem o quanto você foi importante nesses anos. Obrigada por nos mostrar o lado humano e feliz da pesquisa e que no final, isso só te torna maior. Sou muito grata por todas as nossas conversas, risadas e fofocas. Sou grata pelo privilégio de ter o Sr. me acompanhando desde minha primeira banca de TCC e por mais uma vez ter aceitado meu convite. Acima de tudo, sou grata pela oportunidade incrível de ter aprendido tanto com o Sr.

Obrigada!

Agradeço ao **Prof. Sérgio**, que me acompanha desde a graduação. Nunca vou esquecer da aula de adesão na disciplina de Dentística, seu entusiasmo em nos ensinar, sua propriedade no assunto e ao mesmo tempo sua capacidade de criar todo cenário dos túbulos dentinários em nossas mentes, foram de suspirar. Eu chorei nesse dia, chorei porque vi amor, vi dedicação e paixão em um profissional maravilhoso, vi um exemplo a ser seguido e admirado! Obrigada por cada clínica que tive o privilégio de te acompanhar como aluna de pós, eu aprendi desde o

manusear de uma espátula, ao amor pelas formas e contornos dos dentes. Obrigada por toda cordialidade que nos trata e por sempre nos receber com um sorriso no rosto! Ter o Sr como avaliador de mais um capítulo da minha jornada é uma grande honra!

Agradeço a **Profa. Débora**, pela grande amiga e orgulho que se tornou! Foi minha colega de pós graduação, me acolheu no grupo de pesquisa da Profa. Filomena e juntas passamos por momentos incríveis não só de aprendizado, mas de parceria! Ter você na minha banca, é uma grande honra e sinal de que Deus cuida de nós! Você marcou o início e o fim do meu Doutorado! Obrigada amiga!

Agradeço a **Prof. Tânia**, por representar um ideal de aluna e agora de professora. Obrigada por ter sido tão solícita em nos ajudar no laboratório, por ser tão esforçada e dedicada a ponto de te vermos como nosso exemplo! Sou muito grata por ter você comigo nesse momento tão especial, você foi escolhida não só por ser essa pesquisadora excelente, mas por fazer tudo isso com amor.

Agradeço a **Maíra**, por se tornar uma colega de pesquisa e grande amiga. Obrigada por toda ajuda, por todo conhecimento compartilhado e por esse seu coração enorme. Sua disposição em ajudar é linda e merece todo nosso reconhecimento! Obrigada por auxiliar em grande parte da execução desse trabalho, com tanto empenho e dedicação!

Você é especial.

Agradeço a **Vívian**, minha querida aluna de IC. Passamos tantos momentos difíceis e felizes juntas. Sou grata por ter acompanhado seu florescer e fazer parte da sua vida, assim como você fez parte da minha. Obrigada por toda ajuda e parceria nesse trabalho. Obrigada por me

acalmar em dias difíceis e me mostrar que Deus estava no comando de tudo.

Agradeço a **Manuela**, por não ter medido esforços em me ajudar e ter passado seu conhecimento com carinho! Sua ajuda foi fundamental para execução desse trabalho.

Agradeço as grandes amigas: **Maria Luiza, Sheyla, Mayara, Bruna, Ana Paula e Adrielle**, pela linda amizade que construímos ao longo desses anos. Por muitas vezes, vocês foram responsáveis por salvar um dia triste, obrigada pelos colos e palavras de incentivo. Vocês tem participação especial em todo meu crescimento.

Agradeço aos **técnicos e funcionários** do ICT, pela dedicação e empenho em seu trabalho.

Agradeço a incrível oportunidade de conviver com **professores excelentes**, em especial **Profa. Taciana**, que me acolheu e me ensinou tanto! Me mostrou que a família é nosso bem mais precioso e que sim, mulheres podem ser igualmente incríveis como mães, esposas e pesquisadoras!

Agradeço aos **colegas de pós graduação**, que fizeram da faculdade uma extensão das nossas casas. Obrigada pela parceria!

Agradeço aos **pacientes** do ICT, pelo privilégio de confiarem sua saúde em nossas mãos!

*"Não temas, porque eu sou contigo; não te assombres, porque eu sou teu Deus:
eu te esforço, e te ajudo, e te sustento com a destra da minha justiça."*

Isaías 41:10

SUMÁRIO

RESUMO	18
ABSTRACT	20
1 INTRODUÇÃO	22
2 REVISÃO DE LITERATURA	27
2.1 Materiais restauradores bioativos	27
2.2 Adesão bacteriana aos materiais restauradores	29
2.3 Indução de cárie secundária	32
2.4 Simulação da escovação dental em materiais restauradores	35
2.5 Alterações cromáticas em materiais restauradores	37
2.6 Envelhecimento térmico em materiais restauradores	42
3 PROPOSIÇÃO	46
4 MATERIAL E MÉTODOS	47
4.1 Delineamento experimental	47
4.1.1 Desenho do estudo: Dividido em duas etapas.	47
4.1.2 Materiais empregados	48
4.2 Fase 1: Adesão bacteriana aos materiais restauradores bioativos	49
4.3 Fase 2: Análise das interações das restaurações de materiais bioativos com o esmalte adjacente.....	59
4.3.3 Preparo cavitário e procedimento restaurador	61
5 RESULTADO.....	66
5.1 Adesão bacteriana aos materiais bioativos	66
5.2 Microscopia de força atômica.....	69
5.3 Alterações cromáticas	74
5.4 Microdureza superficial do esmalte adjacente (KHN).....	77
6 DISCUSSÃO.....	82
6.1 Adesão Bacteriana por <i>Streptococcus Mutans</i>	82

6.2 Alterações cromáticas em materiais bioativos	87
6.3 Microdureza do esmalte adjacente	91
REFERÊNCIAS	99
APÊNDICE.....	114

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Materiais utilizados.....	49
Figura 2- Confeção dos espécimes.....	51
Figura 3- Adesão de <i>Streptococcus Mutans</i>	53
Figura 4- Pigmentação com solução de café.....	56
Figura 5- Amostras posicionadas no suporte para escovação simulada.....	56
Figura 6- Suportes e escovas posicionados na máquina de escovação.	57
Figura 7- Esquema gráfico das etapas de execução da fase 1.....	58
Figura 8- Esquema gráfico de separação de grupos e subgrupos	59
Figura 9- Procedimento restaurador	63
Figura 10- Delimitação da área de leitura	64
Figura 11- Esquema gráfico das etapas de execução da fase 2.....	65
Figura 12- Dados de UFC/mL obtidos na primeira adesão bacteriana	66
Figura 13- Dados de UFC/mL obtidos na segunda adesão bacteriana.....	67
Figura 14- Dados de UFC/mL obtidos da comparação entre a primeira e segunda adesão bacteriana.....	68
Figura 15- Visualizações bidimensionais de <i>Streptococcus mutans</i> , obtidas por microscopia de força atômica, no material Filtek Bulk.....	69
Figura 16- Visualizações bidimensionais de <i>Streptococcus mutans</i> , obtidas por microscopia de força atômica, no material Beautifil bulk.	71

Figura 17- Visualizações bidimensionais de Streptococcus mutans, obtidas por microscopia de força atômica, no material Activa Bioactive	73
--	----

Astuti SCB. Análise comparativa de materiais restauradores bioativos: adesão bacteriana, alterações ópticas e capacidade remineralizante [tese]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2021.

RESUMO

Os objetivos deste estudo foram comparar três materiais bioativos a uma resina bulk fill convencional (controle), quanto à adesão bacteriana e alterações ópticas, quando expostos a solução corante e escovação simulada; como também, avaliar o esmalte adjacente a restaurações com esses materiais, quando submetidas ao envelhecimento térmico e a desafio cariogênico. Para determinação da adesão bacteriana (fase 1), foram confeccionadas 10 amostras de cada grupo: AB: Activa Bioactive Restorative (Pulpdent™ Corporation, USA); BB: Beautifil Bulk (Shofu inc., Kyoto, Japan); EQ: Equia Forte (GC América Inc., Illinois, EUA) e FBC: Filtek Bulk Fill (3M ESPE, Saint Paul, Minnesota, EUA 3M). Após a polimerização, as amostras foram armazenadas por 48h e então expostas a cepa padrão de *Streptococcus mutans* (UA 159) e determinado o número de unidades formadoras de colônia (UFC/ml). Foram então autoclavadas e submetidas diariamente a ciclos de pigmentação por café e escovação simulada, durante 30 dias, seguidos de uma segunda adesão bacteriana. Alterações de cor e translucidez foram avaliadas após esses ciclos. Os dados foram submetidos à ANOVA dois fatores e teste de Tukey (5%). Para avaliação do esmalte (fase 2), foram utilizadas as faces vestibulares e linguais de 50 terceiros molares humanos distribuídas aleatoriamente em 5 grupos (n=20): grupo EH: esmalte hígido (controle) e, 4 grupos que receberam preparos cavitários padronizados restaurados com os mesmos materiais utilizados na fase 1. Os espécimes foram expostos à termociclagem (10.000 ciclos) e desafio cariogênico. A microdureza do esmalte foi medida inicialmente, após termociclagem e após o desafio cariogênico. Os dados foram submetidos a ANOVA dois fatores de medidas repetidas e teste de Tukey (5%). Os resultados apresentaram diferenças estatisticamente significantes entre os grupos para as adesões bacterianas; sendo que na primeira, o grupo AB (6,2 log) apresentou o menor valor. Na segunda adesão, o grupo FBC manteve seu crescimento estável (7,5 log). Os grupos AB e EQ (9,4 e 9,2 log) apresentaram médias superiores as da primeira adesão (6,2 e 7,6 log respectivamente). O grupo BB (6,7 log) mostrou a menor adesão bacteriana. Diferenças na cor não foram estatisticamente significantes entre os grupos, no entanto, todos materiais mostraram alteração de cor perceptível ($\Delta E > 2,7$) após os ciclos de exposição ao café e escovação. A translucidez foi estatisticamente diferente entre os grupos, mas não foi

influenciada pelos ciclos. A microdureza do esmalte diminuiu para todos os grupos após a termociclagem. Os grupos FBC e EH apresentaram as menores médias de microdureza (178,78/ 202,83 kgf); os grupos AB e BB (240,82/ 265,34 kgf), foram estatisticamente semelhantes; e o grupo EQ apresentou a maior média (274,18 kgf). Uma diminuição da microdureza aconteceu após o desafio cariogênico, exceto para o grupo EQ (244,73 kgf). Os grupos FBC e EH (117,18/ 112,97 kgf), não apresentaram diferenças estatísticas entre eles, com as menores médias de microdureza; e, os grupos BB e AB (211,32/ 171,14 kgf) apresentaram diferenças estatísticas em relação aos demais grupos. Podemos concluir que: os materiais bioativos interferiram na adesão bacteriana por *Streptococcus mutans*, e foram susceptíveis aos ciclos de pigmentação e escovação; a imersão no café e escovação simulada alteraram a cor, mas não a translucidez de todos os materiais; a termociclagem reduziu a dureza superficial do esmalte adjacente a todas as restaurações nesse estudo; e que, o desafio cariogênico reduziu a dureza do esmalte exceto para o grupo EQ, que apresentou manutenção da sua dureza, mostrando seu potencial de influenciar a resistência do esmalte à desmineralização.

Palavras-chave: Cárie dental. Biomateriais. Remineralização dentária. *Streptococcus mutans*.

Astuti SCB. Comparative analysis of bioactive restorative materials: bacterial adhesion, optical alteration and remineralizing capacity [doctorate thesis]. São José dos Campos (SP): São Paulo State University (Unesp), Institute of Science and Technology; 2020.

ABSTRACT

*The aim of this study was to compare three bioactive materials to a conventional resin, regarding bacterial adhesion and optical changes, when exposed to dye solution and simulated brushing; as well as evaluate the enamel adjacent to restorations with these materials, when submitted to thermal aging and cariogenic challenge. To determine bacterial adhesion (phase 1), 10 samples of each material were prepared: AB: Aactiva Bioactive Restorative (Pulpdent™ Corporation, USA); BB: Beautifil Bulk (Shofu inc., Kyoto, Japan); EQ: Equia Forte (GC America Inc., Illinois, USA) and FBC: Filtek Bulk Fill (3M ESPE, Saint Paul, Minnesota, USA 3M). After 48 hours the samples were exposed to a standard strain of *Streptococcus mutans* (UA 159) and the number of colony forming units (CFU/ml) determined. They were then autoclaved and submitted daily to coffee pigmentation and simulated brushing cycles, for 30 days, followed by a second bacterial adhesion. Color and translucency changes were assessed after these cycles. Data were submitted to two-way ANOVA and Tukey test (5%). For enamel evaluation (phase 2), buccal and lingual surfaces of 50 human third molars were randomly distributed into 5 groups (n=20): EH group: sound enamel (control) and 4 groups that received standardized cavity preparations restored with the same materials in phase. Specimens were exposed to thermocycling (10,000 cycles) and cariogenic challenge. Enamel microhardness was measured initially, after thermocycling and after cariogenic challenge. Data were submitted to Two-way Repeated Measures ANOVA and Tukey test (5%). Bacterial adhesion results showed statistically significant differences among groups; in the first adhesion, AB group (6.2 log) presented the lowest bacterial growth. In the second one, group FBC maintained its growth (7.5 log). AB and EQ groups (9.3 log) presented higher growth than before the treatments (6.2 and 7.6 log respectively). BB group (6.7 log) showed the lowest bacterial adhesion. Color differences were not statistically significant among groups; however, noticeable color change ($\Delta E > 2.7$) was seen for all materials after the coffee and brushing cycles. Translucency was statistically different among the groups but was not influenced by the cycles. Enamel microhardness decreased for all groups after thermocycling. FBC group and EH group, showed the lowest microhardness averages (178.78/202.83 kgf); AB and BB groups (240.82/265.34 kgf) were statistically similar; and EQ group had the highest average (274.18 kgf). A decrease in microhardness occurred after the cariogenic challenge for all*

materials, except for the EQ group (244.73 kgf). FBC and EH groups (117.18/112.97 kgf) did not present statistical differences between them, showing the lowest microhardness averages; and, groups BB and AB (211.32/ 171.14 kgf), were statistically different to the other groups. We can conclude that: bioactive materials interfered with bacterial adhesion by Streptococcus mutans, and were susceptible to pigmentation and brushing cycles; immersion in coffee and simulated brushing changed color, but not translucency for all materials; thermocycling reduced surface hardness of the enamel adjacent to all restorations in this study; and that cariogenic challenge also reduced enamel hardness, except for the EQ group, which maintained its hardness, showing its potential to influence enamel resistance demineralization

Keywords: Secondary caries. Bioactive Materials. Remineralization. Streptococcus Mutans.

1 INTRODUÇÃO

Manter dentes íntegros ao longo da vida tem sido um objetivo que, apesar de toda evolução do conhecimento científico, ainda não foi atingido. São grandes desafios para a saúde pública, a prevenção e manutenção da saúde bucal nos seus mais diversos níveis. Porém, mesmo nesse cenário, podemos perceber um processo evolutivo que passa cada vez mais da cura à prevenção, onde as soluções disponíveis foram da remoção dos dentes, para a busca de materiais restauradores que podem contribuir para estabilidade e equilíbrio do meio bucal (Pauleto et al., 2004).

O ambiente bucal, é colonizado por uma comunidade de bactérias altamente diversificada, sendo que algumas dessas bactérias estão relacionadas à lesão de cárie, uma das doenças crônicas mais prevalentes nos seres humanos (Vahabi et al., 2011; Azevedo et al., 2011).

A cárie dentária pode ser definida como uma destruição localizada dos tecidos dentais de etiologia multifatorial, em consequência dos subprodutos da fermentação bacteriana. O resultado da mudança na ecologia e atividade metabólica da placa bacteriana, com a consequente liberação de ácidos, estabelece um desequilíbrio entre o conteúdo mineral do dente e a cavidade bucal, gerando assim processos de desmineralização, que podem afetar o esmalte, a dentina e o cimento (Kidd, Fejerskov, 2004).

Dentre os diversos microrganismos que podem ocasionar a lesão de cárie, o *Streptococcus mutans* está associado ao início e à progressão da lesão, podendo constituir 70% das bactérias encontradas no biofilme dental (Jenkinson, 1994). O processo de formação da lesão de cárie pode ocorrer tanto em esmalte hígido, quanto em esmalte adjacente a restaurações com os diversos materiais restauradores (Hals, Nernaes, 1971).

A introdução de resinas compostas como materiais restauradores foi um dos maiores avanços da Odontologia Restauradora e, atualmente, são consideradas os materiais de eleição para a confecção das restaurações estéticas. Isso se deve às características que apresentam: restabelecimento da forma e das funções perdidas dos dentes e mimetização da cor e textura das estruturas dentais. No entanto, essas restaurações apresentam limitações, como por exemplo, uma perfeita união ao esmalte e à dentina, o que favorece a ocorrência de infiltração marginal (Jandt, Sigusch, 2009).

A microinfiltração é um dos fatores que contribui para ocorrência de cárie secundária. Através de microlacunas existentes entre o tecido dental e o material restaurador ocorre a penetração de fluidos do meio bucal, e a possibilidade também de penetração de subprodutos das bactérias presentes no biofilme dental, com consequentes danos como, cáries secundárias e alterações pulpares (Brännström, Nordenvall, 1978; Khvostenko et al., 2015).

Novos materiais foram introduzidos no mercado odontológico, com a característica de adicionarem propriedades benéficas aos materiais restauradores existentes (Amaireh et al., 2019). Eles prometem auxiliar no equilíbrio biodinâmico entre os dentes e a saliva, recarregando e liberando componentes iônicos e são denominados materiais bioativos (Mc Cabe et al., 2011; Bayrak et al., 2010).

O uso de agentes de união e materiais que liberam flúor aumentam a capacidade de uma melhor adaptação marginal, devido aos depósitos resultantes de flúor, evitando dessa forma a microinfiltração e consequentemente a formação de cáries secundárias (Ebaya et al., 2019).

Por definição, um material bioativo é aquele que induz uma resposta de organismos, tecidos ou células (Sonarkar et al., 2015). Estudos mostraram que alguns materiais bioativos têm, de fato, capacidade de interagirem de forma

semelhante à troca iônica biodinâmica com liberação e absorção de íons que ocorre na cavidade bucal (Pin et al., 2005; Perondi et al., 2014; Salas et al., 2011).

O potencial bioativo se manifesta nesses materiais restauradores através de componentes na sua formulação capazes de liberar íons que auxiliam no processo de remineralização dental pela interação desses íons com os tecidos dentais adjacente às restaurações (Sonarkar et al., 2015). Mudanças na temperatura e pH bucais são estímulos que podem influenciar na liberação desses íons que contribuem para a estabilidade iônica dos substratos dentais e, consequente manutenção da saúde bucal (McCabe et al., 2011).

Esses materiais se propõem a diminuir a adesão bacteriana, liberar flúor e, promover a proteção do esmalte adjacente da desmineralização ocasionada pela queda de pH (Paradella, 2008; Kimyai et al., 2011; Naoum et al., 2011). Apresentam-se como estéticos e duradouros, com a proposta de serem uma alternativa aos compósitos tradicionais, passivos e sem potencial bioativo (Bayrak et al., 2010; McCabe et al., 2011).

Para maior compreensão da interação entre materiais restauradores e o tecido dental adjacente, modelos *in vitro* para a produção de lesões de cárie, simulam a dinâmica da troca iônica que acontece nos processos de desmineralização e remineralização no ambiente bucal, permitindo assim analisar os fatores que influenciam esses processos (Magalhães et al., 2009).

Outro aspecto relevante a ser considerado, é quanto à suscetibilidade à adesão de microrganismos nas superfícies das restaurações com os materiais bioativos. A adesão de bactérias contribui para a presença de biofilme cariogênico nas margens das restaurações, sendo efetivamente, um dos fatores responsáveis pelo desenvolvimento da lesão de cárie secundária. A topografia da superfície da restauração desempenha um papel importante na adesão bacteriana, o aumento da rugosidade superficial, pode levar ao aumento da adesão bacteriana. Estudos mostram que a adesão de *S. Mutans* a alguns materiais bioativos é menor quando

comparada com a adesão à superfície das resinas compostas convencionais (Kimyai et al., 2011; Derchi et al., 2017).

Tratando-se de materiais restauradores estéticos, além da cárie secundária, outros fatores como degradação da superfície e alterações cromáticas também contribuem para o insucesso das restaurações.

As alterações cromáticas estão relacionadas não somente aos fatores extrínsecos das resinas compostas, como também aos intrínsecos, aqueles inerentes ao próprio material, como a composição da matriz orgânica, distribuição e quantidade das partículas de carga, mas também dos hábitos de higiene bucal e dieta do paciente, que podem contribuir para a degradação da superfície desses materiais restauradores, afetando não só a coloração, como também o contorno, favorecendo a retenção de microrganismos (Arocha, 2012; Ertas et al., 2006; Rutkunas et al., 2010; Kawai et al., 1998).

Os materiais restauradores comportam-se de maneiras diferentes quando imersos em soluções corantes, sendo que estudos apontam que as resinas compostas, devido a sua estrutura e composição química, apresentam maior estabilidade de cor quando comparadas aos cimentos de ionômeros de vidro (Bansal et al., 2012; Tan et al., 2015).

Estudos mostram que a rugosidade superficial está diretamente ligada a susceptibilidade ao manchamento em resinas compostas, além de afetar a retenção da placa bacteriana e ocasionar possíveis degradações ao material (Gadonski et al., 2020).

Outro fator reponsável por possíveis degradações nos materiais, é a variação de temperatura que ocorre na cavidade oral. Essas variações afetam a estabilidade dos materiais, ocasionando alterações de volume com contração e expansão dos mesmos. Esses fenômenos podem romper o selamento marginal de uma restauração com o dente, levando a microinfiltração marginal. A termociclagem é um método utilizado para reproduzir a degradação térmica e

hidrolítica sofrida pelos materiais (Ozcan et al., 2007; Khoroushi et al., 2013; Deng et al., 2014; Cotes et al., 2015).

Um dos grandes desafios da ciência e da tecnologia é criar materiais que melhorem a qualidade e longevidade das restaurações. No ambiente bucal, os materiais restauradores estão constantemente expostos a situações que, aceleram a degradação da interface adesiva, que promovem alterações da rugosidade superficial e alterações de cor, que propiciam a formação de cáries secundárias e a falha dessas restaurações. A utilização de materiais restauradores bioativos com capacidade de diminuir a adesão bacteriana e continuamente recarregar e liberar flúor, torna-se uma importante alternativa para minimizar as consequências à estrutura dental adjacente às restaurações e ampliar as possibilidades preventivas da Odontologia Restauradora (Paradella, 2008; Kimyai et al., 2011; Naoum et al., 2011).

Levando em consideração todos os fatores acima mencionados, fica evidente a necessidade de avaliar os materiais bioativos em relação a adesão bacteriana, alterações ópticas e capacidade remineralizante.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Materiais restauradores bioativos

Os vidros bioativos, foram desenvolvidos em 1969 por Larry Hench, que estava em busca de um material biocompatível que pudesse se ligar ao osso e estimular o crescimento de um novo tecido em casos de fraturas ósseas. A partir daí, materiais restauradores com potencial bioativo, são introduzidos no mercado odontológico, na tentativa de suprir limitações dos compósitos tradicionais, como por exemplo, a interação do material com o esmalte ou dentina adjacente à restauração, trazendo uma ligação entre material e estrutura dental, com o potencial de poder diminuir o surgimento de lesões secundárias de cárie através da liberação de íons (Krishnan et al., 2013).

Khoroushi et al. (2013) definiram os materiais bioativos como materiais capazes de liberar íons, somada à capacidade bioativa de interagir com o corpo humano, a fim de gerar uma resposta biológica específica na interface tecido-material, criando um ambiente que pode promover uma ligação entre os tecidos vivos e o material.

Para Sonarkar et al. (2015), um material bioativo é um material que induz uma resposta de tecido vivo, organismos ou células, diferente de um material bioindutivo ou biomimético, por exemplo. Dentre as várias categorias de materiais bioativos disponíveis no mercado odontológico, os autores ressaltam propriedades e finalidades importantes desses materiais, que podem ser utilizados como: agentes de capeamento pulpar, restaurações definitivas e no tratamento de hipersensibilidade dentinária, por meio da obliteração dos túbulos dentinários. Atuam também na regeneração do tecido ósseo, por apresentarem uma excelente formação de apatita, tornando-se um material de interesse no estudo da

remineralização da dentina. Através de uma revisão sistemática, Fernando et al. (2017), buscaram evidências acerca da remineralização da dentina através da utilização de vidro bioativo e puderam concluir que, a utilização do vidro bioativo, leva ao aumento da formação de apatita na dentina.

A partir dessas evidências científicas crescentes sobre as interações das partículas de vidro bioativo com o ambiente bucal, autores estudaram a possibilidade de incorporar essas partículas aos materiais restauradores, a fim de proporcionarem propriedades bioativas e antimicrobianas que melhorassem o prognóstico dos tratamentos. Garchitorena et al. (2019), através de uma revisão de literatura mostraram que os vidros bioativos podem ser utilizados para a formação de uma camada de hidroxiapatita, além de serem utilizados em implantes para a formação de uma camada de sílica gel, que se mineraliza. Outra função dos vidros bioativos é o seu efeito antibacteriano (*Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mutans* e *Actinomyces viscosus*). Os autores também observaram em um estudo *in vitro* de uma resina com 15% de incorporação de vidro bioativo, a menor penetração bacteriana, a nível marginal, em comparação com outras amostras.

