



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA INTEGRADA

LAÍS CAROLINE POLETO

Efeito preventivo da desmineralização do esmalte com materiais seladores aplicados em fissuras oclusais de molares humanos – estudo *in situ*

Maringá
2015

LAÍS CAROLINE POLETO

Efeito preventivo da desmineralização do esmalte com materiais seladores aplicados em fissuras oclusais de molares humanos – estudo *in situ*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Odontologia Integrada do Departamento de Odontologia, Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Maringá, como parte integrante dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia Integrada.
Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Marina de Lourdes Calvo Fracasso

Maringá
2015

LAÍS CAROLINE POLETO

Efeito preventivo da desmineralização do esmalte com materiais seladores aplicados em fissuras oclusais de molares humanos – estudo *in situ*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Odontologia Integrada do Departamento de Odontologia, Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Maringá, como parte integrante dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia Integrada pela comissão julgadora composta pelos membros:

Prof.^a Dr.^a Marina de Lourdes Calvo Fracasso
1^a Examinadora Presidente
Universidade Estadual de Maringá - UEM

Prof. Dr. Adriano Tomio Hoshi
2^a Examinador
Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE

Prof. Dr. Adilson Luiz Ramos
3^a Examinador
Universidade Estadual de Maringá – UEM

Maringá, 11 de fevereiro de 2015

Minha formação como profissional não poderia ter sido concretizada sem a ajuda de meus amáveis e eternos pais **Heraldo** e **Lygia**, que, no decorrer da minha vida, proporcionaram-me, além de extenso carinho e amor, os conhecimentos da integridade e da perseverança. Por essa razão, gostaria de dedicar e reconhecer à vocês, minha imensa gratidão e sempre amor.

AGRADECIMENTOS

Á *Deus*, pelo seu amor incondicional, pelo seu carinho, pelo cuidado com minha família e por nunca desistir de mim. Todos os amigos que colocou em meu caminho foram, sem dúvida, determinantes em toda a minha formação profissional e pessoal.

A minha orientadora, *Prof.^a Dr.^a Marina de Lourdes Calvo Fracasso*, pela paciência, colaboração, conselhos e orientação precisa durante a realização desse trabalho. Nesses dois anos, mais que uma busca por conhecimento e título, minha formação pessoal se enriqueceu graças a você. Seu jeito acolhedor traz um conforto familiar sempre que tudo me pareceu complicado demais para dar certo. Gostaria de agradecer por tudo que me ensinou e fez por mim e por esse trabalho. Deixo aqui meu eterno agradecimento e admiração.

Ao *Prof. Dr. Adriano Tomio Hoshi*, por dedicar seu tempo para estar presente em minha defesa, enriquecendo esse trabalho. Sua ajuda e ensinamentos foram indispensáveis. Muito obrigada!

Ao *Prof. Dr. Adilson Luiz Ramos*, pelos ensinamentos e conhecimentos transmitidos. O senhor esteve presente desde o início desse trabalho e todos os conselhos foram de grande valia para que eu chegasse até aqui. Agradeço pela oportunidade de crescer profissionalmente ao seu lado, por toda atenção e dedicação.

A *Prof.^a Dr.^a Daniela Rios*, apesar de não poder estar presente em minha defesa, foi parte imprescindível desse trabalho. Agradeço por tê-la conhecido e torço para que nossos caminhos ainda se cruzem para o desenvolvimento de outros projetos.

Ao *Prof. Dr. Heitor Marques Honório*, pela imensa ajuda com a estatística desse trabalho. O comprometimento, auxílio e, principalmente, paciência serão sempre lembrados.

A *Prof.^a Dr.^a Livia Maria Andaló Tenuta*, pela oportunidade de executar o trabalho no Departamento de Bioquímica da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, UNICAMP. Pela inclusão em sua equipe de alunos, pela ajuda, pela dedicação e conselhos fornecidos durante a realização deste trabalho. Foi um prazer conhecê-la, não tenho palavras para agradecer tudo que me proporcionou.

Aos *professores do Mestrado em Odontologia Integrada da UEM*, pelo apoio, dedicação e ensinamentos.

Ao **Departamento da pós-graduação** e a secretária *Sônia Maria Borean Borghi*, sempre muito atenciosa e competente.

Aos amigos voluntários *Antônio, Bruna, Gabriel, Gabriela Terra, Glenda, Luanna, Murilo e Talissa*, vocês foram parte essencial desse trabalho. O comprometimento necessário e empenho para aguentar a jornada dos 21 dias, talvez, pra mim, mais cansativos até hoje, só foi possível porque vocês estiveram comigo.

Ao meu amigo *Alex*, que além de voluntário, foi um auxiliar e tanto em dias cansativos de laboratório.

Aos colegas de mestrado, *Amanda, Camila, Carla, Humberto, Larrisa, Lyz, Mariana e Rafael*, pela amizade e convívio.

À minha *família*, em especial meus queridos e amados pais, *Heraldo César Poletto e Maria Lygia Holler Ferreira Poletto*, e meus irmãos *Lia Marina Poletto e Marcos Filipe Ferreira Poletto*, pelo carinho e compreensão perante minha ausência durante o desenvolvimento deste trabalho. A pessoa que eu sou hoje não é nada além do que foi espelhado em cada um de vocês.

À instituição de fomento *CAPES*, pelo apoio financeiro.

À todos que, ao longo destes dois anos, fizeram parte do meu dia a dia, tornando este tempo inesquecível.

“Não há fatos eternos, como não há verdades absolutas”

Friedrich Nietzsche

POLETO, Laís Caroline. **Efeito preventivo da desmineralização do esmalte com materiais seladores aplicados em fissuras oclusais de molares humanos – estudo *in situ***. 2015. 81p. Dissertação (Mestrado em Odontologia Integrada). Universidade Estadual de Maringá.

RESUMO

O presente estudo, *in situ*, avaliou o efeito preventivo, ante à desmineralização do esmalte, de um selante resinoso e de um cimento de ionômero de vidro modificado por resina. Espécimes da oclusal de terceiros molares foram divididos em seis grupos: 1- Vitremer® com biofilme, 2- Vitremer® sem biofilme, 3- Alpha Seal® com biofilme, 4- Alpha Seal® sem biofilme, 5- controle com biofilme, 6- controle sem biofilme. Durante um período experimental de 21 dias, 10 voluntários utilizaram um dispositivo palatino (24h/dia) e, 8x/dia gotejaram uma solução de sacarose a 20% em todos os blocos. A higiene bucal era realizada após as refeições, e o dispositivo higienizado apenas no lado sem tela (dentifrício 1500 ppmF, 3x/dia). Após o experimento, os blocos foram seccionados para avaliação da microdureza longitudinal nas distâncias de 10, 20, 30, 60, 90 e 200µm da superfície do esmalte, em quatro fileiras: uma sob o material (interna 100µm), uma na borda do material e duas fileiras externas (100µm e 200µm). A Análise de Variância (ANOVA) de medidas repetidas e o teste de Tukey mostraram a 10µm diferença para o fator material (p=0,003) e fileira (p=0,018), enquanto na análise de 20µm houve diferença para o fator material (p= 0,015), no fator fileira (p=0,029) e fator biofilme (p=0,006). Na profundidade de 30µm houve diferença para o fator material (p=0,002), fator fileira (p=0,047) e fator biofilme (p=0,034). Grupos selados com Vitremer® apresentaram maiores valores de microdureza (p<0,05). A microdureza diferiu significativamente entre as diferentes profundidades (10 < 20 < 30 < 60 = 90/200) (p<0,05). O biofilme interferiu de maneira significativa na dureza e comportamento dos materiais. Este trabalho mostra que materiais seladores proporcionam um efeito preventivo para desmineralização, podendo ser alternativa de tratamento para pacientes com alto risco a cárie, com melhor indicação para os materiais com flúor em sua composição.

Palavras-chave: Cárie Dentária. Cimentos de Ionômeros de Vidro. Selantes de Fossas e Fissuras.

POLETO, Laís Caroline. **Preventive effect of enamel desmineralization with sealing materials applied in occlusal fissures of molars – *in situ* study.** 2015. 81p. Dissertation (Master Integrated Dentistry). State University of Maringá.

ABSTRACT

This *in situ* study evaluated the preventive effect, on the desmineralization of enamel, of a resin sealant and a resin modified glass ionomer cement. Specimens of the occlusal third molars were divided into six groups: 1- Vitremer® with biofilm, 2- Vitremer® without biofilm, 3- Alpha Seal® with biofilm, 4- Alpha Seal® without biofilm, 5- control with biofilm, 6 - control without biofilm. During a 21-day trial, 10 volunteers wore palatal devices (24h/day) and 8x/day dropped a 20% sucrose solution in all the blocks. The oral hygiene was done after meals, and the cleaning of device was done only in the non-display side (toothpaste 1500 ppmF 3x/day). After the experiment, the blocks were sectioned for longitudinal microhardness at distances of 10, 20, 30, 60, 90 and 200µm enamel surface in four rows: under the sealant (internal 100µm), in the edge of the material and two external rows (100µm and 200µm). Variance Analysis (ANOVA) with repeated measures and Tukey's test showed the difference in 10µm for material factor (p=0.003) and row factor (p=0.018), while in 20µm analysis was difference in the material factor (p=0.015), row factor (p=0.029) and biofilm factor (p= 0.006). In 30µm was difference to the material factor (p=0.002), row factor (p=0.047) and biofilm factor (p=0.034). The groups sealed with Vitremer® showed higher hardness values (p<0.05). The hardness was significantly different among the different depths (10 < 20 < 30 < 60 = 90/200) (p<0.05). The biofilm interfered significantly in hardness and materials behavior. This study shows that sealing materials provide a preventive effect for desmineralization, and may be an alternative of treatment for patients with high-risk caries, with better indication for materials with fluoride in composition.

Keywords: Dental Caries. Glass Ionomer Cements. Pit and Fissure Sealants.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Fluxograma do delineamento experimental.	28
Figura 2. Dente armazenado em solução de timol a 0,1%.	35
Figura 3. Dente sem trinca, rachadura, mancha hipoplásica ou lesão cariosa.	35
Figura 4. Coroa fixada com godiva termoativada para realização do corte méso-distal.	36
Figura 5. Aparelho de precisão Isomet 1000 Precision Saw (Bulher Ltda, Lake Bluff, IL, USA).	36
Figura 6. Espécime de esmalte de 4 x 4 mm da porção mais central da superfície oclusal da coroa.	36
Figura 7. Fragmentos com esmalte sem trinca, rachaduras, manchadas ou lesão cariosa.	37
Figura 8. Politriz Metalográfica (Arotec, Cotia, SP).	37
Figura 9. Dispositivo intrabucal palatino em resina acrílica.	37
Figura 10. Kit individual para cada voluntário.	38
Figura 11. Desempenho dos grupos experimentais, medidas por microdureza longitudinal, considerando a fileira Borda.	45
Figura 12. Desempenho dos grupos experimentais, medidas por microdureza longitudinal, considerando a fileira Interna.	46
Figura 13. Desempenho dos grupos experimentais, medidas por microdureza longitudinal, considerando a fileira 100µm.	46
Figura 14. Desempenho dos grupos experimentais, medidas por microdureza longitudinal, considerando a fileira 200µm.	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Divisão dos grupos da pesquisa.....	27
Tabela 2. Teste Tukey ($\alpha=0,05$) com variável dependente da média da dureza, a $10\mu\text{m}$, considerando o fator material.....	39
Tabela 3. Teste Tukey ($\alpha=0,05$) com variável dependente da média da dureza, a $10\mu\text{m}$, considerando o fator fileira.....	40
Tabela 4. Teste Tukey ($\alpha=0,05$) com variável dependente da média da dureza, a $20\mu\text{m}$, considerando o fator material.....	41
Tabela 5. Teste Tukey ($\alpha=0,05$) com variável dependente da média da dureza, a $20\mu\text{m}$, considerando o fator fileira.....	41
Tabela 6. Teste Tukey ($\alpha=0,05$) com variável dependente da média da dureza, a $20\mu\text{m}$, considerando o fator biofilme.....	41
Tabela 7. Teste Tukey ($\alpha=0,05$) com variável dependente da média da dureza, a $30\mu\text{m}$, considerando o fator material.....	42
Tabela 8. Teste Tukey ($\alpha=0,05$) com variável dependente da média da dureza, a $30\mu\text{m}$, considerando o fator fileira.....	42
Tabela 9. Teste Tukey ($\alpha=0,05$) com variável dependente da média da dureza, a $30\mu\text{m}$, considerando o fator biofilme.....	43

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO DE LITERATURA	15
3. OBJETIVOS.....	26
4. MATERIAIS E MÉTODOS	27
Delineamento Experimental	27
Seleção de dentes	29
Obtenção dos espécimes da superfície oclusal dos molares humanos.....	29
Planificação dos espécimes.....	30
Selamento dos espécimes (fossas e fissuras)	30
Seleção dos voluntários	31
Preparo do dispositivo intrabucal palatino.....	31
Procedimentos Intrabucais	32
Avaliação da microdureza longitudinal	33
Análise Estatística.....	34
5. RESULTADOS	39
6. DISCUSSÃO.....	48
7. CONCLUSÃO	53
REFERÊNCIAS	54
ANEXOS	60
ANEXO A.....	61
ANEXO B.....	65
ANEXO C.....	66
ANEXO D.....	67
ANEXO E	69
ANEXO F	71
ANEXO G.....	72
ANEXO H.....	73

1. INTRODUÇÃO

A cárie dentária é transmitida logo nos primeiros anos de vida e representa um problema significativo de saúde pública em muitos países, sendo a principal razão para a perda precoce dos elementos dentários (Fejerskov et al., 2008. Fontana; Young & Wolff, 2009. Peterson-Sweeney & Stevens, 2010).

Dados do SB Brasil 2010 mostraram que, aos cinco anos de idade, uma criança possui ceo-d médio de 2,43. Comparando-se aos dados do SB Brasil 2003, cujo ceo-d foi de 2,8, observou-se uma redução de 13,9% em sete anos. Já quando comparado os resultados do SB Brasil 2003 e 2010, para o índice CPO-D aos 12 anos, observa-se que o índice variou de 2,78 para 2,07, correspondendo a uma redução de 26,2% em sete anos (Brasil, 2012).

De acordo com relatos da literatura científica, a doença cárie é mais prevalente em superfícies oclusais (Bernardo et al., 2000. Hopcraft & Morgan, 2006. Ekstrand; Martignon & Christiansen, 2007. Ahovuo-Saloranta et al., 2013), pois as fossas e fissuras são áreas anatômicas susceptíveis ao desenvolvimento da lesão em função da sua morfologia (Rohr; Makinson & Burrow, 1991), da possibilidade de ocorrência de uma má coalescência do esmalte nestas regiões, do baixo grau de maturação do esmalte em dentes recém irrompidos (Bönecker; Rodrigues & Guedes-Pinto, 2006. Cardoso et al., 2009), da retenção de biofilme nestes sítios, da dificuldade de limpeza mecânica por meio da escovação (Cardoso et al., 2009. Kantovitz et al., 2009. Markovic et al., 2012) e da ação restrita do mecanismo tampão da saliva nas partes mais profundas das fissuras (Corny; Pintado & Douglas, 1990. Henderson & Setcos, 1995. Hicks; Flaitz & Garcia-Godoy, 1996). Em relação ao indivíduo, os fatores de risco mais consolidados que interferem para o aparecimento da doença cárie são: a experiência passada de cárie dentária, a presença de defeitos de esmalte e biofilme dental, uma dieta cariogênica, a baixa escolaridade da mãe, uma baixa renda familiar e a falta de coordenação motora (Lopes et al., 2014).

Em busca de medidas preventivas efetivas, em especial em crianças, foram implementadas ao longo dos anos, inúmeras ações de promoção de saúde. Dentre elas o uso racional de fluoretos, o incentivo a higiene bucal e o selamento de fossas e fissuras (Bonecker; Rodrigues & Guedes-Pinto, 2006. Fontana; Young & Wolff, 2009. Lopes et al, 2014).

O selamento de fossas e fissuras oclusais constitui um método seguro e viável (Bernardo et al., 2000. Splieth et al., 2010. Ahovuo-Saloranta et al., 2013), devendo sempre estar associado a outras medidas preventivas (Abreu et al., 2006. Bravo et al., 2005). A aplicação de selantes resinosos tem se mostrado efetiva, (Sipahier & Ulusu, 1995. Ahovuo-Saloranta et al., 2013), porém, esta técnica é muito sensível e pode ser influenciada pela colaboração do paciente, pela habilidade do profissional ou pela contaminação do campo operatório (Hormati; Fuller & Denehy, 1980). Esse último aspecto torna sua aplicação em dentes jovens limitada às situações onde há possibilidade de colocação do isolamento absoluto para controle da umidade do campo operatório, sendo o selante ionomérico uma alternativa (Antonson et al., 2012). Segundo evidências científicas o cimento de ionômero de vidro possui propriedades químicas de ligação às estruturas mineralizadas do dente, coeficiente de expansão térmica semelhante ao da dentina, biocompatibilidade adequada e liberação de íons de flúor, que contribuem para o processo remineralização (Mejare & Mjor, 1990. Mickenautsch et al. 2011. Moshaverinia et al., 2011).

Quando se trata de comparar selante resinoso com selante ionomérico, diversos estudos avaliam a retenção do material ao dente, com melhores resultados para os selantes resinosos (Mejare & Mjör, 1990. Sipahier & Ulusu, 1995. Baseggio et al., 2010. Markovic et al., 2012). Estudos científicos comprovam que embora haja uma perda macroscópica do selante ionomérico devido à sua baixa adesividade à estrutura dentária, pequenas porções do material permanecem retidas no fundo da fissura, liberando fluoreto, o que pode auxiliar na prevenção da cárie dentária mesmo nos casos em que o selamento parece ter desaparecido clinicamente (Seppa & Forss, 1991. Bernardo et al., 2000. Frencken & Wolke, 2010). Além disso, quando comparados os selantes resinosos e ionoméricos, por mais que ambos os materiais apresentem um grau de penetração satisfatório no interior das fissuras, os cimentos de ionômero de vidro demonstram melhor comportamento no teste de microinfiltração marginal, promovendo uma adequada adesão ao esmalte dentário e prevenindo desta forma a presença de cárie secundária (Fracasso et al., 2005. Pereira Ade et al., 2012). Uma outra propriedade importante do material, em especial para as crianças de alto risco à cárie, é que os cimentos de ionômero modificados por resina podem exercer efeito anticariogênico à distância (Tantbirojn; Douglas & Versluis, 1997. Lobo et al., 2005).

Recentemente, muitas pesquisas têm sido desenvolvidas avaliando-se as propriedades dos materiais odontológicos, com destaque para os contendo fluoretos na sua composição, que beneficiam diretamente os indivíduos com alto risco à cárie (Bernardo et al., 2000. Frencken

& Wolke, 2010. Baseggio et al., 2010. Antonson et al., 2012). Testes simulando condições de alto desafio cariogênico podem ser utilizados em estudos *in vitro*, no entanto, para observar a dinâmica da cavidade bucal sob condições controladas, estudos *in situ* devem ser realizados, proporcionando uma situação intermediária entre a situação clínica natural, impossível de ser controlada, e a situação laboratorial, rigorosamente controlada, sem oferecer prejuízo ao indivíduo (Zero, 1995. Tostes Amaral; Guedes-Pinto & Chevitarese, 2006).

Dessa forma, este estudo se propõe a avaliar, *in situ*, o efeito preventivo de um selante resinoso e de um cimento de ionômero de vidro modificado por resina, aplicados em fissura oclusal de esmalte humano, com e sem acúmulo de biofilme dentário, por meio do teste de microdureza longitudinal.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Com o propósito de avaliar a retenção dos selamentos efetuados com ionômero de vidro MEJÀRE & MJÖR, em 1990, compararam a taxa de retenção dos selamentos efetuados com cimento de ionômero de vidro (Fuji III®) e selamentos com materiais resinosos (Delton®; Concise WS®). O estudo incluiu 208 dentes permanentes em crianças na faixa etária entre sete e dez anos de idade. As moldagens da superfície oclusal foram tomadas depois de realizados os selamentos, e os modelos posteriormente montados em microscópio. O critério de avaliação dos selantes seguiu os seguintes parâmetros: retenção, integridade marginal, lisura e forma anatômica, utilizando avaliações clínicas e exames das moldagens, em períodos correspondentes ao início do tratamento, ou seja, após o selamento, 6 e 12 meses e depois em intervalos anuais. Ao exame clínico 61% dos selamentos com cimento de ionômero de vidro foram considerados perdidos dentro de 6-12 meses e 84% depois de 30-36 meses. Embora considerados clinicamente perdidos, a maioria dos selamentos com ionômero de vidro permaneciam retidos quando observadas suas réplicas (93%). A avaliação clínica dos selantes resinosos mostrou uma média de retenção em 90% após 4.5 a 5 anos. Quando se avaliou a presença de lesões cariosas verificou-se que dos dentes selados com selante resinoso, 5 apresentavam superfície cariada, enquanto que para os dentes selados com cimento de ionômero de vidro nenhum se apresentou cariado.

