



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM

SUYANE MARIA LUNA CRUZ DE VASCONCELOS

**AVALIAÇÃO *IN SITU* DA INFLUÊNCIA DA UTILIZAÇÃO DE DIFERENTES
SISTEMAS ADESIVOS NO DESENVOLVIMENTO DA CÁRIE SECUNDÁRIA EM
ESMALTE**

FORTALEZA
2008

SUYANE MARIA LUNA CRUZ DE VASCONCELOS

AVALIAÇÃO *IN SITU* DA INFLUÊNCIA DA UTILIZAÇÃO DE DIFERENTES
SISTEMAS ADESIVOS NO DESENVOLVIMENTO DA CÁRIE SECUNDÁRIA EM
ESMALTE

Dissertação apresentada à Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Odontologia.

Área de Concentração Clínica Odontológica.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Augusto de Oliveira Fernandes

Co-Orientadora: Prof.a Dr.a Lidiany Karla Azevedo Rodrigues

FORTALEZA
2008

V451a Vasconcelos, Suyane Maria Luna Cruz de

Avaliação *in situ* da influência da utilização de diferentes sistemas adesivos no desenvolvimento da cárie secundária em esmalte temas adesivos / Suyane Maria Luna Cruz. 2008.

53 f.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Augusto de Oliveira Fernandes.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Ceará.
Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem,
Fortaleza, 2008.

1. Cárie Dentária - Prevenção. 2. Adesivos Dentinários. 3. Agentes Antibacterianos. 4. Testes de Dureza. I. Fernandes, Carlos Augusto de Oliveira (orient.) II. Título.

CDD 617.67

SUYANE MARIA LUNA CRUZ DE VASCONCELOS

AVALIAÇÃO *IN SITU* DA INFLUÊNCIA DA UTILIZAÇÃO DE DIFERENTES
SISTEMAS ADESIVOS NO DESENVOLVIMENTO DA CÁRIE SECUNDÁRIA EM
ESMALTE

Dissertação apresentada à Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da
Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em
Odontologia

Aprovada em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Carlos Augusto de Oliveira Fernandes (orientador)
Universidade Federal do Ceará - UFC

Prof.a Dr.a Cristiane Sá Roriz Fonteles
Universidade Federal do Ceará - UFC

Prof. Dr. Juliano Sartori Mendonça
Universidade de Fortaleza - UNIFOR

Ao meu marido, Bruno Carvalho de Vasconcelos, que acompanhou cada passo dessa conquista. Sorriu e chorou comigo, participou diretamente de todas as fases deste trabalho. A ti, meu amor, com todo carinho e reconhecimento...

Quero-te muito!

Aos meus pais, Welba e Newtácio, e ao meu irmão, Rafael, pelo amor, apoio incondicional, dedicação e compreensão em todas as etapas da minha vida...

Amo muito vocês!

AGRADECIMENTO ESPECIAL

A DEUS, pelo dom da vida e pelas inúmeras bênçãos concedidas a mim.

“Não tenho palavras pra agradecer Tua bondade

Dia após dia, me cercas com fidelidade

nunca me deixes esquecer de

Que tudo o que tenho, tudo o que sou e o que vier a ser

Vem de Ti, Senhor...”

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Ceará, na pessoa do seu Magnífico Reitor Prof. Dr. Ícaro de Sousa Moreira (in memoriam).

À Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, na pessoa da sua diretora Prof.a Dr.a Neiva Francenely Cunha Vieira.

Ao Curso de Odontologia, na pessoa da sua Coordenadora, Prof.a Dr.a Maria Eneide Leitão de Almeida, e do Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Prof. Dr. Sérgio Lima Santiago.

À Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico, FUNCAP, pelo apoio financeiro concedido durante o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Departamento de Ciências Fisiológicas da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, na pessoa do Prof. Dr. Jaime Aparecido Cury, por disponibilizar o laboratório para realização dos testes, possibilitando a concretização deste trabalho.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Carlos Augusto de Oliveira Fernandes, que, mesmo estando ausente no período inicial do curso, por motivo de força maior, atendeu com presteza a todas minhas necessidades quando solicitado. Obrigada, também, pela confiança em mim depositada e por me transmitir novos conhecimentos a cada dia.

*À Prof.a Dr.a **Lidiany Karla Azevedo Rodrigues**, minha co-orientadora, que na ausência do meu orientador, esteve presente em todas as fases deste trabalho, com total disponibilidade, orientando sem restrições e transmitindo seu conhecimento para que o trabalho fosse finalizado com êxito.*

*Ao Professor da Unidade Curricular de Dentística da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará, Prof. Dr. **Haroldo César Pinheiro Beltrão**, pelo apoio e disponibilidade em me ajudar durante o período de afastamento do meu orientador. Também, por todo conhecimento a mim transmitido e pelo exemplo de pessoa humana, de professor e educador, a quem aprendi a respeitar e admirar durante o período em que estive como professora substituta da disciplina Dentística Operatória Clínica II.*

*À Prof.a Dr.a **Iriana Carla Junqueira Zanin**, que me transmitiu muito dos conhecimentos necessários para realização deste trabalho, e se mostrou sempre disponível ao esclarecimento quando da presença de dúvidas relacionadas ao ensaio.*

*Ao querido Prof. Dr. **Juliano Sartori Mendonça**, a quem devo a oportunidade de estar aqui, pois, desde a graduação, me incentivou a buscar sempre um conhecimento maior e a seguir por este caminho muitas vezes árduo mas repleto de recompensas.*

*Ao Prof. Dr. **Paulo César de Almeida**, pela atenção, disponibilidade e presteza na realização das análises estatísticas.*

*Aos meus sogros, **Zélia e Helder Vasconcelos**, pelo carinho e compreensão nos momentos de ausência.*

*A minha cunhada querida, **Alessandra Vasconcelos**, pelo incentivo na busca pela conquista da realização profissional.*

*Ao aluno de iniciação científica da Universidade Federal do Ceará, **João Paulo Wenceslau**, que colaborou na realização deste projeto.*

A todos os voluntários que, com disponibilidade e até satisfação, concordaram em participar deste trabalho. Sem vocês não teria sido possível a concretização desta pesquisa. Meu muito obrigado!

*Às colegas **Fátima Maria Cavalcante Borges, Juliana Paiva Marques Lima, Mary Anne Sampaio de Melo e Rosane Pontes de Sousa**, que estiveram sempre ao meu lado e que tanto me ajudaram, principalmente naqueles dias difíceis e exaustivos, durante a realização das análises microbiológicas. O meu muito obrigado!*

A todos os colegas da minha turma de mestrado que, de alguma forma, fizeram parte dessa caminhada.

*Aos funcionários da Pós-Graduação, **Germano Mahlmann Muniz Filho e Lúcia Ribeiro Marques Lustosa**, pelo auxílio e disponibilidade sempre que solicitados.*

*Ao técnico em prótese dental do Curso de Odontologia, **Antônio Carlos de Oliveira Filho**, pela disponibilidade em ajudar na fase de confecção dos dispositivos intra-orais.*

*Aos funcionários da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, em especial à Dona **Maria das Graças dos Santos Costa**, que de alguma forma contribuíram para concretização deste trabalho.*

“Ainda que eu falasse as línguas dos homens e dos anjos, se não tiver amor, sou como o bronze que soa, ou como o címbalo que retine. Mesmo que eu tivesse o dom da profecia, e conhecesse todos os mistérios e toda a ciência; mesmo que eu tivesse toda fé a ponto de transportar montanhas, se não tiver amor não sou nada.”

1Cor 13 1-2

RESUMO

Os sistemas adesivos atuais apresentam resultados satisfatórios no que concerne à adesão ao esmalte e à dentina, entretanto, a maior causa de falhas em restaurações estéticas ainda é a ocorrência de recidiva de cárie ao longo de suas margens. Desta forma, este estudo avaliou a ação de sistemas adesivos com flúor e/ou com um novo monômero, brometo de metacriloiloxidodecilmiridínio (MDPB) na composição microbiológica do biofilme dental e no processo de desmineralização do esmalte adjacente à restauração de resina composta, mediante um delineamento *in situ*, cruzado e duplo-cego. Durante duas fases de 14 dias, dez voluntários utilizaram dispositivos palatinos, contendo, cada um, quatro blocos de esmalte dental humano, restaurados extra-oralmente com resina composta Z250 e um dos seguintes sistemas adesivos: Adper™ Single Bond 2 (condicionamento total, G1), All-Bond SE™ (autocondicionante, G2), One-Up Bond F Plus (autocondicionante com flúor, G3) e Clearfil Protect Bond (autocondicionante com flúor e MDPB, G4). Os voluntários foram aleatoriamente divididos entre os grupos, sendo que os que receberam os sistemas adesivos referentes aos grupos G1 e G2, na 1ª fase, receberam os tratamentos referentes aos grupos G3 e G4 na 2ª fase e vice-versa. Todos os voluntários foram instruídos a gotejar sobre os blocos, oito vezes por dia, uma solução de sacarose a 20%, simulando um desafio cariogênico, e a utilizar um dentífrico fluoretado padronizado três vezes por dia na higienização dentária. Após o término de cada fase o biofilme formado sobre cada bloco foi coletado e utilizado para a contagem de estreptococos totais, estreptococos *mutans* e lactobacilos. A perda de mineral foi analisada por meio do teste de microdureza em corte longitudinal do esmalte adjacente à restauração. Aplicou-se a análise de variância, ANOVA, não sendo observada diferença estatisticamente significativa para a composição microbiológica ou desmineralização do esmalte entre os adesivos estudados. Concluiu-se que a incorporação de MDPB e/ou flúor nos sistemas adesivos autocondicionantes não foi capaz, nas condições deste estudo, de prevenir a ocorrência da cárie secundária.

Palavras-chave: Cárie Dentinária. Prevenção. Adesivos Dentinários. Agentes Antibacterianos. Testes de Dureza.

ABSTRACT

Contemporary adhesives systems present satisfactory bonding to enamel and dentin. However, replacement of the restorations due to secondary caries formation is still a major problem and of great concern in Dentistry. Thus, this study assessed *in situ* the effects of adhesive systems containing or not fluoride and/or the antibacterial monomer 12-methacryloyloxydodecylpyridinium bromide (MDPB) on the microbiological composition of dental biofilm and on enamel demineralization. During two phases of 14 days each, ten volunteers wore palatal appliances containing four human enamel slabs, which were extra-orally restored using a resin composite (Z250 3M-ESPE) and one of the following adhesive systems: Adper™ Single Bond 2 (total etch, G1); All-Bond SE™ (self-etch, G2); One-Up Bond F Plus (self-etch containing fluoride G3) and Clearfil Protect Bond (self-etch containing fluoride and MDPB, G4). The volunteers were randomly allocated to treatments, and those who received G1 and G2 in the first phase received G3 and G4 in the second one, and vice versa. The volunteers were asked to drop a 20% sucrose solution onto the slabs eight times per day and to use fluoridated dentifrice 3 times per day. The biofilm formed on the slabs was analyzed with regard to total and *mutans streptococci* as well as *lactobacilli* counts. Demineralization was determined on enamel around the restorations by cross-sectional microhardness. The data were analyzed by analysis of variance, ANOVA. No differences were found for microbiological composition or enamel demineralization among the studied adhesive systems. It can be concluded that that fluoride or MDPB addition to adhesives systems presented no effect in controlling caries around resin restorations in this *in situ* model.

