



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
EGAS MONIZ**

**MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA**

**ALTERAÇÕES NA SUPERFÍCIE DAS RESINAS COMPOSTAS  
APÓS EXPOSIÇÃO AO ÁCIDO LÁCTICO**

Trabalho submetido por  
**João Paulo Medronho Brito**  
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

**setembro de 2017**





# **INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ**

## **MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA**

### **ALTERAÇÕES NA SUPERFÍCIE DAS RESINAS COMPOSTAS APÓS EXPOSIÇÃO AO ÁCIDO LÁCTICO**

Trabalho submetido por  
**João Paulo Medronho Brito**  
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por  
**Prof. Doutor Ignacio Barbero**

e coorientado por  
**Prof. Doutor Paulo Maurício e Prof. Doutor José Reis**

**setembro de 2017**



*“O entusiasta vence sempre o apático.  
Não é a força do braço,  
nem a virtude das armas,  
mas a força da alma que alcança a vitória.”*  
*Johann G. Fichte*

Dedico este trabalho à minha família, Mãe, Pai, Irmão e Avós pelo apoio, paciência e suporte inimaginável que me deram ao longo desta aventura mas também em todas as etapas da minha vida. Sem eles nada disto seria possível.



## **Agradecimentos**

Na elaboração deste artigo, muitos foram aqueles que me ajudaram e que merecem sem dúvida um agradecimento.

Ao meu orientador, Prof. Doutor Ignacio Barbero por ter aceitado orientar este trabalho, pelo seu conhecimento científico e pela sua disponibilidade sempre que a solicitei.

Ao meu co-orientador, Prof. Doutor Paulo Maurício, pela orientação, pelo conhecimento científico, pela paciência e apoio prestado sempre que solicitado.

Ao meu co-orientador, Prof. Doutor José Reis pela orientação, tremenda paciência e a sua invejável e incansável capacidade humana que nos consegue motivar e fazer alcançar sempre objectivos maiores que os delimitados por nós.

Ao Prof. Doutor Francisco Martins, que para mim foi também co-orientador deste trabalho. Agradeço de igual modo a motivação que sempre me deu para realizar este trabalho, a sua tremenda paciência e conselhos que em muito fizeram a diferença para que esta etapa fosse realizada mas que acima de tudo me fizeram crescer como aluno, médico dentista e como pessoa.

Ao Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, pela sua formação de excelência.

À minha família, principalmente aos meus pais, ao meu irmão e aos meus avós pelo constante apoio prestado.

À Catarina Branco, pela sua enorme paciência e ajuda com todas as máquinas do Instituto Superior Técnico., sem ela não era possível termos conseguido realizar este estudo.

Ao João Oliveira, pela ajuda na formatação da tese.

A todos os meus amigos que sempre me apoiaram durante estes cinco anos de curso, principalmente ao meu colega de box Jorge Dias, à Rita Gancho Maria Codorniz, Moritz Steinhausen e à Maria Vaz. Muito Obrigado por todas as excelentes memórias e lembranças que levo e guardo com imenso carinho no coração.



## **Resumo**

**Introdução:** a concentração de ácido láctico no sangue e na saliva aumenta durante o exercício físico. O ácido láctico é um dos ácidos mais presentes na cavidade oral devido à sua produção por parte de bactérias presentes na microbiota oral.

**Objectivos:** Avaliar o efeito da exposição do ácido láctico na superfície de uma resina composta, entre as 24h e os 7 dias.

**Materiais e métodos:** resina composta (Filtek™ Z250; 3M ESPE, Seefeld, Alemanha A2) foi compactada dentro de tubos de microcentrifugação e fotopolimerizada durante 40 segundos em cada lado. Após polimerização, retirou-se dos tubos e cortou-se no micrótomo automático (Accutom-50; Struers, Ballerup, Dinamarca), obtendo-se dezasseis discos, que foram polidos com uma polidora automática LaboPol-4 (Struers, Cleveland, EUA) com lixas de papel Carbimet 2 (Buehler, Lake Bluff, EUA) e panos de polimento com pasta de diamante. Os discos foram divididos em 3 obtendo-se 48 amostras que foram distribuídas por quatro grupos (n=12), G1- 24 h saliva artificial; G1- 7 dias saliva artificial; G2- 24 h ácido láctico e G2- 7 dias ácido láctico. Foi avaliado o coeficiente de atrito com um nanotribómetro (Nano-Tribometer CSM Instruments SA, Peuseux, Suíça), a rugosidade de superfície através de um microscópio de força atómica (EasyScan2 Flex AFM; Nanosurf, Liestal, Suíça) e a microdureza de Vickers através de um microdurómetro (HSV-30 Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão).

**Resultados:** O coeficiente de atrito diminuiu no grupo G2 ao longo do tempo. A rugosidade dentro das pistas no grupo G2 não sofreu alterações mas diminuiu no grupo G1 ao longo do tempo. Fora das pistas o grupo G2 apresentou uma diminuição na rugosidade ao longo do tempo. Em relação à microdureza, não existiu nenhuma alteração quer no grupo G1 quer no grupo G2 longo do tempo.

**Conclusão:** O ácido láctico provoca alterações na superfície da resina composta ao longo do tempo.

**Palavras-chave:** Ácido láctico, resina composta, microdureza de vickers, rugosidade de superfície.



## **Abstract**

**Introduction:** Concentration of lactic acid in the blood and saliva increases during exercise. Lactic acid is one of the acids most common in the oral cavity due to its production by bacteria present in the oral microbiota.

**Objectives:** Evaluate the effect of lactic acid exposure on the surface of a composite resin, between 24 hours and 7 days.

**Materials and methods:** A composite resin (Filtek™ Z250; 3M ESPE, Seefeld, Germany A2) was compacted into microcentrifuge tubes and photopolymerized for 40 seconds in each side. After polymerization, the composite resin was withdrawn from the tubes and cut in the automatic microtome (Accutom-50; Struers, Ballerup, Denmark), obtaining sixteen disks, which were polished with a LaboPol-4 automatic polisher (Struers, Cleveland, USA) (Buehler, Lake Bluff, USA) and polishing cloths with diamond paste. The disks were divided into 3, obtaining 48 samples that were distributed in four groups (n = 12), G1- 24 hours artificial saliva; G1- 7 days artificial saliva; G2- 24 hours lactic acid and G2- 7 days lactic acid. The coefficient of friction was analyzed through a nanotribometer (Nano-Tribometer CSM Instruments SA, Peuseux, Switzerland), surface roughness using an atomic force microscope (EasyScan2 Flex AFM; Nanosurf, Liestal, Switzerland) and Vickers microhardness with a microdurometer (HSV-30 Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan).

**Results:** The coefficient of friction decreases in the G2 group over time. The roughness within the tracks in the G2 group did not change but decreased in the G1 group over time. Out of the tracks the group G2 presented a decrease in roughness over time. Regarding microhardness, there was no change in either group G1 or group G2 over time.

**Conclusion:** Lactic acid causes changes in the surface of the composite resin over the exposure time.

**Keywords:** Lactic acid , composite resin, Vickers microhardness, surface roughness.



## ÍNDICE

I. – INTRODUÇÃO.....	15
1. – Atividade Física e Lactato.....	15
2. – Metabolismo do Lactato.....	16
2.1. - Metabolismo Aeróbio:.....	17
2.2. – Metabolismo Anaeróbio:.....	17
3. – Transporte do Lactato.....	18
4. – Saliva.....	19
4.1. – Constituição Salivar.....	19
4.2. – Ph Salivar.....	19
4.3. – Glândulas Salivares.....	20
4.4. – Fluxo Total Diário de saliva.....	21
4.5. – Saliva estimulada e não estimulada.....	21
4.6. – Função Salivar.....	21
4.7. – A Saliva como um Método de Diagnostico.....	22
5. – Bactérias presentes na cavidade oral produtoras de ácido láctico.....	23
6. – Resina composta.....	25
6.1. – Conteúdo Orgânico.....	25
6.2. – Conteúdo Inorgânico.....	26
6.3. – Agentes de união.....	26
7. – Tribometria e nanotribometro.....	27
8. – Microscópio de Força Atômica (AFM).....	28
9. – Microdureza.....	29
II Objectivos e-Hipóteses de Estudo.....	31
1.--Objetivo geral:.....	31
2.--Objetivos específicos:.....	31
3.--Hipóteses de Estudo.....	31
III. - Materiais e métodos.....	33

1. – Amostra do Estudo .....	33
1.1. – Obtenção das Amostras .....	33
1.2. – Corte das amostras .....	34
1.3 – Polimento das Amostras .....	35
2. - Dimensão da Amostra.....	38
3. – Elaboração da Saliva Artificial .....	39
4. - Elaboração Ácido Láctico.....	40
5. – Metodologia da Investigação .....	41
6. - Teste Tribológico .....	42
7. - Análise da Rugosidade da Superfície .....	44
8. – Determinação da Microdureza .....	46
9. – Análise Estatística .....	47
IV. – Resultados.....	49
1. – Análise Tribológica .....	49
2. – Análise da Rugosidade de Superfície.....	51
3. – Análise da Microdureza de Vickers .....	54
V. – Discussão .....	57
VI. – Conclusão .....	63
Perspectivas Futuras.....	63
VII.-- Bibliografia.....	65

## Índice de Figuras

Figura 1-Estrutura de um AFM (Completo, 2008) .....	28
Figura 2-Microtubo de dois mililitros (Deltalab, Barcelona, Espanha).....	33
Figura 3-Resina composta Filtek™ Z250 CR (3M ESPE, Dental Products, St. Paul, MN, EUA, Lote N861035).....	33
Figura 4-A- Accutom 50 (Struers) Fechado; B- Accutom 50 (Struers) Aberto .....	34
Figura 5- Amostras de resina composta após corte micrótomo .....	34
Figura 6-A- Chave de Silicone para Polimento de Amostras; B- Chave de Silicone para Polimento, com uma Amostra colocada .....	35
Figura 7-Disco de Polimento 600Grits .....	35
Figura 8-Disco de Polimento 1200Grits .....	36
Figura 9-Disco de Polimento 4000Grits .....	36
Figura 10-LaboPol-4 (Struers).....	36
Figura 11-A- Pano de Polimento de 3 $\mu$ (ReflexPad; Presi, Eybens, France); B- Pano de Polimento de 1 $\mu$ (ReflexPad; Presi, Eybens, France).....	37
Figura 12- MetaDi II 6Grams Diamond Polishing Compound 3 $\mu$ MICRON e 1 $\mu$ - MICRON BUEHLER .....	37
Figura 13-Polimento de uma Amostra com Chave de Silicone na Polidora LaboPol-4 (Struers) 38	
Figura 14-Recipiente estéril 20ml.....	39
Figura 15-Saliva Artificial Fusayama-Meyer pH 6,3 .....	39
Figura 16- Ácido Láctico pH 4,00 .....	40
Figura 17-Potes esterilizados Delta Lab, com os quatro grupos em estudo .....	41
Figura 18-Nanotribómetro (CSM Nanotribometer) Fechado .....	42
Figura 19-Nanotribómetro (CSM Nanotribometer) Aberto.....	42
Figura 20-Amostra com as 3 pistas realizadas pelo Nanótribometro .....	43
Figura 21-Bola de Zircónio realizando uma pista no disco de Resina Composta .....	43
Figura 22-Microscópio de Força Atómica Nanosurf EasyScan 2 (Nanosurf AG Liestal Suíça) Fechado .....	44
Figura 23-Close up do Microscópio de Força Atómica Nanosurf EasyScan 2 (Nanosurf AG Liestal Suíça) .....	44
Figura 24-Microscópio de Força Atómica Nanosurf EasyScan 2 (Nanosurf AG Liestal Suíça) Aberto .....	45
Figura 25-Aquisição de dados pelo AFM (EasyScan2 Flex AFM; Nanosurf AG, Suíça) .....	45
Figura 26-Renderização de uma pista de desgaste em 3D e 2D pelo programa WSxM (WSxM 46	
Figura 27-Shimadzu HSV-30 .....	46
Figura 28-Medição da dureza de Vickers num disco de Resina Composta.....	47
Figura 29-Indentação efetuada pelo medidor de microdureza.....	47



## Índice de Tabelas

Tabela 1-Representação dos grupos em estudo, com os respectivos tempos de exposição e a solução em que estiveram expostos .....	39
Tabela 2-Constituintes da saliva artificial e a quantidade correspondente de cada constituinte ..	40
Tabela 3- Parâmetros selecionados para o ensaio no nanotribómetro .....	43
Tabela 4- Resultados da análise estatística relativa ao coeficiente de atrito ( $\mu$ ).....	50
Tabela 5- Resultados da análise estatística relativamente à rugosidade fora das pistas ( $\mu\text{m}$ ) .....	52
Tabela 6- Resultados da análise estatística relativamente à rugosidade dentro das pistas ( $\mu\text{m}$ ) ..	52
Tabela 7- Resultados da análise estatística relativos à microdureza de vickers .....	54



## **Índice de Gráficos**

Gráfico 1-Resultados relativos ao coeficiente de atrito .....	50
Gráfico 2-- Resultados relativos à rugosidade de superfície dentro e fora das pistas.....	53
Gráfico 3-Resultados relativos à microdureza de vickers.....	55



## **LISTA DE ABREVIATURAS**

**Bis-EMA** - bisfenol-A-glicil dimetacrilato etoxilado

**Bis-GMA** - bisfenol-A-glicidil dimetacrilato

**TEGMA** -trietileno Glicil Metacrilato

**UDMA**- uretano dimetacrilato

**ATP**- adenosina trifosfato

**h** - horas

**ISO/FEPA** - *International Organisation for Standardisation / Federation of European Producers of Abrasives*

**M** - concentração molar

**mM** - milimolar

**mm/s** - milímetro por segundo

**μ** - micron

**N** - newton

**rpm** - rotações por minuto

**s** - segundo

***S. mutans*** - *Streptococcus mutans*

***SPSS*** - *Statistical Package for the Social Sciences*

**AFM**- Atomic Force Microscope



## I. – INTRODUÇÃO

### 1. – Atividade Física e Lactato

A atividade física compreende um leque muito abrangente que inclui todas as atividades voluntárias, como as ocupacionais, de lazer, e desportivas bem como as atividades domésticas e de deslocamento (Mendonça, 2004).

Os últimos dados estatísticos indicam que nos países desenvolvidos a atividade física ocupacional está em declínio, mas a atividade física de lazer aumentou em adultos (Hallal et al., 2012).

