



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
DOUTORADO EM ODONTOLOGIA

ANDRESSA CAVALCANTI PIRES

**EFEITO DA COMPOSIÇÃO DO INFILTRANTE RESINOSO NO VOLUME
OCLUÍDO POR RESINA NA LESÃO CARIOSA NATURAL DE ESMALTE**

CAMPINA GRANDE/ PB

2022

ANDRESSA CAVALCANTI PIRES

**EFEITO DA COMPOSIÇÃO DO INFILTRANTE RESINOSO NO VOLUME
OCLUÍDO POR RESINA NA LESÃO CARIOSA NATURAL DE ESMALTE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Odontologia.

Área de concentração: Clínicas
Odontológicas

Orientador: Prof. Dr. Alessandro Leite Cavalcanti
Coorientador: Prof. Dr. Frederico Barbosa de Sousa

CAMPINA GRANDE/ PB

2022

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

P667e Pires, Andressa Cavalcanti.
Efeito da composição do infiltrante resinoso no volume ocluído por resina na lesão cáriosa natural de esmalte [manuscrito] / Andressa Cavalcanti Pires. - 2022.
97 p. : il. colorido.

Digitado.

Tese (Doutorado em Odontologia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2022.

"Orientação : Prof. Dr. Alessandro Leite Cavalcanti, Departamento de Odontologia - CCBS."

"Coorientação: Prof. Dr. Frederico Barbosa de Sousa, UFPB - Universidade Federal da Paraíba"

1. Cárie dentária. 2. Esmalte dentário. 3. Histopatologia. 4. Permeabilidade. 5. Infiltração. I. Título

21. ed. CDD 617.6

ANDRESSA CAVALCANTI PIRES

**EFEITO DA COMPOSIÇÃO DO INFILTRANTE RESINOSO NO VOLUME
OCLUÍDO POR RESINA NA LESÃO CARIOSA NATURAL DE ESMALTE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Odontologia.

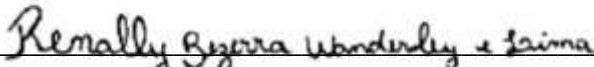
Área de concentração: Clínicas
Odontológicas

Apresentado em 28/07/2022


BANCA EXAMINADORA



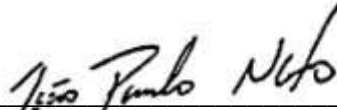
Profa. Dra. Daniela Rios Honório
Faculdade de Odontologia de Bauru - Universidade de São Paulo (USP-Bauru)
Titular externo (1º Examinador)



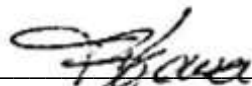
Profa. Dra. Renally Bezerra Wanderley e Lima
Faculdade Nova Esperança (FACENE)
Titular externo (2º Examinador)



Profa. Dra. Alidianne Fabia Cabral Cavalcanti
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)
Titular interno (1º Examinador)



Prof. Dr. João Paulo da Silva Neto
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)
Titular interno (2º Examinador)



Prof. Dr. Frederico Barbosa de Sousa
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)
Titular (Coorientador)

Dedico este trabalho a minha família, meu maior apoio e alicerce. A vida é melhor com vocês.

Dedico, também, a meu pai, segui teus passos e fui além.

“Não vos preocupeis, pois, com o dia de amanhã: o dia de amanhã terá as suas preocupações próprias. A cada dia basta o seu cuidado.”

(Mateus 6,34)

AGRADECIMENTOS

A Deus,

Esse momento não seria possível sem a presença Dele constante em minha vida, me segurando e me dando forças para continuar. A Sua presença em minha vida é clara e fundamental, em tudo tem as Tuas mãos. E a intercessão de Nossa Senhora, acalento para vida.

*A meu orientador **Prof. Dr. Alessandro Leite Cavalcanti,***

Pela orientação, pelo apoio, por me permitir estudar e me dedicar aquilo que era da minha área de interesse e por todo conhecimento passado. Obrigada por me permitir voar, sua disposição e auxílio foram fundamentais!

*A meu coorientador **Prof. Dr. Frederico Barbosa de Sousa,***

Eu não tenho palavras suficientes para agradecer a acolhida, os ensinamentos, a disponibilidade e paciência, não teria conseguido sem sua ajuda! Foi um verdadeiro pai, serei eternamente grata. Abriu as portas do laboratório e me fez sentir em casa novamente.

Aos professores membros da banca, titulares e suplentes,

muito obrigada por aceitarem fazer parte desse momento. Vocês são inspiração!

Aos professores do PPGO/UEPB,

que nos qualificaram e trouxeram ensinamentos para vida, foram longos anos compartilhados, saímos dessa experiência melhores.

Aos funcionários da UEPB,

em especial Ayanna e Dioliane, sempre disponíveis a nos atender.

Aos professores do PPGO/UFPB,

*Minha primeira casa, onde fiz graduação e mestrado. Em especial a **prof. Dr^a Fabia Danielle Sales Cunha Medeiros e Silva** por me convidar e me apresentar o mundo da pesquisa, não poderia ter sido introduzida de maneira tão brilhante.*

Aos companheiros do LAMIB,

Em especial Basílio e Eugênia que dividiram horas comigo no laboratório deixando o processo mais leve.

Aos amigos que conquistei na UEPB,

Vocês tornaram tudo mais leve e permitiram que horas passassem rapidamente. Em especial, Isabella Jardelino, nossas idas e vindas a João Pessoa não seriam as mesmas se não fossem embaladas de tantas conversas e boas risadas. Amo você amiga.

A Marina Tavares da Costa Nóbrega,

Em você ganhei uma irmã, começamos juntas na especialização e já partilhamos tantos momentos que nem consigo listar, o que já vivemos não cabe em um livro. Obrigada por ser suporte, ouvidos e por sempre me incentivar. Me trouxe junto para o doutorado, para o trabalho e para vida. Agradeço por nunca soltar a minha mão e acreditar em mim. Amo você!

A Mirella de Fátima Liberato de Moura,

Iniciamos essa jornada sentadas na porta do LAMIB e depois disso, mesmo distantes, não imagino minha vida sem você. Meu muito obrigada por me acolher, por dividir o trabalho e a vida, você é o furacão da minha calmaria. Amo toda sua família.

A minha família,

Que nunca mediu esforços para me apoiar, incentivar e me impulsionar a ser melhor. Sou fruto daquilo que vivemos e compartilhamos. A vida é mais feliz quando compartilhada e nada seria possível sem vocês na minha vida. Mainha é exemplo de força, determinação e de que devemos perseguir os nossos sonhos, obrigada por ser quem é e por dividir todas as minhas conquistas, sei que é sempre a primeira da fila. A minha irmã que tão diferente de mim, acaba se tornando tão igual e sendo minha metade, obrigada pelo cuidado durante toda vida, pelo instinto protetor! Nos deu um lindo presente, Fernando. Amo muito vocês! A Poliana, por dividir a vida, os filhos e tudo mais, não lembro de momentos da minha vida em que você não estava lá, amo muito vocês.

A meu marido, Hilário Henrique,

Que vem trilhando essa estrada comigo a tantos anos, começamos dividindo os problemas na faculdade e hoje dividimos a vida. Obrigada por me surpreender positivamente todos os dias, com amor, zelo e cuidado. Obrigada por ser amigo e segurar a minha mão em tantos

momentos difíceis. Hoje, começamos a colher aquilo que foi plantado e não tenho dúvidas que teremos um futuro ainda mais brilhante! Amo muito você.

A família que ganhei com o casamento,

Vocês têm sido apoio e morada. Obrigada por todo incentivo, compreensão e companhia. Vocês são a minha família. Amo vocês. Hoje temos um anjo que cuida de nós.

Aos meus amigos,

Aqueles que estão comigo durante uma vida que já perdi as contas, aos amigos do colégio, aos amigos do cursinho, aos amigos da faculdade, aos amigos do trabalho, aos amigos da igreja, aos amigos da especialização, aos amigos que vieram de amigos, não existem categorias para vocês, vocês são essenciais na minha vida e não imagino uma vida sem vocês. Obrigada por todo incentivo e amor compartilhado. Amo vocês!

Aos meus anjinhos,

Iury, Sophia e Tio Dinho, perder vocês foi doloroso, me fez sair do eixo, mas acredito que um dia nos reencontraremos.

A Bibi, Aurora e Lion,

Ser mãe de pet nos permite viver um amor puro e doce, são minha companhia, suporte e tornam meus dias alegres. Vocês são meus amores.

A todos que contribuíram de alguma forma e torceram para que mais essa etapa fosse concluída!

Muito obrigada, nós conseguimos!!!

RESUMO

Introdução: A cárie dentária é uma das doenças crônicas mais prevalentes no mundo e a infiltração da cárie é um método terapêutico promissor quanto a sua abordagem entre ações preventivas e restauradoras no tratamento de lesões cáries iniciais. **Objetivo:** Avaliar se a composição da resina afeta no volume de poros ocluídos por infiltrante em lesões cáries naturais de esmalte. **Metodologia:** 51 lesões cáries naturais proximais de esmalte, sendo lesões de mancha branca inativas sem cavitação foram selecionadas por uma examinadora calibrada para preparo das amostras através de cortes por desgaste. 1 ponto histológico na camada superficial e 4 na região central do corpo da lesão foram selecionados para quantificar volumes mineral (V1) através de níveis de cinza obtidos a partir de imagens em MicroCT, orgânico (β), de água total (α) e volume infiltrado por resina infiltrante (α_2) e desfecho principal, a partir dos retardos de fase no Image J. O desfecho foi o volume infiltrado por infiltrante ($\alpha_{infiltr}$) dividido pelo percentual de água total que foi removido pela desidratação (α_2/α). As amostras foram separadas em três grupos: Grupo Icon: 17 amostras infiltradas com Icon®; Grupo TB: 17 amostras infiltradas com resina infiltrante experimental com TEGDMA 75% + BisEMA 25%; Grupo TH: 17 amostras infiltradas com resina infiltrante experimental com TEGDMA 80% + HEMA 20%. **Resultados:** Foram analisados no Grupo Icon: 74 pontos; Grupo TB: 74 pontos; Grupo TH: 71 pontos, totalizando 219 pontos histológicos. O volume ocluído por resina infiltrante no grupo Icon® variou em aproximadamente 1 e 17%, no grupo TB em 0 a 15% e no grupo TH em 0 a 16%. Os dados de volume de água total foram fortemente associados com a razão $\alpha_{infiltr}/\alpha_2$ (n de 219, coeficiente r de 0,52, IC de 95% de 0,42 a 0,61, valor de $p < 0,0001$, e poder maior que 99,9). O teste de Kruskal-Wallis mostrou haver efeito no desfecho (p-value = 5.445e-08; tamanho do efeito η^2 ao quadrado de 0.146 [IC 95% = 0.08;0.124]). Valores obtidos para mediana e 75% da diferença interquartil ($DIQ_{x0,75}$): ICON (n=74; mediana=0.048999; $DIQ_{x0,75}$ =0.009306); TB (n=74; mediana=0.051085; $DIQ_{x0,75}$ =0.007456); TH (n=71; mediana=0.056805; $DIQ_{x0,75}$ =0.0092380). Teste entre pares de grupos não pareados – Mann Whitney foram realizados entre TH X TB (Cohen d: 0.69; IC 95%: 0.36;1.03; Valor de p: 1.121e-07); TH X ICON (Cohen d: 0.84; IC 95%: 0.50;1.18; Valor de p: 2.445e-06) e TB X ICON (Cohen d:0.24; IC 95%: -0.56;0.09; Valor de p: 0.8225) e foi observado que há efeito do tratamento, com o grupo TH tendo maior infiltração que os grupo TB (tamanho de efeito médio de 0,69) e Icon (tamanho de efeito grande de 0,84), com valores de p muito baixo e IC 95% sem incluir a hipótese nula. **Conclusão:** Dentro das limitações desse estudo, concluiu-se que a

composição do infiltrante altera o volume ocluído por resina infiltrante e que o grupo com características hidrofílicas (TH) resultou num maior potencial de penetração quando comparado ao grupo Icon® e ao grupo com características hidrófobas (TB).

Palavras-chave: Cárie dentária. Esmalte dentário. Histopatologia. Permeabilidade. Infiltração.

ABSTRACT

Introduction: Dental caries is one of the most prevalent chronic diseases in the world and caries infiltration is a promising therapeutic method for its approach between preventive and restorative actions in the treatment of early carious lesions. **Objective:** To evaluate whether resin composition affects the volume of pores occluded by infiltrant in natural enamel carious lesions. **Methodology:** 51 natural proximal enamel carious lesions, being inactive white spot lesions without cavitation were selected by a calibrated examiner for sample preparation by wear cutting. 1 histological point in the surface layer and 4 in the central region of the lesion body were selected to quantify mineral volumes (V_1) through gray levels obtained from MicroCT imaging, organic (β), total water (α) and infiltrating resin infiltrated volume (α_2) and main endpoint from phase delays in Image J. The endpoint was the infiltrating resin infiltrated volume ($\alpha_{infiltr}$) divided by the percentage of total water that was removed by dehydration (α_2/α). The samples were separated into three groups: Icon Group: 17 samples infiltrated with Icon®; TB Group: 17 samples infiltrated with experimental infiltrating resin with TEGDMA 75% + BisEMA 25%; TH Group: 17 samples infiltrated with experimental infiltrating resin with TEGDMA 80% + HEMA 20%. **Results:** Icon Group: 74 points; TB Group: 74 points; TH Group: 71 points, totaling 219 histological points. The volume occluded by infiltrating resin in the Icon® group varied by approximately 1 and 17%, in the TB group by 0 to 15%, and in the TH group by 0 to 16%. The total water volume data were strongly associated with the $\alpha_{infiltr}/\alpha_2$ ratio (n of 219, r coefficient of 0.52, 95% CI of 0.42 to 0.61, p value < 0.0001, and power greater than 99.9). The Kruskal-Wallis test showed there was an effect on the outcome (p-value = 5.445e-08; eta squared effect size of 0.146 [95% CI = 0.08;0.124]). Values obtained for median and 75% interquartile difference (DIQx0.75): ICON (n=74; median=0.048999; DIQx0.75=0.009306); TB (n=74; median=0.051085; DIQx0.75=0.007456); TH (n=71; median=0.056805; DIQx0.75=0.0092380). Unpaired pairs-of-groups Mann Whitney tests were performed between TH X TB (Cohen d: 0.69; 95% CI: 0.36;1.03; p value: 1.121e-07); TH X ICON (Cohen d: 0.84; 95% CI: 0.50;1.18; p value: 2.445e-06) and TB X ICON (Cohen d:0.24; 95% CI: -0.56;0.09; p value: 0.8225) and it was observed that there is a treatment effect, with the TH group having greater infiltration than the TB (mean effect size of 0.69) and Icon (large effect size of 0.84) groups, with very low p values and 95% CI not including the null hypothesis. **Conclusion:** Within the limitations of this study, it was concluded that the composition of the infiltrant alters the volume occluded by infiltrating resin and that the group with hydrophilic characteristics (TH) resulted in a

greater potential for penetration when compared to the Icon® group and the group with hydrophobic characteristics (TB).

Keywords: Dental caries. Dental enamel. Histopathology. Permeability. Infiltration.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

α_1	Água firmemente aderida
α_2	Água fracamente aderida
α_d	Permeabilidade do esmalte
β	Volume orgânico
BR_{obs}	Birrefringência observada
Ca	Cálcio
CL	Corpo da lesão
CP	Coeficiente de Penetração
CS	Camada Superficial
IC	Intervalo de confiança
HA	Hidroxiapatita
JAD	Junção amelo-dentinária
LMB	Lesão de mancha branca
MLP	Microscopia de Luz Polarizada
P	Fosfato
PC	Ponto de contato
pH	Potencial Hidrogeniônico
V₁	Volume mineral
V₂	Volume não mineral

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Representação dos dados dos desfechos de todos os grupos.....	68
Tabela 2-	Dados descritivos de todos os grupos	70
Tabela 3-	Teste entre pares de grupos não pareados – Mann Whitney.....	70

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Corte por desgaste de LMB em MLP (com filtro de retardo vermelho de 540 nm) imerso em água, onde se pode observar a camada superficial (CS) e o corpo da lesão (CL), a zona escura e a zona translúcida só podem ser observadas imersas em quinolina. Barra = 300µm (Autoria própria).....	19
Figura 2-	Figura 2 – Ilustração do início da formação do esmalte, observamos o processo de Tomes, que mudam a direção da sua movimentação (setas) e iniciam a formação do esmalte prismático. Gentilmente cedida por Eugênia Lúvia de Andrade Dantas adaptada de Katchuburia; Arana, 2017.....	21
Figura 3-	Esquema mostrando corte transversal do esmalte ao longo eixo dos prismas mostrando as suas partes (Adaptado de KATCHUBURIA; ARANA, 2017).	22
Figura 4-	Modelo provável da distribuição espacial dos volumes de água e matéria orgânica nos poros do esmalte (Pires, 2016).....	25
Figura 5-	Modelo esquemático dos componentes no interior do poro do esmalte imerso em água, ar e após infiltração de resina infiltrante. Sendo α_1 a água firmemente aderida, α_2 a água fracamente aderida e β o volume orgânico (Pires, 2016).....	27
Figura 6-	Lesão de cárie inativa vista em estériomicroscópio sob luz refletida. Barra de escala:1mm (Autoria própria).....	35
Figura 7-	Elemento dentário cortado com disco diamantado (A). Jig de lapidação (B). Verificação da espessura em microscópio óptico (C) (Autoria própria).....	36
Figura 8-	Análise de pontos histológicos ao longo de uma linha transversal.....	37
Figura 9-	Amostra posicionada juntamente com padrão de alumínio para obtenção dos níveis de cinza.....	48
Figura 10	Ilustração esquemática da disposição do sistema “single polscope” montado em microscópio de luz polarizada. A luz (1) passa pelo primeiro polarizador (2), em seguida pelo cristal líquido coberto por um filtro de retardo de $\frac{1}{4}$ de lambda acromático para 545 nm (FQO) (3), pelo condensador (4), pela amostra (5), pela objetiva (6), pelo segundo filtro de retardo de um quarto de lambda acromático para 545 nm (FQO) (7), pelo segundo polarizador (8) chegando até a câmera fotográfica digital, onde imagem é registrada (Maciel, 2014).....	40
Figura 11-	Resina Infiltrate Icon® (DMG, Hamburgo, Alemanha).....	43

ARTIGO

Figura 1-	Corte por desgaste de lesão cariiosa natural inativa de esmalte em MLP (com filtro de retardo vermelho de 540 nm) sob imersão em água (A), ar (B), após infiltração da resina TH (C) e em radiomicrografia (D).....	54
Figura 2-	Gráfico dos valores do volume infiltrado por resina infiltrante Icon® para todos os pontos histológicos analisados.....	55
Figura 3-	Gráfico dos valores do volume infiltrado por resina infiltrante experimental TB para todos os pontos histológicos analisados.....	56
Figura 4-	Gráfico dos valores do volume infiltrado por resina infiltrante experimental	

TH para todos os pontos histológicos analisados.....	56
--	----

SUMÁRIO

1	CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	17
1.1	Cárie dentária.....	17
1.2	Considerações sobre o esmalte.....	20
1.2.1	<i>Estrutura do esmalte dental e composição mineral.....</i>	20
1.2.2	<i>Composição orgânica e aquosa.....</i>	23
1.2.3	<i>Porosidade e permeabilidade do esmalte dental.....</i>	26
1.3	Infiltrantes.....	27
2	OBJETIVOS.....	31
2.1	Geral.....	31
2.2	Específicos.....	31
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	32
3.1	Considerações éticas.....	32
3.2	Delineamento da pesquisa.....	32
3.3	Local de realização do estudo.....	32
3.4	Cálculo amostral e definição dos grupos.....	32
3.5	Características dos infiltrantes.....	33
3.6	Seleção dos dentes.....	33
3.7	Preparo dos cortes por desgaste.....	35
3.8	Análise de conteúdo mineral	37
3.9	Análises dos conteúdos de matéria orgânica e água.....	39
3.10	Infiltração de resina	42
3.11	Quantificação do volume ocluído por resina infiltrante e desfecho principal.....	43
3.12	Análise dos dados.....	44
4	ARTIGO.....	46
4.1	Apresentação.....	46
5	CONCLUSÃO.....	66
	REFERÊNCIAS	67
	ANEXO A - Parecer consubstanciado do CEP.....	72
	ANEXO B- Intruções para autores (Caries research).....	75
	APÊNDICE A - Termo de consentimento livre e esclarecido.....	96

1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1.1 Cárie dentária

A cárie dentária é descrita universalmente como uma doença multifatorial, comportamental, crônica e dieta dependente, que produz uma desmineralização das estruturas dentárias a partir da fermentação de carboidratos pelas bactérias presentes no biofilme bucal (FEJERSKOV; KIDD, 2011; FEJERSKOV; NYVAD; KIDD, 2017; TINANOFF, 2019; ZHAN, 2018). O primeiro modelo foi proposto por Keyes (1960), e esse conceito é baseado nos seus fatores etiológicos, no qual a interação entre os fatores determinantes tem como produto a cárie: hospedeiro, substrato (dieta cariogênica) e micro-organismos. O fator tempo foi acrescentado por Newbrun (1988) nessa interação, porém ambos modelos não foram capazes de explicar completamente a ocorrência da doença cárie na população humana, pois outros fatores estão inseridos nesse contexto, sendo esta mais complexa e com caráter comportamental, podendo ser influenciada por fatores modificadores como os sociais, econômicos, educacionais e comportamentais (ABOU NEEL *et al.*, 2016; FEJERSKOV; NYVAD; KIDD, 2017; PERINETT; CAPUTI; VARVARA, 2005; WEYNE; HARARI, 2002).

Constituintes estruturais e químicos dos dentes e a saliva através de sua capacidade tampão, estão relacionados com a susceptibilidade do hospedeiro. Além disso, a presença de defeitos estruturais pode aumentar a susceptibilidade a lesões cariosas (FEJERSKOV; NYVAD; KIDD, 2017; KAUFFMAN, 1949; SZMYD, 1950; KAUFFMANN, 1966). Áreas de retenção de placa, sem sofrer desgaste mecânico, levarão a formação da cárie em consideração ao acúmulo da placa (BELTRAN *et al.*, 2019). O posicionamento dentário é outro fator que pode facilitar o acúmulo de biofilme dental, como no caso de dentes recém erupcionados em infraoclusão, ou mal posicionados (CARVALHO; EKSTRAND; THYLSTRUP, 1989).

As alterações ocorridas na comunidade de biofilme dental supragengival resultam nas lesões de cárie de esmalte (NYVAD *et al.*, 2013; SIMÓN-SORO; MIRA, 2015). O processo de evolução da doença cárie se dá pela colonização nos dentes por bactérias, *Streptococcus mutans* e espécies intimamente relacionadas, como *Streptococcus sobrinus* os quais tem sido considerado por desempenhar um papel etiológico primário da cárie dentária (BOWEN; KOO, 2011).

A doença cárie é caracterizada pelo desequilíbrio entre os fatores de des-mineralização que ocorrem entre os tecidos dentários e o meio fluido bucal, tratando-se de uma condição crônica e dinâmica, o sinal clínico desse desequilíbrio será a lesão de cárie (ABOU NEEL *et al.*, 2016; CAUFIELD; LI; DASANAYAKE, 2005; FEJERSKOV; NYVAD; KIDD, 2017; INNES *et al.*, 2016; FEATHERSTONE, 2004).

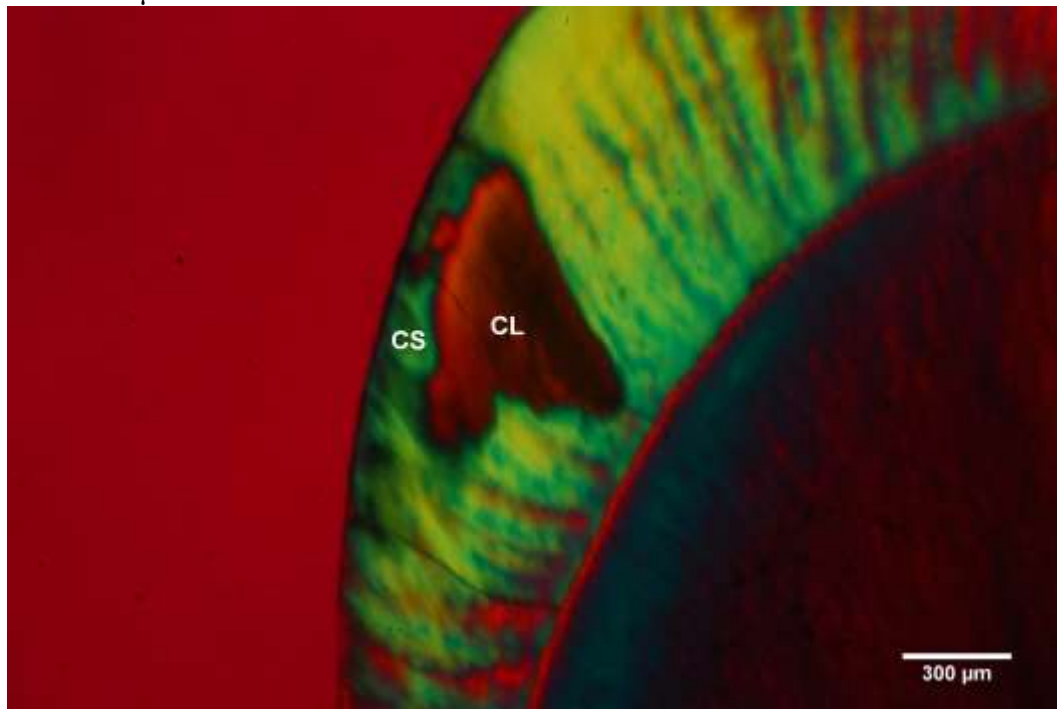
A desmineralização da camada subsuperficial do esmalte é denominada lesão de mancha branca, também conhecida como lesões de cárie incipientes (BERGMAN; LIND, 1966). A superfície do esmalte apresenta ondulações minúsculas que coincidem com as estrias incrementais de Retzius, esta superfície possui poros que se comunicam com os espaços existentes entre os cristais que compõem os prismas de esmalte. Nestes espaços circula o líquido que hidrata os cristais e transporta os íons da superfície do esmalte para o interior do mesmo (ESBERARD *et al.*, 2004). Sendo assim, os ácidos que se acumulam entre o biofilme e o esmalte infiltram nos poros e alcançam os espaços intercristalinos, tendo início a desmineralização dos cristais. À medida que o tempo passa, os ácidos continuam sua ação e os espaços intercristalinos aumentam em volume no esmalte (FEJERSKOV; NYVAD; KIDD, 2017; FRANK, 1965).

