PAULA MENDES ACATAUASSÚ CARNEIRO

**Estudo da interface entre uma resina autoadesiva e a dentina
hígida ou afetada por cárie**

São Paulo

2017

PAULA MENDES ACATAUASSÚ CARNEIRO

**Estudo da interface entre uma resina autoadesiva e a dentina
hígida ou afetada por cárie**

Versão Corrigida

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia (Dentística) para obter o título de Doutor em Ciências.

Orientador: Profa. Dra. Míriam Lacalle Turbino

São Paulo
2017

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo-na-Publicação
Serviço de Documentação Odontológica
Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Carneiro, Paula Mendes Acatauassú.

Estudo da interface entre uma resina autoadesiva e a dentina hígida ou afetada por cárie / Paula Mendes Acatauassú Carneiro ; orientador Miriam Lacalle Turbino. -- São Paulo, 2017.

87 p. : fig., tab., graf.; 30 cm.

Tese (Doutorado) -- Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Área de Concentração: Dentística. -- Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

Versão corrigida

1. Adesivos dentinários. 2. Resinas compostas. 3. Cárie dentária. 4. Dureza. 5. Microscopia eletrônica de varredura. I. Turbino, Miriam Lacalle. II. Título.

Carneiro PMA. Estudo da interface entre uma resina autoadesiva e a dentina hígida ou afetada por cárie. Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Aprovado em: 10 / 11 / 2017

Banca Examinadora

Profa. Dra Míriam Lacalle Turbino

Instituição: FOUSP

Julgamento: Aprovada

Profa. Dra Patrícia Moreira de Freitas

Instituição: FOUSP

Julgamento: Aprovada

Prof. Dr. Leonardo Eloy Rodrigues Filho

Instituição: FOUSP

Julgamento: Aprovada

Profa. Dra. Kátia Martins Rode

Instituição: Externa à FOUSP

Julgamento: Aprovada

Profa. Dra. Angela Mayumi Shimaoka

Instituição: Externa à FOUSP

Julgamento: Aprovada

A Deus,

A quem tudo devo.

Obrigada pela proteção e pelas pessoas especiais que colocaste no meu caminho!

Aos meus pais Claudio e Lillian,

Por deixarem eu “voar” em busca da minha realização, mesmo longe de casa...

Obrigada pelo amor incondicional!

Ao meu irmão Leonardo,

Meu parceiro de vida, aquele que melhor me conhece. A gente se entende com um olhar...

Obrigada pelo incentivo e amor!

Ao meu amor Marcelo,

Como é bom compartilhar a vida com você...

Obrigada pela força, pela dedicação diária e por me fazer muito feliz!

À minha grande família,

Minhas raízes, meu porto seguro... Obrigada por serem tão presentes em minha vida!

A vocês dedico este trabalho!

AGRADECIMENTO ESPECIAL

À minha querida orientadora Profa. Dra. Míriam Lacalle Turbino,

Você marcou a minha vida de uma forma muito especial durante toda a minha Pós-Graduação! Os orientados sempre guardam seus grandes Mestres com carinho no coração. Saiba que você está no meu. Obrigada pelos ensinamentos, pela confiança, pela disponibilidade, pela generosidade, pela amizade, pelos cuidados... Enfim, obrigada por tudo!

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, na pessoa do Diretor Prof. Dr. Waldir Antônio Jorge.

À Comissão de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia e à Coordenadoria do Curso de Pós-Graduação em Dentística da FOU SP, na pessoa da Profa. Dra. Adriana Bona Matos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos concedida.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo financiamento da pesquisa.

Aos professores do curso de Doutorado e do Departamento de Dentística da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo: Profa. Dra. Adriana Bona Matos, Profa. Dra. Ana Cecília Corrêa Aranha, Prof. Dr. Antônio Alberto de Cara, Prof. Dr. Carlos de Paula Eduardo, Profa. Dra. Eliza Maria Agueda Russo, Prof. Dr. Glauco Fioranelli Vieira, Profa. Dra. Luciana Fávaro Franciscone dos Rios, Profa. Dra. Márcia Martins Marques, Profa. Dra. Maria Ângela Pita Sobral, Profa. Dra. Maria Aparecida Cerqueira Luz, Profa. Dra. Margareth Oda, Profa. Dra. Patrícia Moreira de Freitas e Profa. Dra. Taís Scaramucci Forlin. A vocês a minha sincera gratidão.