SEPPÄ & FORSS, em 1991, avaliaram in vitro a resistência de sulcos e fissuras a desmineralização após a perda do selamento com cimento de ionômero de vidro. Setenta e uma fissuras oclusais livres de cárie foram usadas nesse estudo. Vinte e duas fissuras foram seladas com cimento de ionômero de vidro (Fuji III), vinte e quatro foram alargadas com uma broca esférica em alta rotação e seladas com o mesmo cimento de ionômero de vidro e 25 não receberam selamento. Depois de uma semana armazenado em água destilada, o material foi totalmente removido das fissuras com uma sonda exploradora. Em seguida, os espécimes foram recobertos com cera resistente aos ácidos (exceto na superfície das fissuras), e imersos por sete semanas em ácido láctico 0,1 M, com pH 4,3 e 5% de carboximetilcelulose para induzir a lesões de fissuras artificiais. Depois de desmineralizados os espécimes foram seccionados longitudinalmente em fatias de 90mm de espessura, para que, posteriormente, fossem medidas as profundidades das lesões de fissuras em microscópio de luz polarizada. A

média de profundidade das lesões foi: 142.8mm nas fissuras controle; 92.7 mm nas fissuras seladas tradicionalmente, e 75.1 mm no selamento das fissuras alargadas. Uma diferença estatisticamente significante foi observada entre os dois grupos experimentais e o grupo controle (nenhum selamento). Para os autores os resultados sugerem que as fissuras seladas com cimento de ionômero de vidro são mais resistentes ao processo de desmineralização que as fissuras controle, mesmo depois da perda macroscópica do material. Para os mesmos, isso pode ser o efeito combinado da liberação de flúor do material e também do material residual encontrado no fundo das fissuras após a perda do material.

SERRA & CURY, em 1992, avaliaram *in vitro* o desenvolvimento de cárie ao redor de preparos cavitários restaurados com cimento de ionômero de vidro. Após o preparo dos espécimes foram confeccionados preparos padronizados e divididos em dois grupos: 1- restaurados com cimento de ionômero de vidro Ceram-Fill® (DFL) e grupo 2 restaurados com resina composta Herculite® (Kerr/Sybron Corp.). A análise da microdureza em secção longitudinal proporcionou o cálculo da porcentagem de volume mineral, apontando uma perda mineral de 3% para o cimento de ionômero de vidro e 20% para a resina composta quando avaliado a superfície adjacente ao material. Os resultados mostraram que o cimento de ionômero de vidro interfere na formação e progressão da cárie, mesmo em situações de alto desafio cariogênico, mas não previne completamente o seu desenvolvimento.

SIPAHIER & ULUSU, em 1995, num experimento clínico de 12 meses de duração, avaliaram a retenção e a incidência de cárie nos primeiros molares de crianças de 6 à 15 anos, selados com Ketac-Silver® e Delton® autopolimerizável. O experimento foi desenvolvido em 100 crianças, onde no retorno dos 6 meses, 94 foram examinados e no retorno dos 12 meses, 86 foram examinados. Os primeiros molares foram selados em cada lado da boca com um tipo de selante, com condicionamento ácido e sob isolamento relativo. Aos 6 meses, em 94 superfícies examinadas, o Ketac-Silver® estava retido em 41 (43,62%), parcialmente retido em 25 (26,6%) e completamente perdido em 28 (29,78%) superfícies. As 94 superfícies examinadas estavam 100% híginas. O selante Delton®, em 94 superfícies examinadas, 56 (59,57%) estavam com o selante totalmente retido, 25 (26,6%) parcialmente retido e 13 (13,83%) totalmente perdido. Duas superfícies (2,13%) apresentavam cárie e 92 (97,87%) estavam híginas. Aos 12 meses, em 86 superfícies examinadas, o Ketac-Silver® apresentava 20 (23,26%) superfícies com o selante totalmente retido, 29 (33,72%) parcialmente retido e

37 (43,02%) superfícies apresentavam selantes totalmente perdido. Seis (6,8%) superfícies apresentavam cáries e 80 estavam hígidas. Para o Delton[®], das 86 superfícies examinadas, 35 (40,70%) apresentavam selante totalmente retido, 41(47,67%) parcialmente retido e 10 (11,63%) totalmente perdido. Cinco superfícies (5,81%) apresentavam cárie e 81 (94,19%) permaneciam hígidas. Os resultados apresentados aos 6 e 12 meses, levaram os autores a não considerarem o cimento de ionômero de vidro Ketac-Silver[®] uma alternativa aos selantes de Bis-GMA.

Segundo ZERO relatou em 1995, estudos de modelo de cárie *in situ* envolvem o uso de dispositivos que criam condições definidas na boca do ser humano que simulam o processo da cárie dentária, servindo como ponte entre uma situação clínica natural não controlada e uma situação laboratorial altamente controlada. Esses modelos reproduzem e exibem a natureza multifatorial da cárie dentária, que inclui: um substrato dentário, o esmalte ou dentina; a formação ou presença de biofilme com potencial cariogênico; o desafio cariogênico promovido pela dieta ou controlado experimentalmente; e o tempo que é determinado pelo cumprimento do período experimental. Portanto a intenção dos modelos *in situ* é imitar o que ocorre no processo natural da cárie e fornecer informações clinicamente relevantes em um curto período de tempo, sem causar danos na dentição natural. O autor defendeu ainda o uso da microdureza superficial como método de análise mineral por ser altamente sensível e reprodutível, podendo ser utilizado para estudos iniciais de desmineralização e remineralização do esmalte.

TANTBIROJN; DOUGLAS & VERSLUIS, em 1997, avaliaram *in vitro* a distância que um cimento de ionômero de vidro modificado por resina seria capaz de exercer seus efeitos cariostáticos em lesões artificiais em esmalte bovino. Dez incisivos bovinos foram seccionados no sentido longitudinal, sendo que uma metade foi restaurada com Vitremer[®] no terço cervical da face vestibular e como controle, a outra metade foi restaurada com um selante resinoso experimental. Após imersão em solução desmineralizante pelo período de 3 semanas, os dentes foram avaliados através do método de microdureza Knoop em secção longitudinal nas distâncias de 0,2, 0,5, 1, 2, 4 e 7 mm da margem da restauração. Os autores observaram uma inibição da desmineralização nas amostras restauradas com CIV em todas as distâncias testadas, quando comparado com o controle, sendo mais pronunciada na distância de 1 mm do CIV, embora um efeito remoto tenha sido detectado até a distância de 7 mm.

KIELBASSA; MULLER & GARCIA-GODOY, em 1999, avaliaram *in situ* o efeito anticariogênico de diferentes materiais restauradores. Foram utilizados no experimento 44 blocos de esmalte humano, previamente polidos e restaurados com 4 materiais restauradores: 1- Ariston pHc[®]; 2- Dyract AP[®]; 3- Vitremer VLC[®] e 4 – Ketac-Molar[®]. Onze voluntários utilizaram os aparelhos intrabucais por 4 semanas. Durante os horários das refeições e da higiene o dispositivo era mantido em solução de sacarose 10%. A análise do conteúdo de mineral nas áreas adjacentes e nas áreas distantes ao material foi realizado por microradiografia. Os resultados apontaram que somente o grupo Ariston[®] apresentou significativa redução na prevalência de cárie em relação as áreas adjacentes ao material. Nas áreas distantes ao material, todos os grupos tiveram o comportamento semelhante.

HICKS; FLAITSZ & GARCIA-GODOY, em 2000, avaliaram *in vitro* os efeitos de um selante resinoso fluoretado (Fissurit-F[®]) e de um selante resinoso convencional não fluoretado (Fissurit[®]) na formação de cárie artificial em esmalte em 12 molares hígidos que foram seccionados em 4 fragmentos. Preparos cavitários foram realizados nas superfícies bucais e linguais, feito o condicionamento ácido e restaurados com os respectivos selantes: (1) nas porções mesio-bucal e mesio-lingual, com o selante fluoretado; (2) nas porções disto-bucal e disto-lingual, com o não fluoretado. Os fragmentos foram termociclados em saliva artificial e imersos em gel acidificado para a formação da lesão de cárie artificial. Foram feitas secções após seis semanas de exposição ao gel para avaliação da progressão da lesão, sendo avaliados ao microscópio de luz polarizada. As médias de profundidade de lesão diferiram significativamente entre os grupos tanto em relação ao início (119 µm e 157 µm para o grupo 1 e 2, respectivamente), quanto em relação à progressão da lesão (169 µm e 221 µm, respectivamente). Os autores concluíram que o selante contendo flúor apresentou um efeito inibidor da lesão de cárie com uma redução significativa da profundidade da lesão na superfície do esmalte adjacente ao material, agindo como um reservatório de flúor a ser liberado no meio bucal.

KIELBASSA et al., em 2003, avaliaram o efeito de vários materiais restauradores na formação de cárie secundária num modelo de estudo *in situ*. Foram preparados 88 blocos de esmalte humano que receberam preparo cavitário padronizado e foram divididos em oito grupos. As restaurações dos espécimes seguiram a recomendação do fabricante, realizada com

seguintes materiais: Ariston pH^C®, Dyract®, Vitremer®, Tetric Ceram®, Compoglass F®, F2000®, HYTEC® e Ketac-Molar®. Um espécime de cada grupo foi inserido no dispositivo palatal utilizado por 11 voluntários por um período de 4 semanas. Durante o período do almoço e horário de higiene os aparelhos eram armazenados em solução de sacarose 10%. Após a exposição *in situ* os espécimes foram analisados em microradiografia para análise do conteúdo mineral e profundidade da lesão. Os resultados mostraram que não houve diferença estatisticamente significativa entre os vários grupos quando se analisou o grau de desmineralização nas regiões distantes do material. Nas áreas adjacentes ao material Ariston® houve diferença estatisticamente significativa para menor perda de volume mineral e menor profundidade de lesão em relação aos outros materiais. Os autores concluíram que os materiais fluoretados não apresentaram efeito protetor nas áreas adjacentes ao esmalte.

FRACASSO et al., em 2005, compararam, *in vitro*, a microinfiltração marginal (MM) e o grau de profundidade de penetração (DP) de cimentos de ionômero de vidro (CIV) e um selante resinoso (SR) em fossas e fissuras oclusais. Foram utilizados 60 terceiros molares hígidos, igualmente distribuídos em 5 grupos: G1- ácido fosfórico 37%/Delton®; G2- ácido poliacrílico 40%/KetacMolar®/esmalte cosmético; G3- Fuji Plus Conditioner®/ esmalte de cosmético; G4- ácido fosfórico 37%/Vitremer®/Finishing gloss; G5- ácido fosfórico 37%/Vitremer® diluído na proporção de 1/4 de pó/Finishing gloss. Os dentes foram submetidos à termociclagem, corados e seccionados para avaliação. Não houve diferença estatística entre os materiais testados em relação à DP, sendo que todos os grupos apresentaram um preenchimento quase total das fissuras. Nenhum material selador foi apto em impedir a penetração da solução corante, entretanto, os CIVs promoveram os melhores resultados de MM, distinguindo-se significativamente em relação ao SR. Os autores concluíram que todos os materiais testados apresentaram um grau de penetração satisfatório no interior das fissuras, no entanto, os cimentos de ionômero de vidro demonstraram melhor comportamento no teste de microinfiltração marginal, quando comparado ao selante resinoso.

LOBO et al., em 2005, avaliaram o efeito anticariogênico promovido por três diferentes materiais utilizados no selamento de fissuras oclusais, enfocando os benefícios da barreira física formada sobre o esmalte selado, a proteção do esmalte adjacente ao material selador, bem como a incorporação de flúor para o esmalte. Foram utilizados 48 molares humanos que tiveram a superfície oclusal delimitada por uma área de 12 mm². Os espécimes

foram divididos em 4 grupos: 1- sem selamento; 2- selados com cimento de ionômero de vidro modificado por resina (Vitremmer®); 3- selado com selante resinoso com flúor (Climpo®) e 4- selados com selante resinoso sem flúor (Concise®). Uma janela de 4 mm² foi realizada na superfície vestibular de todos os dentes para análise da incorporação do flúor no esmalte. Em seguida foi realizada a ciclagem de pH para os grupos 2, 3 e 4 por 5 dias. A análise do flúor do esmalte foi realizada por biópsia e a quantidade de flúor liberada pelo material selador analisada por meio da solução de ciclagem de pH. Os espécimes foram seccionados e embutidos para análise da microdureza longitudinal do esmalte. Os resultados mostraram que o grupo 2 apresentou um alto nível de liberação de flúor, bem como de incorporação de flúor ao esmalte, em relação aos grupos 3 e 4, com diferença estatisticamente significativa ($p < 0.05$). Com relação à porcentagem de volume mineral não existiu diferença estatisticamente significativa entre os grupos para o esmalte selado. Entretanto para o esmalte adjacente ao material selador nas profundidades de 10 e 20 µm o cimento de ionômero de vidro mostrou menor desmineralização. Os autores concluíram que o flúor liberado pelo cimento de ionômero de vidro é capaz de incorporar não somente ao esmalte dentário adjacente ao material, mas também exercer efeito cariostático à distância.

TOSTES AMARAL, GUEDES-PINTO & CHEVITARESE, em 2006, estudaram *in situ* a remineralização nas margens dos sulcos e fissuras seladas com o cimento de ionômero de vidro Fuji IX® comparado ao selante resinoso Delton® através da análise da microdureza Knoop do esmalte. A amostra consistiu de 88 blocos de esmalte obtidos de terceiros molares humanos previamente desmineralizados e divididos em 5 grupos: Grupo 1 – controle, sem tratamento; Grupo 2 – amostras submetidas ao processo de cárie artificial; Grupo 3 – blocos desmineralizados e selados com Delton®; Grupo 4 – blocos desmineralizados e selados com cimento de ionômero de vidro; Grupo 5 – blocos desmineralizados, mas sem selamento. Os grupos 1 e 2 não foram submetidos ao meio bucal e serviram como controle, os Grupo 3, 4 e 5 foram inseridos no dispositivo intra-bucal. Após 30 dias, foi realizada a análise de microdureza com carga estática de 25g por 15 segundos em 3 penetrações desde a base das fissuras até uma abertura de 600 µm preestabelecidas entre os planos inclinados das cúspides, considerando-se também a forma dos sulcos e fissuras, classificadas em “I”, “U” e “V”. Os autores observaram a recuperação da dureza (remineralização) apenas do grupo do Fuji IX® (grupo 4), em todas as distâncias testadas, sendo estatisticamente significativa ($p < 0,05$). Não houve diferença nos resultados obtidos para o grupo 4 em relação à remineralização, nos

sulcos em forma de “I” e “U”, entretanto, nas fissuras em “V”, um menor endurecimento foi observado com o selamento com o cimento de ionômero de vidro. Na análise ao microscópio de luz polarizada, encontrou-se diminuição da birrefringência positiva em algumas áreas do grupo 4, quando comparada aos demais grupos.

Em 2009, YENGOPAL et al., realizaram uma metanálise com enfoque no efeito preventivo do selamento de fossas e fissuras do cimento de ionômero de vidro e do selante resinoso. Para coleta de dados os autores pesquisaram nove bancos de dados em inglês e dois em português, utilizando como critérios de inclusão os ensaios clínicos randomizados e revisões sistemáticas. Dos 112 artigos da busca, foram selecionados oito ensaios clínicos e três revisões sistemáticas. Em virtude das diferenças de metodologia, os autores rejeitaram dois ensaios clínicos. Dos seis ensaios da metanálise, foram avaliados primeiros molares de 873 crianças de 6 a 11 anos (827 com selante de ionômero de vidro e 822 com selante resinoso). A análise estatística revelou não haver diferença estatisticamente significância entre o efeito preventivo do selante ionomérico e do selante resinoso na prevenção de cárie em fossas e fissuras oclusais.

BASEGGIO et al., 2010, ao comparar o Vitremer[®] com o Fluroshield[®] quanto à eficácia em prevenir cárie e retenção dos materiais por três anos em um modelo randomizado de boca dividida, encontrou em 6, 12, 24 e 36 meses de estudo, para o Vitremer[®] 18,75%, 13,75%, 8,75%, 5,10% de retenção, respectivamente; enquanto que para Fluroshield[®] foi verificada uma taxa de retenção de 96,25%, 94,37%, 93,75% e 91,08% de retenção, respectivamente. Para os autores, o selante ionomérico deve ser usado como um selante de transição, que pode ser usado em dentes recém-irrompidos ao longo do processo eruptivo, enquanto que selantes resinosos devem ser usados com sucesso na prevenção da cárie.

Com objetivo de avaliar quantitativamente a evidência científica com relação aos efeitos preventivos dos selantes de ionômero de vidro em comparação a selantes resinosos, YENGOPAL & MICKENAUTSCH, em 2010, realizaram uma metanálise. A busca da literatura inclui 10 bancos de dados, até o ano de 2009, utilizando uma estratégia pré-determinada. Ensaios clínicos foram incluídos se seus títulos/resumos fossem relevantes, publicados em inglês, português ou espanhol. O resultado do efeito preventivo seguiu os critérios: ausência de lesão cariada nos dentes selados. Dois revisores independentes extraíram

dados dos artigos selecionados para completar a tabela 2x2 para a metanálise. A variável de estudo foi o dente e o número de dentes livres de cárie (n) no final de cada intervalo de tempo (6, 12 e 24 meses), comparando-se com o número total de dentes avaliados (N). Os conjuntos de dados foram avaliados quanto à heterogeneidade clínica e metodológica, seguindo diretrizes Cochrane, e apenas conjuntos de dados homogêneos foram combinados para a metanálise, utilizando um modelo de efeitos randomizados (RevMan 4.2). As diferenças no efeito preventivo de cárie foram calculadas com base no Risco Relativo combinado (RR), com intervalo de confiança de 95% (IC). Assim, dos 212 artigos identificados, apenas 6 estudos foram incluídos. Destes, foram extraídos 19 conjuntos de dados separados. Para os dados agrupados, efeitos equivalentes de prevenção de cárie foram observadas em 6 meses (RR = 0,98, IC 0,95-1,00 95%, p = 0,08), 12 meses (RR = 1,00, 95% CI 0,96-1,04, p = 0,99) e 24 meses (RR = 1,01, 95% CI 0,84-1,21, p = 0,91). Os dados de 36 meses (não agrupados) favoreceram selantes resinosos (RR de 0,93, IC 0,88-0,97, p = 0,002 95%). Os autores concluíram que, com base nesta meta-análise, não havia evidência conclusiva de que qualquer um dos materiais era superior ao outro na prevenção da cárie dentária.

RODRIGUES et al., em 2010, testaram um modelo de ciclagem de pH para avaliar a relação dose-resposta de materiais que liberam flúor na remineralização *in vitro*. Sessenta blocos de esmalte (4 x 4 x 3 mm) foram obtidos a partir de incisivos bovinos e medidos a microdureza superficial inicial (Knoop, carga de 25 g para 10 s). Em seguida, os espécimes foram submetidos a indução de cárie artificial e uma outra avaliação da microdureza foi realizada posteriormente (pós-cárie). Numa segunda etapa da pesquisa foram realizados os corpos-de-prova (n= 48) com Z100®, Fluoroshield®, Vitremer® e Vitremer® diluído ¼, que logo após foram submetidos à ciclagem de pH para promover a remineralização. Avaliou-se a microdureza de superfície final para cálculo da porcentagem de recuperação da microdureza de superfície e determinou-se o flúor presente no esmalte ($\mu\text{g F/mm}^3$) e nas soluções de ciclagem ($\mu\text{g F}$). O teste de microdureza em secção longitudinal foi realizado para cálculo do conteúdo mineral (ΔZ). Entre os grupos controle e Z100® não houve diferença significativa nas análises realizadas - %SMHR, ΔZ , $\mu\text{g F}$ e $\mu\text{g F/mm}^3$ ($p > 0,05$). Houve correlação positiva entre a %SMHR e $\mu\text{g F/mm}^3$ ($r = 0,9770$; $p = 0,004$), %SMHR e $\mu\text{g F}$ ($r = 0,9939$; $p = 0,0000001$), ΔZ e $\mu\text{g F/mm}^3$ ($r = 0,9853$; $p = 0,0002$), ΔZ e $\mu\text{g F}$ ($r = 0,9975$; $p = 0,0000001$) e também entre $\mu\text{g F/mm}^3$ e $\mu\text{g F}$ ($r = 0,9819$; $p = 0,001$). O modelo de ciclagem de pH proposto

foi adequado para verificar relação dose-resposta *in vitro* de materiais que liberam flúor na remineralização.