A presença da lesão de mancha branca na superfície dentária indica que os cristais na subsuperfície tiveram seu volume reduzido e os espaços ou poros intercristalinos aumentados, ocasionando a diminuição da translucidez e o aumento da opacidade (SILVA; LUND, 2016; BERGMAN; LIND, 1966). Variações nos índices de refração permitem que o resultado óptico visual do dente seja alterado na presença de umidade, ou seja, em condições de umidade a água permanece nos poros intercristalinos resultando em um dente visualizado em coloração normal, visto que os índices de refração são próximos, índices de refração da água (1,33), do ar (1,0) e do esmalte (hidroxiapatita: 1,62), porém após a secagem do dente com jatos de ar, muda-se o índice de refração pela redução da água, tornando visível o processo de desmineralização (SILVA; LUND, 2016). Se empregados os métodos adequados, estas lesões de cárie incipientes podem ser interrompidas ou revertidas e apesar do desenvolvimento de novas tecnologias para a detecção precoce de lesões de cárie, se não tratadas, as lesões de mancha branca podem progredir até cavitações de esmalte (URQUHART *et al.*, 2018).

A lesão de mancha branca (LMB) na Microscopia de Luz Polarizada (MLP) pode ser dividida em quatro zonas histopatológicas (Figura 1) relacionadas com a porosidade da lesão de cárie (DARLING, 1958; DARLING, 1961). São estas:

- Zona translúcida: camada mais profunda da lesão, onde se observa a primeira mudança visível no esmalte cariado, apresentando uma perda de ~ 1% de volume mineral e poros relativamente grandes;
- Zona escura: fica adjacente à zona translúcida, apresentando uma mistura de poros grandes e pequenos, sendo o volume de poros de 2-4%;
- Corpo da lesão: zona com maior perda mineral, apresentando volume de poros de 25-50%, a grande maioria constituída de poros de grandes dimensões.
- Camada superficial: é a camada mais externa da lesão, apresentando volume de poros menor que 5%. Quando imersa em água, apresenta birrefringência negativa, idêntica ao esmalte normal, sendo descrita como uma zona relativamente “intacta”. Esta camada persiste até a cavitação (DARLING, 1961; SILVERSTONE, 1968; MARGOLIS *et al.*, 1999).

Figura 1 - Corte por desgaste de LMB em MLP (com filtro de retardo vermelho de 540 nm) imerso em água, onde se pode observar a camada superficial (CS) e o corpo da lesão (CL), a zona escura e a zona translúcida só podem ser observadas imersas em quinolina. Barra = 300µm



Fonte: Elaborada pelo autor, 2020

O tratamento das lesões iniciais (a lesão cariada de esmalte) é um problema de grande relevância para a saúde pública e, especialmente, para a saúde bucal, sendo necessária uma melhor abordagem para prevenção e terapia (FEATHERSTONE, 2000; BATCHELOR; SHEIHAM, 2002; PETERSEN *et al.*, 2005; SELWITZ; ISMAIL; PITTS, 2007;

URQUHART *et al.*, 2018). Portanto, a detecção precoce, o diagnóstico e o uso de tratamentos não restauradores eficazes são cruciais para o manejo de lesões cariosas não cavitadas (ZHAN, 2018).

1.2 Considerações sobre o esmalte

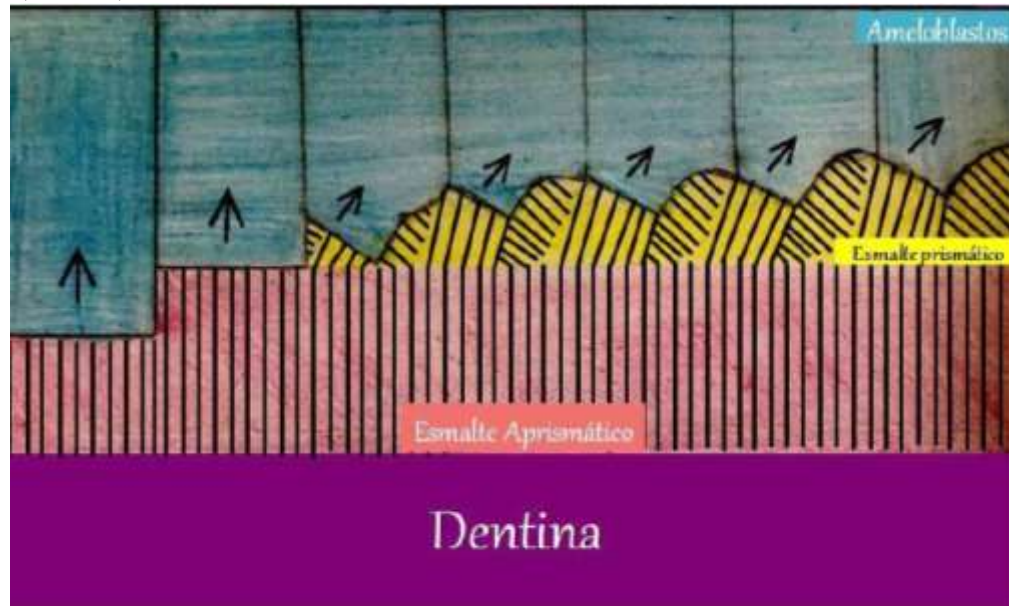
1.2.1 Estrutura do esmalte dental e composição mineral

Diferente dos outros tecidos mineralizados que possuem origem conjuntiva, o esmalte origina-se do ectoderma e é o tecido que recobre toda a coroa do elemento dental. Os ameloblastos são as células responsáveis por sua formação através de um processo biológico complexo, porém bem coordenado e que envolve as fases de secreção e maturação (KATCHUBURIA; ARANA, 2017; MOFFATT *et al.*, 2008; PARK *et al.*, 2007; TEN CATE, 2019;).

Na fase de secreção, um esmalte parcialmente mineralizado é formado através de proteínas e matriz orgânica e os ameloblastos sintetizam e secretam proteínas da matriz do esmalte, tais como amelogenina, que compreendem cerca de 90% da matriz orgânica (BROOKES *et al.*, 1995), e os outros 10% são representados por ameloblastina e enamulina; e da enzima enamelisina, também chamada MMP-20 (PARK *et al.*, 2007; MOFFATT *et al.*, 2008). Na fase de maturação, ocorre a completa mineralização do tecido, logo após a deposição total da matriz orgânica (KATCHUBURIA; ARANA, 2017; TEN CATE, 2019).

A primeira camada de esmalte é aprismática e possui cerca de 30 micrômetros de espessura. Após ser depositada, a formação dos prismas de esmalte é guiada pelos processos de Tomes, que são projeções cônicas formadas quando os ameloblastos tomarem uma direção no sentido centrífugo a polpa, ou seja, de se afastarem da dentina. As zonas adjacentes aos prismas são as regiões interprismáticas, que completam a estrutura cristalina do esmalte dentário (Figura 2) (KATCHUBURIA; ARANA, 2017).

Figura 2 – Ilustração do início da formação do esmalte, observamos o processo de Tomes, que mudam a direção da sua movimentação (setas) e iniciam a formação do esmalte prismático. Gentilmente cedida por Eugênia Livia de Andrade Dantas adaptada de Katchuburia; Arana, 2017.

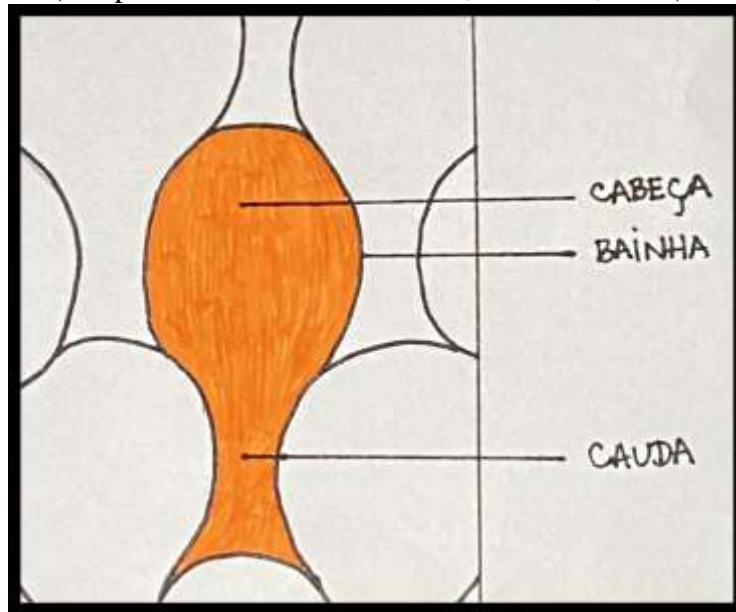


Fonte: Elaborada pelo autor, 2020

O componente mineral do esmalte encontra-se na forma de cristais alongados de hidroxiapatita que, em sua maioria, percorrem toda a espessura do esmalte (desde a junção com a dentina até a sua superfície). Esses cristais são compactados em colunas definidas como prismas e separadas por esmalte interprismático (KEREBEL; DACULSI; KEREBEL, 1979; HE; SWAIN, 2009). Tafforeau, Zermeno e Smith (2012) descreveram os trajetos dos prismas através de uma análise estrutural tridimensional, dessa forma grupos de prismas compactados densamente afastam-se da junção amelodentinária (JAD) com uma trajetória sinusoidal até aproximadamente a metade da espessura do esmalte e em seguida adotam uma trajetória linear, divergindo entre si ao se aproximarem da superfície do esmalte.

Os prismas estão dispostos em três partes: corpo, cauda e junção dos prismas, quando em cortes transversais (Figura 3). No corpo dos prismas são encontrados os menores poros, a maioria com diâmetros de 2-3 nm, os cristais estão dispostos densamente, paralelos entre si e ao longo do eixo do prisma (SHELLIS; DIBDIN, 2000).

Figura 3 – Esquema mostrando corte transversal do esmalte ao longo eixo dos prismas mostrando as suas partes (Adaptado de KATCHUBURIA; ARANA, 2017).



Fonte: Elaborada pelo autor, 2020

Na região da cauda dos prismas ocorre um aumento do tamanho dos poros que pode ser evidenciado pela variação na angulação dos cristais, não havendo medição deles. Nesta região o longo eixo dos cristais diverge em 15-45° do longo eixo daqueles no centro do prisma (HE; SWAIN, 2009; HE *et al.*, 2013).

Na região de junção dos prismas pode-se observar o encontro dos cristais da cauda de um prisma com os cristais do corpo de outro prisma (HE *et al.*, 2013). Uma característica desta região é possuir um menor comprimento dos cristais quando comparado àqueles no corpo dos prismas, pois sua extensão termina quando encontram o corpo de um prisma adjacente. Além disso, observa-se quantidades de água e matéria orgânica em decorrência de seus cristais estarem menos compactados, levando ao surgimento dos maiores poros do esmalte (MORENO; ZAHRADNIK, 1973; ZAHRADNIK; MORENO, 1975).

A bainha dos prismas é composta por poros maiores de 4-6nm que envolvem parcialmente cada prisma, são consideradas as principais vias de transporte no esmalte dental (SHELLIS; DIBDIN, 2000). Em um corte transversal, as bainhas seguem a trajetória dos prismas, mas não se ligam lateralmente (ORAMS *et al.*, 1974; ZAHRADNIK; MORENO, 1975). Delimitado lateralmente por duas bainhas, há um conjunto de cristalitos curtos, de espessura e largura iguais àqueles do esmalte prismático, que compõem o esmalte interprismático (ORAMS *et al.*, 1974; ZAHRADNIK; MORENO, 1975; KEREBEL; DACULSI; KEREBEL, 1979).

A natureza do esmalte dental é complexa e apresenta-se como um sólido poroso, composto por cristais minerais de hidroxiapatita semelhantes, longos e finos rodeados por uma matriz de água e matéria orgânica (ZHRADNIK; MORENO, 1975; NARVAI; CASTELLANOS; FRAZAO, 2000). Cada dente possui a sua composição específica, mostrando a heterogeneidade dos constituintes do esmalte, variando com o tipo de dentição, localização interna no dente e entre o centro e a periferia do mesmo prisma (EINSPAHR; BUGG, 1984). O conhecimento do arranjo estrutural e químico do esmalte dentário leva a compreensão dos mecanismos de transporte de substâncias (YING; CHUAH; HSU, 2004).

O principal constituinte inorgânico do esmalte é o fosfato de cálcio na forma de cristais de hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$), porém durante a amelogênese outros componentes inorgânicos podem ser incorporados à estrutura da apatita em menores concentrações, tais como potássio, cloreto, carbonato, sódio, magnésio, entre outros (ELLIOTT, 1997; HE; SWAIN, 2009).

Por meio de análises bioquímicas, estudos têm proposto uma fórmula para a célula unitária da apatita do esmalte humano normal (BUONOCORE, 1955; AOBA; MORENO, 1992; COHEN, 1992). No estudo de Angmar, Carlstrom e Glas (1963), radiomicrografias foram quantificadas com a finalidade de verificar o padrão de mineralização de dentes permanentes humanos, considerando a densidade para célula unitária da apatita de $3,15\text{g/cm}^{-3}$, resultou numa estimativa média de volume mineral em 86,2% e na suave diminuição do conteúdo mineral do esmalte da superfície para a JAD. Mas em contrapartida, Elliott (1997) propôs para a apatita a fórmula $\text{Ca}_{8,856}\text{Mg}_{0,088}\text{Na}_{0,292}\text{K}_{0,010}(\text{PO}_4)_{5,312}(\text{HPO}_4)_{0,280}(\text{CO}_3)_{0,407}(\text{OH})_{0,702}\text{Cl}_{0,078}(\text{CO}_3)_{0,050}$, utilizou a densidade de $2,99\text{g/cm}^{-3}$ e incluiu a água estrutural e estimou o volume mineral com média em 92%, sendo maior que o valor normalmente encontrado.

Através da correção dos valores encontrados por Angmar, Carlstrom e Glas (1963), Sousa, Vianna e Santos-Magalhães (2006) obtiveram para o esmalte dental maduro valores que variaram de 88,16 a 97,71%, com média de 92% de volume mineral, aplicando a densidade proposta por Elliot (1997) para a apatita. Medeiros, Lima, Gouveia e Sousa (2013) encontraram um valor médio para volume mineral de 92,67% ($\pm 0,16\%$) e utilizaram uma densidade de $2,99\text{g/cm}^{-3}$ para a apatita.

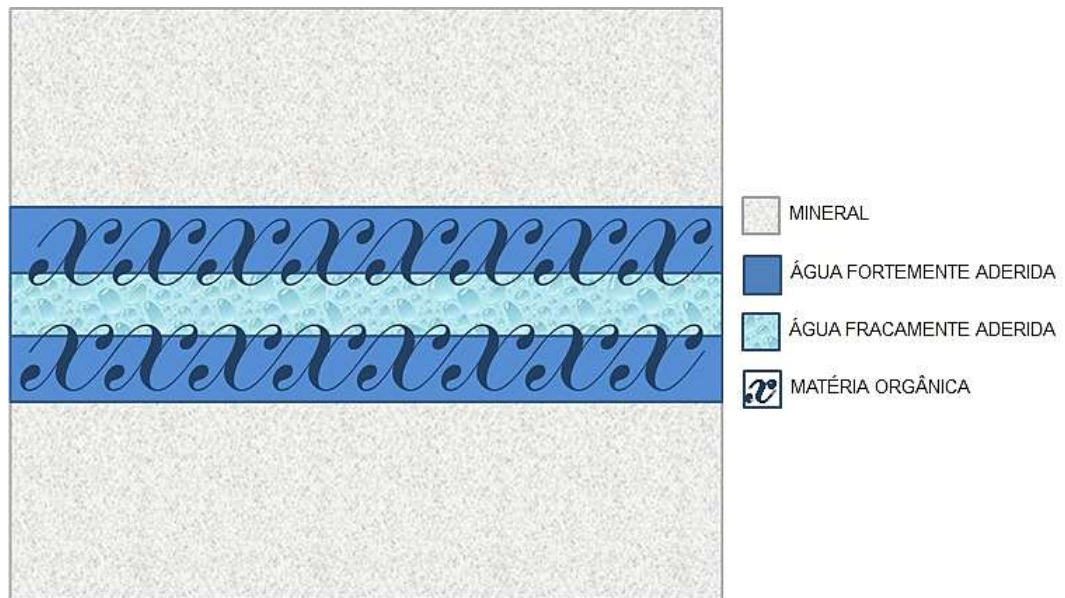
1.2.2 Composição orgânica e aquosa

O conteúdo orgânico do esmalte desempenha um papel importante no controle do processo de difusão, ocupa principalmente os espaços interprismáticos, contornando os cristais de apatita. A interação da matéria orgânica com estes cristais melhora suas propriedades mecânicas, aumentando sua resistência (LINDEN, 1968; SAKAE; SUZUKI; KOZAWA, 1997; HE; SWAIN, 2009; HE *et al.*, 2013). É composto principalmente por amelogenina (ROBINSON; WEATHERELL; HALLSWORTH, 1971; HE; SWAIN, 2009) e uma menor quantidade de lipídeos, que representam uma porcentagem bem pequena do peso do esmalte (EASTOE, 1960; SIMMER; HU, 2001).

Robinson, Weatherell e Hallsworth (1971) estudaram o volume de matéria orgânica presente no esmalte por meio de análises químicas por espectrometria, obtendo valores entre 0,7% e 4,8%. Sousa, Vianna e Santos-Magalhães (2006), através da quantificação dos volumes do conteúdo orgânico do esmalte pela interpretação dos valores de birrefringência observada (BRobs) em MLP, obtiveram valores que variaram entre 0,1 e 4,4%. E Medeiros, Lima, Gouveia e Sousa (2013) a partir de análises em microradiografias, obtiveram 2,06% de volume orgânico no esmalte, com desvio padrão de $\pm 0,18\%$.

Além da matéria orgânica, os cristais de hidroxiapatita encontram-se rodeados por uma matriz de água (MORENO; ZAHRADNIK, 1973; ZAHRADNIK; MORENO, 1975), que se apresentam sob duas formas, na forma de água estrutural, fazendo parte da composição da célula unitária da hidroxiapatita e na forma de água adsorvida, ou livre, presente no interior dos poros do esmalte. Subdividindo-se de acordo com a facilidade de remoção em fortemente aderida, sendo encontrada em maior quantidade e formando uma camada de hidratação ao redor dos cristais de apatita (LITTLE; CUETO; ROWLEY, 1962; LEGEROS; BONEL; LEGROS, 1978; ELLIOTT, 1997; SAKAE; SUZUKI; KOZAWA, 1997; SOUSA; VIANNA; SANTOS-MAGALHÃES, 2009) e fracamente aderida, sendo encontrada no interior dos poros e ligada à estrutura da bainha, influenciando as propriedades de permeabilidade e condutividade iônica do esmalte (BURNETT; ZENEWITZ, 1958; DIBDIN, 1993; SAKAE; SUZUKI; KOZAWA, 1997; SOUSA; VIANNA; SANTOS-MAGALHÃES, 2006) (Figura 4).

Figura 4 - Modelo provável da distribuição espacial dos volumes de água e matéria orgânica nos poros do esmalte (Pires, 2016).



Fonte: Elaborada pelo autor, 2020

Algumas técnicas podem ser utilizadas para quantificação do conteúdo de água no esmalte dental, como microradiografias, perda de peso durante secagem, luz polarizada, análise termogravimétrica, ressonância magnética e métodos de sorção de água (BURNETT; ZENEWITZ, 1958; LITTLE; CUETO; ROWLEY, 1962; ANGMAR; CARLSTROM; GLAS, 1963; MORENO; ZAHRADNIK, 1973; DE MUNCK, 2005; SOUSA; VIANNA; SANTOS-MAGALHÃES, 2006; MEDEIROS *et al.*, 2013). A água fortemente aderida possui relação com o teor mineral e a água fracamente aderida está relacionada ao conteúdo orgânico, porém existem dificuldades para se quantificar o total de água no esmalte e sua distribuição entre a fase mineral e a orgânica (LITTLE; CUETO; ROWLEY, 1962; ANGMAR; CARLSTROM; GLAS, 1963; CARLSTROM; GLAS; ANGMAR, 1963; ANGMAR-MANSSON, 1971; ELLIOT, 1997; SOUSA; VIANNA; SANTOS-MAGALHÃES, 2006).

Burnett e Zenewitz (1958) estudando a quantificação da perda de peso após secagem do esmalte obtiveram o conteúdo de água no esmalte de aproximadamente 2,2% em peso (~6% em volume). Angmar, Carlstrom e Glas (1963) e Carlstrom, Glas e Angmar (1963), baseados na Birrefringência observada (BRObs), através de MLP e radiomicrografia respectivamente, estimaram um volume de água livre de 12% no esmalte. Sousa, Vianna e Santos-Magalhães (2006) considerando a densidade de $2,99 \text{ gcm}^{-3}$ para a apatita do esmalte, relataram uma variação entre 5,5% e 7,5% de volume de água para o esmalte dental maduro. Medeiros, Lima, Gouveia e Sousa (2013), utilizando a mesma densidade, obtiveram valores para volume de água no esmalte de 5,27% (Desvio Padrão de $\pm 0,11\%$). Outros estudos

mostram que variam de acordo com a região do esmalte, havendo uma maior quantidade de água à medida que se aproxima da JAD (ZAHRADNIK; MORENO, 1975; DIBDIN; POOLE, 1982; MEDEIROS *et al.*, 2013).

No estudo de Barbosa de Sousa *et al.* (2013) foi demonstrado que a proporção de volume de poros preenchido por matéria orgânica é alta (aproximadamente 70% na camada superficial e 50% no corpo da lesão) em lesões de cárie em esmalte naturais. Porém devido à inclusão de lesões de cárie de idade desconhecida, não se sabe se a diferença no volume de água e no volume de poros foi um resultado de diferentes quantidades de matéria orgânica no ambiente externo ou no tempo de indução de cárie.

Ferreira *et al.* (2018) mostrou que a quantidade de matéria orgânica disponível no agente cariogênico durante a formação de cárie influencia os volumes de componentes de uma lesão de esmalte subsuperficial, com implicações importantes na remineralização e na infiltração de cárie.

Entretanto, observam-se lacunas quando se refere a dados relativos aos volumes bioquímicos dos constituintes do esmalte, possivelmente devido à dificuldade para realizar a mensuração de cada componente. Sendo a quantificação da Birrefringência observada (BRObs), através da MLP um dos métodos mais viáveis (SOUSA; VIANNA; SANTOS-MAGALHÃES, 2006).

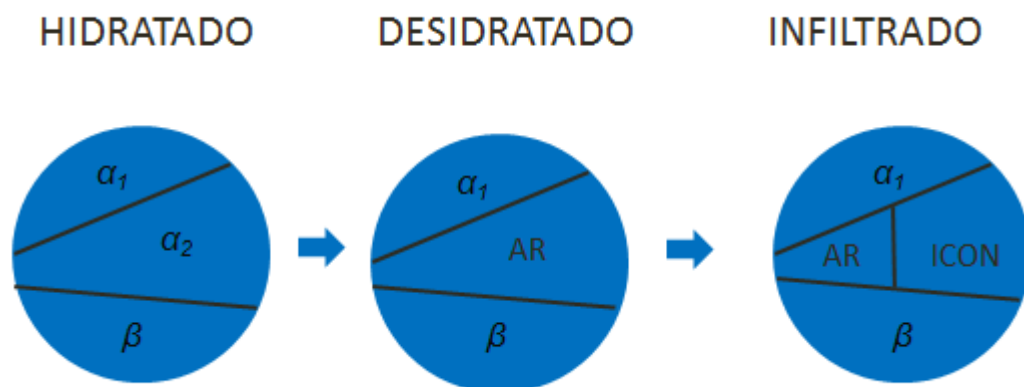
1.2.3 Porosidade e permeabilidade do esmalte dental

O transporte de materiais através dos poros interprismáticos e intraprisimáticos é possível pois estes formam um sistema microscópico de túbulos interligados (ORAMS *et al.*, 1974), modulado pela variação no diâmetro de seus poros, tornando o esmalte permeável a algumas moléculas e a outras não (ATKINSON, 1947; DE MUNCK *et al.*, 2005). Devido ao diâmetro reduzido dos poros do esmalte, a difusão é o principal processo de transporte (SHELLIS; DIBDIN, 2000). A pressão osmótica é influenciada pela maior concentração de matéria orgânica existente na camada mais interna do esmalte, fazendo que a difusão ocorra nesse sentido (DIBDIN, 1993).

Dibdin (1993) relata que há dois tipos de distribuição nas vias de difusão do esmalte influenciadas pelo tamanho dos poros, uma rápida, no limite de prismas, onde são encontrados os poros maiores, e uma lenta, possivelmente dentro dos corpos dos prismas onde os poros são menores e tornando restrita a mobilidade da água devido a forte interação com as paredes do poro, funcionando como uma barreira para difusão.

Um outro estudo, considerando a ocorrência de matéria orgânica, mostra que o volume infiltrado por líquido depende do tamanho dos poros e da proporção de água e matéria orgânica presente nestes poros (SOUSA; SOARES; VIANNA, 2013) (Figura 5). Nesse estudo foi proposto um parâmetro de permeabilidade (α_d) e visto que a medição pode ser realizada em qualquer zona histológica da lesão cariada de esmalte. Este parâmetro α_d é diretamente proporcional ao volume de água. Uma vez que o volume de água é, por sua vez, diretamente proporcional ao volume de ar após a desidratação a temperatura, é esperado que α_d possa ser um preditor do volume infiltrado por resina através de capilaridade.

Figura 5 - Modelo esquemático dos componentes no interior do poro do esmalte imerso em água, ar e após infiltração de resina infiltrante. Sendo α_1 a água firmemente aderida, α_2 a água fracamente aderida e β o volume orgânico (Pires, 2016).



Fonte: Elaborada pelo autor, 2020

A permeabilidade do esmalte sofre influência da idade do indivíduo (ZAHRADNIK; MORENO, 1975) e pode ser observada através do volume dos poros, desta forma em indivíduos mais jovens que possuem o diâmetro dos poros maior, a taxa de difusão é mais alta, e para indivíduos mais velhos ocorre uma diminuição na taxa de difusão, pela incorporação de íons aos cristais, reduzindo o tamanho do poro (TEN CATE, 2019). A permeabilidade também está relacionada aos processos de des/remineralização, ao desenvolvimento de lesão cariada (NEUHAUS *et al.*, 2013) e do uso do laser para prevenção e detecção de cárie (FERREIRA *et al.*, 1989; HSU *et al.*, 2000; MEDEIROS *et al.*, 2013).