Em 1975, chegaram ao mercado, os cimentos de ionômero de vidro (CIV) que possuem a capacidade de liberar íons flúor, exercendo uma ação anticariogênica, porém, suas desvantagens, são as baixas propriedades mecânicas (Silva et al., 2010). A fim de melhorarem as propriedades mecânicas dos cimentos de ionômero de vidro convencionais, foram introduzidos ionômeros modificados por resina (RMGIs) e posteriormente em 2008, foi feita a adição do vidro bioativo (BAG) na sua estrutura para melhorar a bioatividade e capacidade de regeneração dentária, na tentativa de potencializar a remineralização da dentina. Khoroushi et al. (2013) pontuam que as composições químicas do Biovidro ou vidro bioativo, variam de acordo com os fabricantes desses materiais, influenciando diretamente nas classificações desses materiais, de acordo com suas interações com o tecido

dental.

Skallevold et al. (2019), forneceram um panorama geral das atuais aplicações dos vidros bioativos na Odontologia, destacando as suas composições, o modo de preparo, que foi de um método convencional para o método sol-gel, as suas propriedades quanto à bioatividade e sua capacidade antimicrobiana. Os autores mencionaram a similaridade de composição dos vidros bioativos com a estrutura óssea e dentária, o que inspirou a pesquisa desses materiais com finalidade clínica na Odontologia. Concluíram que há um uso crescente de vidros bioativos para várias aplicações na Odontologia, sendo que a bioatividade depende da estrutura e composição do vidro, da técnica de fabricação e taxa de dissolução iônica. Além disso, elementos como Si, P, Sr, Cu, F, Ag, Zn e F são acrescentados para aumentar a bioatividade e as propriedades antimicrobianas. Observaram também, que os compósitos de resina com BAG e flúor aumentaram a remineralização da dentina e eliminaram a degradação enzimática na interface dentinária.

Todos os autores sugerem que mais estudos sejam realizados a fim de ampliar as aplicações dos materiais odontológicos com potencial bioativo, aumentando dessa forma as possibilidades de tratamento visando uma Odontologia regenerativa.

2.2 Adesão bacteriana aos materiais restauradores

Os *Streptococcus mutans* foram descritos pela primeira vez por Clark em 1924 (Clarke, 1924; De Carvalho et al., 2006). *S. mutans* são microrganismos Gram-positivos, que atuam na fermentação dos carboidratos provenientes da dieta. Constituem 70% das bactérias existentes no biofilme oral e são conhecidos

como os principais causadores de cáries dentárias de fissuras e superfícies lisas (Cheon et al., 2013; Durso et al., 2014).

Em 1992, Palenik et al. observaram os efeitos *in vitro* do crescimento e capacidade de formação de placa bacteriana em cimentos de ionômero de vidro e sua liberação de flúor. Cavidades em dentes bovinos foram restauradas com os materiais e alocadas em meio contendo sacarose e *S.mutans* durante 3 dias. Um eletrodo de troca iônica foi usado para mensurar a liberação de flúor durante 7 dias, para todos os ionômeros de vidro. Os resultados mostraram que todos os ionômeros de vidro inibiram a adesão por *S. mutans* em mais de 80%, estando essa conclusão diretamente relacionada a quantidade de flúor liberado pelos materiais.

Os *Streptococcus mutans* possuem grande capacidade de adesão às estruturas dentárias, Montanaro e colaboradores investigaram em 2004, essa adesão na superfície de diversos materiais restauradores e observaram que em um estágio inicial, mesmo na ausência de proteínas fisiológicas, os materiais induziram uma alta taxa de adesão bacteriana. Concluindo dessa forma que as células bacterianas, não necessitam de proteínas salivares para se ligarem às superfícies dos materiais. Os autores pontuam ainda, que dentre as diferentes classes de materiais adesivos, as resinas fluidas exibiram a menor suscetibilidade à adesão bacteriana.

Avaliar essa adesão bacteriana a materiais que liberam flúor e a influência da sua quantidade presente no material restaurador, foi objeto de estudo em 2008, por Shashibhushan et al. que avaliaram a atividade antibacteriana, através de cepas de *Streptococcus mutans*, de três cimentos de ionômero de vidro comercialmente disponíveis, que liberam zinco e flúor. Para isso, utilizaram a medida do tamanho da zona de inibição do crescimento bacteriano na placa de ágar. Os autores observaram que a liberação de flúor desses materiais foi máxima no primeiro dia de teste, reduzindo drasticamente no segundo dia. Segundo os

resultados, o cimento Fuji II Light Cure- (GC Corporation- Tóquio/Japan) exibiu a maior quantidade de atividade antibacteriana, produzindo as maiores zonas inibitórias e a maior liberação de flúor. Dessa forma, os autores concluíram que a atividade antibacteriana dos cimentos está diretamente relacionada à quantidade de liberação de flúor.

Essa mesma correlação foi encontrada por Kimyai et al. (2011), quando os autores avaliaram o efeito de dois métodos de profilaxia na adesão de *Streptococcus mutans* à superfície de resina composta convencional e da resina composta com partículas giomer. Os resultados mostraram que o grupo da resina com giomer apresentou uma adesão bacteriana significativamente menor que os grupos de resina composta e os autores concluíram que a reduzida adesão foi devida à propriedade de liberação de flúor presente nesse material. Ambos os métodos de profilaxia resultaram em aumento da rugosidade superficial dos materiais e consequentemente no aumento na adesão bacteriana.

Várias metodologias têm sido utilizadas para avaliar a formação de biofilme em materiais restauradores e diferenças têm sido observadas entre os materiais (Gatewood et al., 1993; Auschill et al., 2002). Essas diferenças parecem ser consequências de propriedades físico-químicas das superfícies dos materiais, como a rugosidade superficial (Nassar et al., 2021).

A integridade superficial dos materiais restauradores, corresponde a outra importante correlação encontrada por diversos pesquisadores, em relação a atividade antibacteriana. Em 2017 Yoshihara et al. avaliaram as propriedades de crescimento bacteriano e liberação de íons de compósito contendo vidro bioativo em comparação com compósito convencional e um cimento de ionômero de vidro, após imersão prévia em água destilada e ácido láctico. Imagens de MEV mostraram que, após 3 dias de imersão em ácido láctico, a superfície do compósito preenchido com vidro bioativo revelou múltiplos orifícios, enquanto praticamente nenhuma alteração na integridade da superfície foi observada para a resina e CIV

convencionais. Essa mudança estrutural, resultou no aumento da rugosidade superficial, permitindo que o *S. mutans* penetrasse nas irregularidades, promovendo a formação de biofilme. Os autores apontam ainda que a concentração de íons liberados por ambos os materiais não pareceu suficiente para inibir o crescimento bacteriano, concluindo que a integridade da superfície dos materiais, é um parâmetro chave a ser avaliado em relação ao potencial cariostático.

A mesma correlação entre a rugosidade dos materiais e a adesão bacteriana, foi encontrada por Poggio et al. em 2018. Os autores avaliaram e compararam a adesão bacteriana em cinco materiais restauradores estéticos, após exposição ácida com Cola-Cola. Os resultados do estudo sugeriram que a morfologia da superfície e a rugosidade dos materiais restauradores são críticos para a adesão bacteriana. Os valores mais altos de adesão bacteriana, foram registrados para o cimento de ionômero de vidro que parecem ser mais ásperos que as resinas compostas. Os autores concluíram que a exposição a substâncias ácidas foi um fator prejudicial para a adesão bacteriana aos materiais restauradores.

2.3 Indução de cárie secundária

A cárie secundária é definida como uma lesão detectada nas margens das restaurações (Özer et al., 1995). É um processo multifatorial, que está correlacionado às várias causas da doença cárie e às características específicas da restauração e do material restaurador (Askar et al., 2020).

Dionysopoulos et al. (1998), consideraram como fatores determinantes no desenvolvimento da cárie secundária: o tipo de material restaurador, o mecanismo

de retenção e a capacidade dos materiais restauradores em liberar íons. Além da localização das margens da restauração, pois em locais de difícil acesso à higiene, a incidência desse tipo de lesão é mais elevada (Kidd, 2001).

Para o estudo da formação e progressão das lesões de cáries secundárias, encontramos na literatura científica estudos que induzem a formação dessas lesões, comparam o desempenho de diferentes materiais restauradores frente aos desafios cariogênicos e avaliam a liberação de flúor dos materiais bioativos, correlacionando essa liberação ao potencial anticariogênico desses materiais (Askar et al., 2020).

As ciclagens de pH são simulações *in vitro* das variações de pH que ocorrem no ambiente bucal, através dos períodos cíclicos de desmineralização e remineralização (Ten Cate, 1982; Herkstroter et al., 1991). Diferentes modelos de ciclagem de pH foram desenvolvidos para avaliar a interação dos íons flúor com o esmalte dental, a fim de reduzir a desmineralização (White, 1987).

Okida et al. (2008) avaliaram a desmineralização em torno de restaurações de classe V através de microscopia de luz polarizada. Para isso preparos de classe V foram realizados nas faces vestibular e lingual de molares humanos e restaurados com 6 diferentes materiais, sendo eles resinas compostas e CIVs. A ciclagem de pH correspondeu à imersão por 4 horas em solução desmineralizante de ácido sintético e por 20 horas em solução remineralizante, durante 28 dias. Os resultados mostraram que o cimento de ionômero de vidro convencional foi mais eficaz contra a progressão da desmineralização na superfície do esmalte, quando comparado à resina fluoretada. Dessa forma os autores concluíram que as resinas fluoretadas foram ineficientes na inibição da desmineralização dental.

Komatsu et al. (2011), avaliaram a absorção de flúor no esmalte humano, restaurado com dois materiais contendo flúor para duas diferentes condições de ciclagem de pH. Os autores concluíram que as diferenças entre as soluções de ciclagens de pH não influenciam na absorção média de flúor pelo esmalte dental,

no entanto, o material restaurador influencia nessa absorção. O cimento de ionômero de vidro (Fuji IX), mostrou uma concentração média de flúor mais alta após a ciclagem de pH. Para a resina composta (Beautifill II), não houve captação significativa de flúor.

Embora nenhum material possa impedir completamente o estabelecimento de lesões de cárie, estudos mostram que alguns materiais, dificultam a progressão da lesão, como por exemplo os cimentos de ionômero de vidro. Hara et al. (2000), compararam a eficácia de dois materiais restauradores, um cimento de ionômero de vidro convencional e uma resina composta, na inibição do desenvolvimento de lesões de cárie radicular artificial, adjacentes às restaurações. A indução de cárie artificial foi efetuada por meio de um modelo de desmineralização e remineralização, simulando condições *in vivo* de um paciente que apresenta alto risco de cárie. O desenvolvimento das lesões de cárie foi quantificado através de ensaios de microdureza Knoop na superfície dentária adjacente à restauração. Os autores concluíram que o cimento de ionômero de vidro convencional (Chelon-Fil) demonstrou um potencial cariostático maior, quando comparado à resina composta (Z100), em dentina radicular sugerindo então a utilização do cimento de ionômero de vidro convencional para pacientes que apresentam alto risco/atividade de cárie.

O mesmo potencial de retardar a progressão de lesões de cárie através dos ionômeros de vidro, foi encontrado por Pin et al. (2005), quando avaliaram a capacidade de redução da desmineralização do esmalte bovino adjacente às restaurações de quatro materiais restauradores (Filtek Z250/3M; Dyract AP/Dentsply; Vitremer/3M; Ketac Molar/ESPE). As amostras foram submetidas a 14 dias de ciclagem de pH e a perda mineral foi avaliada através da microdureza Knoop em dois aspectos: a profundidade em relação à superfície externa do esmalte e a distância das paredes da cavidade e margens da restauração. Os resultados mostraram o potencial cariostático dos cimentos de ionômeros de

vidro, tanto no esmalte intacto quanto nas lesões de cárie incipientes. Esse potencial permite a redução da gravidade da cárie secundária.

Dasgupta et al. (2018) avaliaram e compararam a liberação e recarga de íons flúor de cinco diferentes materiais restauradores posteriores: GP IX Extra (GE), Equia[®] Forte Fil (EF), Beautifil Bulk (BB), Dyract[®] XP (DXP), Tetric N-Ceram[®] (TNC). A liberação de flúor foi verificada usando eletrodo seletivo de íons fluoreto, em intervalos de tempo de 1 dia e depois 3, 7, 14, 21 e 28 dias. A recarga de flúor foi feita com 1,23% de flúor fosfato acidulado (12300 ppm). Após 28 dias cada amostra foi novamente verificada quanto à liberação de flúor nos mesmos intervalos de tempo. Os resultados mostraram que o material Équia Forte apresentou altos valores de liberação de flúor e recargas nos intervalos de tempo significativamente maiores do que os demais grupos. Os autores concluíram que Équia Forte mostrou grande potencial de liberação de flúor. Dessa forma podemos relacionar esses resultados à possibilidade desse material impedir a progressão de lesões de carie secundária.

Kramer et al. em 2014 investigaram o efeito de diferentes cimentos de ionômero de vidro na inibição de cárie secundária em um modelo de biofilme *in vitro*. Cavidades foram restauradas e submetidas a termociclagem e ao desafio cariogênico por *Streptococcus mutans*. Os resultados de microdureza, mostraram que para todos os cimentos de ionômero de vidro, a profundidade de desmineralização nas margens foi menor em comparação à da distância de 0,5 mm das margens da restauração. Os autores concluíram que comparado à resina composta, todos os CIVs exibiram inibição de cárie nas margens de restauração tanto no esmalte quanto na dentina.

2.4 Simulação da escovação dental em materiais restauradores

Em 1980 já se avaliava o efeito da abrasão ocasionada pela escovação. O aumento da rugosidade superficial ocasionada pela abrasão pode apresentar consequências clínicas relevantes. Superfícies mais rugosas afetam a estética e a qualidade das restaurações, além de oferecerem maior risco de cárie recorrente (Quirynen et al., 1995).

Carvalho et al. (2012), observaram as alterações de rugosidade superficial sofridas por cimentos de ionômeros de vidro após 30.000 ciclos de simulação da escovação dental. Todos os materiais sofreram alterações de rugosidade superficial e micrografias mostraram que todos os materiais apresentaram perda perceptível de material após a escovação, com superfícies irregulares e partículas de preenchimento salientes, mostrando o aspecto de abrasão da matriz.

Os resultados encontrados por Somacal et al. (2020), também mostraram que após a escovação dental simulada, observou-se maior degradação da matriz, com trincas e micro cavidades. Os autores avaliaram o efeito da ciclagem de pH na rugosidade da superfície e na formação de biofilme de três resinas compostas com e sem escovação simulada. Após a ciclagem de pH, as amostras foram submetidas a 10.000 ciclos de escovação simulada e então submetidas à formação de biofilme. Os autores concluíram que a escovação simulada potencializou a degradação da superfície dos materiais iniciada pela ciclagem de pH e que a adesão de bactérias na superfície dos materiais foi superior após ciclagem de pH e escovação dental simulada.

Teixeira et al. (2005), observaram que os ciclos de escovação promoveram aumento da rugosidade nas amostras, ao estudarem o efeito da escovação associada a dentifrícios na abrasão de duas resinas compostas (Filtek Z250 e Filtek Supreme- 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA). As amostras foram submetidas a 10.000, 20.000, 50.000 e 100.000 ciclos de escovação sob carga de 250g. Os resultados mostraram ainda que entre os dois materiais foram observadas diferenças significativas nos resultados, sendo a resina Filtek Supreme, a que

apresentou os maiores valores de rugosidade superficial.

Além das resinas compostas, materiais indicados para próteses parciais fixas, inlays e onlays, foram estudados a respeito das possíveis alterações de rugosidade promovidas pela simulação da escovação. Quando a superfície desses materiais se torna áspera, devido à escovação dental, observa-se um aumento do acúmulo de placa e a diminuição do brilho. Tanoue et al. (2000) avaliaram sete resinas compostas utilizadas em próteses parciais fixas e um material cerâmico, que foi utilizado como controle. As amostras foram submetidas a 20.000 ciclos de escovação com carga de 350g, associados à solução de dentífrico contendo abrasivos. Através das análises feitas por um rugosímetro, os autores observaram que os materiais se comportaram de formas diferentes. Isso foi atribuído às diferenças no tipo de partícula de carga e da matriz resinosa; sendo que esses fatores influenciam na abrasão seletiva da matriz de resina e no deslocamento de partículas de carga, comprometendo o uso a longo prazo.

Em 2004, Garcia et al. estudaram a perda de massa e as alterações de rugosidade superficial de compósitos após escovação simulada com dentífrico. As amostras foram submetidas a 100.000 ciclos de escovação em máquina simuladora contendo solução de dentífrico/água, sob carga de 200 g. As amostras foram avaliadas quanto ao peso em balança analítica (0,0001 g) e quanto à rugosidade em rugosímetro. E os autores observaram que todas as resinas testadas apresentaram diferença significativa entre o peso inicial e o peso final, e quanto à rugosidade, todos os materiais se apresentaram mais rugosos após a escovação.

2.5 Alterações cromáticas em materiais restauradores

Uma das limitações das resinas compostas, é a possibilidade de

descoloração ou pigmentação desses materiais, seja por fatores intrínsecos ou extrínsecos. Fatores intrínsecos são aqueles inerentes ao próprio material, como por exemplo a composição da matriz orgânica. Já os fatores extrínsecos, são por exemplo, a deposição de pigmento na superfície desses materiais, oriundos da dieta do paciente, seus hábitos de higiene e o acúmulo de placa bacteriana, comprometendo a estética das restaurações e consequentemente sua longevidade (Arocha, 2012; Ertas et al., 2006; Rutkunas et al., 2010).

Para avaliar o desempenho dos diversos materiais restauradores com relação a alteração de cor, pesquisadores utilizam diferentes soluções corantes e diferentes metodologias. Segundo a literatura, o tipo de material restaurador, os agentes de coloração e o tempo de interação entre eles, desempenham um papel significativo na mudança de cor dos materiais. Erta et al. (2006), avaliaram a estabilidade de cor de cinco materiais restauradores, após a exposição a diferentes bebidas: chá, cola, café, vinho tinto e água destilada, por 24 horas. Os resultados mostraram que o menor valor de ΔE foi o da água, dentre as diferentes soluções de coloração, enquanto o vinho tinto obteve o maior valor de ΔE . Dentre todos os materiais testados, os valores de mudança de cor no chá, café e vinho tinto foram maiores ou iguais a 3,7. Isso significa que a mudança de cor era visualmente perceptível nos materiais imersos nestas soluções, bem como clinicamente inaceitáveis. Os autores observaram que a maior descoloração dos materiais que continham TEGDMA, sendo ele o responsável pela maior mudança de cor devido ao seu caráter hidrofílico.

Topcu et al. (2009) avaliaram os efeitos da descoloração de diferentes bebidas em materiais à base de resina composta. As amostras foram imersas por 24h em oito soluções diferentes: água destilada, saliva artificial, suco de limão granulado, café (sem açúcar), Coca-Cola, suco de cereja azeda, suco de cenoura fresco e vinho tinto. Os resultados mostraram que o vinho tinto causou a descoloração mais severa. Os autores relacionam esse resultado ao fato do álcool

facilitar a penetração do corante ao amolecer a matriz de resina dos compósitos. Para duas das resinas testadas, a mudança de cor ocasionada pelo café foi semelhante ao do vinho tinto. Os autores concluíram que café e vinho tinto apresentaram as maiores alterações de cor.

Interações entre diferentes tipos de resinas, bebidas e o tempo foram encontrados por Bansal et al. (2012); os autores analisaram os efeitos de três bebidas (Whisky, Coca-Cola e Nimbooz) na estabilidade de cor e rugosidade superficial de duas resinas compostas, uma nano-cerâmica à base de metacrilato (CERAM X) e outra, uma micro-híbrida à base de Silorano (Filtek TM P90) *in vitro*. As amostras foram imersas em cada bebida testada (cerca de 10 minutos por dia), e depois mantidas em água destilada, totalizando 56 dias. Os resultados mostraram que os compósitos à base de silorano apresentaram maior estabilidade de cor em diferentes bebidas ao longo do tempo. Dentro das limitações deste estudo, os autores concluíram que essa interação entre diferentes tipos de resinas, as diferentes bebidas e o tempo, são fatores que estão diretamente relacionados a pigmentação e a rugosidade superficial. A melhor estabilidade de cor e rugosidade superficial foram notadas no compósito à base de silorano em comparação ao de metacrilato, tanto em bebidas alcoólicas quanto não alcoólicas. O aumento de coloração e alteração da rugosidade superficial ocorreram ao longo do tempo, em ambos os materiais testados.

Tan et al. (2015) investigaram as mudanças de cor e translucidez dos materiais restauradores à base de resina e cimentos de ionômero de vidro, que foram embebidos em diferentes soluções. Selecionaram seis materiais restauradores: 3M Filtek Z350XT (ZT) e 3M Filtek Z350XT Flowable Restorative (ZF), Shofu Beautifil II (B2), Beautifil Flow Plus (BF), 3M Ketac Nano (N100) e 3M Photac Fil (PF). As amostras foram imersas em sete líquidos diferentes (refrigerante de cola, suco de laranja, vinho tinto, vodka, café preto, chá verde e água destilada), durante 7 dias. Os resultados mostraram que todos os

materiais sofreram alterações em diferentes graus. Os materiais à base de resina se saíram melhor do que os cimentos de ionômero de vidro. O café, seguido pelo vinho tinto e pelo chá, foi a bebida com a coloração mais evidente, produzindo as maiores reduções de translucidez. Uma mudança de cor, clinicamente perceptível ($\Delta E \geq 3,3$), ocorreu em todos os materiais imersos no café e vinho tinto.

Quando os materiais poliméricos absorvem água, ocorre hidrólise dos agentes de união e a perda de ligação química entre as partículas de carga e a matriz resinosa, fazendo com que partículas de carga se desloquem da superfície externa do material, causando rugosidade e diminuição da microdureza (Santos et al., 2002). Essas constatações, são encontradas em diversos estudos disponíveis na literatura, como por exemplo no estudo de Tanthanuch et al. (2014) no qual os autores investigaram os efeitos de cinco bebidas: cidra de maçã, suco de laranja, Coca-Cola, café e cerveja na microdureza e alterações características da superfície de resina composta nano-híbrida (Premisse) e compósito bioativo (Beautifill II - Giomer). Discos foram imersos alternadamente em 25 ml de cada bebida por 5 segundos e em 25 ml de saliva artificial por 5 s, por 10 ciclos. O protocolo de imersão das amostras simulava um indivíduo comendo alimentos ácidos, frutas ácidas e bebidas durante 28 dias. Os autores concluíram que todas as bebidas utilizadas reduziram significativamente a dureza superficial de ambos os materiais, particularmente no final do período de imersão de 28 dias. Além disso, o compósito bioativo mostrou uma redução significativamente maior na dureza superficial do que o compósito de resina nano-híbrida. Com isso os autores observaram que o efeito dessas bebidas na superfície de ambos os materiais restauradores, dependia do tempo de exposição e da composição química dos materiais restauradores e bebidas. O tipo de partícula de carga, pode afetar a absorção de água. Materiais com mais partículas de carga apresentam uma menor absorção de água.

De acordo com a literatura, observamos que materiais de composições diferentes, se comportam de formas diferentes quando imersos em soluções corantes. Karaman et al. (2014), investigaram resinas compostas à base de silorano (SBC) e metacrilato (MBCs) sob a influência de diferentes bebidas pigmentadas com relação à estabilidade de cor, rugosidade superficial e microdureza. As amostras ficaram imersas em bebidas diferentes (água destilada, coca-cola e café) durante 15 dias, e depois armazenadas em recipientes à prova de luz a 37°C em uma incubadora. Os resultados mostraram que a imersão no café resultou em uma coloração significativa de todos os compósitos testados. As alterações de rugosidade superficial foram semelhantes em todas as amostras, após a imersão em diferentes bebidas, sendo que o café causou mais alteração na rugosidade do que as outras bebidas. Dentro das limitações desse estudo, os autores concluíram que compósitos a base de metacrilato apresentam maior tendência à pigmentação que a base de silorano. Os compósitos a base de silorano apresentam maior estabilidade de cor do que as resinas compostas à base de metacrilato em soluções de coloração diferentes. Os autores apontam ainda que as alterações sofridas pelos materiais são dependentes de suas próprias características.

Gonulol et al. (2015) compararam a estabilidade de cor, sorção de água e solubilidade de uma resina contendo partículas giomer (Beautifil II, Shofu, Kyoto, Japão), de um composto nano-híbrido contendo flúor (Tetric N-Ceram, Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein) e de uma resina composta nano-particulada convencional (Filtek Z350, 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA). Os espécimes foram imersos em água a 37° C por 28 dias. Todos os materiais apresentaram valores de mudança de cor clinicamente aceitáveis ($\Delta E < 3,3$) independentemente de sua composição, sorção de água e valores de solubilidade. Os autores concluíram que não houve diferenças estatisticamente significativas nos valores de solubilidade em água entre os grupos; porém, observaram uma correlação linear positiva entre

solubilidade e descoloração. Os valores de sorção e descoloração de água do grupo da resina contendo partículas giomer foram maiores do que os compósitos nano-híbridos testados; concluindo, portanto, que os altos níveis de sorção e solubilidade de água e descoloração dos compósitos giomer, podem ter um efeito adverso nas restaurações estéticas.

Alkhadim et al. (2020) compararam a mudança de cor, estabilidade de cor e rugosidade pós-polimento da superfície, de materiais restauradores estéticos. As amostras foram imersas em chá, café, suco de frutas vermelhas e água destilada por 8 semanas. Os autores observaram que os diferentes materiais estéticos testados não apresentaram grandes diferenças quanto à mudança de cor e rugosidade superficial após polimento com sistema rotativo. A coloração por café e chá eram comparáveis e seus efeitos aumentavam com o tempo, mas a intensidade da pigmentação dos espécimes dependia das composições diferentes dos materiais, resultados esses compatíveis aos encontrados em outros estudos de pigmentação de compósitos.

