



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

GABRIELA ALVES DE CERQUEIRA

**SELEÇÃO DE PROTOCOLO DE LESÃO CARIOSA ARTIFICIAL E AVALIAÇÃO
DE PROPRIEDADES FÍSICO-MECÂNICAS DE INFILTRANTES RESINOSOS
ANTES E APÓS CICLAGEM DE PH**

PIRACICABA

2022

GABRIELA ALVES DE CERQUEIRA

**SELEÇÃO DE PROTOCOLO DE LESÃO CARIOSA ARTIFICIAL E AVALIAÇÃO
DE PROPRIEDADES FÍSICO-MECÂNICAS DE INFILTRANTES RESINOSOS
ANTES E APÓS CICLAGEM DE PH**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestra em Clínica Odontológica, na Área de concentração em Dentística.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Giselle Maria Marchi

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À
VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO
DEFENDIDA PELA ALUNA Gabriela
Alves de Cerqueira E ORIENTADA PELA
Prof^a Dr^a Giselle Maria Marchi.

PIRACICABA

2022

Ficha catalográfica Universidade
Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Odontologia de
Piracicaba Marilene Girello - CRB 8/6159

C335s Cerqueira, Gabriela Alves de, 1993-
Seleção de protocolo de lesão cariosa artificial e avaliação de propriedades físico-mecânicas de infiltrantes resinosos antes e após ciclagem de pH / Gabriela Alves de Cerqueira. – Piracicaba, SP : [s.n.], 2022.

Orientador: Giselle Maria Marchi.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Cárie dentária. 2. Esmalte dentário. 3. Resinas compostas. 4. Dureza. 5. Propriedades físicas. I. Marchi, Giselle Maria, 1970-. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Selection of artificial carious lesion protocol and evaluation of physical-mechanical properties of resinous infiltrants before and after pH cycling **Palavras-chave em inglês:**

Dental caries

Dental enamel

Composite resins

Hardness

Physical properties

Área de concentração: Dentística **Titulação:**

Mestra em Clínica Odontológica **Banca**

examinadora:

Giselle Maria Marchi [Orientador]

Lívia Aguilera Gaglianone

Fernanda Miori Pascon

Data de defesa: 18-02-2022

Programa de Pós-Graduação: Clínica Odontológica

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0002-4581-6797>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/5493479310712612>



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Odontologia de Piracicaba

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de Mestrado, em sessão pública realizada em 18 de fevereiro de 2022, considerou a candidata GABRIELA ALVES DE CERQUEIRA aprovada.

PROF^a. DR^a. GISELLE MARIA MARCHI

PROF^a. DR^a. FERNANDA MIORI PASCON

PROF^a. DR^a. LÍVIA AGUILERA GAGLIANONE

A Ata da defesa, assinada pelos membros da Comissão Examinadora, consta no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da Unidade.

DEDICATÓRIA

Este trabalho é dedicado aos meus pais, **Neide e Eduardo** (*in memoriam*), por terem me ofertado a vida, além de me proverem a educação e o exemplo de força e obstinação que fez toda diferença em minha trajetória. Dedico também à minha irmã, **Graziele**, que sempre esteve ao meu lado no processo de crescimento e amadurecimento, oferecendo apoio e conselhos constantes. Esse trabalho é para vocês, e essa conquista é nossa!

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Primeiramente a **Deus**, criador de todo o universo, o qual está comigo todos os dias da minha vida, nos momentos bons e ruins, me protegendo, fortalecendo e guiando. Obrigada Deus por tanto!!

À toda minha **família**, em especial à minha **mãe** e minha **irmã**, por toda compreensão, apoio e torcida de sempre. Vocês são essenciais!

À minha orientadora, Prof^a. Dr^a. **Giselle Maria Marchi**, por me ofertar a oportunidade no curso de pós-graduação, me escolhendo como orientanda. Obrigada pelo acolhimento, disponibilidade, pela compreensão, pelo cuidado e carinho, amizade e orientação. Tudo isso faz muita diferença na caminhada!

Às minhas colegas de orientação, que se tornaram amigas, ao longo de todo o processo, **Ana, Janaína e Priscila**. Obrigada pela companhia, pelo apoio de sempre, pelos conselhos, por toda ajuda com a pesquisa, pela troca de conhecimento, pelas risadas e momentos de descontração. Meninas, tudo foi muito mais fácil e leve com vocês do meu lado!!

Aos meus colegas **Aurélio e Daniele** por terem me recebido em Piracicaba, desde o dia do processo seletivo, me encorajando, apoiando e me ajudando nos momentos mais difíceis durante o processo de adaptação. Obrigada, de coração, meninos!

Ao **Josué e Renatinho**, amigos que aos pouquinhos foram se aproximando e me ganhando, e que hoje sou grata pela parceria, pelos conselhos, pelo acolhimento e amizade. Obrigada por tudo, meninos!

Aos meus **amigos da vida**, todos que moram em meu coração e que eu amo por demais! Vocês são fundamentais na minha rotina. Minha vida, com certeza, é muito mais iluminada e cheia de alegria por vocês existirem!!

À minha **banca avaliadora** de defesa pela disponibilidade, além do carinho, cuidado e conselhos oferecidos não só nesse momento, mas durante toda a trajetória.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), com a concessão da bolsa estudantil, processo nº 2019/13621-0 e Auxílio à Pesquisa, processo nº 2019/25093-8.

À Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), na pessoa do Magnífico Reitor, Prof. Dr. Antônio José de Almeida Meirelles e da coordenadora geral da Universidade Profa. Dra. Maria Luiza Moretti.

À direção da Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, na pessoa do Diretor Prof. Dr. Francisco Haiter Neto e do Diretor Associado Prof. Dr. Flávio Henrique Baggio Aguiar.

À Profa. Dra. Karina Gonzales Silvério Ruiz, coordenadora geral dos cursos de Pós-Graduação e ao Prof. Dr. Valentin Adelino Ricardo Barão, coordenador do curso de Pós-Graduação em Clínica Odontológica.

Aos Professores da Área de Dentística, Profa. Dra. Giselle Maria Marchi, Profa. Dra. Débora Alves Nunes Leite Lima, Prof. Dr. Flávio H. Baggio Aguiar, Prof. Dr. Luís Roberto M. Martins, Profa. Dra. Vanessa Cavalli Gobbo e Prof. Dr. Marcelo Giannini, por todo conhecimento compartilhado ao longo da trajetória.

A todos os funcionários, em especial ao Marcelo, do laboratório de Odontopediatria, ao Marcão, do laboratório de Materiais Dentários, e ao Adriano, do Centro de Microscopia, pela disponibilidade e gentileza de sempre. À secretária do Departamento de Odontologia Restauradora, Andrea, pela disponibilidade e orientação nos trâmites.

À Larissa Grizzo, do laboratório de Bioquímica da Faculdade de Odontologia de Bauru, pela disponibilidade e ajuda para a realização do teste de microradiografia transversal.

Ao Felipe e à Janine, do LaCTAD da Universidade Estadual de Campinas, pela disponibilidade, gentileza e ajuda para a realização do teste de microscopia confocal.

Aos meus colegas de Mestrado e Doutorado da FOP, em especial da Dentística, pela convivência, conversas, conselhos e risadas.

Resumo

Este estudo teve como objetivo selecionar um protocolo de indução de lesão cáriosa artificial para padronização metodológica de demais estudos com infiltrante resinoso do grupo de pesquisa; avaliar a profundidade de penetração de um infiltrante resinoso experimental (composto por 75% dimetacrilato de trietilenoglicol - TEGDMA, 25% bisfenol A diglicidil metacrilato etoxilado - Bis-EMA, 1% 4- dimetilaminobenzoato de etila – EDAB e 0,5% canforquinona) quando comparado ao infiltrante comercial Icon® e, analisar a rugosidade e microdureza de superfície dos materiais resinosos infiltrados em fragmentos dentais antes e após ciclagem de pH. Para a seleção do protocolo de indução de cárie, foram utilizados fragmentos de terceiros molares hígidos, divididos em três grupos (n=11): (I) 4 ciclos, (II) 7 ciclos e (III) 10 ciclos, com soluções desmineralizantes, pH 4,4 e remineralizantes, pH 7,0. Após, as lesões de mancha branca de cárie artificiais foram analisadas visualmente e classificadas de acordo com o código ICDAS. A análise da microdureza de superfície (n=11) foi realizada antes e após os protocolos de indução cáriosa nos três grupos. E, imagens qualitativas das lesões de mancha branca foram registradas através da Microradiografia Transversal (n=5). Após a seleção do protocolo de indução de cárie, para a avaliação dos infiltrantes resinosos, novos fragmentos de terceiros molares hígidos foram usados. Para a análise qualitativa da profundidade de penetração, os fragmentos foram submetidos a 10 ciclos de des-remineralização para formação das lesões cárias e divididos em 2 grupos (n=5): (I) Infiltrante Experimental (IE) e (II) Infiltrante Comercial Icon (IC). Após a infiltração dos fragmentos com os infiltrantes resinosos, seguindo a recomendação do fabricante do infiltrante comercial, imagens representativas foram realizadas em Microscopia Confocal de Fluorescência. Para a avaliação da rugosidade e microdureza de superfície, novos fragmentos foram distribuídos em dois grupos (n=20): (I) Infiltrante Experimental (IE) e (II) Infiltrante Comercial Icon (IC), e submetidos a três leituras em tempos diferentes: (T1) lesão de mancha branca de cárie, (T2) material resinoso infiltrado e (T3) material resinoso infiltrado exposto a ciclagem de pH. As análises foram realizadas no programa R*, com nível de significância de 5%, exceto para análises qualitativas. Lesões código ICDAS 2 (mancha branca perceptível com a superfície dentária úmida) e ICDAS 3 (pode-se notar cavitações sem exposição de dentina) foram formadas a partir dos protocolos de indução de cárie de 4 ciclos e, 7 e 10 ciclos,

respectivamente. A microdureza do esmalte dental foi reduzida de forma significativa após 10 ciclos de des-remineralização. A microscopia confocal exibiu penetração do infiltrante experimental na lesão de mancha branca de cárie, assim como o infiltrante Icon. O grupo do infiltrante experimental alcançou valores de rugosidade de superfície semelhante ao Icon após sua infiltração e, se manteve reduzido após ciclagem de pH. A microdureza de superfície do grupo do infiltrante experimental foi significativamente menor nos três tempos analisados quando comparado ao Icon. Como conclusão deste estudo, um protocolo de indução de cárie com 10 ciclos foi selecionado. O infiltrante resinoso experimental foi eficiente na penetração da lesão de mancha branca e na redução da rugosidade de superfície, porém, não foi capaz de aumentar a microdureza superficial.

Palavras-chaves: Cárie dentária, Esmalte dentário, Resinas compostas, Dureza, Propriedades físicas.

Abstract

This study aimed to select a protocol of induction of artificial carious lesion for methodological standardization of other studies using resinous infiltrants of the research group; to evaluate the penetration depth of an experimental resinous infiltrant (composed of 75% triethylene glycol dimethacrylate - TEG, 25% bisphenol A ethoxylated diglycidyl methacrylate - Bis-EMA, 1% ethyl 4-dimethylaminobenzoate - EDAB and 0.5% camphorquinone) compared to the commercial infiltrant Icon® and, to analyze the surface roughness and microhardness of the resinous materials infiltrated in dental fragments before and after the pH cycling. For the selection of caries induction protocol, fragments of sound third molars were used, divided into three groups (n=11): (I) 4 cycles, (II) 7 cycles and (III) 10 cycles, with demineralizing solutions, pH 4.4 and remineralizers, pH 7.0. Afterwards, with the exception of white caries spot, they were visually and according to the form according to the ICDAS code. Surface microhardness analysis (n=11) was performed before and after caries induction protocols in the three groups. And, qualitative images of white spot bonds were recorded using Transverse Microradiography (n=5). After the selection of the caries induction protocol, for the evaluation of resin infiltrants, new fragments of sound third molars were used. For a qualitative analysis of the penetration depth, the fragments were selected after 10 cycles of formation of the remineralizing units and divided into 2 groups (n=5): (I) Experimental Infiltrator (IE) and (II) Icon Commercial Infiltrator (IC). Confocal infiltration microscopy of infiltrated resins, following an infiltration of the manufacturer resin infiltration fragments, were applied to commercial infiltration confocal microscopy images. For the evaluation of surface roughness and microhardness, new fragments were distributed in two groups (n=20): (I) Experimental Infiltrator (IE) and (II) Commercial Icon Infiltrator (IC), and benefits to three different: (T1) stain lesion white caries, (T2) infiltrated resin material and (T3) infiltrated resin material exposed to pH cycling. The proposals were carried out in the R* program, with a significance level of 5%, except for qualitative variables. Lesions code ICDAS 2 (white stain noticeable with cleaning tooth surface) and ICDAS 3 noting cavitations without dentin exposure (protocol level only) were modeled from the protocol of the caries protocols of 4 cycles, 7 and 10 cycles, respectively. Dental enamel microhardness was significantly reduced after 10 cycles of de-remineralization. Confocal microscopy showed penetration of the experimental infiltrant into the white carious spot lesion, as well as Icon infiltrant. The experimental infiltrant group reached values of surface roughness similar to Icon after its infiltration and remained reduced after pH cycling. The surface microhardness of

the experimental infiltrant group was significantly lower in the three analyzed times when compared to Icon. As a conclusion of this study, a 10-cycle caries induction protocol was selected. The experimental resin infiltrant was efficient in penetrating the white spot lesion and in reducing surface roughness, however, it was not able to increase surface microhardness.

Key Words: Dental caries, Dental enamel, Composite resins, Hardness, Physical properties.

Sumário

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
3 PROPOSIÇÃO	32
4 MATERIAL E MÉTODOS	33
4.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	33
4.1.1 UNIDADES EXPERIMENTAIS.....	33
4.1.2 FATORES DE ESTUDO.....	33
4.1.3 VARIÁVEIS DE RESPOSTA.....	33
4.2 PREPARO DAS AMOSTRAS E INDUÇÃO DE MANCHA BRANCA DE CÁRIE ARTIFICIAL	34
4.3 MICRODUREZA DE SUPERFÍCIE DAS MANCHAS BRANCAS DE CÁRIE	36
4.4 CÓDIGO ICDAS.....	37
4.5 MICRORADIOGRAFIA (TMR).....	37
4.6 MANIPULAÇÃO DO INFILTRANTE EXPERIMENTAL	38
4.7 PROFUNDIDADE DE PENETRAÇÃO DOS INFILTRANTES	39
4.7.1 PREPARO DAS ASMOSTRAS E INDUÇÃO DA LESÃO DE MANCHA BRANCA DE CÁRIE ARTIFICIAL	39
4.7.2 AVALIAÇÃO DA PROFUNDIDADE DE PENETRAÇÃO	40
4.8 RUGOSIDADE E MICRODUREZA SUPERFICIAL DO MATERIAL INFILTRADO.....	42
4.9 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV).....	44
4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA	44
5 RESULTADOS	45
5.1 MICRODUREZA DE SUPERFÍCIE DAS MANCHAS BRANCAS DE CÁRIE	45
5.2 CÓDIGO ICDAS.....	45
5.3 MICRORADIOGRAFIA (TMR).....	46
5.4 PROFUNDIDADE DE PENETRAÇÃO DOS INFILTRANTES.....	47
5.5 RUGOSIDADE E MICRODUREZA SUPERFICIAL DO MATERIAL INFILTRADO	48
5.6 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV).....	50
6 DISCUSSÃO	51
7 CONCLUSÃO.....	60
REFERÊNCIAS	61
ANEXO 1 - VERIFICAÇÃO DE ORIGINALIDADE E PREVENÇÃO DE PLÁGIO.....	76

1 INTRODUÇÃO

A cárie dentária ainda é considerada, nos dias atuais, uma doença crônica multifatorial que acomete grande maioria das crianças, além de boa parte dos adultos (Ferreira et al., 2019; Urquhart et al., 2019). E o controle ou eliminação dessa doença está diretamente relacionado ao controle dietético, remoção do biofilme e utilização do fluoreto (Featherstone, 2004). O uso diário do fluoreto presente nos cremes dentais tem sido visto como principal manobra para o declínio da cárie nas últimas décadas (Pitts et al., 2017). Além disso, outros métodos como vernizes, bochechos e géis fluoretados são bastantes utilizados na prevenção e remineralização de lesões cariosas (Lasfargues et al., 2013). Para todas as manobras, o objetivo é interromper a progressão da lesão cariosa (Lasfargues et al., 2013). No entanto, os tratamentos não invasivos, normalmente, requerem múltiplas sessões e acompanhamento mais rigoroso a longo prazo, envolvendo grande cooperação do paciente, o que, por vezes, é difícil de obter (Lasfargues et al., 2013).

Com base nisso, objetivando-se ter uma intervenção terapêutica para lesões de cárie incipientes, realizada de forma mais rápida e eficaz, promovendo a manutenção da integridade da estrutura dentária, foi implementada a técnica infiltrativa com um agente resinoso fotopolimerizável conhecido como infiltrante resinoso (Lasfargues et al., 2013). Essa técnica tem como indicação ser aplicada em lesões de cárie incipientes, até terço externo da dentina (não cavitadas), presentes em superfícies lisas de dentes decíduos e permanentes (Lasfargues et al., 2013). Além disso, o esse infiltrante também pode ser aplicado em manchas brancas fluoróticas, hipomineralizadas ou hipoplásicas, para o mascaramento e melhora estética (Lasfargues et al., 2013). O material utilizado para essa abordagem foi desenvolvido por pesquisadores em Berlim, na Alemanha, e comercializado com nome de Icon (DMG America Company, Englewood, NJ) (Ferreira et al., 2019; Lasfargues et al., 2013).

O infiltrante é conhecido como uma resina de baixa viscosidade e alto coeficiente de penetração (> 200 cm/s), tendo o monômero TEGDMA como base da sua matriz resinosa, além dos iniciadores e aditivos (segundo fabricante) (Lasfargues et al., 2013). Seu mecanismo de ação se dá por perfusão do esmalte poroso, através de forças capilares de forma que os poros do corpo da lesão cariosa sejam

preenchidos, interrompendo assim a desmineralização e garantindo a estabilização dessa lesão (Lasfargues et al., 2013). Contudo, apesar desse material apresentar alta fluidez, característica que garante maior profundidade de penetração no corpo da lesão, esse tipo de monômero tem também alta hidrofília, o que acaba gerando baixas propriedades mecânicas, podendo apresentar alta degradação hidrolítica em meio oral e, maior contração de polimerização devido ao seu baixo peso molecular (Sideridou et al., 2002). Diante disso, novos estudos têm sido desenvolvidos sugerindo alterações na estrutura química de infiltrantes resinosos experimentais, a fim de se alcançar melhores propriedades do material, de forma que não haja comprometimento da fluidez do compósito (Lasfargues et al., 2013; Paris e Meyer-Lueckel, 2010a; Sideridou et al., 2003).

