

ESCOLA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
DOUTORADO EM ODONTOLOGIA

FERNANDA BORGUETTI MANFROI

**EFEITO DAS VARIAÇÕES DO PH NA RESISTÊNCIA DE UNIÃO E NA
NANOINFILTRAÇÃO DE SISTEMAS ADESIVOS À DENTINA.**

Porto Alegre

2018

PÓS-GRADUAÇÃO - *STRICTO SENSU*



Pontifícia Universidade Católica
do Rio Grande do Sul

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA - DOUTORADO
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM DENTÍSTICA RESTAURADORA

**EFEITO DAS VARIAÇÕES DO PH NA RESISTÊNCIA DE UNIÃO E NA
NANOINFILTRAÇÃO DE SISTEMAS ADESIVOS À DENTINA**

Fernanda Borgueti Manfroi

Tese apresentada como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Odontologia, curso de Pós-Graduação em Odontologia, área de concentração em Dentística Restauradora, pela Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

Orientadora: Prof^a Dr^a Ana Maria Spohr

Porto Alegre

2018

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA - DOUTORADO
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM DENTÍSTICA RESTAURADORA

**EFEITO DAS VARIAÇÕES DO PH NA RESISTÊNCIA DE UNIÃO E NA
NANOINFILTRAÇÃO DE SISTEMAS ADESIVOS À DENTINA**

Fernanda Borgueti Manfroi

Orientadora: Prof^a Dr^a Ana Maria Spohr

Porto Alegre

2018

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus pela vida, saúde e oportunidades.

Agradeço, de uma forma muito especial, aos meus pais Lourdes e Carmi pelo amor incondicional, pelo colo recebido, pelo entendimento da ausência e por tudo que me proporcionam ao longo dos dias, meses e anos. Amo vocês.

Ao Cristiano, meu companheiro ao longo destes 4 anos, quero agradecer pelo amor, carinho, ajuda e paciência. Obrigada por estar ao meu lado. Amo você.

Quero demonstrar aqui o meu carinho pela incrível pessoa que tenho o prazer de chamar de orientadora: Professora Ana Maria Spohr. És uma pessoa única, cheia de conhecimento e de vontade de ensinar. És fonte de inspiração. Só tenho a agradecer pelas oportunidades e por confiar no meu trabalho.

À amiga Deise Caren Somacal, amiga que a Pós-Graduação me proporcionou. Obrigada por todas as horas de ajuda na pesquisa e por todas as horas de risadas, momentos de aflição e de descontração. És uma amiga muito especial. Adoro você. Sucesso na tua caminhada.

À amiga Tamara Paludo quero agradecer pela parceria ao longo dos anos e por estar presente na minha vida. Obrigada por ser tão especial. Adoro você. Sucesso na tua trajetória.

Deixo aqui meu abraço bem apertado ao Antônio, funcionário do Laboratório de Materiais Dentários. Sabes o quão importante foi a tua ajuda diária com a minha pesquisa. Desejo muita saúde e fé. Meus mais sinceros agradecimentos.

Aos funcionários do LabCEMM, principalmente aos queridos Wagner, Miriam e ao ex-estagiário Vitor. Muito obrigada pelas longas horas juntos analisando as minhas imagens. Foram excepcionais comigo. Os levarei no coração.

Ao Professor Eduardo Miranda Ethur, responsável pelas soluções utilizadas na minha pesquisa, deixo aqui meu agradecimento por ter aceitado realizar esse trabalho comigo, pela disponibilidade e parceria. Muito obrigada.

Aos Professores da casa que cruzaram meu caminho e aos Professores da UNISC, meus sinceros agradecimentos.

Gostaria de agradecer, de uma forma muito carinhosa, ao Professor Jorge Perdigão pelos brilhantes ensinamentos passados junto à PUCRS. És fonte de inspiração. Muito obrigada.

Ao funcionário do Tecno-PUC, Filipi Vianna, muito obrigada pelos ensinamentos no programa requerido para leitura das imagens. Gratidão.

Aos demais funcionários do curso de Odontologia: Lilian, Neusa e a todos os funcionários da secretaria da Pós-Graduação. Muito obrigada pelo carinho de todos.

Aos meus amigos, familiares e pacientes agradeço a paciência pela ausência.

Aos demais colegas da Pós-Graduação desejo sucesso a todos.

MENSAGEM

“Vê mais longe a gaivota que voa mais alto”

Fernão Capelo Gaivota – Richard Bach

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	7
ARTIGO 1: Efeito dos ciclos de pH na resistência de união de diferentes sistemas adesivos à dentina	9
Resumo	9
Abstract	10
1. Introdução.....	11
2. Metodologia	13
2.1 Materiais	13
2.1.1 Cálculo do tamanho da amostra.....	14
2.2 Método.....	14
2.2.1 Obtenção dos dentes	14
2.2.2 Confeção dos corpos de prova.....	15
2.2.3 Preparo das soluções de desmineralização e remineralização	20
2.2.4 Ensaio de microtração.....	22
2.2.5 Análise dos tipos de falha	23
2.2.6 Análise estatística	24
3. Resultados.....	25
4. Discussão	30
5. Conclusão.....	35
6. Referências Bibliográficas	36
ARTIGO 2: Efeito dos ciclos de pH na nanoinfiltração de diferentes sistemas adesivos à dentina	39
Resumo	39
Abstract	40
1. Introdução.....	41
2. Metodologia	44
2.1 Materiais	44
2.2 Método.....	46
2.2.1 Obtenção dos dentes	46
2.2.2 Confeção dos corpos de prova.....	46
2.2.3 Procedimentos para avaliação da nanoinfiltração	48
2.2.4 Preparo das soluções de desmineralização e remineralização	49
2.2.5 Análise estatística	55
3. Resultados.....	56
4. Discussão	60
5. Conclusão.....	64
6. Referências Bibliográficas	65
Considerações finais	69
Referências Bibliográficas (Introdução geral)	71
ANEXO - Aprovação do projeto de pesquisa CEP (Plataforma Brasil)	73

INTRODUÇÃO GERAL

A adesão dos materiais restauradores ao substrato dental é necessária para fornecer retenção, melhorar a adaptação marginal e reduzir a microinfiltração.¹ Desde a introdução dos materiais, a adesão ao esmalte tornou-se uma técnica segura e confiável, mas a união à dentina tem provado ser mais difícil e menos previsível.²

Apesar de esta união apresentar elevados valores de resistência de união *in vitro*, uma das principais razões para a falha das restaurações adesivas *in vivo* é a ocorrência de cáries secundárias, as quais acontecem devido a alterações cariogênicas na interface entre material restaurador e superfície dentária.^{3,4}

A ocorrência de cáries secundárias advém do inadequado selamento marginal, visto que a degradação dos sistemas adesivos enfraquece a adesão e produz deterioração marginal.⁵ Também pode ocorrer devido à perda mineral favorecendo, desta forma, a formação de espaços e aumento do fluxo de fluídos e bactérias através da interface adesiva, induzindo a consequências indesejáveis na resistência de união de materiais adesivos. Embora o cimento de ionômero de vidro mostre inibição de cáries secundárias na margem da restauração, com o uso de sistemas adesivos a recidiva de cáries é ainda uma preocupação.⁶

As características físicas e químicas da cavidade bucal podem influenciar as propriedades dos materiais restauradores.⁷ Entre estes fatores, o pH do biofilme bacteriano sofre variações durante o processo de desmineralização

(fatores patológicos) e remineralização (fatores de proteção) devido ao estímulo cariogênico.^{8,9} Portanto, com a evolução dos materiais restauradores tem sido sugerida a necessidade de simular condições intrabucais relevantes, com a presença de saliva e os ciclos de pH, os quais podem influenciar diretamente nas propriedades dos materiais.¹⁰

Os ciclos de pH realizados em laboratório simulam a condição bucal, a qual é caracterizada pela dinâmica entre períodos de desmineralização e remineralização.¹¹⁻¹³ Um amplo número de estudos teve enfoque nos ciclos de pH e na resistência de união. Contudo, estes trabalhos comparam sistemas adesivos que contêm flúor na sua composição com aqueles que não contêm flúor,^{14,15} ou então avaliam cimentos resinosos¹⁶ ou ionoméricos.^{10,12} Até o presente momento, não haviam trabalhos na literatura comparando os sistemas adesivos Single Bond Universal, Scotchbond Multi Purpose e Clearfil SE Bond. Tendo em vista esses aspectos tornou-se relevante a realização de estudos para avaliar se os ciclos de pH influenciam ou não nas propriedades mecânicas destes sistemas adesivos.

Neste sentido, foi elaborado o projeto intitulado “Efeito das variações do pH na resistência de união e na nanoinfiltração de sistemas adesivos à dentina”, dando origem a dois artigos científicos que serão descritos a seguir.

ARTIGO 1: Efeito dos ciclos de pH na resistência de união de diferentes sistemas adesivos à dentina

&

ARTIGO 2: Efeito dos ciclos de pH na nanoinfiltração de diferentes sistemas adesivos à dentina

ARTIGO 1

Efeito dos ciclos de pH na resistência de união de diferentes sistemas adesivos à dentina

Resumo

Objetivo: Verificar a influência dos ciclos de pH nos valores de resistência de união à microtração ($R_{\mu T}$) à dentina de três sistemas adesivos em comparação com a $R_{\mu T}$ imediata e após armazenamento em saliva artificial pelo período de 6 meses. **Materiais e métodos:** A superfície oclusal de 32 dentes terceiros molares hígidos foi removida para obter superfície plana em dentina, sendo divididos aleatoriamente em quatro grupos ($n=8$ /grupo): G1 – Single Bond Universal na versão *total-etch*; G2 – Single Bond Universal na versão *self-etch*; G3 – Scotchbond Multi Purpose (controle da versão *total-etch*); G4 – Clearfil SE Bond (controle da versão *self-etch*). Sobre o sistema adesivo foi confeccionado um bloco de 6 mm de altura em resina composta. Após 24 h de armazenagem em água destilada a 37°C, os conjuntos dente/resina foram cortados paralelamente no longo eixo do dente, nos sentidos x e y, com secção de aproximadamente 0,8 mm². Cinquenta e dois corpos de prova foram obtidos, em média, para cada grupo, sendo 26 submetidos aos ciclos de pH, e os outros 26 ao armazenamento em saliva artificial por 6 meses. Na sequência, os corpos de prova foram submetidos ao teste de microtração em máquina de ensaio universal EMIC DL-2000, com uma velocidade de 0,5 mm/min. Os tipos de falha foram observados em microscopia eletrônica de varredura. Para a avaliação imediata (24 h) foram utilizados resultados obtidos previamente a este estudo. **Resultados:** De acordo com o teste ANOVA de duas vias a interação entre os fatores ($p=0,0001$) foi significativa. Não houve diferença estatística na $R_{\mu T}$ imediata entre os sistemas adesivos. Após os 4 ciclos de pH e 6 meses de armazenamento em saliva artificial houve redução significativa das médias de $R_{\mu T}$ para todos os sistemas adesivos. As falhas foram predominantemente mistas. **Conclusão:** Os ciclos de pH e o armazenamento em saliva artificial durante 6 meses prejudicaram a estabilidade da interface de união.

Palavras-chave: ciclos de pH, dentina, resistência de união, sistemas adesivos

Abstract

Purpose: To verify the influence of the pH cycles on the microtensile bond strength (μ TBS) to dentin of three adhesive systems compared to the immediate μ TBS and after storage in artificial saliva for 6 months. **Materials and methods:** The occlusal surface of 32 sound third molar teeth was removed to obtain a flat dentin surface. The teeth were randomly divided into four groups (n=8/group): G1 - Single Bond Universal in the total-etch mode; G2 - Single Bond Universal in the self-etch mode; G3 - Scotchbond Multi Purpose (total-etch mode control); G4 - Clearfil SE Bond (self-etch mode control). A block of composite with 6 mm height was built on the adhesive area. After 24 h of storage in distilled water at 37°C, the tooth/resin sets were cut parallel to the long axis of the tooth, in the x and y directions, with a section of approximately 0.8 mm². Fifty-two specimens were obtained for each group, of which 26 were submitted to pH cycles and the other 26 were stored in artificial saliva for 6 months. Subsequently, the specimens were submitted to a μ TBS test in a universal testing machine at a crosshead speed of 0.5 mm/min. For the immediate evaluation (24 h), results previously obtained were used for this study. **Results:** According to the two-way ANOVA test, the interaction between the factors (p=0.0001) was significant. There was no significant difference in the immediate μ TBS between the adhesive systems. After 4 cycles of pH and 6 months of storage in artificial saliva, there was a significant decrease in μ TBS for all adhesive systems. The failures were predominantly mixed. **Conclusion:** The pH cycles and the storage in artificial saliva for 6 months were detrimental to the stability of the bonding interface.

Key-words: pH cycles, dentin, bond strength, adhesive systems

1. Introdução

O desenvolvimento dos sistemas adesivos permitiu a adesão direta entre os materiais restauradores e a estrutura dentária, apresentando características adequadas de selamento marginal e união em um curto período de tempo.¹ Apesar dos avanços nas últimas décadas, a durabilidade e a estabilidade das interfaces adesivas continuam limitadas.²

Como consequência disto, a degradação pode enfraquecer a adesão e produzir deterioração marginal, o que diminui a vida útil da restauração e leva a efeitos clínicos indesejáveis, tais como a descoloração marginal e a cárie secundária,³ sendo esta definida como um processo dinâmico entre períodos de desmineralização e remineralização dos tecidos dentais, a qual pode, por consequência destas alterações, resultar em cavitação.⁴

Tendo em vista estes aspectos, testes *in vivo* apresentam um papel importante na avaliação na longevidade adesiva, pois avaliam em condições reais o tratamento restaurador. No entanto são vários os fatores que dificultam a realização destes estudos, tais como a dificuldade de padronização, diversidade entre os sujeitos/pacientes, custos elevados, desistência por parte do paciente, entre outros.⁵ Sendo assim, estudos *in vitro* que simulam condições *in vivo* tornam-se alternativas corriqueiras para a realização deste tipo de pesquisa. Dentre os testes disponíveis *in vitro*, os ciclos de pH mimetizam a condição bucal simulando a dinâmica entre períodos de desmineralização e remineralização.⁶

Com o intuito de diminuir a deterioração marginal, esforços têm sido direcionados no aperfeiçoamento dos sistemas adesivos. Para tal finalidade foi incorporado flúor nos sistemas adesivos com o objetivo de inibir o desenvolvimento de cáries secundárias, devido ao potencial anticariogênico. Porém, estudos não demonstraram diferença estatística entre sistemas adesivos com e sem flúor.^{7,8}

Visto que até o momento da realização deste trabalho não havia pesquisas com enfoque nos ciclos de pH com o uso dos sistemas adesivos Clearfil SE Bond (padrão ouro *self-etch*), Scotchbond Multi Purpose (padrão ouro *total-etch*) e Single Bond Universal (*total-etch* e *self-etch*), notou-se a relevância de estudos nesta área.

Portanto, a presente pesquisa objetiva responder a seguinte questão: os ciclos de pH influenciam nos valores de resistência de união dos sistemas adesivos Clearfil SE Bond, Single Bond Universal (versão *total-etch* e *self-etch*) e Scotchbond Multi Purpose quando comparados à avaliação imediata e ao armazenamento em saliva artificial pelo período de 6 meses?

Este estudo foi conduzido sob a hipótese de que os ciclos de pH não têm diferença estatística em comparação aos valores de resistência de união imediata e o armazenamento em saliva artificial durante 6 meses dos sistemas adesivos à dentina.