À Profa. Dra. Maria Regina Lorenzetti Simionato, do Departamento de Microbiologia Oral do ICB/USP, por gentilmente abrir as portas do seu laboratório e por toda atenção concedida.

Ao Laboratório de Caracterização Tecnológica do Departamento de Engenharia de Minas e de Petróleo da Escola Politécnica da USP, em nome de Renato Contessotto, pela realização da MEV e pelos ensinamentos compartilhados.

Ao Centro de Facilidades para a Pesquisa da USP, em nome de Mário Costa Cruz, pela realização da microscopia confocal e pela disponibilidade em ajudar.

Ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), pela esterilização dos espécimes.

À Cynthia Soares de Azevedo e a Luciana Kfoury, ao lado de vocês aprendi a minha primeira metodologia microbiológica. Obrigada pela disponibilidade e carinho!

Aos Funcionários do Departamento de Dentística: Aldo, David, Débora, Leandro, Selma e Sônia. Obrigada por toda a ajuda durante o curso!

Aos funcionários da biblioteca, em especial à bibliotecária Glauci, pela atenção e revisão deste trabalho.

A todos os colegas da Pós-graduação, muito obrigada pela convivência fraterna, pelas dicas trocadas e companhia constante. Em especial aos meus amigos: Bruna, Carlos, Eric, Gabi, Sávio e Tamile. Meus queridos parceiros, tenho muito orgulho da nossa amizade! Saibam que eu torço muito pela felicidade de todos vocês!

Aos meus amigos de longa data, os de infância, os de Belém. Obrigada pela torcida e incentivo mesmo à distância... Como eu sinto a falta de vocês!

A todos os meus familiares, obrigada por compreenderem e apoiarem as minhas escolhas. Se hoje estou aqui, é graças à toda a força e orações que vocês dedicaram a mim! AMO VOCÊS!

A todos que contribuíram para a realização deste trabalho, muito obrigada!

*“Não é sobre chegar no topo do mundo e saber que venceu
É sobre escalar e sentir que o caminho te fortaleceu
É sobre ser abrigo e também ter morada em outros corações
E assim ter amigos contigo em todas as situações*

*A gente não pode ter tudo
Qual seria a graça do mundo se fosse assim?
Por isso, eu prefiro sorrisos
E os presentes que a vida trouxe pra perto de mim”*

*Ana Vilela
Música Trem-Bala*

RESUMO

Carneiro PMA. Estudo da interface entre uma resina autoadesiva e a dentina hígida ou afetada por cárie [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2017. Versão Corrigida.

O objetivo deste estudo foi analisar a microdureza e as características morfológicas da interface de união entre uma resina composta *flow* autoadesiva (Vertise *Flow*) e a dentina humana hígida ou afetada por cárie, em comparação às interfaces formadas por outros dois materiais: um cimento de ionômero de vidro modificado por resina (Fuji II LC) e um sistema adesivo universal (Single Bond Universal). Foram realizadas cavidades do tipo classe I na dentina oclusal de molares humanos e dentina afetada por cárie foi produzida na parede pulpar das cavidades por meio do método microbiológico. Os espécimes foram restaurados de acordo com os grupos experimentais e cortados no sentido vestibulo-lingual para evidênciação da interface adesiva. Os espécimes foram submetidos aos ensaios de microdureza Knoop ($n=5$) e analisados por meio de microscopia eletrônica de varredura ($n=3$) e microscopia confocal de varredura a laser ($n=10$). A análise de variância dois fatores e teste de Tukey foram realizados para a análise estatística quantitativa da variável dureza ($p<0,05\%$). As características morfológicas foram descritas após análise qualitativa. A dureza da camada de material variou em função da composição de cada material. A dureza da camada híbrida foi influenciada de acordo com o material e os maiores valores de dureza foram obtidos quando o sistema adesivo universal foi utilizado. A camada híbrida formada pela dentina afetada por cárie apresentou dureza inferior independente do material utilizado. Quanto à morfologia, os materiais testados promoveram a formação de interfaces com características diferentes entre si, entretanto, todos os materiais foram capazes de formar *tags* na camada híbrida. Porém, quando a interface envolveu a dentina afetada por cárie, observou-se maior quantidade de falhas e as camadas apresentaram-se irregulares.