Keywords: Dentinal Caries. Prevention. Dentinal Adhesives. Antibacterial Agents. Hardness Tests.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL.....	14
2	PROPOSIÇÃO.....	18
2.1	Objetivo Geral.....	18
2.2	Objetivos Específicos.....	18
3	CAPÍTULO.....	19
4	CONCLUSÃO GERAL.....	44
	REFERÊNCIAS.....	45
	ANEXOS.....	50

1 INTRODUÇÃO GERAL

A procura crescente por tratamentos cosméticos restauradores, associada a uma maior exigência estética por parte dos pacientes, revolucionou a prática da Odontologia restauradora nas últimas duas décadas (VAN MEERBEEK *et al.*, 1998). Este fato leva empresas e pesquisadores a aperfeiçoarem cada vez mais os materiais restauradores estéticos de uso direto. Seguindo o mesmo caminho, os sistemas adesivos passaram por um grande avanço tecnológico e demonstram, atualmente, resultados satisfatórios na adesão ao esmalte e dentina (INOUE *et al.*, 2001; DE MUNCK *et al.*, 2003a). Mesmo após minimizados os problemas relacionados à adesão, entretanto, a ocorrência de cáries secundárias ao longo das margens das restaurações configura-se, ainda, como o principal motivo para substituí-las (TYAS, 2005; MĪJOR, 2005).

O completo selamento da interface adesiva é um pré-requisito para o sucesso das restaurações, todavia, mesmo os sistemas adesivos que apresentam alta força adesiva não se apresentam capazes de evitar a ocorrência de microfendas entre o remanescente dental e a restauração (CHIGIRA *et al.*, 1994). Soma-se a este fato a tendência atual à utilização de sistemas adesivos simplificados, que, ao serem utilizados em dentina, formam uma camada híbrida mais hidrofílica, que pode, ao longo do tempo, apresentar maior degradação hidrolítica, tornando-se mais permeável aos fluidos orais e, conseqüentemente, a bactérias cariogênicas (DE MUNCK *et al.*, 2003b). Tais bactérias, ao infiltrarem entre a restauração e a parede cavitária, podem induzir a formação de cárie secundária, sensibilidade pulpar, ou, até mesmo, danos irreversíveis à polpa (IMAZATO *et al.*, 1998b; ÖZER, *et al.*, 2005).

A simplificação da técnica adesiva diminuiu a ocasião para erro no que se refere ao controle de umidade, por conseguinte, reduziu a probabilidade da ocorrência de falhas na camada de união e de sensibilidade pós-operatória (BURROW; TYAS, 1998; TAY *et al.*, 2001). No entanto, quando da utilização desses adesivos simplificados, denominados autocondicionantes, a hibridização ocorre sem que seja necessária a remoção da lama dentinária, que permanece incorporada à camada híbrida (PRATI *et al.*, 1998; YOSHIYAMA, *et al.*, 1998). Desta forma, surgiu o questionamento sobre a presença e atividade de bactérias remanescentes nesta região e a proposta de incorporação de agentes antibacterianos nos sistemas adesivos e materiais restauradores.

Uma destas possibilidades foi a de incorporação de um monômero antibacteriano, MDPB (brometo de metacriloiloxidodecilmiridínio), ao “primer” de um sistema adesivo

autocondicionante experimental (IMAZATO *et al.*, 1997). Este monômero é um composto de amônia quaternária, com efeito antibacteriano e capacidade de co-polimerizar com outros monômeros presentes no material (IMAZATO *et al.*, 1994). Segundo Imazato *et al.* (1997), o efeito antibacteriano ocorreria por ação do contato com as bactérias (efeito bactericida) antes da polimerização e dificultando o crescimento bacteriano sobre o material, após a polimerização. Acredita-se que a ação antibacteriana ocorra em virtude de uma união da amônia quaternária à parede bacteriana, alterando o seu funcionamento, permitindo a saída de conteúdo citoplasmático (SCHEIE *et al.*, 1989 *apud* IMAZATO *et al.*, 2006; KOURAI *et al.*, 1994 *apud* IMAZATO *et al.*, 2006).

Estudos *in vitro* demonstram que esse monômero incorporado a um “primer” ou a uma resina composta é capaz de inibir o crescimento bacteriano sobre a superfície desses materiais (IMAZATO *et al.*, 1998a; IMAZATO *et al.*, 1998c; IMAZATO *et al.*, 2003a). Adicionalmente, um estudo *in vivo*, realizado em animais, avaliou o efeito bactericida de um “primer” adicionado de 5% de MDPB em cavidades dentinárias infectadas com *S. mutans*, observando, também, o comportamento histopatológico da polpa. Os resultados demonstraram que o “primer” experimental com MDPB pode apresentar efeito antibacteriano *in vivo*, sugerindo possíveis benefícios clínicos (IMAZATO *et al.*, 2004). Por conseguinte, alguns autores sugerem que a utilização de materiais restauradores com agentes antibacterianos em sua composição pode aumentar a longevidade das restaurações e ajudar a prevenir o desconforto pós-operatório (ÖZER *et al.*, 2005). A liberação desses agentes pode, entretanto, apresentar sérias desvantagens, como a redução de suas propriedades mecânicas, menor duração do efeito antibacteriano e o possível efeito tóxico (ÖZER *et al.*, 2005). O MDPB, por ter a capacidade de se polimerizar com os outros monômeros presentes no material, permanece imobilizado dentro da matriz polimérica (IMAZATO *et al.*, 1998a). Dessa forma, esse agente não é liberado para o meio, não diminuindo as propriedades mecânicas do material e aumentando a longevidade do seu efeito antibacteriano.

A integridade marginal de uma restauração, seja ela direta ou indireta, é de grande importância para sua longevidade, e, no caso das restaurações diretas, a manutenção dessa integridade está diretamente relacionada à qualidade da camada de união. Desta forma, estudos *in vitro* e *in vivo*, realizados em cobaias, também avaliaram o efeito da incorporação do MDPB a sistemas adesivos quanto às propriedades adesivas do material. Os resultados não mostraram diferença estatisticamente significativa quando comparados a outros sistemas adesivos, demonstrando que a incorporação de MDPB ao “primer” desses sistemas não

interferiu em suas propriedades adesivas (IMAZATO *et al.*, 2003b; IMAZATO *et al.*, 2006; IMAZATO *et al.*, 2007).

Outra proposta, na tentativa de solucionar o problema da cárie secundária, foi a de incorporação de flúor nos materiais restauradores, uma vez que este reduz a severidade dos desafios cariogênicos, quando disponível durante o ataque dos ácidos produzidos por bactérias do biofilme dental (FEATHERSTONE, 1994; ITOTA *et al.*, 2002; SAVARINO *et al.*, 2004).

A utilização de sistemas adesivos que contenham flúor em sua composição parece interessante, pois, além da camada adesiva apresentar-se em íntimo contato com as paredes cavitárias, ele também é difundido para o interior da dentina (FERRACANE; MITCHEM; ADEY, 1998). Para muitos autores, o flúor presente nos sistemas adesivos possui atividade anticariogênica, pois diminui a desmineralização e potencializa a remineralização durante o ataque dos ácidos presentes na cavidade bucal (ITOTA *et al.*, 2002; SAVARINO *et al.*, 2004). Segundo Ferracane *et al.* (1998), estes sistemas liberam íons flúor para as paredes do preparo cavitário, estes íons são difundidos para a parede dentinária, agindo durante a desmineralização e a remineralização.

A influência dos materiais restauradores e dos sistemas adesivos com possível potencial anticariogênico na dinâmica do processo de cárie dental tem sido estudada, principalmente, em modelos *in vitro*, que simulam o desafio cariogênico, com o objetivo de induzir lesões com características comparáveis às encontradas *in vivo* (GROSSMAN; MATEJKA, 1999). Estes modelos podem ser do tipo químico: estático – imersão do substrato dental em soluções ou géis ácidos (PEREIRA *et al.*, 1998), ou dinâmico – ciclos de desmineralização e remineralização (TEN CATE, 2001) ou, ainda, ter natureza microbiológica – exposição do substrato a uma ou mais espécies de microrganismos cariogênicos (FRANCCI *et al.*, 1999; TORII *et al.*, 2001). Embora esses modelos de indução de cárie se aproximem do desenvolvimento natural dessas lesões, nenhum é capaz de copiar na íntegra todas as características presentes no meio bucal humano. Por isso a importância de estudos que sejam realizados na própria cavidade bucal, utilizando os modelos denominados *in situ*.

O primeiro estudo *in situ* foi desenvolvido por Koulourides *et al.* (1964) e descrito na literatura pelos mesmos autores, em 1974, o qual foi utilizado para avaliação do efeito do flúor em um ensaio de cárie experimental. Modelos de cárie *in situ* envolvem o uso de aparelhos ou dispositivos outros que criam condições definidas na boca humana que simulam

o processo da cárie dental. Servem como uma ponte entre a situação clínica natural não controlada e a laboratorial altamente controlada. Esses modelos incluem um substrato dental (esmalte ou dentina), biofilme dental com potencial cariogênico (presença ou formação), desafio cariogênico (controlado experimentalmente ou fornecido pela dieta do indivíduo) e tempo (período do experimento). A intenção desses modelos é transcrever o que ocorre no processo natural da cárie e ainda prover informações clínicas relevantes em um curto período de tempo sem causar danos irreversíveis aos dentes naturais (ZERO, 1995).

Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a influência de sistemas adesivos autocondicionantes com MDPB e/ou flúor na composição do biofilme dental e no processo de desmineralização perante um alto desafio cariogênico em um modelo de estudo *in situ*.

2 PROPOSIÇÃO

Os objetivos do presente trabalho foram:

2.1 Objetivo Geral

Avaliar, por meio de um estudo *in situ*, a influência da utilização de diferentes sistemas adesivos no desenvolvimento da cárie secundária em esmalte dental humano.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar, por meio do ensaio de microdureza, o efeito do flúor e do monômero antibacteriano, MDPB, presentes em sistemas adesivos autocondicionantes, no processo de desmineralização do esmalte adjacente a restauração;

- Avaliar a influência do flúor e do monômero antibacteriano, MDPB, presentes em sistemas adesivos autocondicionantes, na composição microbiológica do biofilme dental formado sobre o material restaurador.