Para promover e manter a saúde, adultos saudáveis com idade compreendidas entre 18 e 65 anos necessitam de realizar uma atividade física aeróbia de moderada intensidade (resistência) por um período mínimo de 30 minutos durante cinco dias por semana ou uma atividade física aeróbia de maior intensidade por um tempo mínimo de 20 min durante três dias por semana (Haskell et al., 2007).

A atividade física de maior intensidade produz efeitos mais rápidos e efetivos do que a atividade de intensidade moderada. 31, 4% dos adultos relatam o desempenho da atividade física de maior intensidade em 3 ou mais dias por semana (Hallal et al., 2012).

A concentração de lactato no sangue varia de 0,5 a 1,5 mM em pessoas normais em repouso e pode atingir valores até 12 mM durante o exercício ou mesmo 25 mM na realização de um exercício físico mais intenso e extenso (Petropoulos, Piermarini, Bernardini, Palleschi, & Moscone, 2016) . Uma actividade física mais intensa leva ao aumento do lactato no sangue (Petropoulos et al., 2016).

O aumento da atividade física causará uma maior acumulação de lactato, causada pelo aumento da actividade muscular, levando a uma maior concentração de lactato nos tecidos por um período mais longo de tempo, uma vez que a sua produção excede a sua remoção (Gladden, 2004).

No entanto, as concentrações de lactato na saliva variam de 0,11-0,56 mM em pessoas normais em repouso, valores relativamente semelhantes, embora menores do que os encontrados no sangue (Petrooulos et al., 2016).

Foram descritas elevadas correlações entre a concentração de lactato salivar e a concentração de lactato sanguíneo durante períodos de exercício de curta e de longa duração com um aumento de intensidade progressivo (Ohkuwa, Itoh, Yamazaki, & Sato, 1995; Oliveira, Oliveira, Manchado-Gobatto, & Costa, 2015; Pérez, Lucía, Carvajal, Pardo, & Chicharro, 1999; Segura et al., 1996).

Existe um crescimento linear tanto do lactato salivar como do lactato sanguíneo quando existe um aumento da intensidade da atividade física, embora com diferentes magnitudes. No entanto, a concentração de lactato salivar é menor do que no sangue, correspondendo a aproximadamente 6-20% da observada em amostras de sangue obtidas ao mesmo tempo (Oliveira et al., 2015).

Embora a resposta do lactato durante o exercício seja muito semelhante entre sangue e saliva, deve ser levado em consideração um atraso de aproximadamente seis minutos no aparecimento da concentração de lactato na saliva em comparação com o sangue (Oliveira et al., 2015; Van Hall, 2010).

Isso deve-se ao fato de outros tecidos participam do turnover de lactato, bem como o efeito integrativo da resposta hemodinâmica e neuroendócrina no fluxo de saliva, contribui para a diferença de tempo de aparecimento do lactato na saliva (Oliveira et al., 2015; Van Hall, 2010).

## **2. – Metabolismo do Lactato**

Durante a prática de exercício físico as fibras musculares esqueléticas vão gerar forças, essas forças podem ser formadas enquanto os músculos esqueléticos permanecem estáticos, tornam-se mais curtos ou aumentam de comprimento. Essas ações são o resultado de mudanças bioquímicas e estruturais que ocorrem dentro das fibras musculares esqueléticas após ativação neural e que necessitam de energia sob a forma de Adenosina trifosfato (ATP). A formação de energia pode ser obtida através de duas vias: aeróbia (oxidativo) e anaeróbia (glicolítico) (Bertuzzi, Silva, Abad, & Pires, 2009; Rivera-Brown & Frontera, 2012).

### **2.1. - Metabolismo Aeróbio:**

Se a intensidade do exercício físico for baixa e de longa duração e houver um fornecimento constante de oxigénio para as células, então a energia é produzida através da via de fosforilação oxidativa (Rivera-Brown & Frontera, 2012).

O sistema oxidativo produz um rendimento maior de energia e é o caminho mais importante para a produção de energia durante a realização de exercício físico por um período de tempo mais prolongado. Este processo aeróbio toma lugar nas mitocôndrias dos músculos em atividade e utiliza o Ciclo de Krebs e a cadeia a transportadora de eletrões para produzir adenosina trifosfato (ATP). O rendimento energético do metabolismo aeróbico é muito maior do que o obtido através da glicólise anaeróbia (Rivera-Brown & Frontera, 2012).

Atividades físicas que duram uma maior quantidade de tempo (2-3 minutos) dependem principalmente do metabolismo oxidativo, como são os casos da natação e corridas de longa distância, este tipo de atividade são classificados como atividades aeróbicas (Rivera-Brown & Frontera, 2012).

### **2.2. – Metabolismo Anaeróbio:**

A energia extraída de ligações fosfatadas de alta energia é necessária para a atividade muscular. A célula armazena uma pequena quantidade de ATP próximo às proteínas contrácteis, a energia para o início do exercício e para ações musculares de alta intensidade (85% -100% da capacidade máxima) e, portanto, de curta duração (até 10 segundos) é derivado de uma pequena quantidade de ATP através da degradação da creatina fosfato (CP) que é armazenada nas células musculares (Bertuzzi et al., 2009; Rivera-Brown & Frontera, 2012).

A utilização deste ATP não é dependente de um fornecimento de oxigénio e, portanto, a energia está disponível assim que o músculo necessitar, no entanto para a atividade física continuar para além de alguns segundos, as células devem sintetizar ATP ou através da via anaeróbia ou aeróbia, uma vez que as reservas de CP são limitadas e esgotam-se rapidamente (Rivera-Brown & Frontera, 2012).

Durante o exercício de alta intensidade, o sistema é incapaz de fornecer rapidamente as células com oxigénio. Se a atividade continuar, uma vez que as reservas de CP iram-se esgotar, os

músculos iram necessitar de outras formas de síntese de ATP para obter energia. Uma vez que neste tipo de atividade física as necessidades de ATP são bastantes elevadas o sistema cardiovascular pode não ter a capacidade de fornecimento de oxigénio suficiente às células necessárias para produzir ATP via fosforilação oxidativa requeridas por o músculo e ou o sistema de transporte de oxigénio pode ainda não estar completamente ativado, o músculo recorre à rápida quebra de glicogénio armazenado para regeneração de ATP através da via glicolítica (Bertuzzi et al., 2009; Rivera-Brown & Frontera, 2012).

Infelizmente, isso pode resultar na produção e acumulação de Ácido láctico, o que leva à fadiga porque a acidificação muscular prejudica a função enzimática (Rivera-Brown & Frontera, 2012).

### **3. – Transporte do Lactato**

O ácido láctico apresenta um  $pK_a$  de 3,87, comportando-se como um ácido forte em pH fisiológico cerca de pH 7,4, dissociando-se muito rapidamente em iões de hidrogénio e lactato. O lactato desloca-se após a sua formação durante o exercício físico, sobretudo de intensidade elevada, do meio intracelular para o extracelular através dos transportadores mono- carboxilatos MCT1 e MCT4. Sendo que o transportador MCT1 está presente em maior quantidade nas fibras de contracção lenta, e o transportador MCT4 está em maior quantidade nas fibras de contracção rápida, situando-se o MCT1 preferencialmente no sarcolema e o MCT4 na membrana da mitocôndria (Bertuzzi et al., 2009; Gladden, 2004; Handy, 2006; Juel, Holten, & Dela, 2004; Thomas, 2004).

Uma vez no fluido intersticial o lactato e o hidrogénio ganham acesso à corrente sanguínea através de fendas e células endoteliais (Gladden, 2004).

Na corrente sanguínea o lactato entra nos eritrócitos através do transportador MCT1 presente na membrana dos eritrocitos, tornando-se a principal via de transporte de lactato. Desta forma, e á medida que o sangue circula por todo o organismo passando por todos os órgãos, o lactato consegue ser distribuído por todos os tecidos a favor do gradiente de concentração, podendo assim ser encontrado nas glândulas salivares e conseqüentemente fazer parte da composição da saliva (Gladden, 2004; Santos, Almeida, Caperuto, Martins & Costa Rosa, 2006).

#### **4. – Saliva**

Mandel, (1990) disse que “a saliva não é um dos mais populares fluidos corporais”. Falta-lhe o drama do sangue, a sinceridade do suor e o apelo emocional das lágrimas”. No entanto, esta secreção subvalorizada é um fluido multifacetado e multifuncional que é indispensável para um correto funcionamento de todo o organismo (Benn & Thomson, 2014).

##### **4.1. – Constituição Salivar**

A saliva é composta por 99% de água. Os outros componentes da saliva são os compostos inorgânicos como o sódio, potássio, cálcio, magnésio, bicarbonato, fosfatos, flúor entre outros, imunoglobulinas, proteínas, enzimas, mucinas, ureia, amônia, lactato etc, além de conter também uma grande proporção de constituintes orgânicos e inorgânicos, a saliva é um fluido oral, geralmente incolor, claro, levemente ácido e de secreção exócrina (Chicharro, Lucía, Pérez, Vaquero, & Ureña, 1998; Guedes & Crescente, 2009; Humphrey & Williamson, 2001).

As funções atribuídas à saliva incluem lubrificação, digestão, formação de barreira semipermeável bioativa que recobre a superfície oral e regula a composição da flora oral (Guedes & Crescente, 2009).

##### **4.2. – Ph Salivar**

O termo pH serve para distinguir o grau de acidez ou alcalinidade de uma solução. Valores na escala de pH situam-se entre os 0 e 14, sendo valores de 7 considerados pH neutro. Toda solução que estiver abaixo de pH 7, é considerada ácida e toda solução com pH acima de 7 é considerada básica. O pH normal da saliva varia entre os 6 a 7, com um intervalo de 5,3, quando o fluxo salivar é baixo e pode chegar a valores de 7,8 quando o fluxo salivar é alto (Benn & Thomson, 2014; Guedes & Crescente, 2009).

Tais valores devem-se às concentrações de CO<sub>2</sub> no sangue, quando as concentrações de CO<sub>2</sub> no sangue estão elevadas, parte deste CO<sub>2</sub> é transferido do sangue para a saliva, levando a uma diminuição do pH salivar. Caso os valores de CO<sub>2</sub> sanguíneo forem baixos, existirá uma menor transferência de dióxido de carbono para a saliva aumentando desta forma os valores de pH salivar (Chicharro et al., 1998).

### **4.3. – Glândulas Salivares**

A produção de saliva é da responsabilidade das glândulas salivares, podendo elas serem classificadas consoante a sua dimensão (major ou minor) ou devido à natureza histoquímica da saliva secretada (serosa, mucosa ou mista). A saliva serosa é uma secreção mais aquosa e mais fluida em comparação com uma saliva mucosa que é mais viscosa devido à presença de mucinas, uma glicoproteína, no seu conteúdo. Existem três pares de glândulas salivares major sendo elas as parótidas com uma secreção serosa, as submandibulares com uma secreção mista (serosa e mucosa) e as glândulas sublinguais (as de menor tamanho de todas as glândulas salivares major) apresentando elas uma secreção mista, mas com um maior conteúdo mucoso. Já as glândulas salivares minor encontram-se distribuídas por toda a cavidade oral sendo encontradas na mucosa vestibular e labial, palato posterior e bordo labial da língua, existindo glândulas salivares minor serosas e glândulas salivares minor mucosas (Benn & Thomson, 2014; Carpenter, 2013; Eliasson & Carlén, 2010).

Em repouso, as glândulas parótidas contribuem com cerca de 20-25% do fluxo total de saliva, seguindo-se as glândulas submandibulares com uma produção salivar a rondar os 60-65% e as glândulas sublinguais contribuindo com 7-8%, enquanto que as glândulas salivares minor quer em repouso quer durante o fluxo salivar estimulado produzem menos de 10% do fluxo total salivar. No entanto, quando existe a estimulação do fluxo salivar, as glândulas parótidas aumentam a sua produção passando a contribuir com cerca de 50-70% da saliva total (Benn & Thomson, 2014; Humphrey & Williamson, 2001).

A saliva proveniente das glândulas salivares é estéril mas quando chega á cavidade oral deixa de o ser assim quando entra em contacto e se mistura com o fluido crevicular, restos alimentares, microorganismos como bactérias e produtos do seu metabolismo, vírus, fungos, células epiteliais descamadas, componentes celulares, e secreções originadas nas vias aéreas superiores deixando assim de ser uma saliva estéril e passando a ser designada de “saliva total”(Llena-Puy, 2006; Tenovuo, 1997).

#### **4.4. – Fluxo Total Diário de saliva**

Num adulto saudável a produção diária de saliva estimulada encontra-se entre 0,5 e 1,5 litros, sendo que o fluxo estimulado contribui com 50 a 90% deste total, no entanto tais valores vão ser suscetíveis a alterações dependendo da duração, intensidade e natureza de determinados estímulos e factores como por exemplo: hidratação, postura corporal, exposição a luz solar, tabaco, medicação, estimulação olfativa, visual e gustativa, pensamento constante em comida, mascar pastilha elástica várias vezes ao dia, tamanho das glândulas salivares, peso corporal, exercício físico, álcool, doenças sistémicas e locais, nutrição, idade, sexo entre outros (Almeida, P.D.V, 2008; Benn & Thomson, 2014; Humphrey & Williamson, 2001).

#### **4.5. – Saliva estimulada e não estimulada**

O fluxo total de saliva compreende a saliva estimulada e não estimulada, fluido crevicular gengival, bactérias orais não aderentes e detritos de comida. A secreção de saliva não estimulada ocorre sem nenhuma estimulação, encontrando-se a pessoa em repouso e corresponde a cerca de 0,1 ml / min a 0,4 ml / min para fluxo não estimulado. Já a saliva estimulada é produzida perante a presença de um estímulo seja ele mecânico, gustativo, olfativo ou farmacológico, correspondendo com cerca de 0,2 ml / min a 1,7 ml / min para o fluxo estimulado (Almeida, P.D.V, 2008; Benn & Thomson, 2014; Humphrey & Williamson, 2001) .

Existem diferenças na concentração de diversos constituintes da saliva estimulada e da não estimulada, a saliva estimulada é mais rica em sódio, bicarbonato e cloro do que a saliva não estimulada, tendo a saliva estimulada uma composição mais semelhante á do plasma (Aps & Martens, 2005; Chiappin, Antonelli, Gatti, & De Palo, 2007).