2.6 Envelhecimento térmico em materiais restauradores

Variações bruscas de temperatura na cavidade oral, afetam a estabilidade dos materiais. Quando a temperatura é elevada, ocorre aumento de volume de determinados materiais, ou seja, uma expansão. E quando as temperaturas são baixas, ocorre contração desse material. Esses fenômenos podem romper o selamento marginal de uma restauração com o dente, levando a microinfiltração marginal. A termociclagem é um método utilizado para reproduzir a degradação térmica e hidrolítica sofrida pelos materiais e é utilizada para avaliar essas degradações (Ozcan et al., 2007; Khoroushi et al., 2013; Deng et al., 2014; Cotes

et al., 2015).

Gale et al. (1999), por meio de uma revisão de literatura, avaliaram estudos de ciclagem térmica. As mudanças de temperatura usadas raramente foram comprovadas com medições de temperatura feitas *in vivo* e variam consideravelmente entre os estudos. Cento e trinta estudos foram analisados. Um regime de ciclagem térmica clinicamente relevante foi derivado das informações *in vivo* e é sugerido como um padrão de referência. Os autores concluíram que a variação dos esquemas utilizados foi grande, dificultando a comparação dos estudos. Relatórios de testes de efeitos da ciclagem térmica eram frequentemente contraditórios, mas geralmente a microinfiltração aumentava com o estresse térmico, embora nunca tenha sido demonstrado que o teste cíclico é relevante para falhas clínicas. No entanto, caso isso seja feito, o regime cíclico padrão definido é: 35°C (28s), 15°C (2 s), 35°C (28 s), 45°C (2 s). Nenhuma evidência do número de ciclos prováveis de ocorrer *in vivo* foi encontrada e isso requer investigação; mas, uma estimativa de aproximadamente 10.000 ciclos por ano é sugerida e aceita por muitos autores.

Crim et al. (1987) compararam os efeitos do tempo e duração do ciclo térmico na microinfiltração de resinas compostas. Vinte pré-molares humanos não cariados extraídos, tiveram cavidades de Classe V preparadas e restauradas. As amostras foram divididas em diferentes protocolos: Método A: os dentes restaurados foram imediatamente submetidos a 100 ciclos térmicos; Método B: os dentes restaurados foram imediatamente submetidos a 1500 ciclos térmicos; Métodos C e D: os dentes foram armazenados em água na temperatura ambiente por 24 horas antes de 100 ou 1500 ciclos, respectivamente. A microinfiltração foi avaliada nas margens das restaurações nas áreas oclusal e cervical sob um estereomicroscópio. Os resultados mostraram que não há diferença estatística significativa entre as técnicas de termociclagem. Os autores concluíram que ciclos de curta duração, parecem tão eficazes na demonstração de infiltração marginal

quanto regimes de ciclagem prolongados.

Magalhães et al. (2005) avaliaram a microdureza do esmalte dentário em torno de restaurações de resina composta com sistemas adesivos contendo flúor, após protocolos de ciclagem térmica e de pH. As amostras foram submetidas a 1.000 ciclos térmicos (5°C e 55°C) e aos protocolos de ciclagem de desmineralização (pH 4,3) e remineralização (pH 7,0). A microdureza Knoop das superfícies do esmalte foi medida em torno das restaurações. Os autores concluíram que a microdureza do esmalte ao redor das restaurações de resina composta variou dependendo da técnica restauradora. Os sistemas adesivos contendo flúor não foram necessariamente associados a maiores valores de microdureza. Próximo à parede da cavidade, a formação de áreas desmineralizadas foi mais evidente.

Jiang et al. (2011), examinaram as mudanças nas propriedades mecânicas de 7 diferentes resinas compostas fotopolimerizáveis após a ciclagem térmica e as correlações entre essas propriedades. Os espécimes foram submetidos a 1.000 ciclos térmicos. Imagens de MEV mostraram que as regiões da interface dente/restauração eram vulneráveis e propensas a formações de fissuras. Os autores concluíram que as resinas compostas nanohíbridas são mais adequadas às aplicações clínicas do que as resinas compostas microhíbridas.

Morresi et al. (2013) através de uma revisão de literatura, buscaram elucidar os parâmetros de teste para envelhecimento *in vitro* de restaurações adesivas, buscando um protocolo padronizado de ciclagem térmica. Os testes *in vitro* continuam sendo um método indispensável para a triagem inicial de materiais odontológicos. A ciclagem térmica é um dos procedimentos mais utilizados para simular o envelhecimento fisiológico vivenciado pelos biomateriais na prática clínica. Consequentemente, é rotineiramente empregado em estudos experimentais para avaliar o desempenho dos materiais. A pesquisa identificou 193 estudos experimentais relevantes. Apenas vinte e três estudos

aplicaram fielmente o padrão ISO. A maioria dos estudos utilizou procedimentos próprios, mostrando apenas uma certa consistência dentro do parâmetro de temperatura (5-55°C) e uma grande variabilidade no número de ciclos e tempo de permanência escolhidos. Uma ampla variação nos parâmetros de ciclagem térmica aplicados em estudos experimentais foi identificada. Os parâmetros selecionados entre esses estudos parecem ser feitos para a conveniência dos autores na maioria dos casos. Uma comparação dos resultados entre os estudos parece ser impossível. Os dados disponíveis sugerem que mais investigações serão necessárias para desenvolver um protocolo de ciclagem térmica padronizado.

Walia et al. (2016) avaliaram e compararam a microinfiltração e a resistência à compressão de Ketac Molar, Giomer, Zirconomer e Ceram-x. As amostras foram termocicladas por 1500 ciclos e submetidas ao teste de penetração do corante azul de metileno. A microinfiltração foi considerada insignificante para todos os grupos de estudo, com o Giomer apresentando valor máximo seguido por Zirconomer, Ceram-x e Ketac Molar. A provável razão para a menor microinfiltração pode ser devido à sua estrutura com baixa contração, mesmo antes da fotopolimerização, e devido ao seu alto peso molecular, sofrendo assim menor contração. A resistência à compressão foi considerada altamente significativa, com o valor máximo para o Giomer; o que, se deve ao alto teor de carga desse material, resultando em maior resistência à compressão.

3 PROPOSIÇÃO

Avaliar os materiais restauradores bioativos em duas situações distintas:

1- Adesão bacteriana e alterações ópticas após imersão em café e escovação simulada; através de contagem de unidades formadoras de colônias (UFC/ml) e de análises de cor e translucidez.

2- Interação das restaurações com o esmalte adjacente, após termociclagem e desafio cariogênico, através da avaliação da microdureza da superfície do esmalte.

As hipóteses nulas estabelecidas foram:

1ª Hipótese: Os materiais bioativos não interferem na adesão de *S. mutans*.

2ª Hipótese: A pigmentação com café e escovação simulada, não alteram a cor, translucidez e adesão bacteriana nos materiais bioativos.

3ª Hipótese: A termociclagem não influencia na microdureza do esmalte adjacente.

4ª Hipótese: O desafio cariogênico não interfere na desmineralização do esmalte adjacente às restaurações.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Delineamento experimental

Unidade experimental

- Amostras circulares de materiais restauradores bioativos
- Terceiros molares humanos

Substratos

- Materiais restauradores
- Esmalte Dental

Fatores em estudo

- Adesão bacteriana e alterações ópticas de materiais restauradores.
- Envelhecimento térmico e capacidade remineralizante do esmalte adjacente às restaurações.

4.1.1 Desenho do estudo: Dividido em duas etapas.

1. Adesão bacteriana aos materiais restauradores através da contagem de UFC/ml; coloração induzida por solução de café e escovação simulada.
2. Envelhecimento térmico das restaurações; ciclagem de pH; análise da microdureza do esmalte adjacente as restaurações.

4.1.2 Materiais empregados

Foram avaliados três materiais restauradores bioativos e uma resina bulk convencional. Suas respectivas composições e fabricantes, estão listados no quadro 1.

Quadro 1- Materiais utilizados

MATERIAL	COMPOSIÇÃO	FABRICANTE
Activa BioActive Restorative	Matriz de resina iônica bioativa, componente de resina, reagentes de ionômero de vidro.	PULPDENT™ Corporation, USA
Beautifil Bulk	Bis-GMA, TEGDMA, BisMEPP, Partículas flúor-boro-alumínio-silicato.	Shofu inc., Kyoto, JapaO
Equia Forte	Líquido: ácido carboxílico polibásico 5-10%, pH a 20oC = 1,9 12% de água, ácido poliacrílico Pó: Óxido de ferro <0,5%	GC América Inc., Illinois, EUA
Filtek Bulk Fill	Cerâmica tratada com silano, Diuretano Dimetacrilado (UDMA), Uretano Dimetacrilato aromático, Sílica tratada com silano, Fluoreto de itérbio, 1-12-dodecano dimetacrilato (DDMA), Zircônia tratada com silano, água, monômero AFM-1, Etil 4-dimettl aminobenzoato (EDMAB), Benzotriazol, Dióxido de titânio.	3M ESPE, Saint Paul, Minessota, EUA

Legenda: Bisfenol glicidil metacrilato (Bis-GMA), Dimetacrilato de trietilenoglicol. (TEGDMA), Uretano dimetacrilato (UDMA), Dicloropropanol (DCP), Dodecano Dimetacrilato (DDMA), Etil 4-dimetil aminobenzoato (EDMAB). Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 1- Materiais utilizados



Legenda: A- Filtek Bulk Fill; B- Beautifil Bulk; C- Équia Forte; D- Activa Bioactive.
Fonte: Elaborado pelo autor.

4.2 Fase 1: Adesão bacteriana aos materiais restauradores bioativos

4.2.1 Ativação da cepa padrão de *S. mutans*

Foi utilizada cepa padrão de *Streptococcus mutans* (UA159), mantida em freezer a no laboratório de microbiologia e imunologia do ICT/UNESP.

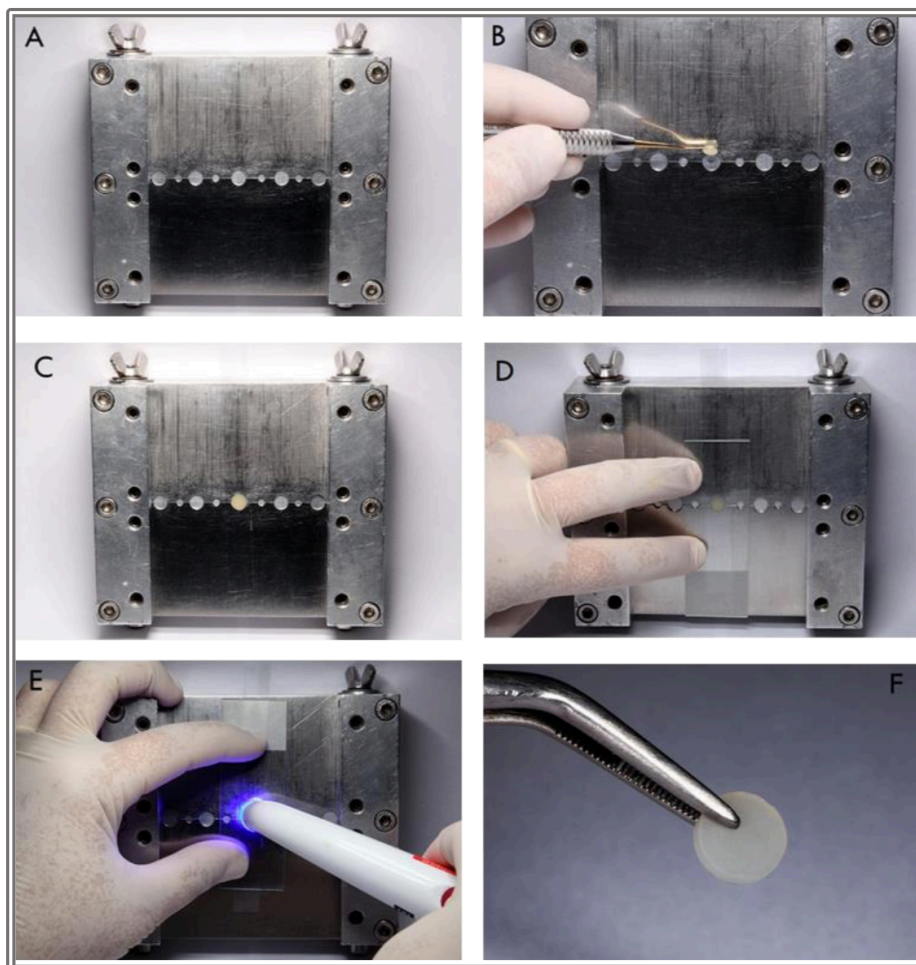
Para a ativação desse microorganismo, a cepa foi cultivada em ágar infuso coração (BHI, Himedia Mumbai, Índia) por 48h a 37°C em estufa Heal Force, HF 212 UV (5% de co₂).

4.2.2 Adesão bacteriana os materiais restauradores

Foram confeccionados 10 discos de cada um dos materiais restauradores (figura 1), com o auxílio de uma matriz de aço polida bipartida, com orifício de 6 mm de diâmetro e 1 mm de profundidade. O emprego da matriz metálica rígida permitiu a confecção de discos de tamanho padronizado (figura 2).

A inserção do material restaurador foi realizada em incremento único de 1 mm. Uma tira matriz de poliéster descartável foi colocada na parte superior da matriz e pressionada com uma lâmina de vidro, para compactar o material, proporcionando lisura e padronização da superfície das amostras, que foram então polimerizadas com o aparelho Rádi-cal, uma LED com intensidade de 1200 mW/cm² na faixa de 440-480 nm, durante 40 s. Após a polimerização as amostras foram armazenadas em água deionizada a 37°C por 24 h e então autoclavadas, para serem expostas ao *S. mutans* e subsequente avaliação da adesão bacteriana às superfícies dos materiais (Souza, 2018).

Figura 2- Confeção dos espécimes



Legenda: a) matriz metálica bipartida; b) inserção do material; c) tira de poliéster sobre o material; d) lâmina de vidro compactando o material; e) fotopolimerização; f) espécime confeccionado.
Fonte: Elaborado pelo autor.

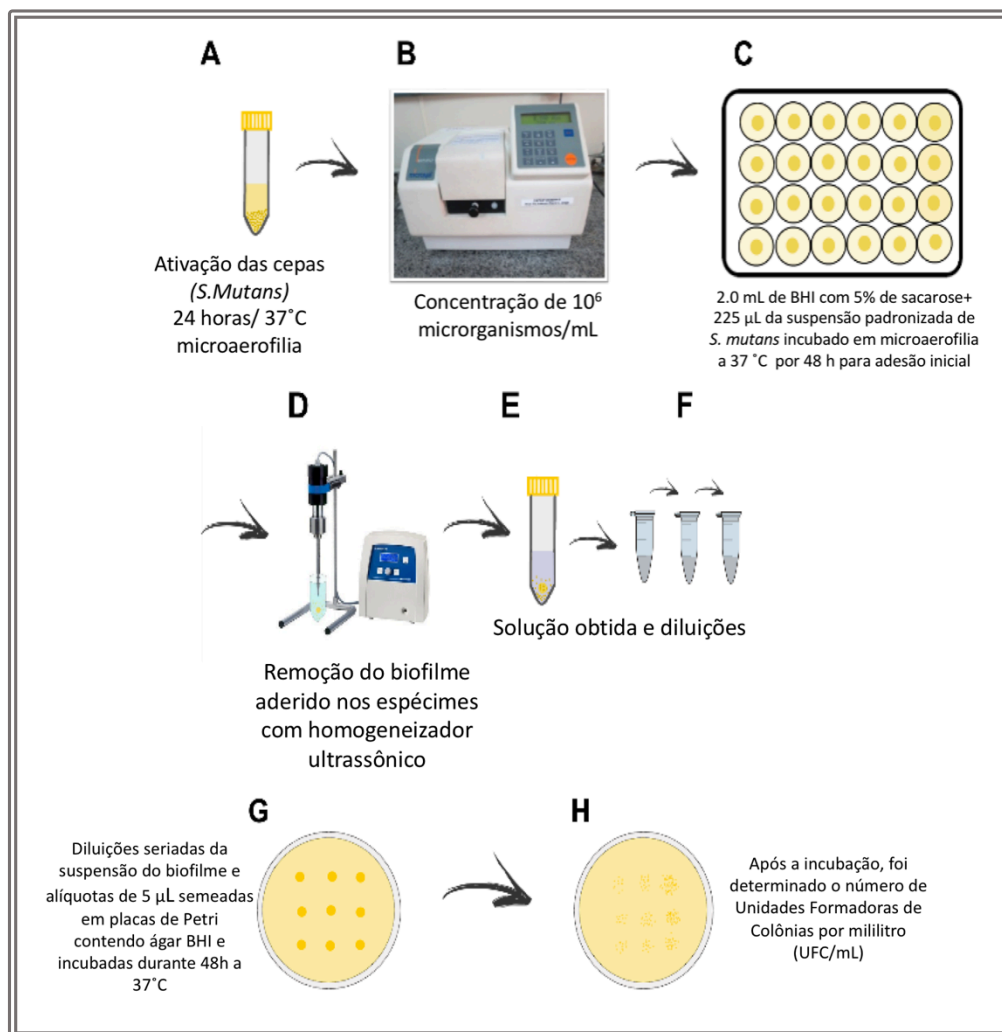
4.2.3 Formação do biofilme de *S. mutans* sobre as amostras

Após a ativação das cepas, colônias isoladas dos microorganismos foram transferidas para tubos Falcon contendo caldo BHI. Foram então incubadas a 37°C por 24 h, sob condições de microaerofilia (5 % de CO₂). As células microbianas foram centrifugadas a 1300 x g durante 10 minutos. O sobrenadante

de cada grupo foi desprezado e o sedimento ressuspenso em 10 ml de solução fisiológica tamponada com fosfato (PBS). A contagem do número de células das suspensões foi realizada através de espectrofotômetro (B582, Micronal, São Paulo, Brasil) no comprimento de onda de 398nm e densidade óptica de 0,620 estabelecidos previamente no Laboratório de Microbiologia do Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos (ICT-UNESP), obtendo uma concentração de 10^6 microrganismos/ml de *S. mutans*.

O teste de adesão foi realizado em ambiente estéril (câmara de fluxo laminar). As amostras foram armazenadas em placas de 24 poços contendo 2.0 ml de BHI caldo com 5 % de sacarose. Foram acrescentados em cada poço, 225 µL da suspensão padronizada de *S. mutans* que foi anteriormente incubado em microaerofilia a 37°C por 24 h para adesão inicial às amostras. Após este período de incubação, as amostras foram lavadas três vezes com 2 ml de PBS, para remoção das células fracamente aderidas. Após um período de 48 h do início da formação do biofilme, as amostras foram removidas com auxílio de uma pinça clínica estéril, e transferidas para um tubo Falcon contendo 4 ml de PBS, para que o biofilme aderido no material restaurador fosse removido, utilizando um homogeneizador ultrassônico (sonopuls HD2200, Bandelin Eletronic) com potência de 7 W por 30 segundos. A partir da solução obtida, foram realizadas diluições seriadas da suspensão do biofilme, das quais três gotas de 10 µL de cada diluição foram semeadas em placas de Petri contendo ágar BHI e incubadas durante 24h a 37°C sob condições de microaerofilia (figura 3). Depois da incubação, foi determinado o número de unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/mL) para cada amostra (Souza, 2018).

Figura 3- Adesão de *Streptococcus Mutans*



Legenda: a) ativação das cepas; b) contagem do número de células (espectrofotômetro); c) armazenamento em placa de 24 poços; d) homogeneizador ultrassônico; e) solução obtida; f) diluições seriadas da suspensão do biofilme; g) diluições semeadas em placas de petri; h) determinação do número de unidades formadoras de colônias.

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.2.4 Tratamentos de superfície: Coloração induzida por café e Simulação da escovação

4.2.4.1 Coloração em solução de café e simulação da escovação:

Em cada ciclo diário, as amostras foram imersas em 1 ml de solução de café, a 37 ° C por 10 min (figura 4), sob agitação constante durante 30 dias. A solução de café foi preparada com 1 colher de chá de café solúvel (Nescafé Original, Nestlé, Araras, São Paulo, Brasil) dissolvido em 50 ml de água fervente (Mara da Silva T et al., 2019). Posteriormente, as amostras foram submetidas à abrasão por escovação em uma máquina de escovação automática (figuras 5 e 6), (ODEME Biotecnologia, Joaçaba, SC, Brasil), que transmite movimento alternado a 6 cabeças de escova de dentes de cerdas macias (Sanifill Ultraprofissional, Hypermarchas, Sa São Paulo, SP, Brasil). Este aparelho fornece movimentos lineares de escovação nas amostras a uma velocidade de 120 ciclos por minuto a 37°C, com uma passagem dupla da cabeça da escova sobre a superfície, simulando 3 escovações de 40 ciclos por dia, o que corresponde a 3 escovações diárias na cavidade oral por três meses (Heintz et al., 2009). A solução de pasta dental (Colgate total 12) e água deionizada denominada “*Slurry*” foi preparada em agitador magnético, na proporção de 1:3, em peso (Mara da Silva et al., 2019). Após a escovação, as amostras foram mantidas em água deionizada a 37°C por 24h e então analisadas novamente quanto a cor e translucidez. Os dados foram então submetidos à análise estatística.

4.2.4.2 Mensuração da cor

Antes dos tratamentos de superfície, a cor da linha de base de cada amostra foi avaliada em condições ambientais padronizadas, de acordo com o sistema CIE $L^*a^*b^*$, usando um espectrofotômetro (CM2600d, Konica Minolta, Osaka, Japão) e uma esfera integradora. O dispositivo foi ajustado para usar a fonte de luz padrão D65 com 100% de UV incluído ou 100% de UV excluído e reflexão

especular incluída (SCI). O ângulo do observador foi definido em 2 e o dispositivo ajustado para uma pequena área de leitura. O aparelho foi ajustado para fazer três leituras consecutivas, a alteração de cor (ΔE) foi determinada pela variação dos valores de $L^*(\Delta L^*)$, $a^*(\Delta a^*)$ e $b^*(\Delta b^*)$, através da seguinte fórmula:

$$\Delta E^* = [\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2}]^{1/2}$$

Foram registrados os dados iniciais e pós tratamento superficial das amostras (pigmentação e escovação).

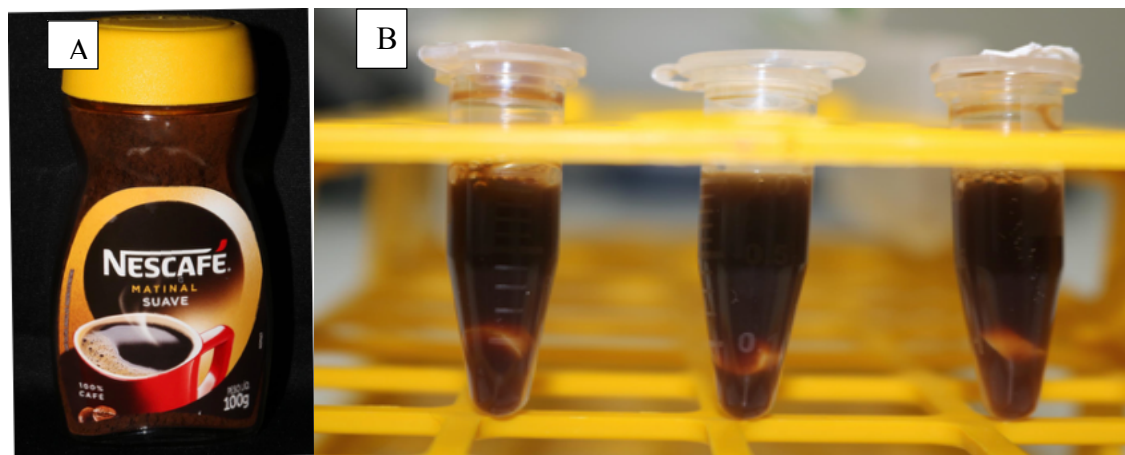
4.2.4.3 Mensuração da translucidez:

Para a avaliação da translucidez, as mesmas amostras foram lidas novamente, da forma descrita para a avaliação da cor, alterando-se apenas o fundo sobre as quais foram posicionadas, tendo sido utilizado um fundo preto padronizado (Ceram, Stoke-on-Trent, Staffordshire, UK). A seguir foi calculado o parâmetro de translucidez (PT), que é a diferença de cor entre a leitura sobre o fundo branco e o fundo preto. Esta diferença é calculada pela fórmula (1), mostrada a seguir.

$$PT = [(L_p^* - L_b^*)^2 + (a_p^* - a_b^*)^2 + (b_p^* - b_b^*)^2]^{1/2} \quad (1)$$

As letras subscritas “p” referem-se às coordenadas de cor sobre o fundo preto e as letras subscritas “b” referem-se àquelas sobre o fundo branco.

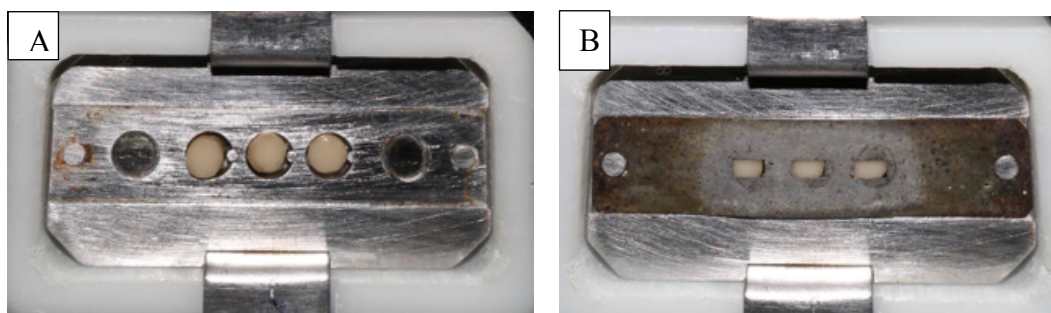
Figura 4- Pigmentação com solução de café



Legenda: a) café solúvel utilizado na solução de café; b) Amostras imersas em 1 ml de solução de café para pigmentação.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 5- Amostras posicionadas no suporte para escovação simulada



Legenda: a) Amostras no suporte para escovação; b) Tira metálica estabilizando as amostras no suporte.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 6- Suportes e escovas posicionados na máquina de escovação



Legenda: Suportes e escovas posicionados na máquina de escovação, com o “Slurry” cobrindo totalmente as amostras.