2. Metodologia

2.1 Materiais

Os sistemas adesivos, resina composta e as soluções para desmineralização e remineralização estão dispostos na Tabela 1.

Tabela 1 - Materiais empregados no estudo.

Produto	Descrição	Lote	Composição Química	Fabricante
Scotchbond Multi Purpose	Sistema adesivo	<i>Primer:</i> 1511700492 <i>Adesivo:</i> 1512800186	Ácido: ácido fosfórico a 37% <i>Primer:</i> HEMA, Ácido Polialcenóico, Água <i>Adesivo:</i> Bis-GMA, HEMA e Amina Terciária	3M/ESPE, St. Paul, MN, EUA
Clearfil SE Bond	Sistema adesivo	<i>Primer:</i> 670203 <i>Adesivo:</i> 6L0328	<i>Primer:</i> MDP, HEMA, di-canforoquinona, dimetacrilato hidrofílico, água <i>Adesivo:</i> MDP, Bis-GMA, HEMA, di-canforoquinona, metacrilato hidrofóbico	Kuraray, Kurashiki, Okayama, Japão
Single Bond Universal	Sistema adesivo	1529300633	Copolímero do Vitrebond, HEMA, Bis-GMA, MDP, silano, água, etanol	3M/ESPE, St. Paul MN, EUA
<i>Ultra-etch</i>	Ácido fosfórico	D013H D018K	Ácido fosfórico 35%, espessante, corante	Ultradent Products Inc. – South Jordan, EUA
Filtek Z350 XT cor A2B	Compósito nanoparticulado	1524400749 (6 bisnagas)	Cerâmica silanizada, sílica, UDMA, BisGMA, Bisfenol A, TEGDMA, polietilenoglicoldimetacrilato	3M/ESPE, St. Paul, MN, EUA
Solução de remineralização*/saliva artificial (pH=7)	Solução laboratorial	Ca(NO ₃) ₂ : 1020660250 – Merck P: 1049361000– Merck TRIS: SYT102701AG – Synth KCl: 1049361000 - Merck	1,5 mM Ca, 0,9 mM P, 20 mM de tampão TRIS, 150 mM KCl	Merck Darmstadt, Alemanha Synth Kerry, EUA
Solução de desmineralização* (pH=4.3)	Solução laboratorial	Ca(NO ₃) ₂ : 1020660250 – Merck P: 1049361000 – Merck Tampão de acetato: 1000631000 - Merck	2 mM Ca, 2 mM P, 75 mM de tampão de acetato	Merck Darmstadt, Alemanha

* Soluções foram preparadas segundo Silva *et al.*⁹

2.1.1 Cálculo do tamanho da amostra

O presente estudo utilizou terceiros molares humanos inclusos ou semi-inclusos, com dimensões semelhantes e extraídos por indicação terapêutica. Os mesmos foram distribuídos aleatoriamente entre os grupos. Devido à semelhança entre os dentes, o substrato dentinário não foi considerado um fator importante de influência nos resultados. Desta forma, o n (número de amostras em cada grupo) foi considerado o corpo de prova, ou seja, os “palitos” obtidos após os cortes dos dentes restaurados.

Para o cálculo amostral foi considerado o nível de significância de 5%, poder de 80%, desvio-padrão de 10, e uma diferença esperada de 10 MPa entre os grupos, totalizando uma amostra de 26 corpos de prova para cada grupo.

2.2 Método

2.2.1 Obtenção dos dentes

Para o estudo dos ciclos de pH e armazenamento em saliva artificial durante 6 meses foram utilizados 32 terceiros molares humanos hígidos inclusos, extraídos por razões terapêuticas, e obtidos por meio do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para Doação de Dentes. O estudo iniciou após aprovação do CEP-PUCRS (CAAE 53587216.0.0000.5336). Os dentes foram limpos com curetas periodontais, desinfetados em cloramina a 0,5% por 24 h e armazenados em água destilada à 4°C por um período máximo de 6 meses, sendo a água trocada semanalmente. Para o estudo imediato utilizou-se os resultados de um estudo prévio. Para tal, foram utilizados 16 terceiros molares humanos hígidos inclusos, os quais foram obtidos em consultórios

odontológicos por meio do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. O estudo iniciou após aprovação do CEP-PUCRS (CAAE 11633412.5.0000.5336) e seguiu a mesma sequência de preparo da pesquisa atual.

2.2.2 Confeção dos corpos de prova

Durante o tempo de armazenamento, os dentes foram incluídos em resina acrílica quimicamente ativada Jet (Clássico, São Paulo, SP, Brasil) com auxílio de uma matriz cilíndrica de tal forma que a coroa do dente ficou exposta e a superfície oclusal paralela à base da resina acrílica. A superfície oclusal de esmalte foi removida com disco diamantado de dupla face (Extec, Londres, Inglaterra) montado em uma máquina de corte (Labcut 1010 – Extec, Londres, Inglaterra), sob refrigeração à água, expondo uma superfície plana de dentina oclusal (Figura 1). Após, as áreas de dentina foram regularizadas em uma politriz (Panambra, São Paulo, SP, Brasil) com lixas de carbetto de silício de granulação 400 e 600.

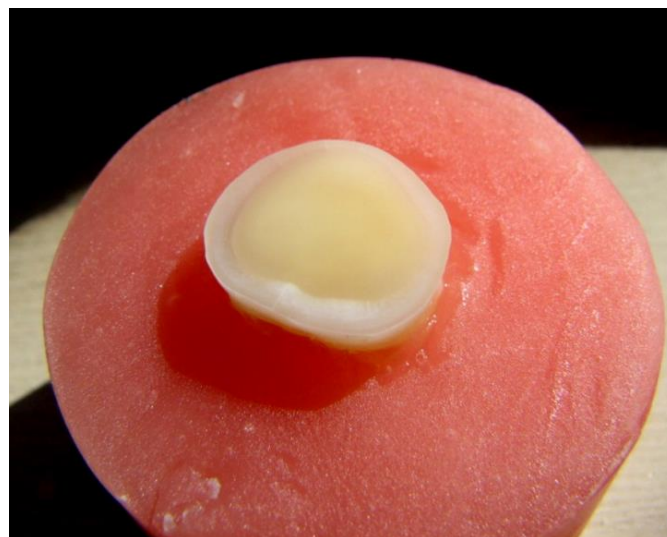


Figura 1: Superfície plana em dentina.

Os dentes foram divididos aleatoriamente em quatro grupos com oito dentes cada. Previamente a aplicação dos materiais específicos de cada grupo, os dentes foram retirados da água destilada e, com jato de ar, foi removido o excesso de umidade presente em cada dente.

Grupo 1 – Single Bond Universal com aplicação prévia de ácido fosfórico: realizou-se o condicionamento da superfície dentinária com ácido fosfórico 37% por 15 s, seguido de lavagem com *spray* de água por 30 s e remoção do excesso de água com papel absorvente. O adesivo foi aplicado na dentina com *microbrush*, sendo esfregado por 20 s, seguido de leve jato de ar por 5 s e fotoativação por 10 s, conforme instruções do fabricante.

Grupo 2 – Single Bond Universal na versão autocondicionante: aplicou-se o adesivo com *microbrush* na dentina seca, sendo esfregado por 20 s, seguido de leve jato de ar por 5 s e fotoativação por 10 s, conforme instruções do fabricante.

Grupo 3 – Scotchbond Multi Purpose: Inicialmente realizou-se o condicionamento da superfície dentinária com ácido fosfórico 37% por 15 s, seguido de lavagem com *spray* de água por 30 s e remoção do excesso de água com papel absorvente. O *primer* foi aplicado, seguido de leve jato de ar por 5 s. Posteriormente aplicou-se o adesivo, seguido de fotoativação por 10 s, conforme instruções do fabricante.

Grupo 4 – Clearfil SE Bond: Uma camada do *primer* autocondicionante foi aplicada com *microbrush* na superfície dentinária seca, sendo esfregado por 20 s e seguido de leve jato de ar por 5 s. Após, o adesivo foi aplicado e fotoativado por 10 s, conforme instruções do fabricante.

Sobre os sistemas adesivos construiu-se um bloco de resina composta Filtek Z350 XT, cor A2B, de aproximadamente 6 mm de altura (Figura 2). Este foi confeccionado em incrementos de aproximadamente 2 mm cada, sendo cada incremento fotoativado por 20 s. A intensidade de luz do aparelho fotopolimerizador LED Radii-cal (SDI, Vic., Austrália) foi monitorada com radiômetro (modelo 100, Demetron Inc, Saint Louis, MN, Estados Unidos da América), e permaneceu na intensidade de luz de 1200 mW/cm².



Figura 2: Bloco de resina composta construído sobre o sistema adesivo.

Os conjuntos dente/bloco de resina composta ficaram armazenados em água destilada por 24 h a 37°C em estufa de cultura FANEM. Passado esse período, inicialmente marcou-se a região central de cada dente com caneta de retroprojeter, a fim de facilitar a identificação dos corpos de prova da região central, e então o conjunto foi seccionado para obtenção de palitos. Os cortes foram realizados paralelamente ao longo eixo do dente nos eixos x e y, em uma máquina de corte Labcut 1010 com um disco diamantado de dupla face em uma velocidade de 500 rpm sob refrigeração com água (Figura 3).

Dessa forma foram obtidos corpos de prova em forma de palitos, onde a metade superior era de resina composta e a inferior, de dentina (Figura 4). Os corpos de prova tiveram a área adesiva mensurada em mm^2 com um paquímetro digital Mitutoyo (Mitutoyo Sul Americana Ltda, Suzano, SP, Brasil), com erro declarado máximo de 0,01 mm. A área dos corpos de prova foi de aproximadamente $0,80 \text{ mm}^2$ (Figura 5).

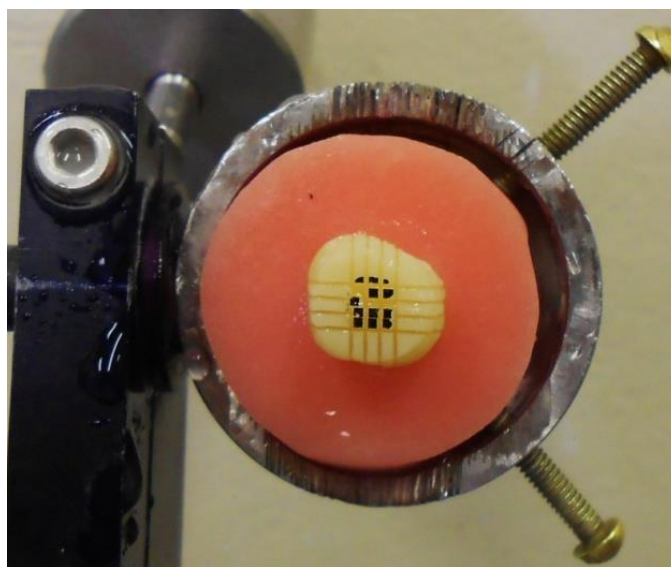


Figura 3: Corte nos eixos x e y.



Figura 4: Obtenção dos palitos.

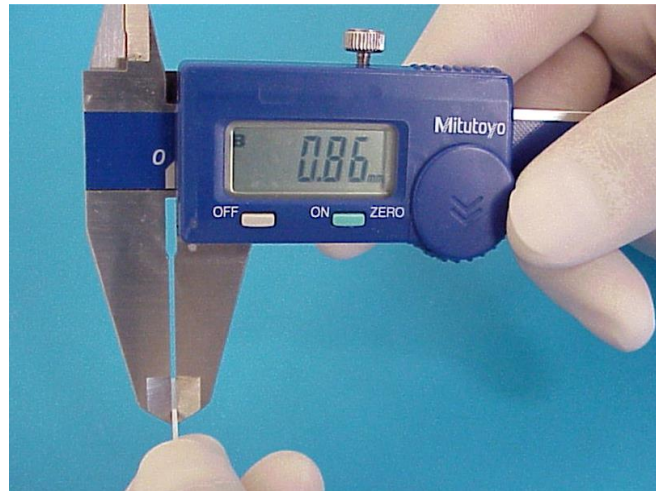


Figura 5: Mensuração do corpo de prova com paquímetro digital.

Para cada um dos dentes selecionaram-se oito corpos de prova da região central. Os mesmos foram examinados com lupa em aumento de 10 vezes para análise da área adesiva, sendo descartados os que apresentaram defeitos como bolhas, falhas no processo adesivo, falta de material ou área irregular. Os palitos foram pintados com esmalte de unha 1mm abaixo e 1mm acima da interface adesiva, de modo que somente a região central tivesse contato com as soluções de desmineralização e remineralização (Figura 6).



Figura 6: Esmalte aplicado inicialmente na região da resina composta.

Em cada grupo, os palitos foram divididos em dois subgrupos. Metade destes foram armazenados em saliva artificial, com umidade 100% à 37°C durante 6 meses e a outra metade alternou pelos ciclos de pH, simulando alteração cariogênica. Esta foi composta de quatro ciclos, sendo que cada ciclo consistiu na imersão dos palitos na solução de desmineralização durante 6 h e, posteriormente imersos na solução de remineralização durante 18 h. Entre uma solução e outra, os palitos foram lavados com água deionizada durante 1 minuto. Após os 4 ciclos de desmineralização e remineralização estes foram submetidos ao teste de resistência de união, assim como os palitos que permaneceram em saliva artificial durante 6 meses.

2.2.3 Preparo das soluções de desmineralização e remineralização

As soluções de desmineralização e remineralização foram preparadas conforme protocolo descrito por Silva *et al.*⁹ A quantidade de solução e o número de ciclos seguiu o protocolo de Peris *et al.*¹⁰ Para a solução de desmineralização utilizou-se 6,25 ml para cada mm² de dentina exposta e para a solução de remineralização utilizou-se 3,125 ml para cada mm² de área exposta. As soluções foram preparadas semanalmente, conforme a quantidade requerida para os ciclos de pH e para o armazenamento em saliva artificial.

Inicialmente, cada reagente foi pesado separadamente em uma balança semi-analítica (Bel, Mark 2200, EUA). Para o preparo da solução de desmineralização dissolveu-se em água deionizada Ca(NO₃)₂ 4H₂O (2,0 mM), e na sequência ácido acético glacial (75 mM) e NaH₂PO₄ H₂O (2,0 mM). O pH da solução foi monitorado com um pHmetro digital (827 pH lab, Metrohm,

Suíça). O pH inicial da solução foi de 2,87, o qual foi ajustado para 4,7 utilizando-se uma solução de NaOH 4M. E para a solução de remineralização dissolveu-se em água deionizada $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (1,5 mM), KCl (150 mM), $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0,9 mM) e TRIS (20 mM). O pH inicial da solução foi de 9,34, e foi ajustado para 7,0 utilizando-se HCl 3M. A sequência da mistura dos reagentes para a solução de desmineralização e remineralização está descrita na Tabela 2 e 3, respectivamente.

Tabela 2 - Solução Desmineralizadora.

Componentes	Solução 1 L	Solução 2 L	Solução 5 L
H ₂ O dest/deion.	± 750 mL	± 1750 mL	± 4250 mL
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (2,0 mM)	0,4723 g	0,9446 g	2,3615 g
Ácido acético glacial (75 mM)	4,30 mL	8,60 mL	21,50 mL
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (2,0 mM)	0,2760 g	0,5520 g	1,3800 g
*pH = 2,87 – Ajustar o pH para 4,7 com NaOH 4 M			
H ₂ O dest/deion. q.s.p.	1000 mL	2000 mL	5000 mL

*NaOH 4 M - dissolver 160 g de NaOH com cerca de 800 mL de água deionizada e aferir até 1000 mL em balão volumétrico. Para outros volumes basta manter a proporção. 1 M (molar) = 1 mol/L ou 1 mol.L⁻¹. Para a preparação da solução de desmineralização é importante a colocação dos reagentes na sequência indicada.