Monômeros como o BisGMA ou BisEMA têm sido adicionados junto ao TEGDMA na composição de infiltrantes resinosos experimentais, tendo como objetivo diminuir sua hidrofília, tornando-o mais hidrofóbico, e melhorar suas propriedades mecânicas (Ferreira et al., 2019; Gaglianone et al., 2020; Mathias et al., 2019; Sfalcin et al., 2017a; Sideridou et al., 2002). O BisEMA apresenta estrutura molecular muito semelhante ao BisGMA, tendo como diferença apenas a ausência de grupos hidroxila, o que lhe confere menor peso molecular quando comparado ao BisGMA; podendo ser essa a razão da sua escolha quando da associação ao TEGDMA (Sideridou et al., 2002). Porém, ambos apresentam um peso molecular maior que o TEGDMA, promovendo uma redução da contração de polimerização do material, apesar do aumento da viscosidade (Sfalcin et al., 2017; Sideridou et al., 2002).

Todavia, para que se possa avaliar a profundidade de penetração e propriedades dos agentes resinosos desenvolvidos em estudos laboratoriais é necessário que se crie uma lesão cáriosa artificial na estrutura dental. A literatura revela alguns estudos com diferentes soluções, pH's e tempos (Aziznezhad et al., 2017; Neres et al., 2017; Sideridou et al., 2002). As soluções desmineralizantes têm como base, em grande maioria, o ácido acético ou, o ácido láctico, enquanto que para evitar a cavitação das lesões, geralmente, são realizados ciclos remineralizadores contendo o nitrato de cálcio e fosfato de sódio, por exemplo (Neres et al., 2017). O pH das soluções desmineralizadoras e temperatura variam muito pouco, tendo o fator tempo como maior variante nos protocolos descritos na literatura (Ahovuo-Saloranta

et al., 2017; Aziznezhad et al., 2017; Neres et al., 2017; Paris and Meyer-Lueckel, 2010a).

Tais diferenças de fatores geram lesões cáries com diferentes graus de desmineralização, o que dificulta a comparação dos resultados quando se é avaliada a profundidade de penetração do material resinoso. Ainda em relação aos diferentes graus de desmineralização do esmalte dental, foi introduzido na Odontologia um método para classificação e gerenciamento de cáries, conhecido por Sistema Internacional de detecção e avaliação da cárie (ICDAS), tendo como objetivo orientar os dentistas na detecção das lesões de cárie de forma mais sensível e mais precisa quando comparado a outros métodos ou ferramentas (Qudeimat et al., 2019). Isso recai sobre as decisões de tratamento, o que é de extrema importância, visto que, um subtratamento da lesão de cárie representa um potencial problema de saúde pública; enquanto que o sobretratamento tende a aumentar os custos e pode desenvolver efeitos adversos à saúde (Qudeimat et al., 2019).

Ainda, o ambiente bucal é considerado um ambiente bastante dinâmico, já que há alternância do fluxo salivar, além da grande diversidade microbológica e, variações do pH (Neres et al., 2017). Mesmo que as lesões de mancha branca de cárie sejam infiltradas com materiais resinosos, paralisando-as, essas variações acabam oferecendo, tanto aos dentes quanto aos materiais restauradores, constantes desafios físico-químicos que podem ocasionar alterações estruturais em ambos, podendo promover modificações no que diz respeito à microdureza e rugosidade de superfície do dente e do material restaurador, comprometendo sua ação protetora, assim como o favorecimento do acúmulo de biofilme e, conseqüentemente, lesões cáries recorrentes (Neres et al., 2017). Assim, modelos de ciclagem de pH são utilizados para mimetizar tais alterações de pH do ambiente oral, a fim de avaliar a resistência do infiltrante resinoso frente ao desafio ácido (Neres et al., 2017).

A eficácia do infiltrante resinoso está diretamente relacionada à sua capacidade de penetração no corpo da lesão cáries. E, apesar de saber que o material resinoso consegue penetrar nos poros do esmalte desmineralizado e promover proteção da área afetada, ainda há poucos estudos sobre a profundidade de infiltração alcançada pelo infiltrante resinoso e seu comportamento frente às variações do pH; além disso, diversos são os protocolos de indução de lesão cáries

artificial descritos na literatura, dificultando a padronização metodológica e, até mesmo, a comparação entre as manchas brancas de cárie tratadas com a técnica infiltrativa (Gaglianone et al., 2020; Neres et al., 2017; Paris et al., 2011; Skucha-Nowak et al., 2016).

Portanto, este trabalho teve como objetivos selecionar um protocolo de indução de lesão cáriosa artificial para padronização metodológica de demais estudos com infiltrante resinoso do grupo de pesquisa; avaliar a profundidade de penetração de um infiltrante resinoso experimental quando comparado ao infiltrante comercial Icon® e, analisar a rugosidade e microdureza de superfície dos materiais resinosos infiltrados em fragmentos dentais, antes e após ciclagem de pH. As hipóteses nulas testadas correspondentes à primeira parte do estudo (seleção dos diferentes protocolos de indução de lesão cáriosa artificial) são: (I) Não há diferença entre os protocolos de 4, 7 e 10 ciclos estudados, (II) Não há diferença entre os tempos (pré e pós des-remineralização) e (III) Não há interação entre os protocolos e o tempo. E, quanto à análise da rugosidade e microdureza dos infiltrantes, correspondente à segunda parte deste estudo: (IV) Não há diferença entre os materiais resinosos experimental e comercial, (V) Não há diferença entre os tempos: (T1) lesão de mancha branca de cárie, (T2) material resinoso infiltrado e (T3) material resinoso infiltrado exposto a ciclagem de pH e, (VI) Não há interação entre o material e o tempo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A doença cárie envolve interações entre o dente, açúcares disponibilizados pela dieta e, biofilme formado sobre a superfície dentária; podendo ter influência também de fatores genéticos e, risco aumentado associado à hipofunção das glândulas salivares e má higiene bucal (Aziznezhad et al., 2017; Ceci et al., 2017; Pitts et al., 2017). Dentro da cavidade oral há, naturalmente, uma dinamização de períodos de desmineralização e remineralização, entretanto, quando os episódios de desmineralização se tornam maiores que os de remineralização, devido ao aumento do consumo de carboidratos e higienização bucal deficiente, lesões de cárie começam a surgir (Pitts et al., 2017). Esses carboidratos quando fermentados pelas bactérias, geram ácidos orgânicos (Skucha-Nowak et al., 2016). O ácido láctico é um dos principais componentes que causam a dissolução dos tecidos duros do dente

(Skucha-Nowak et al., 2016). Tais ácidos causam redução do pH no ambiente oral, fazendo com que íons de cálcio e fosfato sejam removidos da estrutura dentária, proporcionando assim a desmineralização dos dentes (Skucha-Nowak et al., 2016). A perda ou ganho de minerais do esmalte dental irá determinar se a cárie dentária irá avançar, estabilizar ou regredir (Sfalcin et al., 2017).

Quando a perda dos minerais da superfície do dente se torna progressiva, contribui para o aumento da porosidade e aumento dos espaços intercristais do esmalte, o que irá permitir uma difusão mais aprofundada dos ácidos na estrutura dentária, ocasionando a desmineralização subsuperficialmente (Pitts et al., 2017), fazendo com que a camada superficial do esmalte se mantenha pseudo-intacta, enquanto que abaixo dela vai se estabelecendo um tecido bastante poroso (Aziznezhad et al., 2017; Ceci et al., 2017; Kielbassa et al., 2010; Skucha-Nowak et al., 2016). Isso caracteriza o que chamamos de cárie dentária incipiente ou mancha branca de cárie (Aziznezhad et al., 2017). O primeiro sinal da doença cárie apresenta um aspecto esbranquiçado (podendo ter alteração de cor para o marrom) (Skucha-Nowak et al., 2016), opaco e poroso (Ferreira et al., 2019), além de exibir caráter reversível (Aziznezhad et al., 2017; Pitts et al., 2017); tais lesões são detectadas pela inspeção visual-tátil e, complementada por avaliação radiográfica, principalmente quando faces proximais são acometidas (Paris et al., 2012; Pitts et al., 2017). Outras manchas brancas, apresentando características semelhantes como a cor e porosidade, podem ser visualizadas no esmalte dental, sendo essas conhecidas por manchas de hipomineralização e fluorose, caracterizadas como manchas brancas pré-eruptivas decorrentes de defeitos do desenvolvimento do esmalte (Denis et al., 2013; Kansal et al., 2020). Diante disso, torna-se importante a realização do diagnóstico diferencial para decisão de tratamento adequado.

As lesões de cárie incipientes, normalmente, recebem terapia de remineralização, envolvendo mudanças comportamentais e utilização de produtos contendo fluoreto, visando a paralisação da progressão e/ou reversão do estado desmineralizante (Pitts et al., 2017). O fluoreto pode aumentar a taxa de remineralização das lesões de mancha branca de cárie, podendo ser ofertado de forma tópica em cremes dentais, além de géis, vernizes ou enxaguatórios, sob orientação de um dentista (Pitts et al., 2017). A água potável e a saliva também auxiliam na distribuição e manutenção de íons, como flúor e cálcio, considerados

importantes no processo de remineralização (Pitts et al., 2017). Nos últimos anos, além dos selantes, diversas variações do fluoreto, assim como materiais bioativos e remineralizantes como a caseína-fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP) foram desenvolvidos para o tratamento de lesões cáries incipientes (Subramaniam et al., 2014; Ceci et al., 2017; Ferreira et al., 2019; Pitts et al., 2017). Tais estratégias não invasivas, principalmente baseadas no controle de placa e fluoretos, têm sido recomendadas para processo de cárie, quando não há cavitações (Paris et al., 2012). Entretanto, espera-se bons resultados em pacientes com menor risco de progressão da cárie, particularmente para lesões restritas ao esmalte (Paris et al., 2012).

Tais tratamentos, normalmente, requerem numerosas sessões clínicas e um acompanhamento criterioso a longo prazo e, além disso, exige do paciente forte cooperação, o que, usualmente, é difícil de se obter (Ferreira et al., 2019; Lasfargues et al., 2013). Em casos onde as lesões de cárie se apresentam mais profundas ou tais terapias não são bem-sucedidas, havendo a progressão das lesões rumo à dentina, tratamentos invasivos são realizados, como o tratamento restaurador (Paris et al., 2012). Isso contribui para a remoção de grande parte de tecido sadio do dente, durante o acesso à lesão e preparo da restauração (Paris et al., 2012). Sem contar que, restaurações podem apresentar necessidade de troca e, o paciente acaba sendo introduzido num círculo restaurador, por muitas vezes, precocemente (Ferreira et al., 2019; Paris et al., 2012).

Diante disso, foi lançada uma nova abordagem, reconhecida como uma técnica infiltrativa de um material resinoso para tratamento de lesões de cárie iniciais, com caráter preventivo na progressão das manchas brancas (Ceci et al., 2017). Diante da ideologia de uma odontologia minimamente invasiva, essa técnica de infiltração tem se tornado cada vez mais comum e utilizada nos últimos anos (Ceci et al., 2017; Sfalcin et al., 2017). O objetivo final é a preservação da estrutura dentária (Sfalcin et al., 2017). A técnica infiltrativa consiste na utilização de material resinoso de baixa viscosidade, fotopolimerizável, que penetra os microporos subsuperficiais das manchas brancas (Subramaniam et al., 2014), bloqueando a via de difusão bacteriana, impedindo a liberação de seus produtos e, conseqüente, paralisação da progressão da lesão (Ceci et al., 2017; Sfalcin et al., 2017). Suas vantagens podem ser representadas por: oclusão da porosidade subsuperficial, suporte mecânico do esmalte desmineralizado, estabilização da lesão cáries, preservação do esmalte

sadio, aumento da resistência à desmineralização e minimização do risco de desenvolvimento de cárie recorrente (Ceci et al., 2017). Além de tudo, a literatura aponta que a infiltração resinosa promove aumento da microdureza das lesões de cárie incipientes, e mascaramento da mancha branca, devido ao preenchimento dos poros e alteração do índice de refração do esmalte, que foi anteriormente modificado logo após a desmineralização (Subramaniam et al., 2014; Ceci et al., 2017).

A terapia infiltrativa surgiu como um método alternativo microinvasivo de controle de cárie entre medidas não invasivas e invasivas, nesse último caso se tratando da intervenção restauradora (Subramaniam et al., 2014; Ferreira et al., 2019; Paris et al., 2012). O uso de selantes resinosos ou ionoméricos são bastante utilizados na Odontologia, os quais promovem uma barreira mecânica sobre a via de difusão bacteriana, sendo estes, normalmente, destinados a lesões cariosas incipientes nas fóssulas e fissuras das faces oclusais de pacientes jovens (Lasfargues et al., 2013; Sfalcin et al., 2017). No entanto, os selantes tem baixo poder de penetração, e assim como o fluoreto, age mais superficialmente na estrutura dentária, não promovendo a oclusão do tecido poroso subsuperficialmente e conseqüente suporte mecânico ao esmalte dental (Taher et al., 2012); além disso, as margens desses selantes devem permanecer intactas para garantir um bom vedamento da superfície, evitando a formação e/ou recidivas de cárie (Mueller et al., 2006; Taher et al., 2012). Dessa forma, a técnica infiltrativa se mostrou como um procedimento eficaz em interromper as lesões de cárie iniciais, sendo realizada em uma única sessão, tendo em vista, diferentemente dos selantes, lesões cariosas em superfícies lisas, ou seja, faces proximais, vestibulares e linguais (Lasfargues et al., 2013).

O conceito de infiltração resinosa para tratamento de cárie foi mencionado pela primeira vez na década de 1970 (Paris et al., 2012); e em 1975 surgiu o primeiro relato sobre penetração de adesivos em lesões de mancha branca de cárie artificiais e naturais por Dávila e colaboradores (Davila et al., 1975). A partir da década de 70, adesivos e selantes começaram ser estudados como materiais infiltrativos (Kielbassa et al., 2010; Meyer-Lueckel e Hendrik Paris, 2008; Meyer-Lueckel et al., 2006). Entretanto, além das próprias composições monoméricas desses materiais, utilizava-se como um agente condicionador o ácido fosfórico, o que gerava como resultado uma boa vedação superficial, contudo uma baixa penetração (Meyer-Lueckel et al., 2006; Paris et al., 2007). Diante desses resultados, passou-se a avaliar o coeficiente

de penetração dos materiais estudados; todavia, as misturas monoméricas iniciais apresentavam um baixo coeficiente de penetração, e mesmo, posteriormente, utilizando-se o ácido clorídrico a 15% (considerado um ácido mais potente) como agente condicionador, o resultado alcançado ainda era uma baixa penetração desses materiais (Meyer-Lueckel e Hendrik Paris, 2008). Posteriormente, foi observado que um material caracterizado como infiltrante resinoso apresentando um coeficiente de penetração maior que 200cm/s atingia uma boa profundidade de penetração em lesões naturais, principalmente quando comparado aos adesivos que antes eram estudados para este fim (Meyer-Lueckel e Hendrik Paris, 2008). Assim, os autores entenderam que tanto um bom condicionamento ácido prévio (capaz de tornar a superfície do esmalte mais porosa e mais propícia à infiltração) quanto as propriedades físicas do material como o coeficiente de penetração, influenciam na profundidade de penetração do mesmo (Meyer-Lueckel, Hendrik Paris, 2008). Dessa forma, foi desenvolvido por pesquisadores na capital de Berlim, na Alemanha, o infiltrante resinoso Icon® (DMG America Company, Englewood, NJ) (Paris et al., 2010; Paris e Meyer-Lueckel, 2010b); sendo considerado um produto clinicamente viável, eficaz, com baixa ou nenhuma progressão da lesão de cárie incipiente (Paris et al., 2010).

O Icon® consta, até então, como o único infiltrante resinoso disponível comercialmente (Ferreira et al., 2019). Trata-se de uma resina de baixa viscosidade fotopolimerizável, à base de dimetacrilato de trietileno glicol (TEGDMA), tendo como objetivo infiltrar e perfundir o esmalte desmineralizado através de forças capilares, preenchendo todos os poros subsuperficiais, criando uma barreira de difusão dentro da lesão e não apenas na superfície (Subramaniam et al., 2014). Este material está indicado para lesões de mancha branca em que a profundidade da mesma não excede o terço externo da dentina, sendo ele, principalmente, direcionado para lesões proximais incipientes; dessa forma, a região interproximal não é perturbada, desde que o excesso de resina seja cuidadosamente removido de acordo com o procedimento de aplicação, orientado pelo fabricante (Lasfargues et al., 2013). Lesões cariosas incipientes em superfícies lisas não proximais, como manchas brancas em torno de brackets ortodônticos também estão indicadas para o uso do material infiltrante, desde que não haja cavitação (Lasfargues et al., 2013). Além disso, já foram desenvolvidos estudos sobre o uso do infiltrante em região de fóssulas e fissuras,

apresentando bons resultados, tendo sido respeitado o limite de profundidade das lesões cáries avaliadas (Anauate-Netto et al., 2017; Paris et al., 2014). E, manchas brancas fluoróticas e hipomineralizadas também têm sido tratadas com o infiltrante resinoso, visto que o mesmo tem oferecido resultados positivos no mascaramento de cor, após sua infiltração (Lasfargues et al., 2013; de Oliveira Correia et al., 2020; Torres e Borges, 2015).

Os estudos sobre o infiltrante resinoso têm demonstrado resultados promissores quanto ao efeito protetor do material, inibindo a progressão da lesão de cárie e, conseqüentemente, adiando tratamentos mais invasivos sobre a estrutura dentária (Arslan e Kaplan, 2020; Borges et al., 2017; Paris et al., 2020, 2010; Peters et al., 2019; Puleio et al., 2021). Seu protocolo consiste na aplicação prévia do ácido clorídrico a 15% por 2 minutos, seguida de lavagem e secagem, tendo como passo intermediário a aplicação do Icon dry® (etanol 99%), o qual age desidratando a região afetada que será preenchida em seguida pelo infiltrante resinoso por 3 minutos (Lasfargues et al., 2013; Paris e Meyer-Lueckel, 2010b). O uso do ácido clorídrico a 15% aplicado sobre a superfície do esmalte foi caracterizado como passo primordial e eficaz para uma infiltração mais profunda do material infiltrante no corpo da lesão (Puleio et al., 2021; Shima et al., 2016; Subramaniam et al., 2014). Em estudos pioneiros, diferentes concentrações e tempos do ácido fosfórico foram avaliadas quanto ao poder de erosão da camada superficial do esmalte em prol de maior profundidade de penetração do infiltrante resinoso (Kielbassa et al., 2010). Contudo, sua utilização exibiu limitações quando comparado ao ácido clorídrico, devido à baixas profundidades do agente resinoso (Subramaniam et al., 2014). Considerando que o método de aplicação do infiltrante resinoso pode influenciar diretamente a qualidade da sua penetração, um estudo mais recente articulou novos protocolos para facilitar a infiltração resinosa no esmalte desmineralizado, em períodos mais rápidos, avaliando diferentes técnicas de aplicação utilizando associação do ácido clorídrico ao ácido fosfórico e aparelhos sônicos e ultrassônicos (López et al., 2019).