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.2.5 Nova adesão bacteriana aos materiais restauradores

Uma nova adesão bacteriana foi realizada, seguindo as mesmas especificações da adesão bacteriana anterior, para analisarmos se as possíveis modificações superficiais e o contato com pasta dental fluoretada, interferem na adesão de bactérias. Esses dados foram comparados com os coletados anteriormente e feitas as comparações estatísticas entre os grupos.

4.2.6 Microscopia de força atômica

Dois espécimes representativos de cada grupo foram confeccionados e avaliados no microscópio de força atômica modelo SPM 9500 J3 (Shimadzu

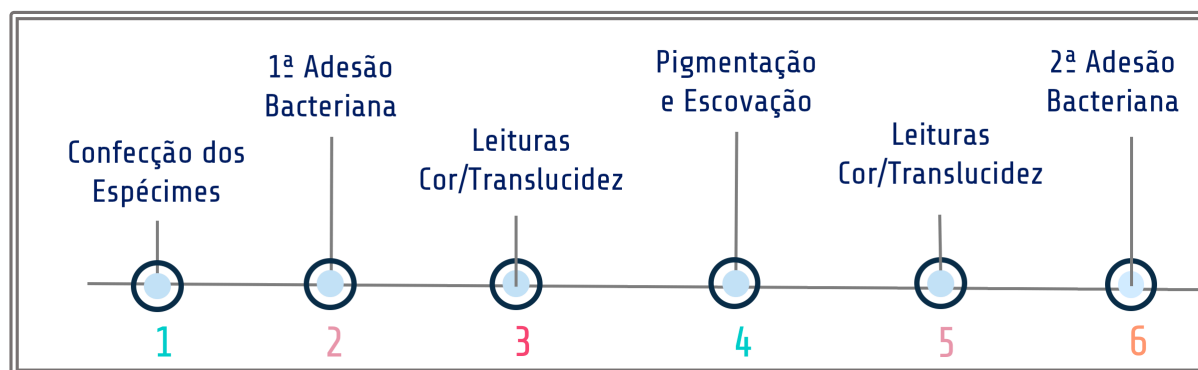
Corp. Inc., Japan) do Laboratório de Caracterização Materiais, do Depto de Física do ITA, em modo de contato intermitente.

4.2.7 Análise estatística

Para os dados do teste de adesão bacteriana aos espécimes, os resultados de UFC/mL foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey, utilizando o programa GraphPad 6.0, e a comparação entre os materiais para a avaliação das diferenças estatísticas foi realizada pelo Teste post-hoc de Tukey, com nível de significância de 5 %.

Para os dados de variação de cor e de translucidez, os resultados foram submetidos ao teste de normalidade e em seguida submetidos ao Anova 1 fator para análise da cor, e Anova 2 fatores para análise de translucidez e teste de Tukey.

Figura 7- Esquema gráfico das etapas de execução da fase 1



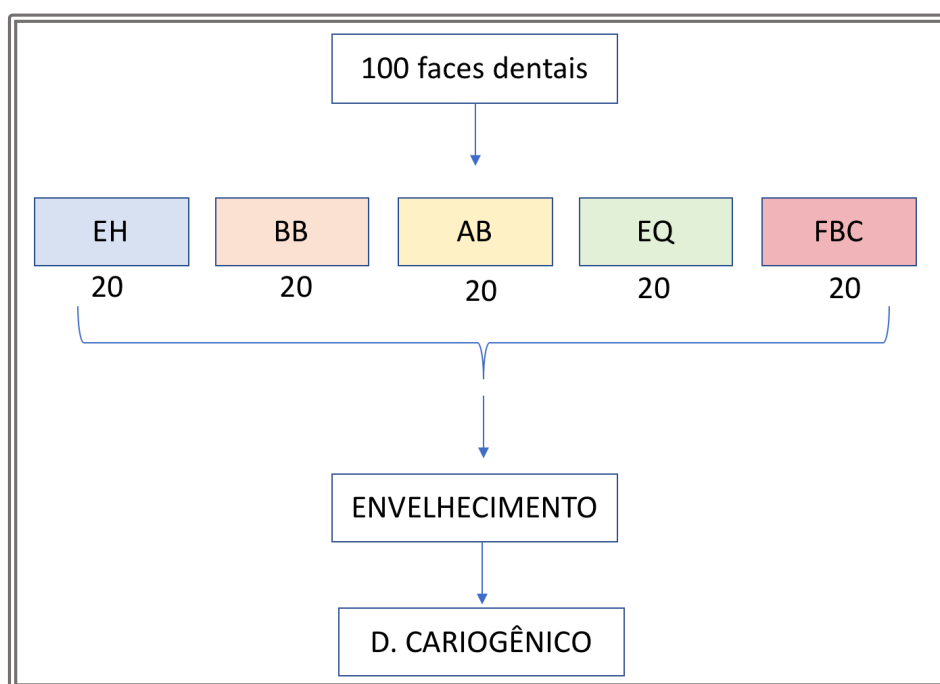
Fonte: Elaborado pelo autor.

4.3 Fase 2: Análise das interações das restaurações de materiais bioativos com o esmalte adjacente.

4.3.1 Delineamento experimental

Foram utilizados 50 dentes, para obtenção de 100 amostras, divididas de acordo com a figura 8.

Figura 8- Esquema gráfico de separação de grupos e subgrupos



Legenda: EH: Esmalte hígido; BB: Cavidades restauradas com Beautifil Bulk; AB: Cavidades restauradas com Activa Bioactive; EQ: Cavidades restauradas com Équia Forte; FBC: Cavidades restauradas com Filtek Bulk.
Fonte: Elaborado pelo autor.

4.3.2 Preparo das amostras

Para o desenvolvimento dessa etapa foram selecionados 50 dentes humanos (terceiros molares íntegros extraídos), obtidos em arquivo de consultório particular através de assinatura de cessão de dentes pelos responsáveis técnicos dos consultórios em questão, mediante aprovação do Comitê de Ética (Anexo A). Após extração os dentes coletados foram limpos, armazenados em soro fisiológico e congelados, até serem iniciados os procedimentos laboratoriais.

Os dentes foram cortados transversalmente ao seu longo eixo, abaixo da junção amelocementária, para remoção da raiz, com disco diamantado de dupla face (KG Sorensen, Barueri, SP, Brasil). Somente a porção coronária de cada dente foi utilizada. As raízes foram encaminhadas para estudos realizados pelo grupo de pesquisa em Endodontia do Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos - Unesp. Após a remoção da porção radicular, a porção coronária foi dividida em duas porções; vestibular e lingual. Em seguida as amostras foram planificadas com lixa d'água de granulação P400 (Fepa-P, Panambra, São Paulo, SP, Brasil), acoplado a uma politriz circular (DP-10, Panambra, São Paulo, SP, Brasil), (Souza, 2018).

As amostras foram então embutidas em cano de PVC de 20 mm em resina acrílica transparente ativada quimicamente (Jet-Clássico, São Paulo, SP, Brasil) em um molde de silicone de formato cilíndrico. As amostras foram posicionadas no interior do molde com a superfície do esmalte voltada para o fundo do molde. Após a presa final da resina, os cilindros obtidos foram polidos na politriz circular, utilizando o dispositivo de polimento automático Autopol – 2 (Panambra, São Paulo, SP, Brasil), garantindo que a superfície polida seja exatamente perpendicular ao longo eixo do cilindro. A parte superior do bloco onde está exposto o esmalte foi lixada por 1 min com a lixa P600 (Fepa-P, Panambra, São Paulo, SP, Brasil), para planificar e padronizar a textura da superfície. As superfícies vestibulares do esmalte expostas foram polidas com lixas de carbetto de silício de granulação P1200 – 30 s, P2400 – 60 s e P4000 – 2 min, para obtenção

de uma superfície lisa, homogênea e polida, semelhante a superfície natural do esmalte (Souza, 2018).

4.3.3 Preparo cavitário e procedimento restaurador

O preparo cavitário foi realizado na região central da face de esmalte, com uma ponta diamantada cilíndrica (PM 61C- IdentLab) de 2 mm de diâmetro e 2 mm de profundidade. A ponta diamantada foi acoplada a uma máquina de preparos circular padronizados (MicroMill), que trabalha sob irrigação. Um relógio comparador digital “absolute” ID-S (Mitutoyo, Kawasaki, Japão) foi acoplado à máquina de preparos circulares para controlar a profundidade do preparo. As amostras foram estabilizadas de modo que a superfície do esmalte ficou paralela à base da ponta diamantada, obtendo assim preparos padronizados. Em seguida, foram levados ao ultrassom (Ultrasonic Cleaner 1440D), para remover os grãos abrasivos e detritos na superfície do esmalte. Os preparos realizados foram restaurados conforme as recomendações de cada fabricante.

As amostras foram aleatoriamente divididas nos grupos que receberão as restaurações. Os protocolos de restaurações foram determinados pelas seguintes recomendações dos fabricantes:

a) Activa BioActive-Restorative – O dente foi condicionado com ácido fosfórico 37% (Condac – FGM) por 30 s, Seguido de lavagem e secagem. Foi aplicado o sistema adesivo (3M ESPE Single Bond Universal), seguido da polimerização (Radii-cal, SDI), por 20 segundos e da inserção da resina composta na cavidade, em incremento único. A polimerização foi realizada com uma luz LED com intensidade de 1200 mW/cm^2 na faixa de 440-480 nm durante 40 s;

b) Beautifil Bulk – Foi realizado o condicionamento ácido com ácido

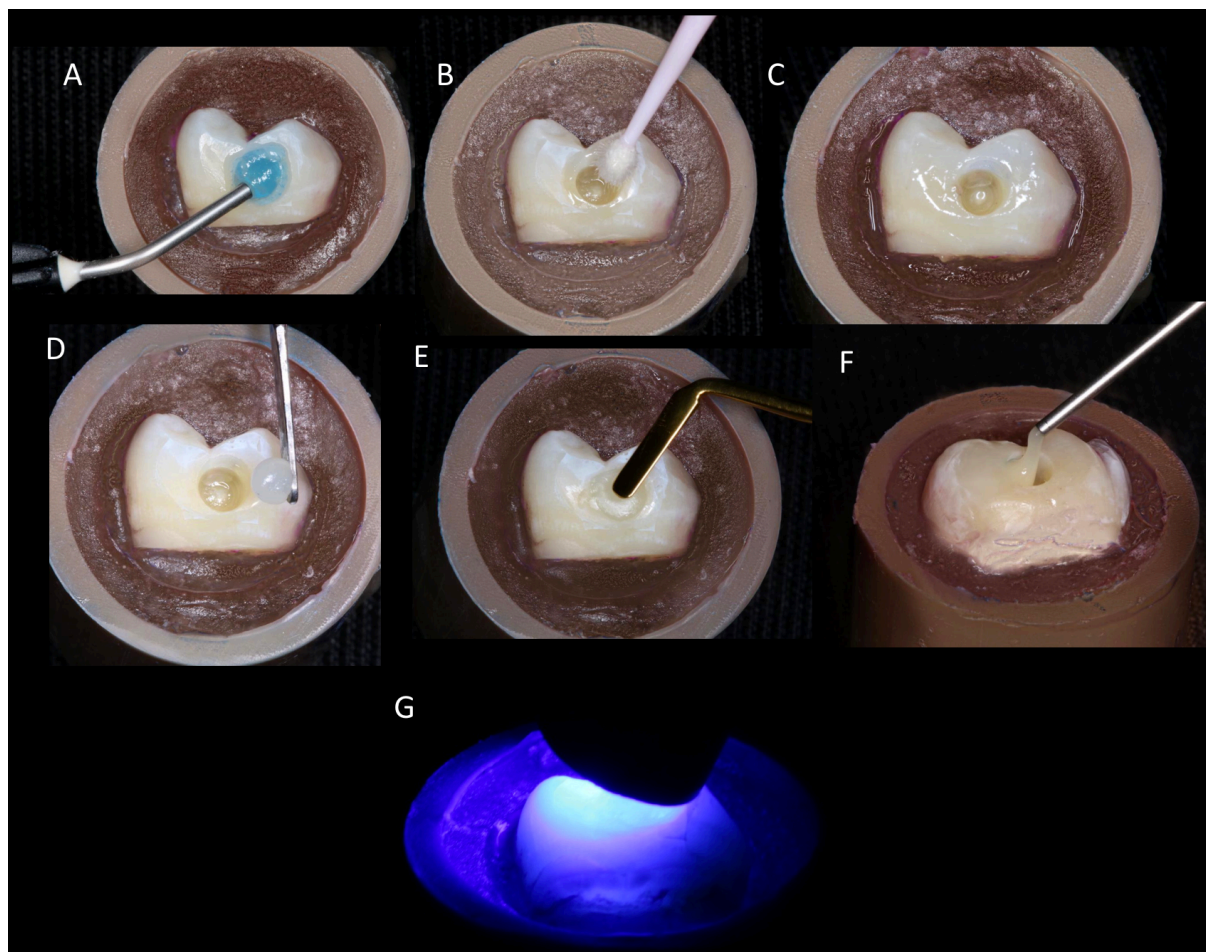
fosfórico a 37 % (Condac – FGM) por 30 s. Seguido de lavagem e secagem. Foi aplicado o sistema adesivo (3M ESPE Single Bond Universal), seguido da polimerização (Radii-cal, SDI), por 20 s e da inserção da resina composta na cavidade, em incremento único. A polimerização foi realizada com uma luz LED com intensidade de 1200 mW/cm^2 na faixa de 440-480 nm, durante 40 s;

c) Equia Forte - A superfície foi previamente condicionada usando o condicionador cavitário (GC, EUA) por 10 s. Em seguida, foi lavada com água abundante e secada por 10 s com jatos de ar a aproximadamente 10 cm de distância. A cápsula foi agitada para soltar o pó e para a sua ativação o êmbolo foi empurrado para o seu interior, antes de ser levada ao aplicador de cápsulas GC metálico. Em seguida, a cápsula foi levada ao amalgamador por 10 s. Para então ser imediatamente adaptada ao aplicador de cápsulas GC, possibilitando a inserção do material na cavidade preparada. A polimerização desse material se deu por presa química.

d) Filtek Bulk Fill – Foi realizado o condicionamento ácido com ácido fosfórico a 37 % (Condac – FGM) por 30 s. Seguido de lavagem e secagem. Foi aplicado o sistema adesivo (3M ESPE Single Bond Universal), seguido da polimerização (Radii-cal, SDI), por 20 s e da inserção da resina composta na cavidade, em incremento único. A polimerização foi realizada com uma luz LED com intensidade de 1200 mW/cm^2 na faixa de 440-480 nm, durante 40 s.

Na figura 9, constam imagens de algumas etapas do procedimento restaurador. Após a confecção das restaurações, as amostras foram armazenadas em umidade relativa 37 °C durante 48 h, para que ocorra a polimerização total dos materiais.

Figura 9- Procedimento restaurador



Legenda: A- Condicionamento ácido; B- Aplicação do sistema adesivo; C- Aparência pós polimerização do sistema adesivo; D- Inserção da resina Beautifil Bulk; E- Acomodação da resina; F- Inserção da resina flúida Activa Bioactive; G- Fotopolimerização.

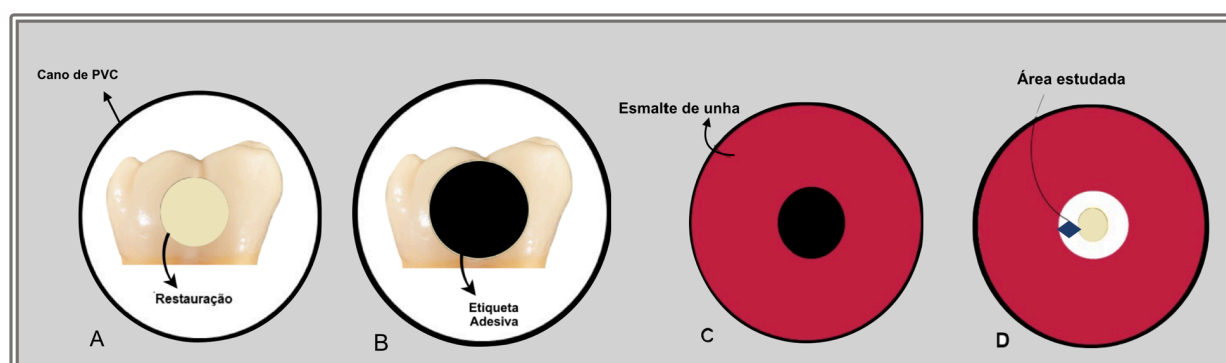
Fonte: Elaborado pelo autor.

4.3.4 Análise de microdureza Knoop (KHN)

A análise de microdureza superficial do esmalte adjacente à restauração foram realizadas por meio de um microdurometro (FM 700, Future Tech Company, Tóquio, Japão), acoplado ao software para análise de imagem (FT-ARS 900 HDPS-ARS, versão 1.31.4). Por meio de uma ponta diamantada piramidal tipo Knoop e aplicação de carga estática de 25 g por 5 s, foram

realizadas três indentações na superfície de esmalte de cada amostra, com 100 µm de distância entre si. A microdureza do esmalte adjacente às restaurações foi medida em diferentes momentos: Microdureza inicial, pós envelhecimento e pós desafio cariogênico. Foram selecionadas e pré demarcadas as áreas de mensuração, próximas à interface, como demonstrado na figura 10. Médias dos valores das três leituras foram obtidas e submetidas à análise estatística.

Figura 10- Delimitação da área de leitura



Legenda: A- Face dental restaurada, embutida em cano PVC; B- Etiqueta adesiva posicionada com 5 mm de diâmetro; C- Esmalte de unha ao redor da superfície exposta; D- Área de estudo limitada e pré demarcada.

Fonte: Elaborado pelo autor.

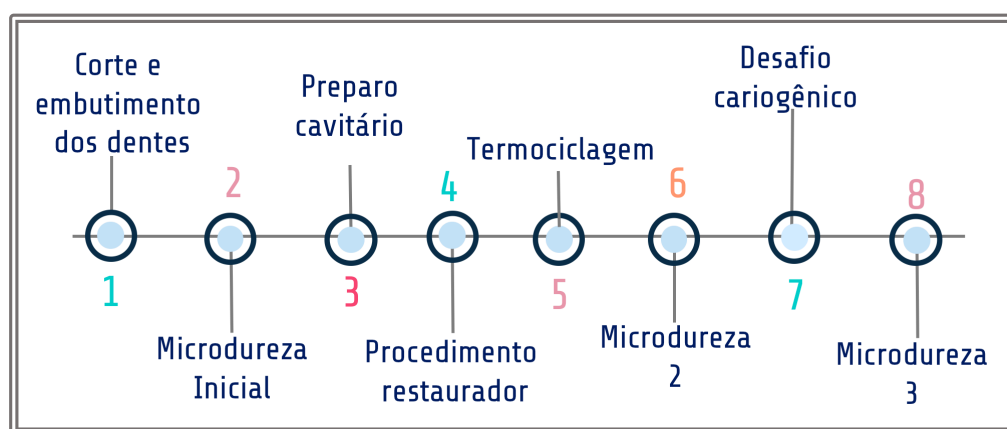
4.3.5 Termociclagem

As amostras foram submetidas a estresse térmico em uma máquina de termociclagem (MSCT-3, Marcelo Nucci ME, São Carlos, SP), por imersão em banhos de $5^{\circ}\text{C} \pm 1$ e $55^{\circ}\text{C} \pm 1$, por 1 min cada. O tempo de permanência entre os banhos foi de 15s. Um total de 10.000 ciclos foram realizados (Gale, 1999).

4.3.6 Desafio cariogênico

Foi realizado através de um modelo dinâmico *in vitro*, a simulação de condições de desmineralização (DES) e remineralização (RE) *in vivo* que ocorrem em pacientes com alto índice de cárie. O regime de ciclagem de pH durou 8 dias, e os blocos foram mantidos a 37°C por 6h na solução desmineralizante e 18h na solução remineralizante. A solução remineralizante usada continha 1,5 mmol /L de Ca; 0,9 mmol/L P, 150 mmol/L de KCl; 0,05 µg F/mL em 0,1 mol / L de tampão Tris, pH 7,0. A solução desmineralizante continha 1,28 mM de Ca, 0,74 mM P, 0,03 µg F/mL, pH 5,0. (Ten Cate et al., 1982; Queiroz et al., 2008). A proporção de soluções desmineralizantes e remineralizantes por área de bloqueio foi de 6,25 ml / mm² e 3,12 ml / mm², respectivamente. No 4º dia, as soluções des e remineralizantes foram substituídas por novas. Após o 8º ciclo, os blocos permaneceram na solução remineralizante por mais 24 horas até serem feitas as análises da microdureza. Após os ciclos DES-RE, as amostras foram novamente analisadas quanto a microdureza do esmalte adjacente às restaurações.

Figura 11- Esquema gráfico das etapas de execução da fase 2



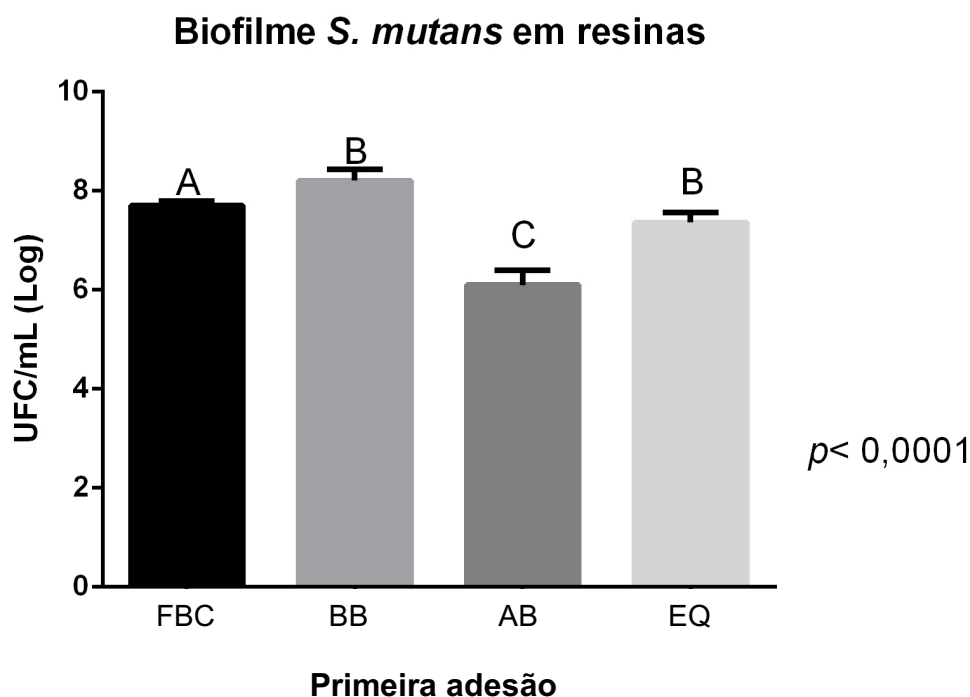
Fonte: Elaborado pelo autor.

5 RESULTADO

5.1 Adesão bacteriana aos materiais bioativos

Podemos observar na figura 12, que os materiais restauradores, apresentaram diferenças estatisticamente significantes entre si. Porém não houve diferença estatística entre os grupos BB e EQ, que diferiram significativamente do grupo AB, que possuiu o menor crescimento bacteriano de 6,2 log, ou seja, uma inibição de 1,6 log, em relação ao grupo controle.

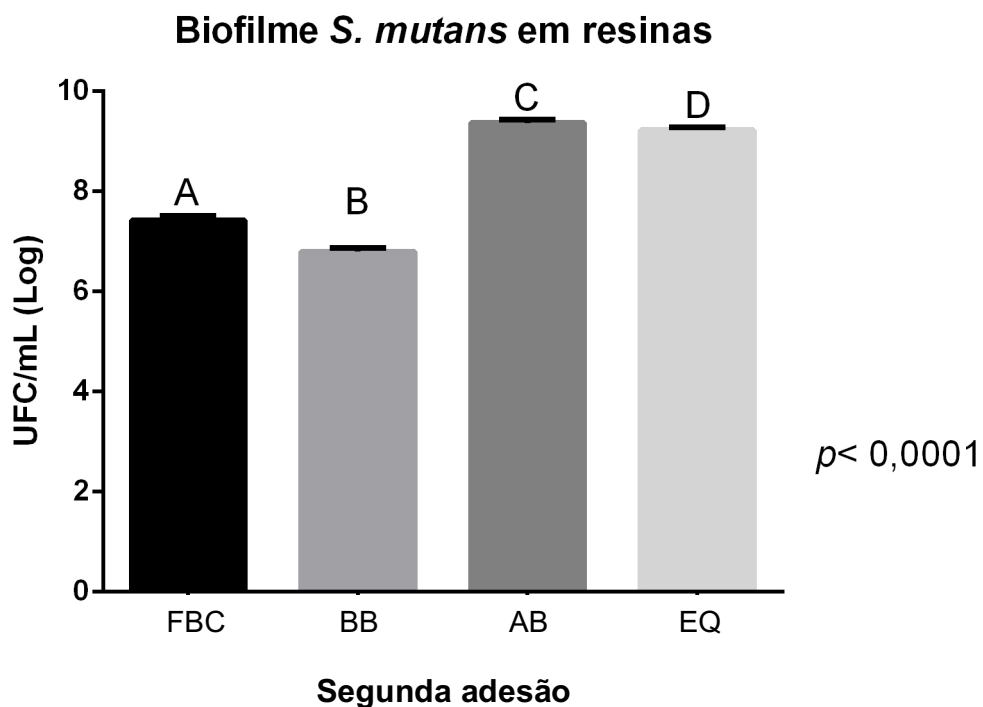
Figura 12- Dados de UFC/mL obtidos na primeira adesão bacteriana



Legenda: FBC (Controle- Filtek Bulk Fill), BB (Beautifil Bulk), AB (Activa Bioactive) e EQ (Equia Forte).