#### **4.6. – Função Salivar**

Sendo a saliva um fluido bastante complexo esta apresenta um leque muito diversificado de funções, ajudando na lubrificação e proteção da mucosa oral, modula o processo de desmineralização e remineralização dos dentes, apresenta uma acção antimicrobiana, antifúngica e antiviral através de agentes imunológicos e agentes não imunológicos que ajudam a controlar a microflora oral, auxilia no processo de aglutinação de bactérias na saliva acelerando a sua eliminação da cavidade oral, ajuda no processo de formação de uma película de proteínas que irá criar uma camada protetora sobre os dentes, auxilia a formação do bolo alimentar e a digestão, a

acção solvente e a hipotonicidade da saliva melhoram a capacidade de degustação através do aumento da interacção entre os nutrientes e as papilas gustativas potenciado desta forma as sensações gustativas e a percepção do paladar, tem um papel importante na fonação, regula a capacidade tampão e controla o pH da cavidade oral, apresenta um papel importante relativamente á hidratação pois a desidratação oral e secura da boca estimulam a necessidade de beber (Almeida, P.D.V, 2008; Benn & Thomson, 2014; I D Mandel, 1987).

#### **4.7. – A Saliva como um Método de Diagnostico**

A saliva tem vindo a ter uma crescente atenção e a ser cada vez mais estudada como um método de diagnóstico alternativo à recolha de sangue devido à colheita ser simples e não invasiva e apresentar uma relação direta com os constituintes do sangue. A recolha de saliva apresenta inúmeras vantagens em comparação com a recolha de sangue, é um método não invasivo, fácil de usar, barato, é mais seguro quer para o dador quer para o operador pois não necessita do uso de agulhas, diminuído assim o risco de infeção e contaminação cruzada, não há necessidade de uma equipa médica altamente treinada para realizar a recolha, várias amostras podem ser obtidas facilmente, a recolha de saliva não necessita de ser num sitio com equipamento específico podendo ser realizada em qualquer lado, a recolha de amostras o seu transporte e o seu armazenando são mais simples e económicos do que comparados com o sangue, requer uma menor manipulação durante os procedimentos de diagnóstico e apresenta uma maior facilidade de realização de recolhas em grandes comunidades (Javaid, Ahmed, Durand, & Tran, 2016; Martí-álamo, Mancheño-franch, Marzal-gamarra, & Carlos-fabuel, 2012; Petropoulos et al., 2016).

## 5. – Bactérias presentes na cavidade oral produtoras de ácido láctico

A cavidade oral apresenta uma complexa e vasta diversidade de bactérias, contendo cerca de 500- 700 diferentes espécies bacterianas (Bik et al., 2010).

Desta grande variedade de bactérias que coabitam na cavidade oral existem duas estirpes que apresentam grande poder acidogénico, sendo elas o *S. mutans* e *Lactobacillus spp*. Estas duas bactérias têm a capacidade de produzir e libertar grandes quantidades de ácido láctico, diminuindo desta forma o pH da cavidade oral até ao ponto de inibir o crescimento de organismos menos ácido tolerantes, sendo desta forma duas das principais espécies bacterianas associadas ao desenvolvimento da cárie (Galvão, Proença, & Barroso, 2012; Nishikawara, Nomura, Imai, Senda, & Hanada, 2007).

O *S. mutans* é normalmente encontrado nas superfícies dentárias e na saliva, mas também tem sido identificado noutros locais da cavidade oral, como é o caso do dorso da língua (Galvão et al., 2012; Pannu, Gambhir, & Sujlana, 2013; Tanner et al., 2002).

Relativamente ao *Lactobacillus spp* existem cerca de 100 espécies diferentes, algumas dessas espécies residem em diversas zonas do nosso organismo, como por exemplo, no trato gastrointestinal e no trato uro- genital feminino, onde executam um papel muito importante para a saúde geral do hospedeiro, funcionando como microrganismos probióticos. No entanto, na cavidade oral estas bactérias estão fortemente envolvidas no desenvolvimento da cárie dentária, estando presentes em grandes quantidades na saliva, dorso da língua, na mucosa oral e no palato (Galvão et al., 2012; Tanzer, Livingston, & Thompson, 2001).

Desde o trabalho inovador de Distler e Kröncke, em 1983, que realizaram um estudo in vivo onde mostraram que o ácido láctico representa a maioria dos ácidos orgânicos presentes no biofilme oral humano e que este ácido tem um aumento mais acentuado relativamente aos ácidos propiónico e acético após lavagem com sacarose (Distler & Kroncke, 1983; Hashemikamangar, Pourhashemi, Talebi, Kiomarsi, & Kharazifard, 2015). Bactérias produtoras de ácido láctico, como por exemplo o *S. mutans* vão levar ao aumento do ácido láctico salivar, principalmente em áreas onde a capacidade tampão da saliva é menos eficaz, e onde o biofilme oral se encontra mais aderente á superfície das restaurações de resina composta, por exemplo áreas interproximais. Deste modo, estudos sobre a ação do ácido láctico sobre a resina composta permitem aumentar o conhecimento sobre a degradação deste material na cavidade oral (Distler & Kroncke, 1983; Gonçalves, Amaral, Poskus, Guimarães, & Da Silva, 2014).

## **6. – Resina composta**

A resina composta é o material restaurador direto mais usado atualmente, graças às suas propriedades (estética e vantagens provenientes da tecnologia adesiva) os compósitos assumiram o lugar ocupado anteriormente pela amálgama (Zimmerli, Strub, Jeger, Stadler, & Lussi, 2010).

As resinas compostas melhoraram consideravelmente desde que foram introduzidas na medicina dentária, levando a uma excelente aceitação por parte dos médicos dentistas que podem usá-las para uma variedade de procedimentos clínicos (Ferracane, 2011; Münchow et al., 2014).

No mercado existem vários tipos de resina composta para técnicas restauradoras. Os materiais mais conhecidos são as resinas compostas híbridas, esta tecnologia, baseada em metacrilatos tem vindo a ser melhorada continuamente. Atualmente a maioria das resinas compostas presentes no mercado pertencem a um dos seguintes grupos: nanocompósitos; compósitos nano-filled; compósitos híbridos nano-filled ou compósitos micro-híbridos. No entanto, existem desvantagens na sua utilização como por exemplo a contração de polimerização, a adesão bacteriana e efeitos colaterais devido à libertação de monómeros residuais. A resina composta é constituída por três componentes: a matriz de resina (conteúdo orgânico), porção com cargas (parte inorgânica) e agentes de união (Zimmerli et al., 2010).

### **6.1. – Conteúdo Orgânico**

A matriz de resina consiste principalmente em Bis-GMA (bisphenol-A-glicidildimethacrilato). Uma vez que Bis-GMA é altamente viscoso sozinho, este é misturado em combinações diferentes com monómeros de cadeia curta tais como o TEGDMA (triethilenglicol-dimetacrilato). Quanto menor o teor de Bis-GMA e quanto maior a proporção de TEGDMA, maior a contração de polimerização (F. Gonçalves, C.S. Pfeifer & J.L. Ferracane, 2008; Zimmerli et al., 2010).

A substituição de Bis-GMA por TEGDMA aumenta a resistência à tração, mas diminui a resistência à flexão do material. No entanto, os monómeros podem ser libertados do material restaurador. Para reduzir esta libertação uma polimerização mais longa melhora a taxa de conversão (ligação em cadeia dos monómeros individuais) e, portanto, leva a uma menor libertação de monómero (Sideridou & Achilias, 2005; Zimmerli et al., 2010).

### **6.2. – Conteúdo Inorgânico**

A porção inorgânica é constituída por quartzo, cerâmica e ou sílica. Com o aumento da porção inorgânica, a contração de polimerização, o coeficiente de expansão linear e a absorção de água são reduzidos. Por outro lado, com o aumento da porção inorgânica, a resistência à compressão e à tração, o módulo de elasticidade e a resistência ao desgaste são geralmente aumentados (Kim K.H., Ong J.L., 2002; Zimmerli et al., 2010).

### **6.3. – Agentes de união**

O vínculo estável entre a porção inorgânica e a matriz influencia ainda mais as propriedades do material. A qualidade deste vínculo afeta a resistência à abrasão do material restaurador. As moléculas de fase composta possuem um grupo de silano numa extremidade e um grupo de metacrilato na outra extremidade e podem se unir tanto com a porção inorgânica como com a matriz de resina. A silanização do enchimento é importante para a resistência do material (Ikejima, Nomoto, & McCabe, 2003; Zimmerli et al., 2010).

## **7. – Tribometria e nanotribometro**

O termo Tribologia foi definido em 1966 por H. Peter Jost como a “ciência e tecnologia de superfícies interativas em movimento relativo e dos assuntos e práticas relacionados”(Jost, 1990; Radi, 2007).

A tribometria, em geral, representa uma área da Tribologia que compreende meios e métodos de medição, como por exemplo: forças de fricção nas zonas de contato; desgaste de elementos em tribosistemas; temperatura; rugosidade de superfície ; tamanhos de superfícies de contato; tensão de contato etc (Zivić, Babić, Grujović, & Mitrović, 2010).

A medida da força de atrito e o cálculo do coeficiente de atrito é de grande importância para os tribosistemas em uso e para alguns é mesmo de extrema relevância como por exemplo em testes de travões, embraiagens ou sistema de controle similar, onde a força de atrito determina o comportamento do próprio sistema (Zivić et al., 2010).

Um nanotribómetro é um instrumento com a capacidade de medir forças de atrito e o desgaste entre superfícies em movimento relativo, a uma escala reduzida. O funcionamento do nanotribómetro é baseado na tecnologia SFM (Scanning Force Microscope), no entanto, consegue-o superar uma vez que utiliza medidores de capacitância e interferómetros ópticos em sistemas de circuito fechado para medir directamente os movimentos X, Y e Z de uma amostra e pode trabalhar numa larga gama de forças (Dvorak, Woodland, & Unertl, 1998).

O nanotribómetro dispõe ainda de um cantilever, onde é fixado o contracorpo, (geralmente uma pequena esfera) este está associado a dois sensores óticos que medem a sua deformação normal e lateral durante o deslizamento sobre uma amostra. Deste modo é determinado o coeficiente de atrito, que expressa a oposição que revelam as superfícies de dois corpos, em contacto, ao deslizarem um em relação ao outro. Este está ainda equipado com um software apropriado que pode fornecer taxas de desgaste ou de stresse hertziano (Zivic, 2007; Zivić et al., 2010).

## 8. – Microscópio de Força Atômica (AFM)

O Microscópio de Força Atômica (AFM) permite determinar a rugosidade de uma superfície e produzir imagens com resolução atômica, possibilitando visualizar tridimensionalmente a topografia da superfície de uma amostra, sendo a rugosidade da superfície média aritmética- Ra o parâmetro mais usado para a caracterização da topografia de uma superfície. Este parâmetro quantifica o quanto uma superfície se desvia de um plano direito (Varanda, Do Prado, Simão, & Dias, 2013).

O AFM é constituído por três elementos: um fotodetector de feixe de laser refletido; uma sonda com um *cantilever*, que através da sua ponta (*tip*) varre a superfície da amostra e um material piezoelétrico capaz de se mover em três direções (x,y,z), como representado na Figura 1(Pustan & Belcin, 2009).

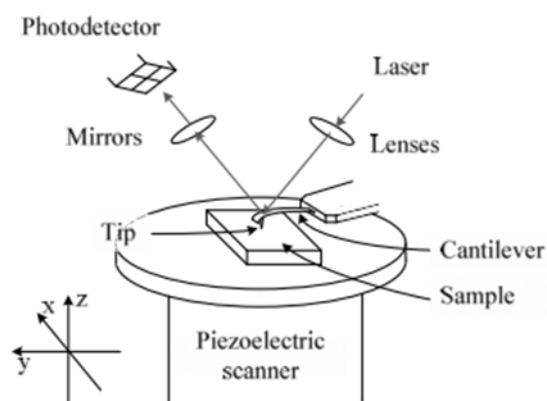


Figura 1-Estrutura de um AFM (Completo, 2008)

À medida que a *tip* vai varrendo a superfície, forma-se a imagem. Durante o teste, são produzidas forças de interação entre a *tip* e a superfície da amostra, forças essas que levam à deflexão do *cantilever*. Devido a este movimento, a posição do feixe de laser que incide sobre a amostra altera-se, sendo detetado pelo fotodetector (Geisse, 2009).

Existem três modos principais para a obtenção de imagens de AFM: modo de contacto, modo de contacto intermitente e o modo de não contacto (Geisse, 2009).

## 9. – Microdureza

A dureza de um material é a medida relativa da sua resistência à penetração quando uma carga específica constante é aplicada. Por definição, dureza é a capacidade de um material resistir à penetração ou indentação permanente, por ponta dura, sendo diretamente proporcional à resistência mecânica e à resistência ao desgaste de um material (Yap et al., 2001; Zogheib, Barca, & Pavanelli, 2009).

A Microdureza é um teste laboratorial não destrutivo e especificamente localizado, facultando dados da distribuição das propriedades do material estudado. Os testes mais utilizados para determinar a dureza dos materiais dentários são: *Brinell*, *Rockwell*, *Vickers* e *Knoop*. No entanto, apenas as durezas *Vickers* e *Knoop* conseguem avaliar a microdureza dos materiais, pois realizam indentações numa pequena e pouco profunda área do material (menor que 19  $\mu\text{m}$ ) (Zogheib et al., 2009).

Na realização do teste da microdureza de *Vickers*, é realizada uma indentação na superfície das amostras com uma ponta de diamante com uma carga pré-determinada e durante um determinado período de tempo. Após a remoção da carga as diagonais da indentação são medidas com o auxílio de um microscópio. Deste modo o valor da microdureza é obtido através do rácio entre a carga da indentação e a área residual de impressão (Chuenarrom, Benjakul, & Daosodsai, 2009).



## **II Objectivos e-Hipóteses de Estudo**

### **1.--Objetivo geral:**

Avaliar o efeito da exposição intermitente por uma solução de ácido láctico na superfície de uma resina composta entre as 24h e os 7 dias.

### **2.--Objetivos específicos:**

- Avaliar o coeficiente de atrito da superfície de uma resina composta exposta a uma solução de ácido láctico entre as 24h e os 7 dias.
- Avaliar a rugosidade da superfície de uma resina composta exposta a uma solução de ácido láctico entre as 24h e os 7 dias.
- Avaliar a microdureza da superfície de uma resina composta exposta a uma solução de ácido láctico entre as 24h e os 7 dias.