3 CAPÍTULO

Esta dissertação está baseada no Artigo 46 do Regimento Interno do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará, que regulamenta o formato alternativo para dissertações de Mestrado e permite a inserção de artigos científicos de autoria e co-autoria do candidato (Anexo A). Por se tratarem de pesquisas envolvendo seres humanos, ou parte deles, o projeto de pesquisa deste trabalho foi submetido à apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará, tendo sido aprovado sob o Protocolo COMEP nº 138/06, conforme o Ofício nº 627/06 de 09 de outubro de 2006 (Anexo B). Assim sendo, esta dissertação é composta de um capítulo contendo um artigo submetido para publicação no periódico “*Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*”, (Anexo C) conforme descrito abaixo:

***In situ* evaluation of secondary caries inhibition promoted by self-etch adhesive systems containing antibacterial agents**

Suyane M.L. Cruz, DDS¹; João Paulo S. Wenceslau¹; Lidiany K.A. Rodrigues, DDS, MS, PhD¹; Haroldo C.P. Beltrão, DDS, MS, PhD¹; Iriana C.J. Zanin, DDS, MS, PhD²; Paulo C. de Almeida, MS, PhD³; Carlos A.O. Fernandes, DDS, MS, PhD¹

¹ Faculty of Pharmacy, Dentistry and Nursing, Federal University of Ceará, Fortaleza, CE, Brazil

² Faculty of Dentistry, Federal University of Ceará, Sobral, CE, Brazil

³ State University of Ceará, Department of Health Sciences, Fortaleza, CE, Brazil

Running Heads: Adhesive systems and secondary caries - in situ evaluation

Full address of the author to whom correspondence should be sent:

Carlos Augusto de Oliveira Fernandes
Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem
Dentística Operatória Clínica
Rua Cap. Francisco Pedro S/N -
Bairro- Rodolfo Teófilo - CEP 60430-170
Phone- #558533668207
Fax- #558533668232
Fortaleza-CE
Brazil
E-mail: caugusto@ufc.br

Abstract: This *in situ* study assessed the effects of adhesive systems containing or not fluoride and/or the antibacterial monomer 12-methacryloyloxydodecylpyridinium bromide (MDPB) on the microbiological composition of dental biofilm and on enamel demineralization. During two 14-day phases, ten volunteers wore intraoral palatal appliances containing four slabs of human enamel in a double-blind, crossover study design. The slabs were randomly restored using a composite resin and one of the following adhesive systems: Adper™ Single Bond 2 (total etch, G1); All-Bond SE™ (self-etch, G2); One-Up Bond F Plus (self-etch containing fluoride, G3) and Clearfil Protect Bond (self-etch containing fluoride and MDPB, G4). The biofilm formed on the slabs was analyzed with regard to total and mutans streptococci as well as lactobacilli counts. Demineralization (ΔS) was determined on enamel by analysis of cross-sectional microhardness, at 20 and 70 μm from the restoration margin. Data were analyzed by ANOVA. No statistically significant difference was found either in enamel demineralization or in the microbiological composition of dental biofilm. All adhesive systems containing or not fluoride and/or MDPB tested were unable to inhibit secondary caries in the *in situ* model used in the present research.

Keywords: secondary caries; adhesive systems; *in situ*, antibacterial agents, MDPB, fluoride.

INTRODUCTION

Contemporary adhesives systems present satisfactory bonding to enamel and dentin¹. However, caries development adjacent to restorations has been considered the main cause of clinical restoration replacement². Additionally, dentin adhesive systems showing high bond strength have been reported to be incapable of preventing the occurrence of microgaps between the tooth and restoration^{3,4}. Therefore, dentin bonding systems with anticariogenic activity, even after applied in the cavity, would be beneficial to eliminate the harmful effect caused by residual bacteria or bacterial microleakage^{5,6}.

Previous *in vitro* studies have reported that incorporation of the antibacterial monomer 12-methacryloyloxydodecylpyridinium bromide (MDPB), is an efficient method of providing dentin primer with antibacterial activity before and after curing^{7,8,9}. MDPB is a monomer synthesized by combining an antibacterial agent and a methacryloyl group and shows antibacterial activity against oral bacteria¹⁰. The main advantage of MDPB is its capacity to copolymerize with other resin monomers being immobilized within the polymer matrix, which assigns safety and prolonged antibacterial action to this agent. This characteristic also ensures a good survival rate for the restoration, since MDPB, different from soluble antibacterial agents, is not deleterious to the physical and mechanical properties of materials to which it is incorporated^{7,10,11,12}.

In addition, fluoride represents an important role in the control of secondary caries, since it may interfere with physicochemical¹³ and microbiological¹⁴ processes, not only reducing the caries progress rate but also allowing the arrestment of active lesions¹⁵. Thus, with the intention of providing fluoride to the specific site at risk of secondary caries, fluoride-releasing restorative materials were developed, since fluoride-containing materials

may induce an anticariogenic activity by increasing the dentin resistance to acids present in the oral cavity¹⁶.

Although the benefits of MDPB-containing adhesive systems in inactivating *in vitro* residual bacteria inside the cavity have been previously reported^{17,18,19}, the potential for *in situ* and *in vivo* enamel and dentin caries inhibition of these systems remains unknown. Furthermore, many of the cariostatic effects of fluoride-containing adhesive systems have been previously evaluated only by *in vitro* caries models. The purpose of this study was to assess *in situ* the anticariogenic activity of adhesive systems containing or not fluoride and/or MDPB on the microbiological composition of dental biofilm and on enamel demineralization.

MATERIAL AND METHODS

Study Population and Ethical Aspects

The study was approved by the Institutional Review Board of the Hospital Complex of Federal University of Ceará (protocol # 138/2006). Ten volunteers (aged 18 to 28 years) who met the inclusion criteria (normal salivary flow rate, good general and oral health, not using fixed or removable orthodontic appliances, not having used antibiotics during the 2 months prior to the study, ability to comply with the experimental protocol) were invited to take part in this study and those who agreed to participate signed an informed written consent form.

Experimental Design

The study involved a cross-over design for caries induction by biofilm accumulation and sucrose exposure, conducted in two distinct phases of 14 days each^{20,21} with a 7-day wash-out period. Each group comprised 20 restored enamel slabs in duplicates of 10 experimental units (n=10). The volunteers wore a palatal appliance containing four enamel

slabs (Figure 1), which were extraorally restored using a composite resin (Filtek™ Z250, shade A1, 3M ESPE Dental Products, St. Paul, USA) and one of the following adhesive systems: Adper™ Single Bond 2 (3M ESPE Dental Products, St. Paul, USA), total etch – G1; All-Bond SE™ (Bisco, Schaumburg, USA), self-etch - G2; One-Up Bond F Plus (J. Morita USA Inc, Irvine, USA), self-etch containing fluoride - G3; and Clearfil Protect Bond (Kuraray Medical Inc, Okayama, Japan), self-etch containing fluoride and MDPB - G4 (Table 1). The slabs were randomly assigned to the 10 volunteers, who were considered as experimental blocks. In phase 1, five volunteers wore appliances with specimens of groups 1 and 2 and five with groups 3 and 4, avoiding a possible carry-across effect²² of adhesives containing fluoride and/or MDPB on control adhesives. In phase 2, volunteers that had worn appliances with specimens of groups 1 and 2 wore appliances loaded with specimens of groups 3 and 4 and vice versa (Figure 2).

Specimen Preparation

Freshly extracted, sound third molars with more than 2/3 of root formation were cleaned of gross debris, stored in supersaturated 0.1% thymol solution and maintained under refrigeration until they were used, approximately 1 month later. Eighty enamel slabs (4 x 4 x 2 mm³) were cut using a water-cooled diamond saw and a cutting machine (IsoMet™ Low Speed Saw, Buehler, Lake Bluff, USA) and were randomly assigned to each phase and treatment. Box-shaped standardized cavities (\pm 1.8-mm diameter and \pm 1.5-mm depth), were prepared at the center of each slab with a cylindrical diamond bur (# 2294, KG Sorensen, São Paulo, Brazil, replaced after 10 preparations) that provides a stop to limit the depth of penetration, used in high-speed turbine with air-water spray cooling. Afterwards the slabs were autoclaved²³ (121°C, 20 min), randomly divided into four groups and restored in duplicate for each adhesive system, according to the manufacturers' instructions. Cavities

were restored in one increment of composite resin and light-cured using a halogen light curing unit (Optilux 400- Demetron Research Corp, Danbury, USA). The light output was tested ($480 \pm 20\text{mW/cm}^2$) before each use with a Demetron Model 100 radiometer (Demetron Research Corp, Danbury, USA). After finishing and polishing with a sequence of abrasive discs (Sof-Lex – 3M ESPE Dental Products Division, St. Paul, USA) applied for 15 seconds each, all specimens were analyzed using a stereomicroscope at 40X magnification to ensure that there was no excess material overlying the restoration/tooth interface.

Palatal Appliance Preparation

Acrylic custom-made palatal appliances were made with four sites ($5 \times 5 \times 4 \text{ mm}^3$), in which the dental slabs were positioned and fixed with wax²⁴. In order to allow plaque accumulation and to protect it from mechanical disturbance, a plastic mesh was fixed to the acrylic resin, leaving a 1-mm space above the surface of the specimen^{24,25}. Within each side of the palatal appliance, the positions of the specimens of each group were randomly determined.

Intraoral Phase

Volunteers followed a 1-week lead-in period before inserting the palatal appliances. During this period and throughout the experimental phases, they brushed their teeth with a silica-based dentifrice (Colgate, Máxima proteção anticáries, Colgate-Palmolive, Ind. Com. LTDA, São Bernardo do Campo, Brazil), containing monofluorophosphate (MFP; 1,450 ppm F). The cariogenic challenge was provided by dripping a 20% sucrose solution onto all slabs 8 times a day (at 8.00, 10.00, 12.00, 14.00, 16.00, 18.00, 20.00, 22.00 h) (Figure 2). Before replacing the palatal appliance in the mouth, a 5-min waiting time was allowed for sucrose diffusion into the dental biofilm²⁴. Tooth brushing with the fluoride dentifrice was performed after the main mealtimes, 3 times a day (7.30, 12.30, 22.30 h). Volunteers were instructed to

use a pea-size amount of dentifrice and to start brushing the buccal surface of maxillary teeth with the appliance still in the mouth. After the slurry of dentifrice and saliva reached the plastic mesh over the specimens, the appliance was removed and kept without rinse until the volunteers finished their routine oral hygiene. After that, the device was washed in tap water, removing all dentifrice/saliva slurry, and re-inserted in the mouth. Volunteers were instructed to wear the intraoral appliances for the whole intraoral phase, except during meals. At these times, the appliances were kept moist in boxes that were provided²⁰. Volunteers lived in an optimally fluoridated city and drank and consumed foods prepared with this water. No restriction was made with regard to the volunteers' diet.