Fonte: GraphPad 6.0.

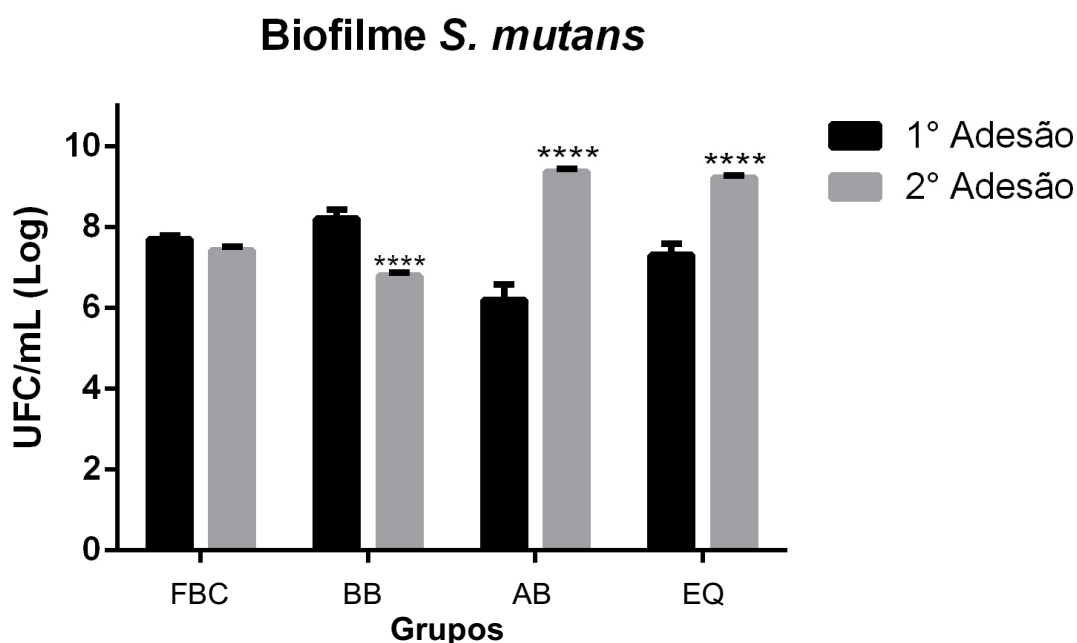
Figura 13- Dados de UFC/mL obtidos na segunda adesão bacteriana



Legenda: FBC (Controle- Filtek Bulk Fill), BB (Beautifil Bulk), AB (Activa Bioactive) e EQ (Equia Forte).

Fonte: GraphPad 6.0.

Figura 14- Dados de UFC/mL obtidos da comparação entre a primeira e segunda adesão bacteriana



Legenda: FBC (Controle- Filtek Bulk Fill), AB (Activa Bioactive), BB (Beautifil Bulk) e EQ (Equia Forte).

Fonte: GraphPad 6.0.

A figura 13, representa os dados obtidos para a segunda adesão bacteriana e a figura 14, representa a comparação entre as adesões inicial e final. Podemos observar que novamente, os grupos apresentaram diferenças estatísticas entre si e diferiram significativamente do grupo controle; com os grupos AB e EQ apresentando maior crescimento que este grupo, e o grupo BB apresentando um crescimento inferior aos demais grupos.

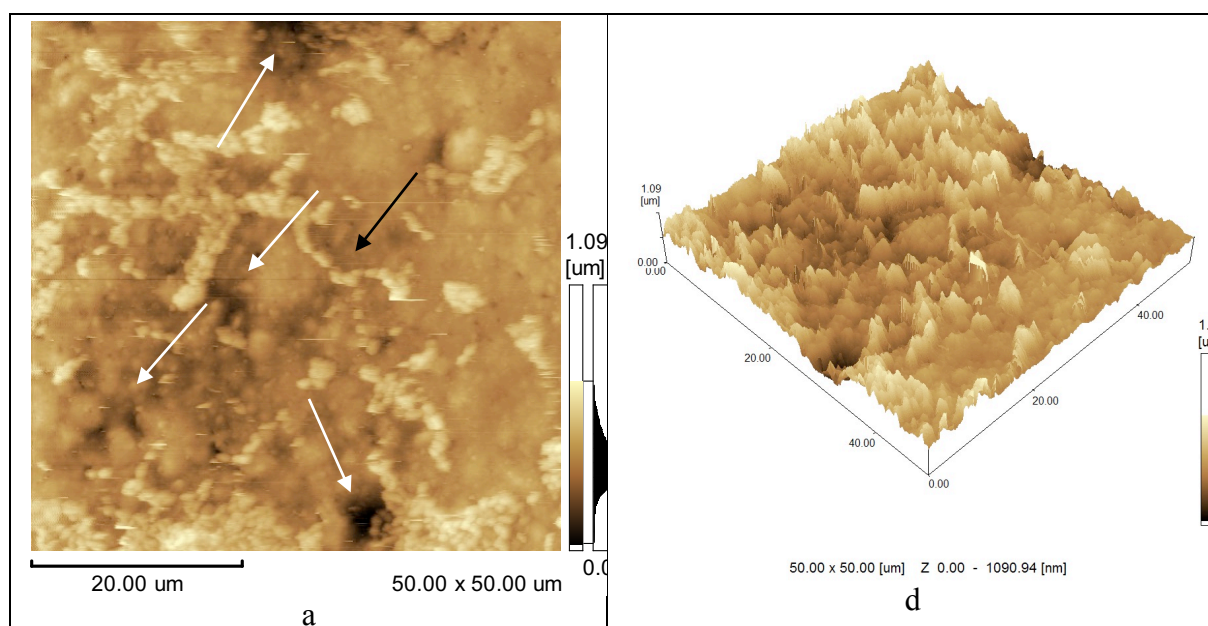
O grupo controle manteve seu crescimento médio e não apresentou diferenças entre a primeira e a segunda adesão. Já os grupos AB e EQ apresentaram um crescimento de 9,4 e 9,2 log, superior ao da primeira adesão, enquanto o grupo BB apresentou um crescimento de 6,7 log, ou seja, uma inibição

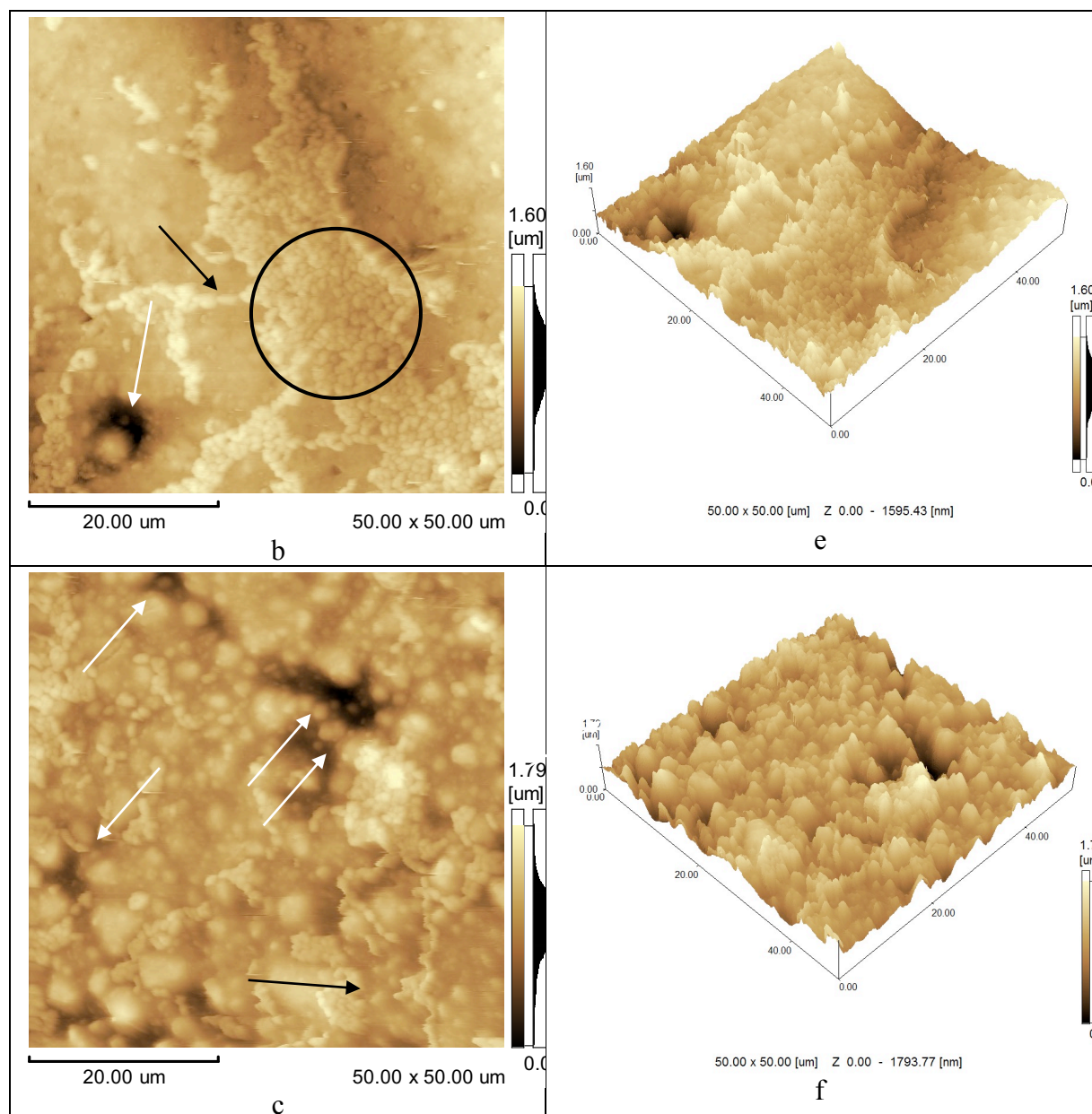
de 0,8 log quando comparado ao grupo controle.

5.2 Microscopia de força atômica

Foram avaliadas três regiões de cada amostra, escolhidas aleatoriamente, com área de varredura de 50 μm x 50 μm .

Figura 15- Visualizações bidimensionais de *Streptococcus mutans*, obtidas por microscopia de força atômica, com áreas de varredura de 5 μm x 5 μm , no material Filtek Bulk





Legenda: Micrografias por AFM da resina controle com biofilme de *S. mutans*, em três pontos aleatórios da superfície, com visualização bi- (aa, b, c) e tridimensional (d,e,f).

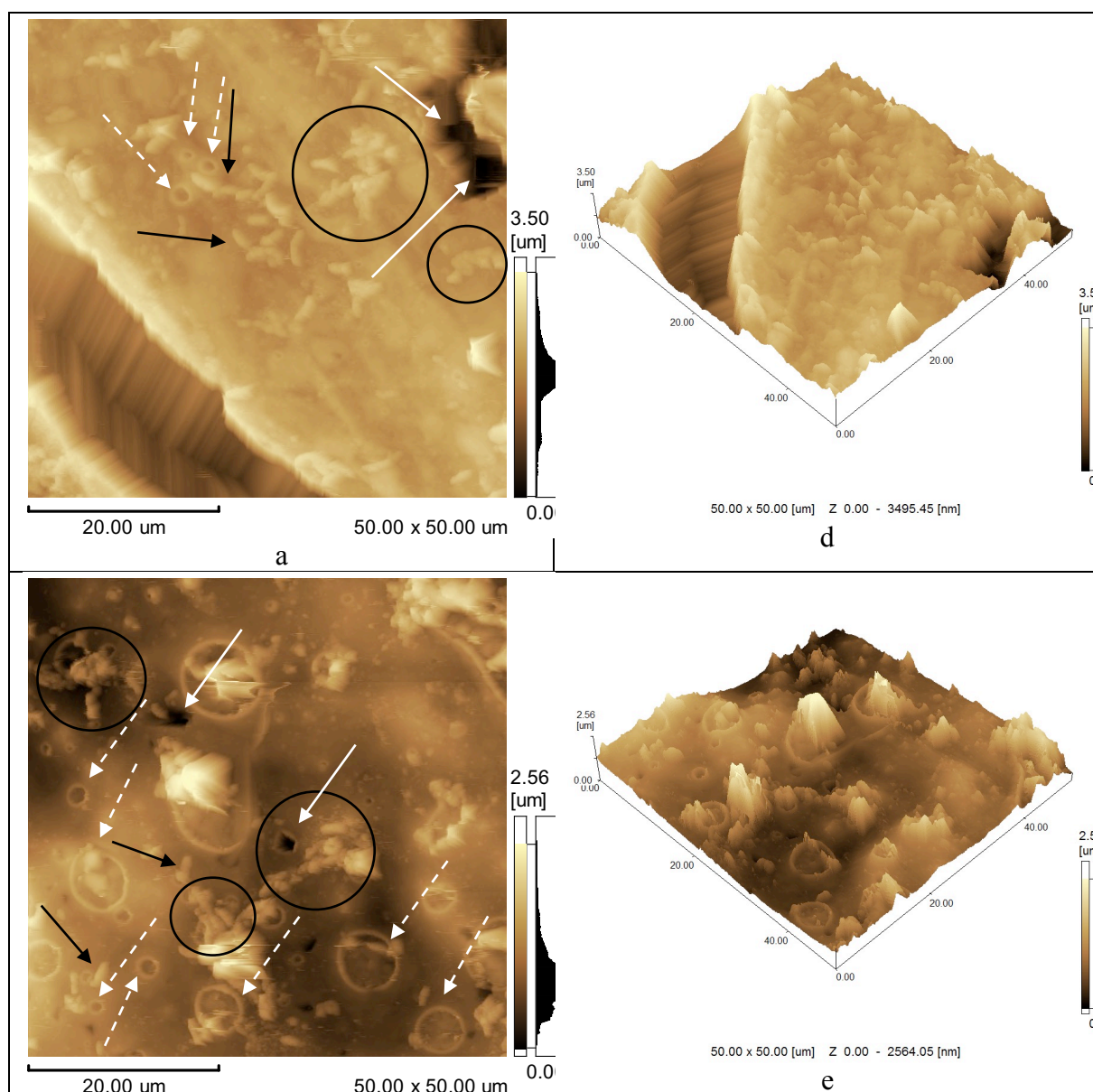
Fonte: Elaborado pelo autor em parceria com Prof. Walter Miyakawa

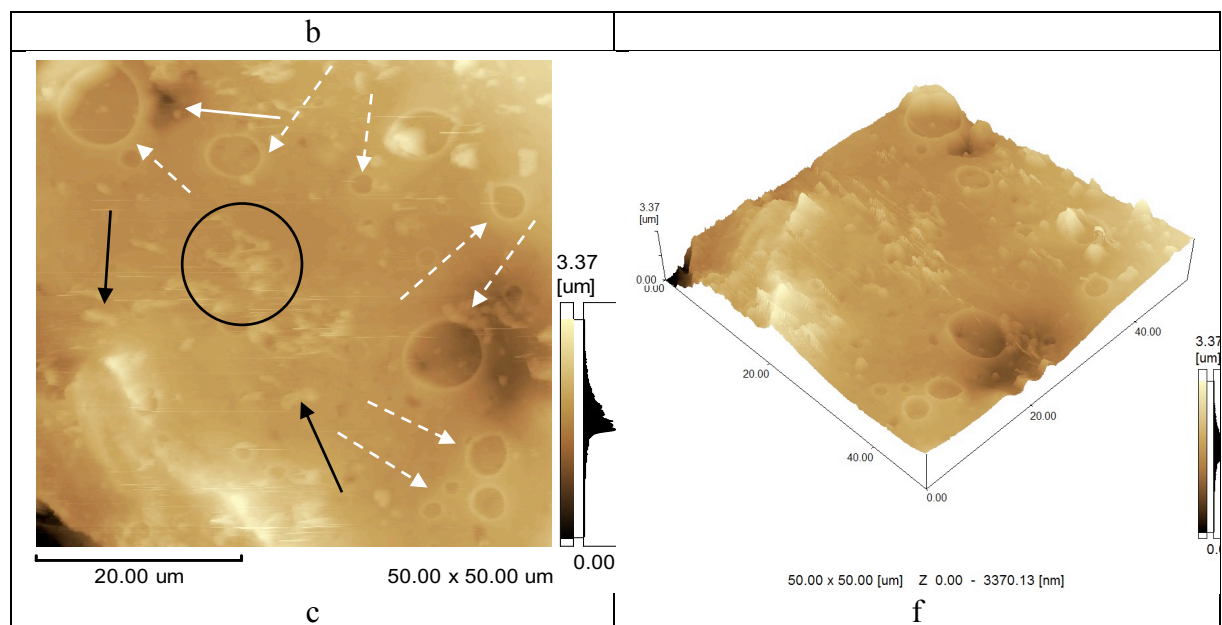
Na figura 15, observa-se que as três regiões avaliadas estão populadas com colônias de *S. mutans*, distribuídas heterogeneamente sobre a superfície da resina. A região correspondente à figura 15b é a mais densamente populada, e a região da figura 15c, a menos densamente populada.

As imagens evidenciam pontos em que ocorre o início de formação de colônias de *S. mutans*, com células de formato esférico, alinhadas em arranjo

característico na forma de “colar de pérolas” (setas pretas), e também regiões em que a colônia de células recobre totalmente a resina, dando início à formação de um possível biofilme. Nessas imagens, as células apresentaram dimensão de aproximadamente 1 μm .

Figura 16- Visualizações bidimensionais de *Streptococcus mutans*, obtidas por microscopia de força atômica, com áreas de varredura de 5 μm x 5 μm , no material bioativo Beautifil bulk



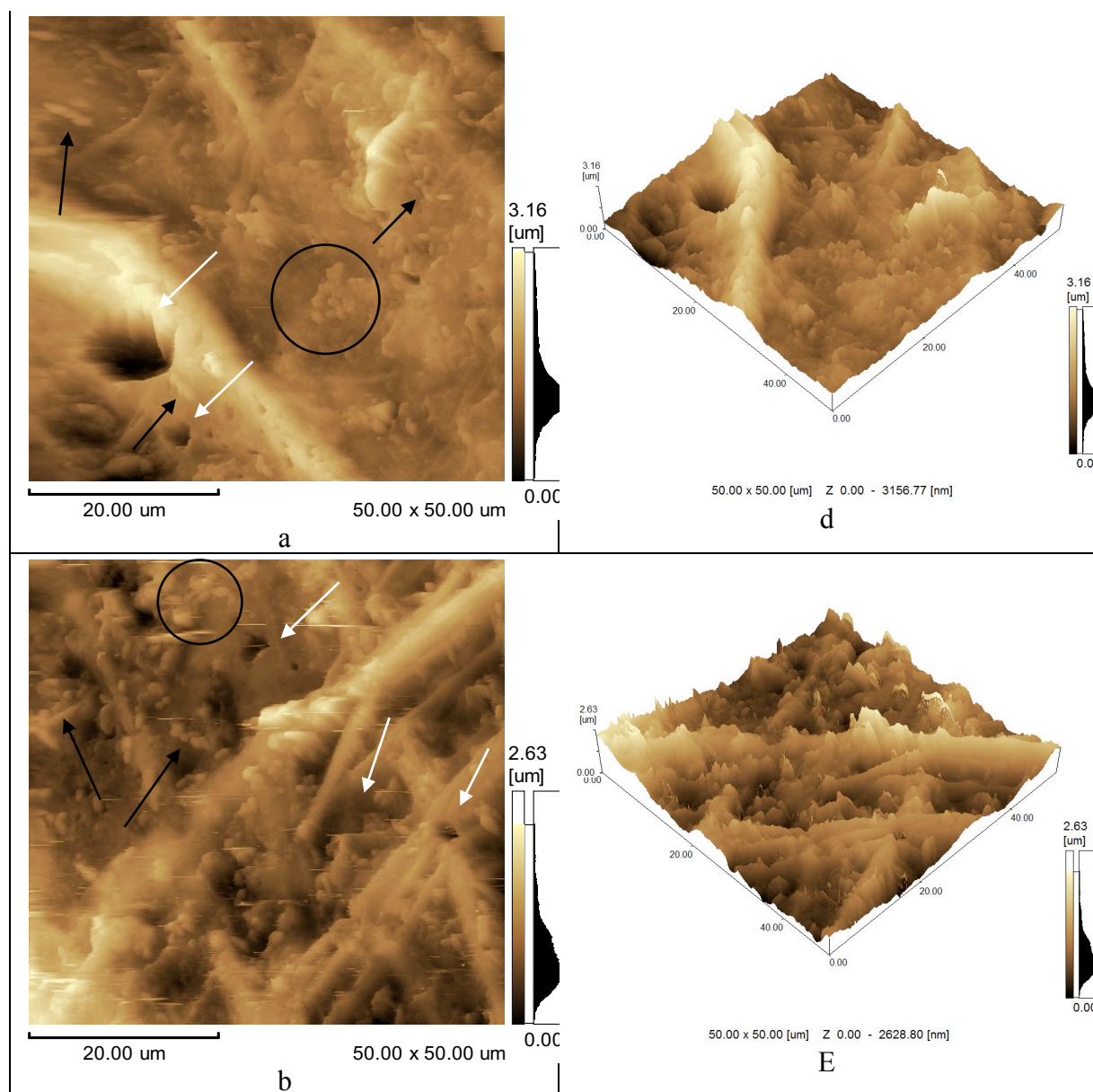


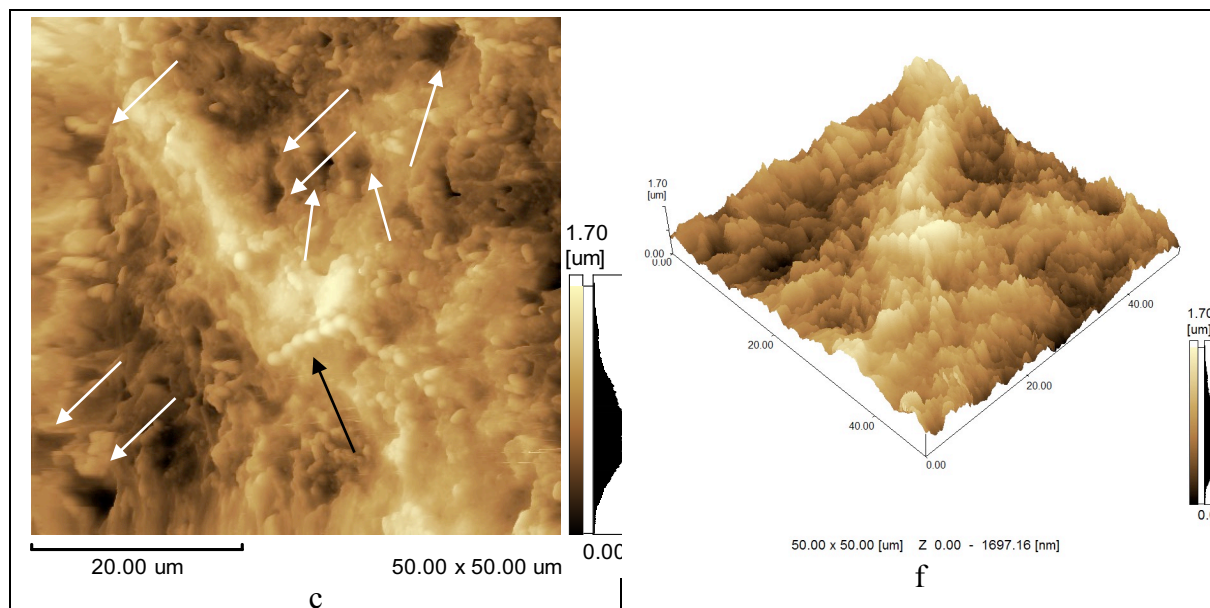
Legenda: Micrografias por AFM da resina BB com biofilme de *S. mutans*, em três pontos aleatórios da superfície, com visualização bi- (aa, b, c) e tridimensional (d,e,f).

Fonte: Elaborado pelo autor em parceria com Prof. Walter Miyakawa

As imagens da figura 16 mostram que a resina Bioativa Beautifil bulk apresentou um comportamento diferente. Nota-se a presença de colônias com pequenas aglomerações de células (círculo preto), em algumas poucas regiões da superfície, bem como poucos arranjos em forma de “colar de pérolas”, com duas ou três células somente (setas pretas).

Figura 17- Visualizações bidimensionais de *Streptococcus mutans*, obtidas por microscopia de força atômica, com áreas de varredura de 5 μm x 5 μm , no material bioativo Activa Bioactive





Legenda: Micrografias por AFM da resina AB com biofilme de *S. mutans*, em três pontos aleatórios da superfície, com visualização bi- (aa, b, c) e tridimensional (d,e,f).

Fonte: Elaborado pelo autor em parceria com Prof. Walter Miyakawa

Na figura 17, as micrografias mostram pouquíssimas células aglomeradas (círculos pretos) e esparsas formações em arranjo de “colar de pérolas” (setas pretas). Comparativamente à figura 16, as imagens sugerem que, para a amostra do grupo AB, houve uma inibição do crescimento de *S. mutans*, de forma mais efetiva.

5.3 Alterações cromáticas

Os dados obtidos por meio da leitura de cor das amostras antes e após pigmentação com café, foram submetidos a Análise de variância (ANOVA) para cada grupo.

Tabela 1- Valores de média e desvio-padrão das diferenças de DELTA E em cada grupo

GRUPOS	MÉDIA	DP
EQ	7,537	2,3875
AB	6,287	4,3082
BB	6,005	3,3170
FBC	5,933	4,3082

Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 2- Resultado da ANOVA 1 fator

ANOVA 1 Fator				
	SS	MS	F	p
grupo	16,731	5,577	0,4869	0,693543

Fonte: Elaborado pelo autor.