Tabela 3 - Solução Remineralizadora.

Componentes	Solução 1 L	Solução 2 L	Solução 5L
H ₂ O dest/deion.	± 750 mL	± 1750 mL	± 4250 mL
Ca(NO ₃) ₂ . 4H ₂ O (1,5 mM)	0,3542 g	0,7084 g	1,7710 g
KCl (150 mM)	11,182 g	22,364 g	55,910 g
NaH ₂ PO ₄ . H ₂ O (0.9 mM)	0,1242 g	0,2484 g	0,6210 g
TRIS (20 mM)	2,24 g	4,48 g	11,20 g
*pH = 9,34 - Ajustar o pH para 7,0 com HCl 3 M			
H ₂ O dest/deion. q.s.p.	1000 mL	2000 mL	5000 mL

*HCl 3 M - adicionar 250 mL de HCl conc. (12 M) sobre cerca de 600 mL de água deionizada e aferir até 1000 mL em balão volumétrico. Para outros volumes basta manter a proporção. 1 M (molar) = 1 mol/L ou 1 mol.L⁻¹. Para a preparação da solução de remineralização é importante a colocação dos reagentes na sequência indicada.

2.2.4 Ensaio de microtração

Os corpos de prova foram fixados individualmente ao dispositivo de microtração com adesivo a base de cianoacrilato (Superbonder Gel – Loctite, São Paulo, SP, Brasil) associado a um acelerador (Zip Kicker, Pacer, Rancho Cucamonga, CA, EUA) pelas suas extremidades, de forma a posicionar a área adesiva perpendicularmente ao longo eixo da força de tração (Figuras 7 e 8). Em todos os corpos de prova, a porção correspondente à resina composta voltou-se para cima e, a dentina, para baixo. O teste foi realizado na máquina de ensaio universal EMIC DL-2000 (São José dos Pinhais, PR, Brasil), operada por computador através do software MTest a uma velocidade de 0,5 mm/minuto. A célula de carga utilizada foi a de 50 N.

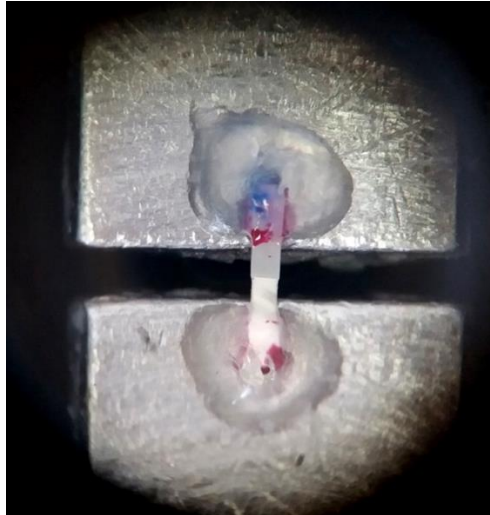


Figura 7: Corpo de prova fixado na matriz de microtração.



Figura 8: Matriz utilizada para o teste de microtração.

2.2.5 Análise dos tipos de falha

Após o teste de microtração, a porção correspondente à dentina de todos os corpos de prova foi visualizada em microscópio eletrônico de varredura MEV-FEG (Inspect F50, FEI – República Checa) para determinar o tipo de falha ocorrido. A extremidade dos corpos de prova foi fixada lado a lado em *stubs* com a interface de fratura voltada para cima, metalizada com ouro

(Figura 9) (Q 150 R ES, Quorum – Reino Unido) para observação no FEG com aumento de cerca de 250, 2000 e 5000 vezes. Os padrões de falha foram classificados em cinco tipos: a) adesiva (fratura entre o adesivo e a dentina); b) interfacial (adesiva e coesiva em adesivo); c) coesiva em dentina (ruptura da dentina); d) coesiva em resina composta (ruptura na resina composta); e) mista (associação dos tipos de falhas).

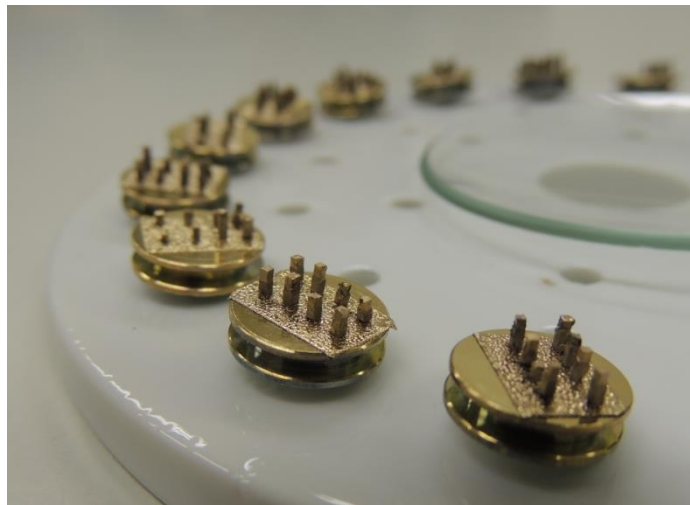


Figura 9: Palitos posicionados nos *stubs* metalizados com ouro.

2.2.6 Análise estatística

Os valores obtidos no teste de microtração foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk. Sendo constatada normalidade nos dados empregou-se a análise de variância (ANOVA) de duas vias (sistema adesivo x modo de armazenamento) e o teste de Tukey. O nível de significância foi de 5%.

3. Resultados

De acordo com o teste ANOVA de duas vias, o fator sistema adesivo ($p=0,0001$), o fator tempo ($p=0,0001$) e a interação entre os fatores ($p=0,0001$) foi significativa.

No período de 24 h, não houve diferença estatística significativa na resistência à microtração entre os sistemas adesivos ($p>0,05$) (Tabela 4).

Na avaliação após 4 ciclos de pH houve diferença estatística entre os sistemas adesivos. O Single Bond Universal na versão *total-etch* apresentou a maior média de resistência de união (25 MPa), não diferindo estatisticamente do Scotchbond Multi Purpose (22 MPa). O Scotchbond Multi Purpose também não diferiu estatisticamente do Clearfil SE Bond (21 MPa) e do Single Bond Universal na versão *self-etch* (19 MPa).

Na avaliação após 6 meses de armazenamento em saliva artificial, houve diferença estatística entre os sistemas adesivos utilizados. Nesta análise, o maior valor de resistência de união foi obtido no Scotchbond Multi Purpose (25 MPa), não diferindo estatisticamente do Single Bond Universal *total-etch* (23 MPa). O Single Bond Universal não diferiu estatisticamente na versão *total-etch* e *self-etch* (22 MPa). O menor valor obtido foi para o Clearfil Se Bond (18 MPa), diferindo estatisticamente dos demais grupos.

Para todos os sistemas adesivos, a resistência de união em 24 h foi estatisticamente superior em relação aos 4 ciclos de pH e armazenamento por 6 meses. Os sistemas adesivos Single Bond Universal *total-etch*, Single Bond Universal *self-etch* e Scotchbond Multi Purpose não tiveram diferença estatística na comparação de 4 ciclos de pH e 6 meses em saliva artificial. O

Clearfil SE Bond foi o único sistema adesivo em que o valor de resistência de união após 4 ciclos de pH (21 MPa) foi estatisticamente superior em relação ao armazenamento em saliva artificial por 6 meses (18 MPa) (Tabela 4).

Tabela 4 – Médias de resistência à microtração (MPa) dos grupos e desvios-padrão nos tempos de 24 h, 4 ciclos de pH e 6 meses de armazenamento.

	Média (MPa) 24 h	Média (MPa) 4 ciclos de pH	Média (MPa) 6 meses
Single Bond Universal <i>total-etch</i>	39 ^{Aa} (±10,82)	25 ^{Ab} (±5,28)	23 ^{ABb} (±5,42)
Single Bond Universal <i>self-etch</i>	31 ^{Aa} (±13,76)	19 ^{Bb} (±4,65)	22 ^{Bb} (±4,25)
Scotchbond Multi Purpose	34 ^{Aa} (±14,44)	22 ^{ABb} (±6,49)	25 ^{Ab} (±5,06)
Clearfil SE Bond	35 ^{Aa} (±11,16)	21 ^{Bb} (±4,18)	18 ^{Cc} (±2,87)

* Médias seguidas de mesma letra maiúscula nas colunas e mesma letra minúscula nas linhas não apresentam diferença estatística significativa entre si para o teste de Tukey ao nível de significância de 5%.

Em relação à análise do tipo de falhas, observa-se um padrão múltiplo de falhas em todos os grupos. Na avaliação 24 h houve predomínio, em todos os grupos, de falhas mistas. Nenhum grupo experimental apresentou falhas do tipo coesiva em dentina e os grupos Single Bond Universal *self-etch* (6 meses em saliva), Scotchbond Multi Purpose (4 ciclos de pH) e Clearfil SE Bond (6

meses em saliva) não apresentaram falha do tipo coesiva em resina composta. O Clearfil SE Bond, após 6 meses em saliva artificial, apresentou um predomínio de falhas do tipo adesiva, enquanto que os outros grupos, sob o mesmo modo de armazenamento, apresentaram no máximo 13% deste padrão de falha (Tabela 5).

Tabela 5 – Falhas obtidas nos diferentes grupos.

	Single Bond Universal <i>total-etch</i>			Single Bond Universal <i>self-etch</i>			Scotchbond Multi Purpose			Clearfil SE Bond		
	24 h	4 ciclos pH	6 meses saliva	24 h	4 ciclos pH	6 meses saliva	24 h	4 ciclos pH	6 meses saliva	24 h	4 ciclos pH	6 meses saliva
Interfacial	2	2	11	1	8	6	5	5	9	3	6	1
Coesiva RC	2	7	5	1	1	-	-	-	2	1	1	-
Coesiva dentina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Adesiva	-	4	-	-	4	3	-	2	3	-	9	19
Mista	16	12	10	18	11	15	15	16	9	16	7	3
Interfacial + coesiva RC	9	9	6	8	7	8	8	10	7	6	2	1
Coesiva adesivo + Coesiva RC	7	3	4	10	4	7	7	6	2	10	5	2
Nº interface/grupo	20	25	26	20	24	24	20	23	23	20	23	23

As figuras 10 a 13 exemplificam alguns dos padrões de falha observados no estudo.

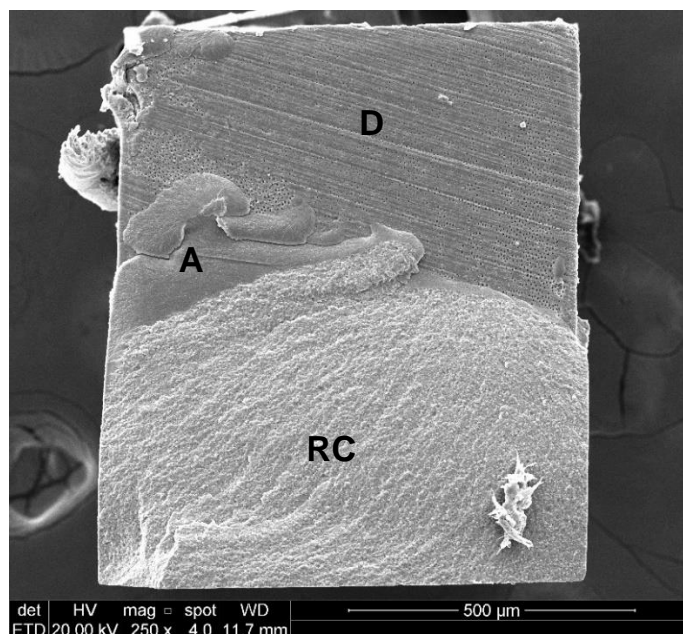


Figura 10: Fotomicrografia do corpo de prova do Scotchbond Universal na versão *total-etch* após 4 ciclos de pH. Fratura mista (interfacial + coesiva em resina composta). RC – resina composta, A – adesivo, D - dentina.

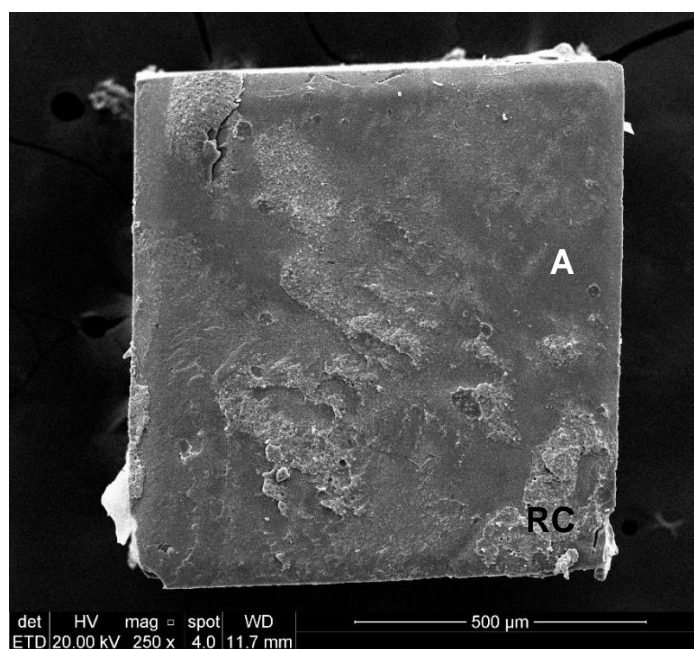


Figura 11: Fotomicrografia do corpo de prova do Scotchbond Universal na versão *self-etch* após 4 ciclos de pH. Fratura mista (coesiva no adesivo + coesiva em RC). RC – resina composta, A – adesivo.

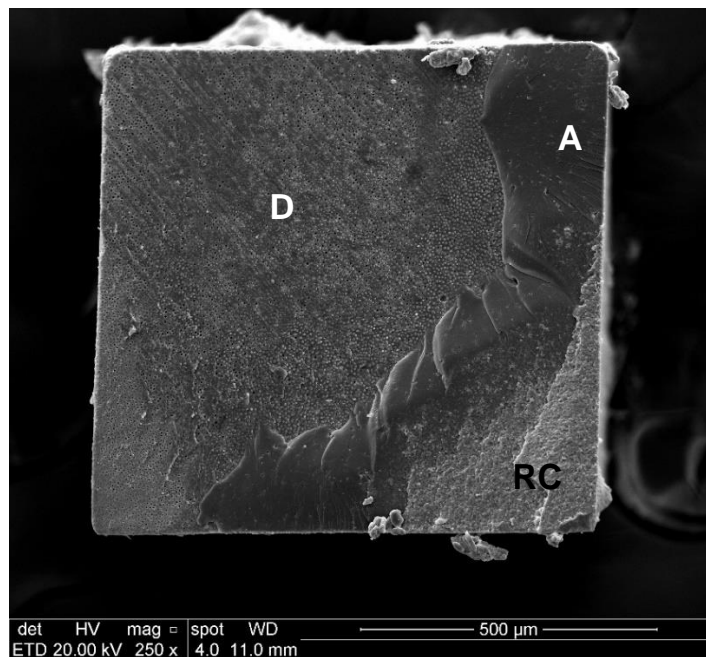


Figura 12: Fotomicrografia do corpo de prova do Scotchbond Multi Purpose após 6 meses em saliva artificial. Fratura mista (interfacial + coesiva em resina composta). RC – resina composta, A – adesivo, D - dentina.