Microbiological Analysis

On day 14 of the intraoral phase, approximately 10 h after the last exposure to the sucrose and dentifrice, the volunteers stopped wearing the intraoral appliance. The mesh was removed and the biofilm formed was collected with a sterilized plastic stick. The biofilm was weighed in sterile pre-weighed microcentrifuge tubes and 0.9% NaCl solution was added (1 ml/mg biofilm). The tubes were agitated during a 2-min period in a Disrupter Genie Cell Disruptor (Precision Solutions, Rice Lake, USA) with three glass beads (0.6-mm diameter) to disperse bacterial cells. Afterwards, the suspension was serially diluted (1:10, 1:100, 1:1000, 1:10000) with 0.9% NaCl solution and three drops of 10 μ l were inoculated in mitis salivarius agar to determine total streptococci (TS); in mitis salivarius agar plus 0.2 units of bacitracin/ml to determine *mutans* streptococci (MS); and in Rogosa agar to assess the number of lactobacilli (LB). The plates were incubated for 48 h at 37°C using a candle jar, obtaining a 5-10% carbon dioxide atmosphere. Representative colonies with typical morphology of MS, TS and LB were counted using a colony counter. The results were

expressed in CFU/mg dental biofilm (wet weight) and the percentage of mutans streptococci group (%MS) in relation to total streptococci was also obtained.

Microhardness Analysis

The enamel specimens were removed from the appliance and longitudinally sectioned in their central area. One half of each enamel slab was randomly selected and embedded in acrylic resin (Arotec, São Paulo, Brazil), exposing the cut surface²⁰, for subsequent flattening and polishing with Al₂O₃ paper grit 100, 400, 600 and 1200 and polishing cloths with 1- μ m diamond paste (Buehler, Lake Bluff, USA), respectively. Microhardness was measured using a Knoop indenter with 25 g load for 5 s and a Future-Tech FM microhardness tester coupled to the software FM-ARS. Two rows of twelve indentations each were made at depths: 10, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100, 120, 140, 160 and 180 μ m from the outer enamel surface. The distance from the first row to the restoration margin was 20 μ m, and 50 μ m between the rows (Figure 1).

The mean Knoop hardness number (KHN) values, at each position from the surface and at 20- and 70- μ m distances from the enamel-restoration interface were obtained. Thus, KHN was plotted against depth for each specimen and the integrated hardness profile of demineralization was calculated relative to the underlying sound enamel. The mean sound enamel values of KHN for computation of integrated demineralization were obtained from the inner sound enamel under the lesion in the same tooth. To compute ΔS (integrated demineralization), the integrated hardness profile of demineralization was subtracted from the value obtained for sound enamel. Data were expressed in Knoop hardness number to calculate ΔS since there is discrepancy in the literature to convert the values in mineral volume percent^{26,27}.

Statistical Analysis

In order to assess the effect of treatments, the dependent variables TS, MS, LB counts, %MS and ΔS parameter were analyzed; the assumptions of equality of variances (Levene Test) and normal distribution (Koulmogorov-Smirnov Test) were tested. Normal distributions were found for all variables on the equality of variances, then the ANOVA ($p < 0.05$) was applied. The relationship between microhardness and depth values was checked by linear regression analysis ($p < 0.05$).

RESULTS

With regard to microbiological composition of the biofilm formed on slabs restored using the different adhesive systems, no significant differences were found between treatments (Table 2).

For the ΔS parameter, no significant differences were found between treatments (Table 3), even though the self-etch adhesive systems without MDPB or fluoride showed the highest demineralization in most depths at both distances (Figures 3 and 4).

The relationship between microhardness and depth showed significant correlation, being directly proportional ($p = 0.0001$) (Figures 3 and 4).

DISCUSSION

Antibacterial activity is a desired property for adhesive systems, especially for self-etch adhesive systems, since the prepared dentin is treated with an acidic primer, without being previously etched and washed. These antibacterial properties would discourage the presence of bacteria inside the dentinal tubules⁷, decreasing the possibilities of caries recurrence. Besides, occurrence of microgap formation has been reported between the adhesive resin and the primed dentin surface, as well as between the adhesive resin and the

hybrid layer, which implies that a great deal of the formed space is to be surrounded by adhesive resin, thus most invading bacteria would have contact with cured adhesive⁵. In this way, MDPB-containing adhesives may inhibit the growth of invading bacteria, consequently inhibiting bacterial leakage even when marginal sealing is not complete or destroyed after restoration⁵. However, the effects of these antibacterial adhesive systems on the inhibition of secondary caries are still unknown.

The present study used an *in situ* caries model to simulate a caries challenge to test the anticariogenic effect of adhesive systems, given that this model appears to be more analogous to *in vivo* conditions than chemical-based and bacterial *in vitro* caries models^{13,28}. The *in situ* caries model used in the current study, based on biofilm accumulation and sucrose exposure, was previously reported to be cariogenic to human dental enamel^{21,29}, which was confirmed by our linear regression analysis, which showed that hardness increased significantly and progressively with the enamel depth. Fluoride-containing dentifrice was chosen, since over 95% of all dentifrices sold in the U.S., Brazil and Western Europe contain fluoride³⁰⁻³². Additionally, it has been demonstrated that, in the presence of fluoridated toothpaste, demineralization is evident with a frequency of carbohydrate consumption equal or higher than 7-times/day³³.

In the present study the tested self-etch adhesives containing MDPB/Fluoride were not able of inhibiting secondary caries, since the microhardness results showed no statistical differences between groups. To our knowledge, no other *in situ* studies have evaluated the anticariogenic effects of these types of adhesives on enamel demineralization inhibition or on biofilm formed over restorations. However, our results corroborate those found by Lobo *et al.*³⁴, which used an *in vitro* microbiological caries model to evaluate the anticariogenic potential of a fluoride-containing adhesive system (Reactemer Bond) and another containing MDPB/F (Clearfil Protect Bond).

Conversely, the present microbiological results neither showed statistical differences between groups, nor confirmed earlier *in vitro* studies^{9,7,8,11,12} that found bacterial inhibition by MDPB. One possible explanation may be due to experimental differences between these studies, which did not evaluate the antibacterial potential of MDPB in a microbiological caries model, but only its capacity of inhibiting bacterial growth on surfaces with MDPB-containing materials. Moreover, MDPB incorporation in a composite resin may be favorable to decrease bacterial growth over restorative materials⁸, since a bigger contact area with the microorganisms is obtained by means of MDPB immobilization in the polymeric matrix. This fact is not observed in adhesive systems, because MDPB is restricted only to the resin-tooth interface.

The fluoride-releasing adhesive systems used this study (One-up Bond F Plus and Clearfil Protect Bond) were expected to reduce carious lesions formation, because minimal amounts of fluoride have been shown to reduce demineralization and enhance remineralization³⁵. However, this was not evidenced by the microhardness results. It can be suggested that, as the adhesive systems One-up Bond F Plus and Clearfil Protect Bond were used in small amounts, the fluoride released might not have been sufficient to control the cariogenic challenge, as previously demonstrated by *in vitro* studies^{34,36,37}.

Though not significant, the microhardness values for the adhesive All Bond SE were lower than all other groups in most evaluated depths at both distances from the restoration margin. This inferior performance can be partially explained by the presence of MDPB and/or fluoride in the self-etch adhesives, the latter presenting a trend to inhibit demineralization around restorations. However, when All Bond SE™ is compared to total etch adhesive system, it can be speculated that this adhesive system may present lower bond strength in enamel, which could be worsened by the high c-factor of the cavity, resulting in more failures at the interface and consequently more microleakage and demineralization. Another possible reason

is that the incomplete polymerization of the acidic monomer might increase the demineralization.

One limitation of the current study was the lack of evaluation of presence of wall lesions, since microhardness analysis was performed to assess enamel demineralization. Another limitation is the impossibility to study the characteristics of biofilms formed within the interfacial spaces adjacent to restorations, due to the difficulties of sampling procedures for such microspaces. This is an important point because the major benefit from antibacterial adhesive systems over secondary caries could be the inhibition of wall lesion formation. Itota *et al.*¹⁶, using a microbial caries system and microradiography, studied the effect of fluoride present in an adhesive system on secondary caries inhibition. The authors observed that, instead of wall lesions, an acid-resistant layer was formed adjacent to the restoration, but there was only a modest inhibition of the outer lesion formation.

In the condition of this *in situ* study, the following conclusion may be drawn: the incorporation of fluoride or MDPB to adhesive systems was not able to inhibit enamel demineralization around composite resin restorations, neither to kill cariogenic bacteria in the biofilm formed over restorations. However, further clinical studies are necessary to evaluate the impact of the anticariogenic efficacy of MDPB or fluoride incorporation to adhesives systems on secondary caries development, mainly in patients with low compliance with prophylactic measures or limited access to other sources of fluoride.

Acknowledgments

We thank the volunteers for their valuable participation. The first and second authors received scholarships during this study from FUNCAP (0455/07) and FUNCAP/PIBIC (62558862391). This paper was based on a thesis submitted by the first author to School of Pharmacy, Dentistry and Nursing of the Federal University of Ceará, in partial fulfillment of

the requirements for an MSc degree in Dentistry. The authors especially thank the Oral Biochemistry Laboratory of Piracicaba Dental School for the use of their microhardness tester. The # 2294 cylindrical diamond burs were donated by KG Sorensen, São Paulo, SP, Brazil.

REFERENCES

1. De Munck J, Van Meerbeek B, Inoue S, Vargas M, Yoshida Y, Armstrong S, Lambrechts P, Vanherle G. Micro-tensile bond strengths of one-and two-step self-etch adhesives to bur-cut enamel and dentin. *Am J Dent*, 2003; 16:414-420.
2. Mjor IA. Clinical diagnosis of recurrent caries. *J Am Dent Assoc*, 2005; 136:1426–1433.
3. Irie M, Suzuki K, Watts DC. Immediate performance of self-etch versus system adhesives with multiple light-activated restoratives. *Dent Mater*, 2004; 20:873-880.
4. Chigira H, Yukitani W, Hasegawa T, Manabe A, Itoh K, Hayakawa T, Debari K, Wakumoto S, Hisamitsu H.. self-etch dentin primers containing Phenyl-P. *J Dent Res*, 1994; 73:1088-1095.
5. Imazato S. Antibacterial properties of resin composites and dentin bonding systems. *Dent Mater*, 2003; 19:449-457.
6. Imazato S, Kuramoto A, Takahashi Y, Ebisu S, Peters MC. In vitro antibacterial effects of the dentin primer of Clearfil Protect Bond. *Dent Mater*, 2006; 22:527-532.
7. Imazato S, Kinomoto Y, Tarume H, Torii M, Russell RRB, McCabe F. Incorporation of antibacterial monomer MDPB into dentin primer. *J Dent Res*, 1997; 76:768-772.
8. Imazato S, Imai T, Russell RRB, Torii M, Ebisu S. Antibacterial activity of cured dental resin incorporating the antibacterial monomer MDPB and an adhesion-promoting monomer. *J Biomed Mater Res*, 1998; 39:511-515.
9. Imazato S, Kinomoto Y, Tarumi H, Ebisu S, Tay FR. Antibacterial activity and bonding characteristics of an adhesive resin containing antibacterial monomer MDPB. *Dent Mater*, 2003; 19:313-319.
10. Imazato S, Torii M, Tsuchitani Y, McCabe JF, Russell RRB. Incorporation of bacterial inhibitor into resin composite. *J Dent Res*, 1994; 73:1437-1443.