Na tabela 1 observamos os dados de média e desvio padrão da alteração de cor para cada um dos grupos e na tabela 2, o resultado ANOVA 1 fator. Podemos observar que não houve diferenças estatísticas significantes entre os grupos, ou seja, a alteração de cor, que as amostras sofreram, foi semelhante em todos os grupos deste estudo. Porém de acordo com Paravina et al. (2019), interpretando o ΔE comparando dentes normais e dentes com materiais pigmentados no sistema CIElab, quando o ΔE é menor ou igual a 1,2, significa que a diferença de cor é imperceptível. O ΔE maior que 1,2 e menor ou igual a 2,7, demonstra uma diferença aceitável de cor, mas perceptível. E ΔE acima de 2,7 significa uma alteração de cor significativa, perceptível clinicamente e

incompatível. Ou seja, as alterações de cor sofridas por todos os grupos, foram acima do limite de perceptibilidade

Tabela 3- Valores de média e desvio-padrão das diferenças de translucidez inicial (TPI) e final (TPF) em cada grupo

GRUPOS	MÉDIA TPI	DP	MÉDIA TPF	DP
BB	1,088	1,165235	0,966	0,746551
AB	0,511111	0,293617	0,758889	0,346426
EQ	0,388	0,245212	0,52	0,716504
FBC	0,129	0,110398	0,756	0,660845

Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 4- Resultado da ANOVA 2 fatores

ANOVA 2 Fatores				
	SS	MS	F	p
Grupo	4,46787	1,48929	4,02485	0,014651
Tempo	0,95209	0,95209	2,20149	0,146827
Interação	1,45525	0,48508	1,12165	0,353551

Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 5- Resultados do Teste de Tukey

GRUPOS	MÉDIA	GRUPOS		
		HOMOGÊNEOS		
BB	1,027	****		B
AB	0,635	****	****	AB
EQ	0,454	****		A
FBC	0,4425	****		A

Legenda: *os grupos acompanhados pelas mesmas letras não apresentam diferenças significantes.
 Fonte: Elaborado pelo autor.

Na tabela 3 constam os dados de média e desvio padrão da translucidez inicial e final de todos os grupos e na tabela 4, os resultados da Anova 2 fatores (tempo inicial e final). Observamos que houve diferenças estatísticas entre os grupos $p < 0,05$.

Na tabela 5, constam os resultados do teste de Tukey, no qual observamos as diferenças entre os grupos. As variações de translucidez inicial e final se mantiveram, ou seja, não houve alteração após a escovação e pigmentação com café.

Porém na comparação entre os grupos, observamos diferenças, provavelmente pela diferença de composição dos materiais avaliados, visto que a pigmentação e a escovação não causaram diferenças estatísticas. O grupo BB (1,027) apresentou a maior média e o grupo FBC (0,4425) a menor média entre os grupos, independentemente do tempo.

5.4 Microdureza superficial do esmalte adjacente (KHN)

Para análise dos dados de microdureza, foi realizada a análise de variância (ANOVA) 2 fatores de medidas repetidas, sendo o tempo, o fator de repetição.

A microdureza do esmalte adjacente às restaurações foi medida em diferentes momentos: Microdureza inicial, após envelhecimento e após desafio cariogênico.

Na tabela 6, constam as médias da microdureza inicial de cada grupo. É possível observar que todos os grupos apresentaram médias semelhantes e não apresentam diferenças estáticas significantes entre eles.

Tabela 6- Média da microdureza superficial inicial e teste de Tukey

GRUPOS	MÉDIA	GRUPOS
		HOMOGÊNEOS
EH	319,00	A
FBC	327,29	A
EQ	324,88	A
BB	326,03	A
AB	325,51	A

Legenda: *os grupos acompanhados pelas mesmas letras não apresentam diferenças significantes.
Fonte: Elaborado pelo autor.

De acordo com a (ANOVA) 2 fatores de medidas repetidas, observamos que houve influência do tempo, tipo de tratamento e a interação entre esses fatores. Na tabela 7, observamos a análise ANOVA 2 fatores.

Tabela 7- Resultado da ANOVA 2 fatores de medidas repetidas

ANOVA 2 fatores				
	SS	MS	F	p
Tratamento	258221	64555	70,5	0,000
Tempo	1187831	593916	735,94	0,000
Interação	142139	17767	22,02	0,000

Fonte: Elaborado pelo autor.

Na tabela 8 constam as médias de microdureza dos grupos, após serem submetidos à termociclagem. De acordo com o teste de Tukey, o grupo FBC, foi semelhante ao grupo EH, com as menores médias de microdureza. Os grupos AB e BB foram semelhantes entre si, assim como os grupos BB e EQ. O grupo EQ, apresentou a maior média de microdureza, quando comparado aos outros grupos.

Tabela 8- Média da microdureza após termociclagem e teste de Tukey

GRUPOS	MÉDIA	GRUPOS
		HOMOGÊNEOS
FBC	178,78	BC
EH	202,83	CD
AB	240,82	EF
BB	265,34	FG
EQ	274,18	G

Legenda: *os grupos acompanhados pelas mesmas letras não apresentam diferenças significantes.
Fonte: Elaborado pelo autor.

Na tabela 9, constam as médias de microdureza dos grupos, após ciclagem

de pH. De acordo com o teste de Tukey, os grupos EH e FBC não apresentaram diferenças estatísticas entre si, e apresentaram as menores médias de microdureza. Os grupos AB, BB e EQ apresentaram diferenças estatisticamente significante; sendo que o grupo EQ, apresentou as maiores médias de microdureza.

Tabela 9- Média da microdureza após ciclagem de pH e teste de Tukey

GRUPOS	MÉDIA	GRUPOS
		HOMOGÊNEOS
EH	112,97	H
FBC	117,18	H
AB	171,14	B
BB	211,32	DE
EQ	244,73	FG

Legenda: *os grupos acompanhados pelas mesmas letras não apresentam diferenças significantes.
Fonte: Elaborado pelo autor.

Através da tabela 10, é possível observar a interação entre os tipos de tratamento (grupos) e o tempo (inicial, envelhecido e ciclado); Todos os grupos apresentaram o mesmo comportamento: Microdureza Inicial > Microdureza pós envelhecimento > Microdureza pós ciclagem de pH, exceto o grupo EQ, no qual a Microdureza pós envelhecimento = Microdureza pós ciclagem de pH.

Tabela 10- Análise da interação entre Tratamento x Tempo

TRATAMENTO	TEMPO	MÉDIA	GRUPOS
			HOMOGÊNEOS
AB	Inicial	325,51	A
AB	Envelhecido	240,82	FG
AB	Ciclado	171,14	DE
BB	Inicial	326,03	A
BB	Envelhecido	265,34	EF
BB	Ciclado	211,32	B
EQ	Inicial	324,88	A
EQ	Envelhecido	274,18	FG
EQ	Ciclado	244,73	FG
EH	Inicial	319,00	A
EH	Envelhecido	202,83	CD
EH	Ciclado	112,97	H
FBC	Inicial	327,29	A
FBC	Envelhecido	178,78	BC
FBC	Ciclado	117,18	H

Fonte: Elaborado pelo autor.

6 DISCUSSÃO

6.1 Adesão Bacteriana por *Streptococcus Mutans*

A hipótese de nulidade, de que os materiais bioativos selecionados para esse estudo AB (Activa Bioactive), BB (Beautifil Bulk) e EQ (Equia Forte), não interferem na adesão bacteriana foi rejeitada. A seleção desses materiais, duas resinas compostas e um cimento de ionômero de vidro (CIV), deu-se pelo fato de serem materiais restauradores com a proposta de apresentarem em sua composição partículas capazes de interagir diretamente com a estrutura dental, liberar e recarregar íons flúor, possibilitando assim a remineralização do esmalte dental e aumento na resistência à colonização bacteriana.

De acordo com o estudo de Skallefold et al. (2019), os vidros bioativos incorporados aos compósitos, aumentam o pH local e criam um ambiente hostil para o crescimento bacteriano. O flúor tem a capacidade de inibir o metabolismo bacteriano do *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus*, que são as espécies associadas às lesões de cárie (Nguyen et al., 2017).

Para uma distribuição eficiente do flúor em um material restaurador, uma nanopartícula bioativa é necessária. Os efeitos sistêmicos do flúor são mínimos e esse mecanismo permite altas concentrações locais de flúor e, portanto, a manifestação de seu efeito anticariogênico (McCabe et al., 2011).

Sendo a adesão bacteriana ao material restaurador um dos fatores que contribuem para a infiltração bacteriana e consequentemente o desenvolvimento de cáries secundárias (Kozmos et al., 2021), realizamos um estudo in vitro utilizando o *Streptococcus mutans*, como descrito em outros estudos (Paradela, 2008; Kimyai et al., 2011; Gautam et al., 2017). A escolha desse microrganismo para a realização dessa metodologia, deve-se ao fato de estar relacionado

diretamente ao início e à progressão da lesão de cárie (De Andrade et al., 2011; Lozano et al., 2015). De acordo com Montanaro et al. (2004), o *S. Mutans*, possui facilidade de se ligar à superfície dos materiais restauradores, mesmo na ausência de proteínas salivares.

A partir da contagem de UFC/ml obtivemos os resultados das duas adesões bacterianas propostas dentro do planejamento experimental do estudo: uma inicial, após (48h) da confecção de amostras de cada material restaurador e a segunda, após os procedimentos de exposição dessas amostras a ciclos de pigmentação por café e escovação simulada, para analisarmos se as possíveis modificações superficiais e o contato com pasta dental fluoretada poderiam interferir na adesão de bactérias (Somacal et al., 2020).

Foi observado que o *S. Mutans* apresentou capacidade de adesão diferente para cada tipo de material. Como controle utilizamos a resina composta Filtek Bulk (FBC), representando um material restaurador que não apresenta propriedade bioativa, pois em sua composição não existem íons capazes de interagir com a estrutura dental e nem inibir a adesão bacteriana. Em estudos como o de Somacal et al. (2020), esse material foi descrito como um material susceptível à adesão bacteriana, devido ao aumento de rugosidade superficial causado pela escovação simulada.

Com relação aos materiais bioativos utilizados nesse estudo, o grupo (AB) correspondente a resina composta bioativa Activa Bioactive na primeira avaliação foi o único a apresentar uma inibição da adesão bacteriana, especificamente de 1.6 log em relação ao grupo controle (FBC). Esse mesmo resultado foi observado através das imagens obtidas da microscopia de força atômica, as micrografias mostraram pouquíssimas células aglomeradas e esparsas formações em arranjo de “colar de pérolas”, arranjo característico dos *S. mutans*. Comparativamente às imagens sugerem que, para a amostra do grupo AB, houve uma inibição do crescimento de *S. mutans*, de forma mais efetiva, visto que as imagens do grupo

FBC mostram que as três regiões avaliadas estão populadas com colônias de *S. mutans*, distribuídas heterogeneamente sobre a superfície da resina. As imagens evidenciam pontos em que ocorre o início de formação de colônias de *S. mutans*, com células de formato esférico, alinhadas em arranjo característico na forma de “colar de pérolas”, e também regiões em que a colônia de células recobre totalmente a resina, dando início à formação de um possível biofilme. A microscopia de força atômica é uma técnica de análise de imagem não destrutiva, que possibilita a análise da topografia do espécime, sondar as ultraestruturas em nanoescala e propriedades mecânicas de sistemas biológicos, como os *S. mutans*, auxiliando na compreensão de características fenóticas importantes para o estudo da cariogenicidade desse microrganismo (Cross et al., 2006).

De acordo com o fabricante, Activa Bioactive, possui as vantagens de um cimento de ionômero de vidro, em uma matriz de resina; possui capacidade de liberar íons flúor, fosfato e cálcio, interagindo com a estrutura dental e atuando na inibição da adesão bacteriana (Pulpdent.com). Esse resultado, porém, não se manteve na segunda avaliação, após os ciclos de pigmentação e escovação. O que nos leva a questionar se os íons disponíveis seriam liberados imediatamente após confeccionada a restauração e/ou se o material não apresenta os efeitos de recarga e trocas com o meio, desejados.

Na primeira avaliação, não foi possível observar o comportamento inibitório nos materiais Beautifil Bulk e Equia Forte, que apesar de possuírem propriedades bioativas, apresentaram os maiores valores de UFC/ml (Log), sem diferença estatística entre eles. Sendo o primeiro uma resina composta com a tecnologia Giomer e o segundo um cimento de ionômero de vidro, ambos com proposta de liberação de flúor, esperava-se uma inibição da adesão bacteriana já 48h após a confecção das amostras. A reação de presa dos CIVs, permite que as suas ações de bioatividade possam ser contínuas e dinâmicas em relação ao meio bucal, enquanto os materiais poliméricos, como as resinas compostas, apresentam

bioatividade limitada devido a trama polimérica densa e não flexível (Rios, Borges et al., 2021). Novas tecnologias como a do Giomer têm proposto a troca iônica nessa matriz polimérica.

Equia Forte é um ionômero de vidro, que de acordo com fabricante, contém partículas de vidro altamente reativas e a capacidade de liberar e recarregar flúor (GC América). Tanto na primeira avaliação, quanto na segunda, esse material apresentou altas taxas de adesão bacteriana quando comparado aos outros grupos. Carlén et al. (2001) mostram em seu estudo que o ionômero de vidro, possui um caráter de superfície mais áspero, que se liga a mais proteínas e bactérias do que uma resina composta. A quantidade de íons flúor liberada pelo Équia Forte não foi suficiente para desempenhar uma atividade antimicrobiana. Esse comportamento pode ser explicado pelo reduzido tempo de contato entre o microrganismo e o material (48h) (Poggio et al., 2018). De acordo com Montanaro et al. (2004) e Eick et al. (2004), o flúor liberado por esses materiais requer um intervalo de tempo variável de 48h a 7 dias para expressar corretamente sua atividade inibitória.

No que se refere às investigações acerca das limitações dos materiais restauradores estéticos, a resistência às alterações cromáticas e mudança das características superficiais, como por exemplo, a rugosidade proveniente da escovação dental, são fatores de grande interesse científico e clínico para a melhor escolha desses materiais. Avaliamos essas características através da pigmentação com solução de café e ciclos de escovação simulada pelo período de 30 dias, a fim de simularmos as escovações diárias na cavidade oral por três meses. As amostras foram então novamente submetidas à adesão bacteriana.

Na segunda avaliação da adesão bacteriana, os grupos AB e EQ apresentaram um crescimento de *S. mutans* superior ao da primeira. De acordo com Yoshihara et al. (2017) a concentração de íons liberados por alguns materiais bioativos, não parece ser suficiente para inibir o crescimento bacteriano e há uma

forte correlação entre as mudanças estruturais de rugosidade e a formação de biofilme.

Sabe-se que a simulação da escovação dental confere aos materiais, alterações na rugosidade superficial, microdureza e degradação da matriz (Voltarelli et al., 2010; Somacal et al., 2020); o que poderia explicar o fato dos materiais como Equia Forte (EQ) e Activa Bioactive (AB) apresentarem maiores valores de adesão bacteriana, mesmo possuindo potencial bioativo.

Estudos relatam que a rugosidade da superfície dos materiais é considerada um fator importante para a colonização inicial de bactérias e formação de biofilme, pois superfícies ásperas ou porosas resultam em um aumento da adesão bacteriana (Kimyai et al., 2011; Fúcio et al., 2016; Montanaro et al., 2004; Derchi et al., 2017). Estudos como o de Poggio et al. (2018) mostram que a utilização de técnicas que alteram a rugosidade superficial dos cimentos de ionômero de vidro, implicam no aumento da adesão bacteriana para esses materiais, mesmo sendo classificados como grandes liberadores de íons.

Além da rugosidade, a composição do material é importante na análise de adesão bacteriana. Segundo Ismail et al. (2020), Activa Bioactive, pode atrair mais microrganismos para sua superfície devido ao maior conteúdo orgânico.

Um estudo recente, mostra que a composição do Activa Bioactive, contém vidro de fluoroaluminossilicato (FAS), um componente que facilitaria a absorção de água, que ao entrar em contato com o ácido desidratado, provoca sua ativação e induz a liberação de íons; porém essa liberação é menor que a dos cimentos de ionômeros de vidro convencionais (Francois et al., 2020). Esse mesmo resultado foi observado por outros pesquisadores, ao compararem a liberação de flúor do Activa com outros materiais liberadores de flúor (May et al., 2017; Tiskaya et al., 2019).

Huang et al. (2020), acreditam que a falta de liberação de íons do Activa, pode estar relacionado a uma baixa proporção de ácido poliacrílico, impedindo a

sorção de água desse material.

Os resultados da segunda adesão, mostram que o grupo (BB), apresentou uma inibição da adesão bacteriana, quando comparado aos outros grupos. De acordo com o fabricante, a resina Beautifil Bulk apresenta o “efeito antiplaca”, agindo na redução da adesão e colonização de bactérias, através do maior estímulo dos processos de remineralização dental e liberação de íons flúor. Kimyai et al. (2011) observaram que esse mesmo material revelou uma menor adesão bacteriana quando comparado a outras resinas, demonstrando dessa forma um comportamento inibitório efetivo a longo prazo.

Beautifil Bulk possui a tecnologia Giomer, na qual partículas de preenchimento de vidro com superfície pré-reagida (S-PRG), são responsáveis por liberar e recarregar íons flúor. Estudos mostram que o contato do Giomer com soluções fluoretadas ou como no caso desse trabalho, contato com creme dental contendo flúor, recarrega esse material, possibilitando uma liberação lenta de íons após a exposição (Quader et al., 2013). Essa liberação de flúor, reduz a viabilidade de bactérias, inibindo a adesão bacteriana e consequentemente formação de lesões de cárie (Bansal et al., 2015; U.M. et al., 2014).

O acúmulo de bactérias em materiais restauradores é capaz de degradar o material e tornar a sua superfície rugosa, e causar a reinfecção bacteriana da interface entre a restauração e o dente (Fúcio et al., 2016). Com isso, é de grande interesse clínico, que os materiais restauradores apresentem a propriedade de inibir a adesão de microrganismos sobre a sua superfície.

6.2 Alterações cromáticas em materiais bioativos

Sendo dois dos materiais avaliados (AB e BB) descritos como resinas compostas, e, portanto, materiais propostos para restaurações estéticas, a

mensuração das possíveis alterações das propriedades ópticas, cor e translucidez, foram considerados fatores de implicação clínica e, portanto, importantes para o estudo. Para tal, utilizamos o café, substância consumida mundialmente pela população e muito utilizada em diferentes estudos para pigmentar materiais resinosos, e a escovação simulada.

O procedimento empregado foi a simulação de hábitos diários, através da imersão das amostras em solução de café por 10 minutos, seguida de ciclos de escovação simulada e manutenção em água destilada como efeito neutralizador, por um período equivalente a três meses na cavidade bucal (Heintz et al., 2009). A cor e a translucidez das amostras foram medidas inicialmente e após o ciclo de pigmentação e de escovação por 30 dias. Foram calculados os valores de ΔL , Δa , Δb , através da diferença entre duas leituras e o ΔE , representando a diferença total da cor.

A hipótese de nulidade, de que a pigmentação com café e escovação simulada, não alteram a cor, translucidez e adesão bacteriana nos materiais bioativos, foi parcialmente rejeitada. Todos os materiais tiveram a cor alterada de forma semelhante e que não existiram diferenças significativas entre os grupos, com relação a alteração de cor. Todos os grupos apresentaram alteração de cor com ΔE acima de 2,7; considerada uma alteração de cor significativa, perceptível e incompatível clinicamente (Paravina et al., 2019). Ou seja, as alterações de cor sofridas por todos os grupos, foram acima do limite de perceptibilidade.

A translucidez pode ser descrita como um estado entre a opacidade completa e a transparência e é geralmente determinada pelos parâmetros de translucidez (TP), em que a diferença de cor se dá entre a leitura sobre o fundo branco e o fundo preto (Pérez et al., 2010). Foram identificadas diferenças de translucidez entre os diversos materiais empregados; diferenças essas que se mantiveram após os tratamentos realizados. Dessa forma concluímos que o comportamento dos grupos em relação às alterações de translucidez inicial e final,

foi semelhante.

Sulaiman et al. (2020) avaliaram as alterações de cor e translucidez sofridas por 6 materiais restauradores, entre eles, o Activa Bioactive; os quais foram preparados e imersos em bebidas corantes. Os autores observaram que todos os materiais sofreram alterações de cor e translucidez ao serem imersos em solução de café após o período de 14 dias. O que está de acordo com os nossos resultados relacionados às alterações da cor, mas não de translucidez. O menor tempo de imersão utilizado em nosso estudo, pode não ter sido suficiente para alterar a translucidez das amostras.

As alterações cromáticas em materiais resinosos, acontecem de três possíveis formas: descoloração intrínseca, causada pelo envelhecimento do material; descoloração extrínseca, causada pelo acúmulo de manchas em sua superfície; e, através de agentes de coloração que são absorvidos pelo material, devido à degradação de sua superfície (Tan et al., 2015).

Existem fatores que implicam na susceptibilidade à pigmentação dos materiais resinosos, como fatores inerentes ao próprio material, o tipo de composição da matriz, a quantidade e tamanho das partículas de carga e, fatores externos, como o tipo de agente de pigmentação, principalmente a associação ao tempo de exposição do material a determinada substância corante. Dessa forma, como observamos, há uma diferença na composição dos materiais avaliados, e ela pode ter sido um dos fatores responsáveis pelas diferenças observadas nas amostras, sendo que a presença de íons ou compostos que promovem a característica bioativa, pode ter influenciado na translucidez (Tan et al., 2015); como também o tempo de exposição pode ter sido o responsável pela não alteração da translucidez dos grupos após os tratamentos.

Além das diferentes composições dos materiais utilizados, Lu et al. (2005) estabelecem uma forte correlação entre a rugosidade superficial e a coloração extrínseca, criada pelos diversos meios de envelhecimento utilizados em materiais

restauradores. Quanto mais lisa uma superfície, mais resistente ela é ao manchamento.

A escovação simulada, é um dos métodos utilizados no estudo da resistência dos materiais resinosos ao envelhecimento bucal. Como já descrito na literatura, a escovação age na superfície dos materiais, alterando suas características de rugosidade; sendo que, no caso deste estudo, pode ter favorecido a pigmentação dos materiais (Teixeira et al., 2005; Carvalho et al., 2012; Garcia et al., 2004).

Foi possível observar que a solução de café contribuiu para o escurecimento de todos os materiais utilizados. Uma possível explicação para ter alterado a cor, mas não a translucidez, seria que a solução de café não forma uma película que bloqueia a passagem de luz, mas que ela penetra na estrutura dos materiais alterando a cor, sem, no entanto, alterar a translucidez. Um outro fator pode ser o pouco tempo de imersão das amostras na solução de café. Segundo Bansal et al. (2012), o tempo é considerado um fator crítico para a estabilidade de cor dos materiais restauradores; pois, à medida que o tempo de imersão aumenta, as mudanças de cor se tornam mais intensas (Guignone et al., 2015; Haselton et al., 2005), podendo nessas condições interferir com a translucidez também.

Quando analisamos a literatura existente sobre as alterações cromáticas em materiais restauradores, observamos que em sua grande maioria, os autores a fim de comparar as alterações in vivo com os testes laboratoriais, aumentam os tempos de imersão desses materiais nas substâncias para manchamento e pigmentação (Topcu et al., 2009; Karaman et al., 2014; Alkhadim et al., 2020).

Dentro das limitações deste estudo, podemos observar que apesar das diferenças de cor acima do limite de perceptibilidade, o tempo em que as amostras foram imersas na solução de café, pode não ter sido suficiente para alterar a translucidez.

A liberação de íons desses materiais, não foi estudada, sendo então

necessários mais estudos que correlacionam as trocas iônicas com as possíveis alterações de superfície que esses materiais podem apresentar.

6.3 Microdureza do esmalte adjacente

Com o intuito de avaliar a capacidade de proteção do esmalte adjacentes às restaurações realizadas com materiais bioativos, frente ao envelhecimento e posteriormente à ciclagem de pH, foram utilizadas faces vestibulares e linguais de terceiros molares humanos, recém-extraídos, que foram devidamente preparadas, receberam o preparo de uma cavidade, que foi posteriormente restaurada com um dos 4 materiais utilizados. Amostras de esmalte hígido foram submetidas aos tratamentos de termociclagem e ciclagem de pH, com a finalidade de avaliar o seu comportamento e comparar com o esmalte das amostras restauradas. As restaurações das cavidades, com os materiais utilizados permitiu uma avaliação mais abrangente.

Para avaliar a microdureza superficial (KHN) do esmalte adjacente as restaurações, foi utilizado um microdurômetro com penetrador tipo Knoop. Essas leituras foram feitas em áreas pré-demarcadas, para que as leituras fossem feitas sempre no mesmo local, permitindo a comparação antes e após os tratamentos. Para a seleção das amostras foi inicialmente medida a microdureza do esmalte de cada amostra, que deveria estar dentro dos valores estabelecido para a dureza KHN do esmalte hígido, que de acordo com Meredith et al. (1996), varia entre 272 e 440 KHN. De acordo com Cury et al. (2008), quanto maior é o conteúdo mineral do esmalte, maiores são os valores de microdureza.

A leitura de microdureza inicial, ocorreu após 48h das restaurações das cavidades terem sido feitas. Os dados foram submetidos a análise estatística e

pode-se observar que os grupos não apresentaram diferenças estatísticas entre si; ou seja, as médias de microdureza inicial eram semelhantes para todos os grupos. Após essa leitura foi realizado o procedimento de termociclagem, seguida da segunda leitura de microdureza.

A terceira hipótese de nulidade, que a termociclagem não influenciaria na microdureza do esmalte adjacente, foi rejeitada.