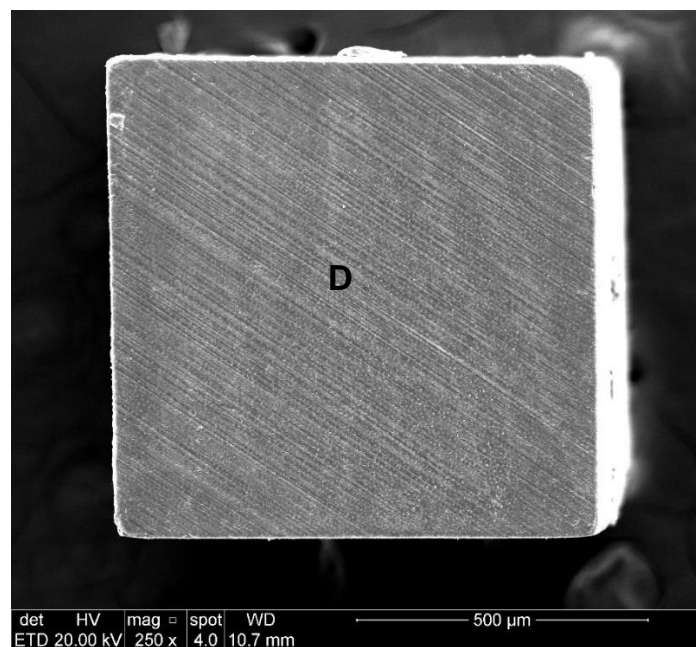


Figura 13: Fotomicrografia do corpo de prova do Clearfil SE Bond após 6 meses em saliva artificial. Fratura adesiva. D – dentina.

4. Discussão

A hipótese proposta foi rejeitada, pois os ciclos de pH apresentaram diferença estatística na resistência à microtração em relação à avaliação de 24 h e, na avaliação aos 6 meses em saliva artificial, somente o Clearfil SE Bond apresentou uma média de resistência menor em relação aos ciclos de pH.

Este trabalho teve como objetivo avaliar a resistência à microtração à dentina de quatro sistemas adesivos armazenados sob diferentes formas. Em condições clínicas, restaurações adesivas são afetadas pela água, saliva, estresse térmico, ataques químicos e forças de mastigação. Esses fatores podem, de maneira individual ou coletiva, causar a fadiga da interface ou da resina composta.¹¹

A interface de união é uma região importante, pois o sucesso dos tratamentos restauradores é baseado no selamento desta interface entre o material restaurador e o substrato dentário.¹² A adequada união previne a penetração de bactérias, fluído oral, infiltração marginal e, assim, evitando a recorrência do processo carioso.¹³ Desta forma, no presente estudo, situações *in vitro* foram representadas por três maneiras, sendo uma de análise imediata e duas abordagens de envelhecimento artificial para prever o possível comportamento da interface adesiva simulando condições clínicas.

Para avaliar a resistência de união da interface, o presente estudo empregou o teste de microtração, o qual é amplamente utilizado na literatura, e introduziu o fator de modo de envelhecimento, com o objetivo de verificar, além da efetividade, a durabilidade da adesão. Durante o período de estocagem, os corpos de prova foram armazenados em forma de palitos, com

o intuito de acelerar o envelhecimento da adesão.^{14,15} Um dos modelos de envelhecimento feito neste estudo condiz com o modelo de ciclos de pH, o qual é composto por períodos de desmineralização e remineralização. A vantagem deste teste é promover a desmineralização na região da interface adesiva, associada ao baixo custo e poucos recursos tecnológicos; porém, como desvantagem pode-se destacar que este método não reproduz, de forma real, todos os fatores associados com o processo cariioso.

Os ciclos de pH simulam condições cariogênicas. Pelo fato de que os dentes foram armazenados na forma de palitos, isso permitiu que as soluções de desmineralização e remineralização ficassem em contato com todos os lados da interface adesiva, dentina e resina composta antes de serem submetidas ao teste de microtração.¹⁶ Pode-se destacar que este íntimo contato das soluções com a interface adesiva resultou em diminuição estatisticamente significativa dos valores de resistência de união para todos os sistemas adesivos. Uma das razões para a diminuição da resistência de união pode ser a desmineralização resultante em torno das restaurações que foi capaz de diminuir a resistência da dentina e, portanto, da interface adesiva, enfraquecendo a ligação entre a dentina e os materiais resinosos.¹⁷ Segundo Pedrosa *et al.*¹⁸ os ciclos de pH podem induzir o enfraquecimento das propriedades mecânicas do sistema adesivo, o que justificaria os menores valores de resistência de união. Isto demonstra que as restaurações estéticas, em que um sistema adesivo é utilizado, seriam sensíveis às alterações de pH que ocorrem na cavidade bucal e que possibilitam, somado a outros fatores, a ocorrência de cárie. Não apenas a estrutura dentária mineralizada pode ser

afetada pelas alterações de pH, havendo a perda de minerais, mas também a interface adesiva, havendo a redução da resistência de união.

O armazenamento em saliva artificial por 6 meses também reduziu a resistência de união para todos os sistemas adesivos em comparação com os valores imediatos. Isto demonstra que a degradação hidrolítica ocorre nos sistemas adesivos e que está relacionada com a absorção de água pelos monômeros hidrofílicos, pela contração de polimerização do adesivo ou pela incompleta volatilização do solvente do interior da camada híbrida que restringiu a conversão dos monômeros resinosos em polímeros.¹⁹ Segundo Göpferich,²⁰ a umidade presente no meio oral ou no armazenamento de amostras tem um papel importante no processo de degradação química dos polímeros, apresentando um efeito deletério para a interface de união.

Os sistemas adesivos aplicados de maneira *total-etch* neste estudo permaneceram, de maneira geral, com os maiores valores de resistência de união após as diferentes formas de armazenamento. Segundo De Munck *et al*,²¹ a aplicação do adesivo em três passos (ácido, *primer* e adesivo) favorece a copolimerização do *primer* e a menor hidrofília da resina polimerizada podendo assim resultar em uma melhor hibridização e menor susceptibilidade à degradação hidrolítica. Neste estudo o sistema adesivo de três passos utilizado foi o Scotchbond Multi Purpose e, segundo De Munck *et al*,²² esta é a técnica mais eficiente para se produzir uma união estável e que qualquer simplificação (para dois passos), resultaria em diminuição da resistência de união. Segundo os mesmos autores, só poderiam ser encontrados valores semelhantes de união com sistemas adesivos autocondicionantes de dois passos.

Em relação ao Single Bond Universal, este apresenta na sua formulação o monômero 10-MDP que proporciona acidez ao adesivo e, conseqüentemente, capacidade de condicionamento da superfície dentária. A presença deste monômero ácido torna o adesivo *self-etch*, porém o mesmo também pode ser aplicado sobre a dentina após o condicionamento com ácido fosfórico a 37%, conforme instruções do fabricante. Por mais que a utilização *self-etch* seja uma preferência para a dentina, a utilização deste sistema adesivo na versão *total-etch* ou *self-etch* fica a cargo da escolha do profissional. Além disso, este monômero é considerado um dos mais efetivos em relação à interação química e durabilidade, pois tem a capacidade de se unir quimicamente à hidroxiapatita.²³ No entanto, mesmo com a presença deste monômero, observou-se, tanto na versão *total-etch* quando na *self-etch*, diminuição estatisticamente significativa dos valores de resistência de união quando comparado à resistência imediata.

O Clearfil SE Bond é considerado padrão ouro *self-etch*, e apresenta maior quantidade do monômero 10-MDP na sua composição quando comparado com o Single Bond Universal.²⁴ Na avaliação após 6 meses em saliva artificial observou-se uma diminuição estatisticamente significativa do Clearfil SE Bond em relação aos demais sistemas adesivos. Uma das razões para os maiores valores de resistência de união do Single Bond Universal pode ser a presença de copolímeros do ácido polialcenóico, o qual também se une quimicamente ao cálcio da hidroxiapatita.²⁵ Mais de 50% dos grupos carboxílicos do copolímero do ácido polialcenóico são capazes de se unirem à hidroxiapatita, os quais substituem os íons fosfato no substrato dentário e fazem união iônica com o cálcio.²⁶

A avaliação dos padrões de falha analisados em MEV-FEG mostrou predominância de falhas do tipo mistas, exceto para o Clearfil SE Bond o qual apresentou um alto número de falhas do tipo adesiva, sendo de 39% após os ciclos de pH e de mais de 80% após 6 meses em saliva artificial. Segundo Pedrosa *et al.*,¹⁸ os ciclos de pH podem ter induzido o enfraquecimento das propriedades mecânicas do sistema adesivo, justificando a porcentagem de 39% após este modo de armazenamento. Para os sistemas adesivos que tiveram falhas predominantemente do tipo interfacial ou adesiva, acredita-se que alterações dentro da camada híbrida podem ter ocorrido.²⁷

Neste estudo, o tipo de substrato usado (dente humano), o modelo de ciclos de pH e o armazenamento em saliva artificial podem ter influenciado os resultados e devem ser investigados ainda mais em futuras pesquisas, pois os estudos *in vitro* não podem ser os únicos testes feitos para a comprovação de desempenho dos materiais a longo prazo.²⁸ Mesmo com as limitações destes modelos *in vitro*, sabe-se que estes são essenciais para obter informações básicas sobre fatores que podem desempenhar um papel prejudicial no processo de degradação da interface de união.

5. Conclusão

Com base nos resultados encontrados pode-se concluir que os ciclos de pH e o armazenamento em saliva artificial por 6 meses, quando comparados à microtração imediata, foram prejudiciais à estabilidade da interface de união.

6. Referências bibliográficas

1. Breschi L, Mazzoni A, Ruggeri A, *et al.* Dental adhesion review: aging and stability of the bonded interface. *Dent Mat* 2008;24:90–101.
2. Liu Y, Tjaderhane L, Breschi L, *et al.* Limitations in bonding to dentin and experimental strategies to prevent bond degradation. *J Dent Res* 2011;90:953–968.
3. Manhart J, Chen H, Hamm G, Hickel R. Buonocore Memorial Lecture. Review of the clinical survival of direct and indirect restorations in posterior teeth of the permanent dentition. *Oper Dent* 2004;29:481-508.
4. Fejerskov O. Concept of dental caries and their consequences for understanding the disease. *Community Dent Oral Epidemiol* 1997;25:5–12.
5. Nikaido T, Kunzelmann KH, Chen H, *et al.* Evaluation of thermal cycling and mechanical loading on bond strength of a self-etching primer system to dentin. *Dent Mat* 2002;18:269–275.
6. Tem Cate JM. In vitro studies on the effect of fluoride on De- and Remineralization. *J Dent Res* 1990;69:614-619
7. Costa AR, Correr-Sobrinho L, Ambrosano GM, *et al.* Dentin bond strength of a fluoride-releasing adhesive system submitted to pH-cycling. *Braz Dent J* 2014;25(6):472-478.
8. Shinohara MS, Yamauti M, Inoue G, *et al.* Evaluation of antibacterial and fluoride-releasing adhesive system on dentin-microtensile bond strength and acid-base challenge. *Dent Mater* 2006;25:545–552.
9. Silva KG, Pedrini D, Delbem ACB, M Cannon. Effect of pH variations in a cycling model on the properties of restorative materials. *Oper Dent* 2007; 32(4):328-335.

10. Peris AR, Mitsui FHO, Lobo MM, *et al.* Adhesive systems and secondary caries formation: Assessment of dentin bond strength, caries lesions depth and fluoride release. *Dent Mat* 2007;23:308-316.
11. Hashimoto M, Tay FR, Ohno H, *et al.* SEM and TEM analysis of water degradation of human dentinal collagen. *J Biomed Mat Res Part B: Applied Biomaterials* 2003;66:287–298.
12. Pashley DH, Carvalho RM. Dentine permeability and dentine adhesion. *J Dent* 1997;25:355-372.
13. Dionysopoulos P, Kotsanos N, Papadogianis Y. Secondary caries formations in vitro around glass ionomer lined amalgam and composite restorations. *J Oral Rehabil* 1996; 23:511-519.
14. Reis A, Grande RHM, Oliveira GMS, *et al.* A 2-year evaluation of moisture on microtensile bond strength and nanoleakage. *Dent Mat* 2007;23:862-870.
15. Van Meerbeek B, Perdigão J, Lambrechts P, Vanherle G. The clinical performance of adhesives. *J Dent* 1998; 26:1-20.
16. Pinto CF, Vermelho PM, Aguiar TR, *et al.* Enamel and dentin bond strength, interfacial ultramorphology and fluoride ion release of self-etching adhesives during a pH-cycling regime. *J Adhes Dent* 2015; 17(1):27-34.
17. Nakajima M, Okuda M, Ogata M, *et al.* The durability of a fluoride-releasing resin adhesive system to dentin. *Oper Dent* 2003;28:186–192.
18. Pedrosa VO, Flório FM, Turssi CP, *et al.* Influence of pH cycling on the microtensile bond strength of self-etching adhesives containing MDPB and fluoride to dentin and microhardness of enamel and dentin adjacent to restorations. *J Adhes Dent* 2012; 14(6):525-534.
19. Sano H, Takatsu T, Ciucchi B, *et al.* Nanoleakage: Leakage within the hybrid layer. *Oper Dent* 1995; 20(1):18-25.

20. Göpferich A. Mechanisms of polymer degradation and erosion. *Biomater* 1996;17(2):103-114.
21. De Munck J, Van Meerbeek B, Yoshida Y, *et al.* Four year water degradation of total-etch adhesives bonded to dentin. *J Dent Res* 2003;82(2):136-140.
22. De Munck J, Van Landuyt K, Peumans M, *et al.* A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results. *J Dent Res* 2005;84(2):118-132.
23. Yoshida Y, Nagakane K, Fukuda R, *et al.* Comparative study on adhesive performance of functional monomers. *J Dent Res* 2004;83: 454-458.
24. Yoshida Y, Yoshihara K, Nagaoka N, *et al.* Self-assembled nano-layering at the adhesive interface. *J Dent Res* 2012;91:376-381.
25. Mitra SB, Lee, CY, Bui HT, *et al.* Long-term adhesion and mechanism of bonding of a paste-liquid resin-modified glass-ionomer. *Dent Mat* 2009; 25:459-466.
26. Lin A, McIntyre NS, Davidson RD. Studies on the adhesion of glass-ionomer cements to dentin. *J Dent Res* 1992;71:1836–1841.
27. Marchi GM, Bedran-russo AKB, Lobo M, *et al.* Adhesive systems and secondary caries formation: Assessment of dentin bond strength, caries lesions depth and fluoride release. *Dent Mat* 2007;23:308-316.
28. White DJ. The application of in vitro models to research on demineralization and remineralization of the teeth. *Adv Dent Res* 1995;9:175–193.