### **3.--Hipóteses de Estudo**

#### **Hipótese nula**

O ácido láctico não provoca alterações na superfície da resina composta entre as 24h e os 7 dias.

#### **Hipótese alternativa**

O ácido láctico provoca alterações na superfície da resina composta entre as 24h e os 7 dias.



### **III. - Materiais e métodos**

#### **1. – Amostra do Estudo**

##### **1.1. – Obtenção das Amostras**

Um operador treinado realizou todos os procedimentos de preparação da amostra. Microtubos de dois mililitros (Dentalab, Barcelona, Espanha) (Figura 2) foram preenchidos com resina composta (Filtek™ Z250; 3M ESPE, Seefeld, Alemanha) A2 (Figura 3). Para garantir a polimerização correta da resina, um Elipar™ DeepCure-S (3M ESPE, Seefeld, Alemanha) foi usado por 40 segundos em cada lado.



Figura 2-Microtubo de dois mililitros (Dentalab, Barcelona, Espanha)



Figura 3-Resina composta Filtek™ Z250 CR (3M ESPE, Dental Products, St. Paul, MN, EUA, Lote N861035)

## **1.2. – Corte das amostras**

A resina foi removida dos tubos e seccionada em discos de 1,5 mm espessura e 1mm de diâmetro com um micrótomo automático (Accutom-50; Struers, Ballerup, Dinamarca) (Figura 4 e Figura 5). O corte foi feito usando um disco revestido com diamante refrigerado a água (330 CA, Buehler, EUA) a 3300 RPM com uma velocidade de corte de 0,2 mm / s.



Figura 4-A- Accutom 50 (Struers) Fechado; B- Accutom 50 (Struers) Aberto



Figura 5- Amostras de resina composta após corte micrótomo

### 1.3 – Polimento das Amostras

Para um correto polimento dos discos, foram criadas chaves de silicone (Zhermack Elite HD+ Putty Soft Normal Setting; Zhermack SpA, Badia Polesine, Italia) adaptadas a cada disco (Figura 6).

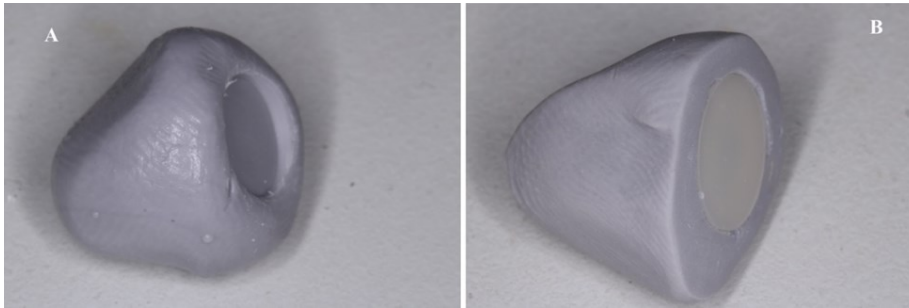


Figura 6-A- Chave de Silicone para Polimento de Amostras; B- Chave de Silicone para Polimento, com uma Amostra colocada

As amostras foram polidas com discos de polimento de forma sequencial Carbimet 2 (Buehler, Lake Bluff, EUA) de ISO / FEPA de 600 (Figura 7), 1200 (Figura 8) e 4000 grit (Figura 9) numa polidora automática LaboPol-4 (Struers, Cleveland, EUA) (Figura 10) (Cilli, Pereira, & Prakki, 2012; Hashemikamangar et al., 2015).



Figura 7-Disco de Polimento 600Grits



Figura 8-Disco de Polimento 1200Grits



Figura 9-Disco de Polimento 4000Grits



Figura 10-LaboPol-4 (Struers)

Para suavizar a superfície, panos de polimento ReflexPad (Presi, Eybens, França) de  $3\mu$  e  $1\mu$  (Figura 11) de granulação com a respectiva pasta de polimento de diamante de  $3\mu$  e  $1\mu$  (MetaDi® II, Buehler, EUA) (Figura 12) também foram utilizados para suavizar a superfície (Figura 13) (Cilli et al., 2012).



Figura 11-A- Pano de Polimento de  $3\mu$  (ReflexPad; Presi, Eybens, France); B- Pano de Polimento de  $1\mu$  (ReflexPad; Presi, Eybens, France)



Figura 12- MetaDi II 6Grams Diamond Polishing Compound  $3\mu$  MICRON e  $1\mu$  - MICRON BUEHLER



Figura 13-Polimento de uma Amostra com Chave de Silicone na Polidora LaboPol-4 (Struers)

Após a preparação, quatro discos foram selecionados aleatoriamente e submetidos a uma análise num microscópio de força atómica (EasyScan2 Flex AFM, Nanosurf, Liestal, Suíça). Foram testados três locais aleatórios por amostra para avaliar a qualidade do procedimento de polimento, assumiu-se que se o valor de Ra fosse inferior a 350 nanómetros, deste modo o polimento teria sido correcto e as amostras aceites para o teste (Botta, Duarte, Filho, & Gheno, 2008; Kakaboura, Fragouli, Rahiotis, & Silikas, 2007).

## **2. - Dimensão da Amostra**

Após a preparação, cada disco foi dividido em três áreas distintas, perfazendo um total de quarenta e oito amostras. As amostras foram aleatoriamente numeradas e distribuídas por quatro grupos distintos, G1- 24 h saliva artificial; G1- 7 dias saliva artificial; G2- 24 h ácido láctico e G2- 7 dias ácido láctico, como representado na Tabela 1.

Cada grupo de amostras (n=12), foi armazenado num recipiente estéril (Delta Lab, Barcelona, Espanha) (Figura 14).



Figura 14-Recipiente estéril 20ml

Tabela 1-Representação dos grupos em estudo, com os respectivos tempos de exposição e a solução em que estiveram expostos

Grupo	Tempo	n	Solução
G1	24 h	4	Saliva Artificial a pH 6,3
	7 dias	4	Saliva Artificial a pH 6,3
G2	24 h	4	Ácido Láctico a pH 4,00 e saliva artificial a pH 6,3
	7 dias	4	Ácido Láctico a pH 4,00 e saliva artificial a pH 6,3

### 3. – Elaboração da Saliva Artificial

A saliva artificial (Figura 15) foi elaborada no laboratório de química do Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, no dia 20 de Julho de 2017, de forma similar à solução de Fusayama e Mayer, com um pH de 6,3, estando a sua composição descrita na tabela 2 (Heravi, Moayed, & Mokhber, 2015; Knutson & Berzins, 2013).



Figura 15-Saliva Artificial Fusayama-Meyer pH 6,3

Tabela 2-Constituintes da saliva artificial e a quantidade correspondente de cada constituinte

Compostos	Quantidade
NaCl	0,4g
KCl	0,4g
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,91g
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,35g
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	0,039g
Na <sub>2</sub> S.9H <sub>2</sub> O	0,005g
Ureia	1g
Água destilada	1000ml

#### 4. - Elaboração Ácido Láctico

O Ácido Láctico (Figura 16) foi elaborado no laboratório de química do Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, no dia 20 de Julho de 2017, água destilada foi utilizada para preparar uma solução de pH 4,0 (0,01 M) com ácido láctico (Honeywell, Morris Plains, Estados Unidos) (Hashemikamangar et al., 2015).



Figura 16- Ácido Láctico pH 4,00

## 5. – Metodologia da Investigação

Tendo em conta o carácter temporal da investigação optou-se por realizar um grupo controlo para cada tempo da experiência.

Assim, os grupos G1- 24 h saliva artificial, e G1- 7 dias saliva artificial, foram submersos em 5ml de saliva artificial a pH 6,3 por 24 h e durante 7 dias, respetivamente.

Segundo o protocolo, os G2- ácido láctico 24 h e G2- ácido láctico 7 dias, foram submetidos alternadamente, de 8h em 8h, em 5ml de duas soluções: uma de ácido láctico a pH 4,00 e a outra de saliva artificial a pH 6,3. As amostras do G2- ácido láctico 24 h, estiveram em contacto com as soluções durante 24 h, e as amostras do G2- ácido láctico 7 dias, estiveram em contacto com as soluções durante 7 dias.

No final do tempo decorrido todas as amostras foram lavadas com água desionizada e armazenadas em ambiente seco, dentro de potes esterilizados (Delta Lab, Barcelona, Espanha) (Figura 17).



Figura 17-Potes esterilizados Delta Lab, com os quatro grupos em estudo

## **6. - Teste Tribológico**

Todas as amostras foram submetidas a um teste de desgaste nanotribológico (Nano-Tribometer, CSM Instruments SA, Peuseux, Suíça)(Figura 18;Figura 19). Foram feitas três pistas de desgaste em três áreas distintas de cada amostra (Figura 20), com uma esfera de zircônio de 3 mm (Technoball, Montorio, Itália) (Figura 21) perfazendo um total de doze pistas por grupo. Os testes foram feitos em ambiente seco, à temperatura ambiente (22°C), com uma força aplicada de 60mN, a 0,65 cm/s e em movimento recíproco com uma amplitude de 1mm a 2,12Hz por 3200 ciclos, o que equivale a 25 minutos (**Erro! A origem da referência não foi encontrada.**). Os dados foram obtidos pelo software InstrumeX v4.4 (CSM Instruments SA, Peseux, Suíça).



Figura 18-Nanotribómetro (CSM Nanotribometer) Fechado

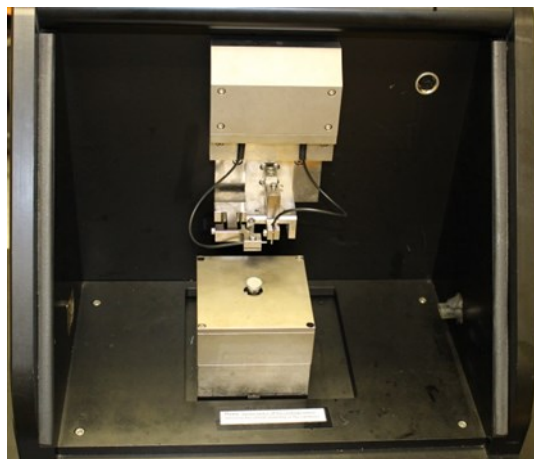


Figura 19-Nanotribómetro (CSM Nanotribometer) Aberto

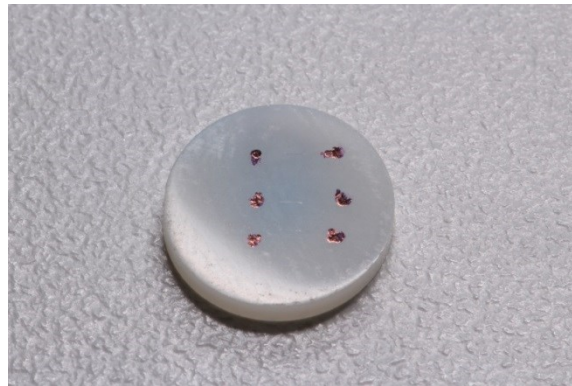


Figura 20-Amostra com as 3 pistas realizadas pelo Nanótribometro



Figura 21-Bola de Zircônio realizando uma pista no disco de Resina Composta

Tabela 3- Parâmetros selecionados para o ensaio no nanotribómetro

<b>Parâmetros</b>	<b>Valores</b>
<b>Força</b>	60mN
<b>Velocidade</b>	0,65 cm/s
<b>Amplitude</b>	1mm
<b>Número de ciclos</b>	3200

## **7. - Análise da Rugosidade da Superfície**

A rugosidade da superfície (Ra - rugosidade da superfície média aritmética) foi investigada após o teste. Todas as amostras de cada grupo foram selecionadas para análise de rugosidade superfície. A pista de desgaste foi seleccionada e analisada com um microscópio de força atómica (EasyScan2 Flex AFM, Nanosurf AG, Liestal, Suíça) (Figura 22;Figura 23;Figura 24) utilizando Nanosensores de silício PPP-CONTSC-10 Nanosensors, Neuchâtel, Suíça) em ambiente seco, à temperatura ambiente, no modo de contacto, com uma força aplicada de 25mN e uma velocidade de aquisição de 1Hz. Foram feitos quatro scans, dois dentro da pista de desgaste seleccionada e dois fora da pista de desgaste. Desta forma, foram obtidas quatro imagens de  $10\mu\text{m}^2$  e uma imagem adicional de  $100\mu\text{m}^2$  por amostra, para avaliar a taxa de desgaste (Botta, Duarte, Filho, & Gheno, 2008; Kakaboura, Fragouli, Rahiotis, & Silikas, 2007).



Figura 22-Microscópio de Força Atómica Nanosurf Easycan 2 (Nanosurf AG Liestal Suíça) Fechado



Figura 23-Close up do Microscópio de Força Atómica Nanosurf Easycan 2 (Nanosurf AG Liestal Suíça)



Figura 24-Microscópio de Força Atômica Nanosurf Easycan 2 (Nanosurf AG Liestal Suíça) Aberto

A aquisição de dados foi feita com o Nanosurf Easycan 2 V 3.1.1.22 (Nanosurf AG, Liestal, Suíça) (Figura 25) e exportado para o Microsoft Excel 2016 (Microsoft Corporation, Redmont, EUA). As imagens topográficas foram processadas pelo software WSxM versão 4.0 (WSxM solutions, Madrid, Espanha) (Figura 26).