Resultados promissores acerca da eficácia do infiltrante resinoso na redução da progressão da cárie incipiente têm sido amplamente demonstrados. O material resinoso tem sido capaz de inibir a progressão da cárie não só em condições *in vitro*, mas também em casos *in situ* e *in vivo*. Em estudo *in vitro*, Paris et al (2007) observaram que materiais resinosos de baixa viscosidade com coeficiente de

penetração mais elevados, após serem condicionados com ácido fosfórico a 37%, alcançaram uma profundidade de penetração maior que um adesivo comercial testado (Paris et al., 2007). Esse resultado foi reafirmado em um segundo estudo elaborado por Meyer-Lueckel et al (2008) quando comparados um infiltrante resinoso experimental e um adesivo comercial, utilizando dessa vez, o ácido hidrocloreídrico a 15% como agente condicionante, alcançando assim maior profundidade de penetração do que o adesivo comercial estudado (Meyer-Lueckel e Hendrik Paris, 2008). Em outro estudo in vitro desenvolvido por Paris et al (2010), ficou constatado que o infiltrante resinoso foi capaz de inibir a progressão de lesões cáries incipientes naturais, mesmo após ter sido submetido a um desafio ácido com solução desmineralizante (Paris e Meyer-Lueckel, 2010b). Em estudo randomizado realizado por Paris et al (2010), foi avaliada a eficácia clínica do material infiltrante; sendo observado que, após 18 meses, apenas 1/27 lesões infiltradas teve progressão da, enquanto que 6/27 lesões do grupo controle (fluoretação e orientação de higiene bucal e dietética) progrediram (Paris et al., 2010).

Mais recentemente, um estudo clínico randomizado de acompanhamento por três anos analisou a utilização do infiltrante resinoso como método coadjuvante à terapia não invasiva e, foi demonstrado que, ao longo dos três anos de acompanhamento, todas as lesões cáries incipientes do tipo E2 (terço interno do esmalte) foram inibidas com o infiltrante resinoso, enquanto que 6 de 17 lesões do grupo controle (apenas fluoretação e orientação de higiene bucal e dietética) progrediram (Peters et al., 2019). Em um estudo clínico randomizado publicado recentemente, Paris et al (2020) avaliou a eficácia clínica do infiltrante resinoso por um acompanhamento de sete anos. Os autores observaram que 1/22 lesões de cárie incipientes infiltradas com o material resinoso progrediu, quando, em contrapartida, 9/22 lesões do grupo controle (orientação dietética e de higiene oral) avançaram (Paris et al., 2020). Mohamed et al (2020), também observaram bom desempenho na infiltração do esmalte promovida pelo infiltrante Icon® quando comparado a outros dois adesivos comerciais; sendo o infiltrante capaz de preencher, segundo seus achados, totalmente a lesão de mancha branca de cárie (Mohamed et al., 2020).

Tais resultados apontam boa eficácia do material infiltrante como agente inibidor da progressão de manchas brancas de cárie. Contudo, apesar de apresentar eficácia e bons resultados no tratamento de lesões de cárie incipientes (devido à sua

capacidade de preenchimento e paralisação das lesões de cárie incipientes), outras composições monoméricas, como a associação do BisEMA, BisGMA ou UDMA junto ao TEGDMA, vêm sendo estudadas com o propósito de se obter um infiltrante resinoso ainda com baixa viscosidade e alta penetrabilidade, no entanto, com melhores propriedades mecânicas (Araújo et al., 2013; Ferreira et al., 2019). Um agente infiltrante resinoso deve apresentar capacidade de polimerização em estado sólido, assim como resistência a fatores químicos e mecânicos presentes no meio bucal, estética apropriada e não ser tóxico; além disso, é importante que se tenha certa hidrofiliabilidade, baixa viscosidade, baixo ângulo de contato e alta tensão superficial, o que irá promover penetrabilidade adequada do material no esmalte (Skucha-Nowak et al., 2016; Souza-Junior et al., 2012).

O Infiltrante comercial Icon® contém como base de sua composição o monômero TEGDMA. Esse monômero apresenta baixo peso molecular, tornando o infiltrante resinoso um material com menor viscosidade e alto grau de conversão (Mandava et al., 2017; Sfalcin et al., 2017). Por apresentar menor peso molecular, o infiltrante tem alta fluidez e boa penetrabilidade, entretanto, essa característica também gera maior contração de polimerização, além de ser considerado um monômero mais hidrofílico, apresentando maior afinidade com a água, o que pode gerar uma degradação hidrolítica mais rápida e, conseqüentemente baixas propriedades mecânicas (Mandava et al., 2017; Sfalcin et al., 2017; Zakizade et al., 2020). Já o BisEMA ou BisGMA são considerados monômeros com maior peso molecular, portanto mais hidrófobos e de maior viscosidade (Araújo et al., 2013). A estrutura molecular do BisEMA é muito semelhante à do BisGMA, a não ser pela ausência de grupos hidroxila. Isso confere ao BisEMA uma menor viscosidade quando comparado ao BisGMA; e, além disso, ele apresenta menor susceptibilidade à sorção de água devido à sua hidrofobicidade (Inagaki et al., 2016; Sfalcin et al., 2017). Por conterem maior peso molecular, a cadeia monomérica formada apresenta menor flexibilidade no momento da polimerização, comprometendo assim o grau de conversão do material. Todavia, a adição de tais monômeros, além de reduzir a contração de polimerização do material infiltrante, pode assim, melhorar as propriedades mecânicas e a durabilidade a longo prazo dos infiltrantes resinosos em meio oral (Inagaki et al., 2016; Sfalcin et al., 2017).

Para que se possa avaliar os efeitos da infiltração resinosa nos dentes, os estudos *in vitro*, têm utilizado em suas metodologias a indução da lesão de mancha branca de cárie, confeccionadas em laboratório através de soluções desmineralizantes (des-re) (Afonso et al., 2010; Gouvêa et al., 2020); esse processo químico busca mimetizar o dinamismo da perda e ganho mineral durante a formação da cárie, no ambiente oral (Al-Obaidi et al., 2018; Gouvêa et al., 2020). Tais protocolos podem ser utilizados para investigar possíveis abordagens para prevenção e/ou remineralização da cárie, além de desempenhar papel importante antecedendo os ensaios clínicos, respondendo aos questionamentos básicos e iniciais (Afonso et al., 2010; Al-Obaidi et al., 2019, 2018). Tais protocolos de ciclagem de pH permitem o desenvolvimento de lesões de mancha branca de cárie em um período relativamente curto, podendo representar, dessa maneira, 6 a 12 meses de progressão clínica da lesão de mancha branca de cárie natural (Al-Obaidi et al., 2019).

Para mimetizar as lesões cariosas subsuperficiais *in vitro*, mantendo a camada superficial do esmalte, ácidos orgânicos considerados fracos, como ácido láctico ou acético, são usados nas soluções desmineralizantes (Elbahrawy e El-Dosoky, 2019). Além disso, a presença de cálcio e fosfato na solução ajuda a preservar a camada superficial, dando enfoque à perda de minerais na camada subsuperficial da lesão (Elbahrawy e El-Dosoky, 2019). Contudo, os protocolos químicos propostos na literatura apresentam diferenças entre si e limitações em termos de profundidade da lesão e preservação da camada superficial do esmalte devido à dificuldade em simular de forma similar as complexas condições intraorais que levam ao desenvolvimento das manchas brancas de cárie naturais (Afonso et al., 2010; Al-Obaidi et al., 2019). Essa indução de mancha branca já é bastante conhecida e utilizada em estudos que avaliam o efeito remineralizador dos fluoretos sobre os dentes (Afonso et al., 2010; Argenta et al., 2003; Queiroz et al., 2008). Tais estudos têm seguido os protocolos sugeridos por Featherstone et al (1986) e ten Cate et al (1982), fazendo pequenas alterações conforme seus delineamentos (Afonso et al., 2010; Argenta et al., 2003; Queiroz et al., 2008).

Diante disso, as amostras de dentes costumam ser submetidas à diferentes soluções com diferentes pHs, por determinado tempo, mimetizando o ambiente bucal (Queiroz et al., 2008). Não há um consenso na literatura sobre tipos de soluções desmineralizantes utilizadas para tal processo. Da mesma maneira que os pHs

(normalmente apresentados em 4,3 a 5,0) e o período de exposição também variam (Afonso et al., 2010; Al-Obaidi et al., 2018; Queiroz et al., 2008; Elbahrawy e El-Dosoky, 2019). Alguns estudos simulam ciclos de 24 horas, em que 6 horas são de solução desmineralizante e 18 horas de solução remineralizante, totalizando 24 horas (Al-Obaidi et al., 2019, 2018; Queiroz et al., 2008); enquanto que outros utilizam 3 ou 4 horas em solução desmineralizante, e 20 ou 21 horas em solução remineralizante, podendo ou não permanecer em solução remineralizante por tempo adicional ao final do processo des-remineralizante (Argenta et al., 2003; Gouvêa et al., 2020; Elbahrawy e El-Dosoky, 2019). Já outros estudos expõem as amostras de dentes apenas à solução desmineralizante por algumas horas (Shimaa M et al., 2016; Torres et al., 2012). Da mesma maneira, a quantidade de ciclos/dias também varia de um estudo pro outro, podendo ser realizado em poucos dias ou semanas/meses (Al-Obaidi et al., 2018; Shimaa M et al., 2016).

As soluções desmineralizantes, comumente utilizam uma fonte de cálcio, fosfato e um ácido, podendo esse ser o ácido láctico ou ácido acético, predominando um baixo Ph (Al-Obaidi et al., 2018; Bernett Zurita et al., 2019; Shimaa M et al., 2016; Torres et al., 2012); assim como as soluções remineralizantes que também são compostas por fonte de cálcio (como cloreto de cálcio ou nitrato de cálcio) e fosfato (fosfato monossódico, comumente utilizado), além de apresentarem fonte de potássio (cloreto de potássio, normalmente), tampão e, em alguns casos fluoreto (Al-Obaidi et al., 2018; Gouvêa et al., 2020; Queiroz et al., 2008; Shimaa M et al., 2016; Torres et al., 2012). Alguns estudos acrescentam fluoreto na solução desmineralizante a fim de preservar a camada superficial do esmalte (Argenta et al., 2003; Gouvêa et al., 2020; Torres et al., 2012). O único ponto em comum entre os estudos é a temperatura de armazenamento, sendo esta padronizada em 37°C (Al-Obaidi et al., 2018; Torres et al., 2012).

Todas essas variações contribuem para formação de diferentes lesões de manchas brancas de cárie artificiais (Afonso et al., 2010) com diferentes resultados de profundidade da lesão e da microdureza superficial do esmalte (Argenta et al., 2003; Shimaa et al., 2016; Elbahrawy e El-Dosoky, 2019), não havendo uma padronização e referência de qual protocolo seguir. E, dentre os métodos de avaliação da perda mineral do esmalte, está a microrradiografia transversal (TMR), bastante utilizada nos estudos in vitro que induzem lesão de mancha branca de cárie em amostras dentárias

(Gouvêa et al., 2020). Sendo considerado “padrão ouro”, este método tem a capacidade de quantificar a espessura da camada superficial, assim como a perda mineral integrada, a perda mineral conforme a profundidade da lesão, além da profundidade da lesão propriamente dita (Afonso et al., 2010; Gouvêa et al., 2020). Quando as imagens geradas pelo microscópio são avaliadas de forma qualitativa, é possível observar a morfologia das lesões de mancha branca de cárie induzidas pelos protocolos de des-remineralização (Paris et al., 2009).

Considerando a inspeção e visualização clínica da cárie dentária, o Sistema Internacional de Detecção e Avaliação de Cárie (ICDAS) foi desenvolvido com o intuito de diferenciar os vários estágios da lesão, através da avaliação visual-tátil, o que pode auxiliar na escolha de uma terapia adequada (Paris et al., 2011). Este sistema foi projetado para identificar, de forma precoce, os estágios clínicos da cárie, podendo prevenir a cavitação das lesões (Honkala et al., 2011). O seu desenvolvimento teve início no Workshop de Consenso Internacional sobre Cárie Clínica (ICW-CCT), realizado em 2002 em LochLomond, na Escócia, concluindo a necessidade de detecção da cárie dentária em estágios não-cativados (Pitts and Stamm, 2004). E, nos últimos anos, passou a ser recomendação internacional para pesquisas de saúde bucal (Honkala et al., 2011). O ICDAS tem como objetivo detectar seis estágios do processo carioso, variando desde as primeiras alterações clinicamente visíveis no esmalte até a cavitação extensa (Honkala et al., 2011; Ismail et al., 2007).

A classificação dos estágios da cárie é distribuída em 6 códigos, sendo eles: código 0: superfície do dente sadia; código 1: primeira alteração visual no esmalte; nessa fase a descoloração do esmalte só é perceptível após secagem prolongada (aproximadamente 5s); código 2: com a superfície dentária úmida já é possível observar uma opacidade/descoloração; código 3: com o dente úmido e seco é possível visualizar uma forte opacidade, e além disso, pode-se notar cavitações sem exposição de dentina (apenas a nível do esmalte); código 4: aqui já é visualizada um sombreamento cinza ou marrom na dentina através do esmalte aparentemente intacto, podendo esse ter perda de continuidade ou não. Esse sombreamento é mais facilmente observado com o dente ainda úmido; código 5: cavitação do esmalte com exposição de dentina; código 6: nessa fase há uma perda considerável da estrutura dentária, sendo a cavidade profunda e larga com ampla exposição dentinária, podendo comprometer metade do dente e exposição pulpar (Ismail et al., 2007). Além

disso, o comitê coordenador desenvolveu um protocolo de exame para garantir padronização no momento de avaliação e definição dos estágios examinados (por exemplo, limpeza e secagem das superfícies), a fim de minimizar possíveis erros de diagnóstico (Ismail et al., 2007).

Diante do mecanismo de ação do infiltrante resinoso, entende-se que o sucesso da técnica infiltrativa depende da eficácia desse material em penetrar com profundidade a lesão de mancha branca e não apenas “mascarar” a lesão (Ferreira et al., 2019; Shimaa M et al., 2016); essa penetração está fortemente associada à aplicação do ácido hidrocloreídrico a 15% utilizado previamente, como já foi mencionado anteriormente (Abbas et al., 2018; Ferreira et al., 2019; Puleio et al., 2021). Sabe-se que o infiltrante resinoso é capaz de penetrar totalmente ou parcialmente nas lesões de mancha branca de cárie (Arnold et al., 2016); tendo sido observado que quanto maior o tempo de aplicação, maior a profundidade de penetração (Ferreira et al., 2019; Soveral et al., 2021). Uma revisão sistemática publicada recentemente constatou o preenchimento de 65,35% das lesões de mancha branca de cárie inseridas no estudo (Soveral et al., 2021).

Em outro estudo *in vitro* prévio, o infiltrante comercial penetrou com sucesso e homogeneamente na lesão da mancha branca artificial, alcançando uma profundidade máxima de $6,06 \pm 3,32 \mu\text{m}$ (Subramaniam et al., 2014). Os autores atribuíram tal resultado à alta concentração de TEGDMA e à aplicação prévia do etanol (Subramaniam et al., 2014). Já em outro estudo recente, uma maior profundidade média de penetração ($516,8 \mu\text{m}$) foi observada, tendo a maior profundidade de penetração alcançado os $973 \mu\text{m}$. Um método de imagem, comumente utilizado nos estudos *in vitro*, para avaliação da profundidade de penetração de materiais resinosos, é o de microscopia confocal a laser (Paris et al., 2009). Este método permite a emissão de dados qualitativos e quantitativos; e devido aos corantes utilizados (normalmente, solução etanólica de rodamina B e fluoresceína) durante os preparos das amostras, é possível estimar, concomitantemente ou separadamente, a profundidade da lesão de mancha branca de cárie e a profundidade do material resinoso infiltrado, além da homogeneidade ou não da infiltração resinosa nas lesões de mancha branca (Araújo et al., 2013; Mueller et al., 2006; Paris et al., 2009; Wang et al., 2021).

Um fator associado à infiltração resinosa em mancha branca de esmalte que deve ser considerado é a rugosidade superficial. Apesar de lesões de mancha branca de cárie apresentarem uma camada superficial pseudo-intacta, estas demonstram ter uma superfície mais áspera quando comparada à superfície de esmalte sadio (Arnold et al., 2016). Isso pode influenciar no maior acúmulo de placa na região afetada e, conseqüentemente, promover maior desmineralização da superfície e progressão da cárie (Arnold et al., 2016). A infiltração resinosa na lesão de mancha branca tem exibido redução da rugosidade superficial (El Meligy et al., 2021; Soveral et al., 2021; Yazkan e Ermis, 2018), sendo considerada clinicamente aceitável (Taher et al., 2012). Alguns autores têm relatado que a técnica infiltrativa promove um alisamento da superfície após a aplicação do material resinoso, o que contribui para a minimização do acúmulo de placa bacteriana (Arnold et al., 2016; Mandava et al., 2017; Puleio et al., 2021).

Em estudo prévio, o infiltrante resinoso comercial Icon® reduziu em 54% a rugosidade superficial após a infiltração da lesão de cárie (Soveral et al., 2021). Taher et al (2012) não observaram em estudo, através da perfilometria, diferença estatística na rugosidade superficial quando comparado o esmalte sadio e esmalte infiltrado (Taher et al., 2012). Contudo, apesar de alguns estudos relatarem alisamento da superfície promovido pelo material resinoso e redução da rugosidade superficial, outros estudos relatam que a infiltração resinosa ainda deixa a superfície do esmalte áspera, sendo considerada aumentada em relação ao esmalte sadio (Yazkan e Ermis, 2018). E, dessa maneira, considerando uma situação clínica, uma colonização bacteriana poderia voltar a acontecer na região infiltrada, e resultar em nova desmineralização do esmalte, e, novamente por consequência, aumento da rugosidade (Ulrich et al., 2015; Yazkan e Ermis, 2018).

Dentro do ambiente oral ocorre, de forma contínua, um dinamismo entre desmineralização e remineralização, que pode ocasionar alterações na superfície do esmalte mesmo depois de infiltrada (Soveral et al., 2021). Não há ainda muitos estudos, a longo prazo, sobre os possíveis efeitos das alterações superficiais causadas pelo infiltrante resinoso. A sua degradação pode proporcionar irregularidades na superfície e, conseqüentemente, desenvolvimento de placa bacteriana em tais sítios (Arnold et al., 2016; Ulrich et al., 2015). Sabe-se que o valor de rugosidade de 200nm já é capaz de proporcionar retenção de placa bacteriana na

superfície do esmalte. E que, a rugosidade da superfície de uma lesão de cárie incipiente não tratada é, em média, 263 nm; isso sugere maior risco para o acúmulo de placa e progressão da cárie em tal condição.

Além disso, o condicionamento ácido com ácido hidroclorídrico a 15% promove uma desmineralização do esmalte em aproximadamente 35 a 50 μm de profundidade e, conseqüentemente, um aumento na rugosidade da superfície (Arnold et al., 2016). Todavia, logo em seguida, essa região é preenchida com o material resinoso (Arnold et al., 2015). Sendo assim, apesar de os estudos se mostrarem controversos sobre a redução ou não da rugosidade superficial, a infiltração resinosa acaba exercendo também um papel protetor do esmalte em relação a uma desmineralização posterior (Schmidlin et al., 2012). Dentre os métodos de análise de superfície em estudos in vitro, o rugosímetro é bastante utilizado dando a rugosidade média (Ra); assim como a microscopia eletrônica de varredura que tem agregado em tais estudos, como método de imagem, oferecendo uma análise qualitativa da superfície de esmalte tratada (Arnold et al., 2016; El Meligy et al., 2021; Taher et al., 2012; Yazkan e Ermis, 2018).