11. Özer F, Ünlü N, Karakaya S, Ergani O, Hadimli HH. Antibacterial activities of MDPB and fluoride in dentin bonding agents. *Eur J Prosthodont Dent*, 2005; 13:139-142.
12. Imazato S, Ehara A, Torii M, Ebisu S. Antibacterial activity of dentine primer containing MDPB after curing. *J Dent*, 1998; 26:267-271.
13. Benelli EM, Serra MC, Rodrigues-Jr AL, Cury JA. In situ anticariogenic potential of glass ionomer cement. *Caries Res*, 1993; 27:280-284.
14. Bradshaw DJ, Marsh PD, Hodgson RJ, Visser JM. Effects of glucose and fluoride on competition and metabolism within in vitro dental bacterial communities and biofilms. *Caries Res*, 2002; 36:81-86.
15. Nyvad B, Fejerskov O. Active root surface caries converted into inactive caries as a response to oral hygiene. *Scand J Dent Res*, 1986; 94:281-284.
16. Itota T, Nakabo S, Iwai Y, Konishi N, Nagamine M, Torii Y. Inhibition of artificial secondary caries by fluoride-releasing adhesives on root dentin. *J Oral Rehabil*, 2002; 29:523-527.
17. Imazato S, Imai T, Ebisu S. Antibacterial activity of proprietary self-etch primers. *Am J Dent*, 1998; 11:106-108.
18. Imazato S, Torii Y, Takatsuka T, Inoue K, Ebi N, Ebisu S. Bactericidal effect of dentin primer containing antibacterial monomer methacryloyloxydodecylpyridinium bromide (MDPB) against bacteria in human carious dentin. *J Oral Rehabil*, 2001; 28:314-319.
19. Gondim JO, Duque C, Hebling J, Giro EMA. Influence of human dentine on the antibacterial activity of self-etch adhesive systems against cariogenic bacteria. *J Dent*, 2008; 36:241-248.

20. Hara AT, Turssi CP, Ando M, González-Cabezas C, Zero DT, Rodrigues Jr AL, Serra MC, Cury JA. Influence of fluoride-releasing restorative material on root dentine secondary caries in situ. *Caries Res*, 2006; 40:435-439.
21. Rodrigues LK, Nobre Dos Santos M, Featherstone JD. In situ mineral loss inhibition by CO₂ laser and fluoride. *J Dent Res*, 2006; 85:617-621.
22. Hujoel PP, Deroguen TA. Validity issues in split-mouth trials. *J Clin Periodontol*, 1992; 19:625-627.
23. Yamamoto K, Arai K, Fukazawa K, Fukui K, Nagamatsu K, Kato K, Nakagaki H, Robinson C. Effect of Plaque Fluoride Released from a Glass-Ionomer Cement on Enamel Remineralization in situ. *Caries Res*, 2005; 39:157–160.
24. Hara AT, Queiroz CS, Paes Leme AF, Serra MC, Cury JA. Caries progression and inhibition in human and bovine root dentine in situ. *Caries Res*, 2003; 37:339-344.
25. Cury JA, Rabelo MA, Del Bel Cury AA, Derbyshire MT, Tabchoury CP. Biochemical composition and cariogenicity of dental plaque formed in the presence of sucrose or glucose and fructose. *Caries Res*, 2000; 34:491-497.
26. Featherstone JD, Ten Cate JM, Shariati M, Arends J. Comparison of artificial caries-like lesions by quantitative microradiography and microhardness profiles. *Caries Res*, 1983; 17:385-391.
27. Kielbassa AM, Wrbas KT, Schulte-Mönting J, Hellwig E. Correlation of transversal microradiography and microhardness on in situ-induced demineralization in irradiated and nonirradiated human dental enamel. *Arch Oral Biol*, 1999; 44:243-248.
28. Tenuta LM, Ribeiro CC, Goncalves NC, Del Bel Cury AA, Aires CP, Tengan C *et al.* The short-term in situ model to evaluate the anticariogenic potential of ionomeric materials. *J Dent*, 2005; 33:491-497.

29. Pecharki GD, Cury JA, Paes Leme AF, Tabchoury CPM, Del Bel Cury AA, Rosalen PL *et al.* Effect of Sucrose Containing Iron (II) on Dental Biofilm and Enamel Demineralization in situ. *Caries Res*, 2005; 39:123–129.
30. Cury JA, Tenuta LM, Ribeiro CC, Paes Leme AF. The importance of fluoride dentifrices to the current dental caries prevalence in Brazil. *Braz Dent J*, 2004; 15:167-174.
31. Zero T Domenick: Dentifrices, mouthwashes, and remineralization/caries arrestment strategies. *BMC Oral Health*, 2006; 6:1-13.
32. Mullen J. History of water fluoridation. *Br Dent J*, 2005; 8:1-4.
33. Duggal MS, Toumba KJ, Amaechi BT, Kowash MB, Higham SM. Enamel demineralization in situ with various frequencies of carbohydrate consumption with and without fluoride tooth-paste. *J Dent Res*, 2001; 80:1721-1724.
34. Lobo MM, Gonçalves RB, Pimenta LAF, Bedran-Russo AKB, Pereira PNR. In vitro evaluation of caries inhibition promoted by self-etch adhesive systems containing antibacterial agents. *J Biomed Res B Appl Biomater*, 2005; 75:122-127.
35. Rose RK, Turner SJ. Fluoride-induced enhancement of diffusion in streptococcal model plaque biofilms. *Caries Res*, 1998; 32:227-232.
36. Rolland SL, McCabe JF, Robinson C, Walls AWG. In vitro biofilm formation on the surface of resin-based dentine adhesive. *Eur J Oral Sci*, 2006; 114: 243-249.
37. Peris AR, Mitsui FHO, Lobo MM, Bedran-Russo AKB, Marchi GM. Adhesive systems and secondary caries formation: Assessment of dentin bond strength, caries lesions depth and fluoride release. *Dent Mater*, 2007; 23:308-316.

Table 1. Materials used in the study.

Adhesive	Batch / Validity	Composition	Manufacturer
Adper™ Single Bond 2	6JA	Ethyl Alcohol Bisphenol A Diglycidyl Ether Dimethacrylate Silane-treated Silica 2-Hydroxyethyl Methacrylate Copolymer of Acrylic and Itaconic acids Glycerol 1,3-Dimethacrylate Water Diurethane Dimethacrylate	3M ESPE, St Paul, USA.
All -Bond SE™	Part I 0700006661	Ethanol Sodium benzene sulfinate dihydrate 2-Hydroxyethyl Methacrylate	Bisco Inc, Schaumburg, USA.
	Part II 0700006662	Bis(glyceryl 1,3 dimethacrylate) phosphate Biphenyl dimethacrylate	
One-up Bond F Plus	Agent A 036M	Methacryloyloxyalkyl Acid Phosphate Methacryloxy-1,1-um-Decanedicarboxylic Acid Methyl Methacrylate Bisphenol A Polyethoxy Methacrylate	J. Morita A Inc, Irvine, USA.
	Agent B 530M	2-Hydroxyethyl Methacrylate Methyl Methacrylate Fluoroaluminosilicate Glass Filler Borate Catalyst Purified Water	
Clearfil Protect Bond	Primer 00032B / 2009-03	10-Methacryloyloxydecyl dihydrogen phosphate 12-Methacryloyloxydodecylpyridinium bromide 2-Hydroxyethyl Methacrylate Hydrophilic dimethacrylate Water	Kuraray Medical Inc, Okayama, Japan.
	Bond 00050B / 2009-03	2-Hydroxyethyl Methacrylate Sodium Fluoride Bisphenol A diglycidylmethacrylate 10-Methacryloyloxydecyl dihydrogen phosphate Hydrophobic aliphatic dimethacrylate Silanated colloidal silica dl-Camphorquinone N,N-Diethanol-p-toluidine	

Table 2. Microbiological analysis of dental biofilm (Mean values with their standard deviation and *p*-value for each analysis).

Microorganism	Treatment				<i>p</i> -value
	G1-SB	G2-AB	G3-OB	G4-CB	
Total streptococci (CFU/mg x 10 ⁷)	1.22±0.93	14.4±40.1	1.87±2.02	1.89±1.99	0.74
Mutans streptococci (CFU/mg x 10 ⁷)	0.04±0.07	11.21±35.31	1.25±1.95	1.03±1.70	0.67
%SM	7.62±11.34	21.27±30.01	34.55±39.29	26.97±33.05	0.98
Lactobacilli (CFU/mg x 10 ⁷)	1.37±1.54	1.39±1.57	2.00±2.35	3.93±6.86	0.61

CFU, colony-forming units; %SM, percentage of mutans streptococci group in relation to total streptococci.

Table 3. Demineralization (ΔS), for each treatment at studied distances.

Groups/ Treatment	Distance from the restoration margin (μm)	
	20	70
	ΔS	
G1 - SB	9642.18 \pm 6641.1	8901.13 \pm 6229.29
G2 - AL	12004.90 \pm 7688.33	9375.88 \pm 7253.54
G3 - OUB	8642.33 \pm 5634.32	7801.3 \pm 5052.82
G4 - CPB	9038.57 \pm 6992.42	8455.41 \pm 7428.5

Data were expressed as mean value \pm standard deviation (n=10).