1.3 Infiltrantes

A utilização de infiltrantes mostra-se como uma alternativa para controle da progressão das lesões de cárie em esmalte. O infiltrante contribui para reduzir a penetração dos ácidos provenientes das bactérias presentes no biofilme cariogênico, substituindo o ar no esmalte cariado desidratado, a penetração no interior dos poros ocorre por capilaridade e o processo de desmineralização pode ser interrompido, mesmo na presença de ácidos (CEDILLO VALENCIA; CEDILLO FELIX, 2012). Algumas características importantes podem ser citadas como baixa viscosidade, baixa tensão superficial e menor ângulo de contato com a superfície do esmalte (PARIS *et al.*, 2007).

A ação da capilaridade pode ser explicada pela equação de Washburn, que possui particular importância na infiltração de resinas fluidas no esmalte cariado quando desidratados (MEYER-LUCKEL; PARIS; EKSTRAND, 2013; WASHBURN, 1921):

$$x^2 = \left(\frac{\gamma \cdot \cos\phi}{2 \cdot \eta} \right) \cdot r \cdot t \quad (1)$$

Onde o deslocamento x^2 é igual ao produto do coeficiente de penetração (CP) pelo raio (r) e pelo tempo (t). O CP é dado pelo produto da tensão superficial com o cosseno do ângulo entre o material e a parede do capilar dividido por duas vezes a viscosidade (η).

Através do CP podemos caracterizar as resinas fluidas com potencial de uso como infiltrantes de lesão cariada. Sendo classificados como infiltrantes aquelas resinas fluidas com $CP > 50$ cm/s (MEYER-LUCKEL; PARIS; EKSTRAND, 2013).

Por não alterar a estrutura dentária, a infiltração apresenta-se como alternativa estética à microabrasão e ao tratamento restaurador para lesões iniciais. Dentes com manchas brancas, melhoram a aparência esbranquiçada assemelhando-se ao esmalte sadio além de influenciar na diminuição da progressão da lesão quando infiltrados (PARIS; MEYER-LUECKEL, 2009).

Darling (1958; 1961) deu grande contribuição para o entendimento da infiltração de lesões cariosas em esmalte por materiais com seus estudos. Realizou uma análise semiquantitativa dos volumes de poros e de seu tamanho na lesão cariada do esmalte. Em seu modelo de poro do esmalte, o poro era considerado completamente preenchido por um único componente, que aproximando as condições *in vivo*, este componente seria a água. Quando desidratado, o ar substitua toda a água no interior dos poros. E ao ser imerso em outro meio, este meio preenchia totalmente os poros (sendo interpretado como infiltração) ou não entrava nos poros. E através destes eventos eram obtidas interpretações sobre os diâmetros dos poros.

As estimativas de volumes de poros feitas por Darling não são absolutas. São apenas medidas relativas ao modelo matemático aplicado, que não inclui medida do volume mineral obtida experimental em laboratório. Os poros não são preenchidos apenas por água, como considerado. Como seu modelo era dependente do volume infiltrado por líquidos infiltrantes, toda variação no volume infiltrado era atribuída ao volume dos poros (DARLING, 1958; DARLING, 1961).

Após o trabalho pioneiro de Davila, Buonocore, Greeley e Provenza (1975) e Robinson, Hallsworth, Weatherell e Künzel (1976), vários estudos investigaram infiltração de lesões de cárie artificial iniciais (RODDA, 1983; ROBINSON *et al.*, 2001). Resinas com melhor coeficiente de penetração foram desenvolvidas e otimizadas para uma rápida penetração do corpo da lesão (MEYER-LUCKEL; PARIS, 2008; MEYER-LUECKEL; PARIS; EKSTRAND, 2013).

Sousa, Soares e Vianna (2013) mostraram que os poros do esmalte em lesões cariosas naturais são preenchidos por água e matéria orgânica. Desta forma, espera-se que o preenchimento dos poros seja parcial, pois a matéria orgânica não é removida pela desidratação à temperatura ambiente, competindo por espaço com a resina.

Robinson *et al.* (1976; 2001) relataram em seus estudos que os volumes de poros eram totalmente preenchidos por infiltrante, porém a sua metodologia não levava em consideração os volumes orgânico e de água firmemente aderida dos poros, resultando numa superestimação do volume preenchido por infiltrante (SIMOES MEIRA *et al.*, 2015; SOUSA *et al.*, 2017). Em um estudo mais recente com esmalte fluorótico observou-se que apenas uma pequena fração do volume dos poros é preenchida por infiltrante (SOUSA *et al.*, 2017).

Segundo Neuhaus, Schlafer, Lussi e Nyvad (2013), estudos envolvendo resinas infiltrantes no esmalte cariado baseiam-se na profundidade de penetração, porém medidas sobre o volume infiltrado são mais consistentes que medições de profundidade, por incluir uma quantidade maior de dados. Desta forma, a evidência de MLP e microscopia de varredura confocal a laser com uma resina infiltrante marcado com fluorescência (durante um tempo mais curto de infiltração, 5 minutos), verificou que a maior parte do volume de poros não foi infiltrada devido à falta de resina em algumas camadas ao longo de pilhas z dentro da lesão.

Neres *et al.* (2017) corroboram com os indícios de que os poros não são preenchidos completamente por infiltrante, pois relataram que a infiltração não protegeu a lesão cariosa de esmalte de sofrer progressão quando exposta ao desafio cariogênico (NEUHAUS *et al.*, 2013; SIMOES MEIRA *et al.*, 2015; SOUSA *et al.*, 2017). Estudos mostram que as zonas

histológicas mais profundas possuem uma maior dificuldade em eliminar o ar, dificultando a infiltração. Além disso, os poros das lesões naturais são mais susceptíveis de serem contaminados ou mesmo ocluídos por materiais orgânicos como proteínas salivares e restos alimentares (PARIS *et al.*, 2007; NEUHAUS *et al.*, 2013; SOUSA *et al.*, 2017).

Sousa *et al.* (2017) quantificaram os volumes dos constituintes no interior dos poros do esmalte após infiltração resinosa, mostrando que após a infiltração de resina, os poros encontravam-se preenchidos por uma combinação de matéria orgânica, água fortemente aderida, ar e resina. Concluíram que, antes da infiltração, o volume de água fracamente aderida foi de 15,17%. Após infiltração, o volume de resina no interior dos poros foi de 10,13%; e aproximadamente 5% de volume de ar, mostrando que não há garantia que a resina seja substituída totalmente a água fracamente aderida nas lesões de mancha branca pela competição com o ar.

Desta maneira, verifica-se a necessidade de entender o volume infiltrado no interior dos poros, pois grande parte dos estudos se baseia na área e profundidade da lesão, sendo necessária essa quantificação a fim de melhorar o resultado proposto pela resina infiltrante.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar se a composição da resina afeta no volume de poros ocluídos por infiltrante em lesões cariosas naturais de esmalte.

2.2 Específico

- Quantificar o volume infiltrado pela resina infiltrante Icon[®] a base de TEGDMA;
- Quantificar o volume infiltrado pela resina infiltrante experimental com TEGDMA 75% + BisEMA 25% (Grupo TB – composição hidrofóbica);
- Quantificar o volume infiltrado pela resina infiltrante experimental com TEGDMA 80% + HEMA 20% (Grupo TH – composição hidrofílica).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Considerações éticas

Os procedimentos para a realização desta pesquisa respeitaram as diretrizes e normas que regulamentam as pesquisas envolvendo seres humanos (Resolução número 466, de 12 de dezembro de 2012, do Conselho Nacional de Saúde). O trabalho foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual da Paraíba, sendo aprovado sob o número do parecer: 3.776.486 (Anexo A) e os participantes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndice 1).

3.2 Delineamento da pesquisa

Este estudo foi laboratorial, experimental, quantitativo, com análise descritiva e técnica de observação direta (LAKATOS; MARCONI, 2010).

3.3 Local de realização do estudo

As etapas do estudo foram realizadas no Laboratório de Microscopia e Imagem Biológica (LAMIB) do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba.

3.4 Cálculo amostral e definição dos grupos

Como não há dados prévios na literatura, o cálculo amostral levou em conta uma magnitude de efeito (G de Hedge) média de 0,5, nível de significância de 5% bicaudal e um poder de 80%, resultando em 64 amostra por grupo (COHEN, 1988).

Este cálculo foi feito para a diferença esperada entre os dois grupos mais díspares, que é uma estratégia aceitável para estudo com mais de dois grupos (COHEN, 1988). Com três grupos, o tamanho da amostra resultou em 192. Para calcular o número de dentes necessários por grupo, consideramos uma lesão cariiosa por dente e quatro pontos histológicos no corpo da lesão, dessa forma o número de dentes necessários foi: $192/3\text{grupos} = 64$, considerando 4 pontos histológicos, $64/4 = 16$ dentes por grupo.

Os grupos foram assim constituídos:

- Grupo Icon: amostras infiltradas com resina infiltrante comercial Icon® (DMG, Alemanha);
- Grupo TB: amostras infiltradas com resina infiltrante experimental com TEGDMA 75% + BisEMA 25%, que possui componentes hidrofóbicos;
- Grupo TH: amostras infiltradas com resina infiltrante experimental com TEGDMA 80% + HEMA 20%, que possui componentes hidrofílicos.

3.5 Características dos infiltrantes

Três tipos diferentes de infiltrantes foram testados neste estudo, dois experimentais que foram selecionados baseados nos melhores resultados obtidos por Nóbrega *et al.* (2020), confeccionadas no laboratório da Unian (Universidade Anhanguera), pela Professora doutora Roberta C. B. Alonso, e o outro um infiltrante comercial (Icon®, DMG, Alemanha). Os experimentais foram preparados com os seguintes monômeros comprados de Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA: dimetacrilato de trietilenoglicol (TEGDMA), bisfenol A etoxilado glicidil dimetacrilato (BisEMA), dimetacrilato de diuretano (UDMA), 2-hidroxietilmetacrilato (HEMA), canforquinona (fotoiniciador, 0,5% em peso;), amino metilmetacrilato (co-iniciador, 1% em peso) e hidroxitolueno butilado (inibidor; 0,1% em peso), como descrito por Araújo *et al.* (2013). Foram preparados os seguintes infiltrantes experimentais: TEGDMA 80% + HEMA 20% (TH); e TEGDMA 75% + BisEMA 25% (TB). Icon® é um infiltrante baseado em TEGDMA, iniciador – aditivos, de acordo com o fabricante.

3.6 Seleção dos dentes

Foram utilizados 51 elementos dentais humanos, sendo 17 por grupo, pré-molares ou molares da dentição permanente que possuíam área de esmalte com lesões cariosas proximais inativas não cavitadas. A metodologia a seguir foi baseada em Pires (2016).

Os elementos dentais tiveram as coberturas orgânicas removidas suavemente com uma bolinha de algodão embebida em solução de hipoclorito de sódio (1%) durante 30 segundos, em seguida foram enxaguados com o jato de água da seringa tríplice durante 10 segundos, e finalmente secos com o jato de ar por 10 segundos. Posteriormente, foram acondicionados em solução de azida sódica 0,02%.

As amostras foram selecionadas por um examinador, que realizou uma calibração intraexaminador em dois momentos diferentes, após 1 semana, através do Teste Kappa (>0,7),

para determinar a confiabilidade. E foram classificadas de acordo com a presença da lesão e sua respectiva atividade através de um escore pré-definido, sendo utilizados os escores 0, 1 e 4 conforme Quadro 1 (NYVAD; BAELUM, 2018; NYVAD; MACHIULSKIENE; BAELUM, 1999). Foram avaliados 50 dentes para esta etapa. Como resultado, após análise de todas as amostras, foi encontrado a concordância intraexaminador de 0,8218.

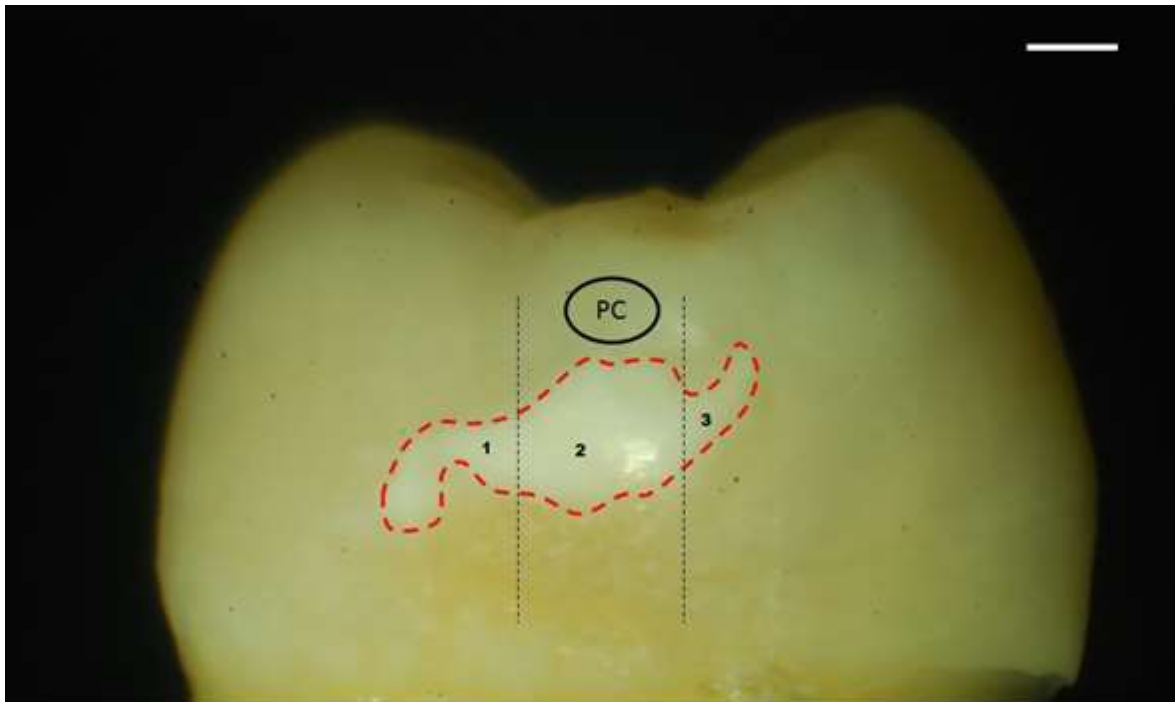
Quadro 1 - Critério Nyvad (NYVAD; MACHIULSKIENE; BAELUM, 1999).

ESCORE	CATEGORIA
0	Hígida
1	Lesão ativa superfície intacta
2	Lesão ativa superfície descontínua
3	Lesão cavitada ativa
4	Lesão inativa superfície intacta
5	Lesão Inativa superfície descontínua
6	Lesão cavitada inativa
7	Restauração com superfície hígida
8	Restauração com lesão ativa cavitada ou não
9	Restauração com lesão inativa cavitada ou não

Fonte: Elaborada pelo autor, 2020

Após a calibração, o dente foi avaliado em estereomicroscópio, verificando as duas faces proximais. Levando-se em consideração o ponto de contato, cada face foi dividida em 3 regiões, sendo uma mais próxima a face vestibular, uma imediatamente abaixo do ponto de contato, e a última aproximando-se da face lingual/palatina. Avaliando a presença de manchas brancas e o brilho da superfície através de uma fonte de iluminação externa, as regiões foram classificadas em: hígida, lesão ativa, inativa ou cavitada. As amostras com lesão proximal inativa foram selecionadas para corte (Figura 6).

Figura 6 – Lesão de cárie inativa vista em estériomicroscópio sob luz refletida. Barra de escala:1mm (Autoria própria).



Fonte: Elaborada pelo autor,2020

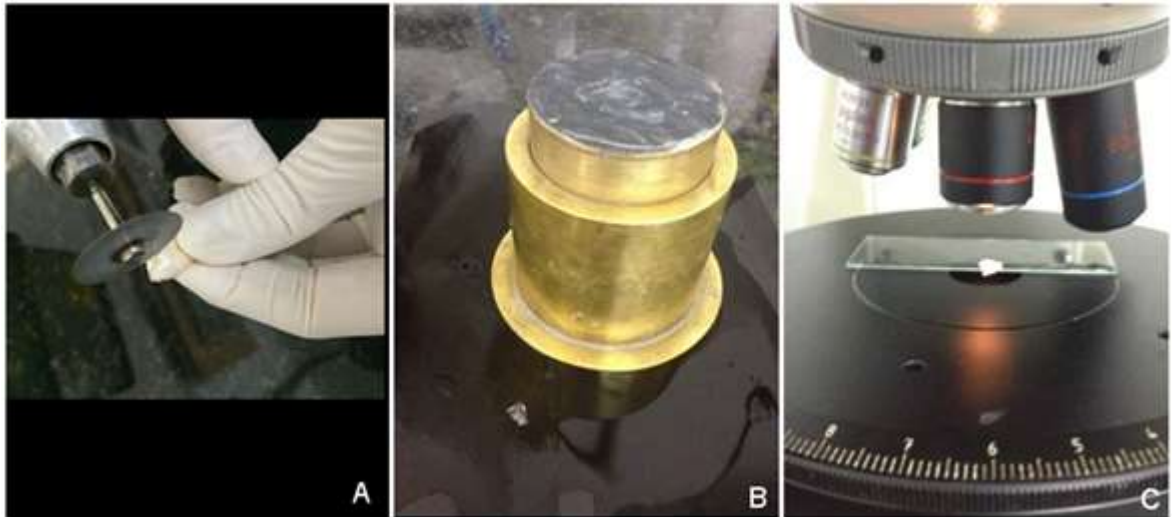
Estes dentes foram obtidos por doação de pacientes e as doações foram realizadas após o paciente ser esclarecido sobre os objetivos do estudo e este ter assinado um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Os dentes doados foram extraídos por razões de saúde identificadas pelo cirurgião-dentista responsável, não havendo dano ao paciente.

3.7 Preparo dos cortes por desgaste

Com um disco diamantado sob refrigeração foi obtido de cada elemento dental uma secção longitudinal da coroa dental, a partir da região central da lesão. As secções foram reduzidas, por desgaste, através de um jig de lapidação, com lixas d'água de granulações decrescente (300-1200), até uma espessura de aproximadamente 100 μm .

A verificação da espessura da amostra foi realizada através do posicionamento perpendicular a lâmina em um microscópio óptico com objetiva de 20x (Figura 7). Em seguida uma reticula também foi fotografada (Nikon D80, Japão) nas mesmas condições e com o freeware de análise de imagens Image J (Image J, NIH, USA) foi estabelecida uma relação pixel-micrômetro (μm).

Figura 7 – Elemento dentário cortado com disco diamantado (A). Jig de lapidação (B). Verificação da espessura em microscópio óptico (C) (Autoria própria).

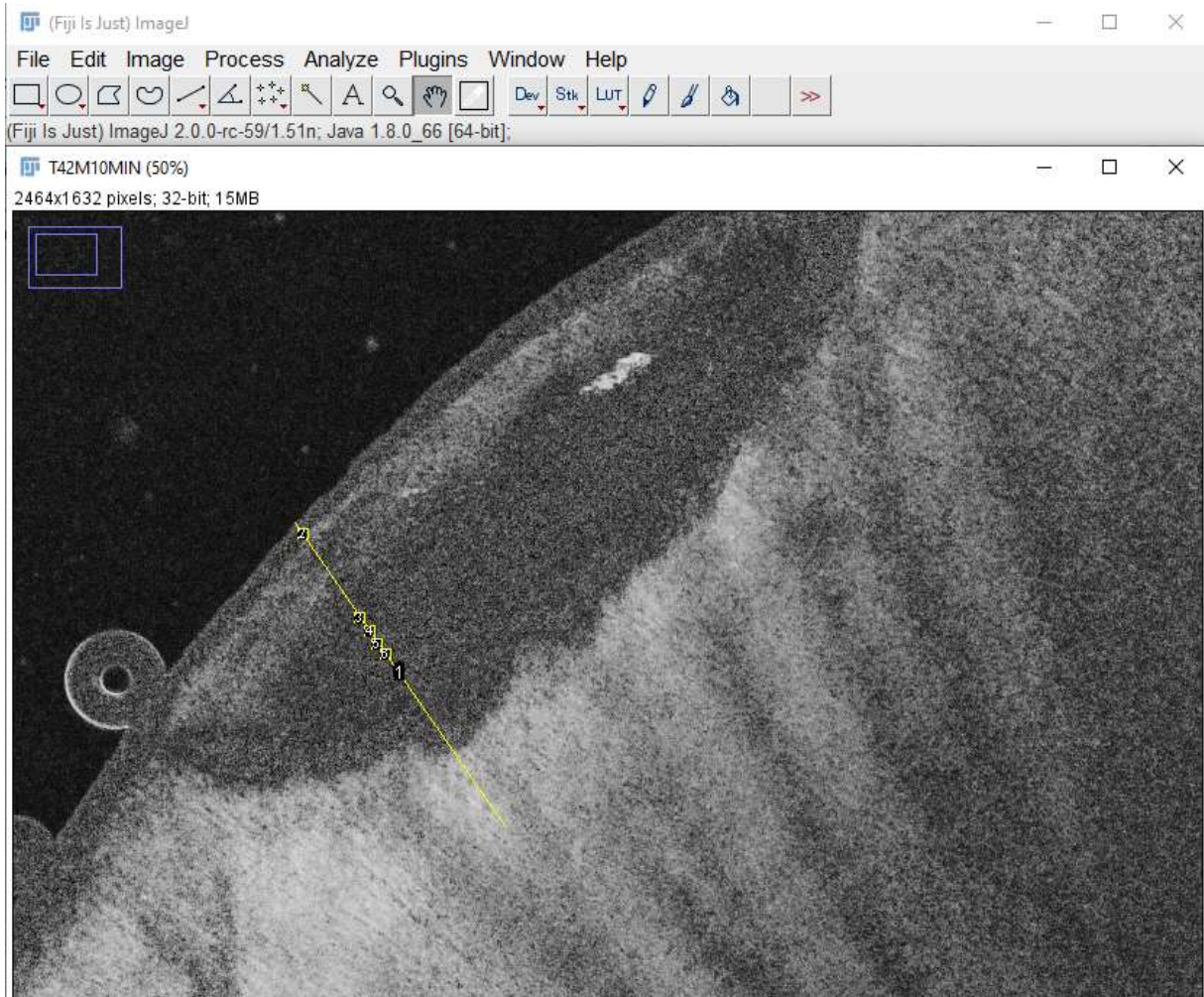


Fonte: Elaborada pelo autor,2020

A amostra foi visualizada em estereomicroscópio e uma transversal foi traçada em toda a espessura do esmalte, seguindo a orientação dos prismas, para quantificação dos volumes bioquímicos.

A análise foi realizada em diferentes pontos histológicos, 01 localizado na camada superficial e 04 no centro do corpo da lesão, localizados ao longo de uma linha transversal central, distantes a intervalos de 20 μm da superfície da superfície. Em cada ponto, foi calculada a média dos valores contidos dentro de uma área demarcada de 15x15 μm (Figura 8).

Figura 8 – Análise de pontos histológicos ao longo de uma linha transversal visualizada no *software* Image J.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2020

3.8 Análise de conteúdo mineral

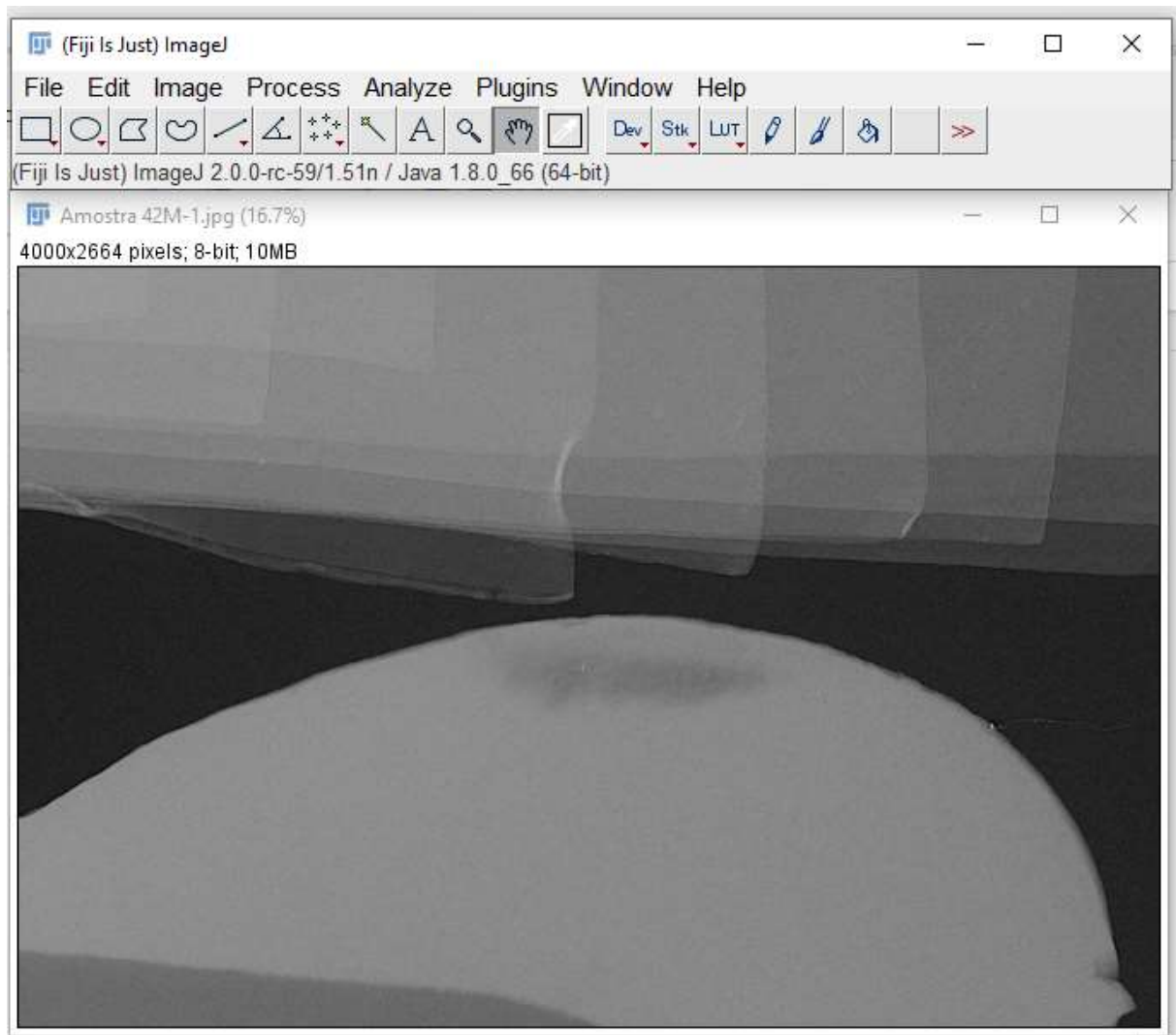
O conteúdo mineral foi determinado através de análises de radiomicrografia digital utilizando a Microtomografia computadorizada (Micro-CT) (Skyscan 1172, Bruker, Kontich, Bélgica). Anteriormente à aquisição da imagem de cada amostra foi realizado um flat-field correction do aparelho, padronizando a intensidade média de raio-x (av) de 90%. Os parâmetros usados na realização das radiomicrografias foram baseados na metodologia de De Andrade (2020), pixel de 0,94 μm , matriz de pixels de tamanho pequeno (small camera pixels), não foi utilizado nenhum filtro adicional (No filter), resultando em 60 kV (pico de energia de 10 keV) e 167 μA .