A termociclagem é uma metodologia utilizada desde 1952, para simular o envelhecimento *in vivo* dos materiais restauradores, reproduzindo as alterações térmicas que ocorrem na boca, por meio da imersão das amostras em água quente e fria por um determinado período. O armazenamento em água, é o modelo de envelhecimento mais utilizado para simular a degradação dos materiais, por simular o ambiente intraoral úmido, no qual as restaurações estão sempre envolvidas pela saliva (Ferracane et al., 1998).

A escolha da quantidade de 10.000 ciclos, se deu através de estudo realizado por Gale e Darvell (1999), no qual 10.000 ciclos correspondem a um envelhecimento proporcional a 1 ano do material em ambiente bucal.

As variações bruscas de temperatura que ocorrem na cavidade oral afetam a estabilidade dos materiais, causando um aumento de volume; ou seja, expansão desse material na elevação da temperatura e a contração dele na redução da temperatura. Essas alterações de volume podem romper o selamento marginal entre dente e restauração, fazendo com que ocorra a microinfiltração de fluidos da cavidade oral para o interior das paredes da restauração (Ferracane et al., 1998; Breschi et al., 2008).

Através da análise estatística dos dados de microdureza após a termociclagem foi possível observar que todos os grupos apresentaram diminuição da microdureza superficial do esmalte. Estudos mostram que de fato, a termociclagem afeta negativamente a dureza superficial dos materiais restauradores (Pala et al., 2017; Buldur et al., 2019).

Os grupos EH e FBC não apresentaram diferenças estatísticas entre si. Os grupos EQ e BB tiveram comportamentos semelhantes, ambos apresentando as maiores médias de microdureza do esmalte após a termociclagem. Já o grupo AB, apresentou os menores valores de microdureza quando comparado aos outros materiais bioativos.

Benetti et al. (2019), avaliaram a adesão e adaptação marginal do Activa Bioactive, comparado a um CIV e uma resina composta, quando submetidos ao envelhecimento térmico e observaram deterioração das restaurações com Activa; considerando que seja devido provavelmente ao desenvolvimento de tensões térmicas, que levariam a um desempenho insatisfatório. Podemos correlacionar esses resultados, pensando na hipótese desse material não resistir as tensões térmicas geradas pela termociclagem e consequentemente não apresentar potencial de proteção ao esmalte adjacente às restaurações.

A hipótese de nulidade, que o desafio cariogênico não interfere na microdureza do esmalte adjacente às restaurações realizadas com esses materiais, pós ciclagem de pH, foi rejeitada. O desafio cariogênico realizado nesse estudo interferiu no processo de desmineralização da superfície do esmalte adjacente.

Para que esses dados pudessem ser coletados, o estudo desenvolvido utilizou um modelo de ciclagem de pH *in vitro*, com intuito de simular os processos de desmineralização (DES) e remineralização (RE) que ocorrem em condições *in vivo*. Foi utilizada, a metodologia descrita por Queiroz et al. (2008), em que o regime de ciclagem de pH dura 8 dias e as amostras são imersas por 6h na solução DES pH 5,0 e 18h na solução RE pH 7,0, simulando um ambiente bucal que apresenta alto índice de cárie, se constituindo em um desafio cariogênico.

Para determinação correta dos tempos de imersão nas soluções, foi realizado um estudo piloto e constatado através das análises de microdureza do esmalte, que 6 horas de imersão em solução desmineralizante era o ideal para

simular lesões de cárie artificial, sem que ocorresse a erosão do esmalte dental. Esse modelo de ciclagem de pH é considerado adequado para avaliar tanto a formação de lesões de cárie por mudanças de microdureza, como a progressão da cárie através da microdureza transversal e microscopia de luz polarizada (Queiroz et al., 2008).

Após a ciclagem de pH, a KHN foi novamente medida e de acordo com a análise estatística, os grupos apresentaram diferenças estatísticas entre si, exceto para os grupos FBC e EH que foram novamente semelhantes, ambos apresentando redução da microdureza do esmalte. Esses resultados eram esperados, visto que o grupo FBC trata-se de um material com comportamento passivo, sem interação com o ambiente bucal; e, dessa forma, incapaz de alterar o conteúdo mineral do esmalte durante o desafio cariogênico. E o grupo EH trata-se de uma amostra de esmalte hígido, sem qualquer restauração, possibilitando a avaliação do comportamento do esmalte frente aos desafios propostos.

Dentre os materiais bioativos, AB apresentou a menor média de microdureza. Estatisticamente, sua média foi semelhante à média do grupo FBC pós termociclagem, o que significa uma perda significativa de microdureza do esmalte, em comparação aos outros grupos. De acordo com a literatura, a quantidade de íons liberada por esse material é menor quando comparada ao cimento de ionômero de vidro convencional, não sendo capaz de inibir a adesão bacteriana e a desmineralização do esmalte adjacente (May et al., 2017; Benetti et al., 2019). Esses dados correlacionam-se com esse estudo, visto que AB não provou seu potencial antibacteriano e de proteção do esmalte adjacente aos processos de desmineralização dental.

Alguns autores questionam o real potencial bioativo do Activa Bioactive, sendo que Tiskaya et al. (2019) não encontraram evidências da formação de apatita mencionada pelo fabricante; e, seu desempenho em ambiente bucal, avaliado através de pesquisas clínicas apresentou resultados insatisfatórios (Van

Dijken et al., 2019).

O grupo BB também apresentou redução da KHN ao ser submetido a ciclagem de pH. Dasgupta et al. (2018), observaram que ao compararem a liberação de flúor da resina Beautifil Bulk com outros materiais, incluindo o Équia Forte, ela apresentou a menor liberação de flúor; podendo assim explicar o comportamento de redução da microdureza do esmalte devido a uma possível troca iônica inferior, que não foi capaz de resistir ao processo de desmineralização dental.

Os resultados mostram, que todos os grupos apresentaram diminuição da KHN após a ciclagem de pH, exceto o grupo EQ, que apresentou diminuição da KHN após a termociclagem, mas que, no entanto, não voltou a sofrer alteração dela após a ciclagem de pH.

Equia Forte possui em sua composição, partículas de vidro ultrafinas altamente reativas, dispersas dentro da estrutura de CIV. De acordo com Dasgupta et al. (2018), essas partículas ultrafinas podem aumentar a área de superfície para que ocorra a reação ácido-base, levando a uma maior liberação de flúor, quando comparado a outros materiais bioativos. Esse mesmo resultado, foi encontrado em outros estudos (Brovic-Rajic et al., 2018). A liberação de flúor aumentada desse material, pode ser uma das razões da resistência aos processos de desmineralização dental.

Esses resultados corroboram os encontrados por Khurana et al. (2020). Os autores concluíram que o maior valor de nanodureza do esmalte restaurado com Équia Forte está relacionado a uma maior liberação de íons flúor e consequente remineralização, devido as suas partículas híbridas que podem melhor reparar e remineralizar o esmalte. Justificando dessa forma os mesmos resultados encontrados nesse estudo, em que EQ resistiu ao processo de desmineralização dental.

Oliveira et al. (2021), avaliaram desgaste, rugosidade e microdureza de

materiais restauradores de incremento único submetidos a ciclagem de pH, e observaram que EQ apresentou os maiores valores de microdureza transversal e não sofreu nenhum efeito da ciclagem de pH.

A termociclagem ocasionou nos materiais um envelhecimento proporcional a um 1 ano de uso em ambiente bucal, e após esse envelhecimento, quando as amostras foram submetidas a ciclagem de pH, somente o material Équia Forte foi capaz de resistir ao processo de desmineralização dental e proteger o esmalte adjacente. Em um estudo realizado por Souza, (2018), no qual a microdureza do esmalte adjacente às restaurações com os materiais Équia Forte (EF), Activa Bioactive (AB) e Beautifil Bulk (BB) foi avaliada após ciclagem de pH, sem o envelhecimento térmico, os autores observaram que os materiais EF e AB exibiram valores de microdureza similares aos valores das amostras que não foram submetidas a ciclagem de pH. Já o material Beautifil Bulk, mostrou perda de microdureza.

Correlacionando esses resultados com os resultados obtidos nesse trabalho observamos que após o envelhecimento desses materiais e ciclagem de pH, apesar do material BB apresentar diminuição da microdureza do esmalte adjacente, ainda sim, foi o segundo maior valor de microdureza; podendo sugerir que esse material apresenta potencial de recarregar íons quando exposto a meios que contenham flúor, como a solução RE, resultando em uma liberação lenta (Quader et al., 2013). Já o material AB, parece resistir aos ácidos da desmineralização, apenas em um primeiro momento e quando submetido ao envelhecimento, não foi capaz de resistir a desmineralização e consequente diminuição da microdureza do esmalte adjacente. Dessa forma, a baixa liberação de flúor mencionada por May et al. (2017), justificaria esse comportamento.

Équia Forte mostrou seu potencial bioativo, se mostrando como o material mais indicado para pacientes com alto risco de cárie. Oliveira et al. (2021), consideram Équia Forte um material restaurador promissor, com resistência

estrutural, potencial de recarga de flúor e dureza superiores em comparação a outros CIVs disponíveis comercialmente.

A utilização dos materiais bioativos, em diferentes áreas da Odontologia, tem se tornado cada vez mais notória pois acompanha a tendência voltada para a mínima invasão e prevenção, que além de evitar a instalação da cárie, tem esforços voltados para que seu tratamento seja restrito à área da lesão e minimizada a sua reincidência. A escolha correta do material mais adequado para cada situação, requer um conhecimento sobre o mecanismo de ação desses materiais. Esse trabalho traz resultados que implicam diretamente nessa escolha, porém ainda são necessárias mais investigações e constatações científicas que comprovem a longo prazo o real potencial bioativo desses materiais e consequentemente sua implicação clínica.

7 CONCLUSÃO

Com base nos resultados encontrados, podemos concluir que:

1. Os materiais bioativos avaliados apresentaram inicialmente redução na adesão bacteriana por *Streptococcus mutans*, quando comparados a resina composta convencional; sendo a resina Activa Bioactive (AB) o que promoveu a maior redução na adesão bacteriana;
2. Após os ciclos de pigmentação e escovação simulada a resina Activa Bioactive (AB) e o ionômero de vidro Equia Forte (EQ) apresentaram maior adesão bacteriana; enquanto a resina Beautifil Bulk (BB) apresentou redução na adesão bacteriana;
3. Após os ciclos de pigmentação e escovação simulada, as alterações cromáticas foram estatisticamente semelhantes para todos os grupos, com todos apresentando ΔE acima do nível de perceptibilidade e aceitabilidade clínica;
4. Com relação a translucidez, os grupos apresentaram diferenças estatísticas entre si, no entanto não apresentaram diferenças, antes e após os tratamentos.
5. A termociclagem reduziu a dureza superficial do esmalte adjacente às restaurações com todos os materiais desse estudo.
6. Todos os grupos, mostraram perda de microdureza após a ciclagem de pH, exceto o grupo com o cimento de ionômero de vidro (EQ) que apresentou manutenção da microdureza, mostrando seu potencial de resistência aos processos de desmineralização.

REFERÊNCIAS*

Alkhadim YK, Hulbah MJ, Nassar HM. Color shift, color stability, and postpolishing surface roughness of esthetic resin composites. *Materials (Basel)*. 2020 Mar 18;13(6):1376. doi: 10.3390/ma13061376. PMID: 32197532; PMCID: PMC7143460.

Amaireh AI, Al-Jundi SH, Alshraideh HA. In vitro evaluation of microleakage in primary teeth restored with three adhesive materials: ACTIVA™, composite resin, and resin-modified glass ionomer. *Eur Arch Paediatr Dent*. 2019 Aug;20(4):359-67. doi: 10.1007/s40368-019-00428-6. Epub 2019 Mar 11. PMID: 30859408.

Arocha MA, Mayoral JR, Lefever D, Mercade M, Basilio J, Roig M. Color stability of siloranes versus methacrylate-based composites after immersion in staining solutions. *Clin Oral Investig*. 2013 Jul;17(6):1481-7. doi: 10.1007/s00784-012-0837-7. Epub 2012 Sep 20. PMID: 22993112.

Askar H, Krois J, Göstemeyer G, Bottenberg P, Zero D, Banerjee A, et al. Secondary caries: what is it, and how it can be controlled, detected, and managed? *Clin Oral Investig*. 2020 May;24(5):1869-76. doi:10.1007/s00784-020-03268-7. Epub 2020 Apr 17. PMID: 32300980.

Auschill TM, Arweiler NB, Brex M, Reich E, Sculean A, Netuschil L. The effect of dental restorative materials on dental biofilm. *Eur J Oral Sci*. 2002 Feb;110(1):48-53. doi: 10.1046/j.0909-8836.2001.101160.x. PMID: 11878760.

Azevedo CS, Trung LC, Simionato MR, Freitas AZ, Matos AB. Evaluation of caries-affected dentin with optical coherence tomography. *Braz Oral Res*. 2011 Sep-Oct;25(5):407-13. PubMed PMID: 22031053.

Bansal K, Acharya SR, Saraswathi V. Effect of alcoholic and non-alcoholic beverages on color stability and surface roughness of resin composites: An in vitro study. *J Conserv Dent*. 2012 Jul;15(3):283-8. doi: 10.4103/0972-0707.97961. PMID: 22876020; PMCID: PMC3410343.

* Baseado em: International Committee of Medical Journal Editors Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Sample References [Internet]. Bethesda: US NLM; c2003 [atualizado 04 nov 2015; acesso em 25 jan 2017]. U.S. National Library of Medicine; [about 6 p.]. Disponível em: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

Bansal R, Bansal T. A comparative evaluation of the amount of fluoride release and re-release after recharging from aesthetic restorative materials: an in vitro study. *J Clin Diagn Res*. 2015 Aug;9(8):ZC11-4. doi: 10.7860/JCDR/2015/11926.6278. Epub 2015 Aug 1. PMID: 26436037; PMCID: PMC4576631.

Bayrak S, Tunc ES, Aksoy A, Ertas E, Guvenc D, Ozer S. Fluoride release and recharge from different materials used as fissure sealants. *Eur J Dent*. 2010 Jul;4(3):245-50. PubMed PMID: 20613911; PubMed Central PMCID: PMC2897856.

Benetti AR, Michou S, Larsen L, Peutzfeldt A, Pallesen U, van Dijken JWV. Adhesion and marginal adaptation of a claimed bioactive, restorative material. *Biomater Investig Dent*. 2019 Dec 12;6(1):90-8. doi: 10.1080/26415275.2019.1696202. PMID: 31998876; PMCID: PMC6964780.

Brännström M, Nordenvall KJ. Bacterial penetration, pulpal reaction and the inner surface of Concise enamel bond. Composite fillings in etched and unetched cavities. *J Dent Res*. 1978 Jan;57(1):3-10. doi: 10.1177/00220345780570011301. PMID: 355278.

Breschi L, Mazzoni A, Ruggeri A, Cadenaro M, Di Lenarda R, De Stefano, et al. Dental adhesion review: aging and stability of the bonded interface. *Dent Mater*. 2008 Jan;24(1):90-101. doi: 10.1016/j.dental.2007.02.009. Epub 2007 Apr 17. PMID: 17442386.

Brzović-Rajić V, Miletić I, Gurgan S, Peroš K, Verzak Ž, Ivanišević-Malčić A. fluoride release from glass ionomer with nano filled coat and varnish. *Acta Stomatol Croat* . 2018 Dec;52(4):307-13. doi: 10.15644 / asc52 / 4/4.

Buldur M, Sirin Karaarslan E. Microhardness of glass carbomer and highviscous glass Ionomer cement in different thickness and thermo-light curing durations after thermocycling aging. *BMC Oral Health*. 2019 Dec 4;19(1):273. doi: 10.1186/s12903-019-0973-4. PMID: 31801493.

Carlén A, Nikdel K, Wennerberg A, Holmberg K, Olsson J. Surface characteristics and in vitro biofilm formation on glass ionomer and composite resin. *Biomaterials*. 2001 Mar;22(5):481-7. doi: 10.1016/s0142-9612(00)00204-0. PMID: 11214759.

Carvalho FG, Sampaio CS, Fucio SB, Carlo HL, Correr-Sobrinho L, Puppini-Rontani RM. Effect of chemical and mechanical degradation on surface

roughness of three glass ionomers and a nanofilled resin composite. *Oper Dent*. 2012 Sep-Oct;37(5):509-17. doi: 10.2341/10-406-L. Epub 2012 Mar 21. PMID: 22433031.

Clarke JK. On the bacterial factor in the etiology of dental caries. *Br J Exp Pathol*. 1924;5(3):141-7. PMCID: PMC2047899.

Cheon K, Moser SA, Wiener HW, Whiddon J, Momeni SS, Ruby JD, et al. Characteristics of streptococcus mutans genotypes and dental caries in children. *Eur J Oral Sci*. 2013 Jun;121(3 Pt 1):148-55. doi: 10.1111/eos.12044. Epub 2013 Apr 19. PMID: 23659236; PMCID: PMC3652634.

Cotes C, Cardoso M, Melo RM, Valandro LF, Bottino MA. Effect of composite surface treatment and aging on the bond strength between a core build-up composite and a luting agent. *J Appl Oral Sci*. 2015 Jan-Feb;23(1):71-8. doi: 10.1590/1678-775720140113. PMID: 25760269; PMCID: PMC4349122.

Crim GA, Garcia-Godoy F. Microleakage: the effect of storage and cycling duration. *J Prosthet Dent*. 1987 May;57(5):574-6. doi: 10.1016/0022-3913(87)90339-8. PMID: 3474404.

Cross SE, Kreth J, Zhu L, Qi F, Pelling AE, Shi W, et al. Atomic force microscopy study of the structure-function relationships of the biofilm-forming bacterium *Streptococcus mutans*. *Nanotechnology*. 2006 Feb 28;17(4):S1-7. doi: 10.1088/0957-4484/17/4/001. Epub 2006 Jan 25. PMID: 21727347.

Cury JA, Tenuta LM. How to maintain a cariostatic fluoride concentration in the oral environment. *Adv Dent Res*. 2008 Jul 1;20(1):13-6. PubMed PMID: 18694871.

Dasgupta S, Saraswathi MV, Somayaji K, Pentapati KC, Shetty P. Comparative evaluation of fluoride release and recharge potential of novel and traditional fluoride-releasing restorative materials: An in vitro study. *J Conserv Dent*. 2018 Nov-Dec;21(6):622-6. doi:10.4103/JCD.JCD_338_18. PubMed PMID: 30546207; PubMed Central PMCID: PMC6249945.

De Andrade IM, Cruz PC, da Silva CH, de Souza RF, Paranhos Hde F, Candido RC, et al. Effervescent tablets and ultrasonic devices against candida and mutans streptococci in denture biofilm. *Gerodontology*. 2011 Dec;28(4):264-70. doi: 10.1111/j.1741-2358.2010.00378.x. PubMed

PMID: 20518813.

De Carvalho FG, Silva DS, Hebling J, Spolidorio LC, Spolidorio DM. Presence of mutans streptococci and candida spp. in dental plaque/dentine of carious teeth and early childhood caries. *Arch Oral Biol.* 2006 Nov;51(11):1024-8. doi: 10.1016/j.archoralbio.2006.06.001. Epub 2006 Aug 7. PMID: 16890907.

Deng D, Yang H, Guo J, Chen X, Zhang W, Huang C. Effects of different artificial ageing methods on the degradation of adhesive-dentine interfaces. *J Dent.* 2014 Dec;42(12):1577-85. doi: 10.1016/j.jdent.2014.09.010. Epub 2014 Sep 23. PMID: 25257825.

Derchi G, Vano M, Barone A, Covani U, Diaspro A, Salerno M. Bacterial adhesion on direct and indirect dental restorative composite resins: An in vitro study on a natural biofilm. *J Prosthet Dent.* 2017 May;117(5):669-76. doi: 10.1016/j.prosdent.2016.08.022. Epub 2016 Oct 27. PMID: 27881324.

Dionysopoulos P, Kotsanos N, Papadogiannis Y, Konstantinidis A. Artificial secondary caries around two new F-containing restoratives. *Oper Dent.* 1998 Mar-Apr;23(2):81-6. PMID: 9573793.

Durso SC, Vieira LM, Cruz JN, Azevedo CS, Rodrigues PH, Simionato MR. Sucrose substitutes affect the cariogenic potential of *Streptococcus mutans* biofilms. *Caries Res.* 2014;48(3):214-22. doi: 10.1159/000354410. Epub 2014 Jan 29. PMID: 24481032.

Ebaya MM, Ali AI, Mahmoud SH. Evaluation of marginal adaptation and microleakage of three glass ionomer-based class V restorations: In vitro study. *Eur J Dent.* 2019;13(4):599-06. doi:10.1055/s-0039-3401435

Eick S, Glockmann E, Brandl B, Pfister W. Adherence of streptococcus mutans to various restorative materials in a continuous flow system. *J Oral Rehabil.* 2004 Mar;31(3):278-85. doi: 10.1046/j.0305-182X.2003.01233.x. PMID: 15025662.

Ertas E, Güler AU, Yücel AC, Köprülü H, Güler E. Color stability of resin composites after immersion in different drinks. *Dent Mater J.* 2006 Jun;25(2):371-6. PMID: 16916243.

Fernando D, Attik N, Pradelle-Plasse N, Jackson P, Grosgeat B, Colon P. Bioactive glass for dentin remineralization: a systematic review. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2017 Jul 1;76:1369-77. doi:

10.1016/j.msec.2017.03.083. Epub 2017 Mar 14. PMID: 28482504.

Ferracane JL, Berge HX, Condon JR. In vitro aging of dental composites in water-effect of degree of conversion, filler volume, and filler/matrix coupling. *J Biomed Mater Res.* 1998 Dec 5;42(3):465-72. doi: 10.1002/(sici)1097-4636(19981205)42:3<465::aid-jbm17>3.0.co;2-f. PMID: 9788511.

Francois P, Fouquet V, Attal JP, Dursun E. Commercially available fluoridereleasing restorative materials: a review and a proposal for classification. *materials (Basel).* 2020 May 18;13(10):2313. doi: 10.3390/ma13102313. PMID: 32443424; PMCID: PMC7287768.

Fúcio SB, Paula AB, Sardi JC, Duque C, Correr-Sobrinho L, Puppim-Rontani RM. *Streptococcus mutans* biofilm influences on the antimicrobial properties of glass ionomer cements. *Braz Dent J.* 2016 Nov-Dec;27(6):681-7. doi: 10.1590/0103-6440201600655. PubMed PMID: 27982179.

Gadonski AP, Feiber M, Almeida L, Naufel FS, Schmitt VL. Avaliação do efeito cromático em resinas compostas nanoparticuladas submetidas a solução café. *Rev Odontol UNESP.* 2018 June [cited 2020 Dec 14] ; 47(3):137- 42. Available from: <http://dx.doi.org/10.1590/1807-2577.04318>.

Gale MS, Darvell BW. Thermal cycling procedures for laboratory testing of dental restorations. *J Dent.* 1999 Feb;27(2):89-99. doi: 10.1016/s0300-5712(98)00037-2. PMID: 10071465.

Garchitorena MI. Vidrios bioactivos en odontología restauradora. *Odontoestomatología [Internet].* 2019 Dec [cited 2020 Nov 11] ;21(34):3343. Epub Dec 01,2019. Available from: <http://dx.doi.org/10.22592/ode2019n34a5>.

Garcia FC, Wang L, D'Alpino PH, Souza JB, Araújo PA, Mondelli RF. Evaluation of the roughness and mass loss of the flowable composites after simulated toothbrushing abrasion. *Braz Oral Res.* 2004 Apr-Jun;18(2):156-61. doi: 10.1590/s1806-83242004000200012. Epub 2004 Aug 5. PMID: 15311320.

Gatewood RR, Cobb CM, Killoy WJ. Microbial colonization on natural tooth structure compared with smooth and plasma-sprayed dental implant surfaces. *Clin Oral Implants Res.* 1993 Jun;4(2):53-64. doi: 10.1034/j.1600-0501.1993.040201.x. PMID: 8218744.

Gautam AK, Thakur R, Shashikiran ND, Shilpy S, Agarwal N, Tiwari S. Degradation of resin restorative materials by streptococcus mutans: A pilot study. *J Clin Pediatr Dent*. 2017;41(3):225-7. doi: 10.17796/1053-4628-41.3.225. PubMed PMID: 28422601.

Gonulol N, Ozer S, Sen Tunc E. Water sorption, solubility, and color stability of giomer restoratives. *J Esthet Restor Dent*. 2015 Sep-Oct;27(5):300-6. doi: 10.1111/jerd.12119. Epub 2014 Aug 21. PMID: 25145876.

Guignone BC, Silva LK, Soares RV, Akaki E, Goiato MC, Pithon MM, et al. Color stability of ceramic brackets immersed in potentially staining solutions. *Dental Press J Orthod*. 2015 Jul-Aug;20(4):32-8. doi: 10.1590/2176-9451.20.4.032-038.oar. PMID: 26352842; PMCID: PMC4593527.

Hals E, Nernæs A. Histopathology of in vitro caries developing around silver amalgam fillings. *Caries Res*. 1971;5(1):58-77. doi:10.1159/000259733 PubMed PMID: 5277150.

Hara AT, Magalhães C, Rodrigues Jr A, Serra M. Efeito cariostático de restaurações adesivas em superfícies radiculares: estudo in vitro. *Pesq Odont Bras*. 2000 Abr/Jun;14(2): 113-118. doi: 10.1590/S1517-74912000000200004.

Haselton DR, Diaz-Arnold AM, Dawson DV. Color stability of provisional crown and fixed partial denture resins. *J Prosthet Dent*. 2005 Jan;93(1):70-5. doi: 10.1016/j.prosdent.2004.09.025. PMID: 15624001.

Heintze SD, Forjanic M, Ohmiti K, Rousson V. Surface deterioration of dental materials after simulated toothbrushing in relation to brushing time and load. *Dent Mater*. 2010 Apr;26(4):306-19. doi: 10.1016/j.dental.2009.11.152. Epub 2009 Dec 29. PMID: 20036418.