ARTIGO 2

Efeito dos ciclos de pH na nanoinfiltração de diferentes sistemas adesivos à dentina

Resumo

Objetivo: Verificar a influência dos ciclos de pH na nanoinfiltração da interface dentina-adesivo de três sistemas adesivos em comparação com a nanoinfiltração imediata e após armazenamento em saliva artificial por 6 meses. **Materiais e métodos:** A superfície oclusal de 24 dentes terceiros molares hígidos foi removida para obter superfície plana em dentina, sendo divididos aleatoriamente em quatro grupos (n=6/grupo): G1 –Single Bond Universal na versão *total-etch*; G2 – Single Bond Universal na versão *self-etch*; G3 – Scotchbond Multi Purpose (controle da versão *total-etch*); G4 – Clearfil SE Bond (controle da versão *self-etch*). Sobre o sistema adesivo foi confeccionado um bloco de 6 mm de altura em resina composta. Após 24 h de armazenagem em água destilada a 37°C, os conjuntos dente/resina foram cortados paralelamente no longo eixo do dente, resultando em fatias, com espessura de aproximadamente 1,0 mm. Três fatias da região central de cada dente foram obtidas, sendo uma fatia submetida aos ciclos de pH, e uma fatia armazenada em saliva artificial por 6 meses. Na sequência foi aplicada a metodologia de nanoinfiltração. Imagens das interfaces dentina-adesivo foram obtidas por meio de microscopia eletrônica de varredura (2000x), sendo as imagens analisadas no programa *ImageJ* para avaliar a porcentagem de área de nanoinfiltração (%N). **Resultados:** De acordo com o teste ANOVA de duas vias, a interação dos fatores (sistema adesivo x armazenamento) foi significativa (p=0,0001). Não houve diferença estatística na %N entre os sistemas adesivos na avaliação em 24 h. Após os ciclos de pH os sistemas adesivos aplicados de maneira *self-etch* obtiveram menor %N, diferindo estatisticamente dos adesivos *total-etch*. Após 6 meses em saliva artificial, houve menor %N comparado aos ciclos de pH, e as menores %N ocorreram nos adesivos *self-etch*. **Conclusão:** Os ciclos de pH causaram maior nanoinfiltração do que o armazenamento em saliva artificial por 6 meses. Os sistemas adesivos aplicados de maneira *self-etch* tiveram menor nanoinfiltração após os ciclos de pH e armazenamento em saliva artificial por 6 meses em relação aos sistemas adesivos *total-etch*.

Palavras-chave: ciclos de pH, dentina, nanoinfiltração, sistemas adesivos

Abstract:

Purpose: To verify the influence of the pH cycles on the nanoleakage in the dentin-adhesive interface of three adhesive systems compared to the immediate nanoleakage and after storage in artificial saliva for 6 months.

Materials and methods: The occlusal surface of 24 sound third molar teeth was removed to obtain a flat dentin surface. The teeth were randomly divided into four groups (n=6/group): G1 – Single Bond Universal in the total-etch mode; G2 – Single Bond Universal in the self-etch mode; G3 – Scotchbond Multi Purpose (total-etch mode control); G4 – Clearfil SE Bond (self-etch mode control). A block of composite with 6 mm height was built on the adhesive area. After 24 h of storage in distilled water at 37°C, the tooth/resin sets were cut parallel to the long axis of the tooth to obtain slices with a thickness of approximately 1.0 mm. Three slices of the central region of each tooth were obtained. One slice was submitted to pH cycles, and one slice was stored in artificial saliva for 6 months. The nanoleakage methodology was applied. Images of the dentin-adhesive interfaces were obtained by scanning electron microscopy (2000x), and the images were analyzed in the ImageJ program to evaluate the percentage of nanoleakage area (%N). **Results:** According to the two-way ANOVA test, the interaction between the factors (adhesive system x storage) ($p=0.0001$) was significant. There was no significant difference in the %N between the adhesive systems at 24 h. After the pH cycles, the adhesive systems applied in the self-etch mode obtained lower %N, differing significantly from total-etch adhesives. After 6 months in artificial saliva, there was lower %N compared to pH cycles, and the lowest %N occurred in self-etch adhesives. **Conclusion:** The pH cycles caused higher nanoleakage than storage in artificial saliva for 6 months. The self-etch adhesive systems had lower nanoleakage after pH cycles and storage in artificial saliva for 6 months in relation to total-etch adhesive systems.

Key-words: pH cycles, dentin, nanoleakage, adhesive systems

1. Introdução

O objetivo final da odontologia adesiva é fornecer uma aplicação adesiva simples e rápida com união durável ao esmalte e dentina.¹

Pesquisas têm sido feitas para que os sistemas adesivos apresentem uma redução no número de passos e, conseqüentemente, no grau de sensibilidade técnica.² Contudo, essa simplificação não tem melhorado a efetividade da adesão à dentina ao longo do tempo.³

É consenso na literatura que a interface adesiva deteriora-se com o tempo, sendo tal degradação uma das maiores razões para a limitação da longevidade das restaurações adesivas.⁴ A degradação das fibras colágenas expostas e não infiltradas pelo adesivo tem sido mais frequentemente associada ao uso dos sistemas adesivos *total-etch*, visto que o condicionamento ácido da dentina é considerado uma das principais razões para a degradação desta interface,⁵ uma vez que a incompleta infiltração da resina pode deixar as fibras colágenas expostas a um ambiente desfavorável, aumentando, assim, a degradação hidrolítica do colágeno pelo contato com os fluídos orais.³

Já com os sistemas *self-etch* esse tipo de degradação também pode ocorrer,⁶ porém em menor frequência devido à homogeneidade entre o potencial de desmineralização da dentina e a infiltração do adesivo, que causaria a menor exposição de colágeno não infiltrado abaixo da camada híbrida.^{7,8}

Além disso, características físicas e químicas relacionadas à cavidade bucal (tal como períodos de desmineralização e remineralização) podem influenciar as propriedades dos materiais restauradores.⁹ O modelo *in vitro* de ciclos de pH tem sido utilizado com sucesso para avaliação de mudanças cariogênicas e conseqüentemente para a efetividade da união entre substrato dentário e material restaurador.¹⁰

A nanoinfiltração é definida como a infiltração em escala nanométrica, a qual pode ocorrer no interior da camada híbrida e/ou na camada adesiva, mesmo na ausência de *gaps*.¹¹ Este fenômeno tem sido amplamente evidenciado como sendo um fator importante que leva a degradação da união ao tecido dental.

A avaliação da nanoinfiltração, por intermédio da observação da penetração de prata na interface adesiva, propicia boa visualização dos defeitos na camada híbrida ou nas camadas de adesivo¹² ajudando a prever a longevidade da adesão. Muitas pesquisas têm avaliado a adesão, por intermédio da nanoinfiltração,^{12,13,14} porém até o momento da realização desta pesquisa não haviam trabalhos com o enfoque na avaliação imediata, nos ciclos de pH e no armazenamento em 6 meses em saliva artificial para então avaliar a nanoinfiltração.

Portanto, a pesquisa objetivou responder a seguinte pergunta: os ciclos de pH influenciam na nanoinfiltração dos sistemas adesivos Clearfil SE Bond, Single Bond Universal (versão *total-etch* e *self-etch*) e Scotchbond Multi Purpose quando comparados a avaliação imediata e ao armazenamento em saliva artificial pelo período de 6 meses?

Este estudo foi conduzido sob a hipótese de que os ciclos de pH não têm diferença estatística na nanoinfiltração dos sistemas adesivos à dentina quando comparados à avaliação imediata e o armazenamento em 6 meses em saliva artificial.

2. Metodologia

2.1 Materiais

Os materiais utilizados no presente estudo estão listados abaixo na Tabela 1.

Tabela1 - Materiais empregados no estudo.

Produto	Descrição	Lote	Composição Química	Fabricante
Scotchbond Multi Purpose	Sistema adesivo	<i>Primer:</i> 1511700492 <i>Adesivo:</i> 1512800186	Ácido: ácido fosfórico a 37% <i>Primer:</i> HEMA, Ácido Polialcenóico, Água <i>Adesivo:</i> Bis-GMA, HEMA e Amina Terciária	3M/ESPE, St. Paul, MN, EUA
Clearfil SE Bond	Sistema adesivo	<i>Primer:</i> 670203 <i>Adesivo:</i> 6L0328	<i>Primer:</i> MDP, HEMA, di-canforoquinona, dimetacrilato hidrofílico, água <i>Adesivo:</i> MDP, Bis-GMA, HEMA, di-canforoquinona, metacrilato hidrofóbico	Kuraray, Kurashiki, Okayama, Japão
Single Bond Universal	Sistema adesivo	1529300633	Copolímero do Vitrebond, HEMA, Bis-GMA, MDP, silano, água, etanol	3M/ESPE, St. Paul MN, EUA
<i>Ultra-etch</i>	Ácido fosfórico	D013H D018K	Ácido fosfórico 35%, espessante, corante	Ultradent Products Inc. – South Jordan, EUA
Filtek Z350 XT cor A2B	Compósito nanoparticulado	1524400749 (6 bisnagas)	Cerâmica silanizada, sílica, UDMA, BisGMA, Bisfenol A, TEGDMA, polietilenoglicoldimetacrilato	3M/ESPE, St. Paul, MN, EUA
Solução de remineralização*/saliva artificial (pH=7)	Solução laboratorial	Ca(NO ₃) ₂ : 1020660250 – Merck P: 1049361000 – Merck TRIS: SYT102701A G – Synth KCl: 1049361000 - Merck	1,5 mM Ca, 0,9 mM P, 20 mM de tampão TRIS, 150 mM KCl	Merck Darmstadt, Alemanha Synth Kerry, EUA
Solução de desmineralização* (pH=4.3)	Solução laboratorial	Ca(NO ₃) ₂ : 1020660250 – Merck P: 1049361000 – Merck Tampão de acetato: 1000631000 - Merck	2 mM Ca, 2 mM P, 75 mM de tampão de acetato	Merck Darmstadt, Alemanha
Nitrato de prata**	Solução laboratorial	-	Nitrato de prata	Solução Laboratorial - PUCRS

* Soluções foram preparadas segundo Silva *et al.*¹⁵

** Solução foi preparada segundo Tay *et al.*¹²

2.2 Método

2.2.1 Obtenção dos dentes

Para o presente estudo foram utilizados 24 dentes terceiros molares humanos hígidos inclusos, extraídos por razões terapêuticas, e obtidos por meio do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para Doação de Dentes. O estudo iniciou após aprovação do CEP-PUCRS (CAAE 53587216.0.0000.5336). Os dentes foram limpos com curetas periodontais, desinfetados em cloramina a 0,5% por 24 h e armazenados em água destilada à 4°C por um período máximo de 6 meses, sendo a água trocada semanalmente.

2.2.2 Confeção dos corpos de prova

Durante o tempo de armazenamento, os dentes foram incluídos em resina acrílica quimicamente ativada Jet (Clássico, São Paulo, SP, Brasil) com auxílio de uma matriz cilíndrica de tal forma que a coroa do dente ficou exposta e a superfície oclusal paralela à base da resina acrílica. A superfície oclusal de esmalte foi removida com disco diamantado de dupla face montado em uma máquina de corte (Labcut 1010 – Exttec, Londres, Inglaterra), sob refrigeração à água, expondo uma superfície plana de dentina oclusal. Após, as áreas de dentina foram regularizadas em uma politriz (Panambra, São Paulo, SP, Brasil) com lixas de carvão de silício de granulação 400 e 600.

Os dentes foram divididos aleatoriamente em quatro grupos com seis dentes cada. Previamente a aplicação dos materiais específicos de cada grupo,

os dentes foram retirados da água destilada e, com jato de ar, foi removido o excesso de umidade presente em cada dente.

Grupo 1 – Single Bond Universal com aplicação prévia de ácido fosfórico: realizou-se o condicionamento da superfície dentinária com ácido fosfórico 37% por 15 s, seguido de lavagem com *spray* de água por 30 s e remoção do excesso de água com papel absorvente. O adesivo foi aplicado na dentina com *microbrush*, sendo esfregado por 20 s, seguido de leve jato de ar por 5 s e fotoativação por 10 s, conforme instruções do fabricante.

Grupo 2 – Single Bond Universal na versão autocondicionante: aplicou-se o adesivo com *microbrush* na dentina seca, sendo esfregado por 20 s, seguido de leve jato de ar por 5 s e fotoativação por 10 s, conforme instruções do fabricante.

Grupo 3 – Scotchbond Multi Purpose: Inicialmente realizou-se o condicionamento da superfície dentinária com ácido fosfórico 37% por 15 s, seguido de lavagem com *spray* de água por 30 s e remoção do excesso de água com papel absorvente. O *primer* foi aplicado, seguido de leve jato de ar por 5 s. Posteriormente aplicou-se o adesivo, seguido de fotoativação por 10 s, conforme instruções do fabricante.

Grupo 4 – Clearfil SE Bond: Uma camada do *primer* autocondicionante foi aplicada com *microbrush* na superfície dentinária seca, sendo esfregado por 20 s e seguido de leve jato de ar por 5 s. Após, o adesivo foi aplicado e fotoativado por 10 s, conforme instruções do fabricante.

Sobre os sistemas adesivos construiu-se um bloco de resina composta Filtek Z350 XT, cor A2B, de aproximadamente 6 mm de altura. Esse bloco foi

confeccionado em incrementos de aproximadamente 2 mm cada, sendo cada incremento fotoativado por 20 s. A intensidade de luz do aparelho fotopolimerizador LED Radium-cal (SDI, Vic., Austrália) foi monitorada com radiômetro (modelo 100, Demetron Inc, Saint Louis, MN, Estados Unidos da América), e permaneceu na intensidade de luz de 1200 mW/cm².

Os conjuntos dente/bloco de resina composta ficaram armazenados em água destilada por 24 h a 37°C em estufa de cultura FANEM. Posteriormente foi realizado cortes no sentido do longo eixo do dente a fim de se obter fatias de 1 mm de espessura. Os cortes foram realizados em uma máquina de corte Labcut 1010 com um disco diamantado de dupla face em uma velocidade de 500 rpm sob refrigeração com água. Dessa forma foram obtidas três fatias centrais de cada dente, sendo uma para avaliação 24 h da nanoinfiltração, uma para a avaliação da nanoinfiltração após os ciclos de pH e a outra para avaliação da nanoinfiltração após armazenamento em saliva artificial durante 6 meses.

2.2.3 Procedimentos para avaliação da nanoinfiltração

Após o corte das fatias procedeu-se com a perfuração na região de topo da resina composta, com ponta diamantada (KG 1010), a fim de permitir a passagem de um fio dental e a estabilização destas de pé (Figura 1). Na sequência, aplicou-se duas camadas de esmalte de unha, deixando 1 mm abaixo e 1 mm acima da interface adesiva expostas (Figura 2) e então foi feita a divisão das fatias entre os modos de envelhecimento (24 h, ciclos de pH ou

armazenamento em saliva artificial durante 6 meses). O preparo das soluções está descrito no tópico 2.2.4.



Figura 1: Perfuração da região de topo da resina composta com ponta diamantada 1010.

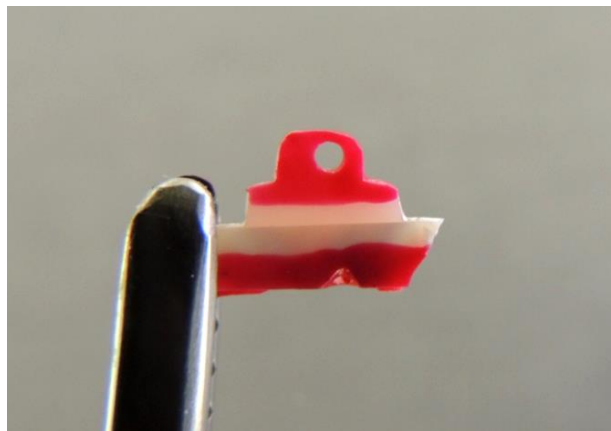


Figura 2: Duas camadas de esmalte aplicados 1 mm abaixo e acima da região da interface.