Outro fator muito importante a ser considerado em casos de mancha branca de cárie é a microdureza do esmalte. A microdureza é uma das propriedades físicas importantes da superfície do dente, visto que ela reflete a capacidade do esmalte dental de resistir à deformação plástica (Wu et al., 2020). Portanto, determinar a microdureza do esmalte, nos estudos in vitro, ajuda a estimar a desmineralização e remineralização do esmalte dental (Wu et al., 2020). Com o desequilíbrio entre os eventos de des-remineralização, o esmalte dental passa a sofrer maior perda de minerais, o que contribui para a formação de um tecido mais poroso e com menor dureza, ou seja, mais propenso a cavitações (Behrouzi et al., 2020). Como base para a prevenção e tratamento de lesões de cárie incipientes é a remineralização desse esmalte dental, o infiltrante resinoso pode ser também considerado um “agente remineralizador”, visto que ao ser infiltrado na lesão de cárie ele substitui os minerais perdidos no corpo da lesão, promovendo um aumento considerável da microdureza do esmalte, aumentando também a resistência desse esmalte à novos desafios ácidos que podem ser encontrados no ambiente oral (Behrouzi et al., 2020).

A literatura relata que o infiltrante resinoso é capaz de aumentar a microdureza do esmalte (Neres et al., 2017; Wu et al., 2020; Zakizade et al., 2020), especialmente quando comparado a um esmalte desmineralizado não tratado (Al-Obaidi et al., 2018; Yazkan e Ermis, 2018; Zakizade et al., 2020). Isso tem sido relacionado à baixa viscosidade do material resinoso que o torna capaz de infiltrar o esmalte poroso e encapsular os cristais de hidroxiapatita, formando um complexo resina-hidroxiapatita, fortalecendo subsuperficialmente a região afetada (Zakizade et al., 2020). Em uma revisão sistemática com meta-análise, publicada muito recentemente, o infiltrante resinoso foi capaz de aumentar em até 68% a microdureza do esmalte com mancha branca de cárie, apesar de não conseguir restabelecer os valores de um esmalte sadio (Soveral et al., 2021).

Embora outros produtos tidos como agentes remineralizantes, como o flúor e CPP-ACP, apresentem bons resultados de microdureza em esmalte, tais produtos tendem a agir mais superficialmente, diferentemente do infiltrante que age subsuperficialmente no corpo da lesão (Wu et al., 2020; Zakizade et al., 2020); este tem apresentado, em alguns casos, valores mais altos de microdureza quando comparado aos outros dois materiais remineralizantes citados (Wu et al., 2020). Além disso, resultados positivos têm sido observados quando associadas as duas manobras de tratamento, a técnica infiltrativa junto à aplicação do flúor em suas variadas formas ou até mesmo à aplicação do CPP-ACP (Wu et al., 2020). Ademais, o infiltrante resinoso tem sido comparado também à adesivos comerciais, como o Excite F, tendo o infiltrante resinoso apresentado maior eficácia quanto aos valores de microdureza do esmalte, devido à sua maior penetrabilidade no corpo da lesão de mancha branca (Yazkan e Ermis, 2018; Zakizade et al., 2020); isso pode estar relacionado ao fato do material infiltrante apresentar menor viscosidade, alta tensão superficial e menor ângulo de contato, características que contribuem para uma penetração mais profunda, e consequente aumento da microdureza do esmalte dental (Zakizade et al., 2020).

Em contrapartida, estudos controversos demonstraram que o infiltrante comercial Icon não foi capaz de aumentar a microdureza do esmalte após 15 e 20 dias de acompanhamento quando comparado a outros dois agentes remineralizantes; no entanto, o agente infiltrante foi capaz de manter o valor da microdureza, sugerindo proteção no sentido de prevenir a progressão da lesão de cárie (Lee et al., 2011).

Outro quesito analisado é a resistência de tal produto quando exposto a novos desafios ácidos. Os estudos têm se mostrados controversos sobre isso. Torres et al (2012) observaram que, apesar da microdureza do esmalte ter sido reduzida após a mancha branca infiltrada ter sido exposta à um desafio ácido, essa microdureza ainda era maior que o grupo controle (sem tratamento) (Torres et al., 2012). Enquanto que em outro estudo, publicado recentemente, amostras com lesões de mancha branca infiltradas e submetidas a novo desafio ácido, apresentaram a menor microdureza, mesmo quando comparadas a amostras não tratadas (Neres et al., 2017). Dentre os métodos de análise da microdureza do esmalte, métodos quantitativos, como os testes Vickers e Knoop são utilizados (Neres et al., 2017; Wu et al., 2020; Zakizade et al., 2020). Esses testes refletem a resiliência mecânica do substrato à penetração de um indetador. Ao empregar uma carga reduzida (25-50 g), pode-se avaliar alterações precoces (des ou remineralização) na camada mais superficial do esmalte e, conseqüentemente, prever o resultado de um tratamento anti-cárie (Afonso et al., 2010).

3 PROPOSIÇÃO

Este estudo *in vitro* teve como objetivos selecionar um protocolo de indução de lesão cáriosa artificial para padronização metodológica de demais estudos com infiltrante resinoso do grupo de pesquisa; avaliar a profundidade de penetração de um infiltrante resinoso experimental quando comparado ao infiltrante comercial Icon® e, analisar a rugosidade e microdureza de superfície dos materiais resinosos infiltrados em fragmentos dentais, antes e após ciclagem de pH.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

4.1.1 UNIDADES EXPERIMENTAIS

- Fragmentos de dente humano
- Fragmentos de dente humano infiltrados

4.1.2 FATORES DE ESTUDO

- Protocolo de desmineralização em 3 níveis (4 ciclos, 7 ciclos e 10 ciclos)
- Infiltrantes resinosos em 2 níveis (comercial e experimental)

4.1.3 VARIÁVEIS DE RESPOSTA

- Seleção do protocolo de indução de lesão cáriosa artificial: microdureza superficial da mancha branca de cárie (Kgf/mm^2 , $n=11$), código ICDAS ($n=3$), profundidade da lesão de mancha branca de cárie ($n=5$).
- Avaliação da profundidade de penetração dos materiais: microscopia confocal de fluorescência ($n=5$).
- Análise das propriedades físico-mecânicas dos infiltrantes resinosos: rugosidade de superfície do material (μm , $n=20$), microdureza de superfície do material (Kgf/mm^2 , $n=20$).

Figura 1. Fluxograma da divisão dos grupos de acordo com a desmineralização do esmalte e variáveis de resposta.

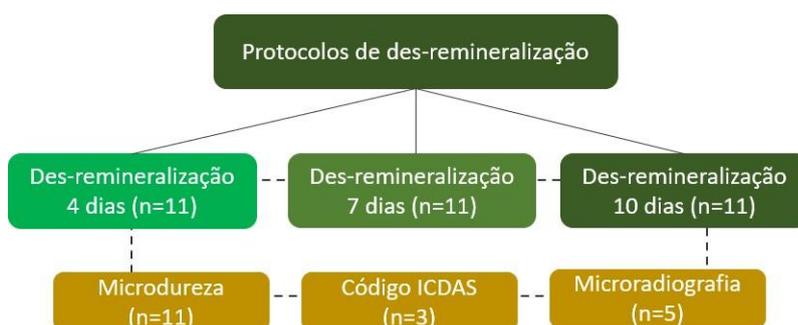
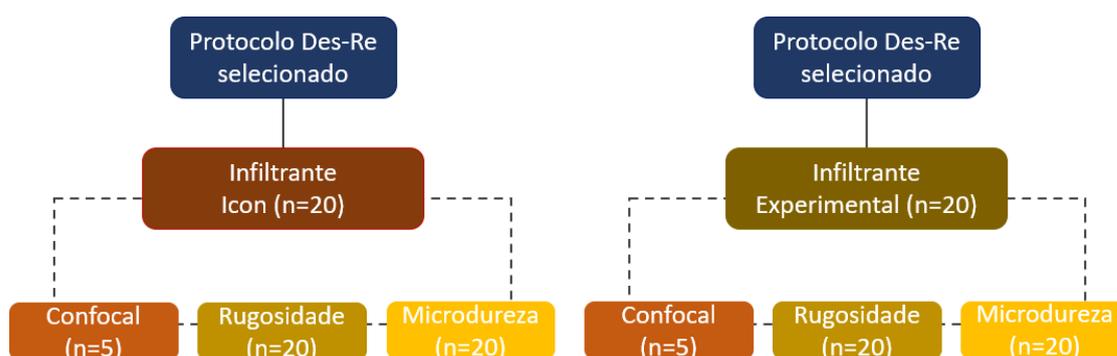


Figura 2. Fluxograma da divisão dos grupos de acordo com os infiltrantes resinosos e variáveis de resposta.



4.2 PREPARO DAS AMOSTRAS E INDUÇÃO DE MANCHA BRANCA DE CÁRIE ARTIFICIAL

Terceiros molares humanos hígidos foram coletados a partir da aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (nº CAAE 23041019.7.0000.5418). Após a seleção dos dentes, estes foram limpos com auxílio de lâmina de bisturi (Lamedid, São Paulo, Brasil) e, escova de Robson (Microdont, São Paulo, Brasil) com pasta de pedra pomes (AAF do Brasil, Londrina, Brasil) e água, para que todos os resíduos fossem eliminados. Em seguida, foram armazenados em solução de tymol 0,1% até suas fragmentações. Após terem suas raízes extraídas, os dentes foram cortados longitudinalmente no sentido mesio-distal em cortadora de precisão (Buehler LTD., Lake Bluff, IL, EUA), e polidos (superfície do esmalte) em politriz metalográfica (Arotec, São Paulo, Brasil) com lixas d'água de granulação 600, 1200 e 2000 (Folhas

de lixa, Norton, Guarulhos, Brasil) e disco de feltro e solução diamantada (1 μ m; Buehler), sob refrigeração.

Trinta e três fragmentos foram obtidos na forma de fragmentos de esmalte/dentina. Após, uma área de 4x4 mm foi demarcada na região do esmalte dental polido e, todas as faces (exceto o esmalte) dos fragmentos foram cobertas com verniz ácido resistente (Colorama®, São Paulo, Brazil) (figura 3). Os 33 fragmentos de dente foram distribuídos, aleatoriamente, após obtenção da microdureza superficial inicial por microdurômetro (HMV-2000; Shimadzu Corporation, 36 Tóquio, Japão), em três grupos (n=11) com diferentes tempos de des-remineralização (des-re) para a indução da mancha branca de cárie, da seguinte forma: (I) des-remineralização por 4 ciclos, (II) des-remineralização por 7 ciclos e (III) des-remineralização por 10 ciclos. Diferentes tempos de des-remineralização foram utilizados para produzir manchas brancas de cárie que pudessem se assemelhar às lesões naturais desenvolvidas no ambiente oral. Cada ciclo teve uma duração de 24 h. Todas as amostras foram imersas, diariamente, em 50 mL de uma solução desmineralizante composta por CH₃COOH 0,075 M, CaCl₂ 1,0 mM, KH₂PO₄ 2,0 Mm, pH 4,4, por um período de 6 h; depois, foram removidas e lavadas com água deionizada por 10 s, e, em seguida, colocadas em 25 mL de uma solução remineralizante composta por KCl 150 mM, CaCl₂ 1,5 mM, KH₂PO₄ 0,9 mM, NH₂C(CH₂OH)₃ 20 Mm, pH 7,0, por um período de 18 h (figura 4).

A composição das soluções foi baseada no estudo de Al-Obaidi et al. (2019). Após os períodos de des-remineralização, os fragmentos foram armazenados em tubos eppendorfs sob umidade relativa, a 37 °C. Os reagentes químicos foram fornecidos pelo Labsynth, São Paulo, Brasil. As soluções foram trocadas diariamente e os protocolos de indução de mancha branca deste estudo foram adaptados a partir do modelo de ciclagem feito por Featherstone (1986). Após esta etapa as amostras foram levadas ao microdurômetro para análise da microdureza final (pós des-remineralização).

Figura 3. Fragmento dental com área 4x4 mm de esmalte delimitada com verniz ácido resistente.

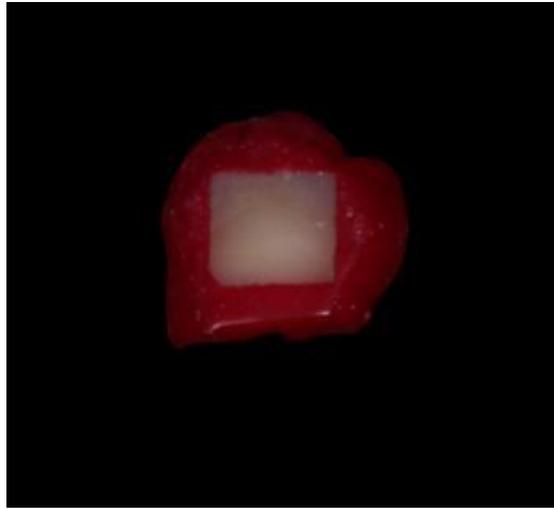


Figura 4. Amostras imersas em soluções desmineralizantes e remineralizantes.



4.3 MICRODUREZA DE SUPERFÍCIE DAS MANCHAS BRANCAS DE CÁRIE

Ao finalizar os três protocolos de indução de mancha branca de cárie, as amostras tiveram a microdureza final (pós des-remineralização) analisada pelo microdurômetro (HMV-2000; Shimadzu Corporation, 36 Tóquio, Japão). Foram realizadas 3 indentações no centro da superfície de esmalte exposta de cada amostra (n=11), com uma distância de 100 nm entre elas, utilizando um indentador Knoop sob uma carga de 50 g, em um tempo de 5 s. Após, a microdureza superficial inicial e final das amostras foram comparadas.

4.4 CÓDIGO ICDAS

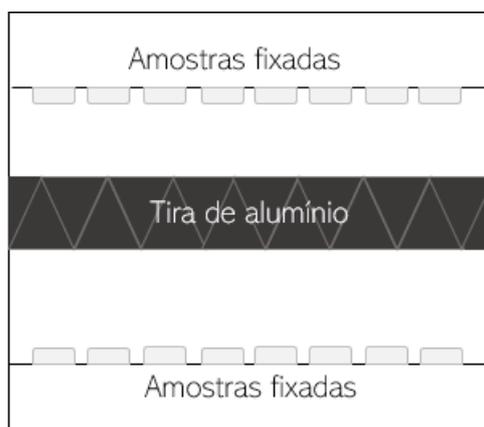
Para avaliação da mancha branca de cárie artificial em relação ao código ICDAS, foi utilizado o método qualitativo, em que foram realizadas imagens através de uma câmera fotográfica (Canon T6i, São Paulo, Brasil) posteriormente aos protocolos de indução de lesão de cárie descrito no item 4.2. As manchas brancas de cárie artificiais foram analisadas por um único indivíduo previamente treinado e, classificadas de acordo com o código, já estabelecido na literatura, descrito da seguinte forma: código 1: mancha branca perceptível após secagem prolongada (aproximadamente 5s); código 2: mancha branca perceptível com a superfície dentária úmida; código 3: pode-se notar cavitações sem exposição de dentina (apenas a nível do esmalte); código 4: sombreamento cinza ou marrom na dentina através do esmalte aparentemente intacto, podendo esse ter perda de continuidade ou não; código 5: cavitação do esmalte com exposição de dentina; código 6: perda considerável da estrutura dentária, cavidade profunda e larga com ampla exposição dentinária (Ismail et al., 2007).

4.5 MICRORADIOGRAFIA (TMR)

Para a análise qualitativa por microradiografia, as mesmas amostras (n=5) previamente desmineralizadas como descrito no item 4.2, foram fixadas em placas de acrílico com cola quente e seccionadas na cortadeira de precisão (Isomet 1000, São Paulo, Brasil), transversalmente, na região central da lesão de mancha branca artificial utilizando um disco de diamante. Em seguida, tais fragmentos foram novamente fixados nas placas de acrílico e levados à politriz metalográfica Aropol VV-PU (Arotec, São Paulo, Brasil), onde foram polidos com lixas de granulação 600, 1200 e 2000 até que uma espessura menor fosse alcançada; entre cada etapa de polimento, as amostras foram levadas à cuba ultrassônica (Unique, São Paulo, Brasil), por 10 minutos, para remoção de detritos originados pelo polimento. Posteriormente, os fragmentos foram lixados à mão apenas com as lixas 1200 e 2000 e medidos com um paquímetro digital (Mitutoyo, São Paulo, Brasil) até que a espessura de 100 µm fosse atingida. Para a realização da radiografia, os finos fragmentos foram fixados em um

“porta-amostra” plástico com auxílio de uma fita adesiva (figura 5) e, uma tira de alumínio em degraus foi inserida ao meio para etapa de calibração. A microrradiografia foi realizada com um raio-x gerador (Softex, Tóquio, Japão) em uma placa de vidro a 20 kV e 20 mA, por 13 min, a uma distância de 42 cm. Após a exposição, a placa de vidro foi revelada, por 4 min, fixada, por 6 min, em ambiente escuro a 20°C e lavada, por 10 min. Em seguida, foi secada com jato de ar. Para a análise das imagens das lesões de mancha branca artificiais foi utilizado microscópio de luz transmitida (Axioplan; Zeiss, Oberkochen, Alemanha) com câmera CCD (Canon, Japão) e acessórios, acoplados ao computador com software 2012 para capturar e, 2006 para a análise (TMR 1.25e; Inspektor Research System BV, Amsterdam, Holanda).

Figura 5. Ilustração do porta-amstras para TMR.



4.6 MANIPULAÇÃO DO INFILTRANTE EXPERIMENTAL

Para a manipulação do infiltrante experimental foi utilizada uma base monomérica composta por BisEMA e TEGDMA, sendo também incorporado um sistema fotoiniciador composto pela canforquinona (CQ) e pela amina terciária dimetilamietil benzoato (EDAB). Tal composição foi baseada em estudo prévio feito por Gaglianone et al. (2020), no qual foi observado bom desempenho do material resinoso no que diz respeito a, por exemplo, profundidade de penetração e grau de conversão, quando comparado ao infiltrante comercial e outras composições experimentais. Sua manipulação foi realizada em sala escura laboratorial, sob iluminação amarela, com temperatura e umidade controladas. A concentração de cada componente se encontra descrita na tabela 1. Uma balança analítica de alta

precisão (Shimadzu, São Paulo, Brasil) foi utilizada para pesagem dos materiais, no ato da manipulação. Após a mistura de todos os componentes previamente pesados, o recipiente (protegido da luz) contendo a mistura foi levado até ao agitador magnético analógico (7Lab, Rio de Janeiro, Brasil) (por 30min) para a homogeneização do material resinoso. Em seguida, o infiltrante resinoso experimental foi mantido sob refrigeração a 4 °C até a etapa de infiltração das amostras.

Tabela 1 – Descrição da composição do infiltrante resinoso experimental, em porcentagem por peso.