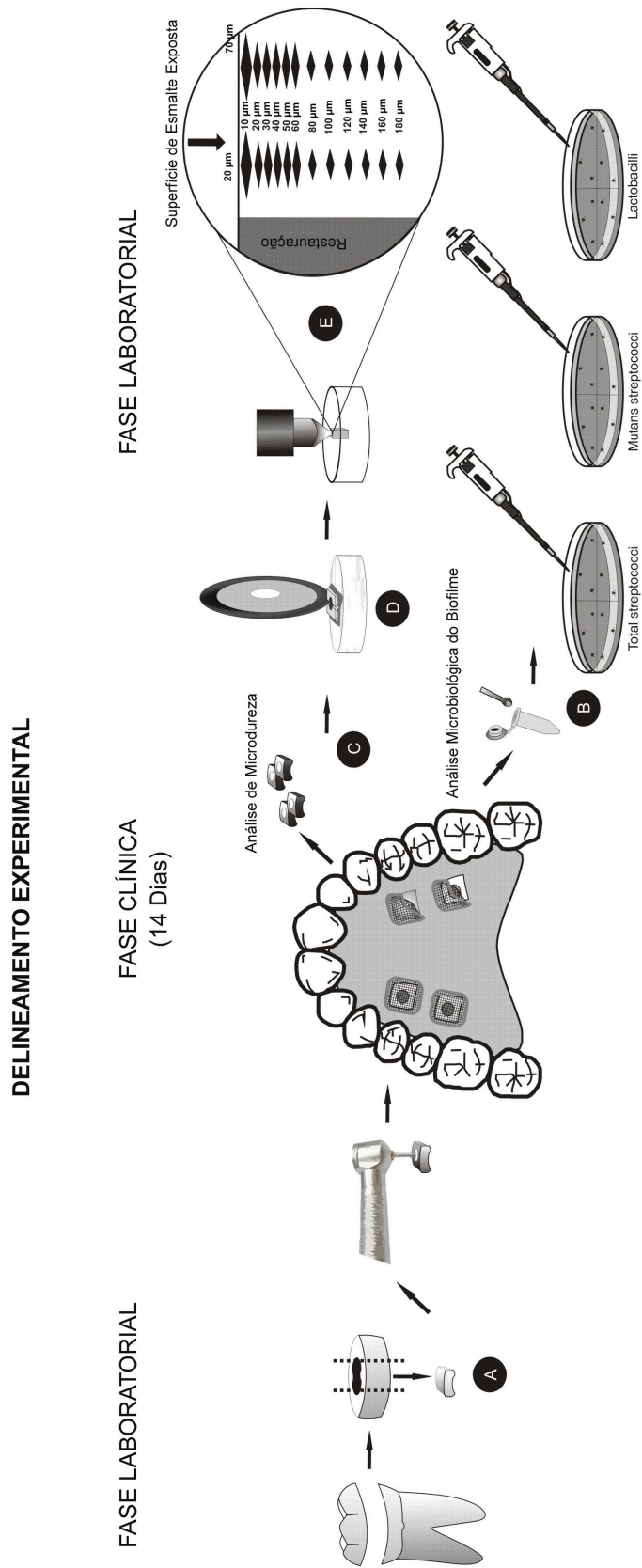


Figure 1. Representation of the experimental design used in the study

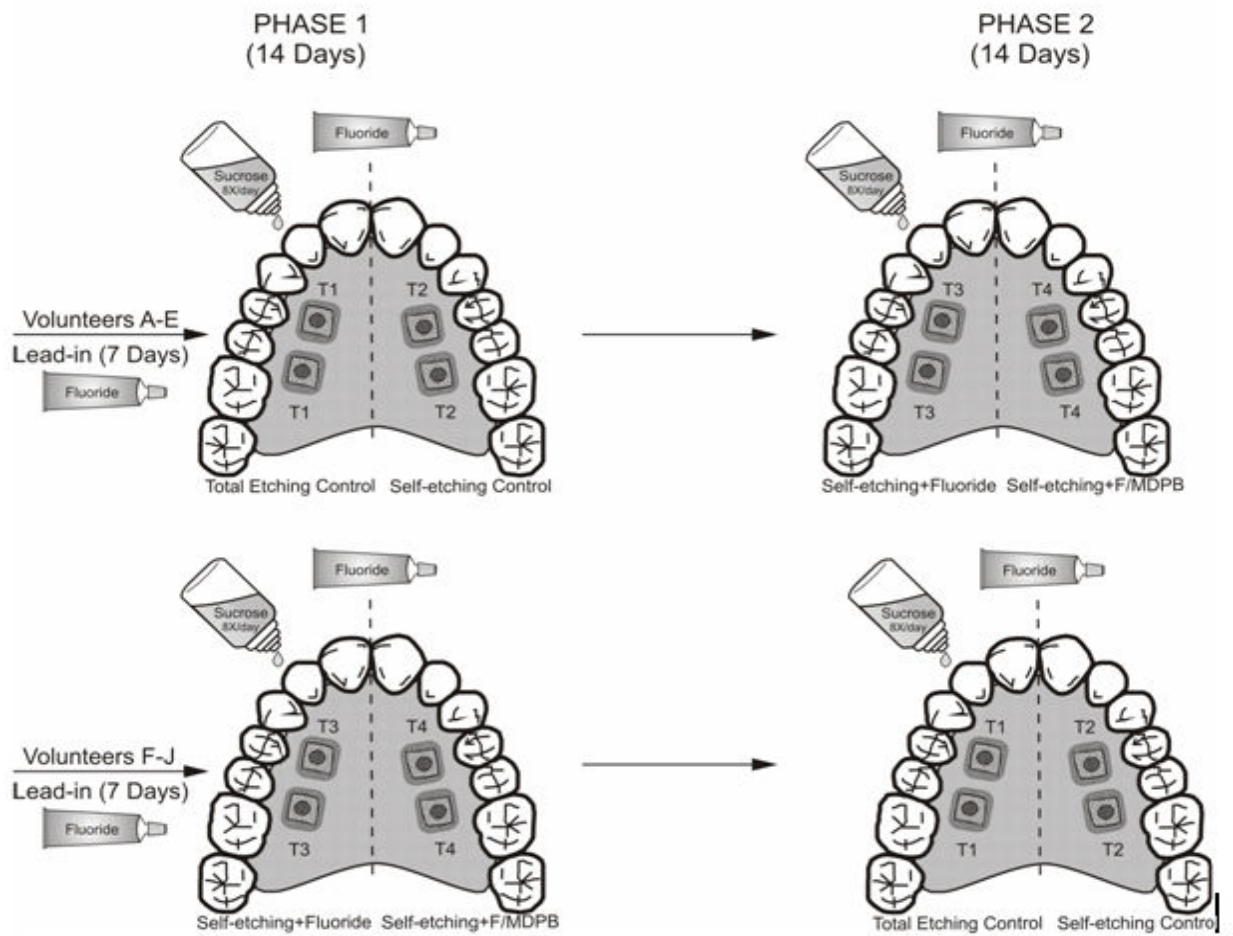


Figure 2. Representation of the cross-over design used in the study.

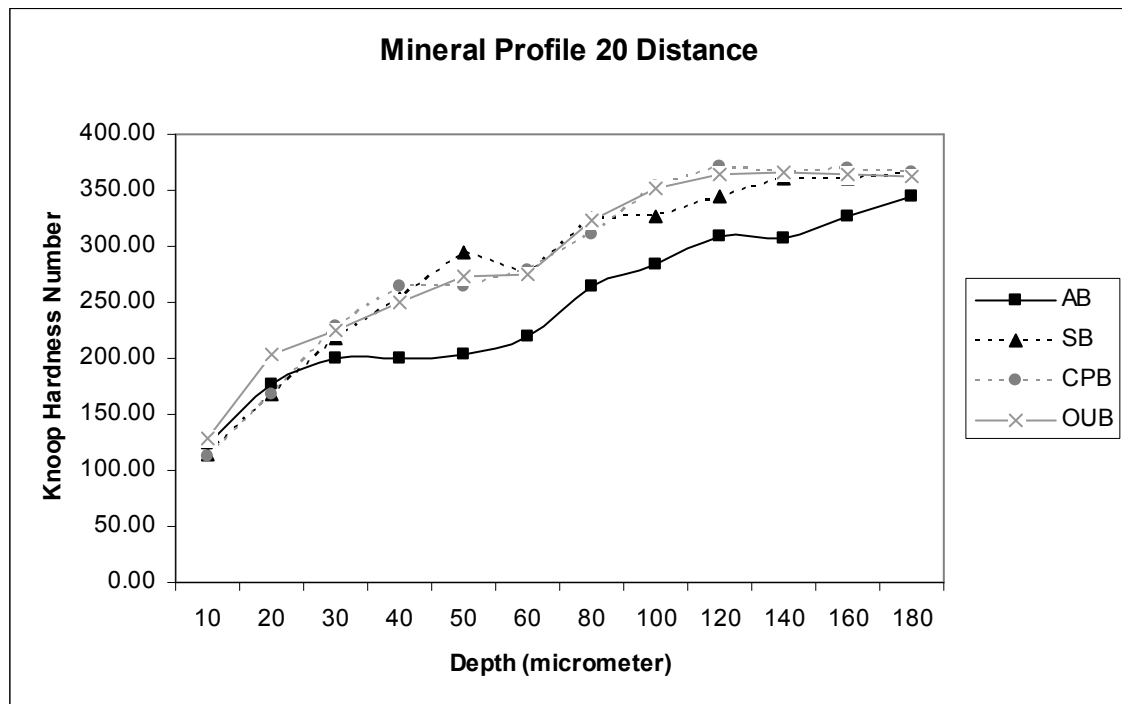


Figure 3. Relationship between microhardness and depth values (AB $y = 124.6 + 18.8x / r^2 = 0.681$; SB $y = 143.9 + 21.4x / r^2 = 0.711$; CPB $y = 140.4 + 22.6x / r^2 = 0.698$; OUB $y = 157.3 + 20.4x / r^2 = 0.732$).

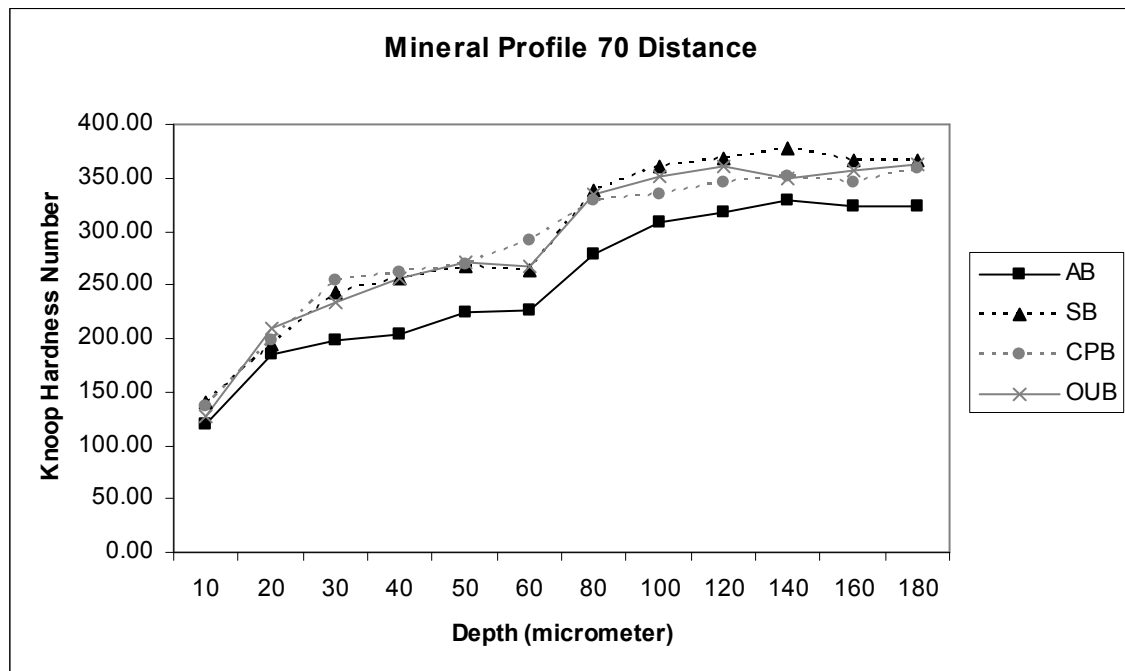


Figure 4. Relationship between microhardness and depth values (AB $y = 130.9 + 18.5x / r^2 = 0.618$; SB $y = 159.5 + 20.7x / r^2 = 0.710$; CPB $y = 171.6 + 18.0x / r^2 = 0.620$; OUB $y = 166.2 + 17.8x / r^2 = 0.606$).