MICKENAUTSCH, MOUNT & YENGOPAL, em 2011, realizaram uma revisão sistemática, buscando mostrar as propriedades dos materiais seladores à base do cimento de ionômero de vidro e dos selantes resinosos, enfocando suas indicações e sua eficácia. Dezesesseis trabalhos foram selecionados dentro dos critérios de inclusão, depois da revisão da literatura. Os resultados apontaram que embora muitas pesquisas tenham sido realizadas empregando o cimento de ionômero de vidro como material selador de fossas e fissuras oclusais, ainda assim não se comprovou sua superioridade à utilização de selante resinoso. No entanto, existe evidência clínica comprovada da sua ação anticariogênica no esmalte dentário. Portanto os autores concluíram que novos estudos de longa duração devem ser realizados, com avaliações em longo prazo para que se comprove sua eficácia no controle da cárie dentária.

MARKOVIC et al, em 2012, avaliaram a microinfiltração, capacidade de adaptação e eficácia clínica de dois selantes de fissura com flúor por 12 meses, sendo um à base de resina (Helioseal F[®]) e outro à base de ionômero de vidro (Fuji Triage[®]). A microinfiltração foi detectada em mais da metade da amostra, sem diferenças significativas entre os dois grupos ($p > 0,05$). Na avaliação de 6 e 12 meses, o Helioseal F[®] apresentava 88% e 82% de retenção, respectivamente; e o Fuji Triage[®] 46% e 21% de retenção, respectivamente. A presença de cárie em molares selados foi detectada em um paciente, em ambos os grupos. Os autores concluíram que ambos os materiais testados demonstraram satisfatório resultado clínico e características profiláticas de cárie que justificam a sua utilização em odontologia preventiva.

PEREIRA ADE et al., em 2012, observaram a influência de técnicas restauradoras na adaptação marginal ao redor de restaurações classe V simulando lesões abfração, em pré-molares inferiores, utilizando diferentes materiais restauradores. Todos os dentes foram submetidos a ciclos térmicos e mecânicos e imersos em 0,5% de corante azul de metileno (pH 7,2) durante quatro horas. Os resultados foram significativos, com valores mais baixos para microinfiltração em primer/Vitremer[®], seguidos por Clearfil SE Bond[®]/Durafill VS[®] e Clearfil SE Bond[®]/Z100[®] em métodos qualitativos e quantitativos ($p < 0,05$). Os autores

concluíram que todos os grupos tiveram infiltração em diferentes graus, com os valores mais baixos para o ionômero de vidro modificado por resina.

ANTONSON et al., em 2012, realizaram um estudo para verificar a retenção, a coloração marginal e as propriedades cariostáticas de um selante de ionômero de vidro comparado a um selante à base de resina, durante um período de 24 meses. Foram incluídos neste estudo 39 pacientes, com idade entre 5 a 9 anos, que apresentavam parcial erupção bilateral dos primeiros molares permanentes. Um dos dentes era selado com um selante à base de resina (Delton Plus FS +[®], Dentsply Professional, York, Pa.) (Grupo D), outro com um selante de ionomérico (GC Fuji Triage Branco[®], GC America, Alsip, Ill.) (Grupo T). Dois pesquisadores avaliaram os selantes aos 3, 6, 12 e 24 meses. Em 24 meses, 69,2% dos pacientes foram avaliados. Dois selantes do grupo D e três do grupo T foram perdidos completamente. A retenção completa em 24 meses foi de 40,7 e 44,4% para os grupos D e T, respectivamente, sem diferença estatisticamente significante ($p > 0,05$). Para a coloração marginal, selantes do grupo à base de resina exibiram taxas estatisticamente maior do que o grupo de selantes ionoméricos ($p < 0,05$). Embora não detectado cárie em dentes do grupo T, dentes do grupo D, em que o selante foi perdido, apresentaram desmineralização. Os autores concluíram que selantes ionoméricos podem ser a melhor escolha quando a contaminação salivar é esperada.

KANTOVITZ et al., em 2013, avaliaram o efeito de selantes, com e sem flúor, na diminuição da dureza e na adaptação marginal do material ao esmalte dentário após ao desafio cariogênico. Foram preparados espécimes de esmalte da superfície oclusal de terceiros molares, e estes divididos em seis grupos ($n = 12$): de acordo com a condição da fissura (S – hígido; C – desmineralizado; CF – desmineralizado + Fluoreto tópico) e de acordo com o material (F – Fluroshield[®]; H – Helioseal[®]). Em seguida foi analisada a microdureza em secção longitudinal, respeitando-se quatro distâncias: -1 - sob o selante; 0 - na margem do selante; 1 - 100 μ m e 2- 200 μ m e profundidades : 10, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100, 120, 140, 160 e 180 μ m. Para microdureza, os valores de F ($6900,5 \pm 3686,6$) foram significativamente menores do que os valores de H ($8534,6 \pm 5375,3$), independente da condição da fissura e distâncias da margem do selante. Foram observadas diferenças significativas entre as distâncias de margem de selante: -1 ($5934,0 \pm 3282,6$) < 0 ($8701,5 \pm 6175,7$) = 1 ($8473,2 \pm 4299,4$) = 2 ($7761,5 \pm 4035,1$), independentemente do material selador e condição da fissura.

Não houve diferença significativa entre os grupos testados para a análise de adaptação marginal ($p \geq 0,05$). Os autores concluíram que a adaptação marginal do material à fissura de esmalte não sofre interferência da composição do material, com ou sem fluoretos, funcionando somente como uma barreira física. O mesmo não aconteceu com a dureza do esmalte que se beneficiou com a ação anticariogênica dos fluoretos. Concluiu-se, portanto, que os materiais fluoretados são uma opção de tratamento para o selamento de primeiros molares, em pacientes de alto risco, em especial em fissuras com mancha branca ativa.

AHOVUO-SALORANTA et al., em 2013, em uma revisão sistemática, compararam os efeitos de diferentes tipos de selantes de fossas e fissuras na prevenção da cárie em dentes permanentes. Trinta e quatro ensaios foram incluídos na revisão: 12 estudos avaliaram os efeitos do selante em comparação com nenhum selante (2.575 participantes); 21 ensaios avaliaram um tipo de selante em comparação com outro (3202 participantes); e um estudo avaliou dois tipos diferentes de selante e sem selante (752 participantes). De 21 ensaios comparando selantes, 15 eram comparação do ionômero de vidro com selante à base de resina; e não houve provas suficientes para tirar conclusões sobre a superioridade de qualquer um dos dois materiais. A análise revelou que os selantes são eficazes em crianças de alto risco, mas a informação sobre a magnitude do benefício de selamento em outras condições é escassa.

Com objetivo de construir uma diretriz informativa para o planejamento em modelos *in situ* para estudos de cárie, SUNG et al., em 2014, realizaram uma busca eletrônica da literatura no banco de dados PubMed. Um total de 191 artigos completos, escritos em inglês, foram incluídos, e os dados foram extraídos a partir de materiais e métodos. Como resultado encontraram que o critério de inclusão mais frequente era a função salivar normal dos participantes (87 artigos), seguido pela saúde geral dos participantes (83 artigos) e condição dentária dos voluntários (74 artigos). A quantidade de participantes variou entre dez e 14 em 74 dos artigos encontrados. Em 128 dos estudos foram utilizados dentes humanos, particularmente terceiros molares (68 artigos). Sessenta e três estudos utilizaram incisivos bovinos. O método de esterilização mais comum foi o armazenamento em timol (16,2%), seguido pelo óxido de etileno (12,7%). Para uma avaliação dos resultados experimentais, teste de superfície ou de microdureza longitudinal foram os mais utilizados (74 estudos).

3. OBJETIVOS

Este estudo avaliou, *in situ*, o efeito preventivo, quanto à desmineralização do esmalte, de um selante resinoso e de um cimento de ionômero de vidro modificado por resina, aplicados sobre a fissura oclusal de terceiros molares inferiores humanos, com e sem acúmulo de biofilme dentário.

As hipóteses nulas consideradas foram:

- Não há diferença estatística na microdureza longitudinal em relação aos materiais seladores testados.
- Não há diferença estatística na microdureza longitudinal em relação às diferentes distâncias do material selador (100µm interna, borda do material, 100µm externa e 200µm externa).
- A presença de biofilme dentário não interfere estatisticamente no efeito preventivo dos materiais.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Delineamento Experimental

Este estudo *in situ*, realizado em um período de 21 dias, utilizou blocos de fissura oclusal de terceiros molares inferiores humanos (n= 60). Durante esse tempo, voluntários utilizaram um dispositivo intrabucal palatino contendo os espécimes. Foram estudados dois materiais indicados para selamento de fossas e fissuras oclusais – cimento de ionômero de vidro modificado por resina e selante resinoso convencional sem carga e sem flúor, nas seguintes condições: com e sem acúmulo de biofilme dentário. Sessenta espécimes de esmalte humano, após um ordenamento e planejamento, foram aleatoriamente divididos entre dez voluntários e entre seis grupos de estudo. Cada dispositivo palatino conteve seis espécimes, fixados em duas fileiras. Com o uso de uma tela plástica, uma das fileiras do aparelho foi submetida ao acúmulo de biofilme dentário. Os grupos foram distribuídos conforme tabela 1:

Tabela 1. Divisão dos grupos da pesquisa.

GRUPO	MATERIAL	CONDIÇÃO
1	Vitremer® (3M ESPE AG Dental Products, Seefeld, Alemanha)	com acúmulo de biofilme dentário
2	Vitremer® (3M ESPE AG Dental Products, Seefeld, Alemanha)	sem acúmulo de biofilme dentário
3	Alpha Seal® (DFL Indústria e Comércio S.A.- RJ, Brasil)	com acúmulo de biofilme dentário
4	Alpha Seal® (DFL Indústria e Comércio S.A.- RJ, Brasil)	sem acúmulo de biofilme dentário
5	Controle	com acúmulo de biofilme dentário
6	Controle	sem acúmulo de biofilme dentário

O efeito preventivo da desmineralização do esmalte foi analisado por meio da avaliação da microdureza longitudinal do esmalte.

O fluxograma do delineamento experimental pode ser visto na figura 1.

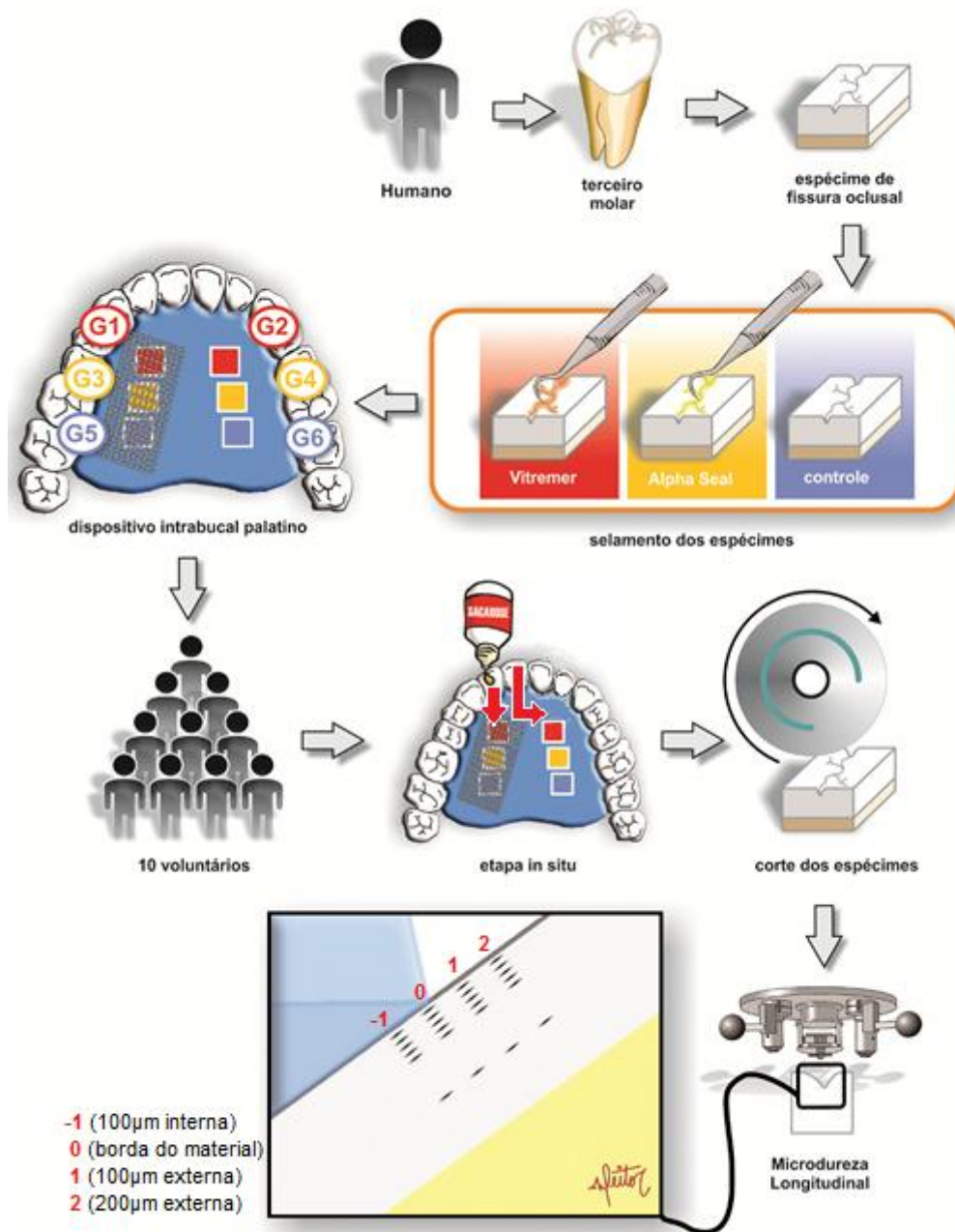


Figura 1. Fluxograma do delineamento experimental.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê Permanente de Ética em Pesquisas com Seres Humanos – COPEP, da Universidade Estadual de Maringá – UEM, CAAE Nº 34047814.0.0000.0104 (ANEXO A). O voluntário envolvido na pesquisa recebeu informações sobre a natureza do estudo e assinou “Termo de Consentimento Livre e Esclarecido” (ANEXO E), antes de qualquer procedimento metodológico.

Primeira Fase Laboratorial

Seleção de dentes

Para o desenvolvimento desta pesquisa foram utilizados terceiros molares inferiores humanos (dentes anatomicamente semelhantes aos primeiros molares permanentes), livres de cárie, recém extraídos por indicação clínica ou ortodôntica.

Os dentes foram coletados diretamente de doadores que receberam informações sobre a pesquisa e assinaram “Termo de Cessão de Dentes” (ANEXO D).

Após a exodontia, os dentes foram armazenados em solução de timol a 0,1%, por 4 meses em média (Figura 2).

Obtenção dos espécimes da superfície oclusal dos molares humanos

Os dentes passaram por uma seleção prévia, a olho nu ou com auxílio de lupa, eliminando-se aqueles com trinca, rachadura, mancha hipoplásica ou lesão de cárie (Figura 3).

Primeiramente, as raízes foram removidas com auxílio de um torno de polimento odontológico adaptado para corte e um disco diamantado Diaflex-F, seccionando a porção cervical dos dentes. Em seguida, as coroas foram fixadas com godiva termoativada em uma placa de alumínio (40 x 40 x 5 mm) para realização dos cortes (Figura 4) em um aparelho de precisão Isomet 1000 Precision Saw (Bulher Ltda, Lake Bluff, IL, USA) (Figura 5), com auxílio de dois discos diamantados dupla face (12205, 102 x 0,3 x 12,7mm, high concentration, Extex Corporation, Enfield, CT, USA) e um espaçador de aço inoxidável (7 cm de diâmetro, 4 mm de espessura e orifício central de 1,3 cm) entre os discos, com velocidade

de 300 rpm e refrigeração com água deionizada. Foram obtidos espécimes de esmalte de 4 x 4 mm da porção mais central da superfície oclusal da coroa (fossas e fissuras), através de uma secção dupla no sentido vestibulo-lingual e outra no sentido mésio-distal (Figura 6). Nova seleção foi feita após esses cortes, e os fragmentos com esmalte trincado, rachado, manchado ou com lesão cariiosa foram desprezados (Figura 7).

Planificação dos espécimes

Com intuito de realizar a planificação da dentina, os espécimes foram posicionados no centro de um disco acrílico (30 mm de diâmetro por 8 mm de espessura), com a área de esmalte voltada para o disco e com auxílio de um aplicador de hidróxido de cálcio (Duflex 10120 –SS White Artigos Dentários Ltda, Rio de Janeiro, Brasil) e uma lamparina (Jon, Ind. Bras., São Paulo, SP) foram fixados colocando-se cera pegajosa Asfer (Asfer Indústria Química Ltda., São Caetano do Sul, SP) ao redor do espécime. O disco foi adaptado em uma Politriz Metalográfica (APL 4, Arotec, Cotia, SP) (Figura 8), com sistema de polimento múltiplo, capaz de realizar o polimento de seis corpos de prova. Para este procedimento foi utilizada lixa metal de granulação 320 (Carbimet Paper Discs, 30-5108-320, Buehler), em velocidade baixa, sob refrigeração de água deionizada. Posteriormente, os espécimes foram removidos do disco de acrílico.

Selamento dos espécimes (fossas e fissuras)

Nos grupos 1 e 2, as superfícies foram condicionadas por 15 segundos com ácido fosfórico a 37% (Dentsply Ind. e Com. Ltda, Petrópolis – RJ, Brasil), lavadas, secas, seladas com cimento de ionômero de vidro (Vitremar® - 3M ESPE AG Dental Products, Seefeld, Alemanha) na proporção de 2 gotas de líquido para 1 porção de pó utilizando uma sonda exploradora para evitar excesso de material, fotopolimerizadas por 40 segundos e então, protegidas com finishing gloss.

Nos grupos 3 e 4, as superfícies foram condicionadas por 15 segundos com ácido fosfórico a 37% (Dentsply Ind. e Com. Ltda, Petrópolis – RJ, Brasil), lavadas, secas e seladas

com selante resinoso Alpha Seal® (DFL Indústria e Comércio S.A.- RJ, Brasil) utilizando uma sonda exploradora para evitar excesso de material e fotopolimerizadas por 20 segundos.

Os grupos 5 e 6 foram mantidos sem selante (grupo controle).

Após a realização dos selamentos, os espécimes, imersos em água deionizada, foram mantidos em estufa a 37°C por 48 horas, individualizando-se os grupos em recipientes distintos.

Fase Clínica

Seleção dos voluntários

Os 10 voluntários selecionados deveriam estar dentro dos critérios de inclusão: ter idade de 18 a 25 anos; apresentar-se livres de cárie e problemas periodontais no momento da pesquisa; estar ciente do cumprimento do protocolo da pesquisa (cumprir 21 dias completos do período experimental, utilizar o dispositivo palatal 24 horas ao dia, alimentar-se somente nos períodos indicados pelo pesquisador, usar dentifrício e escova fornecidos para pesquisa e no momento indicado, manter a solução de sacarose acondicionados corretamente e seguir o tempo de aplicação indicado).

Dos critérios de exclusão estavam: fumar; apresentar lesões de cárie ativa no estágio de cavitação; utilizar ou ter utilizado nos últimos dois meses medicamentos que afetam o fluxo salivar (antidepressivos, narcóticos, diuréticos ou anti-histamínicos); ter sofrido irradiação ou quimioterapia; apresentar doenças sistêmicas, como doenças auto-imunes, xerostomia, diabetes tipo 1, má nutrição, problemas gastro-esofágicos e distúrbios de regurgitação e vômito.