Hench LL. The story of Bioglass. *J Mater Sci Mater Med*. 2006 Nov;17(11):967-78. doi: 10.1007/s10856-006-0432-z. Epub 2006 Nov 22. PMID: 17122907.

Herkströter FM, Witjes M, Arends J. Demineralization of human dentine compared with enamel in a pH-cycling apparatus with a constant composition during de- and remineralization periods. *Caries Res*. 1991;25(5):317-22. doi: 10.1159/000261385. PMID: 1747881.

Huang CT, Blatz MB, Arce C, Lawson NC. Inhibition of root dentin demineralization by ion releasing cements. *J Esthet Restor Dent*. 2020 Dec;32(8):791-6. doi: 10.1111/jerd.12645. Epub 2020 Aug 21. PMID: 32820865.

Ismail HS, Ali AI, Abo El-Ella MA, Mahmoud SH. Effect of different polishing techniques on surface roughness and bacterial adhesion of three glass ionomer-based restorative materials: In vitro study. *J Clin Exp Dent*. 2020 Jul 1;12(7):620-5. doi: 10.4317/jced.56616. PMID: 32905005; PMCID: PMC7462382.

Jandt KD, Sigusch BW. Future perspectives of resin-based dental materials. *Dent Mater*. 2009 Aug;25(8):1001-6. doi: 10.1016/j.dental.2009.02.009. Epub 2009 Mar 29. Review. PubMed PMID: 19332352.

Jenkinson HF. Adherence and accumulation of oral streptococci. *Trends Microbiol*. 1994 Jun;2(6):209-12. PubMed PMID: 8087454.

Jiang L, Chen CR, Jin DC, Lee MH, Bae TS, Zhou C, et al. Changes in mechanical properties of seven light-cured composite resins after thermal cycling. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*. 2011 Dec;31(12):1957-62. PMID: 22200691.

Karaman E, Tuncer D, Firat E, Ozdemir OS, Karahan S. Influence of different staining beverages on color stability, surface roughness and microhardness of silorane and methacrylate-based composite resins. *J Contemp Dent Pract*. 2014 May 1;15(3):319-25. doi: 10.5005/jp-journals-10024-1536. PMID: 25307814.

Kawai K, Iwami Y, Ebisu S. Effect of resin monomer composition on toothbrush wear resistance. *J Oral Rehabil*. 1998 Apr;25(4):264-8. doi: 10.1111/j.1365-2842.1998.00246.x. PMID: 9610853.

Kidd EA. Diagnosis of secondary caries. *J Dent Educ*. 2001 Oct;65(10):997-1000. PMID: 11700003.

Kidd EA, Fejerskov O. What constitutes dental caries? histopathology of carious enamel and dentin related to the action of cariogenic biofilms. *J Dent Res*. 2004;83 Spec No C:C35-8. Review. PubMed PMID: 15286119.

Kimyai S, Lotfipour F, Pourabbas R, Sadr A, Nikazar S, Milani M. Effect of two prophylaxis methods on adherence of streptococcus mutans to microfilled composite resin and giomer surfaces. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2011 Jul 1;16(4):e561-7. PubMed PMID: 20711117.

Komatsu H, Yamamoto H, Matsuda Y, Kijimura T, Kinugawa M, Okuyama K, et al. Fluorine analysis of human enamel around fluoride-containing materials under different pH-cycling by μ -PIGE/PIXE system. *Nucl Instrum Methods Phys Res B* 2011; 269(20): 2274-7. doi:10.1016/J.NIMB.2011.02.042.

Khvostenko D, Salehi S, Naleway SE, Hilton TJ, Ferracane JL, Mitchell JC, et al. Cyclic mechanical loading promotes bacterial penetration along composite restoration marginal gaps. *Dent Mater*. 2015 Jun;31(6):702-10. doi: 10.1016/j.dental.2015.03.011. Epub 2015 Apr 18. PMID: 25900624; PMCID: PMC4430365.

Khoroushi M, Keshani F. A review of glass-ionomers: from conventional glassionomer to bioactive glass-ionomer. *Dent Res J (Isfahan)*. 2013 Jul;10(4):411- 20. PMID: 24130573; PMCID: PMC3793401.

Kozmos M, Virant P, Rojko F, Abram A, Rudolf R, Raspor P, et al. Bacterial adhesion of streptococcus mutans to dental material surfaces. *Molecules*. 2021 Feb 21;26(4):1152. doi: 10.3390/molecules26041152. PMID: 33670043; PMCID: PMC7926644.

Krishnan V, Lakshmi T. Bioglass: A novel biocompatible innovation. *J Adv Pharm Technol Res*. 2013 Apr;4(2):78-83. doi: 10.4103/2231-4040.111523. PMID: 23833747; PMCID: PMC3696226.

Khurana S, Gehlot PM, Hegde U. Surface nanohardness of normal and fluorosed enamel adjacent to restorative materials: An in vitro study and polarized light microscopy analysis. *J Contemp Dent Pract*. 2020 Sep 1;21(9):1034-41. PMID: 33568592.

Lozano SP, Gilaberte Y, Paz-Cristobal MP, Pérez-Artiaga L, Lampaya-Pérez V, Aporta J, et al. In vitro effect photodynamic therapy with different photosensitizers on cariogenic microorganisms. *BMC Microbiol*. 2015 Sep 26;15:187. doi: 10.1186/s12866-015-0524-3. PMID: 26410025; PMCID: PMC4584123.

Lu H, Roeder LB, Lei L, Powers JM. Effect of surface roughness on stain resistance of dental resin composites. *J Esthet Restor Dent*. 2005;17(2):102-8; discussion 109. doi: 10.1111/j.1708-8240.2005.tb00094.x. PMID: 16036126.

Magalhães AC, Moron BM, Comar LP, Wiegand A, Buchalla W, Buzalaf MA. Comparison of cross-sectional hardness and transverse microradiography of artificial carious enamel lesions induced by different demineralising solutions and gels. *Caries Res*. 2009;43(6):474-83. doi: 10.1159/000264685. Epub 2009 Dec 10. PMID: 20016178.

Magalhães CS, Hara AT, Turssi CP, SerraMC, Giannini M. Microhardness evaluation around composite restorations using fluoride-containing adhesive systems. *J Appl Oral Sci*. [Internet]. 2005 Sep [cited 2020 Nov 11];13(3):259-64. Available from: <https://www.scielo.br/j/jaos/a/g9GfzVP49D4DGBBNHs6FLxM/abstract/?lang=en>

Mara da Silva T, Barbosa Dantas DC, Franco TT, Franco LT, Rocha Lima Huhtala MF. Surface degradation of composite resins under staining and brushing challenges. *J Dent Sci*. 2019 Mar;14(1):87-92. doi: 10.1016/j.jds.2018.11.005. Epub 2018 Dec 7. PMID: 30988884; PMCID: PMC6445979.

May E, Donly KJ. Fluoride release and re-release from a bioactive restorative material. *Am J Dent*. 2017 Dec;30(6):305-8. PMID: 29251452.

McCabe JF, Yan Z, Al Naimi OT, Mahmoud G, Rolland SL. Smart materials in dentistry. *Aust Dent J*. 2011 Jun;56 Suppl 1:3-10. doi: 10.1111/j.18347819.2010.01291.x. Review. PubMed. PMID: 21564111.

Meredith N, Sherrieff M, Setchell DJ, Swanson SA. Measurement of the microhardness and Young's modulus of human enamel and dentine using an indentation technique. *Arch Oral Biol*. 1996 Jun;41(6):539-45. doi: 10.1016/0003-9969(96)00020-9.

Montanaro L, Campoccia D, Rizzi S, Donati ME, Breschi L, Prati C, et al. Evaluation of bacterial adhesion of streptococcus mutans on dental restorative materials. *Biomaterials*. 2004 Aug;25(18):4457-63. doi:10.1016/j.biomaterials.2003.11.031 PubMed. PMID: 15046936.

Morresi AL, D'Amario M, Capogreco M, Gatto R, Marzo G, D'Arcangelo C, et al. Thermal cycling for restorative materials: does a standardized protocol exist in laboratory testing? A literature review. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2014 Jan;29:295-308. doi: 10.1016/j.jmbbm.2013.09.013. Epub 2013 Sep 27. PMID: 24135128.

Naoum S, Ellakwa A, Martin F, Swain M. Fluoride release, recharge and mechanical property stability of various fluoride-containing resin composites. *Oper Dent*. 2011 Jul-Aug;36(4):422-32. doi: 10.2341/10-414-L. Epub 2011 Aug 5. PubMed PMID: 21819201.

Nassar HM, Hara AT. Effect of dentifrice slurry abrasivity and erosive challenge on simulated non-carious cervical lesions development in vitro. *J Oral Sci*. 2021;63(2):191-4. doi: 10.2334/josnusd.20-0478. PMID: 33790090.

Nguyen S, Escudero C, Sediqi N, Smistad G, Hiorth M. Fluoride loaded polymeric nanoparticles for dental delivery. *Eur J Pharm Sci*. 2017 Jun 15;104:326-34. doi: 10.1016/j.ejps.2017.04.004. Epub 2017 Apr 7. PMID: 28392494.

Okida RC, Mandarino F, Sundfeld RH, de Alexandre RS, Sundefeld ML. In vitro-evaluation of secondary caries formation around restoration. *Bull Tokyo Dent Coll*. 2008 Aug;49(3):121-8. doi: 10.2209/tdcpublish.49.121. PMID: 19129687.

Oliveira LC, Dos Santos PH, Ramos FSS, Moda MD, Briso ALF, Fagundes TC. Wear, roughness and microhardness analyses of single increment restorative materials submitted to different challenges in vitro. *Eur Arch Paediatr Dent*. 2021 Apr;22(2):247-55. doi: 10.1007/s40368-020-00554-6. Epub 2020 Sep 2. PMID: 32880093.

Ozcan M, Barbosa SH, Melo RM, Galhano GA, Bottino MA. Effect of surface conditioning methods on the microtensile bond strength of resin composite to composite after aging conditions. *Dent Mater*. 2007;23:1276–82.

Ozer L, Thylstrup A. What is known about caries in relation to restorations as a reason for replacement? *Ar Review. Adv Dent Res*. 1995; 9(4):394-02. doi: 10.1177 / 08959374950090040901.

Pala K, Tekçe N, Tuncer S, Demirci M, Öznurhan F, Serim M. Flexural strength and microhardness of anterior composites after accelerated aging. *J Clin Exp*

Dent. 2017 Mar 1;9(3):424-30. doi: 10.4317/jced.53463. PMID: 28298986; PMCID: PMC5347293.

Palenik CJ, Behnen MJ, Setcos JC, Miller CH. Inhibition of microbial adherence and growth by various glass ionomers in vitro. *Dent Mater.* 1992 Jan;8(1):16-20. PubMed PMID: 1521678.

Paradella TC. Aderência de *Streptococcus mutans* em materiais restauradores e seus efeitos em cárie secundária in vitro e in situ avaliados por microscopia de luz polarizada e espectroscopia por dispersão de raios-X (EDS) [tese]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia de São José dos Campos; 2008.

Paravina RD, Pérez MM, Ghinea R. Acceptability and perceptibility thresholds in dentistry: A comprehensive review of clinical and research applications. *J Esthet Restor Dent.* 2019 Mar;31(2):103-12. doi: 10.1111/jerd.12465. Epub 2019 Mar 20. PMID: 30891913.

Pauleto ARC, Pereira MLT, Cyrino E. Gold farb Oral health: a critical review about educative programmes for 110 students. *Ciênc. saúde coletiva* [Internet]. 2004 [cited 2021 Sep 14];9(1):121-30. Available from: <https://doi.org/10.1590/S1413-81232004000100012>.

Pérez MM, Ghinea R, Ugarte-Alván LI, Pulgar R, Paravina RD. Color and translucency in silorane-based resin composite compared to universal and nanofilled composites. *J Dent.* 2010;38 Suppl 2:e110-6. doi: 10.1016/j.jdent.2010.06.003. Epub 2010 Jun 18. PMID: 20600552.

Perondi P, Oliveira P, Cassoni A, Reis A, Rodrigues J. Resistência coesiva e microdureza de materiais ionoméricos. *Braz Dent Sci.* 2014 Jan/Mar;17(1):16-22.

Pin ML, Abdo RC, Machado MA, da Silva SM, Pavarini A, Marta SN. In vitro evaluation of the cariostatic action of esthetic restorative materials in bovine teeth under severe cariogenic challenge. *Oper Dent.* 2005 May Jun;30(3):368-75. PubMed PMID: 15986958.

Poggio C, Vialba L, Marchioni R, Colombo M, Pietrocola G. Esthetic restorative materials and glass ionomer cements: influence of acidic drink exposure on bacterial adhesion. *Eur J Dent.* 2018 Apr-Jun;12(2):204-09. doi: 10.4103/ejd.ejd_219_17. PMID: 29988263; PMCID: PMC6004817.

Quader SA, Alam MS, Bashar A, Gafur A, Mansur MA. Compressive strength, fluoride release and recharge of giomer. *Update DentCollege J.* 2013;2(2):28–37. doi: <https://doi.org/10.3329/updcj.v2i2.15533>.

Queiroz CS, Hara AT, Paes Leme AF, Cury JA. pH-cycling models to evaluate the effect of low fluoride dentifrice on enamel de- and remineralization. *Braz Dent J.* 2008;19(1):21-7. PubMed. PMID: 18438555.

Quirynen M, Bollen CM. The influence of surface roughness and surface-free energy on supra- and subgingival plaque formation in man. A review of the literature. *J Clin Periodontol.* 1995 Jan;22(1):1-14. doi: 10.1111/j.1600-051x.1995.tb01765.x. PMID: 7706534.

Rios D, Borges AB, Wang L, Duarte D. *Materiais bioativos em odontologia: ciência e prática evolucionárias.* nova Odessa: Napoleão; 2021.

Rutkunas V, Sabaliauskas V, Mizutani H. Effects of different food colorants and polishing techniques on color stability of provisional prosthetic materials. *Dent Mater J.* 2010 Mar;29(2):167-76. doi: 10.4012/dmj.2009-075. PMID: 20379027.

Salas CF, Guglielmi CA, Raggio DP, Mendes FM. Mineral loss on adjacent enamel glass ionomer cements restorations after cariogenic and erosive challenges. *Arch Oral Biol.* 2011 Oct;56(10):1014-9. doi: 10.1016/j.archoralbio.2011.03.005. Epub 2011 Apr 13. PMID: 21489401.

Santos C, Clarke RL, Braden M, Guitian F, Davy KW. Water absorption characteristics of dental composites incorporating hydroxyapatite filler. *Biomaterials.* 2002 Apr;23(8):1897-904. doi: 10.1016/s0142-9612(01)00331-3. PMID: 11950060.

Shashibhushan KK, Basappa N, Subba Reddy VV. Comparison of antibacterial activity of three fluorides- and zinc-releasing commercial glass ionomer cements on strains of mutans streptococci: an in vitro study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent.* 2008;26 Suppl 2:S56-61. PMID: 19075449.

Silva RJ. Propriedades dos cimentos de ionômero de vidro: uma revisão sistemática. *Odontol Clín Cient.* 2010; 9(2):125-9.

Skallevold HE, Rokaya D, Khurshid Z, Zafar MS. Bioactive glass applications in dentistry. *Int J Mol Sci*. 2019 Nov 27;20-3:5960. doi: 10.3390/ijms20235960. PMID: 31783484; PMCID: PMC6928922.

Somacal DC, Manfroí FB, Monteiro M, Oliveira SD, Bittencourt HR, Borges GA, et al. Effect of pH cycling followed by simulated toothbrushing on the surface roughness and bacterial adhesion of bulk-fill composite resins. *Oper Dent*. 2020 Mar/Apr;45(2):209-18. doi: 10.2341/19-012-L. Epub 2019 Nov 27. PMID: 31774724.

Sonarkar S, Purba R. Bioactive materials in conservative dentistry. *Int J Contemp Dent Med Rev*, 2015 Feb 28: 2015. Article ID: 340115. doi: 10.15713/ins.ijcdmr.47

Souza MLABLRC. Avaliação das propriedades físicas, químicas e biológicas de materiais restauradores bioativos [dissertação]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2018.

Sulaiman TA, Rodgers B, Suliman AA, Johnston WM. Color and translucency stability of contemporary resin-based restorative materials. *J Esthet Restor Dent*. 2021 Sep;33(6):899-05. doi: 10.1111/jerd.12640. Epub 2020 Aug 14. PMID: 32797672.

Tan BL, Yap AU, Ma HN, Chew J, Tan WJ. Effect of beverages on color and translucency of new tooth-colored restoratives. *Oper Dent*. 2015 Mar-Apr;40(2):E56-65. doi: 10.2341/149027-L. Epub 2014 Oct 2. PMID: 25275960.

Tanoue N, Matsumura H, Atsuta M. Wear and surface roughness of current prosthetic composites after toothbrush/dentifrice abrasion. *J Prosthet Dent*. 2000 Jul;84(1):93-7. doi: 10.1067/mpr.2000.107560. PMID: 10898845.

Tanthanuch S, Kukiattrakoon B, Siriporananon C, Ornprasert N, Mettasitthikorn W, et al. The effect of different beverages on surface hardness of nanohybrid resin composite and giomer. *J Conserv Dent*. 2014 May;17(3):261-5. doi: 10.4103/0972-0707.131791. PMID: 24944451; PMCID: PMC4056399.

Ten Cate JM, Duijsters PP. Alternating demineralization and remineralization of artificial enamel lesions. *Caries Res*. 1982;16(3):201-10. doi: 10.1159/000260599. PMID: 6953998.

Ten Cate JM. In vitro studies on the effects of fluoride on de- and remineralization. *J Dent Res*. 1990 Feb;69 Spec No:614-9; discussion 634-6. Review. doi:10.1177/00220345900690S120. PMID: 2179322.

Teixeira EC, Thompson JL, Piascik JR, Thompson JY. In vitro toothbrush-dentifrice abrasion of two restorative composites. *J Esthet Restor Dent*. 2005;17(3):172-80; discussion 181-2. doi: 10.1111/j.1708-8240.2005.tb00109.x. PMID: 15996389.

Tiskaya M, Al-Eesa NA, Wong FSL, Hill RG. Characterization of the bioactivity of two commercial composites. *Dent Mater*. 2019 Dec;35(12):1757-68. doi: 10.1016/j.dental.2019.10.004. Epub 2019 Nov 5. PMID: 31699444.

Topcu FT, Sahinkesen G, Yamanel K, Erdemir U, Oktay EA, et al. Influence of different drinks on the colour stability of dental resin composites. *Eur J Dent*. 2009 Jan;3(1):50-6. PMID: 19262731; PMCID: PMC2647959.

U.M. Abdel-karim, M. El-Eraky, W.M. Etman, Three-year clinical evaluation of two nano-hybrid giomer restorative composites . *Tanta Dent J*. 2014;11(3):213-22. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tdj.2014.10.004>.

Vahabi S, Fekrazad R, Ayremlou S, Taheri S, Zangeneh N. The effect of antimicrobial photodynamic therapy with radachlorin and toluidine blue on *Streptococcus mutans*: an in vitro study. *J Dent*. 2011 Oct 2;8(2):48-54. PMID: 21998808.

Van Dijken JWV, Pallesen U, Benetti A. A randomized controlled evaluation of posterior resin restorations of an altered resin modified glass-ionomer cement with claimed bioactivity. *Dent Mater*. 2019 Feb;35(2):335-43. doi: 10.1016/j.dental.2018.11.027. Epub 2018 Dec 7. PMID: 30527586.

Voltarelli FR, Santos-Daroz CB, Alves MC, Cavalcanti AN, Marchi GM. Effect of chemical degradation followed by toothbrushing on the surface roughness of restorative composites. *J Appl Oral Sci*. 2010 Dec;18(6):585-90. doi: 10.1590/s1678-77572010000600009. PMID: 21308289.

Walia R, Jasuja P, Verma KG, Juneja S, Mathur A, Ahuja L. A comparative evaluation of microleakage and compressive strength of ketac molar, giomer, zirconomer, and ceram-x: An in vitro study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*. 2016

Jul-Sep;34(3):280-4. doi: 10.4103/0970-4388.186746.
PMID: 27461814.

White DJ. Use of synthetic-pilymer gels for artificial carious lesion preparation.
Caries Res. 1987;21:228-42.

Yoshihara K, Nagaoka N, Maruo Y, Sano H, Yoshida Y, Van Meerbeek B.
Bacterial adhesion not inhibited by ion-releasing bioactive glass filler. Dent
Mater. 2017 Jun;33(6):723-34. doi: 10.1016/j.dental.2017.04.002. Epub 2017
Apr 29. PMID: 28465066.

APÊNDICE A – Parecer Consubstanciado do comitê de ética

UNESP - INSTITUTO DE
CIÊNCIA E TECNOLOGIA -
CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS
CAMPOS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Análise comparativa de materiais restauradores bioativos: adesão bacteriana, análise cromática e capacidade remineralizante.

Pesquisador: STEFHANY COSTA BARBIZAN

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 24525019.1.0000.0077

Instituição Proponente: Instituto de Ciência e Tecnologia (ICT)

Patrocinador Principal: FUND COORD DE APERFEICOAMENTO DE PESSOAL DE NIVEL SUP
Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.842.546

Apresentação do Projeto:

Título: Análise comparativa de materiais restauradores bioativos: adesão bacteriana, análise cromática e capacidade remineralizante.

Objetivo da Pesquisa:

Hipótese:

As hipóteses são que os materiais restauradores bioativos, se comportam de forma diferente aos materiais restauradores convencionais, com relação a adesão bacteriana, alterações cromáticas. Além da interação das restaurações de materiais bioativos com o esmalte e a dentina adjacentes, quando envelhecidas por meio de termociclagem, submetidas ao desafio cariogênico, e as possíveis alterações de elementos químicos do esmalte e dentina.

Objetivo Primário:

Ampliar o conhecimento científico a partir de um estudo in vitro, simulando situações que ocorrem em ambiente bucal, determinar se existem diferenças entre o comportamento de materiais bioativos e convencionais, quais os benefícios de usá-los e possivelmente atuar de forma significativa no combate à formação das lesões de cáries secundárias.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Endereço: Av. Engº Francisco José Longo 777

Bairro: Jardim São Dimas

CEP: 12.245-000

UF: SP

Município: SÃO JOSÉ DOS CAMPOS

Telefone: (12)3947-9078

Fax: (12)3947-9010

E-mail: ceph.ict@unesp.br

**UNESP - INSTITUTO DE
CIÊNCIA E TECNOLOGIA -
CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS
CAMPOS**



Continuação do Parecer: 3.842.546

Um possível risco associado a esta pesquisa, esta associado a doacao de dentes extraídos por determinacao terapeutica de um cirurgiao dentista, e o paciente nao concordar em doar o elemento extraído para fins científicos.

Benefícios:

Muitos sao os beneficios gerados por esta pesquisa, agregar conhecimento científico a respeito dos materiais bioativos, auxiliando pesquisadores e gerando novos questionamentos; Auxiliando dentistas na escolha do material restaurador de uso clinico devido a um possível melhor desempenho com relacao aos aspectos estudados e beneficiando diretamente a populacao, com a finalidade de diminuir a formacao de lesões de caries secundarias, visto que os materiais bioativos possuem a capacidade de interagir com os tecidos dentais adjacentes as restauracoes, como ja relatado em literatura. Dessa forma estaremos contribuindo para diminuicao da doenca carie.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa tem relevância científica.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos de apresentação obrigatória foram apresentados e estão de acordo com os princípios éticos.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Os pesquisadores responderam todas as pendências e o estudo será conduzido de acordo com princípios éticos.

Considerações Finais a critério do CEP:

O Colegiado acata o parecer do(a) Relator(a).

O (a) pesquisador(a) irá receber e-mail da Secretaria do CEPH-ICT-CAMPUS DE SJCAMPOS-UNESP, para envio de relatórios parciais/final, para não incorrer na penalidade de não o fazendo, em não ter novas submissões avaliada pelo Comitê de Ética, até que sane a pendência de envio do relatório, na forma de notificação através do sistema da Plataforma Brasil. Obs:- No site <https://www2.ict.unesp.br/> – Sobre o ICT – Comissões e Comitês - Comite de Ética Envolvendo Seres Humanos, encontrará o formulário para envio do Relatório parcial/final.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Endereço: Av.Engº Francisco José Longo 777			
Bairro: Jardim São Dimas	CEP: 12.245-000		
UF: SP	Município: SAO JOSE DOS CAMPOS		
Telefone: (12)3947-9078	Fax: (12)3947-9010	E-mail: ceph.ict@unesp.br	

**UNESP - INSTITUTO DE
CIÊNCIA E TECNOLOGIA -
CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS
CAMPOS**



Continuação do Parecer: 3.842.546

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1459805.pdf	10/01/2020 12:19:50		Aceito
Outros	For_rep_pendencia.pdf	10/01/2020 12:18:44	STEFHANY COSTA BARBIZAN	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto reformulado2.pdf	08/01/2020 16:04:43	STEFHANY COSTA BARBIZAN	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	termoreformulado.pdf	02/12/2019 20:56:56	STEFHANY COSTA BARBIZAN	Aceito
Cronograma	cronograma.pdf	25/10/2019 21:10:42	STEFHANY COSTA BARBIZAN	Aceito
Folha de Rosto	folharosto.pdf	25/10/2019 21:03:10	STEFHANY COSTA BARBIZAN	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita apreciação da CONEP:

Não

SAO JOSE DOS CAMPOS, 17 de Fevereiro de 2020

**Assinado por:
Denise Nicodemo
(Coordenador(a))**

Endereço: Av. Engº Francisco José Longo 777
Bairro: Jardim São Dimas **CEP:** 12.245-000
UF: SP **Município:** SAO JOSE DOS CAMPOS
Telefone: (12)3947-9078 **Fax:** (12)3947-9010 **E-mail:** ceph.ict@unesp.br