4 CONCLUSÃO GERAL

Da avaliação dos resultados obtidos neste trabalho, pode-se concluir que:

Nas condições desse estudo *in situ*, os sistemas adesivos utilizados não influenciaram no surgimento e desenvolvimento da cárie secundária no esmalte dental humano adjacente às restaurações de resina composta.

- A presença do flúor ou do monômero antibacteriano, MDPB, nos sistemas adesivos, não apresentou efeito no processo de desmineralização do esmalte adjacente às restaurações.

- A presença do flúor ou do monômero antibacteriano, MDPB, nos sistemas adesivos não alterou a composição microbiológica do biofilme dental formado sobre as restaurações.

REFERÊNCIAS

- BENELLI E, E. M.; SERRA M. C.; RODRIGUES JR., A. L.; CURY, J. A. In situ anticariogenic potential of glass ionomer cement. **Caries Res.**, v. 27, p. 280-284, 1993.
- BRADSHAW, D. J.; MARSH, P. D.; HODGSON, R. J.; VISSER, J. M. Effects of glucose and fluoride on competition and metabolism within in vitro dental bacterial communities and biofilms. **Caries Res.**, v. 36, p. 81-86, 2002.
- BURROW, M. F.; TYAS, M. J. Clinical evaluation of a resin-modified glass-ionomer adhesive system. **Oper. Dent.**, v. 23, p. 290-293, 1998.
- CHIGIRA, H.; YUKITANI, W.; HASEGAWA, T.; MANABE, A.; ITOH, K.; HAYAKAWA, T.; DEBARI, K.; WAKUMOTO, S.; HISAMITSU, H. Self-etch dentin primers containing Phenyl-P. **J. Dent. Res.**, v. 73, p. 1088-1095, 1994.
- CURY, J. A.; RABELO, M. A.; DEL BEL CURY, A. A.; DERBYSHIRE, M. T.; TABCHOURY, C. P. Biochemical composition and cariogenicity of dental plaque formed in the presence of sucrose or glucose and fructose. **Caries Res.**, v. 34, p. 491-497, 2000.
- CURY, J. A.; TENUTA, L. M.; RIBEIRO, C. C.; PAES LEME, A. F. The importance of fluoride dentifrices to the current dental caries prevalence in Brazil. **Braz. Dent. J.**, v.15, p.167-174, 2004.
- DE MUNCK, J.; VAN MEERBEEK, B.; INOUE, S.; VARGAS, M.; YOSHIDA, Y.; ARMSTRONG, S.; LAMBRECHTS, P.; VANHERLE, G. Micro-tensile bond strengths of one-and two-step self-etch adhesives to bur-cut enamel and dentin. **Am. J. Dent.**, v. 16, p. 414-420, 2003a.
- DE MUNCK, J.; VAN MEERBEEK, B.; YOSHIDA, Y.; INOUE, S.; VARGAS, M.; SUZUKI, K.; LAMBRECHTS, P.; VANHERLE, G. Four-year water degradation of total-etch adhesives bonded to dentin. **J. Dent. Res.**, v. 82, p. 136-140, 2003b.
- DUGGAL MS, TOUMBA KJ, AMAECHI BT, KOWASH MB, HIGHAM SM. Enamel demineralization in situ with various frequencies of carbohydrate consumption with and without fluoride tooth-paste. **J. Dent. Res.**, v.80, p.1721-1724, 2001.
- FEATHERSTONE, J. D. B. Fluoride remineralization and root caries. **Am. J. Dent.**, v. 7, p. 271-274, 1994.
- FEATHERSTONE, J. D.; TEN CATE, J. M.; SHARIATI, M; ARENDS, J. Comparison of artificial caries-like lesions by quantitative microradiography and microhardness profiles. **Caries Res.**, v. 17, p. 385-391, 1983.
- FERRACANE, J. L.; MITCHEM, J. C.; ADEY, J. D. Fluoride penetration into the hybrid layer from a dentin adhesive. **Am. J. Dent.**, v. 11, p. 23-28, 1998.

FRANCCI, C.; DEATON, T. G.; ARNOLD, R. R.; SWIFT JR, E. J.; PERDIGÃO, J.; BAWDEN, J. W. Fluoride release from restorative materials and its effects on dentin demineralization. **J. Dent. Res.**, v. 78, p. 1647-1654, 1999.

GONDIM, J. O.; DUQUE, C.; HEBLING, J.; GIRO, E. M. A. Influence of human dentine on the antibacterial activity of self-etch adhesive systems against cariogenic bacteria. **J. Dent.**, v. 36, p. 241-248, 2008.

GROSSMAN, E. S.; MATEJKA, J. M. Histological features of artificial secondary caries adjacent to amalgam restorations. **J. Oral Rehabil.**, v. 26, p. 737-744, 1999.

HARA, A. T.; QUEIROZ, C. S.; PAES LEME, A. F.; SERRA, M. C.; CURY, J. A. Caries progression and inhibition in human and bovine root dentine in situ. **Caries Res.**, v. 37, p. 339-344, 2003.

HARA, A. T.; TURSSI, C. P.; ANDO, M.; GONZÁLEZ-CABEZAS, C.; ZERO, D. T.; RODRIGUES JUNIOR, A. L.; SERRA, M. C.; CURY, J. A. Influence of fluoride-releasing restorative material on root dentine secondary caries in situ. **Caries Res.**, v. 40, p. 435-439, 2006.

HUJOEL, P. P.; DEROUEN, T. A. Validity issues in split-mouth trials. **J. Clin. Periodontol.**, v. 19, p. 625-627, 1992.

IMAZATO, S. Antibacterial properties of resin composites and dentin bonding systems. **Dent. Mater.**, v. 19, p. 449-457, 2003a.

IMAZATO, S.; EHARA, A.; TORII, M.; EBISU, S. Antibacterial activity of dentine primer containing MDPB after curing. **J. Dent.**, v. 26, p. 267-271, 1998a.

IMAZATO, S.; IMAI, T.; EBISU, S. Antibacterial activity of proprietary self-etch primers. **Am. J. Dent.**, v. 11, p. 106-108, 1998b.

IMAZATO, S.; IMAI, T.; RUSSELL, R. R. B.; TORII, M.; EBISU, S. Antibacterial activity of cured dental resin incorporating the antibacterial monomer MDPB and an adhesion-promoting monomer. **J. Biomed. Mater Res**, v. 39, p. 511-515, 1998c.

IMAZATO, S.; KANEKO, T.; TAKHASHI, Y.; NOIRI, Y.; EBISU, S. In vivo antibacterial effects of dentin primer incorporating MDPB. **Oper. Dent.**, v. 29, p. 369-375, 2004.

IMAZATO, S.; KINOMOTO, Y.; TARUMI, H.; EBISU, S.; TAY, F. R. Antibacterial activity and bonding characteristics of an adhesive resin containing antibacterial monomer MDPB. **Dent. Mater.**, v. 19, p. 313-319, 2003b.

IMAZATO, S.; KINOMOTO, Y.; TARUME, H.; TORII, M.; RUSSELL, R. R. B.; MCCABE, F. Incorporation of antibacterial monomer MDPB into dentin primer. **J. Dent. Res.**, v. 76, p. 768-772, 1997.

IMAZATO, S.; TAY, F. R.; KANESHIRO, A. V.; TAKAHASHI, Y.; EBISU, S. An in vivo evaluation of bonding ability of comprehensive antibacterial adhesive system incorporating MDPB. **Dent. Mater.**, v. 23, p. 170-176, 2007.

IMAZATO, S.; KURAMOTO, A.; TAKAHASHI, Y.; EBISU, S.; PETERS, M.C. In vitro antibacterial effects of the dentin primer of Clearfil Protect Bond. **Dent. Mater.**, v. 22, p. 527-532, 2006.

IMAZATO, S.; TORII, Y.; TAKATSUKA, T.; INOUE, K.; EBI, N.; EBISU, S. Bactericidal effect of dentin primer containing antibacterial monomer methacryloyloxydodecylpyridinium bromide (MDPB) against bacteria in human carious dentin. **J. Oral Rehabil.**, v. 28, p. 314-319, 2001.

IMAZATO, S.; TORII, M.; TSUCHITANI, Y.; MCCABE, J. F.; RUSSELL, R. R. B. Incorporation of bacterial inhibitor into resin composite. **J. Dent. Res.**, v. 73, p. 1437-1443, 1994.

INOUE, S.; VARGAS, M.A.; VAN MEERBEEK, B.; ABE, Y.; YOSHIDA, Y.; LAMBRECHTS, P.; VANHERLE, G.; SANO, H. Micro-tensile bond strength of eleven modern adhesives to dentin. **J. Adhes. Dent.**, v. 3, p. 237-246, 2001.

IRIE, M.; SUZUKI, K.; WATTS, D. C. Immediate performance of self-etch versus system adhesives with multiple light-activated restoratives. **Dent. Mater.**, v. 20, p. 873-880, 2004.

ITOTA, T.; NAKABO, S.; IWAI, Y.; KONISHI, N.; NAGAMINE, M.; TORII, Y. Inhibition of artificial secondary caries by fluoride-releasing adhesives on root dentin. **J. Oral Rehabil.**, v. 29, p. 523-527, 2002.

KIELBASSA, A. M.; WRBAS, K. T.; SCHULTE-MÖNTING, J.; HELLWIG, E. Correlation of transversal microradiography and microhardness on in situ-induced demineralization in irradiated and nonirradiated human dental enamel. **Arch. Oral Biol.**, v. 44, p. 243-248, 1999.

KOLOURIDES, T.; PHANTUVANIT, P.; MUNKSGAARD, E.; HOUSCH, T. An intraoral model used for studies of fluoride incorporation in enamel. **J. Oral Pathol.**, v. 3, p. 185-196, 1974.