Os voluntários foram submetidos a um exame clínico da cavidade bucal.

Preparo do dispositivo intrabucal palatino

A arcada superior dos voluntários foi moldada com alginato (Jeltrate, Dentsply Indústria e Comércio Ltda, Petrópolis – RJ, Brasil) e modelos de gesso pedra (Herodent – Soli

Rock – Vigodent S/A Indústria e Comércio, Rio de Janeiro – RJ, Brasil) foram obtidos. Sobre os modelos foram confeccionados os dispositivos intrabucais palatinos em resina acrílica (Clássico, Artigos odontológicos clássicos Ltda, São Paulo – SP, Brasil). Cada dispositivo conteve seis cavidades de 6 x 10 x 4mm divididas em duas fileiras (direita e esquerda), onde foram fixados os espécimes de esmalte com cera de escultura colorida. Os dispositivos foram polidos mecanicamente em um torno com pedra-pomes (SS White Artigos Dentários Ltda, Rio de Janeiro – RJ, Brasil) e quimicamente pela imersão, por alguns segundos, em monômero de resina acrílica aquecido.

A distribuição dos espécimes nas diferentes cavidades do dispositivo foi aleatorizada (Microsoft Excel® 2010), desde que cada fileira tivesse um espécime controle e um com selante ionomérico e um com selante resinoso. O mapeamento de cada dispositivo foi realizado, para posterior avaliação de cada tipo de material.

A fixação dos espécimes, com cera de escultura, foi criteriosa, evitando-se fendas laterais entre o fragmento e a resina acrílica, bem como desconforto aos voluntários. No lado sem acúmulo de biofilme dentário, os blocos foram fixados no nível da resina acrílica do aparelho. Já no lado em que houve acúmulo de biofilme, os espécimes foram fixados 1mm abaixo do nível da resina acrílica e cobertos com tela plástica (peneira grande, ref. 0041, plásticos Gonçalves LTDA, São Paulo) (Figura 9).

Fase In Situ

Procedimentos Intrabucais

Cada voluntário recebeu: uma lista de instruções (ANEXO F); um formulário para relatório (ANEXO G); um estojo plástico (Dental Morelli Ltda, Sorocaba – SP, Brasil) para guardar o dispositivo; uma bisnaga de dentífrico a base de sílica com 1500ppm de flúor (Colgate Tripla Ação 90g); uma escova dental (Colgate Premier Clean); fio dental (Medfio); um frasco com solução de sacarose a 20%; porções de gaze (Cremer S.A., Blumenau – SC, Brasil); e um frasco com água deionizada (Figura 10).

O aparelho foi instalado um dia antes do início da fase experimental, à noite, após a última higiene, para permitir a formação de película adquirida.

Os voluntários foram orientados a utilizar o dispositivo continuamente (24h/dia), exceto durante as refeições, período em que os dispositivos eram mantidos no estojo plástico e cobertos com gaze umedecida em água de deionizada. Foi instruído aos participantes não ingerirem bebidas fora dos horários das refeições, exceto água, quando deviam retirar o dispositivo da boca.

A higiene bucal devia ser realizada normalmente após as refeições (café da manhã, almoço e jantar), sem o dispositivo, utilizando somente o dentífrico fornecido.

No lado sem tela do dispositivo, os voluntários realizavam a limpeza dos espécimes com a escova fornecida, 3 vezes ao dia (após o café da manhã, almoço e janta), com quantidade de dentífrico equivalente a um grão de arroz (Colgate Tripla Ação 1500 ppm). Após escovação, os espécimes eram enxaguados para remoção do dentífrico. O lado com tela do dispositivo não deveria ser higienizado.

Os voluntários utilizaram 3 gotas de uma solução de sacarose a 20% sobre cada bloco do dispositivo, 8 vezes ao dia (8h, 10h, 12h, 14h, 16h, 18h, 20h, 22h). Nos momentos em que houve coincidência com a escovação, o gotejamento da sacarose se deu logo após a mesma. Após 5 minutos da aplicação da sacarose, os voluntários deviam reinstalar o dispositivo na cavidade bucal.

A sacarose fornecida aos voluntários deveria ser trocada a cada 3 dias e mantida em geladeira.

Na manhã do 22º dia de uso do dispositivo, os voluntários permaneceram em jejum até a entrega dos dispositivos intrabucais.

Segunda Fase: Laboratorial

Avaliação da microdureza longitudinal

Após os 21 dias do experimento, os dispositivos palatinos foram recolhidos e os espécimes removidos, limpos com hipoclorito de sódio a 1% e fixados em uma placa de alumínio para serem seccionados ao meio. Para isso, foi utilizado o aparelho de corte de precisão Isomet Low Speed Saw (Bulher Ltda, Lake Bluff, IL, USA), com auxílio de um disco diamantado dupla face (12205, 102 x 0,3 x 12,7mm, high concentration, Extec

Corporation, Enfield, CT, USA), com velocidade de 300rpm e refrigeração com água deionizada.

Assim metade de cada espécime foi incluída em 5g de resina acrílica, utilizando-se uma embutidora metalográfica (Embutidora metalográfica Microtest - modelo RS30), sob pressão de 150Kgf/c², com o tempo de aquecimento de 5 min e mais 5 min de resfriamento, com a superfície interna do espécime exposta.

Os corpos de prova foram submetidos ao polimento das superfícies de esmalte, objetivando planificá-las e regularizá-las, a fim de ser possível a medição da microdureza. Para este procedimento foi utilizada a lixadeira elétrica, com a lixa metal de granulação 320 (Carbimet Paper Discs, 30-5108-320, Buehler), em velocidade baixa, sob refrigeração de água deionizada, com 2 pesos, por 1 a 4 minutos, seguida pela lixa de granulação 600 (Carbimet Paper Discs, 30-5108-600, Buehler), nas mesmas condições, porém em velocidade alta, pelo tempo de 2 a 4 minutos. Passando pela lixa de granulação 1200 (Carbimet Paper Discs, 30-5108-1200, Buehler), em velocidade alta, sob refrigeração de água deionizada, com 2 pesos, por 2 a 10 minutos, seguido do feltro (Polishing Cloth Buehler 40-7618) umedecido com uma suspensão de diamante de 1µm (Extec I Water based diamond permanent polishing suspension Extec Corp. 1 micron 16587), durante 5 minutos, com dois pesos, em velocidade alta.

Entre cada troca de lixas, o conjunto espécime-disco de acrílico foi levado a um aparelho de ultra-som (Ultrasonic Cleaner Mod USC 800 A, Unique Ind. e Com. de Produtos eletrônicos Ltda, São Paulo – SP), com frequência de 40kHz, durante 2 minutos, com água deionizada. Ao final do polimento os espécimes foram imersos em água deionizada por 10 minutos para ação do aparelho de ultra-som para remoção de impurezas.

A microdureza longitudinal foi avaliada em um Microdurômetro HVS – 50, (Shimadzu Corporation, Japan) acoplado em um computador com um software específico para análise de imagens (Cams-Win-New Age Industries / USA). Este aparelho possui um penetrador piramidal tipo Knoop, e foi utilizado com uma carga estática de 25g por 5 segundos. Foram realizadas 24 indentações no esmalte, dispostas em quatro fileiras (100µm interna, borda do material, 100µm externa e 200µm externa), com profundidades padronizadas de 10, 20, 30, 60, 90, 200µm da superfície do esmalte.

Análise Estatística

Foi aplicada Análise de Variância a três critérios de medidas repetidas (ANOVA) ($p < 0,05$) para análise da microdureza longitudinal e o teste de comparação de Tukey ($p < 0,05$) quando existiu diferença estatisticamente significativa, testando-se cada fator individualmente (material, biofilme e distância), além de suas interações. O programa estatístico utilizado foi STATISTICA 11.0 software package (StatSoft Inc. Tulsa, Okla, US).



Figura 2. Dente armazenado em solução de timol a 0,1%.



Figura 3. Dente sem trinca, rachadura, mancha hipoplásica ou lesão cariiosa.

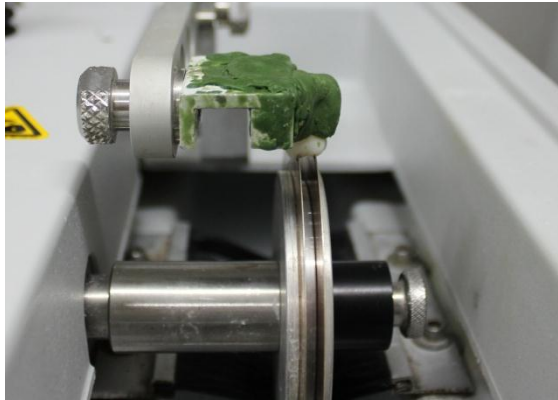


Figura 4. Coroa fixada com godiva termoativada para realização do corte méσιο-distal.

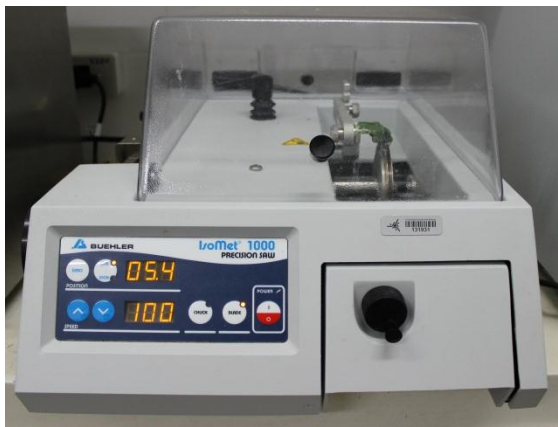


Figura 5. Aparelho de precisão Isomet 1000 Precision Saw (Bulher Ltda, Lake Bluff, IL, USA).

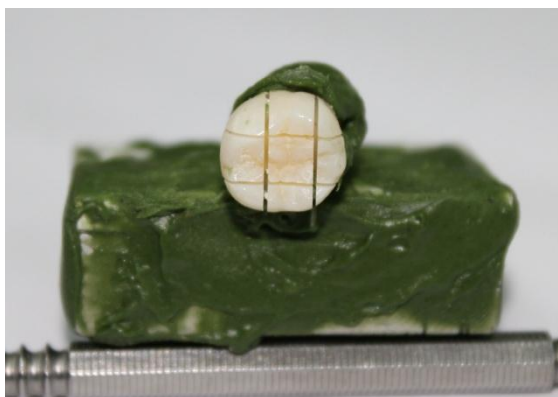


Figura 6. Espécime de esmalte de 4 x 4 mm da porção mais central da superfície oclusal da coroa.



Figura 7. Fragmentos com esmalte sem trinca, rachaduras, manchadas ou lesão cariosa.



Figura 8. Politriz Metalográfica (Arotec, Cotia, SP).

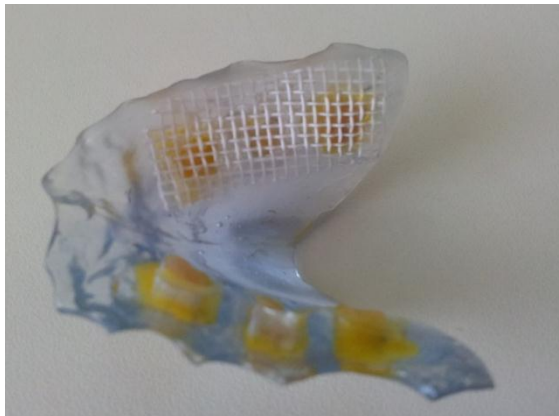


Figura 9. Dispositivo intrabucal palatino em resina acrílica.



Figura 10. Kit individual para cada voluntário.

5. RESULTADOS

Na etapa referente ao uso dos dispositivos intrabucais, todos os 10 voluntários finalizaram o estudo *in situ*.

Na análise de 10 μ m foi verificada diferença estatística no fator material ($p=0,003$) e no fator fileira ($p=0,018$) (Tabela 2). Em relação ao fator material, o teste de Tukey mostrou menor dureza do controle (206,84 KNH) em relação ao Vitremer® (295,29 KNH), enquanto o Alpha Seal® (266,29 KNH) foi igual aos outros dois (Tabela 3). Para o fator fileira, houve diferença estatisticamente significativa para borda (232,67 KNH) em relação à interna (273,26 KNH) (Tabela 4). Apesar de não ser considerado estatisticamente significativo, o fator biofilme mostrou um valor de influência próximo ao considerado nesse trabalho ($p= 0,061$) (Tabela 2).

Tabela 2. ANOVA a três critérios para profundidade de 10 μ m.

10μm	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	15746719	1	15746719	626,6921	0,000000
Material	325285	2	162642	6,4729	0,003021
Biofilme	91647	1	91647	3,6474	0,061476
Material*Biofilme	13428	2	6714	0,2672	0,766525
Error	1356843	54	25127		
Fileira	54939	3	18313	3,4110	0,018969
Fileira*Material	49128	6	8188	1,5251	0,172988
Fileira*Biofilme	13672	3	4557	0,8489	0,469075
Fileira*Material*Biofilme	19144	6	3191	0,5943	0,734573
Error	869744	162	5369		

Tabela 3. Teste Tukey ($\alpha=0,05$) com variável dependente da média da dureza, a 10 μ m, considerando o fator material.

MATERIAL	Média da dureza (KNH)
Controle	206,8488 ^a

Alpha Seal®	266,2950 ^{ab}
Vitremer®	295,2975 ^b

Letras diferentes demonstram diferença estatisticamente significante entre os grupos.

Tabela 4. Teste Tukey ($\alpha=0,05$) com variável dependente da média da dureza, a 10 μ m, considerando o fator fileira.

FILEIRA	Média da dureza (KNH)
Interna	273,2633 ^b
Borda	232,6767 ^a
100μm	264,4050 ^{ab}
200μm	254,2433 ^{ab}

Letras diferentes demonstram diferença estatisticamente significante entre os grupos.

Na análise de 20 μ m foi verificada diferença estatística para o fator material ($p=0,015$), no fator fileira ($p=0,029$) e fator biofilme ($p=0,006$) (Tabela 5). Em relação ao fator material, o teste de Tukey mostrou menor dureza do controle (248,30 KNH) em relação ao Vitremer® (309,44 KNH), enquanto o Alpha Seal® (280,77 KNH) foi igual aos outros dois (Tabela 6). Para o fator fileira, houve diferença estatística para 200 μ m (265,09 KNH) com dureza menor que a fileira interna (302,75 KNH), enquanto todas as outras foram semelhantes estatisticamente (Tabela 7). Analisando o fator biofilme, houve diferença estatisticamente significante para uma dureza menor na presença de biofilme em relação à ausência de biofilme (Tabela 8).

Tabela 5. ANOVA a três critérios para profundidade de 20 μ m.

20μm	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	18749699	1	18749699	1134,992	0,000000
Material	149699	2	74849	4,531	0,015168
Biofilme	132676	1	132676	8,031	0,006453
Material*Biofilme	10121	2	5061	0,306	0,737411
Error	892062	54	16520		
Fileira	47579	3	15860	3,057	0,029987
Fileira*Material	13991	6	2332	0,449	0,844564

Fileira*Biofilme	20065	3	6688	1,289	0,279971
Fileira*Material*Biofilme	10817	6	1803	0,348	0,910546
Error	840438	162	5188		

Tabela 6. Teste Tukey ($\alpha=0,05$) com variável dependente da média da dureza, a 20 μ m, considerando o fator material.

MATERIAL	Média da dureza (KNH)
Controle	248,3038 ^a
Alpha Seal®	280,7750 ^{ab}
Vitremer®	309,4400 ^b

Letras diferentes demonstram diferença estatisticamente significante entre os grupos.

Tabela 7. Teste Tukey ($\alpha=0,05$) com variável dependente da média da dureza, a 20 μ m, considerando o fator fileira.

FILEIRA	Média da dureza (KNH)
Interna	302,7533 ^b
Borda	273,3983 ^{ab}
100μm	276,7833 ^{ab}
200μm	265,0900 ^a

Letras diferentes demonstram diferença estatisticamente significante entre os grupos.

Tabela 8. Teste Tukey ($\alpha=0,05$) com variável dependente da média da dureza, a 20 μ m, considerando o fator biofilme.

BIOFILME	Média da dureza (KNH)
Presente	255,9942 ^a
Ausente	303,0183 ^b

Letras diferentes demonstram diferença estatisticamente significante entre os grupos.

Na análise de 30 μ m foi verificada diferença estatística para o fator material ($p=0,002$), fator fileira ($p=0,047$) e fator biofilme ($p=0,034$) (Tabela 9). Em relação ao fator material, o teste de Tukey mostrou menor dureza do controle (271,92 KNH) em relação ao Vitremer® (345,18 KNH), enquanto o Alpha Seal® (301,53 KNH) foi igual aos outros dois

(Tabela 10). Para o fator fileira, houve uma tendência de diminuição da dureza quanto mais afastado do material, sendo apenas a borda (311,06 KNH) estatisticamente semelhante às demais fileiras (Tabela 11). Analisando o fator biofilme, houve diferença estatisticamente significativa para uma dureza menor na presença de biofilme em relação à ausência de biofilme (Tabela 12).

Tabela 9. ANOVA a três critérios para profundidade de 30 μ m.

30μm	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	22504353	1	22504353	1416,425	0,000000
Material	217337	2	108668	6,840	0,002251
Biofilme	74716	1	74716	4,703	0,034540
Material*Biofilme	83093	2	41547	2,615	0,082419
Error	857959	54	15888		
Fileira	39099	3	13033	2,693	0,047931
Fileira*Material	9332	6	1555	0,321	0,925066
Fileira*Biofilme	34253	3	11418	2,360	0,073523
Fileira*Material*Biofilme	47712	6	7952	1,643	0,138396
Error	783922	162	4839		

Tabela 10. Teste Tukey ($\alpha=0,05$) com variável dependente da média da dureza, a 30 μ m, considerando o fator material.

MATERIAL	Média da dureza (KNH)
Controle	271,9225 ^a
Alpha Seal®	301,5375 ^{ab}
Vitremer®	345,1875 ^b

Letras diferentes demonstram diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

Tabela 11. Teste Tukey ($\alpha=0,05$) com variável dependente da média da dureza, a 30 μ m, considerando o fator fileira.

FILEIRA	Média da dureza (KNH)
Interna	324,8600 ^b
Borda	311,0667 ^{ab}

100µm	292,9683 ^a
200µm	295,9683 ^a

Letras diferentes demonstram diferença estatisticamente significante entre os grupos.

Tabela 12. Teste Tukey ($\alpha=0,05$) com variável dependente da média da dureza, a 30µm, considerando o fator biofilme.

BIOFILME	Média da dureza (KNH)
Presente	288,5717 ^a
Ausente	323,8600 ^b

Letras diferentes demonstram diferença estatisticamente significante entre os grupos.

Na análise de 60µm verificamos diferença apenas no fator material ($p= 0,021$) (Tabela 13), onde o teste de Tukey mostrou menor dureza do controle (329,19 KNH) em relação ao Vitremer® (382,88 KNH), enquanto o Alpha Seal® (345,15 KNH) foi igual aos outros dois (Tabela 14).

Tabela 13. ANOVA a três critérios para profundidade de 60µm.

60µm	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	29806697	1	29806697	2024,958	0,000000
Material	121646	2	60823	4,132	0,021390
Biofilme	17418	1	17418	1,183	0,281510
Material*Biofilme	74598	2	37299	2,534	0,088744
Error	794862	54	14720		
Fileira	3250	3	1083	0,252	0,859617
Fileira*Material	26334	6	4389	1,022	0,412725
Fileira*Biofilme	16492	3	5497	1,280	0,282936
Fileira*Material*Biofilme	44610	6	7435	1,732	0,116718
Error	695523	162	4293		

Tabela 14. Teste Tukey ($\alpha=0,05$) com variável dependente da média da dureza, a 60µm, considerando o fator material.

MATERIAL	Média da dureza (KNH)
-----------------	------------------------------

Controle	329,1913 ^a
Alpha Seal®	345,1588 ^{ab}
Vitremer®	382,8875 ^b

Na análise de 90µm verificamos diferença estatisticamente significativa apenas entre o fator material em interação com o biofilme (p= 0,005) (Tabela 15), onde o teste de Tukey mostrou menor dureza do controle sem biofilme em relação ao Vitremer® sem biofilme, enquanto todos os outros grupos foram semelhantes (Tabela 16).