As amostras foram radiomicrografadas juntamente com uma escala de alumínio alta pureza (99%) (10 folhas de dimensões de 2 mm por 15 mm com 20 μm de espessura cada,

formando uma escala em batentes com espessuras entre 20 e 200 μm) e as imagens foram arquivadas em formato digital.

Através do software Image J[®] (ABRAMOFF; MAGALHÃES; RAM, 2004) a média dos valores dos níveis de cinza (interpretados como a densidade óptica média) de cada uma das 10 referências de alumínio e dos pontos histológicos de interesse nas secções de esmalte foram determinados (Figura 9). Uma correlação matemática entre densidade óptica média e espessura do alumínio foi determinada por um polinômio de quarta ordem. A partir desta correlação matemática, foi possível determinar à qual espessura de alumínio correspondente a densidade óptica de cada ponto histológico analisado.

Figura 9 – Imagem de radiomicrografia digital obtida em Micro-CT, em que se observa a amostra e o padrão de alumínio visualizada no *software* Image J.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2020

O volume mineral (%) foi determinado usando a fórmula de Angmar; Carlstrom; Glas (1963):

$$V = \frac{\mu_{Al} \cdot t_{Al}}{\mu_m \cdot t_s} \cdot 100 \quad (2)$$

Onde o coeficiente de absorção linear do alumínio (μ_{Al}) é 109,210 e o coeficiente de absorção linear do conteúdo mineral (μ_m) é 205,042². t_{Al} é a espessura da placa de alumínio que apresenta a mesma densidade óptica do ponto histológico analisado na amostra e t_s é a espessura da amostra.

Já foi relatado que o volume mineral determinado a partir dos níveis de cinza por software tem uma boa concordância com o volume mineral determinado pela densidade óptica obtida por densitômetro (LAGERWEIJ; JOSSELIN DE LONG; TEN CATE, 1994).

Para o cálculo do coeficiente de absorção linear do conteúdo mineral (μ_m), foi considerada a seguinte fórmula para a célula unitária da hidroxiapatita: $Ca_{8.856}Mg_{0.088}Na_{0.292}K_{0.010}(PO_4)_{5.312}(HPO_4)_{0.280}(CO_3)_{0.407}(OH)_{0.702}Cl_{0.078}(CO_3)_{0.050}$, possuindo a hidroxiapatita então uma densidade é de 2.99g/cm⁻³.

3.9 Análises dos conteúdos de matéria orgânica e água

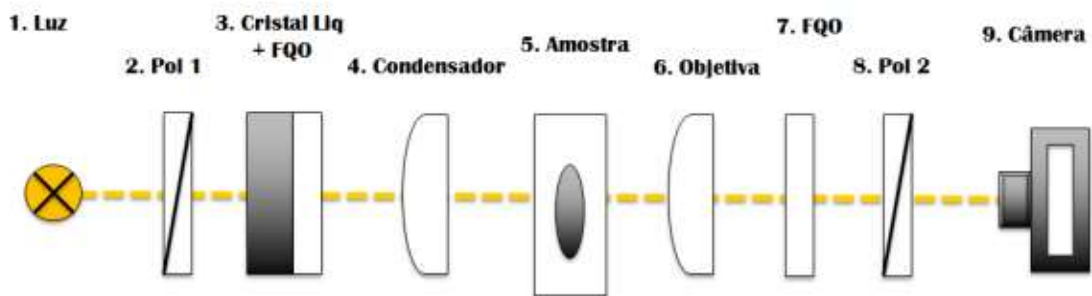
As amostras de esmalte dental tiveram a sua birrefringência quantificada através do Sistema “Single Polscope” (MEIRA *et al.*, 2015; SOUSA *et al.*, 2017), sob condições constantes de umidade relativa do ar (50%) e temperatura (25 ° C), nos seguintes meios:

- água destilada, após imersão por 24h;
- ar, após desidratação a temperatura ambiente (25° C e 50% de umidade relativa do ar) por 48 h;
- infiltração da resina infiltrante Icon[®] (DMG, Alemanha).;
- infiltração da resina infiltrante experimental com TEGDMA 75% + BisEMA 25% (TB);
- infiltração da resina infiltrante experimental com TEGDMA 80% + HEMA 20% (TH).

A “single polscope” é a técnica de microscopia de luz polarizada que usa apenas um cristal líquido independente da orientação da amostra. Os componentes deste sistema são: dois polarizadores, dois filtros de retardo de fase de um quarto de lambda e um filtro monocromático verde. A sequência dos itens, a partir da saída de luz da base do microscópio até a ocular e obedecendo as especificações usadas neste projeto é o seguinte: filtro verde de interferência de 546 nm (largura de banda de 10nm; Edmund Optics, EUA), primeiro

polarizador, cristal líquido coberto por filtro de um quarto de lambda acromático para 545nm (liquid crystal polarization rotator, Meadowlark, EUA), amostra, segundo polarizador e o segundo filtro de retardo de um quarto de lambda acromático para 545nm (Meadowlark, EUA). Esses itens foram montados em um microscópio óptico composto vertical de luz transmitida (modelo BA310Pol, Motic, Canadá). Foi acoplado um gerador de funções (modelo AFG 2021 – BR, Tektronix, EUA) através de um cabo elétrico para aplicar tensão e permitir rotação do eixo de polarização da luz. Para completar o sistema, uma câmera digital (Nikon D7000, Japão), no modo monocromático, foi acoplada ao microscópio, as imagens foram obtidas com objetiva de 5x plana, de tubo infinito, fluorida e de luz polarizada (Carl Zeiss, Alemanha) (Figura 10).

Figura 10 - Ilustração esquemática da disposição do sistema “single polscope” montado em microscópio de luz polarizada. A luz (1) passa pelo primeiro polarizador (2), em seguida pelo cristal líquido coberto por um filtro de retardo de $\frac{1}{4}$ de lambda acromático para 545 nm (FQO) (3), pelo condensador (4), pela amostra (5), pela objetiva (6), pelo segundo filtro de retardo de um quarto de lambda acromático para 545 nm (FQO) (7), pelo segundo polarizador (8) chegando até a câmera fotográfica digital, onde imagem é registrada (Maciel, 2014).



Fonte: Elaborada pelo autor, 2020

Para o arranjo inicial padrão, os dois polarizadores e o eixo lento do cristal líquido ficam paralelos entre si e os dois filtros de um quarto de lambda ficam paralelos entre si e a 45 graus dos polarizadores. O ângulo beta (SHIRBAK, 2011), assim como é conhecido, é o ângulo formado entre o primeiro polarizador e o eixo lento do primeiro filtro de um quarto de lambda, podendo variar de 0 a 90 graus, determina o retardo de fase máximo mensurável (dado pela razão entre o comprimento de onda de luz usado e o ângulo máximo, 180 graus, entre o eixo lento do cristal líquido e um dos polarizadores) pelo sistema. O ângulo máximo entre o eixo lento do cristal líquido e um dos polarizadores capazes de permitir medida do retardo de fase neste sistema é de 90 graus, de modo que o retardo de fase máximo

mensurável pelo single polscope é de metade de um comprimento de onda (273nm). Para este projeto, será calculado um ângulo beta que permita medir um retardo de fase máximo de 265nm. A birrefringência observada (BR_{obs}) é dada pela divisão do retardo de fase pela espessura da amostra (em nm) e multiplicado pelo sinal da birrefringência.

Neste sistema, o retardo de fase de toda área histológica da amostra incluída no campo de visão é medido ao mesmo tempo enquanto quatro estados de polarização da luz são transmitidos para a amostra. Estes estados de polarização de luz são criados pelo gerador de estados de polarização (composto pelo primeiro polarizador e o cristal líquido coberto por filtro de um quarto de onda acromático) acionado por quatro tensões elétricas aplicadas que dura cerca de 30 segundos, sendo este o parâmetro de resolução temporal. Essas tensões serão aplicadas ao cristal líquido através de um cabo elétrico ligando um gerador de funções operando com as seguintes configurações: onda quadrada; frequência de 2,0 kHz; unidade de voltagem da raiz quadrada da média dos quadrados (“root mean square”; V_{rms}); modo contínuo, 0 V_{rms} de corrente direta; voltagens sequenciais de 1,48, 1,79, 2,1 e 2,54 V_{rms} , correspondendo aos ângulos 0, 45, 90 e 135 graus, respectivamente, da luz polarizada que ilumina a amostra, e sendo relacionadas ao algoritmo de quatro enquadramentos descrito por Shirbak (2011). A relação entre os ângulos de rotação da luz polarizada e as voltagens foi fornecida pelo fabricante do cristal líquido. As voltagens aplicadas serão aquelas necessárias para obter os estados de polarização requeridos para o algoritmo de quatro enquadramentos descrito por Shirbak (2011). As variações na intensidade de luz da amostra serão processadas por um algoritmo de quatro enquadramentos que resulta no retardo de fase e no azimute (ângulo de orientação) das estruturas birrefringentes (equação 25 de Shirbak, 2011). O resultado é apresentado numa imagem digital. Neste projeto, a aplicação do algoritmo de quatro enquadramentos (SHIRBAK, 2011) para obter a imagem final com os retardos de fase será realizada com um aplicativo java especialmente desenvolvido por nossa equipe. Os valores dos retardos de fase em cada ponto histológico de interesse foram coletados com auxílio de um software livre de análise de imagem (Image J, NIH, EUA).

A birrefringência do esmalte vista em microscopia de polarização, é a soma da birrefringência intrínseca (relacionada com a fase mineral e com índice de refração de 1,62) e da birrefringência forma (relacionada com a fase não mineral, teor de água e matéria orgânica, com índices de refração de 1,33 e 1,56, respectivamente) (SOUSA; VIANNA; SANTOS-MAGALHÃES, 2006)

Para obtenção dos volumes de matéria orgânica e água a partir dos valores de birrefringência utilizamos o modelo proposto por Sousa; Vianna; Santos-Magalhães (2006), descrito a seguir.

A BR_{obs} experimental do esmalte dental foi interpretada com base no seu ajuste como BR_{obs} teórica. Esta última é dada pela equação:

$$BR_{obs} = -0.0065 AV_1 + \frac{V_1 V_2 (1 - V_1)(n_1^2 - n_2^2)^2}{2(V_1 n_1 + V_2 n_2)[(1 + V_1)n_2^2 + V_2 n_1^2]} \quad (3)$$

Onde V_1 é o volume mineral, V_2 é o volume não mineral, n_1 é o índice de refração da fase mineral e n_2 é o índice de refração da fase não mineral (SOUSA; VIANNA; SANTOS-MAGALHÃES, 2006). A é um fator de alinhamento dos cristalitos, cujo valor é 0,85. Segundo Sousa; Vianna, Magalhães (2006), o valor de n_2 para o esmalte com matéria orgânica é dado por:

$$n_2 = 1.33 \frac{\alpha_1}{V_2} + n_i \frac{\alpha_2}{V_2} + 1.56 \frac{\beta}{V_2} \quad (4)$$

Onde α_1 é a fração de volume de água remanescente no esmalte após secagem em ar à temperatura ambiente (25°C), α_2 é a fração de volume de água no esmalte removida por esse processo de secagem e β é a fração de volume de matéria orgânica. Esta equação é inserida na equação 2 para se obter a BR_{obs} teórica.

Para se obter o valor de V_2 foi aplicada a equação do volume não mineral:

$$V_2 = \alpha_1 + \alpha_2 + \beta \quad (5)$$

O valor de V_1 será obtido através da quantificação prévia em radiomicrografia. Como $V_2 = I - V_1$, é possível escrever todos os volumes parciais da fase não mineral (α_1 , α_2 e β) em função de V_1 , quando obtidos os valores da BR_{obs} em água e em ar. Pois no caso do ajuste da BR_{obs} teórica com a BR_{obs} experimental do esmalte imerso em água, tem-se duas incógnitas, " $\alpha = \alpha_1 + \alpha_2$ " e β e duas equações ($V_2 = \alpha + \beta$ e BR_{obs} teórica = BR_{obs} experimental). Dessa situação podem-se obter os volumes de matéria orgânica (β) e água $\alpha = \alpha_1 + \alpha_2$ pelo modelo matemático. A partir da birrefringência experimental do esmalte imerso em ar, têm-se duas incógnitas, α_1 e α_2 , e duas equações (BR_{obs} teórica = BR_{obs} experimental e $\alpha = \alpha_1 + \alpha_2$). Dessa situação pode-se obter α_1 e α_2 , completando a composição bioquímica do esmalte. O ajuste

matemático é feito de modo que o conjunto de equações 2-6 tenha uma única solução (com a precisão de 10^{-5} para BR_{obs} e de 10^{-3} para α_1 , α_2 e β).

3.10 Infiltração de resina

Para a infiltração da resina infiltrante Icon® (DMG, Alemanha) (Figura 11), composição apresentada no Quadro 2 e das resinas infiltrantes experimentais (TEGDMA 75% + BisEMA 25%; TEGDMA 80% + HEMA 20%) foi seguido um protocolo baseado em Ferreira *et al.* (2018). Inicialmente a amostra foi desidratada por 48h, em seguida foi obtida uma fotografia (Nikon D80, Japão) no MLP (Zeiss, Alemanha) para analisar a amostra.

Após a preparação da amostra, ela foi posicionada sobre lâmina e lamínula, colocada uma gota da resina infiltrante ao lado da lamínula (sem utilização de esmalte de unha) e acompanhada a infiltração durante 10 minutos no Polscope no modo manual, operando com as seguintes configurações: onda quadrada; frequência de 2,0 kHz; unidade de voltagem da raiz quadrada da média dos quadrados (“root mean square”; Vrms); modo contínuo, 0 Vrms de corrente direta; voltagens sequenciais de 1,48, 1,79, 2,1 e 2,54 Vrms. Encerrado os 10 minutos, polimerizou-se a amostra por 40s e uma nova fotografia no MLP foi obtida.

Figura 11 - Resina Infiltrate Icon® (DMG, Hamburgo, Alemanha).

Quadro 2- Composição e lote da resina Icon®



Fonte: Elaborada pelo autor, 2020

Material	Lote	Composição
Icon®	209878	Base da matriz resinosa- TEGDMA, iniciadores e aditivos*.

*Protegido por patente – informações do fabricante.

3.11 Quantificação do volume ocluído por resina infiltrante e desfecho principal

O volume infiltrado da resina infiltrante, com índice de refração para Icon® de

1.46, para a resina experimental TEGDMA 75% + BisEMA 25% de 1.475 e para resina experimental TEGDMA 80% + HEMA 20% de 1.455, foi quantificado após desidratação da amostra (a 25° C e 50 % de umidade relativa) após 10 minutos de infiltração, usando a seguinte equação:

$$n_2 = 1.33 \frac{\alpha_1}{V_2} + p1 \cdot n_i \frac{\alpha_2}{V_2} + p2 \cdot n_{ii} \frac{\alpha_2}{V_2} + 1.56 \frac{\beta}{V_2} \quad (6)$$

Onde p é a proporção total de α_2 ($p1 + p2$), sendo $p1$ o volume preenchido por ar (α_2^{ar}) e $p2$ o volume ocluído pela resina infiltrante (α_2^{resina}).

Uma vez que em vários pontos histológicos da lesão cariiosa (incluindo a camada superficial e o corpo da lesão) o esmalte se apresenta opaco (sem birrefringência) ao microscópio de luz polarizada sob imersão em ar, o volume α_2 não poderá ser quantificado diretamente nestes pontos. Sem α_2 não é possível quantificar o volume infiltrado pela resina infiltrante. Para contornar este problema, usamos a fração de volume α_2 teórica calculada por Macena *et al.* (2014) descrito recentemente Meira *et al.* (2015) e Sousa *et al.*, 2017:

$$\alpha_2^{exp} = \alpha_2^{theo} - 0.5759 - 0.7396 \Delta\beta \quad (7)$$

Onde o α_2^{theo} é previsto em função de α_2 do volume mineral experimental (SOUSA *et al.*, 2009), e $\Delta\beta$ é a diferença entre o volume experimental (β) e o volume orgânico previsto (β_{theo}).

$$\alpha_2^{theo} = 0.6987 - 1.2487V_1 + 0.544V_1^2 \quad (8)$$

$$\beta_{theo} = 0.08654 + 0.46808V_1 + 0.584V_1^2 \quad (9)$$

O desfecho principal foi definido como a proporção de volume infiltrado por infiltrante ($\alpha_{infiltr}$) dividido pela razão entre volume de água fracamente aderida (água removida pela desidratação) e o volume total de água total (α_2/α).

$$\text{Desfecho} = \frac{\alpha_{infiltr}}{\left(\frac{\alpha_2}{\alpha}\right)} \quad (10)$$

3.12 Análise dos dados

O volume de poros preenchido por infiltrante foi avaliado baseado na metodologia de Ferreira et al. (2018), os dados foram testados quanto à normalidade, sendo considerados normais os dados que apresentassem valores com assimetria entre -2 e 2 e valores entre 1 e 5 para curtose (FIELD, 2009).

Para dados não normais, foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis, seguido de teste de Mann-Whitney para pares de grupos. Para a comparação entre pares de grupos, o tamanho de efeito d de Cohen foi calculado usando mediana no lugar de média e 75% da diferença interquartil no lugar de desvio padrão, foram calculados significância, magnitude de efeito e intervalo de confiança.

Também foi analisada a associação entre o volume total de água e a proporção do volume de água fracamente aderida preenchido por infiltrante ($\alpha_{2inf}\alpha_2$), usando dados de todos os grupos. Uma vez que os dados apresentaram distribuição normal, foi usada a correlação de Pearson, com nível de significância de 5% bicaudal. Foram calculados o tamanho de efeito “ r ”, seu intervalo de confiança de 95%, a significância e o poder.

Todas as análises foram feitas usando o software livre Rstudio (RStudio Team (2020). RStudio: Integrated Development Environment for R. RStudio, PBC, Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>), usando os seguintes pacotes e funções: psych (função `Kruskal.test`), rstatix (função `kruskal_effsize`), função `wilcox.test`, e pacote MOTE (função `d.ind.t`).

4 ARTIGO

4.1 Apresentação

O seguinte artigo será submetido a revista Caries research com um fator de impacto: 3.918 e CiteScore: 6.9.

Artigo de pesquisa

Efeito da composição do infiltrante resinoso no volume ocluído por resina na lesão cariiosa natural de esmalte

Andressa Cavalcanti Pires^a, Eugênia Lívia de Andrade Dantas^b, Frederico Barbosa de Sousa^b, Alessandro Leite Cavalcanti^a

^a Departamento de Odontologia, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, Paraíba, Brasil

^b Departamento de Odontologia, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba, Brasil

Autor correspondente:

Andressa Cavalcanti Pires

Departamento de Odontologia – Programa de Pós-graduação em Odontologia

Universidade Estadual da Paraíba

Rua Juvêncio Arruda, s/n – Bodocongó – Campina Grande – PB – Brasil CEP 58429-600

Telefone: +55 83 3315-3471

E-mail: andressa_cavalcanti@hotmail.com

Resumo

Objetivou-se avaliar se a composição da resina afeta no volume de poros ocluídos por infiltrante em lesões cariosas naturais de esmalte. 51 lesões de mancha branca, sem cavitação e inativas foram selecionadas. Cortes por desgaste foram preparados e 1 ponto histológico na camada superficial e 4 na região central do corpo da lesão foram selecionados para quantificar volumes mineral (V1), orgânico (β), de água total (α) e volume infiltrado por resina infiltrante (α_2) e desfecho principal. O desfecho foi o volume infiltrado por infiltrante (α_{infiltr}) dividido pelo percentual de água total que foi removido pela desidratação (α_2/α). As amostras foram separadas em três grupos - 1: 17 amostras infiltradas com Icon®; 2: 17 amostras infiltradas com infiltrante experimental TEGDMA 75% + BisEMA 25% (TB); 3: 17 amostras infiltradas com infiltrante experimental TEGDMA 80% + HEMA 20% (TH). Foram analisados no Grupo Icon: 74 pontos; Grupo TB: 74 pontos; Grupo TH: 71 pontos. O volume ocluído por resina infiltrante no grupo Icon® variou em aproximadamente 1 e 17%, no grupo TB em 0 a 15% e no grupo TH em 0 a 16%. Os dados de volume de água total foram fortemente associados com a razão $a_{2\text{inf}}/a_2$ (n

de 219, coeficiente r de 0,52, IC de 95% de 0,42 a 0,61, valor de $p < 0,0001$, e poder maior que 99,9). O teste de Kruskal-Wallis mostrou haver efeito no desfecho ($p\text{-value} = 5.445e-08$; tamanho do efeito η^2 ao quadrado de 0.146 [IC 95% = 0.08;0.124]). Valores obtidos para mediana e 75% da diferença interquartil (DIQ \times 0,75): ICON ($n=74$; mediana=0.048999; DIQ \times 0,75=0.009306); TB ($n=74$; mediana=0.051085; DIQ \times 0,75=0.007456); TH ($n=71$; mediana=0.056805; DIQ \times 0,75=0.0092380). Teste entre pares de grupos não pareados – Mann Whitney foram realizados entre TH X TB (Cohen d: 0.69; IC 95%: 0.36;1.03; Valor de p: 1.121e-07); TH X ICON (Cohen d: 0.84; IC 95%: 0.50;1.18; Valor de p: 2.445e-06) e TB X ICON (Cohen d:0.24; IC 95%: -0.56;0.09; Valor de p: 0.8225) e foi observado que há efeito do tratamento, com o grupo TH tendo maior infiltração que os grupo TB (tamanho de efeito médio de 0,69) e Icon (tamanho de efeito grande de 0,84), com valores de p muito baixo e IC 95% sem incluir a hipótese nula. Concluiu-se que a composição do infiltrante altera o volume ocluído por resina infiltrante e que o grupo com características hidrofílicas (TH) resultou num maior potencial de penetração quando comparado aos demais grupos.

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

Introdução

A cárie dentária é talvez a doença crônica mais prevalente no mundo [Tinanoff, 2019], afetando 60% a 90% das crianças em idade escolar e a maioria dos adultos [World Health Organization 2018], sendo uma doença com uma grande distribuição global [Listl et al., 2015; Kassebaum et al., 2017]. É uma doença infecciosa multifatorial que se caracteriza pela disbiose da microbiota desencadeada pelo consumo de açúcar [Loesche, 1986; Tanner et al., 2016; Zhan, 2018], causando uma desmineralização nos tecidos dentais duros pelo ácido produzido pelas bactérias orais que metabolizam os carboidratos fermentáveis [Fejerskov; Kidd, 2011], determinada por fatores biológicos, comportamentais e psicossociais [Zhan, 2018].

A progressão das lesões de cárie inicial pode ser retardada por medidas que influenciam os fatores etiológicos, como a higiene bucal com produtos contendo fluoretos, controle da dieta, fluoretação local [Hargreaves; Thompson; Wagg, 1983; Jenkins, 1985; Selwitz; Ismail; Pitts, 2007] e o uso de infiltrantes resinosos [Urquhart et al., 2018].

O esmalte dentário é o tecido mais mineralizado e resistente do corpo humano, apresentando volume mineral de aproximadamente 92-96% [Biswas et al., 2013; Srinivasan et al., 2017]. O remanescente é constituído por matéria orgânica (de natureza predominantemente proteica) e água [Carlstrom; Glas; Angmar; 1963; Angmar-Mansson, 1971; Macena et al., 2014].

O componente mineral do esmalte encontra-se na forma de cristais alongados de hidroxiapatita que, em sua maioria, percorrem toda a espessura do esmalte. Esses cristais têm largura de 60-70 nm e espessura de 25-30 nm, e são compactados em colunas definidas como prismas. Envolvendo parcialmente cada prisma há poros maiores de 4-6 nm, compondo a bainha dos prismas, que seguem a trajetória dos prismas, mas não se ligam lateralmente. Entre as bainhas há um conjunto de cristalitos curtos, de espessura e largura iguais àqueles do esmalte prismático, que compõem o esmalte interprismático, delimitado lateralmente por duas bainhas

[Orams et al., 1974; Zahradnik; Moreno, 1975; Kerebel; Daculsi; Kerebel, 1979; Katchburian; Arana, 2017]. Recobre a coroa do elemento dentário e sofre os primeiros efeitos do biofilme cariogênico em indivíduos jovens [Dibdin, 1993; He; Swain, 2008; Sousa; Vianna; Santos-Magalhães, 2009].

Macroscopicamente, a primeira evidência de cárie pôde ser observada em um elemento dentário como uma pequena área branco-opaca [Silverstone, 1973], que possuía essa aparência devido ao aumento da porosidade dentro do corpo da lesão [Thylstrup; Fejerskov, 1995; Paris; Meyer-Lueckel, 2009]. Nas lesões que se encontram neste estágio, foram descritos, com base nas imagens de microscopia de luz polarizada (MLP), quatro zonas histopatológicas de porosidade relacionadas com a lesão de cárie, a zona translúcida, zona escura, corpo da lesão e camada superficial [Darling, 1958; Darling, 1961].

A camada superficial é a porta de entrada para materiais externos ao esmalte. Por isso, sua permeabilidade é de grande importância quando se trata do transporte de agentes remineralizadores para reparar o conteúdo mineral perdido [Cochrane et al., 2010] e/ou resinas infiltrantes (para paralisar as lesões) [Paris; Meyer-Lueckel, 2010], sendo opções para o tratamento não invasivo da cárie em lesões de esmalte naturais pela redução do tamanho dos poros [de Carvalho; Pires; de Sousa, 2019].

A infiltração da cárie é um método terapêutico promissor quanto a sua abordagem entre ações preventivas e restauradoras no tratamento de lesões cariosas não-cavitadas [Urquhart et al., 2018]. O seu objetivo é bloquear os poros da lesão com uma resina infiltrante polimerizável de baixa viscosidade evitando a sua progressão, bem como, promovendo um efeito estético, com desaparecimento e/ou redução da mancha branca [Ratledge, 1999; Paris et al., 2007; Selwitz, Ismail, Pitts, 2007; Meyer-Lueckel, Paris, 2008; Splieth et al., 2009; De Carvalho; Pires; De Sousa, 2019]. Segundo Neuhaus et al. (2013), estudos sobre resinas infiltrantes no esmalte cariado são principalmente baseados na profundidade de penetração, porém não são suficientes e medidas sobre o volume infiltrado são mais robustas que medições de profundidade, pois uma quantidade maior de dados está incluída nas estimativas.