2.2.4 Preparo das soluções de desmineralização e remineralização

As soluções de desmineralização e remineralização foram preparadas conforme protocolo descrito por Silva *et al.*¹⁵ A quantidade de solução e o

número de ciclos seguiu o protocolo de Peris *et al.*¹⁶ Para a solução de desmineralização foi preciso utilizar 6.25 ml para cada mm² de dentina exposta e para a solução de remineralização utilizou-se 3,125 ml para cada mm² de área exposta. As soluções foram preparadas semanalmente, conforme a quantidade requerida para os ciclos de pH ou para o armazenamento em saliva artificial.

Inicialmente, cada reagente foi pesado separadamente em uma balança semi-analítica (Bel, Mark 2200, EUA). Para o preparo da solução de desmineralização dissolveu-se em água deionizada Ca(NO₃)₂ 4H₂O (2,0 mM), e na sequência ácido acético glacial (75 mM) e NaH₂PO₄ H₂O (2,0 mM). O pH da solução foi monitorado com um pHmetro digital (827 pH lab, Metrohm, Suíça). O pH inicial da solução foi de 2,87, o qual foi ajustado para 4,7 utilizando-se uma solução de NaOH 4M. E para a solução de remineralização dissolveu-se em água deionizada Ca(NO₃)₂ 4H₂O (1,5 mM), KCl (150mM), NaH₂PO₄ H₂O (0,9 mM) e TRIS (20mM). O pH inicial da solução foi de 9,34, e foi ajustado para 7,0 utilizando-se HCl 3M. A sequência da mistura dos reagentes para a solução de desmineralização e remineralização está descrita na Tabela 2 e 3, respectivamente.

Tabela 2 - Solução Desmineralizadora.

Componentes	Solução 1 L	Solução 2 L	Solução 5 L
H ₂ O dest/deion.	± 750 mL	± 1750 mL	± 4250 mL
Ca(NO ₃) ₂ . 4H ₂ O (2,0 mM)	0,4723 g	0,9446 g	2,3615 g
Ácido acético glacial (75 mM)	4,30 mL	8,60 mL	21,50 mL
NaH ₂ PO ₄ . H ₂ O (2,0 mM)	0,2760 g	0,5520 g	1,3800 g
*pH = 2,87 – Ajustar o pH para 4,7 com NaOH 4 M			
H ₂ O dest/deion. q.s.p.	1000 mL	2000 mL	5000 mL

*NaOH 4 M - dissolver 160 g de NaOH com cerca de 800 mL de água deionizada e aferir até 1000 mL em balão volumétrico. Para outros volumes basta manter a proporção. 1 M (molar) = 1 mol/L ou 1 mol.L⁻¹. Para a preparação da solução de desmineralização é importante a colocação dos reagentes na sequência indicada.

Tabela 3 - Solução Remineralizadora.

Componentes	Solução 1 L	Solução 2 L	Solução 5L
H ₂ O dest/deion.	± 750 mL	± 1750 mL	± 4250 mL
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O (1,5 mM)	0,3542 g	0,7084 g	1,7710 g
KCl (150 mM)	11,182 g	22,364 g	55,910 g
NaH ₂ PO ₄ . H ₂ O (0.9 mM)	0,1242 g	0,2484 g	0,6210 g
TRIS (20 mM)	2,24 g	4,48 g	11,20 g
*pH = 9,34 - Ajustar o pH para 7,0 com HCl 3 M			
H ₂ O dest/deion. q.s.p.	1000 mL	2000 mL	5000 mL

*HCl 3 M - adicionar 250 mL de HCl conc. (12 M) sobre cerca de 600 mL de água deionizada e aferir até 1000 mL em balão volumétrico. Para outros volumes basta manter a proporção. 1 M (molar) = 1 mol/L ou 1 mol.L⁻¹. Para a preparação da solução de remineralização é importante a colocação dos reagentes na sequência indicada.

Passada a etapa da solução de armazenamento, as fatias foram aproximadas com o fio dental (Figura 3), re-hidratadas em água deionizada por 10 min e então imersas em solução de nitrato de prata por 24 h, sendo protegidas da luz. A solução de nitrato de prata foi preparada conforme descrito por Tay *et al.*¹²

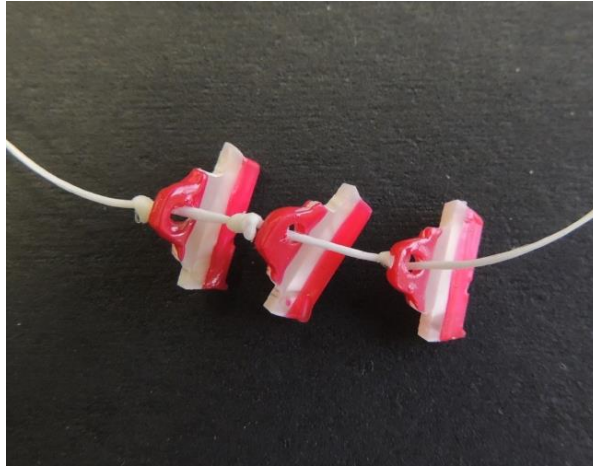


Figura 3: Aproximação das fatias com fio dental.

Após 24 h, cada fatia foi lavada em água destilada e, em seguida, colocada em solução reveladora Kodak sob luz fluorescente por 24 h, a fim de permitir a redução de íons de prata para grânulos de prata. Transcorrido esse tempo, as fatias foram lavadas em água destilada e o esmalte de unha foi removido com auxílio de lixa d'água de granulação 600 (Figura 4).



Figura 4: Fatia após remoção do esmalte com auxílio de lixa d'água.

Após a remoção do esmalte, as fatias foram submersas em glutaraldeído a 2,5% a fim de fixar a dentina. Posteriormente foi feita a lavagem com água destilada durante 1 min, seguido pelas etapas de desidratação com concentração ascendente de etanol (25% por 15 min, 50% por 15 min, 75% por 15 min, 95% por 30 min e 100% por 60 min). Na sequência foi realizada lavagem com 50% HMDS e 50% de álcool 100% durante 5 min (em capela) e então com HMDS 100% por 10 min (em capela). As fatias secaram durante a noite.

Para a inclusão das fatias em resina epóxi, primeiramente adaptou-se uma tira de fita dupla face sobre uma placa de acrílico e então, sobre esta se adaptou uma matriz de PVC de aproximadamente 1 cm (Figura 5). Em contato com a fita dupla face colocou-se a fatia e então se procedeu com a inclusão da resina epóxi.



Figura 5: Matriz de PVC adaptado sobre a fita dupla face.

Após inclusão da resina epóxi, procedeu-se com as etapas de acabamento e polimento das amostras. Primeiramente utilizou-se lixa de carbeto de silício de granulação 240, a fim de remover resíduos da fita dupla face. Na sequência, utilizou-se lixas de granulação decrescente (400, 600,

800 e 1200), cada uma durante 1 min (Figura 6). Entre cada lixa realizou-se lavagem com água destilada. Para o polimento (Figura 7) utilizou-se discos de feltro e pasta diamantada (Metadi II – Buehler, EUA) com 6, 3, 1 e $\frac{1}{4}$ μm de granulação, respectivamente. Entre cada granulação da pasta diamantada, as secções foram submetidas à limpeza em água destilada em ultrassom durante 10 min e a lavagem final de 20 min. Posteriormente as fatias foram desmineralizadas com ácido clorídrico (HCl) a 6N por 1 min, lavadas em água corrente, e desproteinizadas em hipoclorito de sódio (NaOCl) a 2% por 10 min, seguido de lavagem em água. As fatias secaram em estufa durante 24 h seguido de metalização com ouro para observação em MEV-FEG (Inspect F50, FEI – República Checa) no modo retroespalhado. Três imagens igualmente espaçadas e da mesma magnificação foram obtidas para cada fatia.



Figura 6: Amostra sobre lixa de granulação 1200 e água.



Figura 7: Aspecto das fatias após término do polimento.

A fotomicrografia com 2.000x de aumento de cada região foi analisada por meio do programa *ImageJ*, para quantificar a porcentagem da área infiltrada. Esta foi calculada com base no contraste e brilho de cada pixel na imagem de 2000x gerada pelo MEV-FEG.

2.2.5 Análise estatística

Os valores obtidos através do programa *ImageJ*, para quantificar a porcentagem de prata infiltrada foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk. Sendo constatada normalidade nos dados empregou-se a análise de variância (ANOVA) de duas vias (sistema adesivo x modo de armazenamento) e o teste de Bonferroni. O nível de significância foi de 5%.

3. Resultados

De acordo com o teste ANOVA de duas vias, houve significância para o fator sistema adesivo ($p=0,0001$) e para o fator armazenamento ($p=0,0001$). Houve significância também para a interação dos fatores ($p=0,0001$).

Na avaliação de 24 h, não houve diferença estatística na nanoinfiltração entre os sistemas adesivos ($p>0,05$). No entanto, na avaliação após 4 ciclos de pH, houve diferença estatística entre os adesivos. O Single Bond Universal *total-etch* (11,27%) obteve a maior nanoinfiltração, diferindo estatisticamente dos demais grupos. O Scotchbond Multi Purpose (8,62%) obteve a segunda maior nanoinfiltração, diferindo estatisticamente do Clearfil SE Bond (7,21%) e do Single Bond Universal *self-etch* (6,49%), os quais não diferiram estatisticamente entre si.

Na avaliação após 6 meses em saliva artificial, todos os sistemas adesivos tiveram diferença estatística de nanoinfiltração entre si, sendo o maior valor para o Single Bond Universal *total-etch* (9,80%), seguido pelo Scotchbond Multi Purpose (6,73%), Single Bond Universal *self-etch* (4,63) e o Clearfil SE Bond (3,56%).

Todos os sistemas adesivos apresentaram diferença estatística entre os armazenamentos de 24 h, 4 ciclos de pH e 6 meses de armazenamento em saliva. As maiores porcentagens de nanoinfiltração ocorreram após 4 ciclos de pH, seguido pelo armazenamento em saliva artificial durante 6 meses e, por último, após 24 h (Tabela 4).

Tabela 4 – Médias, em porcentagem, da nanoinfiltração dos grupos nos tempos de 24 h, 4 ciclos de pH e 6 meses de armazenamento em saliva artificial.

Grupo	24 h (%)	4 ciclos de pH (%)	6 meses (%)
G1 -Single Bond Universal <i>total-etch</i>	1,68 ^{Ac}	11,27 ^{Aa}	9,80 ^{Ab}
G2 – Single Bond Universal <i>self-etch</i>	1,41 ^{Ac}	6,49 ^{Ca}	4,63 ^{Cb}
G3 – Scotchbond Multi Purpose	2,41 ^{Ac}	8,62 ^{Ba}	6,73 ^{Bb}
G4 – Clearfil SE Bond	1,15 ^{Ac}	7,21 ^{Ca}	3,56 ^{Db}

* Médias seguidas de mesma letra maiúscula nas colunas e mesma letra minúscula nas linhas não apresentam diferença estatística significativa entre si para o teste de Bonferroni ao nível de significância de 5%.

As figuras 8 a 11 exemplificam a nanoinfiltração visualizadas nos grupos.

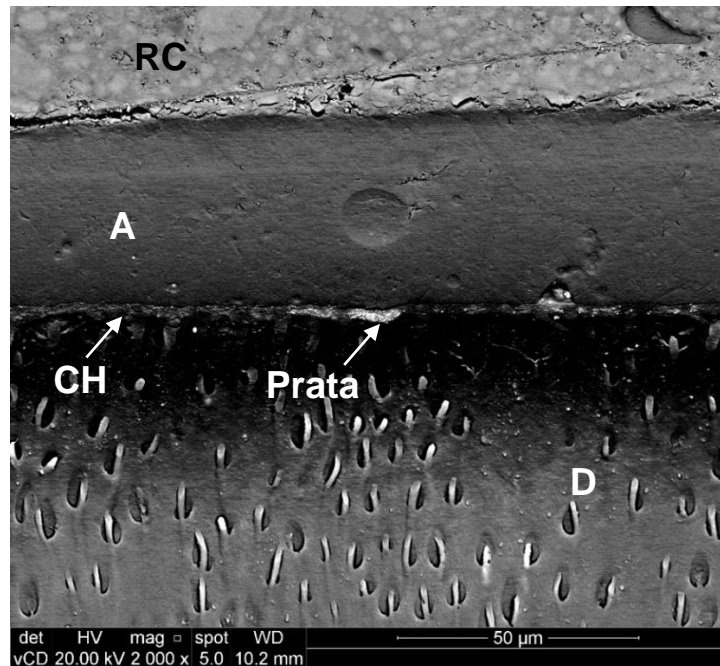


Figura 8: Fotomicrografia (aumento 2000x) do corpo de prova do Scotchbond Multi Purpose após 24 h de armazenamento em água deionizada. Observa-se a presença da prata na camada híbrida. RC – resina composta; A – adesivo; CH – camada híbrida; D – dentina.

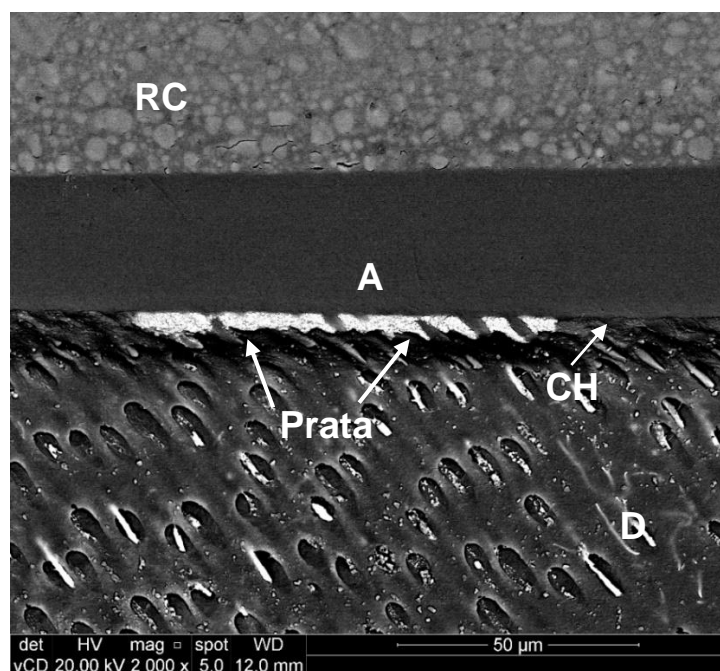


Figura 9: Fotomicrografia (aumento 2000x) do corpo de prova do Single Bond Universal, versão *total-etch*, após 4 ciclos de pH. Observa-se a presença de maior quantidade de prata na camada híbrida em relação à figura 8. RC – resina composta; A – adesivo; CH – camada híbrida; D – dentina.