Tabela 15. ANOVA a três critérios para profundidade de 90µm.

90µm	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	31115521	1	31115521	2587,532	0,000000
Material	69498	2	34749	2,890	0,064230
Biofilme	2445	1	2445	0,203	0,653869
Material*Biofilme	139384	2	69692	5,796	0,005246
Error	649359	54	12025		
Fileira	2028	3	676	0,200	0,895982
Fileira*Material	36187	6	6031	1,788	0,104554
Fileira*Biofilme	13145	3	4382	1,299	0,276640
Fileira*Material*Biofilme	29477	6	4913	1,457	0,196360
Error	546409	162	3373		

Tabela 16. Teste Tukey ($\alpha=0,05$) com variável dependente da média da dureza, a 90µm, considerando o fator material em interação com o fator biofilme.

MATERIAL	BIOFILME	Média da dureza (KNH)
Controle	Ausente	313,9250 ^a
Alpha Seal®	Presente	324,7750 ^{ab}
Controle	Presente	370,4750 ^{ab}
Vitremer®	Presente	375,3750 ^{ab}
Alpha Seal®	Ausente	385,3000 ^{ab}
Vitremer®	Ausente	390,5500 ^b

Na análise de 200 μ m não houve diferença estatisticamente significativa para nenhum dos grupos (Tabela 17).

Tabela 17. ANOVA a três critérios para profundidade de 200 μ m.

200 μ m	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	33837056	1	33837056	3606,071	0,000000
Material	22703	2	11352	1,210	0,306222
Biofilme	32480	1	32480	3,461	0,068263
Material*Biofilme	27808	2	13904	1,482	0,236332
Error	506701	54	9383		
Fileira	6458	3	2153	0,898	0,443627
Fileira*Material	15170	6	2528	1,055	0,392113
Fileira*Biofilme	3410	3	1137	0,474	0,700720
Fileira*Material*Biofilme	13307	6	2218	0,925	0,478433
Error	388327	162	2397		

Para melhor demonstração dos materiais em relação à microdureza nas diferentes profundidades, apresentamos as figura 11, 12, 13 e 14.

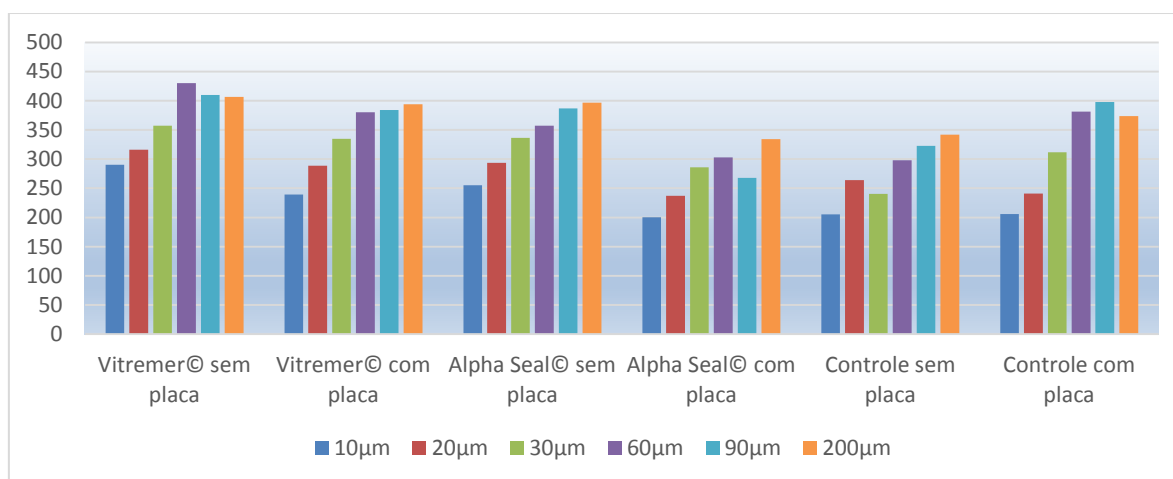


Figura 11. Desempenho dos grupos experimentais, medidas por microdureza longitudinal, considerando a fileira Borda.

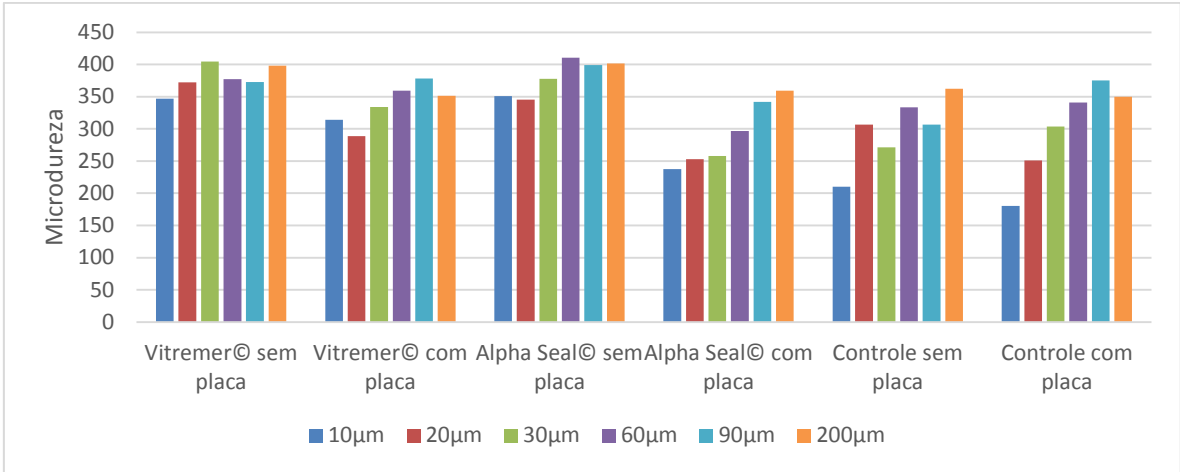


Figura 12. Desempenho dos grupos experimentais, medidas por microdureza longitudinal, considerando a fileira Interna.

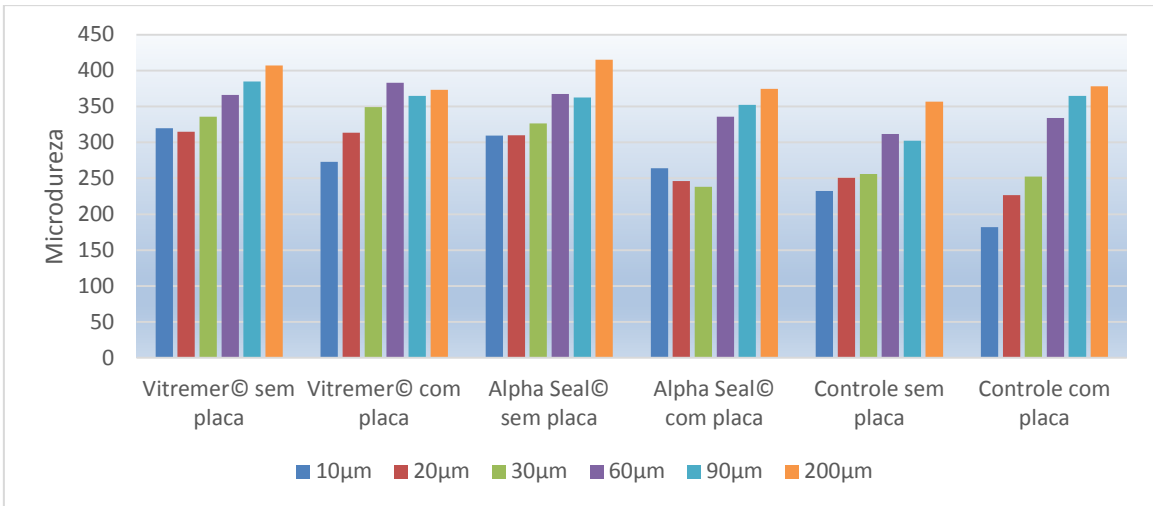


Figura 13. Desempenho dos grupos experimentais, medidas por microdureza longitudinal, considerando a fileira 100µm.

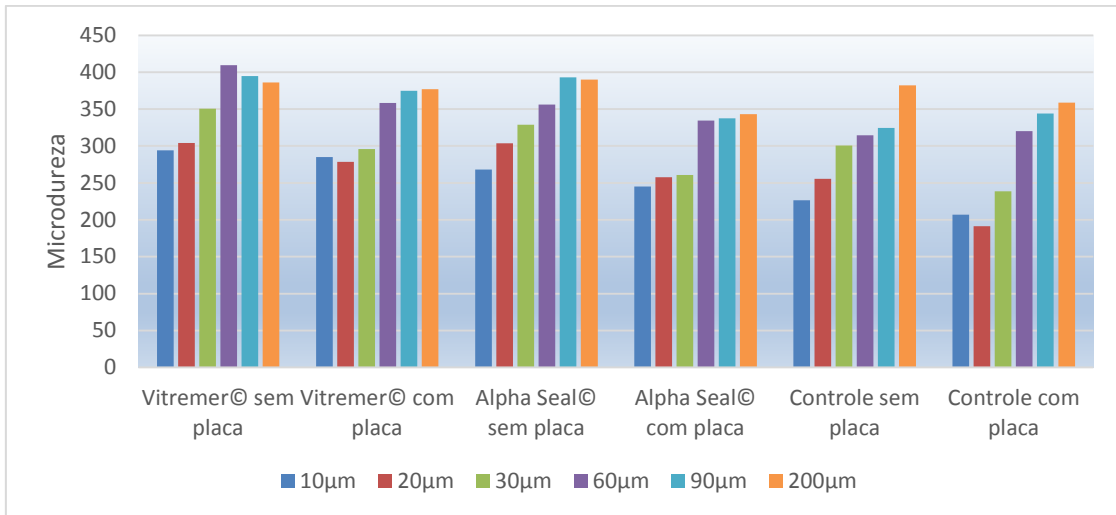


Figura 14. Desempenho dos grupos experimentais, medidas por microdureza longitudinal, considerando a fileira 200µm.

6. DISCUSSÃO

Este estudo *in situ* avaliou dois materiais indicados para o selamento de fossas e fissuras oclusais, sendo um à base de resina, e o outro um selante ionomérico modificado por resina. Eles foram comparados entre si, bem como com um grupo controle (não selado), levando em consideração que cada material foi testado com e sem acúmulo biofilme dentário, além de um severo desafio cariogênico com sacarose a 20%.

O modelo de experimento *in situ* foi escolhido por criar condições semelhantes à cavidade bucal. Zero, em 1995, defendeu o uso de modelos *in situ*, pois reproduzem a natureza multifatorial da cárie e fornecem informações clinicamente relevantes em um curto período de tempo sem causar danos irreversíveis na dentição natural. O autor ainda descreve que estes modelos facilitam o controle das variáveis experimentais aumentando a sensibilidade e validade científica da metodologia.

O condicionamento, pré selamento, dos espécimes foi realizado com ácido fosfórico a 37% por 15 segundos, mesmo no grupo Vitremer®, onde o fabricante recomenda o condicionamento com *primer*. Markovic et al. (2011) afirmam que um pré-tratamento com um ácido adequado é essencial para que se possa obter uma penetração satisfatória do material selador. Bernardo et al., (2000) relatam que a adesão micromecânica proporcionada pela técnica do condicionamento ácido, é maior que a adesão química dos cimentos de ionômero de vidro, que ocorre fundamentalmente por ligações secundárias, que são fracas, e ficam ainda mais prejudicadas nos ionômeros modificados por resina, pois a fase plástica diminui os sítios de ligação, tornando ainda mais relevante o uso de condicionamento ácido quando da utilização destes materiais. Percinoto et al. (1995) relatam que o ionômero de vidro modificados por resina mostra um aumento na adaptação e penetração do material nas cicatrículas e fissuras oclusais quando realizado o condicionamento prévio da superfície com ácido fosfórico a 37%.

Nos grupos 1 e 2, selados com Vitremer®, a proporção utilizada foi de 2 gotas de líquido para 1 porção de pó procurando-se obter uma consistência menos viscosa que favorecesse sua penetração nas fossas e fissuras, método já utilizado por Bernardo et al., em 2000 e Lobo et al., em 2005.

Analisando de forma geral os resultados da pesquisa, foi possível observar que houve uma desmineralização superficial, com resultados estatisticamente significante para a profundidade de 10, 20 e 30µm em relação às demais profundidades, para todos os grupos

individualmente, em todas as distâncias avaliadas. Porém, percebe-se que em todas as distâncias localizadas sob o esmalte selado, houve uma tendência de maiores valores de dureza, quando comparados às distâncias localizadas no esmalte não selado. Estes resultados sugerem que os materiais seladores, igualmente, oferecem alguma proteção ao esmalte sob eles.

A análise da profundidade de 10 μ m mostrou diferença estatística no fator material ($p=0,003$) e fileira ($p=0,018$). Para a variável material, houve diferença estatística para o Vitremer® em relação ao grupo controle, já quando comparado os grupos do Alpha Seal® e Vitremer®, não se observou diferenças estatísticas entre eles, no entanto foram observadas diferenças expressivas de dureza para os materiais, como segue: Vitremer® - 295,29 KNH; Alpha Seal® - 266,29 KNH e controle - 206,84 KNH. Este resultado concorda com o estudo de Lobo et al., em 2005, que encontrou diferença estatística do grupo Vitremer® quando comparado ao grupo controle, bem como, o estudo de Takeuti et al. (2007), que comprovou, por meio de avaliação qualitativa de microscopia de luz polarizada que os valores de microdureza de cimentos de ionômero de vidro foram mais efetivos na prevenção da desmineralização.

A variável fileira também apresentou interação com a profundidade de 10 μ m, com diferença estatística para fileira borda em relação a interna - 273,26 KNH e 232,67 KNH, respectivamente. Acredita-se que esse resultado pode ter sido influenciado pelo acúmulo de biofilme na interface esmalte/selante. Kielbassa et al. (2003) descreveram a borda e imediações (regiões externas) do selamento como local que pode ocorrer maior acúmulo de biofilme, dificultando a ação remineralizadora da saliva, sendo portanto, um local mais ácido que áreas mais distantes. Kantovitz et al., 2013, concluíram que a adaptação marginal do material à fissura de esmalte não sofre interferência da composição do material, com ou sem fluoretos, funcionando somente como uma barreira física. Entretanto, estudos como o de Fracasso et al. (2005) e Pereira Ade et al (2012), mostram o Vitremer® com melhor comportamento na preservação da interface material selador/superfície oclusal, resultados que não corroboram com nosso estudo, já que houve menor dureza na fileira borda, independente do material selador utilizado.

Os dados também apontaram que não houve diferença estatística entre a profundidade e o fator biofilme aos 10 μ m, embora os resultados fossem expressivos para uma menor dureza quando o acúmulo de biofilme existiu ($p=0,061$), com melhores resultados na fileira mais crítica, a Borda, para o Vitremer® sem biofilme (290,30 KNH), Vitremer® com biofilme

(239,20 KNH), Alpha Seal® sem biofilme (255,40 KNH), controle com biofilme (205,67 KNH), controle sem biofilme (205,10 KNH) e Alpha Seal® com biofilme (200,39 KNH).

Na análise de 20µm foi verificada diferença estatística para o fator material ($p=0,015$), fator biofilme ($p=0,006$) e o fator fileira ($p=0,029$). Para a variável material, houve diferença estatística para o Vitremer® em relação ao grupo controle; já quando comparado os grupos do Alpha Seal® e Vitremer®, não se observou diferença estatísticas entre eles, no entanto, como observado na profundidade de 10µm foram observadas diferenças expressivas de dureza para os grupos, como segue: Vitremer® - 309,44 KNH; Alpha Seal® - 280,77 KNH e controle - 248,30 KNH, bem como um aumento na dureza do esmalte para todos os grupos. Os dados da presente pesquisa concordam com o estudo de Sousa et al. (2009), que avaliaram os efeitos de diferentes materiais restauradores na composição microbiológica do biofilme dental e a desmineralização do esmalte ao redor da restauração e concluíram que na distância de 20µm houve aumento da dureza em relação a 10µm, para o cimento de ionômero de vidro (Fuji II®), ou seja, menor desmineralização do esmalte foi encontrada. Para Kantovitz et al. (2006), os selantes resinosos com e sem conteúdo de flúor não previnem a perda mineral, ao contrário do cimento de ionômero de vidro, e apenas a presença de flúor na composição de materiais não significa capacidade de interferência no desenvolvimento da lesão de cárie.

Quando analisada a variável fileira, aos 20µm, o teste de Tukey mostrou diferença estatística somente entre a fileira interna em relação a fileira de 200µm. Estes resultados estão de acordo com os relatos de Kielbassa; Muller & Garcia-Godoy (1999) e Kielbassa et al. (2003) que encontraram, nas áreas distantes ao material selador, comportamento semelhante para selantes ionoméricos e selantes resinosos. Outros trabalhos discordam, como Tantbirojin; Douglas & Versluis (1997) que observaram uma inibição da desmineralização nas amostras restauradas com cimento de ionômero de vidro, em várias distâncias a partir do material restaurador quando comparado com um grupo controle, sendo mais pronunciada na distância de 1 mm, embora um efeito remoto tenha sido detectado até a distância de 7 mm. Lobo et al. (2005) relataram diferença estatisticamente significativa na incorporação de flúor ao esmalte quando utilizado o cimento de ionômero de vidro em relação a um selante com flúor e um selante sem flúor. Concluindo que o flúor liberado pelo cimento de ionômero de vidro é capaz de incorporar não somente ao esmalte dentário adjacente ao material, mas também exercer efeito cariostático à distância. SERRA & CURY, em 1992, compararam o cimento de ionômero de vidro e a resina composta e observaram por meio do cálculo da porcentagem de

volume mineral, uma perda mineral de 3% para o cimento de ionômero de vidro e 20% para a resina composta quando avaliado a superfície adjacente ao material.

Quando analisada a variável biofilme, na profundidade de 20 μ m, observou-se diferença estatisticamente significativa para os grupos, com uma dureza menor quando há acúmulo de biofilme. Mais uma vez o melhor comportamento, para a fileira de 200 μ m, foi do Vitremer® sem biofilme (303,92 KNH), Vitremer® com biofilme (278,40 KHH), Alpha Seal® sem biofilme (303,50 KNH), Alpha Seal® com biofilme (257,60 KNH), controle sem biofilme (255,70 KNH) e controle com biofilme (191,42 KNH), ficando evidente a interferência dessa variável para a diminuição da dureza do esmalte dentário, quando se observa o grupo controle com biofilme. De acordo com McDonald & Avery (2001), a diferença significativa encontrada na segunda camada estudada pode ser explicada por conta da superfície externa do esmalte ser muito mais resistente à desmineralização por ácido do que a parte profunda. O maior volume de desmineralização ocorreria até 15 μ m abaixo da superfície. A continuação desse processo resulta na formação de uma lesão incipiente na subsuperfície do esmalte, que aparecerá clinicamente como uma mancha branca.

Na análise de 30 μ m foi verificada diferença estatística para o fator material ($p=0,020$), fator biofilme ($p=0,034$) e o fator fileira ($p=0,047$). Assim como na análise de 10 e 20 μ m houve diferença estatística entre o grupo selado com o cimento de ionômero modificado por resina e o grupo controle, no entanto o Alpha Seal® não diferiu dos outros grupos (Vitremer® - 345,18KNH, Alpha Seal - 301,53 KNH® e controle - 271,92 KNH). Para o fator fileira, a Interna, protegida pelo material selador, diferiu estatisticamente das demais, havendo uma tendência de diminuição da dureza quanto mais afastado do material (Interna - 324,86 KNH, Borda - 311,06 KNH, 100 μ m - 292,96 KNH e 200 μ m - 295,96KNH). Analisando o fator biofilme, houve diferença estatisticamente significativa para uma dureza menor quando há acúmulo de biofilme (sem biofilme - 323,86 KNH e com biofilme - 288,57 KNH).