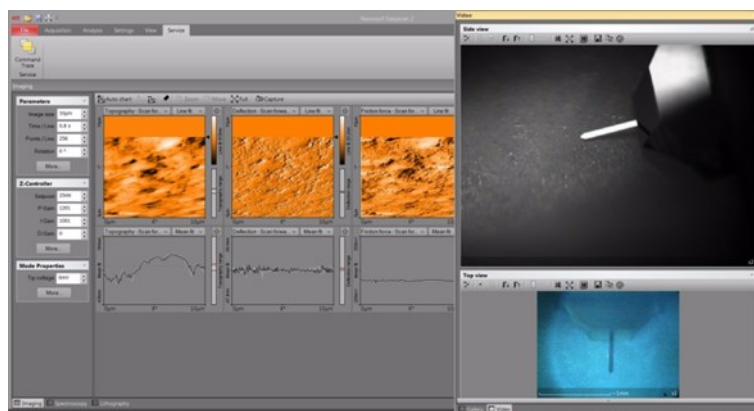


Figura 25-Aquisição de dados pelo AFM (EasyScan2 Flex AFM; Nanosurf AG, Suíça)

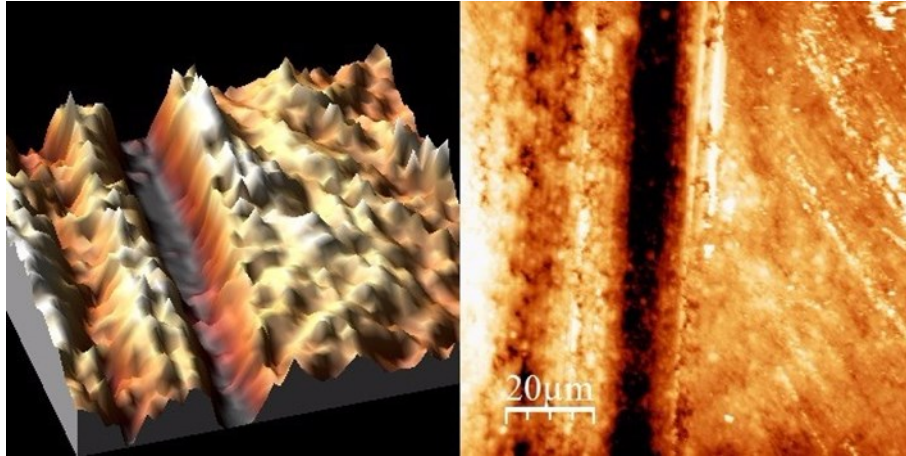


Figura 26-Renderização de uma pista de desgaste em 3D e 2D pelo programa WSxM (WSxM)

### **8. – Determinação da Microdureza**

A microdureza das amostras foi medida após imersão nas soluções por um medidor de microdureza (Shimadzu HSV-30, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) (Figura 27). A força aplicada foi de 29,42N durante 5s. Cada amostra foi testada em quatro pontos aleatórios nas extremidades das amostras (Figura 28;Figura 29).

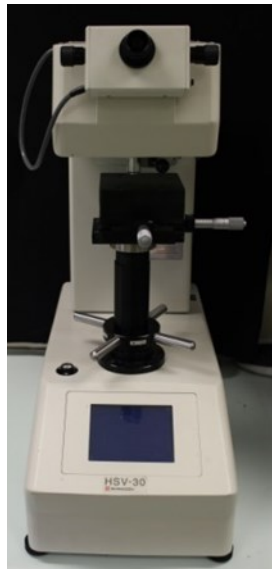


Figura 27-Shimadzu HSV-30

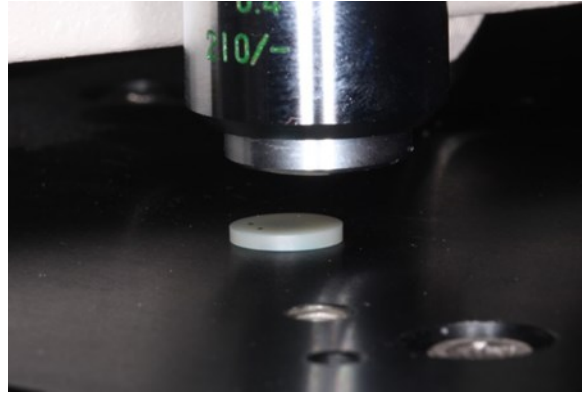


Figura 28-Medição da dureza de Vickers num disco de Resina Composta

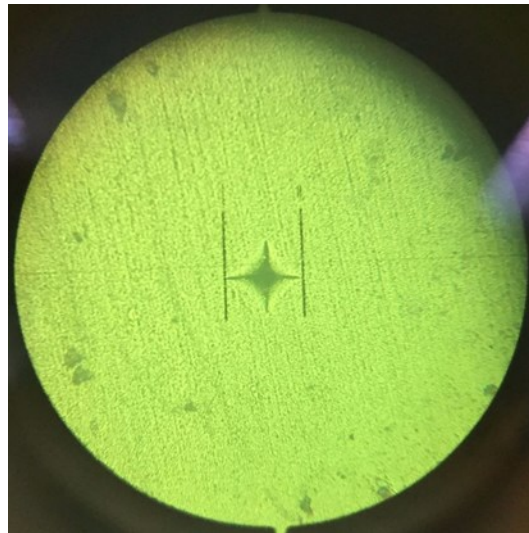


Figura 29-Indentação efetuada pelo medidor de microdureza

### 9. – Análise Estatística

Os dados foram introduzidos no *software* IBM SPSS Statistics - versão 20.0. Foi realizada uma análise estatística através de um teste T para amostras independentes, com um intervalo de confiança a 95%.



#### IV. – Resultados

Os dados inseridos no *software* IBM SPSS Statistics - versão 20.0 apresentam uma distribuição normal e não se verificaram a presença de *Outliers*, permitindo desta forma a utilização de testes paramétricos – teste T para amostras independentes. Foi utilizado um teste de Levene para verificar a igualdade de variâncias.

##### 1. – Análise Tribológica

Ao analisar os valores obtidos pelo nanotribómetro (Tabela 4;Gráfico 1), verifica-se em primeira instancia que o grupo G1 aos 7 dias apresenta o valor mais baixo no que diz respeito ao coeficiente de atrito, e o valor mais alto verificou-se no grupo G2 às 24 h.

Comparando as médias dos coeficientes de atrito de ambos os grupos:

- Em relação ao grupo G1 às 24h e o grupo G2 às 24 h, não se verificaram diferenças estatisticamente significativas,  $p=0,077$  (Tabela 4;Gráfico 1).
- Em relação ao grupo G1 aos 7 dias e o grupo G2 aos 7 dias, existem diferenças estatisticamente significativas nos coeficientes de atrito,  $p=0,002$ , sendo o coeficiente de atrito maior no grupo submetido ao ácido láctico (Tabela 4;Gráfico 1).
- Quanto ao tempo em que as amostras estiveram submetidas ao efeito do ácido, verificaram-se diferenças estatisticamente significativas,  $p=0,009$ , o mesmo sucedeu com o G1 às 24 h e o G1 aos 7 dias,  $p<0,05$ , tendo o coeficiente de atrito diminuído em ambos os casos (Tabela 4;Gráfico 1).

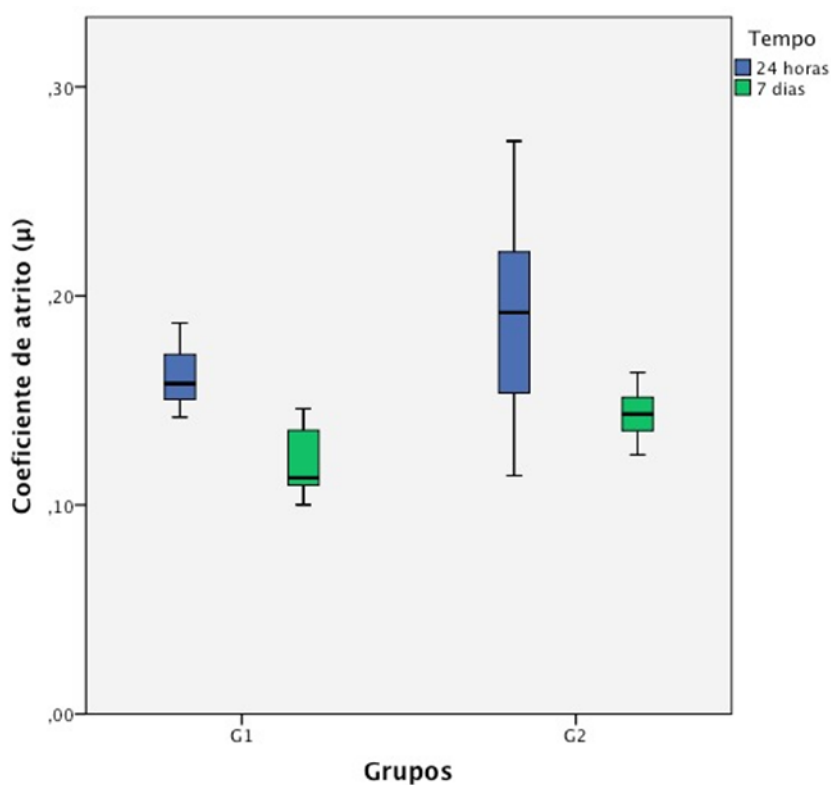
As médias e os desvios-padrão de cada grupo estão registados na Tabela 4 e ilustrados no Gráfico 1.

Tabela 4- Resultados da análise estatística relativa ao coeficiente de atrito ( $\mu$ )

Grupos	Tempo		
	24h	7 dias	
G1-Saliva artificial	0,16 ± 0,01	0,12 ± 0,02	$p < 0,05^{(a)} (*)$
G2- Ácido Láctico	0,19 ± 0,05	0,14 ± 0,01	$p = 0,009^{(a)} (*)$
<b>P</b>	$p = 0,077^{(a)}$	$p = 0,002^{(a)} (*)$	

(a) Teste t-Student para amostras independentes

(\*) identifica uma diferença estatisticamente significativa para um intervalo de confiança a 95%.



## 2. – Análise da Rugosidade de Superfície

A rugosidade de superfície (Ra), foi analisada dentro e fora das pistas (Tabela 5;Tabela 6;Gráfico 2). Verificou-se o valor mais alto de rugosidade fora das pistas, no grupo G2 às 24h, e o valor mais baixo dentro das pistas, no grupo G1 aos 7 dias.

Comparando as diferentes médias de ambos os grupos:

- Verificaram-se diferenças estatisticamente significativas em relação à rugosidade fora das pistas (Tabela 5;Gráfico 2) entre os grupos G1 às 24h e o G2 às 24h,  $p=0,016$ , sendo a rugosidade maior no grupo submetido ao ácido láctico. No entanto, não se verificaram diferenças estatisticamente significativas em relação à rugosidade fora das pistas entre os grupos G1 aos 7 dias e o G2 aos 7 dias.
- A diferença entre a rugosidade fora da pista (Tabela 5;Gráfico 2) é estatisticamente significativa para o grupo G2 às 24h e o grupo G2 aos 7 dias,  $p=0,021$ , tendo este diminuindo ao longo do tempo de exposição
- Não se verificaram diferenças estatisticamente significativas em relação à rugosidade dentro das pistas entre o grupo G1 e o grupo G2 tanto às 24h como ao fim de 7 dias (Tabela 6;Gráfico 2).
- Verificaram-se diferenças estatisticamente significativas na rugosidade dentro das pistas entre os grupos G1 às 24 h e o grupo G1 aos 7,  $p=0,012$ , tendo esta diminuído com o passar do tempo (Tabela 6;Gráfico 2).

Os valores das médias e desvios-padrão de cada grupo estão registados na Tabela 5, na Tabela 6 e no Gráfico 2.

Tabela 5- Resultados da análise estatística relativamente à rugosidade fora das pistas ( $\mu\text{m}$ )

Grupos	Tempo		
	24h	7 dias	
G1- Saliva Artificial	33 $\pm$ 4	29 $\pm$ 5	$p=0,114$ <sup>(a)</sup>
G2- Ácido Láctico	39 $\pm$ 5	33 $\pm$ 4	$p=0,021$ <sup>(a) (*)</sup>
<i>P</i>	$p=0,016$ <sup>(a) (*)</sup>	$p=0,110$ <sup>(a)</sup>	

(a) Teste t-Student para amostras independentes.

(\*) identifica uma diferença estatisticamente significativa para um intervalo de confiança a 95%.

Tabela 6- Resultados da análise estatística relativamente à rugosidade dentro das pistas ( $\mu\text{m}$ )

Grupos	Tempo		
	24h	7 dias	
G1- Saliva Artificial	31 $\pm$ 5	21 $\pm$ 9	$p=0,012$ <sup>(a) (*)</sup>
G2- Ácido Láctico	28 $\pm$ 10	30 $\pm$ 12	$p=0,696$ <sup>(a)</sup>
<i>P</i>	$p=0,475$ <sup>(a)</sup>	$p=0,086$ <sup>(a)</sup>	

(a) Teste t-Student para amostras independentes.

(\*) identifica uma diferença estatisticamente significativa para um intervalo de confiança a 95%.

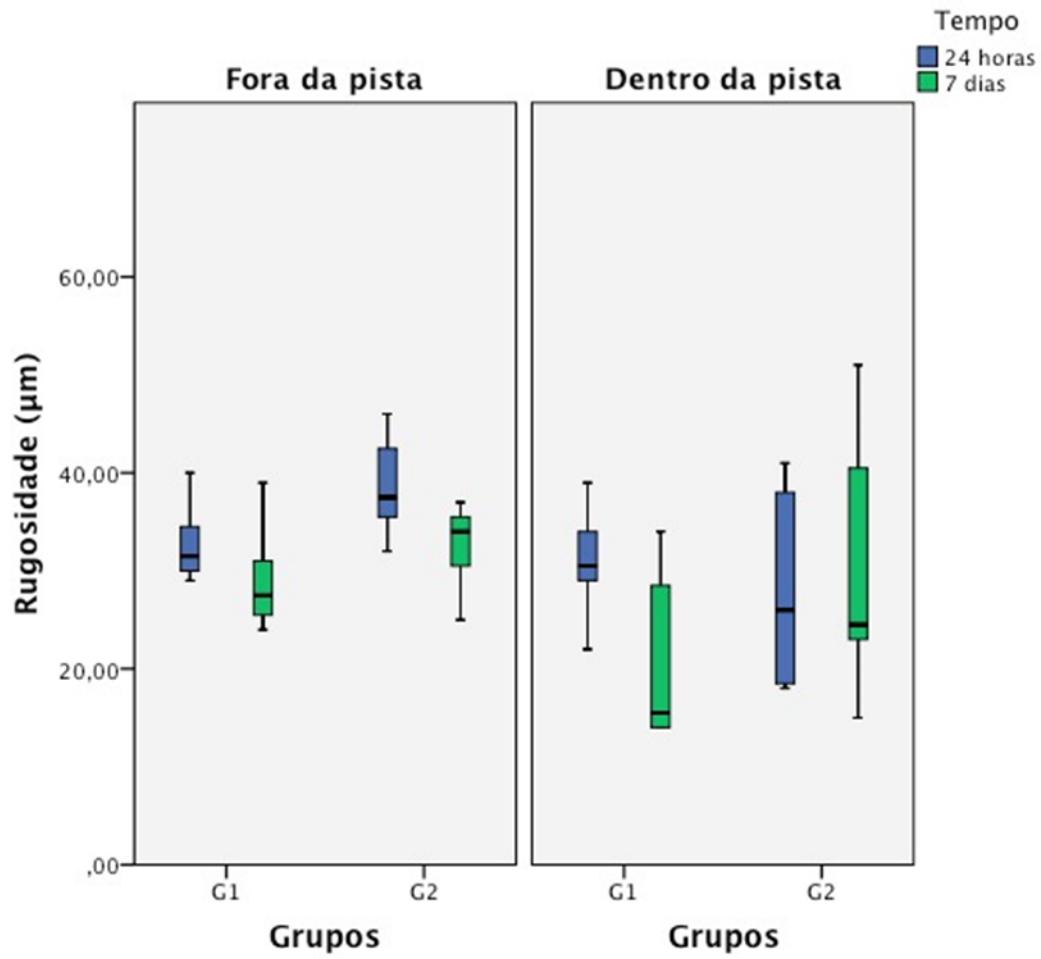


Gráfico 2-- Resultados relativos à rugosidade de superfície dentro e fora das pistas

### 3. – Análise da Microdureza de Vickers

Em relação análise da microdureza de vickers (Tabela 7;Gráfico 3), o valor mais alto da microdureza registou-se no grupo G1 aos 7 dias, e o mais baixo no grupo G2 às 24h.