Palavras-chave: Adesão. Resina autoadesiva. Cárie dental. Dureza. Microscopia eletrônica de varredura. Microscopia confocal.

ABSTRACT

Carneiro PMA. Study of a interface created by a self-adhesive resin and sound or caries-affected dentin [thesis]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2017. Versão Corrigida.

The aim of this study was to analyze the microhardness and morphological characteristics of the bonding interface between a self-adhesive flowable composite (Vertise Flow) and sound or caries-affected dentin, comparing to interfaces formed by other materials: a resin-modified glass ionomer cement (Fuji II LC) and a universal adhesive system (Scotchbond Universal Adhesive). Class I cavities were made in the occlusal dentin of human molars and dentin affected by caries was produced in their pulp wall, using the microbiological method. The specimens were restored according to the experimental groups and cut in the vestibular-lingual direction to expose the adhesive interface. The specimens were submitted to transversal Knoop microhardness tests (n=5) and analyzed by scanning electron microscopy (n=3) and confocal laser scanning microscopy (n=10). Two-way repeated measures analysis of variance and Tukey's post-hoc tests were performed for the hardness results ($\alpha:0.05$). Morphological characteristics were qualitative analyzed. The hardness of the material layer varied according to the composition of each material. The hardness of the hybrid layer was influenced according to the material and the highest values of hardness were obtained when the universal system was used ($p<0.05$). The hybrid layer formed by dentin caries-affected presented low hardness values independently of the material used. Morphologically, the tested materials promoted the formation of interfaces with different characteristics, although all the materials were able to form tags in dentin. However, when the interfaces involved caries-affected dentin, a greater number of defects were observed and the layers were irregular.

Keywords: Adhesion. Self-adhesive Resin. Dental Caries. Hardness. Microscopy, Electron, Scanning. Microscopy, Confocal.

LISTA DE FIGURAS

Figura 4.1 - Esquematização da confecção do preparo cavitário.....	35
Figura 4.2 - Espécimes fixados em fios metálicos (a) e recipiente contendo os espécimes isolados com esmalte cosmético para o desafio cariogênico (b).	36
Figura 4.3 - Esquematização da obtenção do caldo inóculo.	37
Figura 4.4 - Esquematização do desafio cariogênico.	38
Figura 4.5 - Espécimes contendo biofilme durante a troca de meio.....	39
Figura 4.6 - Espécimes durante o desafio cariogênico.....	39
Figura 4.7 - Os espécimes encharcados pelo caldo são suficientes para o crescimento bacteriano no novo meio..	39
Figura 4.8 - Espécime evidenciando metade da parede pulpar afetada por cárie.....	39
Figura 4.9 - Análise em microscópio para controle de contaminação..	39
Figura 4.10 - Placa de Petri contendo crescimento apenas de <i>S. mutans</i>	39
Figura 4.11 - Forma de apresentação dos materiais utilizados.....	41
Figura 4.12 - Espécimes armazenados individualmente durante os processos de desmineralização, desproteinização, lavagem, fixação, desidratação e secagem (a). Espécimes metalizados e fixados em <i>stubs</i> para leitura em MEV	44
Figura 4.13 - Materiais após a incorporação do marcador rodamina 6G (a e b) e espécimes finalizados para a leitura em microscopia confocal (c).....	45