A partir da análise de 60 μ m verificamos diferença apenas no fator material, com menor dureza do controle em relação ao Vitremer® e na análise de 90 μ m verificamos diferença apenas no fator material quando em interação com o biofilme, onde uma menor dureza é encontrada no grupo controle sem biofilme em relação ao Vitremer® sem biofilme. A profundidade de 200 μ m não apresentou diferença estatisticamente significativa para nenhum dos grupos. A tendência a diferença estatística não existir a partir de uma certa profundidade pode ser explicada pelo esmalte estar hígido. Estes resultados estão em consonância com inúmeros trabalhos relatados na literatura, mostrando que o efeito

preventivo dos materiais não tem alcance em profundidade acima de 60µm (Serra & Cury, 1992. Hicks; Flaitz & Garcia-Godoy, 2000. Kielbassa et al., 2003. Lobo et al., 2005. Kantovitz et al., 2013).

Analisando-se os dados obtidos, percebe-se como são complexas as interações presentes no ambiente bucal, relativas à incidência de cárie e sua prevenção. A ausência de resultados fortemente significativos deve ser encarada sob todos os possíveis aspectos influentes que contribuíram para os mesmos, aspecto que justifica a continuidade de mais pesquisas que complementem aquelas já realizadas, no sentido de entender a dinâmica do processo de desmineralização que é tão frequente e que tanto prejuízo traz, principalmente, a pacientes infantis.

No presente estudo *in situ*, um aspecto que ficou claro, independente do material ser ionomérico ou resinoso, é a necessidade do controle do biofilme dentário, pois sua presença minimizou os possíveis benefícios dos CIV, que apresentam um forte potencial preventivo. O material com flúor mostrou relevância no aumento da dureza, promovendo maior resistência à cárie dentária.

7. CONCLUSÃO

Dessa forma, os resultados obtidos nas investigações conduzidas neste estudo permitem concluir que:

- Embora o selante ionomérico (Vitremer®) tenha resultado em maiores leituras da microdureza, não foi estatisticamente diferente dos encontrados para o selante resinoso (Alpha Seal®). No entanto, somente o selante ionomérico (Vitremer®) foi estatisticamente maior que o grupo controle.
- Não houve diferença estatística dos materiais testados quanto a distância, ou seja, os selantes não obtiveram capacidade preventiva nas áreas distantes ao material selador.
- A presença de biofilme dentário interfere estatisticamente no efeito preventivo dos materiais.

REFERÊNCIAS

Abreu KCS, Nunes NAL, Nunes OBC, Perin PCP. Avaliação da efetividade de selamentos de cicatrículas e fissuras oclusais. **Rev Fac Odontol**, v.18, n.1, p.29-32, 2006.

Ahovuo-Saloranta A, Forss H, Walsh T, Hiiri A, Nordblad A, Makela M, Worthington HV. Sealants for preventing dental decay in the permanent teeth. **Cochrane Database Syst Rev**, 2013, 3:CD001830

Antonson SA, Antonson DE, Brener S, Crutchfield J, Larumbe J, Michaud C, Yazici AR, Hardigan PC, Alempour S, Evans D, Ocanto R. Twenty-fourmonth clinical evaluation of fissure sealants on partially erupted permanent first molars: glass ionomer versus resin-based sealant. **J Am Dent Assoc**, v.143, n.2, p.115-22, 2012.

Baseggio W, Naufel FS, Davidoff DCO, Nahsan FPS, Flury S, Rodrigues JA. Caries-preventive efficacy and retention of a resin-modified glass ionomer cement and a resin-based fissure sealant: a 3-year split-mouth randomised clinical trial. **Oral Health Prev Dent**, v.8, n.3, p.261-8, 2010.

Bernardo PC, Rodrigues CRMD, Souza Paiva JA, Singer JM, Sanudo A. Avaliação clínica de um cimento de ionômero de vidro utilizado como selante oclusal. **Pesq Odont Bras**, v.14, n.1, p.53-57, jan./mar. 2000.

Bönecker MJS, Rodrigues CRMD, Guedes-Pinto AC. Cárie Dentária. In: Guedes Pinto AC, Issáo M. **Manual de Odontopediatria**. 11.ed. São Paulo: Editora Santos, 2006. p. 99-110.

Brasil. Ministério da Saúde. **Projeto SB Brasil 2010**. Resultados principais. Brasília - DF, 2012.

Bravo M, Montero J, Bravo JJ, Baca P, Llodra JC. Sealant and Fluoride Varnish in Caries: a Randomized Trial. **J Dent Res**, v.84, n.12, p.1138-1143, 2005.

Cardoso CAB, Magalhães AC, Rios D, Lima JEO. Cross-Sectional Hardness of Enamel from Human Teeth at Different Post-eruptive Ages. **Caries Research**, v.43, p.491-4, 2009.

Cochrane NJ, Zero DT, Reynolds EC. Remineralization models. **Adv Dent Res**, v.24, n.2, p.129-132, sep. 2012.

Corny JP, Pintado MR, Douglas WH. Quantitative changes in fissure sealant six months after placement. **Pediat Dent**, v.12, n.3, p.162-166, mai./jun. 1990.

Ekstrand KR, Martignon S, Christiansen ME. Frequency and distribution patterns of sealants among 15-years-olds in Denmark in 2003. **Community Dent Health**, v.24, n.1, p.26-30, 2007.

Fejerskov O, Kidd E, Nyvad B, Baelum V. Defining the disease: an introduction. In: Fejerskov O, Kidd E, editores Dental Caries. **The Disease and its clinical Management**. 2.ed. Blackwell Publishing, 2008. p.3-246.

Fontana M, Young DA, Wolff MS. Evidence-Based Caries, Risk Assessment, and Treatment. **Dent Clin North Am**. v.53, p.149-61, 2009.

Fracasso MLC, Rios D, Machado MAAM, Silva SMB, Abdo RCC. Evaluation of marginal microleakage and depth of penetration of glass ionomer cements used as occlusal sealants. **J Appl Oral Sci**, v.13, n.3, p.269-74, 2005.

Frencken JE, Wolke J. Clinical and SEM assessment of ART high-viscosity glass-ionomer sealants after 8-13 years in 4 teeth. **J Dent**, v.38, n.1, p.59-64, 2010.

Henderson HZ, Setcos JC. Selantes de fósulas e fissuras. In: Mc Donald R, Avery DR. **Odontopediatria**. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995. Cap.17, p.262-271.

Hicks MJ. A técnica de ataque ácido na prevenção de cáries: selantes de fósulas e fissuras e restaurações preventivas de resina. In: Pinkham JR. **Odontopediatria da infância à adolescência**. 2.ed. São Paulo: Artes Médicas, 1996. Cap.32, p.486-519.

Hicks MJ, Flaitz CM, Garcia-Godoy F. Fluoride-releasing sealant and caries-like enamel lesion formation in vitro. **J Clin Pediat Dent**, v.24, n.3, p.215-219, 2000.

Hopcraft MS, Morgan MV. Pattern of dental caries experience on tooth surfaces in an adult population. **Community Dent Oral Epidemiol**, v.34, n.3, p.174-83, 2006.

Hormati AA, Fuller JL, Denehy GE. Effects of contamination and mechanical disturbance on the quality of acid etched enamel. **JADA**, v.100, n.1, p.34-8, 1980.

Kantovitz KR, Pascon FM, Correr GM, Alonso RCB, Rodrigues LKA, Alves MC, Puppini-Rontani RM. Influence of environmental conditions on properties of ionomeric and resin sealant materials. **J Appl Oral Sci**, v.17, n.4, p.294-300, 2009.

Kantovitz KR, Pascon FM, Correr GM, Borges AF, Uchôa MN, Puppini-Rontani RM. Inhibition of mineral loss at the enamel/sealant interface of fissures sealed with fluoride- and non-fluoride containing dental materials in vitro. **Acta Odontol Scand**, v.64, n.6, p.376-83, 2006.

Kantovitz KR, Pascon FM, Nociti FH Jr, Tabchoury CP, Puppini-Rontani RM. Inhibition of enamel mineral loss by fissure sealant: an in situ study. **J Dent**, v.41, n.1, p.42-50, jan. 2013.

Kielbassa AM, Muller U, Garcia-Godoy F. In situ study on the caries-preventive effects of fluoride-releasing materials. **Am J Dent**, v.12, n.1, p.13-14, nov. 1999. Special issue.

Kielbassa AM, Schulte-Monting J, Garcia-Godoy F, Meyer-Lueckel H. Initial in situ secondary caries formation: effect of various fluoride-containing restorative materials. **Oper Dent**, v.28, n.6, p.765-772, nov./dez. 2003.

Lobo MM, Pecharki GD, Tengan C, Silva DD, Tagriaferro EPS, Napimoga MH. Fluoride releasing capacity and cariostatic effect provided by sealants. **J Oral Sci**, v.47, n.1, p.35-41, 2005.

Lopes LM, Vazquez FL, Pereira AC, Romão DA. Indicadores e fatores de risco da cárie dentária em crianças no Brasil - uma revisão de literatura. **RFO**, v.19, n.2, p.245-251, 2014.

Markovic D, Petrovic B, Peric T, Blagojevic D. Microleakage, adaptation ability and clinical efficacy of two fluoride releasing fissure sealants. **Vojnosanit Pregl**, v.69, n.4, p.320-5, 2012.

Markovic D, Petrovic B, Peric T, Miletic I, Andjelkovic S. The impact of fissure depth and enamel conditioning protocols on glass-ionomer and resin-based fissure sealant penetration. **J Adhes Dent**, v.13, n.2, p.171-8, 2011.

McDonald RE, Avery DR. **Odontopediatria para crianças e adolescentes**. 9.ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara, 2011. Cap.10, p.174-200.

Mejare I, Mjor I. A. Glass ionomer and resin-based fissure sealants: a clinical study. **Scand J Dent Res**, v.98, n.4, p.345-350, 1990.

Mickenautsch S, Mount G, Yangopal V. Therapeutic effect of glass-ionomers: an overview of evidence. **Austr Dent J**, v.56, n.1, p.10-15, 2011.

Moshaverinia A, Chee WW, Brantley WA, Schricker SR. Surface properties and bond strength measurements of N-vinylcaprolactam (NVC)-containing glass-ionomer cements. **J Prosthet Dent**, v.105, n.3, p.185-93, 2011.

Percinoto C, Cunha RF, Delbem ACB, Aragones A. Penetration of a light-cured glass ionomer and a resin sealant into occlusal fissures and etched enamel. **Am J Dent**, v.8, n.1, p.20-2, 1995.

Pereira Ade F, Poiate IA, Poiate Júnior E, Rodrigues FP, Turbino ML, Miranda WG Jr. Influence of restorative techniques on marginal adaptation and dye penetration around Class V restorations. **Gen Dent**, v.60, n.1, p.17-21, 2012.

Peterson-Sweeney K, Stevens J. Optimizing the health of infants and children: their oral health counts. **Journal of Pediatric Nursing**, v.25, p.244-9, 2010.

Rodrigues E, Delbem AC, Pedrini D, Cavassan L. Enamel remineralization by fluoride-releasing materials: proposal of a pH-cycling model. **Braz Dent J**, v.21, n.5, p.446-451, 2010.

Rohr M, Makinson OF, Burrow MF. Pits and fissures: morphology clinic. **J Dent Child**, v.58, n.2, p.97-103, 1991.

Sachin Seth DDS. Glass ionomer cement and resin-based fissure sealants are equally effective in caries prevention. **JADA**, v.142, n.5, p.551-552, 2011.

Seppa L, Forss H. Resistance of occlusal fissures to desmineralization after loss of glass ionomer sealants in vitro. **Pediat Dent**, v.13, n.1, p.39-42, 1991.

Serra MC, Cury JA. The in vitro effect of glass ionomer cement restoration on enamel subjected to the demineralization and remineralization model. **Quintessence Int.**, v.23, n.2, p.143-147, 1992.

Silva KG, Pedrini D, Delbem AC, Ferreira L, Cannon M. In situ evaluation of the remineralizing capacity of pit and fissure sealants containing amorphous calcium phosphate and/or fluoride. **Acta Odontol Scand**, v.68, n.1, p.11-18, jan. 2010.

Sipahier M, Ulusu T. Glass-ionomer-silver-cermet cements applied as fissure sealants II. Clinical evaluation. **Quintessence Int**, v.26, n.1, p.43-48, 1995.

Sousa RP, Zanin IC, Lima JP, Vasconcelos SM, Melo MA, Beltrão HC, Rodrigues LK. In situ effects of restorative materials on dental biofilm and enamel demineralisation. **J Dent**, v.37, n.1, p.44-51, 2009.

Splieth CH, Ekstrand KR, Alkilzy M, Clarkson J, Meyer-Lueckel H, Martignon S, Paris S, Pitts NB, Ricketts DN, van Loveren C. Sealants in dentistry: outcomes of the ORCA Saturday afternoon symposium 2007. **Caries Res**, v.44, n.1, p.3-13, 2010.

Sung YH, Kim HY, Son HH, Chang J. How to design in situ studies: an evaluation of experimental protocols. **Restor Dent Endod**, v.39, n.3, p.164-171, 2014.

Takeuti ML, Marquezan M, Rodrigues CRMD, Filho REL, Rocha RO. Inhibition of demineralization adjacent to tooth-colored restorations in primary teeth after 2 in vitro challenges. **J Dent Child**, v.74, n.3, p.209-14, 2007.

Tantbirojn D, Douglas WH, Versluis A. Inhibitive effect of a resin-modified glass-ionomer cement on remote enamel artificial caries. **Caries Res**, v.31, n.4, p.275-80, 1997.

Tostes Amaral MA, Guedes-Pinto AC, Chevitarese O. Effects of a glass-ionomer cement on the remineralization of occlusal caries - an *in situ* study. **Braz Oral Res**, v.20, n.2, p.91-6, 2006.

Yengopal V, Mickenautsch S. Resin-modified glass-ionomer cements versus resin-based materials as fissure sealants: a meta-analysis of clinical trials. **Eur Arch of Paediat Dent**, v.11, n.1, p.18-25, 2010.

Yengopal V, Mickenautsch S, Bezerra AC, Leal SC: Caries-preventive effect of glass ionomer and resin-based fissure sealants in permanent teeth – a meta analysis. **J Oral Sci**, v.51, n.1, p.373-382, 2009.

Zero DT: In situ caries model. **Advanc Dent Res**, v.9, n.3, p.214-230, nov. 1995.

ANEXOS

ANEXO A



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
MARINGÁ



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: EFEITO PREVENTIVO DE MATERIAIS SELADORES APLICADOS EM FISSURAS OCLUSAIS DE MOLARES HUMANOS - ESTUDO IN SITU

Pesquisador: Marina de Lourdes Calvo Fracasso

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 34047814.0.0000.0104

Instituição Proponente: Universidade Estadual de Maringá

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 883.487

Data da Relatoria: 16/11/2014

Apresentação do Projeto:

Trata-se de projeto de pesquisa proposto por pesquisador vinculado à Universidade Estadual de Maringá.

Objetivo da Pesquisa:

Este estudo tem como objetivo avaliar in situ, o efeito preventivo de um selante resinoso e de um cimento de ionômero de vidro aplicados em fissura oclusal de terceiros molares inferiores humano, com e sem acúmulo de biofilme dentário.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Avalia-se que os possíveis riscos a que estarão submetidos os sujeitos da pesquisa serão suportados pelos benefícios apontados.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O presente estudo se propõe a avaliar, in situ, o efeito preventivo de um selante resinoso e de um cimento de ionômero de vidro aplicados em esmalte, com e sem acúmulo de biofilme dentário, por meio da avaliação da microdureza longitudinal. A partir de terceiros molares inferiores, humanos, serão obtidos 60 espécimes de fissuras oclusais (4mm x 4mm). Os espécimes (porção central da fissura) serão selados com um dos materiais teste (cimento de ionômero de vidro ou selante resinoso) ou mantidos sem selamento, grupo controle. Em seguida, serão fixados em um

Endereço: Av. Colombo, 5790, UEM-PPG
Bairro: Jardim Universitário
UF: PR **Município:** MARINGÁ **CEP:** 87.020-900
Telefone: (44)3011-4444 **Fax:** (44)3011-4518 **E-mail:** copep@uem.br



Continuação do Parecer: 883.487

tenha um espécime controle, um selante ionomérico e um selante resinoso. O mapeamento de cada dispositivo será feito para posterior avaliação de cada material. No lado sem acúmulo de biofilme dentário, os blocos serão fixados no nível da resina acrílica, já no lado em que haverá acúmulo de biofilme, os espécimes serão fixados 1 mm abaixo do nível da resina acrílica e cobertos com tela plástica. Cada voluntário receberá uma lista de instruções, formulário para relatório, estojo plástico (Dental Morelli Ltda, Sorocaba – SP, Brasil) para guardar o dispositivo, dentifrício a base de sílica com 1500ppm de flúor, escova dental, fio dental, frasco com solução de sacarose a 20%, porções de gaze e frasco com água deionizada. Os participantes serão orientados a utilizar o dispositivo continuamente, exceto durante as refeições - período em que o dispositivo será mantido no estojo e coberto com gaze umedecida em água deionizada; não deverão ingerir bebida fora dos horários das refeições, exceto água - quando deverão retirar o dispositivo da boca; poderão realizar a higiene bucal normalmente após as refeições, sem o dispositivo e utilizando o dentifrício fornecido; no lado sem tela do dispositivo, deverão realizar a limpeza dos espécimes com a escova fornecida; deverão gotejar a solução de sacarose sobre todos os blocos, 8 vezes ao dia (8h, 10h, 12h, 14h, 16h, 18h, 20h, 22h). Após 21 dias, os dispositivos serão recolhidos e os espécimes removidos, limpos com hipoclorito de sódio a 1% e fixados a placa de alumínio para serem seccionados ao meio - para isso, será utilizado o aparelho de corte de precisão, com auxílio de um disco diamantado. Metade de cada espécime será incluída em resina acrílica, utilizando-se uma embutidora metalográfica (Microtest - modelo RS30), sob pressão de 150Kgf/c2. Os corpos de prova serão submetidos ao polimento das superfícies de esmalte - para este procedimento será utilizada a lixadeira elétrica, com a lixa metal de granulação 320, seguida pela lixa de granulação 600, passando pela lixa de granulação 1200 e finalizando com feltro umedecido com uma suspensão de diamante de 1m.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

No relato anterior foram solicitados como pendências que fossem atendidas os seguintes: Pendência 1: No "Termo de Cessão de Dentes" descrever os riscos, benefícios, as garantias para dirimir os possíveis riscos, a confidencialidade das informações e que a participação seja totalmente voluntária, isto é o prescrito pelo Res. 466/2012; Pendência 2: No TCLE para os voluntários, descrever as garantias para dirimir os riscos se acaso ocorrerem; Pendência 3: No projeto descrever o número dos doadores de dentes. Deixar claro se haverá a doação dos dentes dos doadores previstos neste projeto para o banco de dentes do departamento de Odontologia e estes assim seriam utilizados nesta pesquisa. Descrever o número destes na Folha de Rosto; Pendência 4: Descrever em "Grupos em que serão divididos os participantes da pesquisa neste

Endereço: Av. Colombo, 5790, UEM-PPG
Bairro: Jardim Universitário CEP: 87.020-900
UF: PR Município: MARINGÁ
Telefone: (44)3011-4444 Fax: (44)3011-4518 E-mail: copep@uem.br



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
MARINGÁ



Continuação do Parecer: 883.487

centro" os dois grupos (doadores e voluntários), bem como o número para cada grupo. Pendência 5: Adequar o cronograma para que a pesquisa somente seja iniciada após a aprovação por este Comitê. Todas as pendências acima citadas foram atendidas.

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O Comitê Permanente de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Maringá é de parecer favorável à aprovação do protocolo de pesquisa apresentado.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Face ao exposto e considerando a normativa ética vigente, este Comitê se manifesta pela aprovação do protocolo de pesquisa em tela.