Em relação às médias da microdureza:

- Comparando as médias do grupo G1 às 24h com o grupo G2 às 24h, verificou-se diferenças estatisticamente significativas,  $p < 0,05$ , sendo a microdureza maior no grupo submetido à saliva artificial (Tabela 7;Gráfico 3).
- Existem diferenças estatisticamente significativas entre a microdureza do grupo G1 aos 7 dias e do grupo G2 aos 7 dias,  $p = 0,002$ , sendo a microdureza maior no grupo submetido à saliva artificial (Tabela 7;Gráfico 3).
- Não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre o grupo G1 às 24h e grupo G2 às 24h,  $p = 0,766$ , o mesmo sucedeu no grupo G2 aos 7 dias e o grupo G2 aos 7 dias,  $p = 0,650$  (Tabela 7;Gráfico 3).

Os valores das médias e desvios-padrão de cada grupo estão registados na Tabela 7 e no Gráfico 3.

Tabela 7- Resultados da análise estatística relativos à microdureza de vickers

Grupos	Tempo		
	24h	7 dias	
G1- Saliva artificial	456 ± 35	459 ± 34	$p = 0,766^{(a)}$
G2- Ácido Láctico	414 ± 17	421 ± 30	$p = 0,650^{(a)}$
<b>P</b>	$p < 0,05^{(a)} (*)$	$p = 0,002^{(a)} (*)$	

(a) Teste t-Student para amostras independentes

(\*) identifica uma diferença estatisticamente significativa para um intervalo de confiança a 95%.

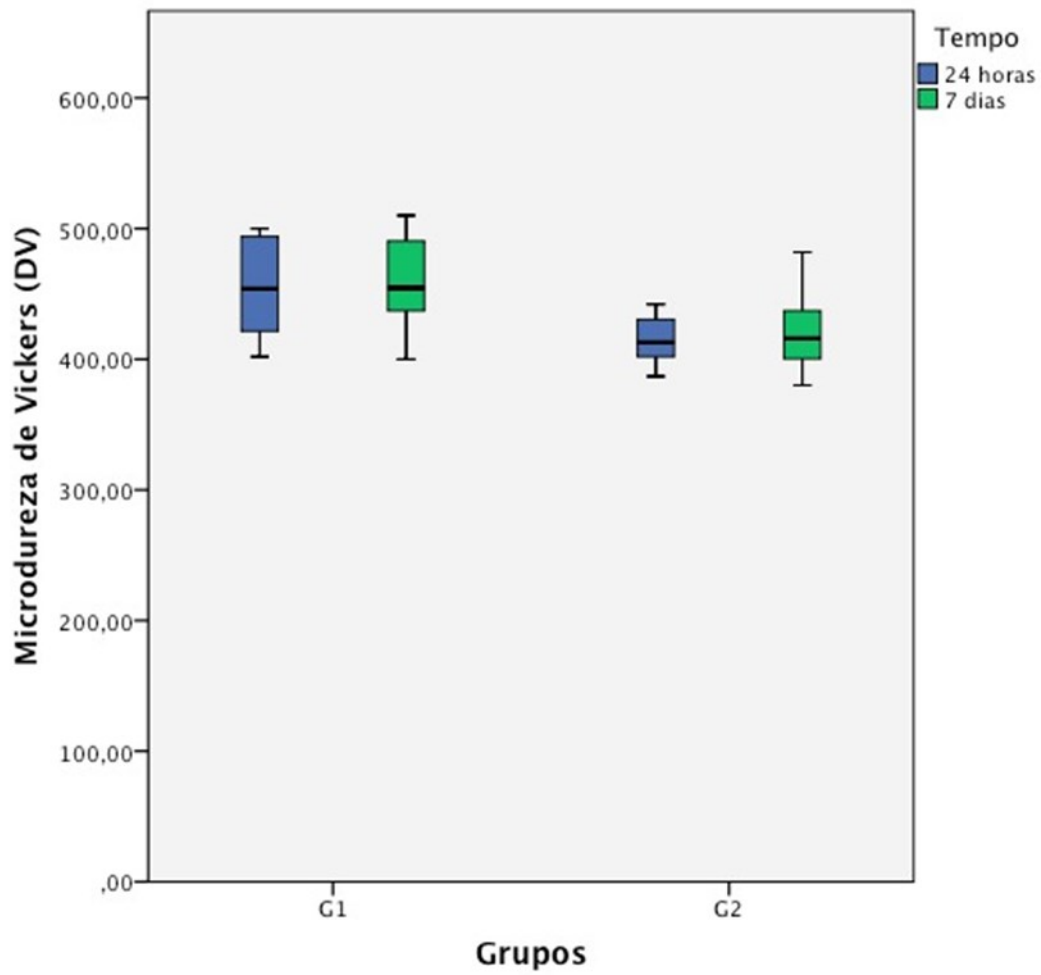


Gráfico 3-Resultados relativos à microdureza de vickers



## V. – Discussão

Os ácidos podem modificar as propriedades físicas e mecânicas das resinas compostas, vários estudos indicam que, após a exposição da resina a um meio ácido, há uma degradação da matriz polimérica e/ou do agente de ligação, com consequente perda de partículas de enchimento (Briso et al., 2011; Correr et al., 2012; Kukiattrakoon, Hengtrakool, & Kedjarune-Leggat, 2011; Münchow et al., 2014; Valinoti, Neves, Silva, & Maia, 2008).

Isto leva a um aumento da rugosidade de superfície e à diminuição da microdureza e da resistência ao desgaste, o que diminui a sobrevivência das restaurações a longo prazo (Briso et al., 2011; Correr et al., 2012; Kukiattrakoon et al., 2011; Münchow et al., 2014; Valinoti et al., 2008).

As condições agressivas presentes na cavidade oral, como alterações abruptas no pH, temperatura e humidade, podem acelerar o processo de biodegradação das resinas composta ao longo do tempo. Este é um processo complexo que pode levar a matriz de polímero do compósito a colapsar, causando vários problemas, tais como o descolamento entre a matriz polimérica e as partículas de carga inorgânica, a libertação de monómeros residuais, o desgaste e a erosão (Øilo, 1992; Ruyter, 1995; Söderholm, Zigan, Ragan, Fischlschweiger, & Bergman, 1984; Valinoti et al., 2008).

Este processo pode degradar as propriedades mecânicas do material, reduzindo a vida clínica das restaurações de resina composta, além disso, a desintegração superficial das resinas compostas pode aumentar o desgaste e a retenção da placa bacteriana, reduzindo assim a longevidade da restauração e potencialmente aumentando o risco de cárie secundária (De Witte, De Maeyer, & Verbeeck, 2003; Söderholm et al., 1984; Valinoti et al., 2008).

A rugosidade da superfície é um fator relevante em relação à adesão inicial das bactérias e, conseqüentemente, ao acúmulo de placa bacteriana (Aykent et al., 2010; Gharechahi, Moosavi, & Forghani, 2012). Yuan et al. (2016) estudaram o efeito das propriedades da superfície em vários polímeros, incluindo resinas compostas, na adesão precoce de *S. mutans* e concluíram que a adesão bacteriana precoce é principalmente afetada pela rugosidade da superfície (Yuan et al., 2016). Uma restauração áspera promove a adesão do biofilme à superfície da restauração e à interface dente / restauração (Aykent et al., 2010; Carlén, Nikdel, Wennerberg, Holmberg, &

Olsson, 2001). De acordo com Gharechahi et al. (2012), os biofilmes em resinas compostas causam uma deterioração da superfície e, conseqüentemente, promovem a formação de mais biofilmes; um processo cíclico inicia-se, que pode levar inclusive à falha do tratamento restaurador (Gharechahi et al., 2012).

Em contacto com o ambiente oral, as resinas compostas sofrem desgaste e são afetadas por substâncias químicas em seu redor que atuam na superfície do material. Embora uma grande diversidade de substâncias possa estar presente no ambiente oral, tais como água, saliva, ácidos, bases, sais e álcoois foram relacionados à redução da dureza, resistência à flexão e propriedades do módulo de flexão (Münchow et al., 2014; Sideridou & Karabela, 2011).

Relativamente à resina composta, decidiu-se escolher uma resina Filtek Z250 à semelhança dos estudos realizados por Münchow et al. (2014), Hashemikamangar et al., (2015), Honório et al. (2008) e por Erdemir, Yildiz, Eren, & Ozel, (2013) (Erdemir, Yildiz, Eren, & Ozel, 2013; Hashemikamangar et al., 2015; Honório et al., 2008; Münchow et al., 2014).

Este estudo teve a duração total de 7 dias tal como no estudo realizado Ilday et al. (2010), sendo as nossas amostras avaliadas em todos os parâmetros em estudo após 24h e ao fim de 7 dias (İlday, Bayindir, & Erdem, 2010).

Para realizarmos os cortes das amostras utilizamos um micrótomo automático (Accutom-50; Struers, Ballerup, Dinamarca), sendo que as amostras que obtivemos tinham 1,5mm espessura e 10 mm de diâmetro, no entanto, Hashemikamangar et al., (2015) e Valinoti et al. (2008), utilizaram um molde de alumínio onde era aplicado resina composta e sobre esta uma placa de vidro foi colocada para garantir a suavidade da superfície e espessura uniforme das amostras, onde de seguida a resina composta era fotopolimerizada (Hashemikamangar et al., 2015; Valinoti et al., 2008).

Relativamente à espessura e à largura dos discos, encontramos na literatura uma grande disparidade de tamanho de discos de resina composta. Hashemikamangar et al., (2015) utilizou discos com 10 mm de diâmetro e 2 mm de espessura, já Valinoti et al. (2008), usou discos com 5 mm de diâmetro e 2,2 mm de espessura (Hashemikamangar et al., 2015; Valinoti et al., 2008). Optámos por discos deste formato por uma questão de comodidade e facilidade na obtenção das amostras.

Após o corte das amostras utilizamos discos de polimento, de forma sequencial, começando nos 600, 1200 e terminando nos 4000 grit, de forma a garantir uma superfície lisa e polida. Uma sequência semelhante foi utilizada por Cilli et al. (2012), onde utilizaram da mesma forma discos de polimento numa sequência onde começaram em 600, 1000 e terminaram em 1200-grit (Cilli et al., 2012).

Hashemikamangar et al., (2015) utilizaram também discos de polimento, mas começaram e terminaram num grit mais elevado começando em 1,200, 1,500, 2,000, 2,500, 3,000 e terminaram nos 5,000 grit (Hashemikamangar et al., 2015).

Uma vez que um nanotribômetro foi utilizado para medir o coeficiente de atrito e um microscópio de força atômica foi usado para medir a rugosidade da superfície, era essencial assegurar o excelente polimento das superfícies das amostras. Esta é a razão para o uso de panos de polimento com uma pasta de polimento de diamante após a sequência de polimento.

Relativamente à saliva artificial, esta foi elaborada segundo o método de *Fusayama-Mayer*, tal como nos estudos realizados por Heravi et al. (2015) e por Knutson & Berzins (2013), já que a composição desta é bastante semelhante à da saliva natural (Heravi et al., 2015; Knutson & Berzins, 2013).

A solução de ácido láctico utilizado teve um pH de 4 (0,01 M), pois estudos anteriores relataram que este era o pH mais baixo encontrado na placa dentária (Distler & Kroncke, 1983; Hashemikamangar et al., 2015). No entanto, Hashemikamangar et al., (2015) utilizou água destilada como solução de controlo (pH = 7), e o nosso estudo utilizou saliva artificial (pH = 6,3) de modo a simular mais fidedignamente o que ocorre na cavidade oral (Hashemikamangar et al., 2015).

Foi escolhida uma exposição intermitente entre o ácido láctico e a saliva artificial porque há apenas um aumento nos níveis de ácido láctico salivar quando há aumento na intensidade física (Ohkuwa et al., 1995; Oliveira et al., 2015; Pérez et al., 1999; Segura et al., 1996). Embora existam bactérias produtoras de ácido láctico, como *S. mutans* e *Lactobacillus spp.* presentes nas superfícies dos dentes, língua, saliva, mucosa oral e palato, a saliva tem capacidade tampão, neutralizando e reduzindo as soluções ácidas produzidas por essas bactérias (Galvão et al., 2012;

Pannu et al., 2013; Soares, Lima, de Souza Vieira, do Espírito Santo, & Martin, 2012; Tanner et al., 2002; Tanzer et al., 2001).

O coeficiente de atrito foi estudado usando um nanotribómetro, pois este equipamento permite medir o atrito ou a adesão numa nano-escala de forma simples e efetiva (Zivić et al., 2010). Para definir a força aplicada nos nossos ensaios, realizaram-se testes piloto e iniciou-se por aplicar uma força de 30mN, seguindo-se uma de 40 mN, 50 mN e por fim 60 mN. Só com uma força aplicada de 60 mN se conseguiu criar uma pista na resina que seja visível no AFM, pelo que se utilizou esta força para todos os ensaios.

Existiu uma diminuição estatisticamente significativa ( $p=0,009$ ) no coeficiente de atrito do ácido láctico entre as 24h e o ácido láctico aos 7 dias (Tabela 4), o mesmo ocorreu de forma semelhante na saliva artificial às 24h e na saliva artificial aos 7 dias, existindo uma diminuição estatisticamente significativa ( $p<0,05$ ).