Infiltrante Resinoso Experimental	
Composição	Concentração
TEGDMA	75%
BisEMA	25%
CQ	0,5%
EDAB	1%

4.7 PROFUNDIDADE DE PENETRAÇÃO DOS INFILTRANTES

4.7.1 PREPARO DAS ASMOSTRAS E INDUÇÃO DA LESÃO DE MANCHA BRANCA DE CÁRIE ARTIFICIAL

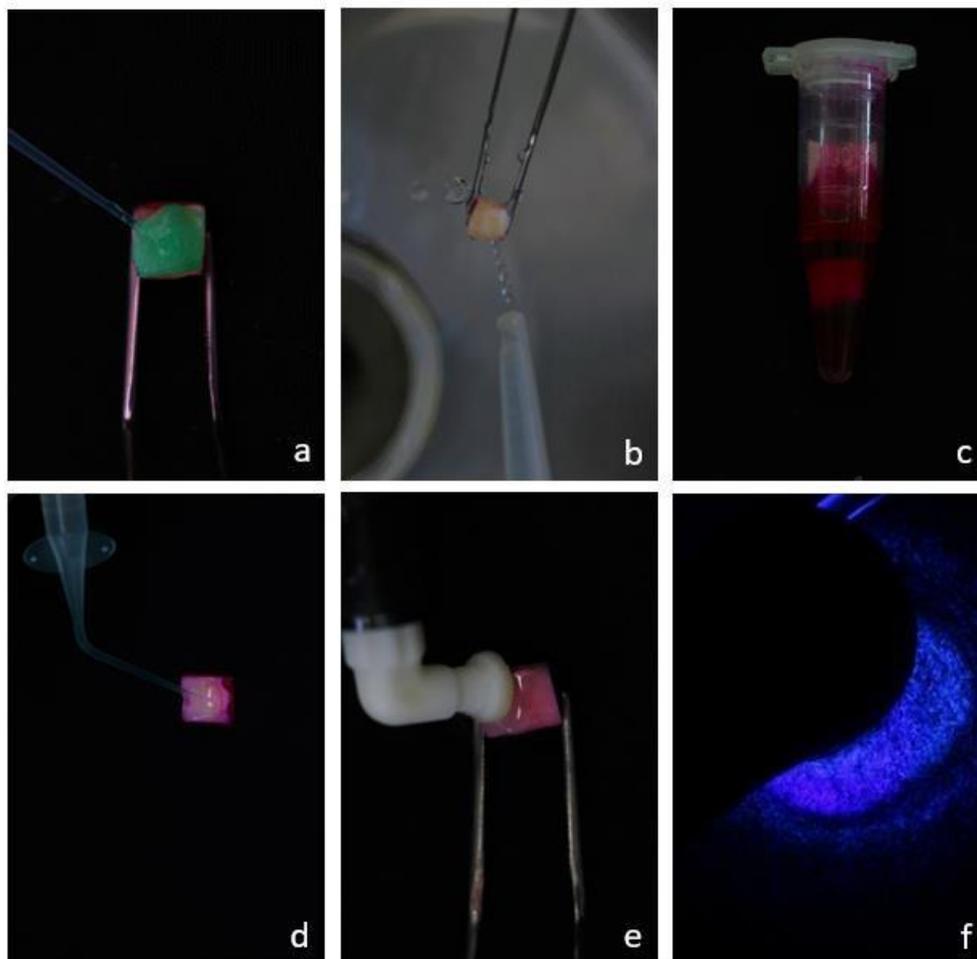
Para esta etapa, novas amostras de dente foram utilizadas. O preparo das amostras se deu de forma igual ao que foi descrito no item 4.2; sendo também previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (nº CAAE 23041019.7.0000.5418). Após o preparo, as amostras foram distribuídas, aleatoriamente, em dois grupos: (I) grupo infiltrante Icon® (n=5) e (II) grupo infiltrante experimental (n=5). Após a execução dos tempos de des-remineralização descritas no item 4.2, foi selecionado para as próximas etapas do estudo o período de 10 ciclos de des-remineralização, objetivando avaliar o comportamento dos materiais resinosos frente às lesões de mancha branca artificiais mais profundas formadas após um período de des-remineralização maior, considerando que lesões cariosas até terço externo da dentina já é uma indicação do infiltrante resinoso comercial Icon pelo

fabricante. Sendo assim, todas as amostras foram submetidas ao protocolo de indução de mancha branca de cárie artificial descrito no item 4.2, durante os 10 ciclos.

4.7.2 AVALIAÇÃO DA PROFUNDIDADE DE PENETRAÇÃO

Após o período de des-remineralização e formação das lesões de mancha branca de cárie, as amostras foram submetidas à infiltração resinosa, comercial (Icon®, lote:214202) (n=5) e experimental (n=5). Dessa forma, seguindo as orientações do fabricante (Icon® Etch, DMG, Hamburgo, Alemanha), as amostras foram, inicialmente, condicionadas com ácido hidrocloreídrico a 15% por 2 min (figura 6a). Em seguida, tais amostras foram lavadas com jato de água por 30 s (figura 6b) e imersas em solução etanólica de rodamina B 0,1% (Sigma Aldrich, Steinheim, Germany) por 12 h (figura 6c), a fim de preencher os poros acessíveis (pós des-remineralização) com rodamina B para posterior visualização em microscopia confocal. Decorridas as 12 h, as amostras foram removidas da solução corante e lavadas com jato de água por 30 s e secadas com jato de ar por mais 30 s. Como próximos passos, o Icon® Dry (99% etanol) foi aplicado por 30 s (figura 6d) e os infiltrantes (conforme cada grupo) foram aplicados por 3 min (de acordo com o fabricante) (figura 6e) e fotoativados por 40 s (figura 6f), utilizando-se o aparelho fotoativador de LED de alta potência (Valo, Ultradent, São Paulo, Brasil). De acordo com a recomendação do fabricante, a reaplicação do infiltrante por mais 1 min e fotoativação por 40 s foi realizada. A aplicação do infiltrante experimental foi realizada através de uma seringa plástica de 5 mL, protegida da luz com uma fita isolante preta, e a ponta aplicadora (para face livre do dente) que acompanha o kit Icon®.

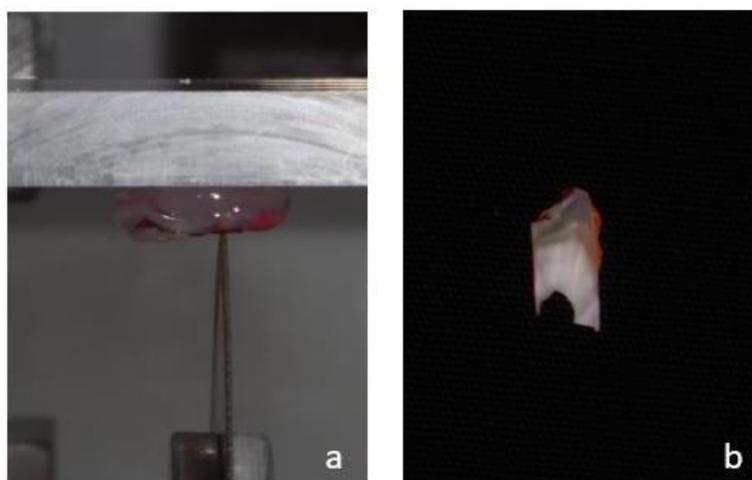
Figura 6. a – aplicação do ácido hidroclorídrico a 15% por 2 min; b – lavagem com jato de água por 30 s; c - imersão em rodamina B por 12 h; d – aplicação do Icon Dry por 30 s; e – aplicação do infiltrante resinoso por 3 min; f – fotoativação por 40 s.



Todas as amostras infiltradas pelos materiais resinosos foram, posteriormente, cortadas em fatias perpendicularmente à superfície da lesão de esmalte com disco diamantado em cortadora metalográfica (figura 7a e 7b) e polidos, inicialmente, em politriz com lixas d'água de granulação 600, 1200 e 2000, sob refrigeração e, posteriormente à mão, até que a espessura de 100 μm fosse alcançada. Para remover a rodamina B não aderida à estrutura dentária, as fatias foram imersas em peróxido de hidrogênio a 30%, por 12 h, como protocolo para análise da microscopia confocal. Posteriormente, objetivando analisar as regiões da lesão onde não houve infiltração, as amostras foram imersas em solução etanólica de fluoresceína de sódio a 100 μm (NaFl; Sigma Aldrich, St. Louis, EUA), por 3 min e,

após lavagem com água deionizada por 10 s, tais amostras foram levadas ao Microscópio Confocal de Fluorescência (Leica, TCS NT; Leica, Heidelberg, Alemanha) com objetiva de 63x 1.4NA, imersão em óleo no modo dual de fluorescência, no qual as fluorescências puderam ser detectadas simultaneamente (Rodamina B: Ex 568 nm, Em 590 nm filtro lon pass; Fluoresceína de sódio: Ex 488 nm, 520/50 nm filtro bond pass). A profundidade de penetração dos infiltrantes resinosos foi avaliada, qualitativamente, a partir das imagens obtidas.

Figura 7. a - corte das amostras infiltradas para análise em microscopia confocal de fluorescência; b – amostra infiltrada cortada para análise em microscopia confocal de fluorescência.



4.8 RUGOSIDADE E MICRODUREZA SUPERFICIAL DO MATERIAL INFILTRADO

Após a seleção do tempo de des-remineralização de 10 ciclos, novas amostras de dente foram utilizadas para esta etapa do estudo; previamente aprovadas pelo Comitê de Ética em Pesquisa (nº CAAE 23041019.7.0000.5418). As amostras foram divididas, aleatoriamente, em dois grupos: (I) grupo infiltrante Icon® (n=20) (lote:214202) e (II) grupo infiltrante experimental (n=20). O preparo das amostras, assim como a indução da mancha branca de cárie artificial se deu da mesma maneira descrita no item 4.2. Após a formação da lesão de cárie incipiente, as amostras foram levadas, primeiramente, para a análise da rugosidade de superfície da região desmineralizada, realizada por um rugosímetro (Surfcorder, Kosakalab, Toquio, Japão), sendo as amostras previamente

fixadas com cera rosa 7 (Lysanda, São Paulo, Brasil) em uma placa acrílica para estabilização das mesmas no ato da leitura. Três leituras da rugosidade superficial da área desmineralizada foram feitas. No rugosímetro, o cut off (distância percorrida pela caneta sobre a qual os dados foram coletados) foi 0,25 mm, e o comprimento de leitura, 1,25 mm. O raio da ponta de rastreamento era de 2 μm , sob força de 0,75 mN e velocidade de 0,1 mm/s.

Após a análise da rugosidade superficial, as mesmas amostras foram levadas ao microdurômetro para a avaliação da microdureza das lesões de mancha branca de cárie. No microdurômetro, foram realizadas 3 indentações no centro da superfície de esmalte desmineralizado de todas as amostras, com distância de 100 nm entre elas, utilizando um indentador Knoop sob uma carga de 50 g, em um tempo de 5 s. Após a obtenção da rugosidade e microdureza, as amostras foram infiltradas, seguindo a orientação do fabricante do infiltrante resinoso Icon®, da seguinte forma: as amostras foram, inicialmente, condicionadas com ácido hidrocloreídrico a 15% por 2 min. Em seguida, foram lavadas e secadas com jato de água, por 30 s cada passo. Como próximos passos, o Icon® Dry (99% etanol) foi aplicado por 30 s e os infiltrantes (conforme cada grupo) foram aplicados por 3 min (de acordo com o fabricante) e fotoativados por 40 s, utilizando-se o aparelho fotoativador de LED de alta potência (1400 mW/cm²) (Valo, Ultradent, São Paulo, Brasil). De acordo com a recomendação do fabricante, a reaplicação do infiltrante por mais 1 min e fotoativação por 40 s foi realizada em cada grupo. A aplicação do infiltrante experimental foi realizada através de seringa plástica de 5 mL, protegida da luz com uma fita isolante preta, e a ponta aplicadora (para face livre do dente) que acompanha o kit Icon®.

Posterior à infiltração dos materiais resinosos, todas as amostras foram, novamente, submetidas às análises de rugosidade e microdureza de superfície, agora da lesão de mancha branca de cárie infiltrada com os produtos, ou seja, do dente infiltrado. Como passo seguinte, as mesmas amostras tiveram metade da área infiltrada protegida com verniz resistente ao ácido (figura 8), e foram submetidas à mesma ciclagem de pH que gerou as manchas brancas de cárie artificiais inicialmente (descrito no item 4.2), com o intuito de avaliar o comportamento dos materiais infiltrados frente a um desafio ácido, comumente encontrado no ambiente oral. Após o período de 10 ciclos em alternância de pH, as amostras foram, novamente, levadas

para as análises de rugosidade e microdureza de superfície, estando em questão agora, a avaliação da mancha branca de cárie infiltrada com os materiais resinosos e expostos à um desafio ácido, ou seja, avaliar o comportamento dos materiais em tais circunstâncias. Dessa forma, a rugosidade e microdureza de superfície das amostras foram medidas em três tempos diferentes como mostra a figura 8.

Figura 8. Ilustração dos três tempos de análise de rugosidade e microdureza superficial.



4.9 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

Amostras de cada grupo (Icon® e experimental) foram fixados em uma placa redonda acrílica através de uma fita adesiva dupla face. Em seguida, tais amostras foram submetidas à pulverização catódica com ouro (Bal-tec SCD050) e levadas até ao microscópio eletrônica de varredura (JEOL JSM 5600PV, Tóquio, Japão) para análise e comparação da rugosidade das superfícies infiltrada-protegida e infiltrada-exposta ao desafio ácido, em uma ampliação de 35x da área mais representativa das amostras.

4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises foram realizadas no programa R*. Inicialmente, foram realizadas análises descritivas e exploratórias dos dados. Como os dados não atenderam às pressuposições de uma análise de variância (ANOVA), foram aplicados

modelos lineares generalizados para medidas repetidas no tempo. Em todas as análises foi considerado o nível de significância de 5%.

*R Core Team (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

5 RESULTADOS

5.1 MICRODUREZA DE SUPERFÍCIE DAS MANCHAS BRANCAS DE CÁRIE

A análise estatística apontou que a des-remineralização interferiu nos valores de microdureza do esmalte dental, independentemente da quantidade de ciclos testados (Tabela 2). Como resultado da microdureza superficial foi observado que os três grupos tiveram redução significativa da microdureza após a des-remineralização ($p < 0,05$). Enquanto que, no tempo pré des-remineralização não houve diferença estatística entre os três grupos avaliados quanto à microdureza. O grupo que recebeu 10 ciclos obteve uma microdureza significativamente menor quando comparado aos outros grupos de 4 e 7 ciclos ($p < 0,05$). Já esses dois últimos não apresentaram diferença estatística significativa entre si.

Tabela 2. Média (desvio padrão), mediana (valor mínimo e máximo) da microdureza (kg/mm^2) em função do protocolo de des-remineralização e do tempo.

Protocolos de des-remineralização	Tempo			
	Pré des-remineralização		Pós des-remineralização	
	Média (desvio padrão)	Mediana (valor mínimo e máximo)	Média (desvio padrão)	Mediana (valor mínimo e máximo)
4 ciclos ¹	262,24 (38,76) Aa	257,10 (207,23; 317,16)	105,05 (29,70) Ba	108,26 (65,16; 151,26)
7 ciclos	274,52 (67,07) Aa	260,31 (202,58; 445,55)	93,39 (13,06) Ba	90,14 (69,57; 113,31)
10 ciclos	293,85 (42,71) Aa	278,32 (223,90; 361,43)	63,50 (5,59) Bb	63,32 (54,27; 71,72)

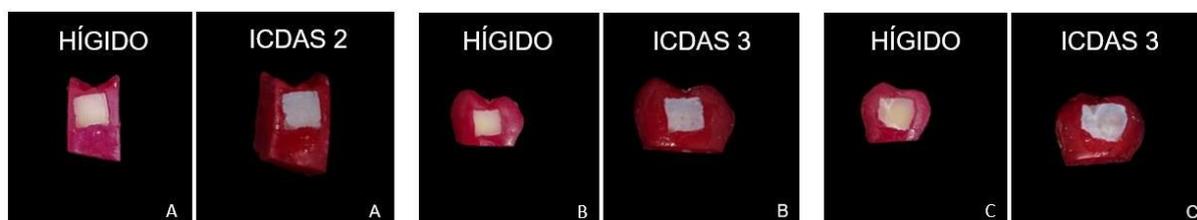
¹Considerando 24 horas como um ciclo. Letras distintas (maiúsculas na vertical e minúsculas na horizontal) indicam diferenças estatisticamente significativas. $p(\text{grupo})=0,0008$; $p(\text{tempo})<0,0001$; $p(\text{interação})=0,0003$.

5.2 CÓDIGO ICDAS

A figura 9 mostra imagens representativas de lesões de manchas brancas de cárie induzidas artificialmente em laboratório através de protocolos com soluções

des-remineralizantes em diferentes tempos: (A) 4 ciclos, (B) 7 ciclos, (C) 10 ciclos. As imagens, de caráter qualitativo, sugerem alteração na superfície do esmalte dental, independentemente da quantidade de ciclos executados. Todas as amostras exibem manchas brancas opacas e com textura rugosa na superfície do esmalte dental exposto às soluções des-remineralizantes, mesmo quando umedificadas com água. Na imagem (A), a qual corresponde a 4 ciclos, pode-se observar uma área branca concentrada e bastante opaca mesmo enquanto úmida. Já na imagem (B), com 7 ciclos, é possível constatar uma superfície com aspecto mais rugoso, podendo notar pequenos pontos menos brancos (mais amarelados). Enquanto que, na imagem (C), correspondente a 10 ciclos, a lesão de mancha branca mostra-se menos concentrada e menos opaca. Nenhuma das três imagens apresentam grandes cavitações, com exposição dentinária. De acordo com o código ICDAS, a figura 9A se assemelha ao código 2 (mancha branca perceptível com a superfície dentária úmida) e, as figuras 9B e 9C parecem demonstrar maior similaridade com lesões de mancha branca classificadas com o código 3 (pode-se notar cavitações sem exposição de dentina).

Figura 9. Amostras com lesões de mancha branca de cárie induzidas artificialmente por protocolos com soluções des-remineralizantes em diferentes tempos.



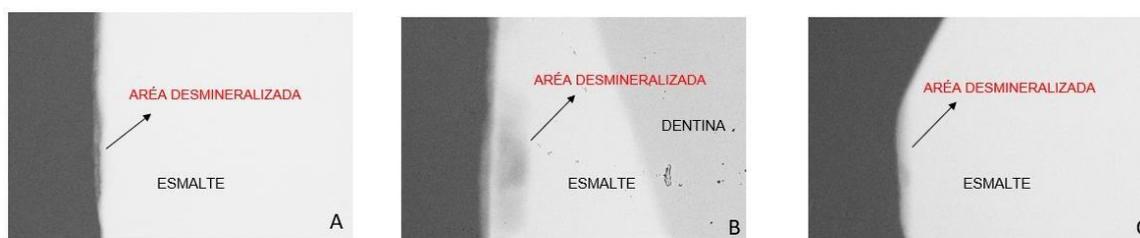
A – 4 ciclos de des-remineralização
 B – 7 ciclos de des-remineralização
 C – 10 ciclos de des-remineralização
 *Considerando 24h um ciclo.

5.3 MICRORADIOGRAFIA (TMR)

A figura 10 exibe imagens qualitativas de áreas desmineralizadas do esmalte dental após a execução de protocolos com soluções des-remineralizantes em diferentes tempos: (A) 4 ciclos, (B) 7 ciclos e (C) 10 ciclos. As microradiografias demonstram que todas as amostras tiveram, em algum nível, alteração da estrutura mineral do esmalte. Áreas radiolúcidas no esmalte dental indicam desmineralização. Na figura A (4 ciclos) observa-se uma pequena área radiolúcida, sugerindo uma

desmineralização mais superficial do esmalte. Enquanto que, na figura B (7 ciclos) é possível notar grande área radiolúcida no esmalte dental, sugestiva de uma desmineralização mais profunda. Já a figura C (10 ciclos) apresenta uma área radiolúcida menor, com um leve sombreamento na região interna do esmalte.