MARINGÁ, 24 de Novembro de 2014

Assinado por:
Ricardo Cesar Gardiolo
(Coordenador)

Endereço: Av. Colombo, 5790, UEM-PPG
Bairro: Jardim Universitário CEP: 87.020-900
UF: PR Município: MARINGÁ
Telefone: (44)3011-4444 Fax: (44)3011-4518 E-mail: copep@uem.br

Página 04 de 04



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
MARINGÁ



Continuação do Parecer: 883.487

dispositivo intrabucal palatino, que conterà 06 espécimes, formando duas fileiras distintas. Sobre uma das fileiras será fixada uma tela de plástico para favorecer o acúmulo de biofilme dentário. Sendo assim, 6 grupos serão estabelecidos: 1- Vitremer® com biofilme, 2- Vitremer® sem biofilme, 3- Alpha Seal® com biofilme, 4- Alpha Seal® sem biofilme, 5- controle com biofilme, 6- controle sem biofilme. Durante um período experimental de 28 dias, 10 voluntários previamente selecionados utilizarão o dispositivo palatino 24 horas por dia, e, oito vezes ao dia, gotejarão uma solução de sacarose a 20% em todos os espécimes. Além de, três vezes ao dia gotejarem uma solução fluoretada (3ml de água deionizada: 1g de dentífrico fluoretado 1500ppm) sobre os mesmos. Após o período experimental, os blocos serão seccionados ao meio para avaliação da microdureza longitudinal, nas distâncias de 10, 20, 30, 60, 90, 150 e 300m da superfície do esmalte, em três fileiras distintas, uma fileira posicionada sob o material (interna 100m), uma na borda do material e uma terceira fileira (externa 100m). Os valores de microdureza obtidos serão convertidos em porcentagem de volume mineral (%vol. Min). Será aplicada Análise de Variância a três critérios de medidas repetidas (ANOVA) (p0,05) para cada uma das variáveis e o teste de comparação de Tukey (p0,05). Os dentes utilizados no estudo, após a exodontia, serão armazenados em solução de timol a 0,1%, por 4 meses em média. Estes dentes (n= 60) serão coletados de pacientes, da Clínica Odontológica da Universidade Estadual de Maringá, que irão ceder, voluntariamente, os espécimes após indicação de exodontia por motivos ortodônticos. Após remoção das raízes, as coroas serão fixadas, com godiva termoativada, a uma placa de alumínio para realização de cortes em aparelho de precisão Isomet 1000 Precision (Bulher Ltda, Lake Bluff, IL, USA), com auxílio de dois discos diamantados (12205, 102 x 0,3 x 12,7 mm, high concentration, Extec Corporation, Enfield, CT, USA) e um espaçador de aço inoxidável entre eles. Serão obtidos espécimes de 4 x 4 mm da porção mais central da superfície oclusal. Para realização do estudo, os grupos 1 e 2 serão selados com cimento de ionômero de vidro (Vitremer® - 3M ESPE AG Dental Products, Seefeld, Alemanha) e os grupos 3 e 4 com selante resinoso (DFL Indústria e Comércio S.A.- RJ, Brasil); todos os grupos respeitarão às normas do fabricante. Após selamento, os espécimes serão mantidos em estufa a 37°C por 48 horas. Serão selecionados 10 voluntários que passarão por moldagem da arcada superior com alginato (Jeltrate, Dentsply Indústria e Comércio Ltda, Petrópolis – RJ, Brasil) e modelos de gesso (Soli Rock – Vigodent S/A Indústria e Comércio, Rio de Janeiro – RJ, Brasil) serão obtidos; sobre os modelos serão confeccionados dispositivos palatinos em resina acrílica (Clássico, Artigos odontológicos clássicos Ltda, São Paulo – SP, Brasil). Cada dispositivo conterà seis cavidades, em duas fileiras, onde serão fixados os espécimes com cera pegajosa. A distribuição dos espécimes será aleatória, desde que cada fileira

Endereço: Av. Colombo, 5790, UEM-PPG

Bairro: Jardim Universitário

CEP: 87.020-900

UF: PR

Município: MARINGÁ

Telefone: (44)3011-4444

Fax: (44)3011-4518

E-mail: copep@uem.br

Página 02 de 04

ANEXO B



Universidade Estadual de Maringá
Centro de Ciências da Saúde
Departamento de Odontologia



A U T O R I Z A Ç Ã O

Autorizamos a pesquisadora: **Laís Caroline Poletto**, R.A. 46.917, mestranda acadêmica do Programa de Pós-Graduação em Odontologia Integrada, a realizar o recrutamento de alunos voluntários da graduação e pós-graduação (mestrado) em Odontologia para o desenvolvimento do Projeto de Pesquisa orientado pela Professora Doutora Marina de Lourdes Calvo Fracasso, intitulado como: “EFEITO PREVENTIVO DE MATERIAIS SELADORES APLICADOS EM FISSURAS OCLUSAIS DE MOLARES HUMANOS – ESTUDO *IN SITU*”, na Clínica Odontológica do Departamento de Odontologia, afeto ao Centro de Ciências da Saúde, desta Instituição, no período de setembro de 2014 a dezembro de 2014.

Maringá, 13 de junho de 2014.

Prof. Dr. Hélio Hissashi Terada
COORDENADOR TÉCNICO-CIENTÍFICO
DA CLÍNICA ODONTOLÓGICA.

ANEXO C



Universidade Estadual de Maringá
Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Odontologia Integrada



DECLARAÇÃO

Declaramos para os devidos fins, que a acadêmica **Laís Caroline Poletto**, R.A. 46917, desenvolve a pesquisa, sob o título: "EFEITO PREVENTIVO DE MATERIAIS SELADORES APLICADOS EM FISSURAS OCLUSAIS DE MOLARES HUMANOS – ESTUDO *IN SITU*", no Programa de Pós-Graduação em Odontologia Integrada, nível Mestrado Acadêmico, da Universidade Estadual de Maringá, afeto ao Centro de Ciências da Saúde, sob a orientação da Prof^a. Dra. Marina de Lourdes Calvo Fracasso.

Declaramos ainda, que os materiais de consumo utilizados na referida pesquisa, foram adquiridos pelo PROAP/CAPES (PROJ/ATIV 1091.3584 : CONV.68/07-1-PROAP 2013), no valor total de R\$ 1.537,95 (um mil, quinhentos e trinta e sete reais e noventa e cinco centavos).

E por ser essa a expressão da verdade, firmamos a presente Declaração, em duas vias de igual teor e forma, em Maringá, aos vinte e dois dias, do mês de maio, do ano de dois mil e quatorze.


Prof. Dra. Mitsue Fujimaki,
COORDENADORA.

ANEXO D

TERMO DE CESSÃO DE DENTES

Título da pesquisa: **EFEITO PREVENTIVO DOS MATERIAIS SELADORES APLICADOS EM FISSURAS OCLUSAIS DE MOLARES HUMANOS - ESTUDO *IN SITU***

Muitas dúvidas existem a respeito do efeito dos diferentes tipos de selantes na prevenção da cárie na superfície oclusal dos dentes. Selantes são resinas que quando aplicadas sobre cicatrículas e fissuras unem-se firmemente à estrutura dentária para formar uma barreira física entre a superfície do dente e o meio bucal, com capacidade de inibir a cárie dentária. Desta forma, é necessário realizar pesquisas para avaliar a influência dos tipos de selantes no controle da cárie.

Gostaríamos de convidá-lo a ser voluntário na pesquisa intitulada "Efeito preventivo de materiais seladores aplicados em fissuras oclusais de molares humanos – estudo *in situ*", que faz parte do curso de Odontologia da Universidade Estadual de Maringá e é orientada pela profª Drª Marina de Lourdes Calvo Fracasso. O objetivo da pesquisa é avaliar, *in situ*, o efeito preventivo de um selante resinoso e de um cimento de ionômero de vidro aplicados sobre a fissura oclusal do terceiro molar inferior humano, com e sem acúmulo de placa dentária. Previamente, a pesquisa será submetida à aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Maringá - PR.

Para esclarecimento, estudos "*in situ*" têm sido preconizados por simularem as condições do ambiente bucal, não havendo riscos inaceitáveis no desenvolvimento da pesquisa. A fim de dirimir os possíveis riscos, todos os voluntários serão orientados em relação aos métodos educativos e preventivos da cárie dentária, bem como receberão kits para higienização (escova dental, creme dental e fio dental). Ao final da fase experimental, os voluntários serão submetidos à profilaxia profissional, procedimento executado pela pesquisadora.

Na condição de doador, sua participação se dará da seguinte forma: Após a exodontia dos seus terceiros molares inferiores (extraídos por motivos ortodônticos), você assinará este termo de cessão ao de dentes, estando ciente de que eles serão utilizados, unicamente com a finalidade de realização da pesquisa. Desejando, você poderá requisitar novamente os dentes que foram cedidos, deixando de participar da pesquisa.

É importante ressaltar que, os testes realizados utilizando os seus dentes não permitirão a sua identificação, mantendo-se sempre em sigilo a identidade do participante. Após a utilização do dente cedido, este material biológico será descartado da mesma forma como seria após sua extração, ou seja, em lixo hospitalar de material contaminado. O benefício esperado pelo resultado da pesquisa será proporcionar novos conhecimentos na área da odontologia preventiva, estabelecendo padrões para selamentos oclusais, que aumentem a longevidade clínica e efeitos preventivos.

É direito do voluntário o esclarecimento de qualquer dúvida relacionada à realização da pesquisa. A participação será isenta de qualquer gasto ou recompensa, sendo totalmente voluntária. Além disso, o participante terá a liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo.

Caso você tenha mais dúvidas ou necessite maiores esclarecimentos, poderá nos contatar nos endereços abaixo ou procurar o Comitê de Ética em Pesquisa da UEM, cujo endereço consta deste documento. Este termo deverá ser preenchido em duas vias de igual teor, sendo uma delas, devidamente preenchida e assinada entregue a você.

Eu, _____ (nome
por extensor do doador), R.G. nº _____, residente
_____, bairro _____, cidade _____, CEP
_____, UF _____, dão o elemento dentário _____ para pesquisadora profa Dra Marina de
Lourdes Calvo Fracasso, declarando que estes dentes foram extraídos após correta indicação do
cirurgião-dentista _____, CRO _____. Estou ciente de que este (s)
dente(s) será (ão) utilizado (s) para a realização da pesquisa intitulada "EFEITO PREVENTIVO DOS
MATERIAIS SELADORES APLICADOS EM FISSURAS OCLUSAIS DE MOLARES HUMANOS - ESTUDO *IN*
SITU".

Assinatura do doador Data:.....

Eu,.....(nome do pesquisador ou do membro da equipe que aplicou o
TCLE), declaro que forneci todas as informações referentes ao projeto de pesquisa supra-nominado.

Assinatura do pesquisador Data:.....

Qualquer dúvida com relação à pesquisa poderá ser esclarecida com a pesquisadora, conforme
o endereço abaixo:

Nome: Marina de Lourdes Calvo Fracasso
Endereço: Av. Mandacarú, 1550, Maringá-Pr
Tel: (44) 3011-9051 E-mail: mafracasso@gmail.com

Qualquer dúvida com relação aos aspectos éticos da pesquisa poderá ser esclarecida com o
Comitê Permanente de Ética em Pesquisa (COPEP) envolvendo Seres Humanos da UEM, no endereço
abaixo:

COPEP/UEM
Universidade Estadual de Maringá.
Av. Colombo, 5790. Campus Sede da UEM.
Bloco da Biblioteca Central (BCE) da UEM.
CEP 87020-900. Maringá-Pr
Tel: (44) 3261-4444 E-mail: copep@uem.br

ANEXO E

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título da pesquisa: **EFEITO PREVENTIVO DOS MATERIAIS SELADORES APLICADOS EM FISSURAS OCLUSAIS DE MOLARES HUMANOS - ESTUDO *IN SITU***

Muitas dúvidas existem a respeito do efeito dos diferentes tipos de selantes na prevenção da cárie na superfície oclusal dos dentes (superfície responsável pela mastigação). Selantes são resinas que quando aplicadas sobre cicatriculas e fissuras oclusais dos dentes têm a capacidade de inibir a cárie dentária. Os selantes unem-se firmemente à estrutura dentária para formar uma barreira física entre a superfície do dente e o meio bucal. Desta forma, é necessário realizar pesquisas para avaliar a influência destes materiais no controle da cárie.

Gostaríamos de convidá-lo a participar da pesquisa intitulada "Efeito preventivo de materiais seladores aplicados em fissuras oclusais de molares humanos – estudo *in situ*", que faz parte do curso de Odontologia da Universidade Estadual de Maringá e é orientada pela prof^a Dr^a Marina de Lourdes Calvo Fracasso. O objetivo da pesquisa é avaliar, *in situ*, o efeito preventivo de um selante resinoso e de um cimento de ionômero de vidro aplicados sobre a fissura oclusal do terceiro molar inferior humano, com e sem acúmulo de placa dentária. Previamente, a pesquisa será submetida à aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Maringá - PR.

Para esclarecimento, estudos "in situ" têm sido preconizados por simularem as condições do ambiente bucal, ou seja, no período de teste, os voluntários utilizam, por um tempo determinado pelo estudo, um aparelho de resina adaptado no palato, contendo blocos de esmalte e o material estudado, seguindo um protocolo clínico, e desta forma o material poderá sofrer a ação da saliva presente na cavidade bucal. Decorrido o tempo estipulado, os blocos são submetidos a análise em laboratório.

Para tal, será necessária a sua colaboração espontânea na utilização de um aparelho contendo blocos de esmalte humano, previamente esterilizados com solução de timol a 0,1%, no qual deverá seguir um protocolo em que será preciso basicamente utilizar o dispositivo palatino por 21 dias, podendo apenas retirá-lo 3 horas por dia (1 hora para cada refeição, aproveitando a retirada para fazer a própria higiene bucal, normalmente como costuma fazer), não havendo riscos inaceitáveis no desenvolvimento desta pesquisa.

A fim de dirimir os riscos da pesquisa, todos os voluntários serão orientados em relação aos métodos educativos e preventivos da cárie dentária, bem como receberão kits para higienização (escova dental, creme dental e fio dental). Ao final da fase experimental, os voluntários serão submetidos à profilaxia profissional, procedimento executado pela pesquisadora. Caso algum risco significativo seja percebido, o fato será, imediatamente, comunicado ao Sistema CEP/CONEP, e avaliado, em caráter emergencial, a necessidade de adequar ou suspender o estudo.

Os nomes dos participantes serão mantidos em sigilo, bem como os dados da pesquisa e resultados comuns a cada voluntário não serão revelados. Ao término da pesquisa, as informações referentes aos voluntários serão inutilizadas.

É direito do participante o esclarecimento de qualquer dúvida relacionada à realização da pesquisa. A participação será isenta de qualquer gasto ou recompensa, sendo totalmente voluntária. Além disso, o participante terá a liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo.

O benefício esperado pelo resultado da pesquisa será proporcionar novos conhecimentos na área da odontologia preventiva, estabelecendo padrões para selamentos oclusais, que aumentem a longevidade clínica e efeitos preventivos.

Caso você tenha mais dúvidas ou necessite maiores esclarecimentos, pode nos contatar nos endereços abaixo ou procurar o Comitê de Ética em Pesquisa da UEM, cujo endereço consta deste documento. Este termo deverá ser preenchido em duas vias de igual teor, sendo uma delas, devidamente preenchida e assinada entregue a você.

Eu,.....(nome por extenso do sujeito de pesquisa) declaro que fui devidamente esclarecido e concordo em participar VOLUNTARIAMENTE da pesquisa coordenada pela profª Drª Marina de Lourdes Calvo Fracasso.

_____ Data:.....
Assinatura do voluntário

Eu,.....(nome do pesquisador ou do membro da equipe que aplicou o TCLE), declaro que forneci todas as informações referentes ao projeto de pesquisa supra-nominado.

_____ Data:.....
Assinatura do pesquisador

Qualquer dúvida com relação à pesquisa poderá ser esclarecida com a pesquisadora, conforme o endereço abaixo:

Nome: Marina de Lourdes Calvo Fracasso
Endereço: Av. Mandacarú, 1550, Maringá-Pr
Tel: (44) 3011-9051 E-mail: mafracasso@gmail.com

Qualquer dúvida com relação aos aspectos éticos da pesquisa poderá ser esclarecida com o Comitê Permanente de Ética em Pesquisa (COPEP) envolvendo Seres Humanos da UEM, no endereço abaixo:

COPEP/UEM
Universidade Estadual de Maringá.
Av. Colombo, 5790. Campus Sede da UEM.
Bloco da Biblioteca Central (BCE) da UEM.
CEP 87020-900. Maringá-Pr
Tel: (44) 3261-4444 E-mail: copep@uem.br

ANEXO F

Instruções aos Voluntários

O kit recebido contém:

- Uma lista de instruções aos voluntários
- Um formulário para relatório
- Um estojo plástico (Dental Morelli Ltda, Sorocaba – SP, Brasil)
- Um dispositivo intrabucal
- Um creme dental 1500ppm de flúor (Colgate)
- Uma escova dental (Colgate)
- Fio dental (Medfio)
- Um frasco conta-gotas com solução de sacarose a 20%
- Porções de gaze
- Um frasco com água deionizada

- O aparelho deve ser instalado um dia antes do início da fase experimental, à noite, após a última higiene.
- A utilização do dispositivo deve ser contínua, exceto durante as refeições (3 refeições diárias, totalizando 3 horas), período em que os dispositivos devem ser mantidos no estojo plástico e cobertos com gaze umedecida em água de deionizada;
- Nenhuma bebida deve ser ingerida fora dos horários das refeições, exceto água – quando se deve retirar o dispositivo da boca.
- A higiene bucal deve ser realizada normalmente após as refeições (café da manhã, almoço e janta), sem o dispositivo, utilizando somente o dentífrico fornecido.
- No lado sem tela do dispositivo, se deve realizar a limpeza dos espécimes com a escova fornecida.
- A solução de sacarose deve ser gotejada sobre todos os blocos, 8 vezes ao dia (8h, 10h, 12h, 14h, 16h, 18h, 20h, 22h), 3 gotas por espécime, devendo a última aplicação ser após a última higiene bucal do dia. Após um tempo de 5 minutos reinstala-se o dispositivo na cavidade bucal.
- A solução de sacarose será trocada a cada dois dias pela pesquisadora.
- Na manhã do 22º dia de uso do dispositivo, o voluntário deve manter-se em jejum até a entrega do dispositivo intrabucal para o pesquisador.

Qualquer dúvida, a pesquisadora estará disponível.

Laís Caroline Poletto - (45) 9915-8764

ANEXO H

Valores em microdureza longitudinal considerando as diferentes variáveis (material, biofilme, fileira e profundidade).