Nesse contexto, observando os questionamentos a respeito do assunto, considerando a existência de um infiltrante disponível no mercado, justifica-se a necessidade de avaliar se a composição do infiltrante afeta no volume de poros ocluídos por infiltrante em lesões cariosas naturais de esmalte, sendo necessária essa quantificação a fim de melhorar o resultado proposto pela resina infiltrante.

Material e métodos

Neste estudo in vitro, experimental, quantitativo, com análise descritiva e técnica de observação direta [Lakatos, Marconi, 2010], pré-molares e molares permanentes humanos maduros foram

obtidos de doadores que assinaram um termo de consentimento informado, de acordo com a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual da Paraíba, sendo aprovado sob o número do parecer: 3.776.486.

Cálculo amostral e definição dos grupos

Como não há dados prévios na literatura, o cálculo amostral levou em conta uma magnitude de efeito (G de Hedge) média de 0,5, nível de significância de 5% bicaudal e um poder de 80%, resultando em 64 amostra por grupo [Cohen, 1988].

Este cálculo foi feito para a diferença esperada entre os dois grupos mais díspares, que é uma estratégia aceitável para estudo com mais de dois grupos [Cohen, 1988]. Com três grupos, o tamanho da amostra resultou em 192. Para calcular o número de dentes necessários por grupo, consideramos uma lesão cariada por dente e quatro pontos histológicos no corpo da lesão, dessa forma o número de dentes necessários foi: $192/3\text{grupos} = 64$, considerando 4 pontos histológicos, $64/4 = 16$ dentes por grupo.

Os grupos serão assim constituídos:

- Grupo Icon: amostras infiltradas com resina infiltrante comercial Icon® (DMG, Alemanha);
- Grupo TB: amostras infiltradas com resina infiltrante experimental com TEGDMA 75% + BisEMA 25% (TB), que possui componentes hidrofóbicos;
- Grupo TH: amostras infiltradas com resina infiltrante experimental com TEGDMA 80% + HEMA 20% (TH), que possui componentes hidrofílicos.

Características dos infiltrantes

Três tipos diferentes de infiltrantes foram testados neste estudo. Dois experimentais, confeccionadas no laboratório da Unian (Universidade Anhanguera) e o outro um infiltrante comercial (Icon®, DMG, Alemanha). Os experimentais foram preparados com os seguintes monômeros comprados de Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA: dimetacrilato de trietilenoglicol (TEGDMA), bisfenol A etoxilado glicidil dimetacrilato (BisEMA), dimetacrilato de diuretano (UDMA), 2-hidroxietilmetacrilato (HEMA), canforquinona (fotoiniciador, 0,5% em peso;), amino metilmetacrilato (co-iniciador, 1% em peso) e hidroxitolueno butilado (inibidor; 0,1% em peso), como descrito por Araújo et al. (2013). Foram preparados os seguintes infiltrantes experimentais: TEGDMA 80% + HEMA 20% (TH); e TEGDMA 75% + BisEMA 25% (TB). Icon® é um infiltrante baseado em TEGDMA, de acordo com o fabricante.

Seleção dos dentes

Foram utilizados 51 elementos dentários humanos, sendo 17 por grupo, pré-molares ou molares da dentição permanente que possuíam área de esmalte com lesões cariosas proximais inativas não cavitadas.

Os elementos dentais tiveram as coberturas orgânicas removidas suavemente com uma bolinha de algodão embebida em solução de hipoclorito de sódio (1%) durante 30 segundos, em seguida foram enxaguados com o jato de água da seringa tríplice durante 10 segundos, e finalmente secos com o jato de ar por 10 segundos. Posteriormente, foram acondicionados em solução de azida sódica 0,02% [Pires, 2016].

As amostras foram selecionadas por um examinador, que realizou uma calibração intraexaminador em dois momentos diferentes, após 1 semana, através do Teste Kappa ($>0,7$), para determinar a confiabilidade. E foram classificadas de acordo com a presença da lesão e sua respectiva atividade através de um score pré-definido, sendo utilizados os escores 0 (hígida), 1 (lesão ativa sem cavitação) e 4 (lesão inativa sem cavitação) [Nyvad; Baelum, 2018; Nyvad; Machiulskiene; Baelum, 1999]. Foram avaliados 50 dentes para esta etapa. Como resultado, após análise de todas as amostras, foi encontrado a concordância intraexaminador de 0,8218.

Após a calibração, as amostras foram avaliadas em estereomicroscópio, verificando as duas faces proximais. Avaliando a presença de manchas brancas e o brilho da superfície através de uma fonte de iluminação externa, as regiões foram classificadas em: hígida, lesão ativa, inativa ou cavitada. As amostras com lesão proximal inativa foram selecionadas para corte.

Preparo dos cortes por desgaste e análise do volume mineral

Os dentes foram cortados longitudinalmente, a partir da região central da lesão. As secções foram reduzidas, por desgaste, através de um jig de lapidação, com lixas d'água de granulações decrescente (300-1200), até uma espessura de aproximadamente 100 μm . A amostra foi visualizada em estereomicroscópio e uma transversal foi traçada, seguindo a orientação dos prismas, em toda a espessura do esmalte para quantificação dos volumes bioquímicos.

A análise foi realizada em diferentes pontos histológicos, 01 localizado na camada superficial e 04 no centro do corpo da lesão, localizados ao longo de uma linha transversal central, distantes a intervalos de 20 μm da superfície da superfície. Em cada ponto, foi calculada a média dos valores contidos dentro de uma área demarcada de 15x15 μm .

O conteúdo mineral foi determinado através de análises de radiomicrografia digital utilizando a Microtomografia computadorizada (Micro-CT) (Skyscan 1172, Bruker, Kontich, Bélgica). Anteriormente à aquisição da imagem de cada amostra foi realizado um flat-field correction do aparelho, padronizando a intensidade média de raio-x (av) de 90%. Os parâmetros usados na realização das radiomicrografias foram baseados na metodologia de De Andrade (2020), pixel de 0,94 μm , matriz de pixels de tamanho pequeno (small camera pixels), não foi utilizado nenhum filtro adicional (No filter), resultando em 60 kV (pico de energia de 10 keV) e 167uA.

As amostras foram radiomicrografadas juntamente com uma escala de alumínio alta pureza (99%) (10 folhas de dimensões de 2 mm por 15 mm com 20 µm de espessura cada, formando uma escala em batentes com espessuras entre 20 e 200 µm) e as imagens foram arquivadas em formato digital. A fórmula de Angmar [Angmar et al., 1963] e uma densidade mineral de 2,99 g/cm³ *Elliott, 1997) foram para análise de volume mineral [Gan et al., 2015].

Através do software Image J® [Abramoff; Magalhães; Ram, 2004] a média dos valores dos níveis de cinza (interpretados como a densidade óptica média) de cada uma das 10 referências de alumínio e dos pontos histológicos de interesse nas secções de esmalte foram determinados. Uma correlação matemática entre densidade óptica média e espessura do alumínio foi determinada por um polinômio de quarta ordem. A partir desta correlação matemática, foi possível determinar à qual espessura de alumínio correspondente a densidade óptica de cada ponto histológico analisado.

Análises dos conteúdos de matéria orgânica e água

Nos mesmos pontos histológicos selecionados anteriormente foi medida usando Sistema “Single Polscope”, a birrefringência em água (24 h de imersão em água), em ar, após desidratação a temperatura ambiente (25º C e 50% de umidade relativa do ar) por 48 h, após infiltração da resina infiltrante Icon® (DMG, Alemanha), após infiltração da resina infiltrante experimental com TEGDMA 75% + BisEMA 25% (TB) e após infiltração da resina infiltrante experimental com TEGDMA 80% + HEMA 20% (TH) [Meira et al., 2015; Pires, 2016; Sousa et al., 2017].

Para obtenção dos volumes de matéria orgânica e água a partir dos valores de birrefringência utilizamos o modelo proposto por Sousa; Vianna; Santos-Magalhães (2006), descrito a seguir.

A birrefringência observada (BR_{obs}) experimental do esmalte dental foi interpretada com base no seu ajuste como BR_{obs} teórica. Esta última é dada pela equação:

$$BR_{obs} = -0.0065 AV_1 + \frac{V_1 V_2 (1 - V_1)(n_1^2 - n_2^2)^2}{2(V_1 n_1 + V_2 n_2)[(1 + V_1)n_2^2 + V_2 n_1^2]} \quad (1)$$

Onde V_1 é o volume mineral, V_2 é o volume não mineral, n_1 é o índice de refração da fase mineral e n_2 é o índice de refração da fase não mineral [Sousa; Vianna; Santos-Magalhães, 2006]. A é um fator de alinhamento dos cristalitos, cujo valor é 0,85. Segundo Sousa; Vianna, Magalhães (2006), o valor de n_2 para o esmalte com matéria orgânica é dado por:

$$n_2 = 1.33 \frac{\alpha_1}{V_2} + n_i \frac{\alpha_2}{V_2} + 1.56 \frac{\beta}{V_2} \quad (2)$$

Onde α_1 é a fração de volume de água remanescente no esmalte após secagem em ar à temperatura ambiente (25°C), α_2 é a fração de volume de água no esmalte removida por esse processo de secagem e β é a fração de volume de matéria orgânica. Esta equação é inserida na equação 2 para se obter a BR_{obs} teórica.

Para se obter o valor de V_2 foi aplicada a equação do volume não mineral:

$$V_2 = \alpha_1 + \alpha_2 + \beta \quad (3)$$

O valor de V_1 foi obtido através da quantificação prévia em radiomicrografia. Como $V_2 = 1 - V_1$, é possível escrever todos os volumes parciais da fase não mineral (α_1 , α_2 e β) em função de V_1 , quando obtidos os valores da BR_{obs} em água e em ar.

Infiltração de resina

Para a infiltração da resina infiltrante Icon® (Lote: 209878DM, G, Alemanha) e das resinas infiltrantes experimentais (TEGDMA 75% + BisEMA 25%; TEGDMA 80% + HEMA 20%) foi seguido um protocolo. Inicialmente a amostra foi desidratada por 48h, em seguida foi obtida uma fotografia (Nikon D80, Japão) no MLP (Zeiss, Alemanha) para analisar a amostra.

Após a preparação da amostra, ela foi posicionada sobre lâmina e lamínula, colocada uma gota da resina infiltrante ao lado da lamínula e acompanhada a infiltração durante 10 minutos no Polscope no modo manual, operando com as seguintes configurações: onda quadrada; frequência de 2,0 kHz; unidade de voltagem da raiz quadrada da média dos quadrados (“root mean square”; Vrms); modo contínuo, 0 Vrms de corrente direta; voltagens sequenciais de 1,48, 1,79, 2,1 e 2,54 Vrms, Encerrado os 10 minutos, polimerizou-se por 40s a amostra e uma nova fotografia no MLP foi obtida.

Quantificação do volume ocluído por resina infiltrante e desfecho principal

O volume infiltrado da resina infiltrante, com índice de refração para Icon® de 1.46, para a resina experimental TEGDMA 75% + BisEMA 25% de 1.475 e para resina experimental TEGDMA 80% + HEMA 20% de 1.455, foi quantificado após desidratação da amostra (a 25° C e 50 % de umidade relativa) e após 10min de infiltração, usando a seguinte equação:

$$n_2 = 1.33 \frac{\alpha_1}{V_2} + p1 \cdot n_i \frac{\alpha_2}{V_2} + p2 \cdot n_{ii} \frac{\alpha_2}{V_2} + 1.56 \frac{\beta}{V_2} \quad (4)$$

Onde p é a proporção total de α_2 ($p1 + p2$), sendo $p1$ o volume preenchido por ar (α_2^{ar}) e $p2$ o volume ocluído pela resina infiltrante (α_2^{resin}).

Uma vez que em vários pontos histológicos da lesão cariosa (incluindo a camada superficial e o corpo da lesão) o esmalte se apresenta opaco (sem birrefringência) ao microscópio de luz polarizada sob imersão em ar, o volume α_2 não poderá ser quantificado diretamente nestes pontos. Sem α_2 não é possível quantificar o volume infiltrado pela resina infiltrante. Para contornar este problema, usaremos a fração de volume α_2 teórica calculada por Macena *et al.* (2014) descrito recentemente Meira *et al.* (2015) e Sousa *et al.*, 2017:

$$\alpha_2^{\text{exp}} = \alpha_2^{\text{theo}} - 0.5759 - 0.7396 \Delta\beta \quad (5)$$

Onde o α_2^{theo} é previsto em função de α_2 do volume mineral experimental [Sousa *et al.*, 2009], e $\Delta\beta$ é a diferença entre o volume experimental (β) e o volume orgânico previsto (β_{theo}).

$$\alpha_2^{\text{theo}} = 0.6987 - 1.2487 V_1 + 0.544 V_1^2 \quad (6)$$

$$\beta_{\text{theo}} = 0.08654 + 0.46808 V_1 + 0.584 V_1^2 \quad (7)$$

O desfecho principal foi definido como a proporção de volume infiltrado por infiltrante (α_{infiltr}) dividido pela razão entre volume de água fracamente aderida (água removida pela desidratação) e o volume total de água total (α_2/α).

$$\text{Desfecho} = \frac{\alpha_{\text{infiltr}}}{\left(\frac{\alpha_2}{\alpha}\right)} \quad (8)$$

Análise dos dados

O volume de poros preenchido por infiltrante foi avaliado baseado na metodologia de Ferreira *et al.* (2018), os dados foram testados quanto à normalidade, sendo considerados normais os dados que apresentassem valores com assimetria entre -2 e 2 e valores entre 1 e 5 para curtose [Field, 2009].

Para dados não normais, foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis, seguido de teste de Mann-Whitney para pares de grupos. Para a comparação entre pares de grupos, o tamanho de efeito d de Cohen foi calculado usando mediana no lugar de média e 75% da diferença interquartil no lugar de desvio padrão, foram calculados significância, magnitude de efeito e intervalo de confiança.

Também foi analisada a associação entre o volume total de água e a proporção do volume de água fracamente aderida preenchido por infiltrante ($a_{2\text{inf}}/a_2$), usando dados de todos os grupos. Uma vez que os dados apresentaram distribuição normal, foi usada a correlação de Pearson, com nível de significância de 5% bicaudal. Foram calculados o tamanho de efeito “ r ”, seu intervalo de confiança de 95%, a significância e o poder.

Todas as análises foram feitas usando o software livre Rstudio (RStudio Team (2020). RStudio: Integrated Development Environment for R. RStudio, PBC, Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>), usando os seguintes pacotes e funções: psych (função `Kruskal.test`), rstatix (função `kruskal_effsize`), função `wilcox.test`, e pacote MOTE (função `d.ind.t`).

Resultado

Uma amostra foi perdida durante o manuseio do grupo Icon. Foram avaliadas 50 amostras, sendo 01 ponto histológico na camada superficial e 04 no centro do corpo da lesão, totalizando no grupo Icon = 74 pontos, Grupo TB = 74 pontos e Grupo TH= 71. Alguns pontos foram perdidos pois não se enquadravam nos parâmetros matemáticos. Após o teste de normalidade, o grupo Icon resultou em não normal, foi usado teste não paramétrico para mais de dois grupos não pareados (kruskal wallis; nível de significância de 5% bicaudal).

Avaliando qualitativamente em MLP, sob imersão em água (Figura 1a), observou-se a presença de camada superficial com birrefringência negativa, seguida do corpo da lesão com birrefringência positiva e o restante do esmalte, com birrefringência negativa. Após desidratação, observou-se o corpo da lesão com opacidade (sem birrefringência) (Figura 1b), após a infiltração da resina infiltrante observou-se que o corpo da lesão não apresenta mais opacidade, evidenciando que ocorreu a infiltração (Figura 1c).

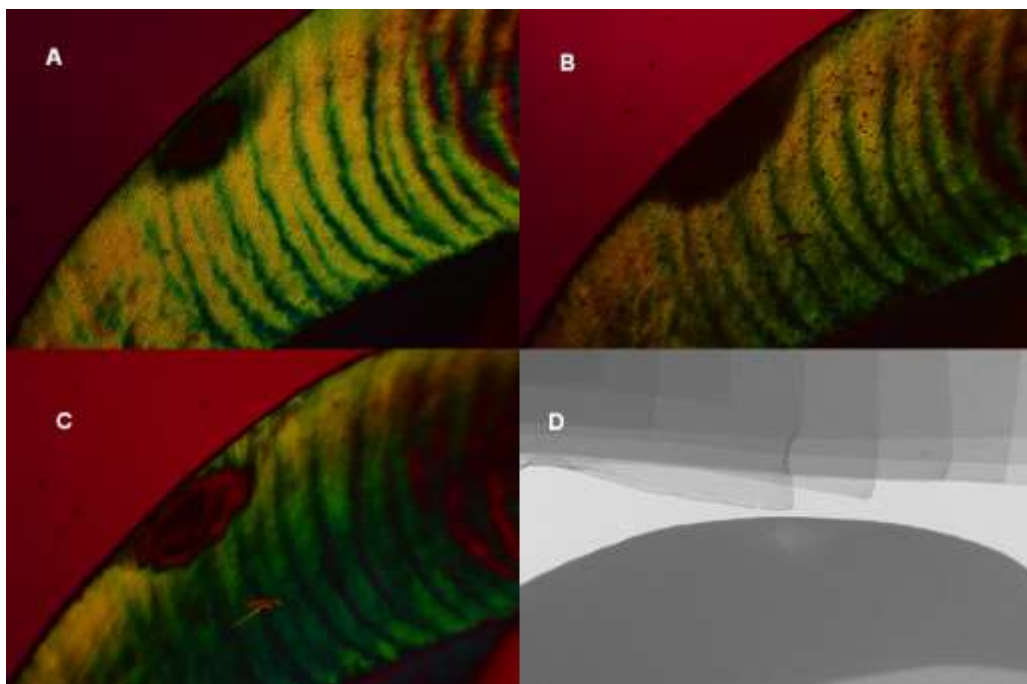


Fig. 1. Corte por desgaste de lesão cariiosa natural inativa de esmalte em MLP (com filtro de retardo vermelho de 540 nm) sob imersão em água (A), ar (B), após infiltração da resina TH (C) e em radiomicrografia digital obtida em Micro-CT (D).

O volume infiltrado por resina infiltrante Icon®, está representado na Figura 2, variando em aproximadamente entre 1 e 17%.

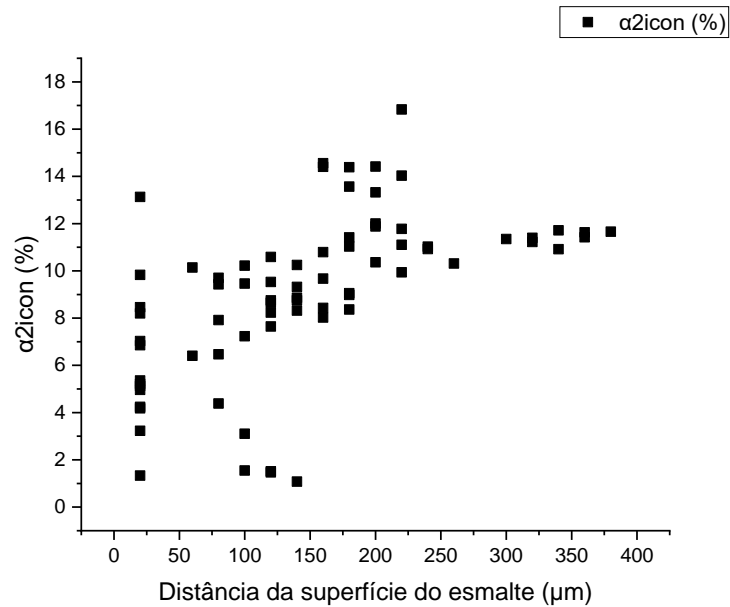


Fig. 2. Gráfico dos valores do volume infiltrado por resina infiltrante Icon® para todos os pontos histológicos analisados.

O volume infiltrado por resina TB, está representado na Figura 3, variando em aproximadamente entre 0 e 15%.

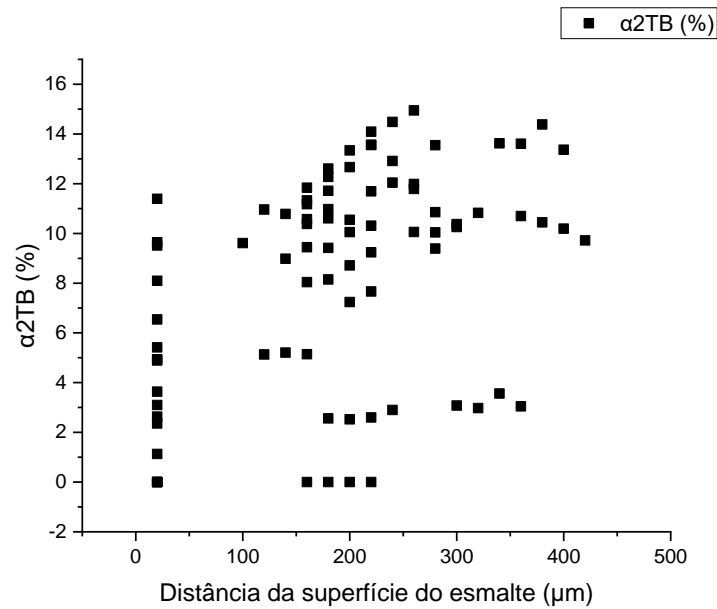


Fig. 3. Gráfico dos valores do volume infiltrado por resina infiltrante experimental TB para todos os pontos histológicos analisados.

O volume infiltrado por resina TH, está representado na Figura 4, variando em aproximadamente entre 0 e 16%.

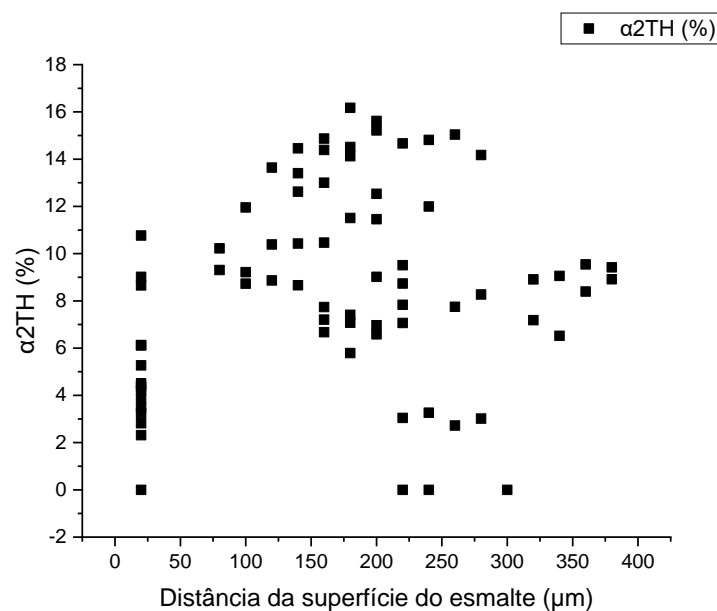


Fig. 4. Gráfico dos valores do volume infiltrado por resina infiltrante experimental TH para todos os pontos histológicos analisados.

Desfecho

O desfecho de todos os grupos pode ser observado na Tabela 1 e foi representado pelo volume infiltrado por infiltrante ($\alpha_{infiltr}$) dividido pela razão entre volume de água fracamente aderida (água removida pela desidratação) e o volume total de água total (α_2/α):

$$\text{Desfecho} = \frac{\alpha_{infiltr}}{\left(\frac{\alpha_2}{\alpha}\right)} \quad (8)$$

Tabela 1. Representação dos dados dos desfechos de todos os grupos.

TH	TB	Icon
0.071434776	0.056586798	0.049437681
0.056189376	0.046460674	0.044625106
0.054393907	0.060167709	0.044383238
0.055004376	0.061777647	0.045024631
0.054447583	0.063863446	0.044219761
0.060318559	0.051136729	0.055700255
0.064482821	0.048081402	0.056958971
0.068625293	0.0473187	0.05679773
0.063350	0.0485546	0.058307
0.0647258	0.064240057	0.05755
0.079170649	0.051851511	0.070288263
0.060380526	0.05144062	0.046120145
0.058023492	0.054723094	0.048621013
0.056781859	0.052680326	0.048755716
0.050190639	0.044266414	0.050595052
0.07515077	0.053527557	0.055889585
0.05929625	0.052712609	0.045564161
0.0611756	0.053502836	0.044599272
0.052938576	0.045885485	0.046505525
0.051686302	0.058652489	0.048163827
0.048794808	0.054684499	0.058158917
0.050514365	0.052134292	0.045499043
0.048895608	0.05210164	0.047338858
0.049509521	0.05738715	0.047157919
0.070139357	0.044004379	0.049242692
0.06200269	0.044293285	0.06890959
0.065740385	0.046433082	0.052033838
0.050965845	0.047044174	0.083809437
0.051378507	0.051646713	0.05657622
0.060263449	0.054446448	0.049348246
0.058633726	0.055402203	0.064539239
0.057202178	0.056669137	0.046172203
0.061244609	0.068363128	0.048332607
0.057893939	0.042405333	0.049735225
0.085430679	0.042889097	0.050712188
0.104843123	0.042692657	0.076123182
0.092994471	0.041266193	0.031966171
0.100773968	0.048823357	0.036136927

0.095784239	0.049218431	0.028399031
0.074788223	0.048694027	0.137156565
0.054023447	0.049239271	0.0597456
0.052936201	0.035258635	0.058694562
0.052896683	0.041487463	0.058477816
0.056805236	0.042133079	0.047499332
0.030208437	0.042514537	0.064604591
0.049194029	0.045906358	0.045950361
0.051691628	0.060179055	0.043303653
0.049636142	0.071369345	0.043782774
0.052841706	0.059600463	0.042044022
0.082450484	0.05810688	0.066849889
0.057208741	0.057711535	0.045260802
0.07573779	0.055885092	0.045562963
0.073853887	0.082577776	0.047506308
0.06614057	0.051034068	0.048237028
0.05435622	0.050933495	0.073169349
0.052851119	0.050113121	0.04592752
0.053922424	0.05156361	0.04652061
0.052645969	0.061898391	0.047522536
0.088117897	0.053405016	0.045076665
0.054847037	0.052179414	0.04837346
0.054149786	0.051838554	0.050751322
0.05605448	0.050040443	0.051220536
0.056237535	0.06762149	0.055033932
0.075936408	0.04580189	0.051641435
0.054891156	0.047631977	0.078988709
0.058306273	0.044014272	0.043946304
0.057825513	0.043101091	0.04449388
0.053562652	0.044140811	0.045152793
0.044480833	0.044606424	0.045706836
0.05167893	0.066429371	0.109636468
0.053834624	0.042575674	0.060968218
	0.043977695	0.063491901
	0.045219983	0.060573149
	0.045912706	0.055436246

O volume total de água, que representa a parte não sólida do poro do esmalte cariado, e o volume de água fracamente aderida, que representa o volume real disponível para infiltração, são as variáveis de confusão que afetam o desfecho em combinação com o tipo de infiltrante. Os dados de volume de água total foram fortemente associados com a razão α_{2inf}/α_2 (n de 219, coeficiente r de 0,52, IC de 95% de 0,42 a 0,61, valor de p < 0,0001, e poder maior que 99,9).