Figura 10. Microradiografias das amostras submetidas aos diferentes protocolos de des-remineralização.

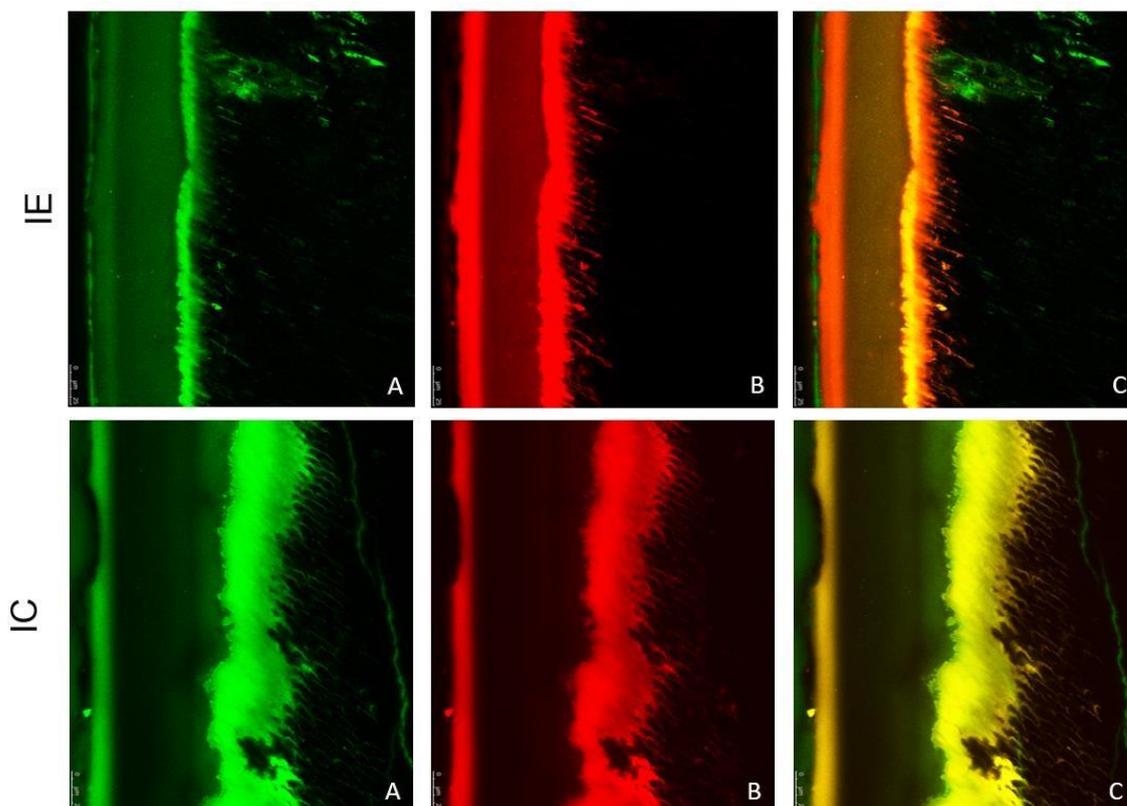


A – 4 ciclos de des-remineralização
 B – 7 ciclos de des-remineralização
 C – 10 ciclos de des-remineralização
 *Considerando 24h um ciclo.

5.4 PROFUNDIDADE DE PENETRAÇÃO DOS INFILTRANTES

As imagens qualitativas, em microscopia confocal de fluorescência, da profundidade e homogeneidade da penetração dos materiais resinosos Icon (IC) e Experimental (IE) infiltrados nas lesões de mancha branca de cárie são apresentadas na figura 11. Através das imagens representativas é possível observar que os dois grupos foram capazes de infiltrar as lesões de mancha branca de cárie induzidas artificialmente. As imagens referentes ao grupo Icon demonstram uma camada de material resinoso mais densa quando comparado ao grupo Experimental. Contudo, o infiltrante experimental exibiu uma melhor homogeneização dentro do corpo poroso, em relação ao infiltrante comercial.

Figura 11. Profundidade de penetração dos grupos Icon (IC) e Experimental (IE) em microscopia confocal de fluorescência em 63x. Figura A – estrutura dental desmineralizada em verde. Figura B – material resinoso infiltrado corado em vermelho. Figura C – interação entre o material resinoso corado (em vermelho) e estrutura dental desmineralizada (em verde).



5.5 RUGOSIDADE E MICRODUREZA SUPERFICIAL DO MATERIAL INFILTRADO

A rugosidade superficial foi significativamente diferente nos três tempos avaliados (Tabela 3). Pode-se observar maior rugosidade superficial no tempo 1 (lesão de mancha branca de cárie), para ambos os grupos. No tempo 2, após a infiltração dos materiais resinosos testados (Icon e Experimental), pode-se constatar uma redução dessa rugosidade quando comparado ao tempo 1. Enquanto que, no tempo 3 (material resinoso infiltrado exposto a ciclagem de pH), a rugosidade superficial apresenta, novamente, um aumento em relação ao tempo 2, porém menor se comparado ao tempo 1. Já em relação aos materiais analisados, ambos foram capazes de reduzir a rugosidade superficial da área desmineralizada após a infiltração, não havendo diferença estatística entre eles. Contudo, no tempo 3, a

rugosidade foi significativamente maior para o grupo do infiltrante experimental, verificando assim interação significativa entre os fatores material e tempo para a rugosidade.

Tabela 3. Média (desvio padrão), mediana (valor mínimo e máximo) da rugosidade (μm) em função do material e do tempo.

Tempo	Material			
	Infiltrante Icon		Infiltrante Experimental	
	Média (desvio padrão)	Mediana (valor mínimo e máximo)	Média (desvio padrão)	Mediana (valor mínimo e máximo)
Tempo 1	2,66 (0,74) Aa	2,61 (1,43; 4,45)	3,05 (0,8) Aa	3,36 (1,36; 4,77)
Tempo 2	0,54 (0,13) Ac	0,56 (0,23; 0,78)	0,65 (0,36) Ac	0,52 (0,25; 1,49)
Tempo 3	0,83 (0,32) Bb	0,70 (0,46; 1,42)	1,30 (0,57) Ab	1,16 (0,41; 2,73)

Tempo 1 – Lesão de mancha branca de cárie; Tempo 2 – Material Resinoso Infiltrado; Tempo 3 – Material Resinoso Infiltrado exposto a ciclagem de pH. Letras distintas (maiúsculas na vertical e minúsculas na horizontal) indicam diferenças estatisticamente significativas ($p \leq 0,05$). $p(\text{grupo})=0,0226$; $p(\text{tempo}) < 0,0001$;

A Tabela 4 mostra os resultados obtidos pela análise dos dados da microdureza superficial, apontando interação significativa entre os fatores material e tempo. Pode-se observar que no tempo 1 (lesão de mancha branca de cárie) os valores da microdureza foram estatisticamente semelhantes entre os grupos. No tempo 2 (material resinoso infiltrado) é possível constatar diferença estatística apenas com o infiltrante experimental, apresentando valor de microdureza menor, quando comparado ao tempo 1. Já no tempo 3 (material resinoso infiltrado exposto a ciclagem de pH), a microdureza superficial reduziu significativamente para os dois grupos testados. Em relação aos materiais estudados, o grupo Icon não alterou estatisticamente a microdureza da área desmineralizada após sua infiltração (tempo 2). Já o grupo experimental obteve um valor de microdureza significativamente menor após sua infiltração quando comparado ao grupo Icon. Para o infiltrante Icon, a microdureza foi significativamente menor no tempo 3 do que nos outros dois tempos. Ao passo que, o infiltrante experimental apresentou diminuição significativa da microdureza no decorrer do tempo. Não houve diferença significativa entre os dois materiais quanto a microdureza no tempo 3.

Tabela 4. Média (desvio padrão), mediana (valor mínimo e máximo) da microdureza (kg/mm^2) em função do material e do tempo.

Tempo	Material			
	Infiltrante Icon		Infiltrante Experimental	
	Média (desvio padrão)	Mediana (valor mínimo e máximo)	Média (desvio padrão)	Mediana (valor mínimo e máximo)
Tempo 1	125,54 (38,51) Aa	122,84 (69,94; 184,30)	150,41 (42,28) Aa	151,99 (75,56; 247,76)
Tempo 2	140,86 (50,67) Aa	123,35 (85,94; 252,83)	95,41 (37,66) Bb	79,68 (55,30; 174,79)
Tempo 3	79,77 (16,86) Ab	80,03 (54,44; 130,26)	74,47 (16,15) Ac	74,87 (53,24; 103,27)

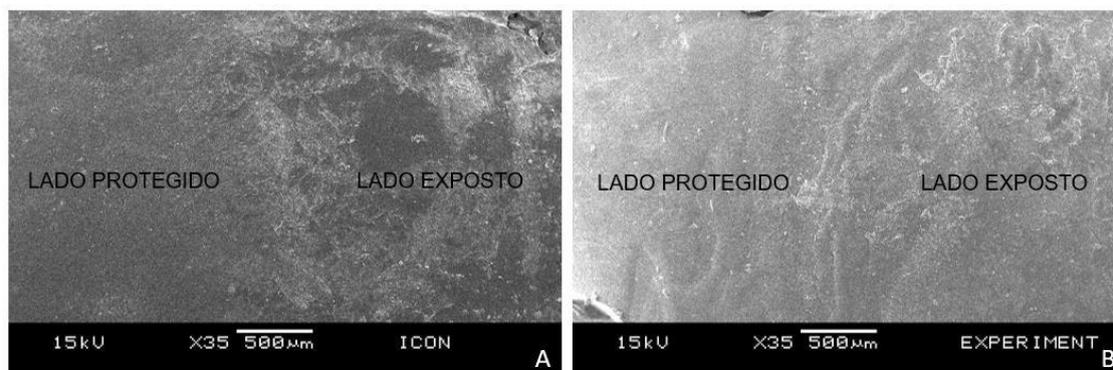
Tempo 1 – Lesão de mancha branca de cárie; Tempo 2 – Material Resinoso Infiltrado; Tempo 3 – Material Resinoso Infiltrado exposto a ciclagem de pH. Letras distintas (maiúsculas na vertical e minúsculas na horizontal) indicam diferenças estatisticamente significativas ($p \leq 0,05$). $p(\text{grupo})=0,0592$; $p(\text{tempo}) < 0,0001$; $p(\text{grupo} \times \text{tempo})=0,0037$.

5.6 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

Imagens representativas do padrão de rugosidade do esmalte infiltrado-protetido e, do esmalte infiltrado-exposto à ciclagem de pH são apresentadas na figura 12. As imagens qualitativas sugerem alteração da superfície para os dois grupos de materiais resinosos avaliados, quando comparados os lados protegido e exposto das amostras analisadas. A figura A, representando o grupo Icon, demonstra maior alteração superficial quando comparados o lado protegido e o lado exposto, em relação grupo Experimental. Já na figura B, referente ao grupo Experimental, pouca diferença é notada entre os dois lados avaliados.

Figura 12. Topografia das amostras infiltradas com os materiais resinosos e submetidas à ciclagem de pH, em 35x. Figura A – grupo Icon (metade da amostra

protegida e metade exposta à ciclagem de pH). Figura B – grupo Experimental (metade da amostra protegida e metade exposta à ciclagem de pH).



6 DISCUSSÃO

Assim como no meio oral, trocas iônicas ocorrem entre as soluções e o esmalte dental, alterando sua estrutura mineral interna (Kunin et al., 2015). Isso pode explicar a redução dos valores de microdureza das amostras avaliadas no presente estudo. O esmalte dental apresenta inconstância nas suas propriedades mecânicas, e isso está diretamente relacionado à sua composição química e organização estrutural (Al-Obaidi et al., 2018). Sabe-se que a redução das propriedades mecânicas do esmalte desmineralizado está relacionada à perda de sua substância inorgânica (Al-Obaidi et al., 2018), ou seja, a sua composição influencia diretamente nas suas propriedades mecânicas, como a dureza (Gallagher et al., 2010; Xu et al., 2012). E tais propriedades se apresentam inversamente proporcionais à profundidade de penetração do indentador, devido à organização estrutural do esmalte (Al-Obaidi et al., 2018). Dessa forma, pode-se supor que quanto maior o tempo de exposição da amostra à uma solução desmineralizante, maior tende a ser a alteração da sua composição mineral e, conseqüentemente, menor valor de dureza alcançado. Isso pode explicar o valor de microdureza significativamente menor do grupo de 10 ciclos quando comparado ao outros dois grupos.

Em estudo prévio foi constatado, através de um método de imagem, que as alterações na estrutura do esmalte estão associadas ao número de ciclos de pH, ou seja, a profundidade da área desmineralizada aumenta progressivamente conforme o tempo em que as amostras são submetidas às soluções des-

remineralizadoras (Al-Obaidi et al., 2019, 2018). O presente estudo corrobora com a literatura, visto que, qualitativamente, 7 ciclos de des-re promoveu maior área desmineralizada quando comparados aos 4 ciclos. Contudo, a imagem do grupo com 10 ciclos exibiu uma área menor de desmineralização, quando comparado ao grupo com 7 ciclos. Tais diferenças encontradas nas imagens de TMR entre as amostras de 7 e 10 ciclos podem refletir diferenças microestruturais do esmalte, obtendo-se um padrão de desmineralização diferente entre as amostras. Segundo Al-Obaidi et al. (2019), ao utilizar as mesmas soluções testadas no presente estudo, alterações no esmalte foram detectadas com apenas três ciclos de des-re, tornando-se significativamente evidente após o sétimo ciclo (gerando uma lesão profunda com camada superficial íntegra); porém, no oitavo ciclo (8 dias), o esmalte dental sofreu dissolução (Al-Obaidi et al., 2019).

Em outro estudo, Gouvêa et al (2020) observaram, também através da TMR, que amostras submetidas a 10 ciclos de des-remineralização (com as mesmas soluções e pH utilizados no presente estudo) apresentaram dissolução do esmalte em forma de cavitações (Gouvêa et al., 2020). Gouvêa e outros autores relataram que a ausência do flúor nas soluções des-remineralizantes pode interferir na dissolução do esmalte durante o processo de indução de cárie, sendo, então, preferível sua adição à solução para a manutenção da camada superficial (Afonso et al., 2010; Gouvêa et al., 2020). Entretanto, outros trabalhos exibiram resultado diferente (sem dissolução do esmalte) ao empregar as mesmas soluções e pH deste estudo, sem a adição do flúor (Rana et al., 2007; Thaveesangpanich et al., 2005). Ademais, alguns fatores são importantes para a manutenção da camada superficial do esmalte além do fluoreto, como a presença de cálcio e fosfato nas soluções, assim como o pH e o tempo após a desmineralização inicial, visto que a saturação pode ser alcançada com o tempo, de acordo com o volume e viscosidade das soluções em relação à área exposta (Afonso et al., 2010).

Segundo a literatura, dentes que apresentam código ICDAS 2 são mais facilmente identificados quando comparados aos códigos 1 e 3 (Honkala et al., 2011). Entretanto, essa afirmação não é consenso, já que em outro estudo prévio, dentistas clínicos e estudantes de Odontologia apresentaram maior dificuldade em reconhecer

dentos com código ICDAS 2 (Al Dhubayb et al., 2021), quando comparado aos códigos 1 e 3. No presente estudo, as lesões de mancha branca foram facilmente identificadas e classificadas. No entanto, é reconhecido que lesões de cárie naturais e induzidas artificialmente podem apresentar diferenças estruturais (Afonso et al., 2010; Shima M et al., 2016), o que pode refletir no aspecto visual das mesmas e, conseqüentemente, na sua identificação.

Além disso, Honkala et al (2011), em estudo clínico prévio, observou prevalência do código ICDAS 2 em molares permanentes superiores e inferiores (Honkala et al., 2011). Já no estudo *in vitro* aqui apresentado, apenas o grupo de 4 ciclos apresentou código ICDAS 2, contudo o número de amostras avaliadas foi pequeno, ocasionando um resultado qualitativo, sendo necessário um tamanho amostral maior para análise quantitativa e comparação adequada com demais estudos; além do mais, diferentes tempos de des-remineralização foram utilizados, podendo-se esperar que lesões com diferentes códigos ICDAS fossem formadas. Em relação à apresentação das lesões, Paris et al. (2011) observaram, através da microscopia confocal, que 11/20 lesões de mancha branca de cárie naturais, código ICDAS 3, apresentavam cavitações, apesar de rasas (<1mm). Este estudo corrobora com o estudo de Paris, visto que as lesões de mancha branca, induzidas artificialmente, classificadas com código ICDAS 3, também apresentaram, visualmente, microcavitações.

Apesar do método ICDAS requerer um tempo maior para examinação (em comparação a outros métodos), tendo em vista que toda a superfície do dente precisa ser avaliada, este método oferece um maior número de informações consideradas relevantes sobre os estágios da cárie; quando utilizado, é possível planejar terapia de remineralização para cada paciente e, além disso, monitorar o padrão de cárie de uma população (Honkala et al., 2011). Embora o ICDAS ainda apresente limitações, como a não identificação da atividade da lesão de mancha branca (Ismail et al., 2007), sua validade e reprodutibilidade já foi testada em muitos estudos (Braga et al., 2009; Jablonski-Momeni et al., 2008; Langhorst et al., 2009; Mendes et al., 2010; Shoaib et al., 2009). É sabido que alguns profissionais de saúde e estudantes de Odontologia têm dificuldade no reconhecimento de lesões de mancha branca de cárie (Al Dhubayb

et al., 2021); dessa maneira, o código ICDAS pode auxiliar na prática de detecção da cárie ainda em estágios iniciais, proporcionando terapêuticas mais conservadoras. Diante dos resultados apresentados neste estudo, pode-se afirmar que todas as três primeiras hipóteses nulas testadas, de que (I) Não há diferença entre os protocolos de 4, 7 e 10 ciclos estudados, (II) Não há diferença entre os tempos (pré e pós des-mineralização) e (III) Não há interação entre os protocolos e o tempo, foram rejeitadas.

Na segunda parte do presente estudo, foram comparados dois materiais infiltrantes resinosos, sendo um experimental e outro comercial, em lesões de cárie incipientes, induzidas artificialmente por dez ciclos de des-mineralização. E, em relação à profundidade de penetração, o infiltrante experimental foi capaz de penetrar na lesão de mancha branca induzida artificialmente, assim como o infiltrante comercial. Ambos os infiltrantes resinosos exibiram penetração homogênea no corpo poroso da lesão de mancha de cárie. A literatura relata que o condicionamento ácido prévio tem o papel de auxiliar na penetração do material resinoso no corpo da lesão de mancha branca, por tornar mais porosa a camada superficial pseudo-intacta do esmalte (Arnold et al., 2016; Wang et al., 2021; Yazkan e Ermis, 2018). Tal passo pode ter contribuído para a penetração de ambos os infiltrantes resinosos nas lesões de mancha branca de cárie, neste estudo. Além disso, os materiais resinosos testados contêm grande quantidade de TEGDMA em sua composição, o qual apresenta como característica alta fluidez, contribuindo positivamente na penetrabilidade dos infiltrantes (Mandava et al., 2017).