LOBO, M. M.; GONÇALVES, R. B.; PIMENTA, L. A. F.; BEDRAN-RUSSO, A. K. B.; PEREIRA, P. N. R. In vitro evaluation of caries inhibition promoted by self-etch adhesive systems containing antibacterial agents. **J. Biomed. Res. B Appl. Biomater.**, v. 75, p. 122-127, 2005.

MJOR, I. A. Clinical diagnosis of recurrent caries. **J. Am. Dent. Assoc.**, v. 136, p. 1426-1433, 2005.

MULLEN, J. History of water fluoridation. **Br. Dent. J.**, v. 8, p. 1-4, 2005.

NYVAD, B.; FEJERSKOV, O. Active root surface caries converted into inactive caries as a response to oral hygiene. **Scand. J. Dent. Res.**, v. 94, p. 281-284, 1986.

ÖZER, F.; ÜNLÜ, N.; KARAKAYA, S.; ERGANI, O.; HADIMLI, H. H. Antibacterial activities of MDPB and fluoride in dentin bonding agents. **Eur. J. Prosthodont. Dent.**, v. 13, p. 139-142, 2005.

PECHARKI, G. D.; CURY, J. A.; PAES LEME, A. F.; TABCHOURY, C. P. M.; DEL BEL CURY, A. A.; ROSALEN, P. L. *et al.* Effect of Sucrose Containing Iron (II) on Dental Biofilm and Enamel Demineralization in situ. **Caries Res.**, v. 39, p. 123–129, 2005.

PEREIRA, P. N. R.; INOKOSHI, S.; YAMADA, T.; TAGAMI, J. Microhardness of in vitro caries inhibition zone adjacent to conventional and resin-modified glass ionomer cements. **Dent. Mater.**, v. 14, p. 179-185, 1998.

PERIS, A. R.; MITSUI, F. H. O.; LOBO, M. M.; BEDRAN-RUSSO, A. K. B.; MARCHI, G. M. Adhesive systems and secondary caries formation: Assessment of dentin bond strength, caries lesions depth and fluoride release. **Dent. Mater.**, v. 23, p.308-316, 2007.

PRATI, C.; CHERSONI, S.; MONGIORGI, R.; PASHLEY, D. H. Resin infiltrated dentin layer formation of new bonding systems. **Oper. Dent.**, v. 23, p. 185-194, 1998.

RODRIGUES, L. K.; NOBRE DOS SANTOS, M.; FEATHERSTONE, J. D. In situ mineral loss inhibition by CO2 laser and fluoride. **J. Dent. Res.**, v. 85, p. 617-621, 2006.

ROLLAND, S. L.; MCCABE, J. F.; ROBINSON, C.; WALLS, A. W. G. In vitro biofilm formation on the surface of resin-based dentine adhesives. **Eur. J. Oral Sci.**, v. 114, p. 243-249, 2006.

ROSE RK, TURNER SJ. Fluoride-induced enhancement of diffusion in streptococcal model plaque biofilms. **Caries Res.**, v. 32, p. 227-232, 1998.

SAVARINO, L.; BRESCGU, L.; TEDALDI, M.; CIAPETTI, G.; TARABUSI, C.; GRECO, M.; GIUNTI, A.; PRATI, C. Ability of restorative and fluoride releasing materials to prevent marginal dentine demineralization. **Biomaterials**, v. 25, p. 1011-1017, 2004.

TAY, F. R.; SANO, H.; TAGAMI, J.; HASHIMOTO, M.; MOULDING, K. M.; YIU, C.; PASHLEY, D. H. Ultrastructural study of glass ionomer-based all-in-one adhesive. **J. Dent.**, v. 29, p. 489-498, 2001.

TEN CATE, J. M. Remineralization of caries lesions extending into dentin. **J. Dent. Res.**, v. 80, p. 1407-1411, 2001.

TENUTA, L. M.; RIBEIRO, C. C.; GONCALVES, N. C.; DEL BEL CURY, A. A.; AIRES, C. P.; TENGAN, C. *et al.* The short-term in situ model to evaluate the anticariogenic potential of ionomeric materials. **J. Dent.**, v. 33, p. 491-497, 2005.

TORII, Y.; ITOTA, T.; OKAMOTO, M.; NAKABO, S.; NAGAMINE, M.; INOUE, K. Inhibition of artificial secondary caries in root by fluoride releasing restorative materials. **Oper. Dent.**, v. 26, p. 36-43, 2001.

TYAS, M. J. Placement and replacement of restorations by selected practitioners. **Aust. Dent. J.**, v. 50, p. 81–89, 2005.

VAN MEERBEEK, B.; PERDIGÃO, J.; LAMBRECHTS, P.; VANHERLE, G. The clinical performance of dentin adhesives. **J. Dent.**, v. 26, p. 1-20, 1998.

YAMAMOTO, K.; ARAI, K.; FUKAZAWA, K.; FUKUI, K.; NAGAMATSU, K.; KATO, K.; NAKAGAKI, H.; ROBINSON, C. Effect of Plaque Fluoride Released from a Glass-Ionomer Cement on Enamel Remineralization in situ. **Caries Res.**, v. 39, p. 157–160, 2005.

YOSHIYAMA, M.; MATSUO, T.; EBISU, S.; PASHLEY, D. Regional bond strengths of self-etch / self-priming adhesive systems. **J. Dent.**, v. 26, p. 609-616, 1998.

ZERO, D. T. In situ caries models. **Adv. Dent. Res.**, v. 9, p. 214-230, 1995.

ZERO, D. T. Dentifrices, mouthwashes, and remineralization/caries arrestment strategies. **BMC Oral Health**, v. 6, p. 1-13, 2006.

ANEXO A – Seguimento do Regimento Interno

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM

§2º - No caso de não cumprimento do prazo estipulado no §1º, o orientador deverá encaminhar, antes de seu vencimento e ouvido o aluno, solicitação de ampliação do prazo, mediante justificativa e descrição da etapa de desenvolvimento do projeto.

§3º - O aluno que não obtiver aprovação no Exame Geral de Conhecimentos, terá direito à nova oportunidade, desde que respeitados os artigos 4 e 5 das Normas para os Cursos de Pós-Graduação da UFC.

§4º - O aluno só poderá defender a Dissertação após aprovação no Exame Geral de Conhecimentos de que trata este artigo.

Artigo 46 – As dissertações apresentadas ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará poderão ser produzidas em formato alternativo ou tradicional. O formato alternativo estabelece: a critério do orientador e com a aprovação da Coordenação do Programa, que os capítulos e os apêndices poderão conter cópias de artigos de autoria ou co-autoria do candidato, publicados ou submetidos para publicação em revistas científicas, escritos no idioma exigido pelo veículo de divulgação.

§1º - O orientador e o candidato deverão verificar junto às editoras a possibilidade de inclusão dos artigos na dissertação ou tese, em atendimento à legislação que rege o direito autoral, obtendo, se necessária, a competente autorização, deverão assinar declaração de que não estão infringindo o direito autoral transferido à editora.

§2º - A dissertação em formato tradicional ou as sessões gerais do formato alternativo deverão seguir as normas preconizadas pelo Guia para Normalização de Trabalhos Acadêmicos da Biblioteca Universitária disponível no site <http://www.biblioteca.ufc.br/servicos.html#apoio>. As partes específicas do formato alternativo deverão ser feitas em concordância com o *MANUAL DE NORMALIZAÇÃO PARA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO E TESE DE DOUTORADO NO FORMATO ALTERNATIVO do PPGO*.

Artigo 47 – Para cada aluno deverá ser constituída uma banca examinadora, que será formada por 03 (três) professores ou especialistas, com o título de Doutor, como membros efetivos e dois suplentes.

§1º - Os membros da banca examinadora de que trata o *caput* deste artigo constituirão a Comissão Julgadora, cuja presidência caberá ao orientador da Dissertação.

§2º - Dentre os membros efetivos da banca examinadora, 01 (um) deverá ser professor ou especialista de outra Instituição, com título de Doutor, sugerido pelo orientador e homologado pela Coordenação do Programa.

§3º - Dentre os membros suplentes da banca examinadora, 01 (um) deverá ser professor ou especialista de outra Instituição, com título de Doutor, sugerido pelo orientador e homologado pela Coordenação do Programa.

§4º - Quando na orientação da dissertação houver a participação de co-orientador, este não poderá participar da banca examinadora.

ANEXO B – Protocolo de Aprovação COMEP



Universidade Federal do Ceará
Comitê de Ética em Pesquisa

Of. Nº 627/06

Fortaleza, 09 de outubro de 2006

Protocolo COMEPE nº 138/06

Pesquisador responsável: Suyane Maria Luna Cruz de Vasconcelos

Deptº./Serviço: Departamento de Odontologia/ UFC

Título do Projeto: "Avaliação in situ da influência da utilização de sistemas adesivos no desenvolvimento da cárie secundária em esmalte"

Levamos ao conhecimento de V.S^a. que o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará – COMEPE, dentro das normas que regulamentam a pesquisa em seres humanos, do Conselho Nacional de Saúde – Ministério da Saúde, Resolução nº 196 de 10 de outubro de 1996 e complementares, aprovou o projeto supracitado na reunião do dia 05 de outubro de 2006.

Outrossim, informamos, que o pesquisador deverá se comprometer a enviar o relatório parcial e final do referido projeto.


Atenciosamente,

Dr. Fernando A. Frota Bezerra
Coordenador do Comitê
de Ética em Pesquisa
COMEPE/UFC

ANEXO C – Confirmação de Submissão do Artigo ao Periódico


Manuscript Central

<http://mc.manuscriptcentral.com/jbmr-b>



Journal of Biomedical
Materials Research
Part B: Applied Biomaterials

[Edit Account](#) | [Instructions & Forms](#) | [Log Out](#) | [Get Help Now](#)



[Main Menu](#) → [Author Dashboard](#) → Submission Confirmation

You are logged in as Lidiany Rodrigues

Submission Confirmation

Thank you for submitting your manuscript to *Journal of Biomedical Materials Research: Part B - Applied Biomaterials*.

Manuscript ID: JBMR-B-08-0352

Title: *In situ* evaluation of secondary caries inhibition promoted by self-etch adhesive systems containing antibacterial agents

Authors: Vasconcelos, Suyne
Wenceslau, João Paulo
Fernandes, Carlos
Beltrão, Haroldo
Zanin, Iriana
Almeida, Paulo
Rodrigues, Lidiany

Date Submitted: 20-Jun-2008

 Print  Return to Dashboard

Manuscript Central™ v4.10 (patent #7,257,767 and #7,263,655). © ScholarOne, Inc., 2007. All Rights Reserved.
Manuscript Central is a trademark of ScholarOne, Inc. ScholarOne is a registered trademark of ScholarOne, Inc.
[Terms and Conditions of Use](#) - [ScholarOne Privacy Policy](#)