MATERIAL	BIOFILME	FILEIRA	10µm	20µm	30µm	60µm	90µm	200µm
Vitremer	Presente	borda	288,0	323,0	414,0	449,0	419,0	408,0
Vitremer	Presente	borda	214,0	315,0	347,0	342,0	414,0	398,0
Vitremer	Presente	borda	115,0	182,0	243,0	315,0	261,0	378,0
Vitremer	Presente	borda	383,0	419,0	285,0	431,0	455,0	443,0
Vitremer	Presente	borda	273,0	288,0	414,0	408,0	364,0	373,0
Vitremer	Presente	borda	144,0	142,0	157,0	323,0	334,0	369,0
Vitremer	Presente	borda	243,0	378,0	383,0	369,0	369,0	419,0
Vitremer	Presente	borda	298,0	355,0	455,0	431,0	425,0	398,0
Vitremer	Presente	borda	193,0	206,0	309,0	360,0	373,0	339,0
Vitremer	Presente	borda	241,0	276,0	338,0	373,0	425,0	414,0
Vitremer	Presente	interna	373,0	360,0	378,0	378,0	414,0	408,0
Vitremer	Presente	interna	238,0	231,0	342,0	334,0	373,0	360,0
Vitremer	Presente	interna	308,0	305,0	355,0	383,0	355,0	305,0
Vitremer	Presente	interna	393,0	351,0	308,0	355,0	414,0	338,0
Vitremer	Presente	interna	241,0	234,0	338,0	288,0	338,0	315,0
Vitremer	Presente	interna	330,0	304,0	310,0	355,0	388,0	291,0
Vitremer	Presente	interna	326,0	248,0	294,0	414,0	373,0	355,0
Vitremer	Presente	interna	388,0	243,0	419,0	364,0	388,0	393,0
Vitremer	Presente	interna	304,0	330,0	290,0	390,0	330,0	383,0
Vitremer	Presente	interna	241,0	282,0	305,0	330,0	408,0	364,0
Vitremer	Presente	100-µm	253,0	285,0	315,0	342,0	393,0	342,0
Vitremer	Presente	100-µm	259,0	288,0	414,0	388,0	425,0	383,0
Vitremer	Presente	100-µm	89,9	261,0	276,0	408,0	360,0	408,0
Vitremer	Presente	100-µm	403,0	455,0	414,0	403,0	369,0	414,0
Vitremer	Presente	100-µm	347,0	481,0	443,0	419,0	360,0	342,0
Vitremer	Presente	100-µm	342,0	248,0	298,0	312,0	364,0	312,0
Vitremer	Presente	100-µm	210,0	222,0	270,0	351,0	355,0	288,0

Vitremer	Presente	100-µm	403,0	364,0	403,0	461,0	360,0	431,0
Vitremer	Presente	100-µm	112,0	286,0	320,0	333,0	325,0	351,0
Vitremer	Presente	100-µm	312,0	243,0	338,0	414,0	334,0	461,0
Vitremer	Presente	200-µm	74,0	82,0	96,0	243,0	338,0	373,0
Vitremer	Presente	200-µm	256,0	291,0	301,0	403,0	351,0	398,0
Vitremer	Presente	200-µm	81,6	151,0	330,0	334,0	373,0	347,0
Vitremer	Presente	200-µm	503,0	334,0	282,0	419,0	443,0	455,0
Vitremer	Presente	200-µm	279,0	383,0	378,0	455,0	461,0	364,0
Vitremer	Presente	200-µm	326,0	251,0	338,0	326,0	330,0	373,0
Vitremer	Presente	200-µm	267,0	266,0	338,0	276,0	355,0	342,0
Vitremer	Presente	200-µm	408,0	378,0	315,0	403,0	305,0	364,0
Vitremer	Presente	200-µm	273,0	255,0	244,0	373,0	333,0	333,0
Vitremer	Presente	200-µm	383,0	393,0	338,0	351,0	461,0	419,0
Vitremer	Ausente	borda	204,0	323,0	342,0	414,0	403,0	443,0
Vitremer	Ausente	borda	188,0	162,0	204,0	355,0	369,0	301,0
Vitremer	Ausente	borda	189,0	202,0	267,0	398,0	360,0	347,0
Vitremer	Ausente	borda	360,0	455,0	604,0	644,0	678,0	644,0
Vitremer	Ausente	borda	408,0	356,0	355,0	403,0	443,0	398,0
Vitremer	Ausente	borda	425,0	495,0	495,0	388,0	378,0	419,0
Vitremer	Ausente	borda	288,0	279,0	334,0	364,0	355,0	351,0
Vitremer	Ausente	borda	218,0	248,0	338,0	323,0	279,0	308,0
Vitremer	Ausente	borda	245,0	276,0	285,0	461,0	355,0	437,0
Vitremer	Ausente	borda	378,0	364,0	347,0	550,0	481,0	419,0
Vitremer	Ausente	interna	369,0	419,0	398,0	373,0	403,0	383,0
Vitremer	Ausente	interna	204,0	264,0	393,0	351,0	330,0	431,0
Vitremer	Ausente	interna	207,0	315,0	425,0	398,0	276,0	373,0
Vitremer	Ausente	interna	414,0	347,0	398,0	383,0	488,0	369,0
Vitremer	Ausente	interna	388,0	393,0	373,0	443,0	398,0	443,0
Vitremer	Ausente	interna	455,0	495,0	488,0	369,0	388,0	408,0
Vitremer	Ausente	interna	323,0	294,0	312,0	326,0	323,0	347,0

Vitremer	Ausente	interna	388,0	378,0	443,0	312,0	294,0	330,0
Vitremer	Ausente	interna	294,0	408,0	373,0	378,0	351,0	455,0
Vitremer	Ausente	interna	425,0	408,0	443,0	437,0	475,0	443,0
Vitremer	Ausente	100-µm	291,0	315,0	347,0	414,0	414,0	443,0
Vitremer	Ausente	100-µm	111,0	177,0	222,0	305,0	398,0	419,0
Vitremer	Ausente	100-µm	206,0	298,0	323,0	347,0	468,0	403,0
Vitremer	Ausente	100-µm	241,0	330,0	267,0	437,0	364,0	360,0
Vitremer	Ausente	100-µm	449,0	355,0	408,0	431,0	398,0	449,0
Vitremer	Ausente	100-µm	449,0	334,0	351,0	360,0	330,0	419,0
Vitremer	Ausente	100-µm	264,0	323,0	291,0	285,0	305,0	398,0
Vitremer	Ausente	100-µm	419,0	342,0	326,0	347,0	347,0	319,0
Vitremer	Ausente	100-µm	342,0	312,0	414,0	378,0	403,0	437,0
Vitremer	Ausente	100-µm	425,0	360,0	408,0	355,0	419,0	425,0
Vitremer	Ausente	200-µm	279,0	273,0	282,0	408,0	270,0	431,0
Vitremer	Ausente	200-µm	236,0	259,0	251,0	369,0	326,0	403,0
Vitremer	Ausente	200-µm	93,3	98,2	234,0	398,0	351,0	338,0
Vitremer	Ausente	200-µm	236,0	216,0	383,0	425,0	403,0	351,0
Vitremer	Ausente	200-µm	393,0	369,0	419,0	393,0	414,0	388,0
Vitremer	Ausente	200-µm	408,0	449,0	475,0	449,0	419,0	369,0
Vitremer	Ausente	200-µm	305,0	326,0	276,0	360,0	355,0	342,0
Vitremer	Ausente	200-µm	403,0	461,0	414,0	388,0	398,0	351,0
Vitremer	Ausente	200-µm	180,0	273,0	425,0	431,0	518,0	414,0
Vitremer	Ausente	200-µm	408,0	315,0	347,0	475,0	495,0	475,0
Alpha Seal	Presente	borda	128,0	197,0	190,0	143,0	91,0	128,0
Alpha Seal	Presente	borda	50,3	165,0	308,0	360,0	259,0	305,0
Alpha Seal	Presente	borda	142,0	188,0	291,0	326,0	238,0	364,0
Alpha Seal	Presente	borda	288,0	334,0	326,0	334,0	216,0	475,0
Alpha Seal	Presente	borda	59,6	137,0	212,0	355,0	334,0	351,0
Alpha Seal	Presente	borda	326,0	360,0	388,0	373,0	388,0	308,0
Alpha Seal	Presente	borda	330,0	279,0	323,0	360,0	351,0	347,0

Alpha Seal	Presente	borda	259,0	220,0	264,0	305,0	298,0	355,0
Alpha Seal	Presente	borda	250,0	246,0	277,0	271,0	307,0	334,0
Alpha Seal	Presente	borda	171,0	243,0	282,0	200,0	195,0	373,0
Alpha Seal	Presente	interna	155,0	157,0	120,0	88,8	111,0	128,0
Alpha Seal	Presente	interna	174,0	202,0	237,0	307,0	357,0	302,0
Alpha Seal	Presente	interna	229,0	204,0	206,0	264,0	383,0	419,0
Alpha Seal	Presente	interna	58,7	193,0	231,0	351,0	364,0	533,0
Alpha Seal	Presente	interna	315,0	342,0	330,0	323,0	338,0	369,0
Alpha Seal	Presente	interna	388,0	408,0	312,0	351,0	364,0	425,0
Alpha Seal	Presente	interna	355,0	246,0	305,0	393,0	364,0	388,0
Alpha Seal	Presente	interna	130,0	167,0	168,0	264,0	294,0	261,0
Alpha Seal	Presente	interna	298,0	324,0	393,0	234,0	431,0	398,0
Alpha Seal	Presente	interna	273,0	285,0	279,0	393,0	414,0	369,0
Alpha Seal	Presente	100- μ m	157,0	160,0	120,0	96,9	147,0	206,0
Alpha Seal	Presente	100- μ m	351,0	220,0	256,0	315,0	373,0	378,0
Alpha Seal	Presente	100- μ m	388,0	169,0	222,0	475,0	398,0	488,0
Alpha Seal	Presente	100- μ m	172,0	222,0	214,0	276,0	355,0	214,0
Alpha Seal	Presente	100- μ m	199,0	282,0	338,0	319,0	264,0	360,0
Alpha Seal	Presente	100- μ m	369,0	360,0	323,0	431,0	455,0	378,0
Alpha Seal	Presente	100- μ m	319,0	334,0	241,0	378,0	360,0	419,0
Alpha Seal	Presente	100- μ m	294,0	259,0	206,0	364,0	312,0	408,0
Alpha Seal	Presente	100- μ m	168,0	261,0	294,0	369,0	443,0	443,0
Alpha Seal	Presente	100- μ m	222,0	193,0	165,0	334,0	414,0	449,0
Alpha Seal	Presente	200- μ m	129,0	178,0	144,0	199,0	150,0	206,0
Alpha Seal	Presente	200- μ m	241,0	267,0	246,0	455,0	393,0	315,0
Alpha Seal	Presente	200- μ m	204,0	312,0	259,0	393,0	408,0	468,0
Alpha Seal	Presente	200- μ m	338,0	291,0	229,0	285,0	342,0	414,0
Alpha Seal	Presente	200- μ m	108,0	122,0	246,0	347,0	334,0	364,0
Alpha Seal	Presente	200- μ m	393,0	382,0	398,0	364,0	360,0	347,0
Alpha Seal	Presente	200- μ m	378,0	216,0	308,0	285,0	355,0	305,0

Alpha Seal	Presente	200- μ m	279,0	323,0	330,0	443,0	369,0	364,0
Alpha Seal	Presente	200- μ m	191,0	291,0	253,0	301,0	364,0	347,0
Alpha Seal	Presente	200- μ m	189,0	194,0	194,0	273,0	298,0	302,0
Alpha Seal	Ausente	borda	197,0	398,0	403,0	455,0	510,0	461,0
Alpha Seal	Ausente	borda	276,0	414,0	437,0	418,0	431,0	393,0
Alpha Seal	Ausente	borda	279,0	200,0	195,0	259,0	326,0	393,0
Alpha Seal	Ausente	borda	264,0	282,0	351,0	364,0	419,0	414,0
Alpha Seal	Ausente	borda	398,0	403,0	408,0	355,0	431,0	408,0
Alpha Seal	Ausente	borda	256,0	342,0	408,0	461,0	355,0	351,0
Alpha Seal	Ausente	borda	202,0	319,0	373,0	347,0	378,0	347,0
Alpha Seal	Ausente	borda	206,0	165,0	214,0	229,0	326,0	360,0
Alpha Seal	Ausente	borda	283,0	241,0	351,0	373,0	360,0	449,0
Alpha Seal	Ausente	borda	193,0	175,0	225,0	312,0	334,0	393,0
Alpha Seal	Ausente	interna	503,0	475,0	518,0	495,0	461,0	489,0
Alpha Seal	Ausente	interna	259,0	419,0	431,0	475,0	419,0	461,0
Alpha Seal	Ausente	interna	525,0	383,0	364,0	510,0	378,0	414,0
Alpha Seal	Ausente	interna	285,0	282,0	414,0	364,0	326,0	414,0
Alpha Seal	Ausente	interna	315,0	291,0	398,0	378,0	403,0	419,0
Alpha Seal	Ausente	interna	369,0	378,0	408,0	364,0	351,0	388,0
Alpha Seal	Ausente	interna	342,0	378,0	360,0	468,0	408,0	360,0
Alpha Seal	Ausente	interna	220,0	282,0	319,0	308,0	373,0	355,0
Alpha Seal	Ausente	interna	351,0	253,0	312,0	369,0	533,0	338,0
Alpha Seal	Ausente	interna	338,0	315,0	253,0	373,0	338,0	378,0
Alpha Seal	Ausente	100- μ m	468,0	461,0	398,0	461,0	169,0	431,0
Alpha Seal	Ausente	100- μ m	449,0	468,0	393,0	475,0	414,0	449,0
Alpha Seal	Ausente	100- μ m	347,0	369,0	488,0	443,0	431,0	398,0
Alpha Seal	Ausente	100- μ m	326,0	282,0	431,0	378,0	378,0	378,0
Alpha Seal	Ausente	100- μ m	298,0	225,0	369,0	267,0	349,0	449,0
Alpha Seal	Ausente	100- μ m	364,0	315,0	238,0	388,0	378,0	419,0
Alpha Seal	Ausente	100- μ m	103,0	150,0	200,0	419,0	393,0	351,0

Alpha Seal	Ausente	100-µm	264,0	208,0	169,0	193,0	383,0	443,0
Alpha Seal	Ausente	100-µm	279,0	431,0	414,0	347,0	373,0	425,0
Alpha Seal	Ausente	100-µm	195,0	190,0	164,0	305,0	355,0	408,0
Alpha Seal	Ausente	200-µm	351,0	220,0	256,0	315,0	373,0	383,0
Alpha Seal	Ausente	200-µm	229,0	360,0	443,0	437,0	455,0	449,0
Alpha Seal	Ausente	200-µm	403,0	334,0	312,0	378,0	425,0	449,0
Alpha Seal	Ausente	200-µm	393,0	378,0	475,0	388,0	403,0	419,0
Alpha Seal	Ausente	200-µm	291,0	351,0	360,0	403,0	398,0	373,0
Alpha Seal	Ausente	200-µm	204,0	351,0	351,0	334,0	393,0	369,0
Alpha Seal	Ausente	200-µm	319,0	419,0	393,0	301,0	351,0	234,0
Alpha Seal	Ausente	200-µm	140,0	161,0	197,0	398,0	383,0	468,0
Alpha Seal	Ausente	200-µm	168,0	261,0	294,0	369,0	443,0	443,0
Alpha Seal	Ausente	200-µm	183,0	200,0	208,0	238,0	305,0	315,0
Controle	Presente	borda	355,0	388,0	373,0	437,0	495,0	468,0
Controle	Presente	borda	315,0	243,0	261,0	191,0	355,0	518,0
Controle	Presente	borda	188,0	220,0	364,0	360,0	308,0	360,0
Controle	Presente	borda	43,3	127,0	360,0	373,0	403,0	338,0
Controle	Presente	borda	276,0	259,0	273,0	455,0	373,0	369,0
Controle	Presente	borda	164,0	246,0	323,0	347,0	364,0	360,0
Controle	Presente	borda	393,0	393,0	408,0	414,0	425,0	334,0
Controle	Presente	borda	95,7	113,0	288,0	510,0	431,0	319,0
Controle	Presente	borda	172,0	334,0	360,0	351,0	443,0	364,0
Controle	Presente	borda	54,7	87,9	107,0	375,0	383,0	305,0
Controle	Presente	interna	261,0	319,0	481,0	475,0	481,0	425,0
Controle	Presente	interna	220,0	241,0	273,0	388,0	383,0	468,0
Controle	Presente	interna	143,0	347,0	383,0	360,0	364,0	408,0
Controle	Presente	interna	42,2	48,8	80,9	80,5	209,0	289,0
Controle	Presente	interna	195,0	251,0	393,0	408,0	378,0	298,0
Controle	Presente	interna	212,0	373,0	338,0	388,0	355,0	276,0
Controle	Presente	interna	419,0	414,0	461,0	383,0	425,0	383,0

Controle	Presente	interna	77,0	191,0	279,0	468,0	468,0	355,0
Controle	Presente	interna	183,0	267,0	297,0	404,0	330,0	314,0
Controle	Presente	interna	50,6	56,4	48,7	54,0	360,0	285,0
Controle	Presente	100-µm	236,0	251,0	315,0	364,0	437,0	461,0
Controle	Presente	100-µm	393,0	419,0	301,0	393,0	398,0	414,0
Controle	Presente	100-µm	165,0	197,0	279,0	351,0	355,0	414,0
Controle	Presente	100-µm	78,4	153,0	246,0	285,0	383,0	419,0
Controle	Presente	100-µm	253,0	282,0	326,0	437,0	393,0	373,0
Controle	Presente	100-µm	115,0	206,0	125,0	282,0	323,0	378,0
Controle	Presente	100-µm	312,0	294,0	326,0	373,0	369,0	342,0
Controle	Presente	100-µm	110,0	191,0	241,0	261,0	298,0	273,0
Controle	Presente	100-µm	112,0	155,0	282,0	414,0	455,0	369,0
Controle	Presente	100-µm	106,0	116,0	85,1	178,0	236,0	338,0
Controle	Presente	200-µm	388,0	259,0	383,0	330,0	393,0	378,0
Controle	Presente	200-µm	220,0	264,0	267,0	334,0	398,0	437,0
Controle	Presente	200-µm	259,0	119,0	137,0	273,0	220,0	342,0
Controle	Presente	200-µm	66,7	183,0	351,0	468,0	481,0	398,0
Controle	Presente	200-µm	319,0	319,0	305,0	414,0	373,0	360,0
Controle	Presente	200-µm	315,0	248,0	338,0	273,0	234,0	326,0
Controle	Presente	200-µm	177,0	175,0	165,0	385,0	351,0	288,0
Controle	Presente	200-µm	172,0	223,0	212,0	360,0	357,0	292,0
Controle	Presente	200-µm	63,0	78,4	153,0	246,0	285,0	383,0
Controle	Presente	200-µm	89,0	45,8	76,9	120,0	347,0	383,0
Controle	Ausente	borda	172,0	305,0	338,0	351,0	342,0	334,0
Controle	Ausente	borda	273,0	338,0	364,0	468,0	461,0	408,0
Controle	Ausente	borda	151,0	188,0	246,0	351,0	373,0	379,0
Controle	Ausente	borda	168,0	218,0	190,0	185,0	167,0	127,0
Controle	Ausente	borda	191,0	253,0	171,0	229,0	204,0	351,0
Controle	Ausente	borda	222,0	305,0	264,0	273,0	326,0	355,0
Controle	Ausente	borda	204,0	218,0	169,0	312,0	414,0	388,0

Controle	Ausente	borda	177,0	315,0	214,0	231,0	308,0	403,0
Controle	Ausente	borda	251,0	234,0	256,0	323,0	360,0	351,0
Controle	Ausente	borda	242,0	267,0	193,0	256,0	270,0	323,0
Controle	Ausente	interna	323,0	495,0	288,0	326,0	338,0	388,0
Controle	Ausente	interna	431,0	461,0	351,0	455,0	408,0	475,0
Controle	Ausente	interna	113,0	164,0	269,0	325,0	351,0	401,0
Controle	Ausente	interna	64,0	147,0	200,0	119,0	183,0	301,0
Controle	Ausente	interna	308,0	319,0	285,0	355,0	183,0	319,0
Controle	Ausente	interna	75,3	298,0	294,0	291,0	222,0	403,0
Controle	Ausente	interna	180,0	279,0	250,0	363,0	432,0	424,0
Controle	Ausente	interna	229,0	351,0	312,0	425,0	312,0	315,0
Controle	Ausente	interna	227,0	323,0	214,0	373,0	326,0	264,0
Controle	Ausente	interna	151,0	227,0	251,0	301,0	312,0	334,0
Controle	Ausente	100-µm	108,0	197,0	220,0	246,0	128,0	305,0
Controle	Ausente	100-µm	408,0	355,0	414,0	481,0	383,0	468,0
Controle	Ausente	100-µm	133,0	167,0	300,0	314,0	379,0	345,0
Controle	Ausente	100-µm	305,0	248,0	174,0	220,0	326,0	282,0
Controle	Ausente	100-µm	165,0	146,0	102,0	241,0	234,0	347,0
Controle	Ausente	100-µm	206,0	270,0	312,0	383,0	279,0	347,0
Controle	Ausente	100-µm	309,0	279,0	336,0	369,0	345,0	376,0
Controle	Ausente	100-µm	180,0	383,0	261,0	330,0	383,0	388,0
Controle	Ausente	100-µm	360,0	305,0	319,0	364,0	338,0	443,0
Controle	Ausente	100-µm	150,0	155,0	123,0	168,0	227,0	267,0
Controle	Ausente	200-µm	106,0	113,0	88,2	70,8	145,0	301,0
Controle	Ausente	200-µm	449,0	437,0	403,0	449,0	488,0	475,0
Controle	Ausente	200-µm	162,0	338,0	495,0	488,0	475,0	425,0
Controle	Ausente	200-µm	289,0	188,0	270,0	267,0	308,0	276,0
Controle	Ausente	200-µm	110,0	182,0	218,0	243,0	175,0	342,0
Controle	Ausente	200-µm	259,0	190,0	273,0	273,0	334,0	334,0
Controle	Ausente	200-µm	202,0	304,0	339,0	404,0	412,0	436,0

Controle	Ausente	200-μm	165,0	285,0	373,0	398,0	369,0	403,0
Controle	Ausente	200-μm	347,0	347,0	408,0	388,0	319,0	475,0
Controle	Ausente	200-μm	174,0	173,0	141,0	164,0	218,0	355,0