Os resultados do teste Kruskal-Wallis mostram que há efeito no fator de desfecho. Kruskal-Wallis chi-squared = 33.452, df = 2, p-value = 5.445e-08; tamanho do efeito eta ao quadrado de 0.146 (IC 95% = 0.08;0.124); Classificação do eta ao quadrado: eta2: baixo = 0.01; medio = 0.059; alto = 0.134.

Na Tabela 2, podemos observar dados descritivos dos grupos representados por mediana e 75% da diferença interquartil (DIQx0,75).

Tabela 2. Número de amostras, mediana e distância interquartil de todos os grupos

GRUPOS	n	Mediana	DIQx0,75
ICON	74	0.048999	0.009306
TB	74	0.051085	0.007456
TH	71	0.056805	0.009238

Os resultados do teste entre pares de grupos não pareados – Mann Whitney estão descritos na Tabela 3. Foram feitas comparações entre TH x TB, TH x ICON E TB X ICON e foi observado que há efeito do tratamento, com o grupo TH tendo maior infiltração que os grupo TB (tamanho de efeito médio de 0,69) e Icon (tamanho de efeito grande de 0,84), com valores de p muito baixo e IC 95% sem incluir a hipótese nula.

Tabela 3. Resultados do teste Mann Whitney entre pares de grupos não pareados

GRUPOS	Cohen d	IC 95%	Valor de p
TH X TB	0.69	0.36;1.03	1.121e-07
TH X ICON	0.84	0.50;1.18	2.445e-06
TB X ICON	0.24	-0.56;0.09	0.8225

Discussão/Conclusão

Nossos achados são a primeira evidência quantitativa de dados volumétricos em lesões cariosas naturais infiltrados por resinas experimentais comparadas a resina infiltrante disponível comercialmente (Icon®), que aparece sendo quantificada por Ferreira et al. (2018). A infiltração visa ocluir os poros do esmalte cariado, que atuam como via de difusão para ácidos, eliminando ou reduzindo as vias de difusão mais fáceis para o ácido [Meyer-Lueckel, Paris, Ekstrand, 2013], desse modo se faz necessário quantificar o volume do esmalte que é infiltrado.

A aplicação do infiltrante resinoso utilizado na cárie nesse estudo difere da clínica pois é um tipo de imersão histológica que ocorre sem condicionamento ácido prévio, sem desidratação da amostra com etanol, sem aplicação dupla de infiltrante resinoso e por um tempo maior que procedimento clínico [Meyer-Lueckel, Paris, Ekstrand, 2013; Sousa et al., 2017; Ferreira et al. 2018]. O infiltrante foi aplicado próximo à superfície do esmalte e deixado fluir por capilaridade em direção à lesão de cárie do esmalte, sem utilização de camada de esmalte como realizado por Ferreira et al. (2018), para que a resina infiltre tanto na camada superficial como nas superfícies de corte laterais, pois podemos encontrar diferentes orientações dos prismas do esmalte, favorecendo a infiltração da resina.

Dessa forma, espera-se que os volumes de poros ocluídos relatados sejam maiores do que aqueles obtidos após infiltração de cárie in vivo. Essa imersão histológica foi utilizada porque permite a quantificação do volume de poros ocluídos por resina considerando todos os volumes

dos componentes dos poros do esmalte (volumes de água fraca e firmemente ligados e o volume orgânico) [Meira et al., 2015; Sousa et al., 2017; Ferreira et al. 2018; De Andrade et al., 2020].

Apenas 5 estudos publicados quantificaram o volume de poros de esmalte [Robinson et al., 1976, 2001; Sousa et al., 2017; Ferreira et al., 2018; De Andrade et al., 2020], e apenas 3 deles realizaram a quantificação considerando a água firmemente aderida (volume de poros que é substituído por resina) e volumes orgânicos, sendo Sousa et al. (2017) em esmalte fluorótico, Ferreira et al. (2018) em lesões de cárie induzidas artificialmente e De Andrade et al. (2020) em dentes decíduos.

Objetivou-se quantificar a infiltração do volume ocluído por diferentes resinas, observando uma variação menor que 20%, semelhante aos achados de Pires (2016) e proporcional a Ferreira et al., (2018), que obteve uma média de $20,29 \pm 13,64\%$. Ao obter esses valores de preenchimento de 20%, entendemos que 80% do volume de poros ficou sem resina, independente do volume mineral em questão. Como resultados da infiltração de resina em lesão de mancha branca inativa espera-se a redução da permeabilidade do esmalte (com conseqüente proteção contra progressão da lesão) e a redução da opacidade do esmalte (efeito estético), que seria alcançado com a totalidade de preenchimento dos poros e foi observado através dos nossos achados que isto não seria possível.

Estudos que investigam o uso de infiltrantes para mascarar o aspecto visual da mancha branca em diferentes profundidades nos fazem refletir sobre a importância do preenchimento da lesão. O efeito óptico que permite que o esmalte alterado se assemelhe ao esmalte sadio adjacente está relacionado à semelhança entre o índice de refração do infiltrante e do esmalte sadio, em comparação com o esmalte poroso, preenchido com ar ou água [Kim et al., 2011; Paris et al., 2013]. Mostrando a importância de estudar como os materiais se comportam durante a penetração da lesão [Abbas, Marzouk, Zaher, 2018].

A composição monomérica, a energia superficial e a viscosidade dos infiltrantes influencia diretamente em suas propriedades e podem alterar as profundidades de penetração do infiltrante [Paris et al., 2007; Paris et al., 2012; Paris et al., 2013; Araújo et al., 2013]. Quando monômeros hidrófobos são adicionados, essas propriedades são aumentadas, enquanto a adição de solventes causa uma diminuição das mesmas [Meyer-Lueckel, Paris, 2010; Araújo et al., 2013].

Materiais à base de TEGDMA e HEMA possuem baixa viscosidade e alto grau de conversão, são monômeros com características hidrofílicas, e talvez devido a isto, possam penetrar melhor nos poros do esmalte, devido a presença da água firmemente aderida no interior dos poros, porém essa característica pode favorecer a degradação do material em meio aquoso, reduzindo o desempenho clínico [Araújo et al., 2013; Nóbrega et al., 2020]. Mas não é conhecida a maneira como esse material será degradado, se ficará aprisionado, se a difusão será lenta, pois o sistema de poros é irregular. Corroborando com os achados desse estudo que teve o grupo composto de

TEGDMA + HEMA apresentando o melhor resultado de volume ocluído por resina infiltrante, hipotetizando que água presente no interior dos poros é responsável por isso.

A adição de UDMA ou BisEMA, que são considerados monômeros hidrofóbicos e com viscosidade mais baixa do que o TEGDMA, podem melhorar o desempenho clínico [Kerby et al., 2009; Saxena et al., 2012]. No estudo de Nóbrega et al. (2020), foi observado que a resina que possuía TEGDMA + BisEMA apresentou menor degradação hidrolítica e obteve melhores resultados, dessa forma se apresentando como alternativa de uso clínico, pois no nosso estudo encontramos resultados semelhantes ao Grupo Icon®, porém com melhor potencial de penetração.

É importante ressaltar que os volumes ocluídos por resina previstos são diretamente proporcionais ao volume dos poros [Little et al., 1962; Sousa et al., 2009; Ferreira et al., 2018]. Desse modo, as variações no volume dos poros foram corrigidas (compensadas) pelo desfecho. A inclusão desses dois componentes volumétricos no cálculo do desfecho elimina vieses causados por variáveis além da composição do infiltrante. A oclusão parcial dos poros é consistente com a persistência do aspecto histológico da lesão subsuperficial após a infiltração. Nosso estudo tem implicações na infiltração de resinas fluidas na lesão de mancha branca inativa, a evidência de que infiltrante e água estão presentes nos poros infiltrados indica que existe um potencial de degradação da resina polimerizada com o tempo, podendo fornecer caminhos para a progressão da cárie em cárie de esmalte infiltrado. Nosso estudo sugere que a substituição de matéria orgânica e água firmemente ligada por infiltrante de resina é a chave para melhorar a infiltração de cárie e, portanto, interromper a progressão da lesão.

Em conclusão, observamos, dentro das limitações deste estudo in vitro, que a composição do infiltrante altera o volume ocluído por resina infiltrante e que o grupo com características hidrofílicas (TH) resultou num maior potencial de penetração quando comparado ao grupo Icon® e ao grupo com características hidrófobas (TB).

Referências

Abbas BA, Marzouk ES, Zaher AR. Treatment of various degrees of white spot lesions using resin infiltration-in vitro study. *Prog Orthod.* 2018 Aug;19(1):27.

Abramoff MD, Magalhae PJ, Ram SJ. Image Processing with ImageJ. *Biophotonics International* 2004; 11(7): 36-42.

Angmar B, Carlstrom D, Glas JE. Studies on the ultrastructure of dental enamel. IV. The mineralization of normal human enamel. *J. Ultrastruct. Res.* 1963; 8:12-3.

Angmar-Mansson B. A polarization microscopic and micro X-ray diffraction study on the organic matrix of developing human enamel. *Arch. Oral Biol.* 1971; 16(2): 147-56.

Araújo GS, Sfalcin RA, Araújo TG, Alonso RC, Puppim-Rontani RM. Evaluation of polymerization characteristics and penetration into enamel caries lesions of experimental infiltrants. *J Dent.* 2013 Nov;41(11):1014-9.

- Biswas N, Dey A, Kundu S, Chakraborty H, Mukhopadhyay AK. Mechanical Properties of Enamel Nanocomposite. *Biomaterials*. Hindawi Publishing Corporation 2013; 1-15.
- Carlstrom D, Glas JE, Angmar B. Studies on the ultrastructure of dental enamel. V. The state of water in human enamel. *J. Ultrastruct. Res.* 1963; 8(1-2): 24-29.
- Cochrane NJ, Cai F, Huq NL, Burrow MF, Reynolds EC. New approaches to enhanced remineralization of tooth enamel. *J. Dent Res.* 2010; 89(11):1187-97.
- Cohen J. *Statistical power analysis for behavioral sciences*, 2^a ed. Nova Iorque: Lawrence Erlbaum; 1988.
- Darling AI. Studies of the early lesion of enamel caries. *Br. Dent. J* 1958; 105: 119-135.
- Darling AI. The selective attack of caries on the dental enamel. *Ann R Coll Surg Enge* 1961; 29: 354-369.
- de Andrade, EL, de Figueiredo, JT., Macedo-Ribeiro, N, Oliezer, RS, Gerlach, RF, de Sousa, FB. Variation in mineral, organic, and water volumes at the neonatal line and in pre- and postnatal enamel. *Archives of Oral Biology*, 2020; 118, 104850.
- de Carvalho GG, Pires AC, de Sousa FB. Influence of infiltrant application time on the reduction of opaqueness of proximal enamel caries. *Indian J Dent Res* 2019; 30:52-6.
- Dibdin GH. The water in human dental enamel and its diffusional exchange measured by clearance of tritiated water from enamel slabs of varying thickness. *Caries Res.* 1993; 27(2): 81-86.
- Fejerskov O, Kidd E. *Cárie: A doença e seu tratamento clínico*, 2^a ed. São Paulo: Santos; 2011.
- Ferreira, DA de H, Aires, CP, De Figueiredo, RCBQ, de Sousa, FB. High Amount of Organic Matter during Caries Formation Reduces Remineralization and Resin Infiltration of Enamel Caries. *Caries Research*, 2018; 580-587.
- Field A. *Discovering Statistic Using SPSS*. London: SAGE; 2009.
- Gan HY, Sousa FB, Carlo HL, Maciel PP, Macena MS, Han J: Enhanced transport of materials into enamel nanopores via electrokinetic flow. *J Dent Res* 2015; 94: 615-621.
- Hargreaves JA, Thompson GW, Wagg BJ. Changes in caries prevalence in Isle of Lewis children between 1971 and 1981. *Caries Res*; 1983; 17(6):554-9.
- He LH, Swain MV. Understanding the mechanical behavior of human enamel from its structural and compositional characteristics. *J. Mech Beh of Biomed. Mater* 2008; 1(1): 18-29.
- Jenkins GN. Recent changes in dental caries. *Br Med J.* 1985; 291(6505): 1297-98.
- Katchburian, E, Arana, V. *Histologia e embriologia oral: texto, atlas, correlações clínicas*. 4^a ed. rev. atual. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.
- Kassebaum NJ, Smith AGC, Bernabé E, et al. Global, Regional, and National Prevalence, Incidence, and Disability-Adjusted Life Years for Oral Conditions for 195 Countries, 1990-2015: A Systematic Analysis for the Global Burden of Diseases, Injuries, and Risk Factors. *Journal of Dental Research*. 2017;96(4):380-387.

- Kerby RE, Knobloch LA, Schricker S, Gregg B. Synthesis and evaluation of modified urethane dimethacrylate resins with reduced water sorption and solubility. *Dent Mater.* 2009;25(3):302-313.
- Kerebel B, Daculsi G, Kerebel LM. Ultrastructural studies of enamel crystallites. *J. Dent. Res.* 1979; 58(Spec Issue B):844-51.
- Kim S, Kim EY, Jeong TS, Kim JW. The evaluation of resin infiltration for masking labial enamel white spot lesions. *Int J Paediatr Dent.* 2011 Jul;21(4):241-8.
- Lakatos, M, Marconi, MA. *Fundamentos de metodologia científica.* 7ed. São Paulo: Atlas, 2010.
- Listl S, Galloway J, Mossey PA, Marcenes W. Global Economic Impact of Dental Diseases. *J Dent Res.* 2015;94(10):1355-1361.
- Little MF, Cueto ES, Rowley J: Chemical and physical properties of altered and sound enamel. I. Ash, Ca, P, CO₂, N, water, microradiolucency and density. *Arch Oral Biol* 1962; 7: 173-184.
- Loesche, WJ. 1986. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol Rev.* 50(4):353-380.
- Macena MS, Leite MLA, Gouveia CL, De Lima TAS, Athayde PA, Sousa FB. A comparative study on component volumes from outer to inner dental enamel in relation to enamel tufts. *Arch Oral Biol.* 2014; 59: 568-577.
- Meira KR, Britto CSM, Sousa FB. Predicting infiltration of 425 the surface layer of natural enamel caries. *Arch Oral Biol.* 2015; 60:883-893.
- Meyer-Luckel H, Paris S. Improved Resin Infiltration of Natural Caries Lesions. *J Dent Res.* 2008; 87(12): 1112-1116.
- Meyer-Lueckel H, Paris S. Infiltration of natural caries lesions with experimental resins differing in penetration coefficients and ethanol addition. *Caries Res.* 2010;44(4):408-14.
- Meyer-Lueckel H, Paris S, Ekstrand KR. *Caries management – science and clinical practice.* 1^a Ed. New York: Thieme; 2013. p. 246-255.
- Neuhaus KW, Schlafer S, Lussi A, Nyvad B. Infiltration of natural caries lesions in relation to their activity status and acid pretreatment in vitro. *Caries Res.* 2013;47(3):203-10.
- Nóbrega MTC, Dantas ELA, Alonso RCB, Almeida LFD, Puppim-Rontani RM, Sousa FB. Hydrolytic degradation of different infiltrant compositions within different histological zones of enamel caries like-lesions. *Dent Mater J.* 2020;39(3):449-455.
- Nyvad B, Machiulskiene V, Baelum V. Reliability of a new caries diagnostic system differentiating between active and inactive caries lesions. *Caries Res.* 1999; 33(4): 252-260
- Nyvad, B., & Baelum, V. Nyvad Criteria for Caries Lesion Activity and Severity Assessment: A Validated Approach for Clinical Management and Research. *Caries Research*, 2018; 52(5), 397-405.
- Orams HJ, Phakey PP, Rachinger WA, Zybert JJ. Visualization of micropore structure in human dental enamel. *Nature.* 1974; 252: 584-5.

Paris S, Meyer-Lueckel H. Masking of labial enamel white spot lesions by resin infiltration – A clinical report. *Quintessence Int.* 2009; 40: 713–718.

Paris S, Meyer-Lueckel H. Infiltrants inhibit progression of natural caries lesions in vitro. *J Dent Res.* 2010; 89(11):1276-80.

Paris S, Meyer-Lueckel H, Colfen H, Kielbassa AM. Penetration coefficients of commercially available and experimental composites intended to infiltrate enamel carious lesions. *Dent Mater.* 2007; 23(6): 742-8.

Paris S, Meyer-Lueckel H, Cölfen H, Kielbassa AM. Resin infiltration of artificial enamel caries lesions with experimental light curing resins. *Dent Mater J.* 2007 Jul;26(4):582-8

Paris S, Soviero VM, Chatzidakis AJ, Meyer-Lueckel H. Penetration of Experimental Infiltrants with Different Penetration Coefficients and Ethanol Addition into Natural Caries Lesions in Primary Molars. *CARIES Res.* 2012;46(2):113-117.

Paris S, Soviero VM, Schuch M, Meyer-Lueckel H. Pretreatment of natural caries lesions affects penetration depth of infiltrants in vitro. *Clin Oral Investig.* 2013 Dec;17(9):2085-9.

Paris S, Schwendicke F, Keltsch J, Dörfer C, Meyer-Lueckel H. Masking of white spot lesions by resin infiltration in vitro. *J Dent.* 2013 Nov;41 Suppl 5:e28-34.

Pires, AC. Análise do valor preditivo dos componentes volumétricos do esmalte cariado no volume infiltrado por resina infiltrante [Dissertação]. João Pessoa: UFPB; 2016.

Ratledge DK. A clinical and laboratory investigation of the tunnel restoration. Division of Conservative Dentistry. London: University of London; 1999.

Robinson C, Brookes SJ, Kirkham J, Wood SR, Shore RC. In vitro studies of the penetration of adhesive resins into artificial caries-like lesions. *Caries Res.* 2001; 35(2):136-41.

Robinson C, Hallsworth AS, Weatherell JA, Künzel W. Arrest and control of carious lesions: a study based on preliminary experiments with resorcinol-formaldehyde resin. *J Dent Res.* 1976; 55(5):812-8.

Saxena P, Pant A, Gupta S, Pant V. Release and toxicity of dental resin composite. *Toxicol Int.* 2012;19(3):225.

Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB. Dental caries. *Lancet.* 2007; 369(9555):51-9.

Silverstone LM. Structure of Carious Enamel, Including the Early Lesion. *Oral. Sci. Rev.* 1973; 3: 100-160.

Sousa FB, Lelis IMP, Figueiredo RCBQ, Pires AC, Gerlach RF: Quantitative study of the proportion of the pore volume of human fluorotic enamel filled by resin infiltrant. *Arch Oral Biol* 2017;82: 134–140.

Sousa FB, Vianna SS, Santos-Magalhães NS. A new approach for improving the birefringence analysis of dental enamel mineral content from polarizing microscopy. *J. Microsc.* 2006; 221(2): 79–83.

Sousa FB, Vianna SS, Santos-Magalhães NS. Dental enamel birefringence for a wide mineral content range and for different immersion media's refractive indexes: an improved mathematical interpretation. *J. Microsc.* 2009; 23(1): 69- 75.

- Splieth CH, Ekstrand KR, Alkilzy M, Clarkson J, Meyer-Lueckel H, Martignon S et al. Sealants in dentistry: outcomes of the ORCA Saturday Afternoon Symposium 2007. *Caries Res.* 2010; 44(1): 3-13.
- Srinivasan S, Murthy PS, Deshmukh S, Shamsundar NM. A comparative study to associate the presence of neonatal line in deciduous teeth of infants with the occurrence of live birth. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 2017; 35(3): 249-53.
- Tanner, AC, Kressirer, CA, Faller, LL. 2016. Understanding caries from the oral microbiome perspective. *J Calif Dent Assoc.* 44(7):437–446.
- Thylstrup A, Fejerskov, O. *Cariologia básica.* 2^a Ed. São Paulo: Ed. Santos; 1995.
- Tinanoff, N. (2019). Dental Caries. *Pediatric Dentistry*, 169–179.
- Urquhart, O, Tampi, MP, Pilcher, L, Slayton, RL, Araujo, MWB, Fontana, M, Guzmán-Armstrong, S, Nascimento, MM, Nový, BB, Tinanoff, N, Weyant, RJ, Wolff, MS, Young, DA, Zero, DT, Brignardello-Petersen, R, Banfield, L, Parikh, A, Joshi, G, & Carrasco-Labra, A. (2019). Nonrestorative Treatments for Caries: Systematic Review and Network Meta-analysis. *Journal of Dental Research*, 98(1), 14–26.
- World Health Organization. 2018. Oralhealth. http://www.who.int/oral_health/disease_burden/global/en/
- Zahradnik RT, Moreno EC. Structural features of human dental enamel as revealed by isothermal water vapour sorption. *Arch. Oral Biol.* 1975; 20: 317- 25.
- Zhan, L. (2018). Rebalancing the Caries Microbiome Dysbiosis: Targeted Treatment and Sugar Alcohols. *Advances in Dental Research*, 29(1), 110–116.

5 CONCLUSÃO

Pode-se concluir que:

- Dentro das limitações deste estudo in vitro, que a composição do infiltrante altera o volume ocluído por resina infiltrante e que o grupo com características hidrofílicas (TH) resultou num maior potencial de penetração quando comparado ao grupo Icon® e ao grupo com características hidrófobas (TB).
- O volume ocluído por resina infiltrante no grupo Icon® variou em aproximadamente 1 e 17%, no grupo TB em 0 a 15% e no grupo TH em 0 a 16%.

REFERÊNCIAS

- ABRAMOFF, M.D.; MAGALHÃES, P.J.; RAM, S.J. Image Processing with ImageJ. **Biophotonics International**, v.11, n.7, p.36-42, 2004.
- ABOU NEEL, E.A.; ALJABO, A.; STRANGE, A.; IBRAHIM, S.; COATHUP, M.; YOUNG, A.M.; BOZEC, L.; MUDERA, V. Demineralization-remineralization dynamics in teeth and bone. **Int J Nanomedicine**, v.19, n.11, p.4743-4763, 2016.
- ANGMAR-MANSSON, B. A polarization microscopic and micro X-ray diffraction study on the organic matrix of developing human enamel. **Arch. Oral Biol.**, v.16, n.2, p.147-156, 1971.
- ARAÚJO, G. S.A.; SFALCIN, R.A.; ARAÚJO, T. G. F.; ALONSO, R. C. B.; PUPPIN-RONTANI, R. M. Evaluation of polymerization characteristics and penetration into enamel caries lesions of experimental infiltrants. **J Dent**, v.41, p. 1014–1019, 2013.
- BATCHELOR, P.; SHEIHAM, A. The limitations of a “high-risk” approach for the prevention of dental caries. **Community Dent Oral Epidemiol.**, v.30, n.4, p.302-312, 2002.
- BELTRAN, E.O. et al. Caries classification and management in the context of the CariesCare International (CCITM) consensus: a clinical case study. **British Dental Journal**, [S.l.], v. 227, n. 5, p. 363–366, 2019.
- BISWAS, N.; DEY, A.; KUNDU, S.; CHAKRABORTY, H.; MUKHOPADHYAY, AK. Mechanical Properties of Enamel Nanocomposite. **ISRN Biomaterials**. Hindawi Publishing Corporation, v.2013, p.1-15, 2013.
- CARLSTROM, D.; GLAS, J.E.; ANGMAR, B. Studies on the ultrastructure of dental enamel. V. The state of water in human enamel. **J. Ultrastruct. Res.**, v. 8, n.1-2, p.24-29, 1963.
- COHEN, J. **Statistical power analysis for behavioral sciences**. 2^a ed. Nova Iorque: Lawrence Erlbaum, 1988.
- COCHRANE, N.J.; CAI, F.; HUQ, N.L.; BURROW, M.F.; REYNOLDS, E.C. New approaches to enhanced remineralization of tooth enamel. **J Dent Res**, v.89, n.11, p. 1187-1197, 2010.
- DARLING, A.I. Studies of the early lesion of enamel caries. **Br. Dent. J**, v.105, p.119 -135, 1958.
- DARLING, A.I. The selective attack of caries on the dental enamel. **Ann R Coll Surg Enge**, v. 29, p.354-369, 1961.
- DAVILA, J.M.; BUONOCORE, M.G.; GREELEY, C.B.; PROVENZA, D.V. Adhesive penetration in human artificial and natural white spots. **J Dent Res**, v.54, p.999 – 1008, 1975.
- De ANDRADE, E.L.A. ; FIGUEIREDO, J. T. ; RIBEIRO, N. M. ; SEABRA, R. ; GERLACH, R. F. ; de Sousa, Frederico Barbosa . Variation in mineral, organic, and water volumes at the neonatal line and in pre- and postnatal enamel. **ARCHIVES OF ORAL BIOLOGY** , v. 118, p. 104850, 2020.