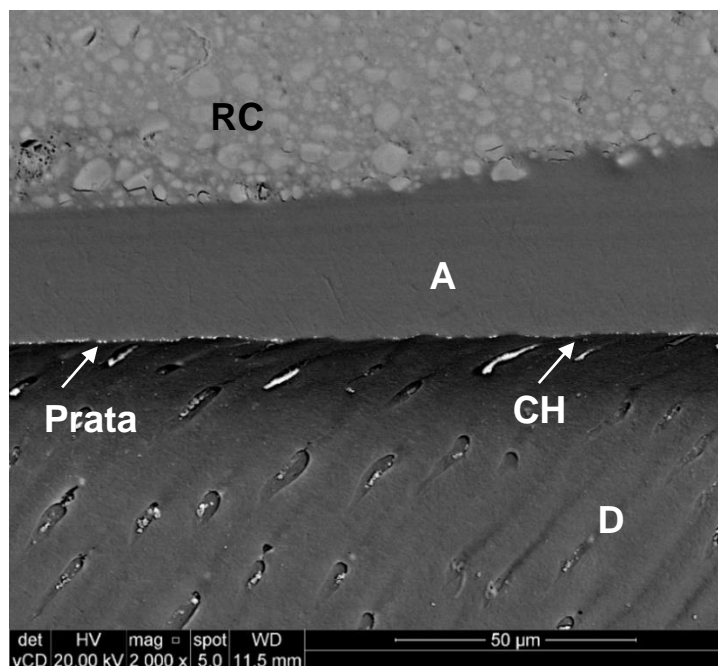


Figura 10: Fotomicrografia (aumento 2000x) do corpo de prova do Single Bond Universal, versão *self-etch*, após 6 meses de armazenamento em saliva artificial. Observa-se a presença da prata ao longo da camada híbrida. RC – resina composta; A – adesivo; CH – camada híbrida; D – dentina.

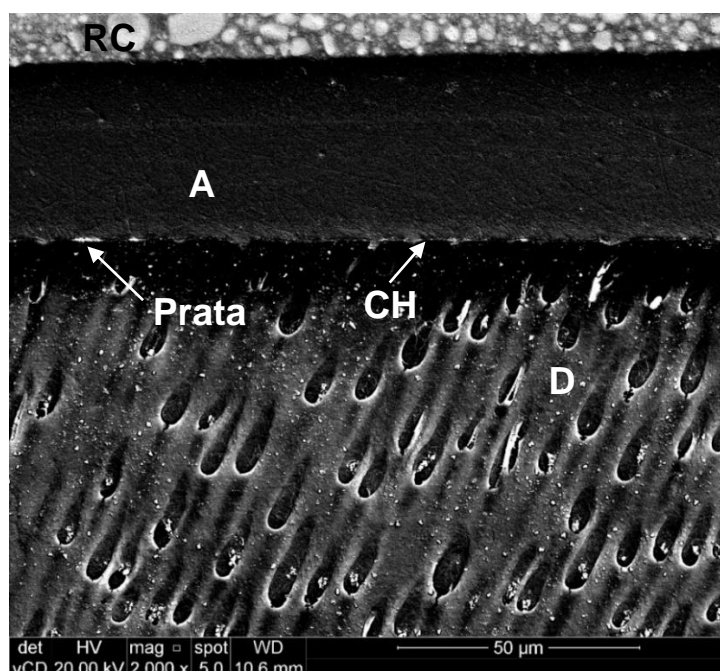


Figura 11: Fotomicrografia (aumento de 2000x) do corpo de prova do Clearfil SE Bond, após 6 meses de armazenamento em água saliva artificial. Observa-se a presença da prata ao longo da camada híbrida. RC – resina composta; A – adesivo; CH – camada híbrida; D – dentina.

4. Discussão

De acordo com os resultados obtidos, a hipótese do estudo foi rejeitada, pois houve diferença estatística na avaliação da nanoinfiltração após 4 ciclos de pH em relação à avaliação após 24 h e 6 meses em saliva artificial.

A estabilidade a longo prazo das restaurações diretas depende das propriedades da interface adesiva entre o material restaurador e os tecidos dentários.¹⁷ A descoloração das margens da restauração, presença de cáries secundárias e sensibilidade pós-operatória podem limitar a longevidade da restauração,¹⁸ a qual é ocasionada pela degradação do colágeno exposto pela hidrólise, sendo esta umas das mais frequentes consequências da inadequada hibridização da estrutura dentária, afetando diretamente a longevidade do tratamento restaurador.¹⁹

O fenômeno da nanoinfiltração foi descrito pela primeira vez em 1995, por Sano *et al.*,⁶ quando foi observada a difusão de pequenos íons ou moléculas dentro da camada híbrida mesmo na ausência de formação de *gaps*. A técnica mais frequentemente utilizada para a visualização desses defeitos na interface condiz com a imersão da estrutura dentária em nitrato de prata, após adesão, e na sequência visualiza-se a penetração da prata, por intermédio de microscópio eletrônico de varredura (MEV) ou de transmissão (MET).^{12,20}

Neste estudo utilizaram-se fatias de dente/interface adesiva/restauração para avaliação da nanoinfiltração. Neste caso, a avaliação em MEV-FEG permitiu a análise qualitativa dos elementos na interface adesiva,²¹ enquanto que a análise quantitativa foi feita pelo software *ImageJ* a fim de quantificar a porcentagem de partículas de prata na interface adesiva.²²

No presente estudo foram utilizados os sistemas adesivos Scotchbond Multi Purpose, Single Bond Universal (*total-etch* e *self-etch*), e Clearfil SE Bond aplicados em dentina, segundo recomendações dos fabricantes. Tanto o Single Bond Universal quanto o Clearfil SE Bond apresentam na sua composição o monômero funcional 10-MDP, o qual interage quimicamente com a hidroxiapatita e assim forma uma união hidroliticamente estável com o cálcio.²³ Contudo, na avaliação imediata da nanoinfiltração, não se observou diferença estatística entre os adesivos com e sem este monômero. Uma das explicações para o Scotchbond Multi Purpose não ter diferido pode ser a presença do Bis-GMA, monômero altamente viscoso que, se aplicado de maneira ativa sobre o *primer* pode promover uma ligação mais eficiente com a dentina.²⁴

Estudos têm demonstrado que pouca ou nenhuma prata é observada na interface adesiva após 24 h de armazenamento para os sistemas adesivos Clearfil SE Bond e Single Bond Universal, ambos na versão *self-etch*, corroborando com os dados obtidos em outros estudos.^{25,26} De acordo com Luque *et al.*,²⁷ a região onde a prata fica depositada após avaliação imediata pode indicar áreas da camada híbrida onde permaneceu água após evaporação do solvente.

Relacionando os resultados encontrados na avaliação após os ciclos de pH, observa-se que os sistemas adesivos *self-etch* tiveram os menores valores de nanoinfiltração e diferiram estatisticamente dos demais sistemas adesivos *total-etch*, sendo que estes diferiram também entre si. O mesmo pode ser observado na avaliação após 6 meses em saliva artificial, em que todos sistemas adesivos diferiram estatisticamente entre si, mas os menores valores prosseguiram com os sistemas adesivos *self-etch*. Os sistemas adesivos *self-*

etch desmineralizam a dentina apenas parcialmente, permanecendo apatita residual nas fibras de colágeno, com isso, os sistemas adesivos contendo o monômero 10-MDP se beneficiam da presença desta apatita residual, o que resulta em ligação química adicional e isso pode contribuir mais para a estabilidade e longevidade da união.²⁸ Além disso, segundo Yoshida *et al.*,²⁹ a união química promovida pelo 10-MDP não é somente mais efetiva, mas também é considerável mais estável em água quando comparado com outros monômeros.

Já em relação aos sistemas adesivos *total-etch*, o mecanismo de união é baseado na infiltração da resina para o interior da malha de colágeno exposta, bem como nos túbulos dentinários. Após a polimerização, a camada híbrida fornece retenção micromecânica. Para esses sistemas adesivos as fibras colágenas precisam ser bem envolvidas com o componente adesivo para promover um adequado selamento da restauração.³⁰ Ambos os sistemas adesivos aplicados da maneira *total-etch* tiveram aumento da nanoinfiltração ao comparar os modos de armazenamento com a avaliação imediata.

Uma das razões para a maior porcentagem de nanoinfiltração nos sistemas adesivos *total-etch* após 6 meses em saliva artificial pode ser atribuído ao fato de que o ácido fosfórico descalcifica a dentina a um nível mais profundo quando comparado a sistemas *self-etch*. Assim, a dentina desmineralizada e não completamente infiltrada pelo adesivo permitiu um aumento significativo da nanoinfiltração e tornou-se a parte mais suscetível à degradação após armazenamento em saliva artificial por 6 meses.³¹

Os modelos de ciclos de pH foram usados com sucesso, apesar das limitações da técnica, para avaliar as alterações cariogênicas.³² No entanto,

pouco se sabe sobre os efeitos dos ciclos do pH na degradação das interfaces adesivo-dentina. O mecanismo de degradação pode estar relacionado com a deterioração, a erosão das interfaces adesivas e também com a degradação dos adesivos após os ciclos de pH.³³ Neste estudo, a nanoinfiltração observada após os ciclos de pH foi maior em comparação com a avaliação imediata e após 6 meses e saliva artificial. Desta forma, os resultados sugerem que os ciclos de pH causaram maior degradação ao nível da interface adesiva.

5. Conclusão

Com base nos resultados encontrados pode-se concluir:

- Os sistemas adesivos Single Bond Universal (versão *total-etch* e *self-etch*), Scotchbond Multi Purpose e Clearfil SE Bond tiveram baixa porcentagem de nanoinfiltração na avaliação imediata;

- Todos os sistemas adesivos tiveram aumento da nanoinfiltração quando comparados à avaliação imediata, sendo que os ciclos de pH causaram maior nanoinfiltração do que o armazenamento em saliva artificial durante 6 meses;

- Os sistemas adesivos aplicados de maneira *self-etch* tiveram menor nanoinfiltração após os ciclos de pH e armazenamento em saliva artificial por 6 meses em relação aos sistemas adesivos *total-etch*.

6. Referências Bibliográficas

1. De Munck J, Van Landuyt K, Peumans M, *et al.* A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: Methods and results. *J Dent Res* 2005; 84(2):118-132.
2. Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, *et al.* Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent* 2003; 28:215-235.
3. Breschi L, Mazzoni A, Ruggeri A, *et al.* Dental adhesion review: aging and stability of the bonded interface. *Dent Mat* 2008; 24:90-101.
4. Van Meerbeek B, Perdigão J, Lambrechts P, Vanherle G. The clinical performance of adhesives. *J Dent* 1998; 26:1-20.
5. Hashimoto M. A review - micromorphological evidence of degradation in resin-dentin bonds and potential preventional solutions. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2010;92(1):268-280.
6. Sano H, Takatsu T, Ciucchi B, *et al.* Nanoleakage: leakage within the hybrid layer. *Oper Dent*, 1995;20:18-25.
7. Oliveira SS, Marshall SJ, Habelitz S, *et al.* The effect of a self-etching primer on the continuous demineralization of dentin. *Eur J Oral Sci* 2004;112(4):376-383.
8. Schulze KA, Oliveira SA, Wilson RS, *et al.* Effect of hydration variability on hybrid layer properties of a self-etching versus an acid-etching system. *Biomater* 2005;26(9):1011-1018.
9. Okada K, Tosaki S, Hirota K, Hume WR. Surface hardness change of restorative filling materials stored in saliva. *Dent Mat* 2001;17(1) 34-39.
10. Deng D, Yang H, Guo J, *et al.* Effects of different artificial ageing methods on the degradation of adhesive-dentine interfaces. *J Dent* 2014; 42(12):1577-585

11. Sano H. Microtensile testing, nanoleakage, and biodegradation of resin-dentin bonds. *J Dent Res* 2006; 85:11-14.
12. Tay FR, Pashley DH, Yoshiyama M. Two modes of nanoleakage expression in single step adhesives. *J Dent Res* 2002; 81:472-476.
13. Reis A, Grande RHM, Oliveira GMS, *et al.* A 2-year evaluation of moisture on microtensile bond strength and nanoleakage. *Dent Mat* 2007; 23:862-870.
14. Tay FR, King NM, Kar-mun C, Pashley DH. How can nanoleakage occur in self-etching adhesive systems that demineralize and infiltrate simultaneously? *J Adhes Dent* 2002; 4:255-268.
15. Silva KG, Pedrini D, Delbem ACB, M Cannon. Effect of pH variations in a cycling model on the properties of restorative materials. *Oper Dent* 2007; 32(4):328-335.
16. Peris AR, Mitsui FHO, Lobo MM, *et al.* Adhesive systems and secondary caries formation: Assessment of dentin bond strength, caries lesions depth and fluoride release. *Dent Mat* 2007;23:308-316.
17. Alani AH, Toh CG. Detection of microleakage around dental restorations: A review. *Oper Dent* 1997;22:173-185.
18. Swift EJ, Perdigão J, Heymann HO. Bonding to enamel and dentin: a brief history and state of the art, 1995. *Quintessence Int* 1995;26:95-110.
19. Gwinnett AJ. Effect of long-term water storage on dentin bonding. *Am J Dent* 1994;7:109-111.
20. Okuda M, Pereira PRN, Nakajima M, *et al.* Long-term durability of resin dentin interface: nanoleakage vs. microtensile bond strength. *Oper Dent*, 2002;27:289-296.
21. Hashimoto M, De Munck J, Ito S, *et al.* In vitro effect of nanoleakage expression on resin-dentin bond strengths analyzed by microtensile bond test, SEM/EDX and TEM. *Biomater* 2004; 25(25):5565-5574.

22. Makishi P, Shimada Y, Sadr A, *et al.* Nanoleakage expression and microshear bond strength in the resin cement/dentin interface. *J Adhes Dent* 2010; 12(5):393-401.
23. Inoue S, Koshiro K, Yoshida Y, *et al.* Hydrolytic stability of self-etch adhesives bonded to dentin. *J Dent Res* 2005;84(12):1160-1164.
24. Munoz MA, Sezinando A, Luque-Martinez I, *et al.* Influence of a hydrophobic resin coating on the bonding efficacy of three universal adhesives. *J Dent* 2014;42(5):595-602.
25. Munoz MA, Luque I, Hass V, *et al.* Immediate bonding properties of universal adhesives to dentine. *J Dent* 2013;41(5):404-411.
26. Marchesi G, Frassetto A, Mazzoni A, *et al.* Adhesive performance of a multi-mode adhesive system: 1-year in vitro study. *J Dent* 2014;42(5):603-612.
27. Luque-Martinez IV, Perdigão J, Munoz MA, *et al.* Effects of solvent evaporation time on immediate adhesive properties of universal adhesives to dentin. *Dent Mat* 2014;30(10):1126-1135.
28. Van Meerbeek B, Yoshihara K, Yoshida Y, *et al.* State of the art of self-etch adhesives. *Dent Mat* 2011;27:17–28.
29. Yoshida Y, Nagakane K, Fukuda R, *et al.* Comparative study on adhesive performance of functional monomers. *J Dent Res* 2004;83:454–458.
30. Abdalla AI, Feilzer, AJ. Four-year water degradation of a total-etch and two self-etching adhesives bonded to dentin. *J Dent* 2008;36:611-617.
31. Hashimoto M, Ohno H, Sano H, *et al.* In vitro degradation of resin–dentin bonds analyzed by microtensile bond test, scanning and transmission electron microscopy. *Biomater* 2003;24:3795–803.
32. Stookey GK, Featherstone JD, Rapozo-Hilo M, *et al.* The Featherstone laboratory pH cycling model: a prospective, multi-site validation exercise. *Am J Dent* 2011; 24:322–328.

33. Sauro S, Watson TF, Tay FR, *et al.* Water uptake of bonding systems applied on root dentin surfaces: a SEM and confocal microscopic study. *Dent Mat* 2006;22:671–680.