A diminuição mais significativa (Tabela 4) deu-se do G2 às 24h (0,19) para o G2 aos 7 dias (0,14), mostrando assim que o ácido láctico provoca aumento do coeficiente de atrito na superfície da resina composta. Até à data, não há estudos que relacionem o efeito da imersão de resinas compostas em ácido láctico com o coeficiente de atrito das mesmas, no entanto pensamos que esta alteração no coeficiente de atrito se deve a um aumento da rugosidade (Tabela 6).

Para estudar a rugosidade de superfície da resina composta, utilizou-se um microscópio de força atómica (EasyScan2 Flex AFM, Nanosurf AG, Liestal, Suíça). Uma vez que este equipamento permite obter imagens topográficas tridimensionais detalhadas da rugosidade de superfície com resolução nanométrica, sendo apropriado para este fim (Botta et al., 2008; Gispert et al., 2007; Kakaboura et al., 2007). Kakaboura et al., (2007) comparou vários métodos para medir a rugosidade de superfície de várias resinas compostas e concluiu que o microscópio de força atómica possui maior habilidade para distinguir a rugosidade de uma superfície em comparação com um profilómetro e fornece uma definição mais detalhada da superfície do que um microscópio de varrimento (Kakaboura et al., 2007).

Relativamente à rugosidade da superfície fora da pista, existiu uma diminuição da rugosidade do G1 às 24h para o G1 aos 7 dias, o mesmo sucedeu no G2 às 24h para o G2 aos 7 dias não sendo no entanto alterações estatisticamente significativas (Tabela 5). Já dentro da pista existiu uma diminuição estatisticamente significativa do G1 às 24h para o G1 aos 7 dias, existindo também um ligeiro aumento da rugosidade do G2 às 24h para o G2 aos 7 dias não sendo no entanto um aumento estatisticamente significativo (Tabela 6).

Resultados semelhantes foram observados por Valinoti et al. (2008), que expuseram 4 tipos de resinas compostas a fármacos ácidos e concluíram que todas sofreram pequenas alterações na rugosidade superficial após 14 dias (Valinoti et al., 2008). Münchow et al. (2014) observaram um aumento no valor de RA de uma resina composta microhíbrida exposta a diferentes soluções ácidas após 7 dias, com exceção das amostras submetidas ao ácido láctico (Münchow et al., 2014).

No entanto em 2010, İlday, Bayindir e Erdem testaram diferentes resinas com bebidas ácidas, com um pH semelhante ao ácido láctico, e um aumento na rugosidade da superfície foi observado após 7 dias de exposição (İlday et al., 2010). Hashemikamangar et al., (2015) obtiveram resultados semelhantes onde, a rugosidade da superfície aumentou após a exposição ao ácido láctico (Hashemikamangar et al., 2015).

Os resultados obtidos no nosso estudo relativamente á rugosidade de superfície, podem dever-se ao facto de quer o ácido láctico quer a saliva artificial terem a capacidade de alterar a superfície das resinas compostas apenas de um modo ligeiro, alisando a superfície e não desgastando-a.

Das 24h para os 7 dias, não há diferença estatisticamente significativa na microdureza das amostras submetidas a ácido láctico e saliva (Tabela 7). O valor médio das amostras submetidas ao ácido láctico às 24h foi de 414 e, ao final de 7 dias, 421. Para as amostras expostas à saliva artificial, o mesmo aconteceu, o valor médio da microdureza às 24h foi de 456 e ao final de 7 dias de 459. Estes resultados estão em concordância com os estudos realizados por Münchow et al. (2014) que afirmam que o ácido láctico não altera a microdureza, enquanto que outras soluções ácidas diminuem a microdureza das resinas (Münchow et al., 2014).

No entanto, estes resultados estão em discordância com os resultados obtidos por Hashemikamangar et al (2015), que afirmam que resinas compostas expostas a ácido láctico têm a sua microdureza diminuída (Hashemikamangar et al., 2015). Porém, note-se que nesse estudo as amostras estiveram imersas continuamente em ácido láctico, enquanto que no presente estudo, as amostras estiveram expostas intermitentemente ao ácido láctico e saliva artificial (Hashemikamangar et al., 2015).

Khan et al. (2015) também suportam estes resultados. Nesse estudo avaliou-se o efeito de soluções com diferentes pH (sumo de laranja, leite e coca-cola) na microdureza e topografia de resinas compostas nanoparticuladas. Aos 14 dias de imersão das amostras nas diferentes soluções, verificou-se que o sumo de laranja e a coca-cola tiveram um forte efeito sobre a deterioração da resina, diminuindo a sua microdureza (Khan, Siddiqui, Al-Kheraif, Zahid, & Divakar, 2015).

Daibs et al. (2012) e Wonghantee et al. (2006) sugerem que a redução da microdureza após imersão em ácido se deve à hidrólise dos monómeros Bis-GMA, Bis-EMA, UDMA e TEGMA (Bruna Di Profio Daibs, Joao Mauricio Ferraz da Silva, Daniel Maranha Rocha, 2012; Wongkhantee, Patanapiradej, Maneenut, & Tantbirojn, 2006).

## VI. – Conclusão

- O ácido láctico provoca alterações na superfície da resina composta ao longo entre as 24h e os 7 dias.
- O ácido láctico diminui o coeficiente de atrito da superfície da resina composta, entre as 24h e os 7 dias.
- O ácido láctico não interfere na rugosidade da superfície da resina composta estudada, quando medida dentro da pista, entre as 24h e os 7 dias. Fora da pista a solução provoca uma diminuição da rugosidade na superfície da resina composta, entre as 24h e os 7 dias.
- O ácido láctico não altera a microdureza da superfície da resina composta, entre as 24h e os 7 dias.

### Perspectivas Futuras

- Testes similares *in vitro* para analisar o efeito de soluções ácidas no coeficiente de atrito das resinas, com recurso ao nanotribómetro.
- Testes similares *in vitro* que estudem o coeficiente de atrito em resinas submetidas ao efeito de soluções ácidas, com lubrificação artificial durante o teste para simular o efeito da saliva, uma vez que assim nos aproximamos das condições da cavidade oral.
- Testes similares *in vitro* com a conjugação do uso do nanotribómetro com o AFM para determinar as diferenças de rugosidade que se verificam dentro e fora das pistas, materiais submetidos a soluções acídicas.
- Testes similares *in vitro* que estudem o efeito de substâncias alcalinas nos materiais dentários.
- Testes *in vivo* para confirmar os resultados obtidos nos estudos *in vitro*, que nunca conseguem simular totalmente os fatores envolvidos na cavidade oral.



**VII.-- Bibliografia**

- Almeida, P.D.V, E. A. (2008). Saliva Composition and Functions: *The Journal of Comtemporary Dental Practice*, 9(3), 72–80.
- Aps, J. K. M., & Martens, L. C. (2005). Review: The physiology of saliva and transfer of drugs into saliva. *Forensic Science International*, 150(2–3), 119–131. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2004.10.026>
- Aykent, F., Yondem, I., Ozyesil, A. G., Gunal, S. K., Avunduk, M. C., & Ozkan, S. (2010). Effect of different finishing techniques for restorative materials on surface roughness and bacterial adhesion. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 103(4), 221–227. [https://doi.org/10.1016/S0022-3913\(10\)60034-0](https://doi.org/10.1016/S0022-3913(10)60034-0)
- Benn, A. M., & Thomson, W. M. (2014). Saliva: an overview Report Saliva: An Overview. *New Zealand Dental Journal*, (September), 92–96.
- Bertuzzi, R. C. de M., Silva, A. E. L., Abad, C. C. C., & Pires, F. de O. (2009). Lactate metabolism: a review on bioenergetics and muscle fatigue. *Revista Brasileira de Cineantropometria E Desempenho Humano*, 11(2), 226–234.
- Bik, E. M., Long, C. D., Armitage, G. C., Loomer, P., Emerson, J., Mongodin, E. F., ... Relman, D. a. (2010). Bacterial diversity in the oral cavity of 10 healthy individuals. *The ISME Journal*, 4(8), 962–974. <https://doi.org/10.1038/ismej.2010.30>
- Botta, A. C., Duarte, S., Filho, P. I. P., & Gheno, S. M. (2008). Effect of Dental Finishing Instruments on the Surface Roughness of Composite Resins as Elucidated by Atomic Force Microscopy. *Microscopy and Microanalysis*, 14(5), 380–386. <https://doi.org/10.1017/S1431927608080768>
- Briso, A., Caruzo, L., Guedes, A., Catelan, A., Santos, P. dos, Mickenautsch, S., & Yengopal, V. (2011). In Vitro Evaluation of Surface Roughness and Microhardness of Restorative Materials Submitted to Erosive Challenges. *PLoS ONE*, 11(4), 1–19. <https://doi.org/10.2341/10-356-L>
- Bruna Di Profio Daibs, Joao Mauricio Ferraz da Silva, Daniel Maranha Rocha, J. R. R. (2012). Microstructural analysis of restorative materials submitted to acid exposure. *Braz Dent Sci*, 15(1), 19–26.
- Carlén, A., Nikdel, K., Wennerberg, A., Holmberg, K., & Olsson, J. (2001). Surface characteristics and in vitro biofilm formation on glass ionomer and composite resin. *Biomaterials*, 22(5), 481–487. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(00\)00204-0](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(00)00204-0)
- Carpenter, G. H. (2013). The Secretion, Components, and Properties of Saliva. *Annu. Rev. Food Sci. Technol*, 4, 267–76. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-030212-182700>
- Chiappin, S., Antonelli, G., Gatti, R., & De Palo, E. F. (2007). Saliva specimen: A new laboratory tool for diagnostic and basic investigation. *Clinica Chimica Acta*, 383(1–2), 30–40. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2007.04.011>

- Chicharro, J. L., Lucía, A., Pérez, M., Vaquero, A. F., & Ureña, R. (1998). Saliva composition and exercise. *Sports Medicine*, 26(1), 17–27. <https://doi.org/10.2165/00007256-199826010-00002>
- Chuenarrom, C., Benjakul, P., & Daosodsai, P. (2009). Effect of Indentation Load and Time on Knoop and Vickers Microhardness Tests for Enamel and Dentin. *Materials Research-Ibero-American Journal of Materials*, 12(4), 473–476. <https://doi.org/10.1590/S1516-14392009000400016>
- Cilli, R., Pereira, J. C., & Prakki, A. (2012). Properties of dental resins submitted to pH catalysed hydrolysis. *Journal of Dentistry*, 40(12), 1144–1150. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2012.09.012>
- Correr, G. M., Bruschi Alonso, R. C., Baratto-Filho, F., Correr-Sobrinho, L., Sinhoreti, M. A. C., & Puppim-Rontani, R. M. (2012). In vitro long-term degradation of aesthetic restorative materials in food-simulating media. *Acta Odontologica Scandinavica*, 70(2), 101–8. <https://doi.org/10.3109/00016357.2011.600701>
- De Witte, A. M. J. C., De Maeyer, E. A. P., & Verbeeck, R. M. H. (2003). Surface roughening of glass ionomer cements by neutral NaF solutions. *Biomaterials*, 24(11), 1995–2000. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(02\)00617-8](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(02)00617-8)
- Distler, W., & Kroncke, a. (1983). The Acid Pattern in Human Dental Plaque. *Journal of Dental Research*, 62(2), 87–91. <https://doi.org/10.1177/00220345830620021801>
- Dvorak, S. D., Woodland, D. D., & Unertl, W. N. (1998). Nanotribometer: a new instrument for nano-scale to micron-scale friction and wear measurements. *Tribology Letters*, 4(2), 199–204. <https://doi.org/10.1023/A:1016131323735>
- Eliasson, L., & Carlén, A. (2010). An update on minor salivary gland secretions. *European Journal of Oral Sciences*, 118(5), 435–442. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0722.2010.00766.x>
- Erdemir, U., Yildiz, E., Eren, M. M., & Ozel, S. (2013). Surface hardness evaluation of different composite resin materials: influence of sports and energy drinks immersion after a short-term period. *Journal of Applied Oral Science: Revista FOB*, 21(2), 124–31. <https://doi.org/10.1590/1678-7757201302185>
- F. Gonçalves, C.S. Pfeifer, & J.L. Ferracane, R. R. B. (2008). in Dimethacrylate Composites, 367–372.
- Ferracane, J. L. (2011). Resin composite - State of the art. *Dental Materials*, 27(1), 29–38. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2010.10.020>
- Galvão, J., Proença, L., & Barroso, H. (2012). Prevalência da cárie dentária e presença de bactérias cariogénicas no dorso lingual - Estudo seccional cruzado. *Revista Portuguesa de Estomatologia, Medicina Dentaria E Cirurgia Maxilofacial*, 53(1), 11–16. <https://doi.org/10.1016/j.rpemd.2011.11.007>
- Geisse, N. A. (2009). AFM and combined optical techniques. *Materials Today*, 12(7–8), 40–45.