Figura 4.14 - Esquematização das indentações na interface entre adesivo e dentina.....	46
Figura 4.15 - Esquematização das indentações nas interfaces entre resina autoadesiva e dentina ou entre cimento de ionômero de vidro e dentina.....	46
Figura 4.16 - Equipamento microdurômetro HMV - G21DT	46
Figura4.17 - Imagens das indentações realizadas nas camadas de adesivo (a), dentina (b) e camada híbrida (c).....	47
Figura 4.18 - Figura 4.18 – Equipamentos Quanta FEG 650 (a) e Zeiss LSM 780-NLO (b)	49
Figura 5.1 - Eletromicrografias representativas ilustram a interface criada com o adesivo Single Bond Universal sobre a dentina hígida (a, b, c e d) e sobre a dentina afetada (e, f, g e h) nos aumentos de 1000x, 2500x, 5000x e 10000x..	59
Figura 5.2 - Eletromicrografias representativas ilustram a interface criada com a resina Vertise Flow sobre a dentina hígida (a, b, c e d) nos aumentos de 1000, 2500, 5000 e 10000 x.e sobre a dentina afetada (e, f, g e h) nos aumentos de 1000 e 2500 x. A captura de imagens em maiores aumentos para o grupo de dentina afetada não foi realizada pois não foi possível observar todas as camadas da interface em virtude da fenda.....	61
Figura 5.3 - Eletromicrografias representativas ilustram a interface criada com CIV Fuji II sobre a dentina hígida (a, b, c e d) e sobre a dentina afetada (e, f, g e h) nos aumentos de 1000, 2500, 5000 e 10000x. A captura de imagens em maiores aumentos para o grupo de dentina afetada não foi realizada pois não foi possível observar todas as camadas da interface em virtude da fenda..	62
Figura 5.4 - Imagens representativas ilustram as características das interfaces e a micropermeabilidade dos materiais testados sobre a dentina hígida nos aumentos de 200x e 600x: Sigle Bond Universal (a,b), Fuji II (c,d) e Vertise Flow (e,f).....	64

Figura 5.5 - Imagens representativas ilustram as características das interfaces e a micropermeabilidade dos materiais testados sobre a dentina afetada nos aumentos de 200x e 600x: Sigle Bond Universal (a,b), Fuji II (c,d) e Vertise *Flow* (e,f).....66

Figura 6.1 - A microscopia confocal evidenciou a formação de fendas na interface formada entre a dentina hígida e dois materiais testados: Fuji II (a) e Vertise *Flow* (b).....70

LISTA DE TABELAS E GRÁFICOS

Tabela 4.1 - Composição básica dos materiais utilizados	41
Tabela 5.1 - Média dos valores de dureza Knoop das indentações realizadas na camada de material.....	51
Tabela 5.2 - ANOVA de dois fatores para a variável dureza da camada de material.....	52
Tabela 5.3 - Médias e desvios padrão para a variável dureza da camada de material....	52
Gráfico 5.1 - Médias e desvios padrão para a variável dureza da camada de material sobre as dentinas hígida e afetada por cárie.	53
Tabela 5.4 - Média dos valores de dureza Knoop das indentações realizadas na camada híbrida	53
Tabela 5.5 - ANOVA de dois fatores para a variável dureza da camada híbrida....	54
Tabela 5.6 - Médias e desvios padrão para a variável dureza da camada híbrida.....	54
Gráfico 5.2 - Médias e desvios padrão para a variável dureza da camada híbrida sobre as dentinas hígida e afetada por cárie.	55
Tabela 5.7 - Média dos valores de dureza Knoop das indentações realizadas na dentina	55
Tabela 5.8 - ANOVA de dois fatores para a variável dureza da dentina	56
Tabela 5.9 - Médias e desvios padrão para a variável dureza da dentina	56
Gráfico 5.3 - Médias e desvios padrão para a variável dureza da dentina	57