- DIBDIN, G.H. The water in human dental enamel and diffusional exchange measured by clearance of tritiated water from enamel slabs of varying thickness. **Caries Res**, v.27, n.2, p.81- 86, 1993.
- FAUSTINO-SILVA, D. D.; COLVARA, B. C.; MEYER, E.; HUGO, F. N.; CELESTE, R. K.; HILGERT, J. B. Motivational interviewing effects on caries prevention in children differ by income: A randomized cluster trial. **Community Dentistry and Oral Epidemiology**, v.00, p.1-8, 2019.
- FEATHERSTONE, J.D. The science and practice of caries prevention. **J Am Dent Assoc**, v.131, n.7, p.887-899, 2000.
- FEJERSKOV, O; KIDD, E. **Cárie: A doença e seu tratamento clínico**, 2^a ed. São Paulo: Santos; 2011.
- FEJERSKOV, O.; NYVAD, B.; KIDD, E. **Cárie dentária: fisiopatologia e tratamento**. 3^a edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2017
- FERREIRA, D. A. H.; AIRES, C. P.; de FIGUEIREDO, R. C. B. Q.; de SOUSA, F. B. High Amount of Organic Matter during Caries Formation Reduces Remineralization and Resin Infiltration of Enamel Caries. **Caries Res**, v. 52, p.580–587. 2018.
- FIELD, A. **Discovering Statistic Using SPSS**. London: SAGE; 2009.
- HARGREAVES, J.A.; THOMPSON, G.W.; WAGG, B.J. Changes in caries prevalence in Isle of Lewis children between 1971 and 1981. **Caries Res**, v.17, n.6, p.554-559, 1983.
- HE, L.H.; SWAIN, M.V. Understanding the mechanical behavior of human enamel from its structural and compositional characteristics. **J. Mech Beh of Biomed. Mater**, v.1, n.1, p.18-29, 2008.
- INNES, N.P.T. et al. Managing Carious Lesions: Consensus Recommendations on Terminology. *Advances in dental research*, [S. l.], v.28, n. 2, p. 49–57, 2016.
- JENKINS, G.N. Recent changes in dental caries. **Br Med J**, v.291, n.6505, p.1297-1298, 1985.
- KATCHBURIAN, E.; ARANA, V. **Histologia e embriologia oral: texto, atlas, correlações clínicas**. 4^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.
- KASSEBAUM, N.J.; BERNABE, E.; DAHIYA, M.; BHANDARI, B.; MURRAY, C.J.; MARCENES, W. Global burden of untreated caries: a systematic review and metaregression. **J Dent Res.**, v.94, n.5, p.650-658, 2015.
- KEREBEL, B.; DACULSI, G.; KEREBEL, L.M. Ultrastructural studies of enamel crystallites. **J Dent Res**, v.58, n. especial B, p.844-851, 1979.
- LAGERWEIJ, M.D.; JOSSELIN DE LONG, E.; TEN CATE, J.M. The videocamera compared with the densitometer as a scanning device for microradiography. **Caries Res**, v.28, p.353-362, 1994.

LAKATOS, E. M., MARCONI, M. A. **Fundamentos de metodologia científica**. 7ed. São Paulo: Atlas, 2010.

LISTL, S.; GALLOWAY, J.; MOSSEY, P.A.; MARCENES, W. Global economic impact of dental diseases. **J Dent Res.**, v.94, n.10, p.1355-1361, 2015.

MACENA, M.A.S.; LEITE, M.L.A.; GOUVEIA, C.L.; ATHAYDE, P.; ALCONFORADO, T.; SOUSA, F.B. A comparative study on component volumes from outer to inner dental enamel in relation to enamel tufts. **Archives of oral biology**, v.59, n.6, p.568-577, 2014.

Maciel, P.P. Avaliação da hibridização do esmalte dentário através de fluxo eletrocínético [Dissertação]. João Pessoa: UFPB; 2014.

MARCENES, W.; KASSEBAUM, N.J.; BERNABÉ, E.; FLAXMAN, A.; NAGHAVI, M.; LOPEZ, A.; MURRAY, C.J.L. Global Burden of Oral Conditions in 1990-2010: A Systematic Analysis. **J Dent Res**, v.20, n.10, p.1-6, 2013.

MARGOLIS, H.C.; ZHANG, Y.P.; LEE, C.Y.; KENT, R.L.; MORENO, E.C. Kinetics of enamel demineralization in vitro. **J Dent Res**, v.78, n.7, p.1326-1335, 1999.

MEDEIROS, R.C.G.; DE LIMA, T.A.S.; GOUVEIA, C.R.; SOUSA, F. B. Water loss at normal enamel histological points during air drying at room temperature. **J. Microsc**, v.250, n.3, p.218-227, 2013.

MEYER-LUCKEL, H.; PARIS, S.; EKSTRAND, K. **Caries management – science and clinical practice**. 1ª Ed. New York: Thieme, 2013.

MEYER-LUECKEL, H.; PARIS, S. Improved resin infiltration of natural caries lesions. **J Dent Res**, v.87, n.12, p.1112-1116, 2008.

NARVAI, P.C.; CASTELLANOS, R.A.; FRAZAO, P. Dental caries prevalence in permanent teeth of schoolchildren in the Municipality of Sao Paulo, Brazil, 1970-1996. **Rev Saude Publica**, v.34, n.2, p.196-200, 2000.

NEUHAUS, K.W.; SCHLAFER, S.; LUSSI, A.; NYVAD, B. Infiltration of natural caries lesions in relation to their activity status and acid pretreatment in vitro. **Caries Res**, v.47, n.3, p.203-210, 2013.

NÓBREGA, M. T. C., DANTAS, E. L. de A., ALONSO, R. C. B., ALMEIDA, L. de F. D. de, PUPPIN-RONTANI, R. M., SOUSA, F. B. D. Hydrolytic degradation of different infiltrant compositions within different histological zones of enamel caries like-lesions. **Dental Materials Journal**, 2020;v.39, n.3, p.449-455, 2020.

NYVAD, B.; BAELUM, V. Nyvad Criteria for Caries Lesion Activity and Severity Assessment: A Validated Approach for Clinical Management and Research. **Caries Research**, v.52, n.5, p.397-405, 2018.

NYVAD, B.; MACHIULSKIENE, V.; BAELUM, V. Reliability of a new caries diagnostic system differentiating between active and inactive caries lesions. **Caries Res**, v.33, n.4, p.252-260, 1999.

ORAMS, H.J.; PHAKEY, P.P.; RACHINGER, W.A.; ZYBERT, J.J. Visualization of micropore structure in human dental enamel. **Nature**, v.252, n. 5484, p.584-585, 1974.

PARIS, S.; MEYER-LUECKEL, H.; CÖLFEN, H.; KIELBASSA, A.M. Penetration coefficients of commercially available and experimental composites intended to infiltrate enamel carious lesions. **Dent Mater**, v.23, n.6, p.742-748, 2007.

PARIS, S.; MEYER-LUECKEL, H. Masking of labial enamel white spot lesions by resin infiltration—a clinical report. **Quintessence International**, v.40, n.9, p.713-718, 2009.

PARIS, S.; HOPFENMULLER, W.; MEYER-LUECKEL, H. Resin infiltration of caries lesions: an efficacy randomized trial. **J Dent Res**, v.89, n. 8, p.823-826, 2010.

PARIS, S.; MEYER-LUECKEL, H. Infiltrants inhibit progression of natural caries lesions in vitro. **J Dent Res**, v.89, n.11, p.1276–1280, 2010.

PETERSEN, P.E.; BOURGEOIS, D.; OGAWA, H.; ESTUPINAN-DAY, S., NDIAYE, C. The global burden of oral diseases and risks to oral health. **Bull World Health Organ**, 2005 Sep; v.83, n.9, p.661-669, 2005.

Pires, A. C. **Análise do valor preditivo dos componentes volumétricos do esmalte cariado no volume infiltrado por resina infiltrante** [Dissertação]. João Pessoa: UFPB; 2016.

RATLEDGE, D.K. **A clinical and laboratory investigation of the tunnel restoration**. Division of Conservative Dentistry. London: University of London, 1999.

ROBINSON, C.; HALLSWORTH, A.S.; WEATHERELL, J.A.; KUNZEL, W. Arrest and control of carious lesions: a study based on preliminary experiments with resorcinol-formaldehyde resin. **J Dent Res**, v.55, n.5, p.812-818, 1976.

ROBINSON, C.; BROOKES, S.J.; KIRKHAM, J.; WOOD, S.R.; SHORE, R.C. In vitro studies of the penetration of adhesive resins into artificial caries-like lesions. **Caries Res**, v.35, n.2, p.136-141, 2001.

RODDA, J.C. Impregnation of caries-like lesions with dental resins. **N Z Dent J**, v.79, n.358, p.114-117, 1983.

SELWITZ, R.H.; ISMAIL, A.I.; PITTS, N.B. Dental caries. **Lancet**, v. 369, n.9555, p.51-59, 2007.

SHEIHAM, A., JAMES, W.P. A new understanding of the relationship between sugars, dental caries and fluoride use: implications of limits on sugar consumption. **Public Health Nut.**, v.17, n.10, p.1-9, 2014.

SHIRBAK, M. Complete polarization state generator with one variable retarder and its application for fast and sensitive measuring of two-dimensional birefringence distribution. **Journal of the Optical Society of America A**, v.28, n.3, p.410-419, 2011.

SILVA, A.F.; LUND, R.G. **Dentística restauradora: do planejamento à execução**. 1ª edição. Rio de Janeiro: Santos; 2016.

SILVERSTONE, L.M. The surface zone in caries and in caries like lesions produced in vitro. **Br Dent J**, v.125, p.145-157, 1968.

SILVERSTONE, L.M. Structure of Carious Enamel, Including the Early Lesion. **Oral. Sci. Rev.**, v.3, p.100-160, 1973.

SOUSA, F.B.; SOARES, J.D.; VIANNA, S.S. Natural enamel caries: a comparative histological study on biochemical volumes. **Caries Res.**, v.47, n. 3, p.183-192, 2013.

SOUSA, F.B.; VIANNA, S.S.; SANTOS-MAGALHÃES, N.S. Dental enamel birefringence for a wide mineral content range and for different immersion media's refractive indexes: an improved mathematical interpretation. **J. Microsc.**, v.23, n.1, p.69-75, 2009.

SOUSA, F.B.; VIANNA, S.S.; SANTOS-MAGALHÃES, N.S. A new approach for improving the birefringence analysis of dental enamel mineral content from polarizing microscopy. **J. Microsc.**, v.221, n.2, p.79-83, 2006.

SPLIETH, C.H.; EKSTRAND, K.R.; ALKILZY, M.; CLARKSON, J.; MEYER-LUECKEL, H.; MARTIGNON, S.; PARIS, S.; PITTS, N.B.; RICKETTS, D.N.; VAN LOVEREN, C. Sealants in dentistry: outcomes of the ORCA Saturday Afternoon Symposium 2007. **Caries Res**, v. 44, p.3-13, 2009.

TEN CATE. *Histologia Oral: desenvolvimento, estrutura e função* / Antonio Nanci 9ª. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2019.

THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O. **Cariologia básica**. 2ª Ed. São Paulo: Ed. Santos, 1995.

TINANOFF, N. Dental Caries. **Pediatric Dentistry**, cap.12, p.169–179, 2019.

URQUHART, O.; TAMPI, M.P; PILCHER, L.; SLAYTON, R.L.; ARAUJO, M.W.B; FONTANA, M.; GZMÁN-ARMSTRONG, S.; NASCIMENTO, M.M.; NOVÝ, B.B.; TINANOFF, N.; WEYANT, R.J.; WOLFF, M.S.; YOUNG, D.A.; ZERO, D.T.; BRIGNARDELLO-PETERSEN, R.; BANFIELD, L.; PARIKH, A.; JOSHI, G.;CARRASCO-LABRA, A. Nonrestorative Treatments for Caries: Systematic Review and Network Meta-analysis. **Journal of Dental Research**, v.98, n.1, p.14–26, 2020.

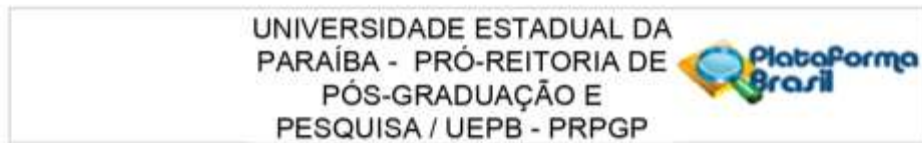
SRINIVASAN, S.; MURTHY, P.S.; DESHMUKH, S.; SHAMSUNDAR, N.M. A comparative study to associate the presence of neonatal line in deciduous teeth of infants with the occurrence of live birth. **J Indian Soc Pedod Prev Dent**, v.35, n.3, p. 249-253, 2017.

WASHBURN, E.W. The Dynamics of Capillary Flow. **Physical Review**, v.17, n.3, p.273-283, 1921.

ZAHRADNIK, R.T.; MORENO, E.C. Structural features of human dental enamel as revealed by isothermal water vapour sorption. **Arch. Oral Biol.**, v.20, p.317-325, 1975.

ZHAN, L. Rebalancing the Caries Microbiome Dysbiosis: Targeted Treatment and Sugar Alcohols. **Advances in Dental Research**, v.29, n.1, p.110–116, 2018.

ANEXO A - Parecer consubstanciado do CEP.



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: EFEITO DA COMPOSIÇÃO DO INFILTRANTE RESINOSO NO VOLUME OCLUÍDO POR INFILTRANTE NA LESÃO CARIOSA NATURAL DE ESMALTE

Pesquisador: Andressa Cavalcanti Pires

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 25103619.3.0000.5187

Instituição Proponente: Universidade Estadual da Paraíba - UEPB

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.776.486

Apresentação do Projeto:

Este estudo será laboratorial, experimental, com análise descritiva e técnica de observação direta.

Objetivo da Pesquisa:

Testar a hipótese de que o tipo de infiltrante afeta no volume de poros ocluídos por infiltrante em lesões cariosas naturais de esmalte.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Este projeto apresenta riscos, uma vez que nesta pesquisa, o doador do elemento dentário não poderá se certificar pessoalmente de todas as análises a serem feitas nos laboratórios com o material doado. O pesquisador possui o risco de infecção cruzada através dos elementos doados caso não sejam bem higienizados. Os benefícios superam possíveis riscos: Espera-se entender o volume infiltrado e não infiltrado, e como aumentar o volume infiltrado através de modificações dos componentes do esmalte. Poderá contribuir em modificações na resina fluida para ser um tratamento não invasivo eficaz. Além de possibilitar a formulação de um novo infiltrante no mercado.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A proposta do projeto é relevante, uma vez poderá trazer adicionar ao conhecimento e possibilitar

Endereço: Av. das Barúbas, 351- Campus Universitário			
Bairro: Bodocongó		CEP: 58.109-753	
UF: PB	Município: CAMPINA GRANDE		
Telefone: (83)3315-3373	Fax: (83)3315-3373	E-mail: cep@uepb.edu.br	

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA
PARAÍBA - PRÓ-REITORIA DE
PÓS-GRADUAÇÃO E
PESQUISA / UEPB - PRPGP**



Continuação do Parecer: 3.776.486

modificações em resinas do mercado.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O projeto apresenta todos os termos de apresentação obrigatórios devidamente assinados.

Recomendações:

O projeto apresenta metodologia adequada ao que se propõe e apresenta todos os termos de apresentação obrigatórios devidamente assinados.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O projeto apresenta todos os termos de apresentação e metodologicamente atende ao que se propõe. O projeto está aprovado.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1466123.pdf	09/12/2019 21:52:38		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_editado.pdf	09/12/2019 21:52:03	Andressa Cavalcanti Pires	Aceito
Parecer Anterior	PB_PARECER_CONSUBSTANCIADO_CEP_2089533_E1.pdf	05/11/2019 22:55:05	Andressa Cavalcanti Pires	Aceito
Folha de Rosto	folha_De_Rosto_atualizada.pdf	05/11/2019 22:13:13	Andressa Cavalcanti Pires	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	05/11/2019 21:39:36	Andressa Cavalcanti Pires	Aceito
Outros	TERMO_DE_AUTORIZACAO_INSTITUCIONAL.pdf	05/11/2019 21:37:33	Andressa Cavalcanti Pires	Aceito
Outros	termo_doacao_dentes_humanos.pdf	05/11/2019 21:33:34	Andressa Cavalcanti Pires	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_CEP_Andressa_Cavalcanti_2019.pdf	05/11/2019 21:31:59	Andressa Cavalcanti Pires	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Endereço: Av. das Baraúnas, 351- Campus Universitário
Bairro: Bodocongó **CEP:** 58.109-753
UF: PB **Município:** CAMPINA GRANDE
Telefone: (83)3315-3373 **Fax:** (83)3315-3373 **E-mail:** cep@uepb.edu.br

UNIVERSIDADE ESTADUAL DA
PARAÍBA - PRÓ-REITORIA DE
PÓS-GRADUAÇÃO E
PESQUISA / UEPB - PRPGP



Continuação do Parecer: 3.776.486

Necessita Apreciação da CONEP:
Não

CAMPINA GRANDE, 17 de Dezembro de 2019

Assinado por:
Dóris Nóbrega de Andrade Laurentino
(Coordenador(a))

Endereço: Av. das Baraúnas, 351- Campus Universitário
Bairro: Bodocongó **CEP:** 58.109-753
UF: PB **Município:** CAMPINA GRANDE
Telefone: (83)3315-3373 **Fax:** (83)3315-3373 **E-mail:** cep@uepb.edu.br

ANEXO B- Instruções para autores (Caries research)

Caries Research

Author Guidelines

About the Journal

Aims and Scope

Caries Research publishes epidemiological, clinical, and laboratory studies in dental caries, fluorosis, erosion, and related dental diseases. Some studies build on the considerable advances already made in caries prevention, e.g. through fluoride application. Some aim to improve understanding of the increasingly important problem of dental erosion and the associated tooth wear process. Others monitor the changing pattern of caries in different populations, explore improved methods of diagnosis, or evaluate methods of prevention or treatment. Studies using genetic methods to identify human genes or mutations associated with caries prevalence are welcome as are manuscripts using modern high-throughput sequencing methods to characterize microbial biofilms associated with oral health and active caries. The broad coverage of innovative research into dental caries is unique and has given the journal an outstanding international reputation as an indispensable source for both basic scientists and clinicians engaged in understanding, investigating, and preventing dental diseases.

Journal Sections

Current Topics

Current topics are concise articles that present critical discussion of a topic of current interest, or a fresh look at a problem, and should aim to stimulate discussion.

Article Types

Research Article

Research Articles report on primary research. They must describe significant and original observations. Consideration for publication is based on the article's originality, novelty, and scientific soundness, and the appropriateness of its analysis.

Research Articles are reports of original work. Authors are asked to follow the [EQUATOR Network](#) for Research Articles.

Prior approval from an Institutional Review Board (IRB) or an Ethics Review Committee is required for all investigations involving human subjects. A downloadable template is available below.

Documents

[Research Article](#) (DOCX, 29.01 KB)

Review Article

Review Articles are considered reviews of research or summary articles. They are state-of-the-art papers covering a current topic by experts in the field. They should give evidence on and provide answers to a well-defined aspect or question in a particular area. Review Articles must include a critical discussion of the reported data and give a clear conclusion with potential impacts on the standard of care.

A downloadable template is available below.

Documents

[Review Article](#) (DOCX, 23.99 KB)

Systematic Review

Systematic Reviews are literature reviews focused on a research question that synthesizes all high-quality research evidence relevant to that question. Systematic Reviews should be presented in the Introduction, Methods, Results, Discussion format. The subject must be clearly defined. The objective of a Systematic Review should be to arrive at an evidence-based conclusion. The Methods section should give a clear indication of the literature search strategy, data extraction procedure, grading of evidence, and kind of analysis used. We strongly encourage authors to comply with the [Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses \(PRISMA\) guidelines](#).

A downloadable template is available below.

Documents

[SystematicReview](#) (DOCX, 27.29 KB)

Brief Report

Brief Reports are short and/or rapid announcements of research results. They must contain data derived from cutting-edge research and be of potential interest to a large proportion of the readership. They are independent, concise reports representing a significant contribution to the field. Such communications should represent complete, original studies and should be arranged in the same way as full-length manuscripts with subheadings.

A downloadable template is available below.

Documents

[Brief Report](#) (DOCX, 27.04 KB)

Brief reports should have an abstract of 100 words. Manuscripts should not exceed 9 manuscript pages (including tables, illustrations and references).

Letter

Letters may explore subjects related to matters discussed in the journal, providing the author's perspective on a subject. Letters may discuss a recently published article and may lend support or constructively critique the article in line with the author's experience. The editors reserve the right to share such letters to the authors of the article concerned prior to publication in order to permit response, ideally in the same issue of the journal. Letters should not include original data.

A downloadable template is available below.

Documents

[Letter](#) (DOCX, 23.06 KB)

Contact Information

Should you have any problems with your submission, please contact the editorial office:
Editorial Office 'Caries Research'

S. Karger AG

P.O. Box

CH-4009 Basel (Switzerland)
Email: editorialoffice_cre@karger.com

Editorial and Journal Policies

General Conditions

Only papers written in English are considered. The articles should be comprehensible to a reader who is fluent in English and should be edited prior to submission to ensure that standard English grammar and usage are observed. Use of a professional language editing service prior to submission can help avoid delays with the review process.

All manuscripts are subject to editorial review.

The presentation of manuscripts should follow the Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals from the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE).

Karger Publishers is a member of the Committee on Publication Ethics (COPE). Karger journals aim to adhere to the COPE Code of Conduct and Best Practice Guidelines.

By submitting an article for publication, the authors agree to the transfer of the copyright to the publisher upon acceptance. Accepted papers become the permanent property of the Journal and may not be reproduced by any means, in whole or in part, without the written consent of the publisher.

Karger recommends the use of original images and materials whenever possible. If a submitted manuscript contains third-party copyright material(s), it is the authors' sole responsibility to obtain permission from the relevant copyright holder for reusing the material(s), including any associated licensing fee. The copyright and usage information needs to be checked carefully to avoid copyright infringement. The author(s) is and will remain personally liable for any copyright infringements.

Most publishers offer a quick and easy way to clear permissions for their content via the built-in website application RightsLink or via <https://www.copyright.com/get-permissions/>. Another widely used licensing tool is PLSClear. Please check the publishers' websites for the available options and user instructions.

The authors agree that their name, affiliation with their institution and contact details will be available to third parties after the article has been published. Those third parties may be placed within or outside of the European Economic Area.

Statements

All submitted manuscripts must contain a statements section after the main body of the text, but before the reference list.

Statement of Ethics

Published research must comply with internationally-accepted standards for research practice and reporting. Manuscripts may be rejected if the editors believe that the research has not been carried out within an appropriate ethical framework, and concerns raised after publication may lead to a correction, retraction, or expression of concern in line with COPE guidelines.

Studies involving human subjects (including research on identifiable human material and data) must have been performed with the approval of an appropriate ethics committee and with appropriate participants' informed consent in compliance with the Helsinki Declaration.

In the manuscript, authors should specify the name of the ethics committee or other relevant authority who approved the study protocol and provide the reference number where appropriate. If ethics approval was not required, or if the study has been granted an exemption from requiring ethics approval, this should also be detailed in the manuscript (including the name of the ethics committee who made that decision).

For all research involving human subjects, written informed consent to participate in the study should be obtained from participants (or their parent/legal guardian where appropriate) and a statement detailing this should appear in the manuscript. For studies involving vulnerable participants or participants at risk of potential coercion, detailed information regarding the steps taken to ensure informed consent must be provided. If consent was not obtained, please specify why and whether this was approved by the ethics committee.

In line with the ICMJE recommendations on the protection of research participants, authors must avoid providing identifying information unless strictly necessary for the submission and participants' identifiable attributes must be anonymized in the manuscript and its supplementary files, if any. If identifying information is necessary, authors must confirm that the individual has provided written consent for the use of that information in a publication.

Research involving human embryonic stem cells, embryonic germ cells or induced pluripotent stem cells should comply with the ISSCR 'Guidelines for the Conduct of Human Embryonic Stem Cell Research' or an equivalent set of guidelines or applicable regulations.

Case Reports: Manuscripts reporting a case report must include a statement detailing that written informed consent for publication was obtained and from whom (e.g. "Written

informed consent was obtained from the patient for publication of this case report and any accompanying images.”). If the patient has died, consent for publication must be obtained from their next of kin. If the patient described in the case report is a minor or vulnerable, then consent for publication must be obtained from the parent/legal guardian. The completed consent form must be made available to the Editor if requested, and will be treated confidentially.

Clinical Trials: In accordance with the [ICMJE recommendations](#), all clinical trials should be registered in a publicly available registry approved by the WHO or ICMJE (see the list [here](#)) and the clinical trial number must be clearly stated in the manuscript. Manuscripts reporting clinical trials must adhere to the relevant reporting guidelines for their study design, such as [CONSORT](#) for randomized controlled trials, [TREND](#) for non-randomized trials, or other relevant reporting guidelines as detailed on the [Equator network website](#).

Karger follows the [WHO definition](#) of clinical trials *"A clinical trial is any research study that prospectively assigns human participants or groups of humans to one or more health-related interventions to evaluate the effects on health outcomes [...] Interventions include but are not restricted to drugs, cells and other biological products, surgical procedures, radiologic procedures, devices, behavioural treatments, process-of-care changes, preventive care, etc. This definition includes Phase I to Phase IV trials."*

Studies involving animals: Experimental research on vertebrates or any regulated invertebrates must have been approved by the authors' Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC) or equivalent ethics committee and must follow internationally recognized guidelines such as the [ARRIVE](#) guidelines. In the manuscript, authors should specify the name of the ethics committee or other relevant authority who approved the study protocol and provide the reference number where appropriate.

If ethics approval was not required, or if the study has been granted an exemption from requiring ethics approval, this should also be detailed in the manuscript (including the name of the ethics committee who made that decision). Additional information is expected for studies reporting death of a regulated animal as a likely outcome or planned endpoint. Other types of studies including field studies and non-experimental research on animals must comply with local or international guidelines, and where appropriate must have been approved by an appropriate ethics committee.

Please note if authors are submitting to a journal with a double blind peer review policy, the Ethics Statement should be anonymized where appropriate.

Conflict of Interest Statement

Karger endorses the [ICMJE recommendations](#) on the ‘Disclosure of Financial and Non-Financial Relationships and Activities, and Conflicts of Interest’. Authors are required to disclose any relationship that could reasonably be perceived by a reader as a potential conflict of interest at the time of submission. All forms of support and financial involvement (e.g. employment, consultancies, honoraria, stock ownership and options, expert testimony, grants or patents received or pending, royalties) which took place in the previous three years should be listed, regardless of their potential relevance to the paper. Also the nonfinancial relationships (personal, political, or professional) that may potentially influence the writing of the manuscript should be declared. The role of the funder in study design; collection, analysis,

and interpretation of data; writing of the report; any restrictions regarding the submission of the report for publication should be declared. If the funder had no role in any of the above, this should be clearly stated in the manuscript's funding section.

Please note if authors are submitting to a journal with a double blind peer review policy, the Conflict of Interest statement should be anonymized where appropriate.

Author Contributions Statement

In the Author Contributions section, a short statement detailing the contributions of each person named as an author should be included. Contributors to the paper who do not fulfill the ICMJE Criteria for Authorship should be credited in the Acknowledgement section. If an author is removed from or added to the listed authors after submission, an explanation and a signed statement of agreement confirming the requested change are required from all the initially listed authors and from the author to be removed or added.

Please note if authors are submitting to a journal with a double blind peer review policy, the Author Contributions statement should be anonymized where appropriate.

Data Availability Statement

The journal's data sharing policy strongly encourages authors to make all datasets on which the conclusions of the paper rely available to editors, reviewers and readers without unnecessary restriction wherever possible. Authors are required to provide a Data Availability Statement in their article that details whether data are available and where they can be found. In cases where research data are not publicly available on legal or ethical grounds, this should be clearly stated in the Data Availability Statement along with any conditions for accessing the data. The decision to publish will not be affected by whether or not authors share their research data.