- [https://doi.org/10.1016/S1369-7021\(09\)70201-9](https://doi.org/10.1016/S1369-7021(09)70201-9)
- Gharechahi, M., Moosavi, H., & Forghani, M. (2012). Effect of Surface Roughness and Materials Composition. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, 3(4), 541–546. <https://doi.org/10.4236/jbnb.2012.324056>
- Gispert, M. P., Serro, A. P., Colaço, R., do Rego, A. M. B., Alves, E., da Silva, R. C., ... Saramago, B. (2007). Tribological behaviour of CI-implanted TiN coatings for biomedical applications. *Wear*, 262(11–12), 1337–1345. <https://doi.org/10.1016/j.wear.2007.01.017>
- Gladden, L. B. (2004). Lactate metabolism: a new paradigm for the third millennium. *Journal of Physiology*, 558(Pt 1), 5–30. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2003.058701>
- Gonçalves, L., Amaral, C. M., Poskus, L. T., Guimarães, J. G. A., & Da Silva, E. M. (2014). Degradation of resin composites in a simulated deep cavity. *Brazilian Dental Journal*, 25(6), 532–537. <https://doi.org/10.1590/0103-6440201300089>
- Guedes, R. A. P., & Crescente, L. A. (2009). Variações no ph da saliva em atletas de voleibol universitário submetidos a teste em esteira rolante com incremento de carga. *Revista Brasileira de Prescrição E Fisiologia Do Exercício*, 3(18), 615–620. Retrieved from <http://www.rbpfex.com.br/index.php/rbpfex/article/view/214>
- Hallal, P. C., Andersen, L. B., Bull, F. C., Guthold, R., Haskell, W., Ekelund, U., ... Group, W. (2012). Physical Activity 1 Global physical activity levels : surveillance progress , pitfalls ,. *The Lancet*, 380(9838), 247–257. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)60646-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)60646-1)
- Handy, J. (2006). Lactate-The bad boy of metabolism, or simply misunderstood? *Current Anaesthesia and Critical Care*, 17(1–2), 71–76. <https://doi.org/10.1016/j.cacc.2006.05.006>
- Hashemikamangar, S. S., Pourhashemi, S. J., Talebi, M., Kiomarsi, N., & Kharazifard, M. J. (2015). Effect of organic acids in dental biofilm on microhardness of a silorane-based composite. *Restorative Dentistry & Endodontics*, 40(3), 188–194. <https://doi.org/10.5395/rde.2015.40.3.188>
- Haskell, W. L., Lee, I., Pate, R. R., Powell, K. E., Blair, S. N., Franklin, B. A., ... Bauman, A. (2007). ACSM / AHA Recommendations Physical Activity and Public Health Updated Recommendation for Adults From the American College of Sports Medicine and the American Heart Association, 1–14. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.107.185649>
- Heravi, F., Moayed, M. H., & Mokhber, N. (2015). Effect of fluoride on nickel-titanium and stainless steel orthodontic archwires: an in-vitro study. *Journal of Dentistry (Tehran, Iran)*, 12(1), 49–59. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4436327&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Honório, H. M., Rios, D., Francisconi, L. F., Magalhães, A. C., MacHado, M. A. A. M., & Buzalaf, M. A. R. (2008). Effect of prolonged erosive pH cycling on different restorative materials. *Journal of Oral Rehabilitation*, 35(12), 947–953. <https://doi.org/10.1111/j.1365->

2842.2008.01856.x

- Humphrey, S. P., & Williamson, R. T. (2001). A review of saliva: Normal composition, flow, and function. *Journal of Prosthetic Dentistry*, 85(2), 162–169. <https://doi.org/10.1067/mpr.2001.113778>
- Ikejima, I., Nomoto, R., & McCabe, J. F. (2003). Shear punch strength and flexural strength of model composites with varying filler volume fraction, particle size and silanation. *Dental Materials*, 19(3), 206–211. [https://doi.org/10.1016/S0109-5641\(02\)00031-3](https://doi.org/10.1016/S0109-5641(02)00031-3)
- İlday, N., Bayindir, Y. Z., & Erdem, V. (2010). Effect of three different acidic beverages on surface characteristics of composite resin restorative materials. *Materials Research Innovations*, 14(5), 385–391. <https://doi.org/10.1179/143307510X12820854748917>
- Javaid, M. A., Ahmed, A. S., Durand, R., & Tran, S. D. (2016). Saliva as a diagnostic tool for oral and systemic diseases. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*, 6(1), 67–76. <https://doi.org/10.1016/j.jobcr.2015.08.006>
- Jost, H. P. (1990). Tribology - Origin and future. *Wear*, 136(1), 1–17. [https://doi.org/10.1016/0043-1648\(90\)90068-L](https://doi.org/10.1016/0043-1648(90)90068-L)
- Juel, C., Holten, M. K., & Dela, F. (2004). Effects of strength training on muscle lactate release and MCT1 and MCT4 content in healthy and type 2 diabetic humans. *The Journal of Physiology*, 556(Pt 1), 297–304. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2003.058222>
- Kakaboura, A., Fragouli, M., Rahiotis, C., & Silikas, N. (2007). Evaluation of surface characteristics of dental composites using profilometry, scanning electron, atomic force microscopy and gloss-meter. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 18(1), 155–163. <https://doi.org/10.1007/s10856-006-0675-8>
- Khan, A. A., Siddiqui, A. Z., Al-Kheraif, A. A., Zahid, A., & Divakar, D. D. (2015). Effect of different pH solvents on micro-hardness and surface topography of dental nano-composite: An in vitro analysis. *Pakistan Journal of Medical Sciences*, 31(4), 854–859. <https://doi.org/10.12669/pjms.314.7517>
- Kim K.H., Ong J.L., O. O. (2002). The effect of filler loading and morphology on the mechanical properties of contemporary composites. *J Prosthet Dent*, 87(6), 642–649.
- Knutson, K. J., & Berzins, D. W. (2013). Corrosion of orthodontic temporary anchorage devices. *European Journal of Orthodontics*, 35(4), 500–506. <https://doi.org/10.1093/ejo/cjs027>
- Kukiattrakoon, B., Hengtrakool, C., & Kedjarune-Leggat, U. (2011). Effect of acidic agents on surface roughness of dental ceramics. *Dental Research Journal*, 8(1), 6–15. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3177383&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Llena-Puy, C. (2006). The role of saliva in maintaining oral health and as an aid to diagnosis. *Medicina Oral, Patología Oral Y Cirugía Bucal*, 11, 449–455.
- Mandel, I. D. (1987). The functions of saliva. *Journal of Dental Research*, 66 Spec No(3), 623–

7. <https://doi.org/10.1177/00220345870660S203>

- Mandel, I. D. (1990). The diagnostic uses of saliva. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 19(3), 119–125. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.1990.tb00809.x>
- Martí-álamo, S., Mancheño-franch, A., Marzal-gamarra, C., & Carlos-fabuel, L. (2012). Saliva as a diagnostic fluid. Literature review.pdf, 4(4). <https://doi.org/10.1034/j.1601-0825.2002.1o834.x>
- Mendonça, C. P. (2004). Aspectos das práticas alimentares e da atividade física como determinantes do crescimento do sobrepeso / obesidade no Brasil Dietary and physical activity factors as determinants of the increase in overweight / obesity in Brazil, 20(3), 698–709.
- Münchow, E. A., Ferreira, A. C. A., Machado, R. M. M., Ramos, T. S., Rodrigues-Junior, S. A., & Zanchi, C. H. (2014). Effect of Acidic Solutions on the Surface Degradation of a Micro-Hybrid Composite Resin. *Brazilian Dental Journal*, 25(4), 321–326. <https://doi.org/10.1590/0103-6440201300058>
- Nishikawara, F., Nomura, Y., Imai, S., Senda, A., & Hanada, N. (2007). Evaluation of cariogenic bacteria. *European Journal of Dentistry*, 1(1), 31–9. Retrieved from [/pmc/articles/PMC2612953/?report=abstract](http://pmc/articles/PMC2612953/?report=abstract)
- Ohkuwa, T., Itoh, H., Yamazaki, Y., & Sato, Y. (1995). Salivary and blood lactate after supramaximal exercise in sprinters and long???distance runners. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, 5(5), 285–290. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0838.1995.tb00046.x>
- Øilo, G. (1992). Biodegradation of Dental Composites/ Glass-Ionomer Cements. *Advances in Dental Research*, 6(1), 50–54. <https://doi.org/10.1177/08959374920060011701>
- Oliveira, L. D. S., Oliveira, S. F., Manchado-Gobatto, F. D. B., & Costa, M. D. C. (2015). Cinética do lactato salivar e sanguíneo em resposta à potência máxima no cicloergômetro. *Revista Brasileira de Cineantropometria E Desempenho Humano*, 17(5), 565. <https://doi.org/10.5007/1980-0037.2015v17n5p565>
- Pannu, P., Gambhir, R., & Sujlana, A. (2013). Correlation between the salivary Streptococcus mutans levels and dental caries experience in adult population of Chandigarh, India. *European Journal of Dentistry*, 7(2), 191–195. <https://doi.org/10.4103/1305-7456.110169>
- Pérez, M., Lucía, A., Carvajal, A., Pardo, J., & Chicharro, J. L. (1999). Determination of the maximum steady state of lactate (MLSS) in saliva: an alternative to blood lactate determination. *The Japanese Journal of Physiology*. <https://doi.org/10.2170/jjphysiol.49.395>
- Petropoulos, K., Piermarini, S., Bernardini, S., Palleschi, G., & Moscone, D. (2016). Sensors and Actuators B: Chemical Development of a disposable biosensor for lactate monitoring in saliva. *Sensors & Actuators: B. Chemical*, 237, 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2016.06.068>

- Pustan, M., & Belcin, O. (2009). Application of atomic force microscope for mechanical and tribological characterization of teeth and biomaterials. *Tribology in Industry*, 31(1–2), 43–45.
- Radi, P. A. (2007). Tribologia , Conceitos E Aplicações. *Anais Do 130 Encontro de Iniciação Científica E Pós-Graduação Do ITA, 1991*(December 2014), 1–13.
- Rivera-Brown, A. M., & Frontera, W. R. (2012). Principles of exercise physiology: Responses to acute exercise and long-term adaptations to training. *PM and R*, 4(11), 797–804. <https://doi.org/10.1016/j.pmrj.2012.10.007>
- Ruyter, I. E. (1995). Physical and Chemical Aspects Related to Substances Released from Polymer Materials in an Aqueous Environment. *Advances in Dental Research*, 9(4), 344–347. <https://doi.org/10.1177/08959374950090040101>
- Santos, R. V. T., Almeida, A. L. R., Caperuto, E. C., Martins, E., & Costa Rosa, L. F. B. P. (2006). Effects of a 30-km race upon salivary lactate correlation with blood lactate. *Comparative Biochemistry and Physiology - B Biochemistry and Molecular Biology*, 145(1), 114–117. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2006.07.001>
- Segura, R., Javierre, C., Ventura, J. L., Lizarraga, M. A., Campos, B., & Garrido, E. (1996). A new approach to the assessment of anaerobic metabolism: measurement of lactate in saliva. *British Journal of Sports Medicine*, 30(4), 305–9. <https://doi.org/10.1136/bjism.30.4.305>
- Sideridou, I. D., & Achilias, D. S. (2005). Elution study of unreacted Bis-GMA, TEGDMA, UDMA, and Bis-EMA from light-cured dental resins and resin composites using HPLC. *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*, 74(1), 617–626. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.30252>
- Sideridou, I. D., & Karabela, M. M. (2011). Sorption of water, ethanol or ethanol/water solutions by light-cured dental dimethacrylate resins. *Dental Materials*, 27(10), 1003–1010. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2011.06.007>
- Soares, L. E. S., Lima, L. R., de Souza Vieira, L., do Espírito Santo, A. M., & Martin, A. A. (2012). Erosion effects on chemical composition and morphology of dental materials and root dentin. *Microscopy Research and Technique*, 75(6), 703–710. <https://doi.org/10.1002/jemt.21115>
- Söderholm, K. J., Zigan, M., Ragan, M., Fischlschweiger, W., & Bergman, M. (1984). Hydrolytic degradation of dental composites. *Journal of Dental Research*, 63(10), 1248–54. <https://doi.org/10.1177/00220345840630101701>
- Tanner, a C. R., Milgrom, P. M., Kent, R., Mokeem, S. a, Page, R. C., Riedy, C. a, ... Bruss, J. (2002). The microbiota of young children from tooth and tongue samples. *Journal of Dental Research*, 81(1), 53–57. <https://doi.org/10.1177/154405910208100112>
- Tanzer, J. M., Livingston, J., & Thompson, A. M. (2001). The microbiology of primary dental caries in humans. *Journal of Dental Education*, 65(10), 1028–37. [https://doi.org/10.1007/978-1-349-16547-6\\_3](https://doi.org/10.1007/978-1-349-16547-6_3)

- Tenovuo, J. (1997). Salivary parameters of relevance for assessing caries activity in individuals and populations. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*, 25(1), 82–6. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0528.1997.tb00903.x>
- Thomas, C. (2004). Monocarboxylate transporters, blood lactate removal after supramaximal exercise, and fatigue indexes in humans. *Journal of Applied Physiology*, 98(3), 804–809. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.01057.2004>
- Valinoti, A. C., Neves, B. G., Silva, E. M. da, & Maia, L. C. (2008). Surface degradation of composite resins by acidic medicines and ph-cycling. *Journal of Applied Oral Science*, 16(4), 257–265. <https://doi.org/10.1590/S1678-77572008000400006>
- Van Hall, G. (2010). Lactate kinetics in human tissues at rest and during exercise. *Acta Physiologica*, 199(4), 499–508. <https://doi.org/10.1111/j.1748-1716.2010.02122.x>
- Varanda, E., Do Prado, M., Simão, R. A., & Dias, K. R. H. C. (2013). Effect of in-office bleaching agents on the surface roughness and morphology of different dental composites: An AFM study. *Microscopy Research and Technique*, 76(5), 481–485. <https://doi.org/10.1002/jemt.22190>
- Wongkhantee, S., Patanapiradej, V., Maneenut, C., & Tantbirojn, D. (2006). Effect of acidic food and drinks on surface hardness of enamel, dentine, and tooth-coloured filling materials. *Journal of Dentistry*, 34(3), 214–220. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2005.06.003>
- Yap, a U., Tan, S. H., Wee, S. S., Lee, C. W., Lim, E. L., & Zeng, K. Y. (2001). Chemical degradation of composite restoratives. *Journal of Oral Rehabilitation*, 28(11), 1015–1021. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2842.2001.00760.x>
- Yuan, C., Wang, X., Gao, X., Chen, F., Liang, X., & Li, D. (2016). Effects of surface properties of polymer-based restorative materials on early adhesion of *Streptococcus mutans* in vitro. *Journal of Dentistry*, 54, 33–40. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2016.07.010>
- Zimmerli, B., Strub, M., Jeger, F., Stadler, O., & Lussi, A. (2010). Composite materials: composition, properties and clinical applications. A literature review. *Schweizer Monatsschrift Für Zahnmedizin = Revue Mensuelle Suisse D'odonto-Stomatologie = Rivista Mensile Svizzera Di Odontologia E Stomatologia / SSO*, 120(11), 972–86. <https://doi.org/smfz-2010-11-30> [pii]
- Zivic, F. (2007). Nanotribometer. *Tribology in Industry*, 29(3–4), 29–34.
- Zivić, F., Babić, M., Grujović, N., & Mitrović, S. (2010). Tribometry of materials for bioengineering applications. *Tribology in Industry*, 32(1), 25–32.
- Zogheib, L. V., Barca, D. C., & Pavanelli, C. A. (2009). Avaliação da dureza Vickers de resinas compostas de uso direto e indireto. *Ciência Odontológica Brasileira*, 12(1), 23–30. <https://doi.org/10.14295/bds.2009.v12i1.249>