A infiltração resinosa nas lesões de mancha branca de cárie resulta em um esmalte híbrido com a presença de tags resinosos que impregnam e se entrelaçam com o esmalte interprismático, reforçando o esmalte dental (Min et al., 2015; Perdigão, 2020). Apesar de, neste estudo, o infiltrante experimental demonstrar penetração na lesão de cárie, o Icon exibiu uma camada mais espessa de resina. Isso pode estar associado ao fato de que o Icon apresenta como base da sua composição o monômero TEGDMA (segundo fabricante), o qual confere ao produto maior fluidez e menor ângulo de contato, propriedades consideradas importantes para uma boa penetração do produto (Gaglianone et al., 2020; Subramaniam et al., 2014). Sabe-se

que materiais resinosos com menor ângulo de contato são mais propensos a penetrar no corpo poroso da lesão cariosa (Mathias et al., 2019). Já o infiltrante experimental, apesar de conter 75% de TEGDMA, apresenta também o monômero BisEMA, o qual apresenta maior peso molecular e, conseqüentemente, maior viscosidade quando comparado ao TEGDMA (Goñalves et al., 2009), o que pode ter contribuído para uma menor perfusão dentro do corpo da lesão de mancha branca de cárie.

Todas as outras três hipóteses nulas deste estudo, referentes agora à segunda parte do estudo, foram rejeitadas. Os materiais estudados se comportaram de maneira diferente entre si, havendo diferença também entre os tempos avaliados, além da interação entre material e tempo, tanto para a rugosidade quanto para a microdureza superficial analisadas. A aplicação do infiltrante experimental reduziu a rugosidade da região tratada, de forma semelhante ao infiltrante comercial Icon, não havendo diferença de forma significativa entre os grupos avaliados. Ou seja, o infiltrante experimental mostrou não ser menos eficaz que o infiltrantes Icon quanto à redução da rugosidade, ao proporcionar uma superfície mais lisa quando comparada à superfície da lesão de mancha branca não tratada.

Essa redução dos valores pode ter se dado devido à impregnação do material nas irregularidades do esmalte, formadas após a perda de minerais no processo de desmineralização (Taher et al., 2012). De tal forma, o material resinoso preenche os poros do esmalte, oriundos da perda mineral, deixando a superfície mais uniforme e mais lisa (Arnold et al., 2016). Sabe-se que, a percepção dos pacientes em relação à rugosidade da superfície dentária, geralmente se dá quando o valor de Ra é superior à 0,5 μm (Arnold et al., 2016; Jones et al., 2004). No estudo aqui apresentado, os infiltrantes resinosos apresentaram valor de rugosidade de 0,54 μm (infiltrante Icon) e 0,65 μm (infiltrante Experimental), não havendo diferença estatística entre eles. Além disso, neste estudo não foi realizado o polimento da região infiltrada, conforme a indicação do fabricante do infiltrante Icon, por dificuldade de padronização do mesmo, constando como uma limitação da metodologia proposta. Isso pode ter influenciado nos valores de rugosidade logo após a infiltração, embora já tenha sido observado que o uso de tiras de acabamento após a infiltração resinosa não foi

considerado vantajoso em relação à rugosidade superficial da região tratada (Yazkan e Ermis, 2018).

Entretanto, diante da exposição dos dentes infiltrados à um desafio ácido, a rugosidade do grupo experimental sofreu uma nova elevação, não sendo diferente do grupo Icon, que também alcançou valor de rugosidade mais alto. Isso pode ter ocorrido devido às alterações da cadeia polimérica dos materiais infiltrantes perante um meio ácido (Neres et al., 2017). Além disso, os materiais resinosos testados apresentam grande quantidade do monômero TEGDMA, o qual apresenta alta hidrofília, tornando-os propensos à sorção de água e solubilidade e, conseqüentemente, degradação química frente à um meio aquoso (Arnold et al., 2016; Neres et al., 2017). O fato do material se degradar em meio aquoso, pode proporcionar novas irregularidades na superfície dos dentes infiltrados, ou seja, o material deixa de preencher os microespaços que antes eram preenchidos (Neres et al., 2017).

Considerando os materiais em si, o infiltrante experimental apresentou maior valor de rugosidade superficial após sua exposição a um desafio ácido, quando comparado ao infiltrante Icon. Isso pode estar relacionado à maior viscosidade do infiltrante experimental e, conseqüentemente, menor penetração no corpo da lesão, (El-Meligy et al., 2018); o que pode contribuir para maior retenção do infiltrante experimental na superfície do esmalte e, maior chance de degradação, assim como a formação de novas irregularidades superficiais (Neres et al., 2017). Deve-se considerar ainda que a composição do infiltrante Icon ainda é desconhecida na sua totalidade. Apesar do fabricante do produto relatar a presença do monômero TEGDMA, o material ainda se apresenta em patente, sendo o único infiltrante resinoso comercializado. Contudo, o valor de rugosidade exibido após a exposição do material experimental ao desafio ácido ainda foi menor que aquele observado na lesão de mancha branca de cárie não tratada. A redução do valor de rugosidade superficial se faz importante, visto que tende a diminuir a alteração de cor e alteração de brilho da superfície dentária (Sang et al., 2021); além da redução do acúmulo de biofilme, fator importante para a prevenção da cárie e gengivite (Ashwath et al., 2014).

Nas imagens representativas de MEV deste estudo, tanto o infiltrante resinoso experimental quanto o infiltrante comercial Icon demonstraram uma superfície mais rugosa no lado exposto à ciclagem de pH, se comparada às suas superfícies infiltradas-protegidas (as quais se mostraram mais uniformes e mais lisas); estando as imagens compatíveis com os resultados quantitativos, onde se observou aumento da rugosidade após exposição à ciclagem de pH para ambos os materiais, embora esse aumento tenha permanecido inferior ao valor inicial. Contudo, comparando apenas as imagens dos lados expostos à ciclagem, dos dois infiltrantes, o Icon apresentou uma superfície mais alterada, sugerindo uma superfície mais rugosa, apesar de nos resultados quantitativos isso não ter sido constatado. Ainda que alguns estudos prévios tenham observado redução da rugosidade superficial da mancha branca de cárie após a aplicação do material comercial (Puleio et al., 2021; Yazkan e Ermis, 2018), outros autores observaram que, após sua exposição ao desafio ácido, os valores de rugosidade aumentaram, estando isso atribuído, segundo os autores, à degradação química da cadeia polimérica do material diante de um meio ácido (Neres et al., 2017).

Já em relação à microdureza superficial, tanto o infiltrante resinoso experimental quanto o comercial Icon não foram capazes de aumentá-la após suas aplicações. O infiltrante experimental apresentou menor desempenho que o Icon após a sua infiltração na lesão de mancha branca de cárie, demonstrando microdureza significativamente menor que o valor inicial (microdureza da lesão de mancha branca de cárie não tratada), sendo estatisticamente diferente também em relação ao infiltrante comercial Icon. Isso pode ter ocorrido devido à desmineralização adicional promovida pelo condicionamento ácido, previamente à sua infiltração. Sabe-se que, ao realizar o condicionamento ácido com o ácido hidrocloreídrico a 15%, a quantidade de estrutura do esmalte removida é cerca de 40 μm (Dogra et al., 2020; Soveral et al., 2021) e, além disso, tal condicionamento proporciona maior abertura dos poros da lesão (Abbas et al., 2018). E, somado a isso, uma penetração deficiente do material resinoso experimental no corpo da lesão pode ter acontecido, por conta da sua maior viscosidade. Dessa forma, pode ter ocorrido um aumento da perda mineral do esmalte, sem a devida substituição pelo infiltrante (El Meligy et al., 2021). Ou seja, a

diferença nos valores de microdureza, encontrados neste estudo, pode ser explicada pela diferença na composição dos materiais testados (Taher et al., 2012).

Este estudo está de acordo com estudo prévio que avaliou um infiltrante resinoso contendo BisGMA e constatou que tal material não aumentou a microdureza ou resistência à desmineralização quando comparado ao infiltrante contendo TEGDMA puro (Paris et al., 2013). Segundo os autores, isso pode ter acontecido devido à menor profundidade de penetração alcançada pelo material, visto que o BisGMA apresenta uma viscosidade mais alta e um coeficiente de penetração menor (Paris et al., 2013; Meyer-Lueckel e Paris, 2010). O BisEMA, utilizado no infiltrante experimental deste estudo, tem uma estrutura molecular muito semelhante ao BisGMA, exceto pela ausência dos grupos hidroxilas (Goñalves et al., 2009), o que pode gerar semelhança entre os resultados.

Da mesma maneira, o infiltrante Icon não foi capaz de aumentar de forma significativa a microdureza do esmalte desmineralizado após sua aplicação. Segundo a literatura, a formação de uma cadeia polimérica nem sempre acontece em toda a lesão após a aplicação do infiltrante resinoso (Soveral et al., 2021; Zakizade et al., 2020). Diante disso, a soma de uma forte ligação intermolecular insuficiente com uma possível não infiltração resinoso em toda a lesão de mancha branca pode ter contribuído para a não recuperação da microdureza do esmalte (Soveral et al., 2021; Zakizade et al., 2020). Além disso, a própria contração de polimerização do material resinoso pode ocasionar regiões do esmalte desmineralizado sem preenchimento, o que acaba contribuindo para a manifestação de uma microdureza menor (Neres et al., 2017; Taher et al., 2012; Torres et al., 2012).

E, após a exposição à ciclagem de pH das amostras infiltradas, os valores de microdureza se apresentaram ainda mais baixos, tanto para o infiltrante resinoso experimental quanto para o comercial Icon, não havendo diferença estatística entre os mesmos; porém, os dois grupos de infiltrantes exibiram uma diferença estatisticamente significativa em relação à microdureza registrada logo após suas infiltrações na lesão de mancha branca. Isso pode estar associado à degradação e dissolução do material resinoso em meio aquoso após os períodos da ciclagem de pH

(Baafif et al., 2020). Ademais, pode ter ocorrido também uma nova dissolução de regiões dentro do corpo da lesão cariada que não foram totalmente incorporados pelo infiltrante (Zakizade et al., 2020). Outra causa para tal resultado pode ser a alta quantidade do monômero TEGDMA na composição dos infiltrantes resinosos, o qual é altamente hidrofílico, apresentando menor resistência à degeneração em meio aquoso (Zakizade et al., 2020). A literatura exhibe alguns estudos controversos em relação à alteração da microdureza após a aplicação do infiltrante comercial Icon (Behrouzi et al., 2020; Soveral et al., 2021; Taher et al., 2012); da mesma maneira, outros estudos demonstram resultados distintos sobre sua resistência frente a novos desafios ácidos (El Meligy et al., 2021; Neres et al., 2017).

Considerando os resultados obtidos, pode-se pensar, para estudos futuros, na alteração da sua composição monomérica do infiltrante experimental, a fim de se alcançar menor viscosidade e maior penetrabilidade na lesão cariada e/ou aumentar a concentração do iniciador, visando aumentar a conversão dos monômeros e, conseqüentemente, aumentar os valores de microdureza (El Meligy et al., 2021); A realização do teste de microdureza seccional (El Meligy et al., 2021; Paris et al., 2013; Yazkan e Ermis, 2018) também pode ser interessante, com o objetivo de que toda a extensão da região desmineralizada e infiltrada seja avaliada, e não apenas superficialmente. E, estudos clínicos adicionais fazem-se necessários, visto que as condições de execução dos estudos *in vitro* e *in vivo* são distintas e, certas circunstâncias clínicas, como a presença da saliva e oscilações de temperatura, não foram avaliadas.

Ademais, já é constatado que a infiltração resinosa contribui de forma positiva no tratamento de lesões de mancha branca de cárie, evitando desgaste da estrutura dentária, além de oferecer estabilidade para as lesões cariosas incipientes, impedir a progressão das mesmas (Arslan and Kaplan, 2020; Paris et al., 2020; Peters et al., 2019; Yazkan and Ermis, 2018), e, conseqüentemente, retardar a necessidade de um tratamento restaurador, além de proporcionar bons resultados estéticos (Kielbassa et al., n.d.; El Meligy et al., 2021).

Finalmente, este estudo indica que o infiltrante experimental foi capaz de penetrar as lesões de cárie incipientes e, se mostrou eficiente na redução da

rugosidade de superfície do esmalte desmineralizado, quando comparado ao infiltrante comercial. Contudo, o agente resinoso experimental, assim como o Icon, não aumentou a microdureza superficial do esmalte tratado. Tais resultados permitiram concluir que, apesar do não restabelecimento da microdureza superficial do esmalte, o material resinoso experimental pode ser utilizado, de forma satisfatória, em casos onde se deseja paralisar a lesão cáriosa e reduzir a rugosidade superficial da área afetada, a fim de evitar o acúmulo de biofilme e progressão da lesão cáriosa.

7 CONCLUSÃO

- Foi selecionado o protocolo com dez ciclos de des-remineralização (código 3 ICDAS) para padronização metodológica.
- O infiltrante resinoso experimental penetrou na lesão de mancha branca de cárie, assim como o infiltrante Icon.
- O infiltrante resinoso experimental reduziu a rugosidade superficial da lesão de mancha branca de cárie, mesmo depois de exposto à ciclagem de pH.
- O infiltrante resinoso experimental não aumentou a microdureza superficial do esmalte após sua infiltração e, exposição à ciclagem de pH.

REFERÊNCIAS

Abbas BA, Marzouk ES, Zaher AR. Treatment of various degrees of white spot lesions using resin infiltration—in vitro study. *Prog Orthod* 2018;19.

<https://doi.org/10.1186/s40510-018-0223-3>.

Afonso M, Buzalaf R, Hannas AR, Magalhães AC, Rios D, Honório HM, et al. the Efficacy of Fluoridated Dentifrices for Caries Control : Strengths and Limitations. *J Appl Oral Sci* 2010;18:316–34.

Ahovuo-Saloranta A, Forss H, Walsh T, Nordblad A, Mäkelä M, Worthington H V. Pit and fissure sealants for preventing dental decay in permanent teeth. *Cochrane Database Syst Rev* 2017;2017. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD001830.pub5>.

Al-Obaidi R, Salehi H, Desoutter A, Bonnet L, Etienne P, Terrer E, et al. Chemical & Nano-mechanical Study of Artificial Human Enamel Subsurface Lesions. *Sci Rep* 2018;8:1–8. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-22459-7>.

Al-Obaidi R, Salehi H, Desoutter A, Tassery H, Cuisinier F. Formation and assessment of enamel subsurface lesions in vitro. *J Oral Sci* 2019;61:454–8. <https://doi.org/10.2334/josnurd.18-0174>.

Anauate-Netto C, Borelli Neto L, Amore R, Di Hipólito V, D'Alpino PHP. Caries progression in non-cavitated fissures after infiltrant application: A 3-year follow-up of a randomized controlled clinical trial. *J Appl Oral Sci* 2017;25:442–54.

<https://doi.org/10.1590/1678-7757-2016-0633>.

Araújo GSA, Sfalcin RA, Araújo TGF, Alonso RCB, Puppim-Rontani RM. Evaluation of polymerization characteristics and penetration into enamel caries lesions of experimental infiltrants. *J Dent* 2013;41:1014–9.

<https://doi.org/10.1016/j.jdent.2013.08.019>.

Argenta RMO, Tabchoury CPM, Cury JA. A modified pH-cycling model to evaluate fluoride effect on enamel demineralization. *Pesqui Odontol Bras* 2003;17:241–6.

<https://doi.org/10.1590/S1517-74912003000300008>.

Arnold WH, Bachstaedter L, Benz K, Naumova EA. Resin Infiltration into Differentially Extended Experimental Carious Lesions. *Open Dent J* 2015;8:251–6.

<https://doi.org/10.2174/1874210601408010251>.

Arnold WH, Meyer A-K, Naumova EA. Surface Roughness of Initial Enamel Caries Lesions in Human Teeth After Resin Infiltration. *Open Dent J* 2016;10:505–15.

<https://doi.org/10.2174/1874210601610010505>.

Arslan S, Kaplan MH. The Effect of Resin Infiltration on the Progression of Proximal Caries Lesions: A Randomized Clinical Trial. *Med Princ Pract* 2020;29:238–43.

<https://doi.org/10.1159/000503053>.

Ashwath B, Vijayalakshmi R, Arun D, Kumar V. Site-based plaque removal efficacy of four branded toothbrushes and the effect of dental floss in interproximal plaque removal: A randomized examiner-blind controlled study. *Quintessence Int (Berl)* 2014;45:577–84.

<https://doi.org/10.3290/j.qi.a31960>.

Aziznezhad M, Alaghemand H, Shahande Z, Pasdar N, Bijani A, Eslami A, et al.

Comparison of the effect of resin infiltrant, fluoride varnish, and nano-hydroxy apatite paste on surface hardness and streptococcus mutans adhesion to artificial enamel lesions. *Electron Physician* 2017;9:3934–42. <https://doi.org/10.19082/3934>.

Baafif H, Alibrahim I, Alotaibi S, Alharbi H, Shubaily M, Elkatehy W. The efficacy of resin infiltrant and casein phosphopeptide-amorphous calcium fluoride phosphate in treatment of white spot lesions (comparative study). *J Int Soc Prev Community Dent* 2020;10:438–44. https://doi.org/10.4103/jispcd.JISPCD_483_19.

Behrouzi P, Heshmat H, Hoorizad Ganjkar M, Tabatabaei SF, Kharazifard MJ. Effect of Two Methods of Remineralization and Resin Infiltration on Surface Hardness of Artificially Induced Enamel Lesions. *J Dent (Shiraz, Iran)* 2020;21:12–7. <https://doi.org/10.30476/DENTJODS.2019.77864>.

Bernett Zurita GP, Camargo Huertas HG, López Pérez LA, Torres Rodríguez C, Delgado Mejía E. Simplified chemical method of demineralization in human dental enamel. *Rev Cubana Estomatol* 2019;56:13–26.

Borges AB, Caneppele TMF, Masterson D, Maia LC. Is resin infiltration an effective esthetic treatment for enamel development defects and white spot lesions? A systematic review. *J Dent* 2017;56:11–8. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2016.10.010>.

Braga MM, Oliveira LB, Bonini GAVC, Bönecker M, Mendes FM. Feasibility of the international caries detection and assessment system (icdas-ii) in epidemiological surveys and comparability with standard world health organization criteria. *Caries Res* 2009;43:245–9. <https://doi.org/10.1159/000217855>.

Ceci M, Rattalino D, Viola M, Beltrami R, Chiesa M, Colombo M, et al. Resin infiltrant for non-cavitated caries lesions: Evaluation of color stability. *J Clin Exp Dent* 2017;9:e231–7. <https://doi.org/10.4317/jced.53110>.

Davila JM, Buonocore MG, Greeley CB, Provenza DV. Adhesive penetration in human artificial and natural white spots. *J Dent Res* 1975;54(5):999-1008. doi: 10.1177/00220345750540054201.

Denis M, Atlan A, Vennat E, Tirlet G, Attal J-P. White defects on enamel: Diagnosis and anatomopathology: Two essential factors for proper treatment (part 1). *Int Orthod* 2013;11:139–65. <https://doi.org/10.1016/j.ortho.2013.02.014>.

Al Dhubayb S, Al Sultan M, Al Sudairi S, Hakami F, Al Sweleh FS. Ability of dentists and students to detect caries by using the international caries detection and assessment system. *Clin Cosmet Investig Dent* 2021;13:379–87. <https://doi.org/10.2147/CCIDE.S324396>.