Examples of Data Availability statements:

- The data that support the findings of this study are openly available in [repository name e.g "figshare"] at [http://doi.org/\[doi\]](http://doi.org/[doi]), reference number [reference number]
- Publicly available datasets were used in this study. These can be found in [repository name e.g "figshare"] at [http://doi.org/\[doi\]](http://doi.org/[doi]), reference number [reference number]
- All data generated or analyzed during this study are included in this article. Further enquiries can be directed to the corresponding author.
- All data generated or analyzed during this study are included in this article and its supplementary material files. Further enquiries can be directed to the corresponding author.
- The data that support the findings of this study are not publicly available due to [REASON WHY DATA ARE NOT PUBLIC e.g. their containing information that could compromise the privacy of research participants] but are available from [e.g. the corresponding author [author initials] OR Data sharing committee [PROVIDE CONTACT DETAILS including email address] upon reasonable request]
- The data in this study was obtained from [third party source] where [RESTRICTIONS/LICENCE] may apply. Such dataset may be requested from [source contact information].

Please note if authors are submitting to a journal with a double blind peer review policy, the data availability statement should be anonymized where appropriate.

Definition of research data: This policy applies to the research data that would be required to verify the results of research reported in articles published in the journal. Research data include data produced by the authors (“primary data”) and data from other sources that are analysed by authors in their study (“secondary data”). Research data includes any recorded factual material that are used to produce the results in digital and non-digital form. This includes, but is not limited to, tabular data, code, images, audio, documents, video, maps, raw and/or processed data.

For images, Karger requests that individual/unique features within an image are not modified, and image-processing methods do not alter the original image information (the use of software and/or enhancement technique must be disclosed in the methods section). Any concerns raised over inappropriate image modification will be investigated in accordance with COPE guidelines.

Policy exceptions: This policy does not require public sharing of quantitative or qualitative data that could identify a research participant unless participants have consented to data release. The policy also does not require public sharing of other sensitive data, such as the locations of endangered species. Alternatives to public sharing of sensitive or personal data include:

- Depositing research data in controlled access repositories
- Anonymizing or deidentifying data before public sharing
- Only sharing metadata about the research data
- Stating the procedures for accessing your research data in the article and managing data access requests from other researchers

Embargoes: Embargoes on data sharing are permitted but should be clearly stated in the data availability statement, including the reason for embargo, date of the end of the embargo period and how and where the data can be accessed following the end of the embargo period. Please note that all datasets on which the conclusions of the paper rely must be made available to editors and reviewers if requested to facilitate the review process.

Data repositories: The preferred mechanism for sharing research data is via public data repositories. We encourage authors to select a data repository that issues a persistent identifier, preferably a Digital Object Identifier (DOI), and has established a robust preservation plan to ensure the data is preserved in perpetuity. Additionally, we highly encourage researchers to consider the [FAIR Data Principles](#) when depositing data. Authors are encouraged to deposit their research data in a repository that has been widely adopted within their research community, suitable repositories per each area and data type can be searched using the FAIRsharing database tool (<https://fairsharing.org/databases/>) or via <https://repositoryfinder.datacite.org>.

If no such database is available authors may use a general data repository. Examples of general data repositories include:

- Figshare (www.figshare.com)
- Dryad (www.datadryad.org)
- Zenodo (www.zenodo.org)
- Open Science Framework (<https://osf.io/>)

If authors are submitting an article to a journal with a double blind peer review policy, they should deposit their data in a repository that allows them to temporarily preserve anonymity such as Figshare (“private sharing link”) or Dryad (“private for peer review”).

Data citation: The journal encourages authors to cite any publicly available research data in their reference list. References to datasets (data citations) must include a persistent identifier

(such as a DOI). Citations of datasets, when they appear in the reference list, should include the minimum information recommended by DataCite (e.g. author(s), title, publisher (repository name), DOI) and follow journal style.

Data licensing: The journal encourages research data to be made available under open licences that permit reuse freely. The journal does not enforce particular licenses for research data, where research data are deposited in third party repositories. The publisher of the journal does not claim copyright for research data.

Reference: Hrynaskiewicz, I, Simons, N, Hussain, A, Grant, R and Goudie, S. 2020. Developing a Research Data Policy Framework for All Journals and Publishers. Data Science Journal, DOI: <http://doi.org/10.5334/dsj-2020-005>.

Plagiarism

Plagiarism, whether intentional or not, is not tolerated in Karger's journals. Plagiarism includes, but is not limited to, copying or reusing text, ideas, images or data from other sources without clear attribution, and goes against the principle of academic publishing. Karger may subject any manuscripts to a plagiarism-detection software (Crossref Similarity Check, powered by iThenticate) and if the software raises any concerns, there will be a follow-up investigation in line with COPE guidelines. At any stage of peer-review, publication, or post-publication, if plagiarism is detected the manuscript may be rejected, corrected or retracted, as appropriate, and we reserve the right to inform the authors' institutions about any plagiarism detected. We expect that our editors and reviewers will inform the journal about any concerns related to plagiarism.

Further Conditions

Early View

Accepted papers are published online in the unedited, original manuscript version within a few days of acceptance, subject to the authors accepting and confirming applicable conditions of publication, including publication charges. The Early View version will be replaced by the version of record once available.

Peer Review

Peer Review Policy

All Karger journals employ a rigorous peer-review process to confirm the validity and ensure scientific accuracy of published articles. Independent researchers with relevant expertise assess submitted manuscripts to help journal editors determine whether a manuscript should be published in their journal.

Peer Review Type

Caries Research uses a single-blind peer review system where reviewers know the names of the authors, but the authors do not know who reviewed their manuscript.

Peer Review Process

The Editor-in-Chief and the international Editorial Board ensure a thorough and fair peer-review process with the highest scientific publishing standards. The editorial office performs preliminary checks on submitted manuscripts to ensure compliance with submission guidelines, editorial policies and ethical standards. After completion of internal checks, each submission is assessed by the Editor-in-Chief (and/or Managing Editor) who decides whether to proceed with peer review and may assign a suitable handling Editor (Associate Editor, Editorial Board Member or Guest Editor). Handling Editors guide the peer-review process for manuscripts within their areas of expertise with the help of reviewers who are well qualified and up-to-date on the subject matter and/or methodology. All articles, except for Editorials and some Correspondence articles, are externally peer reviewed, typically by at least two individuals with expertise in the manuscript content area and/or research methods, before a final decision is made about acceptance for publication. If an Editor, Editorial Board Member, or employee submits a manuscript, it is assigned to an independent Editor who will handle the peer review, and details of the review process, beyond the anonymized review and decision, are not accessible to the Editor, Editorial Board Member, or employee. All Editors, reviewers and authors shall adhere to Karger's editorial policies and best practices in line with [COPE Core Practices](#) to maintain high standards of peer-review.

Peer Reviewers

Authors may suggest reviewers, who must have a recent publication record in the area of the submission, must not have published with the authors in recent years, and must not be from the same institution as the authors. Whether or not to consider these reviewers is at the Editor's discretion, and in line with Karger's Editorial policy. Where possible, institutional email addresses or information which will facilitate verifying the identity of the reviewer should be provided.

Appeals and Complaints

Any appeal on a decision or complaint during peer-review, or post-publication, must be submitted in writing to the corresponding Karger's editorial office (see "Journal Contact"). All cases will be handled in line with [COPE guidelines](#).

Reproducibility

Availability of materials

The Methods section of the article must contain sufficient information to allow a reader to replicate the study. Karger encourages authors to use protocols.io as an open access repository for their detailed methodology. For protocols registered in protocols.io (hyperlink to <https://www.protocols.io/>), please cite this record in your methods section and include the record DOI in the references. Karger supports the inclusion of Research Resource Identifiers in the methods section, for further information please see the Resource Identification Portal (hyperlink to <https://scicrunch.org/resources/>). Supplier and catalogue numbers should be included for any chemical and reagents

Image presentation

Where authors include a representative image of an experimental group or outcome it is expected that no image enhancements or adjustments are applied to that image. Where necessary for clarity of interpretation, for example, image cropping or brightness adjustment, this should be applied to the whole image, be detailed in the Methods section of the article and the original images must be uploaded as supplementary material.

Statistics

Karger recommends following The SAMPL Guidelines (hyperlink to <https://www.equator-network.org/reporting-guidelines/sampl/>) when reporting statistical analyses.

Sample size must be reported for each study in the methods section tables and Figure legends. Where statistical testing for the significance of an effect is carried out, a dedicated section for statistical methodology must be included in the Methods. This section should provide sufficient information that would allow, with access to the full data set, reproduction of the article's results. The choice of statistical tests and any posthoc tests must be justified in this section. The threshold for significance, alpha, should be defined here as well as how multiple comparisons are adjusted for, where applicable. When reporting the results of statistical tests it is not sufficient to only report the p-value. For example, for a Student's t-test, it is necessary to report the degrees of freedom, t-statistic as well as the exact p-value

Misconduct

Karger takes seriously all allegations of potential misconduct and will follow relevant [COPE Guidelines](#). Concerns regarding a published article should be raised to the Research Integrity and Publication Ethics Manager at [publication.ethics\[at\]karger.com](mailto:publication.ethics[at]karger.com). All efforts will be made to resolve concerns raised about a published article without undue delay and an Erratum or Retraction will be issued, where necessary. In cases of suspected research or publication misconduct, it may be necessary for the Editor or Publisher to contact and share submission details with third parties including authors' institutions and ethics committees in line with [COPE Guidelines](#). Advice may also be sought directly from COPE.

Article Preparation

Formatting

The preferred word processing program for manuscripts is Microsoft Word. Page and line numbering should be activated, and the level of subheadings should be indicated clearly.

Footnotes should be avoided. When essential, they should be numbered consecutively and appear at the foot of the appropriate page.

Abbreviations (with the exception of those clearly well established in the field) should be explained when they are first used both in the abstract and in the main text.

Units of measurement should be expressed in SI units wherever possible.

Generic names of drugs (first letter: lowercase) should be used whenever possible. Registered trade names (first letter: uppercase) should be marked with the superscript registration symbol ® or ™ when they are first mentioned.

The manuscript text, tables and illustrations must be submitted in separate files.

For further technical specifications, including those regarding tables, figures, and illustrations, please refer to the [Karger website](#).

Manuscript Arrangement

Title Page

The first page should contain a short and concise title plus a running head of no more than 80 characters. Abbreviations should be avoided.

Below the title, list all the authors' names as outlined in the article sample, which can be downloaded under Article Types. Each listed author must have an affiliation, which comprises the department, university, or organization and its location, city, state/province (if applicable), and country.

Place the full postal address of the corresponding author at the bottom of the first page, including at least one telephone number and e-mail address.

Keywords relevant to the article should be listed below the corresponding author information.

Body

Please refer to the Article Types section of the Guidelines for Authors for information on the relevant article structure, including maximum word counts and downloadable samples.

Online Supplementary Material

Online Supplementary Material may be used to enhance a publication and increase its visibility on the Web. Supplementary files (directly relevant but not essential to the conclusions of the paper) will undergo editorial review and should be submitted in a separate file with the original manuscript and with all subsequent submissions. The Editor(s) reserve(s) the right to limit the scope and length of supplementary material. Supplementary material must meet production quality standards for publication without the need for any modification or editing. For ease of reader access, we strongly recommend that files be less than 10 MB. Authors wishing to associate larger amounts of supplementary material with their article should deposit their data in an appropriate public data repository. Figures must have legends and tables require headings. All files must be named clearly. Acceptable files and formats are Word or PDF files, Excel spreadsheets (if the data cannot be converted properly into a PDF file), and multimedia files (MPEG, AVI, or QuickTime formats). All supplementary material should be referred to in the main text. A DOI number will be assigned to supplementary material, and it will be hosted online at <https://karger.figshare.com> under a [CC BY license](#).

References

In-Text Citation

References in the text should be made up of the author(s)'s name(s) (up to 2 authors) followed by the year of publication. When there are more than 2 authors, the first author's name and 'et al.' should be used. When references are made to more than 1 paper by the same author, published in the same year, they should be designated as a, b, c, etc. In-text citations should always be ordered chronologically, e.g., [Rendulic et al., 2004; Jurkevitch, 2006].

The reference list should be arranged alphabetically, then chronologically. Material submitted for publication but not yet accepted should be labelled as 'unpublished' and may not be included in the reference list. Other pre-published or related materials with a DOI, e.g. preprint manuscripts, datasets, and code, may be included.

Further information and examples can be found in the downloadable article samples in Article Types. If you are using reference management software, we recommend using the Vancouver Referencing Style.

Reference Management Software

The use of EndNote is recommended to facilitate formatting of citations and reference lists. The journal output style can be downloaded from <http://endnote.com/downloads/styles>.

Author Services

Karger Publishers offer a range of services to assist authors with the preparation of their manuscript, including discounts for language editing services offered by third parties.

More information is available on the [Author Resources](#) section of the Karger homepage.

When submitting a manuscript, authors can add their [ORCID number](#) to their Karger account to ensure that their paper is accredited to them correctly.

Cost of Publication

Page Charges/Article Processing Charges

Please note that adherence to word limits indicated in previous paragraphs does not guarantee exemption from APCs or page charges. Charges are calculated purely on the final page count of the accepted and edited article. Charges vary depending on the number of printed pages of the article. One printed page of pure text contains approximately 6000 characters, however the final page count will also depend on the number and size of tables and figures. A non-binding quote may be requested upon acceptance of the article. From page 8 of the final manuscript, each complete or partial page is charged to the author at CHF 650.00 / USD 739.50 / EUR 650.00 . Articles under 8 pages do not incur a charge.

Online Supplementary Material

We strongly encourage authors to make all the datasets on which the conclusions of the manuscript are based available. Online supplementary material is hosted for free with a published article. For ease of reader access, we strongly recommend that files be less than 10 MB. Authors wishing to associate larger amounts of supplementary material with their article should deposit their data in an appropriate public data repository.

Illustration Charges

In print, there is no charge for figures appearing in grayscale. In print, color illustrations are charged to the author at CHF 960.00 / USD 1,130.00 / EUR 960.00 per page. In the online version there is no charge for illustrations appearing in grayscale or in color.

Author's Choice

Karger Publisher's Author's Choice™ service broadens the reach of your article and gives all users worldwide free and full access for reading, downloading, and printing at www.karger.com. The option is available for a one-time fee, which is a permissible cost in grant allocation. More information can be found at www.karger.com/authors_choice. For a fee of CHF 3,000.00 / USD 3,530.00 / EUR 3,000.00, the final, published version of the article may be posted at any time and in any repository or on other websites, in accordance with the relevant Creative Commons license as well as the current Karger self-archiving policy for Open Access articles. Karger supplies all articles to PubMed Central for indexing.

Journal Policies

Copyediting and Proofs

Manuscripts accepted for publication by Karger Publishers will undergo basic proofreading to check for obvious spelling and grammar mistakes. If you would prefer a more in-depth language editing service to improve clarity and style, please consult a service provider prior to submission. Please note that the use of a language editing service before submission is not a requirement for publication in the journal and does not guarantee that the manuscript will be considered for peer review or accepted.

Karger Publishers' house style is based on internationally recognized standard manuals, including The Chicago Manual of Style.

An e-mail containing a link to download the PDF proofs will be sent to the corresponding author. The authors should check the PDF document and respond to any questions that have been raised during proofreading within 48 hours.

Alterations made to proofs, other than the correction of errors introduced by the Publisher, are charged to the authors and may require editorial approval.

Please note that the revised proofs are not sent to the authors prior to typesetting and online publication unless there are exceptional circumstances. The article layout will be created according to the Karger standard.

DOI Number

A DOI number will be available as a unique identifier on the title page of each article. DOIs are useful for identifying and citing articles published online without volume or issue information (for more information, see www.doi.org).

Online First Publication

All articles are published electronically ahead of print with a DOI number and are supplemented later with the definite reference to the printed version. The articles become available immediately after the authors' approval to print.

Licenses and Copyright

At acceptance, the authors will transfer all rights, title, and interest, including the right to claim copyright throughout the world, related to the article, to S. Karger AG.

Please note that metadata – essentially, data tags about article information such as authors and keywords that helps make articles discoverable by, for example, search engines – is governed by a separate policy. Refer to the [FAQ on our Open Access web pages](#) for details.

Archiving and Self-Archiving

All articles are archived in Portico. Articles may also be archived in PubMed Central if the journal is indexed there. Karger permits authors to archive their Author's Accepted Manuscript (AAM, i.e., accepted manuscripts after peer review but before production; also referred to as a postprint) on their personal home page or institution's repository, provided that these are not used for commercial purposes, are linked to the publisher's version, and acknowledge the publisher's copyright. Preprints may be shared without restriction.

In addition, authors may post their accepted manuscripts in public Open Access repositories and scientific networks no earlier than 12 months following publication of the final version of their article. The posted manuscripts must:

1. Be used for noncommercial purposes only
2. Be linked to the final version on www.karger.com and include the following statement:

"This is the peer-reviewed but unedited manuscript version of the following article: [insert full citation, e.g., *Cytogenet Genome Res* 2014;142:227–238 (DOI: 10.1159/000361001)]. The final, published version is available at [http://www.karger.com/?doi=\[insert DOI number\]](http://www.karger.com/?doi=[insert DOI number])."

It is the authors' responsibility to fulfill these requirements.

For papers published online first with a DOI number only, full citation details must be added as soon as the paper is published in its final version. This is important to ensure that citations can be credited to the article.

To facilitate compliance with Coalition S/Plan S Open Access mandates, Karger permits authors, independently and without Karger's action, to upload a copy of their Author Accepted Manuscripts (AAM), applying a CC BY license, to a repository designated by their Plan S funders. However, when an article is published as Open Access, the Version of Record should be archived instead of the AAM. The AAM may be made freely available in the archive upon the official, final publication of the article (Version of Record or VOR, i.e. the post-production, final article version). Manuscripts to be archived in PubMed Central (PMC) due to NIH funding requirements or that have been published Open Access under Author's Choice™ will be submitted by Karger on the authors' behalf, as outlined under Funding Organizations.

Articles published as Open Access under Author's Choice may be shared freely on any repository or website. Re-posted Open Access articles must follow the terms of the relevant Creative Commons license. To ensure citations are credited to the Version of Record, Karger encourages authors to link to the published article on www.karger.com and include the following statement: "The Version of Record of this article is available at [http://www.karger.com/?doi=\[insert DOI number\]](http://www.karger.com/?doi=[insert DOI number])(e.g. <http://www.karger.com/?doi=10.1159/000365070>)."

Karger policies on Open Access, licensing and self-archiving can also be found at [Sherpa Romeo](#).

Funding Organizations

If the authors are affiliated with an organization that has an Open Access agreement with Karger, the authors are prompted during submission to select from a list of these organizations. By choosing one of the listed organizations, eligibility can then be assessed.

NIH-Funded Research

The US National Institutes of Health (NIH) Public Access Policy mandates that AAMs must be archived in its digital database PubMed Central (PMC) within 12 months of the official publication date. As a service to authors, Karger Publishers submits the accepted, unedited version of NIH-funded manuscripts to PMC upon publication, where it is made available after a 12-month embargo period. Where the authors have chosen to make their paper freely available under Karger's Author's Choice™ service, this embargo does not apply.

Plan S

Karger approves authors, independently and without Karger's action, to make their AAMs openly available in PMC or another repository under a CC BY license upon publication of the Version of Record (VOR, i.e. post-production, final article version). However, when an article is published as Open Access, the Version of Record should be archived instead of the AAM. Some Coalition S funders, such as Wellcome Trust, Bill & Melinda Gates Foundation and FWF, designate PMC as the repository in which to make the Author's Accepted Manuscript (AAM) openly available. For papers made Open Access via Author's Choice, Karger will deposit the article in PMC on the author's behalf with a CC BY license. Authors should refer to their funders' policies for details. Authors should check their funders' requirements about how to declare their funding and any associated mandates within their manuscript.

Karger publishes some journals under the Transformative Journals model, compliant with Plan S. Find more information about Transformative Journals on the [Karger website](#).

Other Funding Sources

Karger Publishers also complies with other funders' requirements for submission to PMC. In some cases, doing so requires that authors select Author's Choice™, which is generally reimbursed by the funder or is a permissible cost in the grant. Authors should include information on their grants in the Funding Sources section of their papers.

More information on funding sources can be found on the [Karger website](#).

Errata and Retractions

Karger is committed to maintaining the accuracy and integrity of the scientific record. Retractions will be issued where required in accordance with [COPE guidelines](#). Errors in an article that affect the content of the article, such as figures or results, or the article metadata, such as the author list, will be corrected through the publication of an Erratum. Please note that a fee may be charged for corrections of errors introduced by authors and missed during the final manuscript proofing stage. Authors should [contact us](#) or use the [Error Report form](#) to report errors in their articles. Please state journal name, volume, issue and page numbers, the DOI number if the article has not yet been printed, as well as article title and the nature of the error.

Submission

Manuscript Submission

Manuscripts should be submitted online via the Caries Research submission and peer review system by the manuscript's corresponding author. The corresponding (submitting) author will automatically be the contact person for the manuscript throughout the publication process.

The corresponding (submitting) author is solely responsible for managing all communication between the journal and all co-authors and acts on behalf of all listed authors. This ensures that all correspondence reaches a unique contact and thereby secures swift communication in particular throughout the submission, peer review and production process. Articles can be published with more than one corresponding author (usually limited to three), but only one (the submitting author) can be accommodated during the submission, peer review and production process.

The corresponding (submitting) author's specific responsibilities include:

- Ensuring all the listed authors have approved the manuscript submission to the journal and agreed to all of the content including the author list
 - Handling the revision(s) and re-submission(s) of the manuscript until acceptance
 - Upon acceptance, ensuring that all listed authors agree to the license agreement, including the Submission Declaration
 - After acceptance, manuscript proof reading and approving the final proof
 - Arranging for payment of Page Charges/Article Processing Charges where required.
- The affiliation of the corresponding (submitting) author will be used to determine eligibility for discounted or waived charges including discounted or waived APCs under read and publish/offsetting/OA agreements
- Act as the point of contact for queries about the published article. It is their responsibility to inform all co-authors of any matters arising in relation to the published article including questions relating to publication ethics, availability of data, materials, etc.

Please note that the author names entered into the manuscript submission and peer review system should be identical to the information presented on the title page of the manuscript, including the sequence of authorship. The author names submitted should reflect the official publication names. It is the corresponding (submitting) author's responsibility to ensure the accuracy of all content in the proof, including the names of co-authors, addresses and affiliations.

Before submission, please read the Guidelines for Authors for specific requirements for manuscript preparation.

A brief cover letter outlining how your study contributes to the current scientific literature and how it fits the aims and scope of the Journal should be provided. If your submission is part of a special issue of the journal, please refer to the specific name of the special issue in your cover letter and specify who invited the submission where appropriate.

Submission Declaration

The submitting author will submit, on behalf of all authors, their manuscript for potential publication after full peer-review. All co-authors will confirm that the submitting author has authority to act on their behalf via the verification link sent out to all authors upon completion of the submission. Please refer to the Submission Declaration PDF for details.

Documents

[Submission Declaration](#) (PDF, 122.88 KB)

APÊNDICE A - Termo de consentimento livre e esclarecido

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
PRÓ-REITORIA DE PÓS GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
DOUTORADO EM ODONTOLOGIA**

Prezado voluntário, esta pesquisa tem como título “EFEITO DA COMPOSIÇÃO DO INFILTRANTE RESINOSO NO VOLUME OCLUÍDO POR INFILTRANTE NA LESÃO CARIOSA NATURAL DE ESMALTE” e está sendo desenvolvida pela cirurgiã-dentista ANDRESSA CAVALCANTI PIRES, doutoranda em Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba, sob orientação de ALESSANDRO LEITE CAVALCANTI, professor doutor do Programa de Pós Graduação em Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba.

Considerando que o esmalte cariado possui os poros aumentados em relação ao esmalte normal. O objetivo deste estudo laboratorial é verificar a proporção dos poros infiltrados por três resinas, com a finalidade de contribuir para melhorias no tratamento não invasivo e no desenvolvimento de um novo material, sem broca e sem anestesia, da lesão cariada de esmalte.

A sua colaboração na pesquisa consistirá em doar um dente extraído por razões de saúde identificadas pelo cirurgião-dentista que lhe prestou assistência odontológica. Todas as partes moles (que contêm células, sangue e material genético) dos dentes serão descartadas e não serão usadas. O dente doado ficará guardado com o pesquisador até 3 anos a contar da data de assinatura deste documento. Solicitamos sua autorização para usar, durante o período de 3 (três) anos, o material doado em outros estudos que sejam importantes para desenvolver o tratamento mencionado acima. Após este período de 3 anos, o dente será aquecido a 900° C por duas horas, em seguida triturado até formar um pó e desprezado no sistema de esgotamento sanitário da cidade. Os procedimentos para a realização desta pesquisa respeitarão as diretrizes e normas da Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde.

Sua participação é voluntária e, portanto, o(a) senhor(a) não é obrigado(a) a fornecer as informações e/ou colaborar com as atividades solicitadas pelo Pesquisador(a). Caso decida não participar do estudo, ou resolver a qualquer momento desistir do mesmo, não sofrerá nenhum dano, nem haverá modificação na assistência que vem recebendo na Instituição (quando for o caso). Nesta pesquisa, o(a) senhor(a) não poderá se certificar pessoalmente de todas as análises a serem feitas nos laboratórios com o material doado.

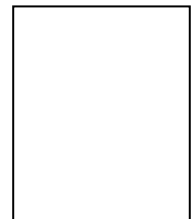
Solicito sua permissão para apresentar os resultados deste estudo em eventos da área de saúde e publicar em revista científica. Por ocasião da publicação dos resultados, seu nome será mantido em sigilo.

O(s) pesquisador(es) estará(ão) à sua disposição para qualquer esclarecimento que considere necessário em qualquer etapa da pesquisa, inclusive para informar as conclusões finais.

Diante do exposto, declaro que fui devidamente esclarecido(a) e dou o meu consentimento para participar da pesquisa e para publicação dos resultados. Estou ciente que receberei uma cópia desse documento.

Assinatura do Participante da Pesquisa

ou Responsável Legal



Espaço para impressão
dactiloscópica

Assinatura do(a) Pesquisador(a) Responsável

Assinatura do(a) Pesquisador(a) Participante

Em caso de analfabeto, acrescentar:

Assinatura da Testemunha

Endereço (Setor de Trabalho) do Pesquisador Responsável: Andressa Cavalcanti Pires, Laboratório de Microscopia e Imagem Biol (LAMIB), Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, Campus I, João Pessoa, Paraíba. Telefone para contato: (0xx83) 32167200 – Ramal 8814.

Qualquer dúvida, entrar em contato através do e-mail: andressa_cavalcanti@hotmail.com.