Considerações finais

Ao fazer uma abordagem generalista sobre restaurações adesivas, é de valia a realização de testes *in vitro* a fim de analisar o desempenho dos materiais restauradores frente a diversas análises. Além disso, a fim de aproximar as pesquisas com a realidade, pode-se lançar mão de estudos ainda ditos *in vitro*, mas que simulam uma condição que tenta se aproximar da situação real. O modelo de ciclos de pH trouxe essa possibilidade de estudo *in vitro* de uma situação *in vivo*. Isso permitiu avaliar o desempenho de diferentes sistemas adesivos aplicados sobre a dentina, tanto nos testes de microtração quanto na avaliação da nanoinfiltração.

Outra análise de envelhecimento foi feita com o armazenamento em saliva artificial durante 6 meses, a qual permitiu a visualização, sob os mesmos testes, da efetividade da união. Além desta forma de envelhecimento podem-se destacar outras, tais como a ciclagem mecânica, termociclagem, armazenamento em NaOCl e água destilada/deionizada. Possivelmente, os diferentes meios de armazenamento e os tempos/ciclos adotados trarão outros resultados.

Diante da presente pesquisa e de trabalhos publicados, pode-se constatar que a degradação da interface adesivo-dentina é uma realidade. Dentre os diversos fatores que podem contribuir para esta degradação, os resultados do presente estudo evidenciam que os ciclos de pH podem ser mais um fator a contribuir para esta degradação, o que é constatado pela redução nos valores de resistência à microtração e pelas porcentagem de nanoinfiltração.

Hoje existe, na Odontologia, uma preferência para a utilização de sistemas adesivos autocondicionantes ou *self-etch* sobre a dentina. No entanto, ao fazer uma subtração dos valores médios de resistência à microtração imediata e os ciclos de pH, observa-se que os sistemas adesivos testados tiveram uma redução que variou de 12 a 14 MPa. Portanto, os valores de redução de resistência à microtração foram muito semelhantes entre si, apesar das diferenças estatísticas encontradas entre os sistemas adesivos após os ciclos de pH. Em contrapartida, a porcentagem de nanoinfiltração foi menor para os sistemas adesivos *self-etch*.

Apesar de não ter sido o objetivo deste estudo, observa-se que não houve uma correlação inversa e esperada entre os valores de resistência à microtração e as porcentagens de nanoinfiltração para os diferentes sistemas adesivos após terem sido submetidos aos ciclos de pH, ou seja, quanto maior a resistência à microtração, menor a nanoinfiltração. Exemplo deste fato é o adesivo Single Bond Universal na versão *total-etch* que, no presente estudo, teve maior média de resistência à microtração após ciclos de pH (25 MPa) e maior porcentagem de nanoinfiltração (11,27%).

Pesquisas futuras com sistemas adesivos deveriam focar em estratégias para reduzir a degradação ao nível da camada híbrida que ocorre pela ação das alterações de pH, como pela própria saliva. Para isto, diferentes frentes de pesquisa são importantes: a) tornar o colágeno dentinário mais resistente à degradação por meio de substâncias com capacidade de reticulação (*cross-linker*) do colágeno; b) inibir a atuação de enzimas como as metaloproteinases e cisteínas catépsinas; c) maior conversão monômero-polímero; d) incorporação de agentes bioativos ao adesivo.

Referências Bibliográficas (Introdução geral)

1. Buonocore MG. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surface. *J Dent Res* 1955;34:849-853.
2. Cardoso MV, de Almeida Neves A, Mine A, *et al.* Current aspects on bonding effectiveness and stability in adhesive dentistry. *Aust Dent J* 2011;56 (Suppl. 1):31–44.
3. Seixas LC, Seixas FH, Ciccone JC, *et al.* Demineralization around restorations with different restorative materials containing fluoride. *Mater Res* 2004;7:235-240.
4. Mjör I. Placement and replacement of restorations. *Oper Dent* 1981;6:49-54.
5. De Munck J, Van Landuyt K, Peumans M, *et al.* A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results. *J Dent Res* 2005;84:118-132.
6. Dionysopoulos P, Kotsanos N, Papadogianis Y. Secondary caries formations in vitro around glass ionomer lined amalgam and composite restorations. *J Oral Rehabil* 1996; 23:511-519.
7. Okada K, Tosaki S, Hirota K, Hume WR. Surface hardness change of restorative filling materials stored in saliva. *Dent Mat* 2001;17(1):34-39.
8. Cattani-Lorente MA, Dupuis V, Moya F, *et al.* Comparative study of the physical properties of a polyacid-modified composite resin and a resin-modified glass ionomer cement. *Dent Mat* 1999;15(1):21-32.
9. Featherstone JDB. The continuum of dental caries-evidence for a dynamic disease process. *J Dent Res* 2004;83:39-42.
10. Silva KG, Pedrini D, Delbem ACB, Cannon M. Effect of pH variations in a cycling model on the properties of restorative materials. *Oper Dent* 2007; 32:328-335.

11. Cury JA. Fluoride therapy. Quintessence 1993;43-67.
12. Carvalho AS, Cury JA. Fluoride release from some dental materials in different solutions. Oper Dent 1999;24:14-19.
13. Ten Cate JM. In vitro studies on the effect of fluoride on De- and Remineralization. J Dent Res 1990;69:614-619.
14. Costa AR, Correr-Sobrinho L, Ambrosano GMB, *et al.* Dentin bond strength of a fluoride-releasing adhesive system submitted to pH-cycling. Braz Dent J 2014; 25(6): 472-478.
15. Pedrosa VO, Flório FM, Turssi CP, *et al.* Influence of pH cycling on the microtensile bond strength of self-etching adhesives containing MDPB and fluoride to dentin and microhardness of enamel and dentin adjacent to restorations. J Adhes Dent 2012;14(6): 525-534.
16. Geramipannah F, Majidpour M, Sadighpour L, *et al.* Effect of artificial saliva and pH on shear bond strength of resin cements. Eur J Prosthodont Restor Dent 2013;21(1): 1-4.

ANEXO - Aprovação do projeto de pesquisa CEP

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE
CATÓLICA DO RIO GRANDE
DO SUL - PUC/RS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeito das variações de pH na resistência de união e na nanoinfiltração de sistemas adesivos

Pesquisador: Ana Maria Spohr

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 53587216.0.0000.5335

Instituição Proponente: UNIAO BRASILEIRA DE EDUCACAO E ASSISTENCIA

Patrocinador Prncipal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.443.866

Apresentação do Projeto:

As características físicas e químicas da cavidade bucal podem influenciar as propriedades dos materiais restauradores. Entre esses fatores, o pH do biofilme bacteriano sofre variações durante o processo de desmineralização (fatores patológicos) e remineralização (fatores de proteção) devido ao estímulo cariogênico. Portanto, com a evolução dos materiais restauradores tem sido sugerida a necessidade de simular condições intrabucais relevantes, com a presença de saliva e alternâncias de pH, os quais podem influenciar diretamente nas propriedades dos materiais. Os ciclos de pH realizados em laboratório mimetizam a condição bucal, a qual é caracterizada pela dinâmica entre períodos de desmineralização e remineralização. Até o momento, não há estudos comparando os sistemas adesivos Single Bond Universal, Scotchbond Multi Purpose e Clearfil SE Bond. Tendo em vista esses aspectos torna-se relevante a realização de estudos para avaliar se os ciclos de pH influenciam ou não nas propriedades mecânicas desses sistemas adesivos.

Objetivo da Pesquisa:

Determinar se as alterações do pH, em relação ao armazenamento em saliva artificial, podem influenciar nos valores de resistência de união e na nanoinfiltração de diferentes sistemas adesivos

Endereço: Av. Jpiranga, 6681, prédio 40, sala 505
 Bairro: Partenon CEP: 91.619-900
 UF: RS Município: PORTO ALEGRE
 Telefone: (51)3320-3345 Fax: (51)3320-3345 E-mail: cep@puers.br

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE
CATÓLICA DO RIO GRANDE
DO SUL - PUC/RS



Continuação do Parecer: 1.443.868

aplicados sobre a dentina.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Os riscos aos participantes da pesquisa são mínimos, pois o estudo será realizado *in vitro* com o uso de dentes humanos extraídos por indicação terapêutica.

Benefícios:

Verificar se a união que os sistemas adesivos proporcionam com a dentina tem capacidade de suportar a ação do processo de desmineralização, ou seja, uma possível lesão de cárie.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Para o presente estudo serão utilizados 32 terceiros molares humanos hígidos inclusos, extraídos por razões terapêuticas. Os dentes serão limpos, desinfetados em cloramina e então armazenados em água destilada à 40°C por um período de, no máximo, 6 meses, sendo a água trocada semanalmente.

Durante o tempo de armazenamento, os dentes serão incluídos em resina acrílica quimicamente ativada Jet (Clássico, São Paulo, SP, Brasil) de tal forma que a coroa do dente ficará exposta e a superfície oclusal paralela à base da resina acrílica. A superfície oclusal de esmalte será removida com disco diamantado, expondo uma superfície plana de dentina oclusal. Após, as áreas de dentina serão regularizadas e com lixas de carbeto de silício. Os dentes serão divididos aleatoriamente em quatro grupos com oito dentes cada.

Grupo 1 – Single Bond Universal com aplicação prévia de ácido fosfórico: será aplicado o adesivo na dentina e fotoativação por 10 s conforme instruções do fabricante.

Grupo 2 – Single Bond Universal na versão autocondicionante: será aplicado o adesivo e fotoativação por 10 s, conforme instruções do fabricante.

Grupo 3 – Scotchbond Multi Purpose: será realizado condicionamento da superfície dentinária com ácido fosfórico 37%. Será aplicado o primer e, em seguida, será aplicado o adesivo, seguido de fotoativação por 10 segundos, conforme instruções do fabricante.

Grupo 4 – Clearfil SE Bond: uma camada do primer autocondicionante será aplicada com microbrush na superfície dentinária. O adesivo será aplicado e fotoativado por 10 s conforme instruções do fabricante.

Sobre os sistemas adesivos será construído um bloco de resina composta Z350 XT (3M Espe, St.

Endereço: Av. Ipiranga, 6681, prédio 40, sala 505
Bairro: Partenon CEP: 91.519-900
UF: RS Município: PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3320-3345 Fax: (51)3320-3345 E-mail: cep@pucrs.br

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE
CATÓLICA DO RIO GRANDE
DO SUL - PUC/RS



Continuação do Parecer: 1.443.886

Paul, MN, EUA), cor A2B, de aproximadamente 6 mm de altura. Os conjuntos dente/bloco de resina composta serão armazenados em água destilada por 24 horas a 37°C em estufa de cultura. O conjunto será seccionado para obtenção de palitos. Os cortes serão realizados paralelamente ao longo eixo do dente. Dessa forma serão obtidos corpos de prova em forma de palitos, onde a metade superior será de resina composta e, a inferior, de dentina. Em cada grupo os palitos serão divididos em dois subgrupos. Metade destes serão armazenados em saliva artificial, com umidade 100% à 37°C durante 6 meses e a outra metade irá alternar pelos ciclos de desmineralização e remineralização simulando alteração cariogênica. Após os 15 ciclos de desmineralização e remineralização esses serão submetidos ao teste de resistência de união, assim como os palitos que permaneceram em saliva artificial durante 6 meses.

Após o teste de microtração, a porção correspondente à dentina de todos os corpos de prova será visualizada em microscópio eletrônico de varredura (MEV). Os padrões de falha serão classificados em cinco tipos: Interfacial (adesiva e coesiva em adesivo), coesiva em dentina (ruptura da dentina), coesiva em resina composta (ruptura na resina composta), mista (associação dos tipos de falha).

Para a metodologia de nanoinfiltração serão utilizados 16 terceiros molares adicionais. Cada grupo será composto de 4 dentes. Os sistemas adesivos e o bloco de resina composta serão aplicados como descritos para os grupos 1, 2, 3 e 4. Os conjuntos dente/bloco de resina composta serão seccionados no sentido mesiodistal. Dessa forma serão obtidas 3

fatias de 1 mm da região central de cada dente. Cada grupo será dividido em 2 subgrupos os quais passarão pelos seguintes processos:

- armazenamento das fatias em água deionizada, durante 24 horas – avaliação imediata da nanoinfiltração.
- desmineralização e remineralização, totalizando 15 ciclos – avaliação mediata da nanoinfiltração.

Três imagens igualmente espaçadas e de mesma magnificação (esquerda, centro e direita) serão obtidas de cada fatia. Para a avaliação da nanoinfiltração serão utilizados escores, adaptado de Yuan¹⁹ et al.:

- 0: sem infiltração;
- 1: leve infiltração: menor que 25% da área avaliada;

Endereço: Av. Jpiranga, 6681, prédio 40, sala 505
Bairro: Partenon CEP: 91.519-900
UF: RS Município: PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3320-3345 Fax: (51)3320-3345 E-mail: cep@pucrs.br

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE
CATÓLICA DO RIO GRANDE
DO SUL - PUC/RS



Continuação do Parecer: 1.443.666

- 2: nítida infiltração: entre 25 e 50% da área avaliada;
- 3: grande infiltração: mais do que 50% da área avaliada.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos de apresentação obrigatória estão em conformidade às normas do CEP.

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há pendências ou inadequações.

Considerações Finais a critério do CEP:

Diante do exposto, o CEP-PUCRS, de acordo com suas atribuições definidas na Resolução CNS nº 466 de 2012 e da Norma Operacional nº 001 de 2013 do CNS, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES BÁSICAS DO PROJETO 657436.pdf	26/02/2016 15:50:43		Acelto
Outros	LinksCurriculo_Lattes.pdf	26/02/2016 15:48:56	Ana Maria Spohr	Acelto
Outros	Documento Unificado Projeto de Pesquisa 1450272243694.pdf	29/01/2016 09:06:27	Ana Maria Spohr	Acelto
Cronograma	Cronograma.pdf	29/01/2016 09:02:10	Ana Maria Spohr	Acelto
Outros	Autorizacao_LabCEMM.pdf	29/01/2016 08:58:25	Ana Maria Spohr	Acelto
Outros	Autorizacao_Uso_Laboratorio.pdf	29/01/2016 08:58:04	Ana Maria Spohr	Acelto
Orçamento	Orçamento.pdf	29/01/2016 08:56:07	Ana Maria Spohr	Acelto
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Detalhado.pdf	29/01/2016 08:55:13	Ana Maria Spohr	Acelto
Folha de Rosto	Folha_de_Rosto.pdf	29/01/2016 08:53:40	Ana Maria Spohr	Acelto

Endereço: Av. Itália, 6681, prédio 40, sala 505
Bairro: Partenon CEP: 91.519-900
UF: RS Município: PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3320-3345 Fax: (51)3320-3345 E-mail: cep@pucr.br

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE
CATÓLICA DO RIO GRANDE
DO SUL - PUC/RS



Continuação do Parecer: 1.443.866

TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	28/01/2016 23:24:14	Ana Maria Spohr	Aceito
---	----------	------------------------	-----------------	--------

Situação do Parecer:
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:
Não

PORTO ALEGRE, 09 de Março de 2016

Assinado por:
Denise Cantarelli Machado
(Coordenador)

Endereço: Av. Jpiranga, 6681, prédio 40, sala 505
Bairro: Partenon CEP: 90.819-000
UF: RS Município: PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3320-3345 Fax: (51)3320-3345 E-mail: cnp@pucrs.br



Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
Pró-Reitoria de Graduação
Av. Ipiranga, 6681 - Prédio 1 - 3º. andar
Porto Alegre - RS - Brasil
Fone: (51) 3320-3500 - Fax: (51) 3339-1564
E-mail: prograd@pucrs.br
Site: www.pucrs.br