Dogra S, Goyal V, Singh N, Bholra M, Gupta A, Garg S. Avminimally invasive technique of masking nonpitted fluorosis on young permanent incisors: A clinical trial. *World J Dent* 2020;11:41–6. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10015-1702>.

Elbahrawy EMS, El-Dosoky AI. Remineralization potential of chicken eggshell powder in the treatment of artificially induce enamel carious lesion in permanent teeth. *Egypt Dent J*. 2019; 65:3581-3593.

Featherstone JDB. The continuum of dental caries - Evidence for a dynamic disease process. *J Dent Res* 2004;83:2002–5. <https://doi.org/10.1177/154405910408301S08>.

Ferreira JD, Flor-Ribeiro MD, Marchi GM, Pazinato FB. The Use of Resinous Infiltrants for the Management of Incipient Carious Lesions: a Literature Review. *J Heal Sci* 2019;21:358. <https://doi.org/10.17921/2447-8938.2019v21n4p358-64>.

Gaglianone LA, Pfeifer CS, Mathias C, Puppini-Rontani RM, Marchi GM. Can composition and preheating improve infiltrant characteristics and penetrability in demineralized enamel? *Braz Oral Res* 2020;34:1–11. <https://doi.org/10.1590/1807-3107BOR-2020.VOL34.0099>.

Gallagher RR, Balooch M, Balooch G, Wilson RS, Marshall SJ, Marshall GW. Coupled nanomechanical and raman microspectroscopic investigation of human third molar DEJ. *J Dent Biomech* 2010;1:1–7. <https://doi.org/10.4061/2010/256903>.

Goñalves F, Kawano Y, Pfeifer C, Stansbury JW, Braga RR. Influence of BisGMA, TEGDMA, and BisEMA contents on viscosity, conversion, and flexural strength of experimental resins and composites. *Eur J Oral Sci* 2009;117:442–6. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0722.2009.00636.x>.

Gouvêa DB, Dos Santos NM, Pessan JP, Jardim JJ, Rodrigues JA. Enamel subsurface caries-like lesions induced in human teeth by different solutions: A TMR analysis. *Braz Dent J* 2020;31:157–63. <https://doi.org/10.1590/0103-6440202003123>.

Honkala E, Runnel R, Honkala S, Olak J, Vahlberg T, Saag M, et al. Measuring dental caries in the mixed dentition by ICDAS. *Int J Dent* 2011;2011. <https://doi.org/10.1155/2011/150424>.

Inagaki LT, Dainezi VB, Alonso RCB, Paula AB De, Garcia-Godoy F, Puppini-Rontani RM, et al. Evaluation of sorption/solubility, softening, flexural strength and elastic modulus of experimental resin blends with chlorhexidine. *J Dent* 2016;49:40–5. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2016.04.006>.

Ismail AI, Sohn W, Tellez M, Amaya A, Sen A, Hasson H, Pitts NB. The International Caries Detection and Assessment System (ICDAS): an integrated system for measuring dental caries. *Community Dent Oral Epidemiol* 2007; 35: 170–178.

Jablonski-Momeni A, Stachniss V, Ricketts DN, Heinzl-Gutenbrunner M, Pieper K. Reproducibility and accuracy of the ICDAS-II for detection of occlusal caries in vitro. *Caries Res* 2008;42:79–87. <https://doi.org/10.1159/000113160>.

Jones CS, Billington RW, Pearson GJ. The in vivo perception of roughness of restorations 2004. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.4810881>.

Kansal S, Jindal L, Garg K, Thakur K, Mehta S, Pachori H. Discoloration of teeth: literature review. *Int J Heal Clin Res* 2020;3:58–62.

Kielbassa A, Kielbassa A, Wolgin M, Kielbassa A. Closing the gap between oral hygiene and minimally invasive dentistry : a review on the resin infiltration techni ... Related papers n.d.

Kielbassa AM, Ulrich I, Treven L, Mueller J. An updated review on the resin infiltration technique on incipient proximal enamel lesions. *Med Evol* 2010;16:3–15.

Kunin AA, Evdokimova AY, Moiseeva NS. Age-related differences of tooth enamel morphochemistry in health and dental caries. *EPMA J* 2015;6:1–11. <https://doi.org/10.1186/s13167-014-0025-8>.

Langhorst SE, O'Donnell JNR, Skrtic D. In vitro remineralization of enamel by polymeric amorphous calcium phosphate composite: Quantitative microradiographic study. *Dent Mater* 2009;25:884–91. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2009.01.094>.

Lasfargues JJ, Bonte E, Guerrieri A, Fezzani L. Minimal intervention dentistry: Part 6. Caries inhibition by resin infiltration. *Br Dent J* 2013;214:53–9. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2013.54>.

Lee JH, Um CM, Lee I bog. Rheological properties of resin composites according to variations in monomer and filler composition. *Dent Mater* 2006;22:515–26. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2005.05.008>.

Lee JW, Cha HS, Lee JH. Curing efficiency of various resin-based materials polymerized through different ceramic thicknesses and curing time. *J Adv Prosthodont* 2011;3:126–31. <https://doi.org/10.4047/jap.2011.3.3.126>.

López EAL, Dominguez JA, Gomes GM, Mora CAP, Bittencourt BF, Gomes JC, et al. Effect of conditioning protocols and ultrasonic application of an infiltrant resin in white spot lesions. *Braz Dent J* 2019;30:58–65. <https://doi.org/10.1590/0103-6440201902329>.

Mandava J, Reddy YS, Kantheti S, Chalasani U, Ravi RC, Borugadda R, et al. Microhardness and penetration of artificial white spot lesions treated with resin or

colloidal silica infiltration. *J Clin Diagnostic Res* 2017;11:JC05–9.
<https://doi.org/10.7860/JCDR/2017/25512.9706>.

Mathias C, Gomes RS, Dressano D, Braga RR, Aguiar FHB, Marchi GM. Effect of diphenyliodonium hexafluorophosphate salt on experimental infiltrants containing different diluents. *Odontology* 2019;107:202–8. <https://doi.org/10.1007/s10266-018-0391-0>.

El Meligy OAES, Alamoudi NM, Eldin Ibrahim ST, Felemban OM, Al-Tuwirqi AA. Effect of resin infiltration application on early proximal caries lesions in vitro. *J Dent Sci* 2021;16:296–303. <https://doi.org/10.1016/j.jds.2020.04.005>.

Mendes FM, Braga MM, Oliveira LB, Antunes JLF, Ardenghi TMH, Bönecker M. Discriminant validity of the International Caries Detection and Assessment System (ICDAS) and comparability with World Health Organization criteria in a cross-sectional study. *Community Dent Oral Epidemiol* 2010;38:398–407.
<https://doi.org/10.1111/j.1600-0528.2010.00557.x>.

Meyer-Lueckel, Hendrik Paris S. of Natural Caries Lesions 2008:1112–7.

Meyer-Lueckel H, Paris S, Mueller J, Cölfen H, Kielbassa AM. Influence of the application time on the penetration of different dental adhesives and a fissure sealant into artificial subsurface lesions in bovine enamel. *Dent Mater* 2006;22:22–8.
<https://doi.org/10.1016/j.dental.2005.03.005>.

Min JH, Inaba D, Kwon HK, Chung JH, Kim BI. ScienceDirect Evaluation of penetration effect of resin infiltrant using optical coherence tomography. *J Dent*

2015;43:720–5. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2015.03.006>.

Mohamed AM, Abdallah AA, Noaman KM. A Comparative study in penetration depth of resin-based materials into white spot lesion. *Eur j health sci.* 2020;5(3):33-41.

Mueller J, Meyer-Lueckel H, Paris S, Hopfenmuller W, Kielbassa AM. Inhibition of lesion progression by the penetration of resins in vitro: Influence of the application procedure. *Oper Dent* 2006;31:338–45. <https://doi.org/10.2341/05-39>.

Neres Y, Moda MD, Chiba EK, Briso ALF, Pessan JP, Fagundes TC. Microhardness and roughness of infiltrated white spot lesions submitted to different challenges. *Oper Dent* 2017;42:428–35. <https://doi.org/10.2341/16-144-L>.

de Oliveira Correia AM, Bühler Borges A, Torres CRG. Color masking prediction of posterior white spot lesions by resin infiltration in vitro. *J Dent* 2020;95:103308. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2020.103308>.

Paris S, Bitter K, Krois J, Meyer-Lueckel H. Seven-year-efficacy of proximal caries infiltration – Randomized clinical trial. *J Dent* 2020;93:7–10. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2020.103277>.

Paris S, Bitter K, Naumann M, Dörfer CE, Meyer-Lueckel H. Resin infiltration of proximal caries lesions differing in ICDAS codes. *Eur J Oral Sci* 2011;119:182–6. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0722.2011.00807.x>.

Paris S, Bitter K, Renz H, Hopfenmuller W, Meyer-Lueckel H. Validation of two dual fluorescence techniques for confocal microscopic visualization of resin penetration

into enamel caries lesions. *Microsc Res Tech* 2009;72:489–94.
<https://doi.org/10.1002/jemt.20701>.

Paris S, Hopfenmuller W, Meyer-Lueckel H. Resin infiltration of caries lesions: An efficacy randomized trial. *J Dent Res* 2010;89:823–6.
<https://doi.org/10.1177/0022034510369289>.

Paris S, Lausch J, Selje T, Dörfer CE, Meyer-Lueckel H. Comparison of sealant and infiltrant penetration into pit and fissure caries lesions in vitro. *J Dent* 2014;42:432–8.
<https://doi.org/10.1016/j.jdent.2014.01.006>.

Paris S, Meyer-Lueckel H. Inhibition of caries progression by resin infiltration in situ. *Caries Res* 2010a;44:47–54. <https://doi.org/10.1159/000275917>.

Paris S, Meyer-Lueckel H. Infiltrants inhibit progression of natural caries lesions in vitro. *J Dent Res* 2010b;89:1276–80. <https://doi.org/10.1177/0022034510376040>.
Paris S, Meyer-Lueckel H, Cölfen H, Kielbassa AM. Resin infiltration of artificial enamel caries lesions with experimental light curing resins. *Dent Mater J* 2007;26:582–8. <https://doi.org/10.4012/dmj.26.582>.

Paris S, Schwendicke F, Seddig S, Mu W. Micro-hardness and mineral loss of enamel lesions after infiltration with various resins : Influence of infiltrant composition and application frequency in vitro 2013;1:2–7.
<https://doi.org/10.1016/j.jdent.2013.03.006>.

Paris S, Soviero VM, Seddig S, Meyer-Lueckel H. Penetration depths of an infiltrant into proximal caries lesions in primary molars after different application times in vitro.

Int J Paediatr Dent 2012;22:349–55. <https://doi.org/10.1111/j.1365-263X.2011.01204.x>.

Perdigão J. Resin infiltration of enamel white spot lesions: An ultramorphological analysis. *J Esthet Restor Dent* 2020;32:317–24. <https://doi.org/10.1111/jerd.12550>.

Peters MC, Hopkins AR, Zhu L, Yu Q. Efficacy of Proximal Resin Infiltration on Caries Inhibition: Results from a 3-Year Randomized Controlled Clinical Trial. *J Dent Res* 2019;98:1497–502. <https://doi.org/10.1177/0022034519876853>.

Pitts NB, Stamm JW. International Consensus Workshop on Caries Clinical Trials (ICW-CCT) - Final consensus statements: Agreeing where the evidence leads. *J Dent Res* 2004;83:2002–5. <https://doi.org/10.1177/154405910408301S27>.

Pitts NB, Zero DT, Marsh PD, Ekstrand K, Weintraub JA, Ramos-Gomez F, et al. Dental caries. *Nat Rev Dis Prim* 2017;3. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.30>.

Puleio F, Fiorillo L, Gorassini F, Iandolo A, Meto A, D'Amico C, et al. Systematic Review on White Spot Lesions Treatments. *Eur J Dent* 2021:1–8. <https://doi.org/10.1055/s-0041-1731931>.

Qudeimat MA, Altarakemah Y, Alomari Q, Alshawaf N, Honkala E. The impact of ICDAS on occlusal caries treatment recommendations for high caries risk patients: An in vitro study. *BMC Oral Health* 2019;19:1–7. <https://doi.org/10.1186/s12903-019-0730-8>.

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;19:21–7. <https://doi.org/10.1590/S0103-64402008000100004>.

Rana R, Itthagarun A, King NM. Effects of dentifrices on artificial caries like lesions: An in vitro pH cycling study. *Int Dent J* 2007;57:243–8. <https://doi.org/10.1111/j.1875-595X.2007.tb00127.x>.

Sang EJ, Song JS, Chung SH, Jin BH, Hyun HK. Influence of a new polishing system on changes in gloss and surface roughness of resin composites after polishing and brushing. *Dent Mater J* 2021;40:727–35. <https://doi.org/10.4012/dmj.2020-207>.

Schmidlin PR, Sener B, Attin T, Wiegand A. Protection of sound enamel and artificial enamel lesions against demineralisation: Caries infiltrant versus adhesive. *J Dent* 2012;40:851–6. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2012.07.003>.

Sfalcin RA, Correr AB, Morbidelli LR, Araújo TGF, Feitosa VP, Correr-Sobrinho L, et al. Influence of bioactive particles on the chemical-mechanical properties of experimental enamel resin infiltrants. *Clin Oral Investig* 2017;21:2143–51. <https://doi.org/10.1007/s00784-016-2005-y>.

Shimaa M E, Wegdan M AEF, Sonia M E-S. Penetration Depth and Enamel Microhardness of Resin Infiltrant and Traditional Techniques for Treatment of Artificial Enamel Lesions. *Alexandria Dent J* 2016;41:20–5. <https://doi.org/10.21608/adjalexu.2016.59167>.

Shoaib L, Deery C, Ricketts DNJ, Nugent ZJ. Validity and reproducibility of ICDAS II

in primary teeth. *Caries Res* 2009;43:442–8. <https://doi.org/10.1159/000258551>.

Sideridou I, Tserki V, Papanastasiou G. Study of water sorption, solubility and modulus of elasticity of light-cured dimethacrylate-based dental resins. *Biomaterials* 2003;24:655–65. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(02\)00380-0](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(02)00380-0).

Sideridou I, Tserki V, Papanastasiou G. Effect of chemical structure on degree of conversion in light-cured dimethacrylate-based dental resins. *Biomaterials* 2002;23:1819–29. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(01\)00308-8](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(01)00308-8).

Skucha-Nowak M, Machorowska-Pienięzek A, Tanasiewicz M. Assessing the penetrating abilities of experimental preparation with dental infiltrant features using optical microscope: Preliminary study. *Adv Clin Exp Med* 2016;25:961–9. <https://doi.org/10.17219/acem/63007>.

Souza-Junior EJ, Prieto LT, Soares GP, Dos Santos Dias CT, Aguiar FHB, Paulillo LAMS. The effect of curing light and chemical catalyst on the degree of conversion of two dual cured resin luting cements. *Lasers Med Sci* 2012;27:145–51. <https://doi.org/10.1007/s10103-010-0857-y>.

Soveral M, Machado V, Botelho J, Mendes JJ, Manso C. Effect of resin infiltration on enamel: A systematic review and meta-analysis. *J Funct Biomater* 2021;12. <https://doi.org/10.3390/jfb12030048>.

Subramaniam P, Babu GKL, Lakhotia D. Evaluation of penetration depth of a commercially available resin infiltrate into artificially created enamel lesions: An *in vitro* study *J Conserv Dent* 2014;17(2):146-149. doi: 10.4103 / 0972-0707.128054.

Taher NM, Alkhamis HA, Dowaidi SM I. The influence of resin infiltration system on enamel microhardness and surface roughness: An in vitro study. *Saudi Dent J* 2012;24:79–84. <https://doi.org/10.1016/j.sdentj.2011.10.003>.

Torres CRG, Borges AB. Color masking of developmental enamel defects: A case series. *Oper Dent* 2015;40:25–33. <https://doi.org/10.2341/13-346-T>.

Torres CRG, Rosa PCF, Ferreira NS, Borges AB. Effect of caries infiltration technique and fluoride therapy on microhardness of enamel carious lesions. *Oper Dent* 2012;37:363–9. <https://doi.org/10.2341/11-070-L>.

Ulrich I, Mueller J, Wolgin M, Frank W, Kielbassa AM. Tridimensional surface roughness analysis after resin infiltration of (deproteinized) natural subsurface carious lesions. *Clin Oral Investig* 2015;19:1473–83. <https://doi.org/10.1007/s00784-014-1372-5>.

Urquhart O, Tampi MP, Pilcher L, Slayton RL, Araujo MWB, Fontana M, et al. Nonrestorative Treatments for Caries: Systematic Review and Network Meta-analysis. *J Dent Res* 2019;98:14–26. <https://doi.org/10.1177/0022034518800014>.

Wang L, Freitas MCC de A, Prakki A, Mosquim V, González AHM, Rios D, et al. Experimental self-etching resin infiltrants on the treatment of simulated carious white spot lesions. *J Mech Behav Biomed Mater* 2021;113. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2020.104146>.

Wu L, Geng K, Gao Q. Effects of different anti-caries procedures on microhardness

and micromorphology of irradiated permanent enamel. *Dent Mater J* 2020;39:118–25. <https://doi.org/10.4012/dmj.2018-385>.

Xu C, Reed R, Gorski JP, Wang Y, Walker MP. The distribution of carbonate in enamel and its correlation with structure and mechanical properties. *J Mater Sci* 2012;47:8035–43. <https://doi.org/10.1007/s10853-012-6693-7>.

Yazkan B, Ermis RB. Effect of resin infiltration and microabrasion on the microhardness, surface roughness and morphology of incipient carious lesions. *Acta Odontol Scand* 2018;76:473–81. <https://doi.org/10.1080/00016357.2018.1437217>.

Zakizade M, Davoudi A, Akhavan A, Shirban F. Effect of Resin Infiltration Technique on Improving Surface Hardness of Enamel Lesions: A Systematic Review and Meta-analysis. *J Evid Based Dent Pract* 2020;20:101405. <https://doi.org/10.1016/j.jebdp.2020.101405>.

ANEXO 1 – VERIFICAÇÃO DE ORIGINALIDADE E PREVENÇÃO DE PLÁGIO

SELEÇÃO DE PROTOCOLO DE LESÃO CARIOSA ARTIFICIAL E AVALIAÇÃO DE PROPRIEDADES FÍSICO-MECÂNICAS DE INFILTRANTES RESINOSOS ANTES E APÓS CICLAGEM DE PH

RELATÓRIO DE ORIGINALIDADE

6% ÍNDICE DE SEMELHANÇA	6% FONTES DA INTERNET	1% PUBLICAÇÕES	1% DOCUMENTOS DOS ALUNOS
-----------------------------------	---------------------------------	--------------------------	------------------------------------

FONTES PRIMÁRIAS

1	repositorio.unicamp.br Fonte da Internet	5%
2	Priscila Maria Aranda Salomão. "Efeito do tipo de lesão cariosa artificial em esmalte bovino sobre o potencial remineralizante da saliva, do dentífrício e do verniz fluoretado: um estudo in situ", 'Universidade de Sao Paulo, Agencia USP de Gestao da Informacao Academica (AGUIA)', 2015 Fonte da Internet	1%

Excluir citações

Em

Excluir

< 1%

Excluir bibliografia

Em

correspondências