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	REVISÃO DE LITERATURA	20
2.1	O TECIDO CARIADO E OS SISTEMAS ADESIVOS	21
2.2	OS CIMENTOS DE IONÔMERO DE VIDRO E A CÁRIE AFETADA	25
2.3	AS RESINAS AUTOADESIVAS	27
2.4	O ESTUDO DA INTERFACE ADESIVA	29
3	PROPOSIÇÃO	33
4	MATERIAL E MÉTODOS	34
4.1	ATENDIMENTO ÀS NORMAS DE BIOÉTICA	34
4.2	A AMOSTRA	34
4.2.1	Preparo inicial da amostra.....	34
4.2.2	Preparo da amostra para o desafio cariogênico.....	35
4.2.3	Cultura bacteriana	36
4.2.4	Desafio cariogênico	38
4.3	PROCEDIMENTOS RESTAURADORES.....	40
4.3.1	Para os ensaios de microdureza e MEV	40
4.4	PREPARO COMPLEMENTAR PARA LEITURA EM MEV	43
4.5	PREPARO DOS MATERIAIS ADESIVOS/RESTAURADORES PARA MICROSCOPIA CONFOCAL	44
4.6	MICRODUREZA.....	45
4.7	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA.....	48
4.8	MICROSCOPIA CONFOCAL	48
4.9	ANÁLISE ESTATÍSTICA	50
4.9.1	Análise Quantitativa – Microdureza	50
4.9.2	Análise Qualitativa – Microscopia eletrônica de varredura	50
4.9.3	Análise Qualitativa – Microscopia confocal.....	50
5	RESULTADOS	51
5.1	MICRODUREZA.....	51
5.1.1	Camada de material	51
5.1.2	Camada híbrida.....	53

5.1.3	Dentina	55
5.2	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA.....	58
5.3	MICROSCOPIA CONFOCAL	63
6	DISCUSSÃO	67
7	CONCLUSÕES	74
	REFERÊNCIAS.....	75
	ANEXO	85

1 INTRODUÇÃO

A Odontologia Minimamente Invasiva é uma filosofia que visa assegurar a manutenção e a função dos dentes ao longo da vida. Portanto, este termo não se restringe à doença mais comumente encontrada na cavidade oral, a cárie dentária, mas também é aplicável a todas as áreas que visam a proteção do elemento dental (1).

O surgimento dos materiais adesivos viabilizou a confecção de preparos ou adequações cavitárias mais conservadoras e, conseqüentemente, restaurações com menores dimensões passaram a ser realizadas quando comparadas às restaurações que seguiam os tradicionais princípios biomecânicos dos preparos cavitários, necessários para a retenção de materiais não adesivos (2). A partir desse momento, os preparos cavitários passaram a ser executados em função da remoção do tecido cariado (3).

Outra importante modificação na prática clínica ocorreu sobre o tratamento a ser dado aos dentes cariados, desde que Fusayama et al. (1972) demonstraram que a dentina cariada é constituída por duas camadas: a dentina infectada e a dentina afetada. Passou-se, então, a preconizar a remoção da dentina infectada e a permanência da dentina afetada na parede pulpar das cavidades, por ser este último, um tecido passível de remineralização. Dessa forma, os procedimentos adesivos passaram a ser realizados sobre ela (4).

A constante evolução dos adesivos dentários tem como objetivo promover uma ligação igualmente eficaz para dois tecidos duros de naturezas diferentes: esmalte e dentina (5). A adesão ao esmalte tem sua longevidade comprovada (6,7,8) porém a união à dentina é considerada mais complexa e exige um protocolo de aplicação minucioso em virtude da heterogeneidade de sua estrutura (9). Em um contexto em que é preconizada a manutenção da dentina afetada por cárie, o mecanismo e as características da adesão passaram a motivar pesquisas sobre a interação dos sistemas adesivos com um substrato modificado e com reduzida composição mineral.

A simplificação dos passos operatórios tem sido um dos objetivos no desenvolvimento dos sistemas adesivos, não só para promover praticidade e agilidade no atendimento, mas para minimizar os erros do operador (10). Esse fato

motivou a introdução dos sistemas adesivos autocondicionantes no mercado, em que não há a necessidade de utilizar o ácido fosfórico para o condicionamento prévio dos tecidos dentais. Esses sistemas possuem em sua composição ácidos suaves ou ultra suaves com intuito de promover o condicionamento do substrato e a penetração do adesivo de forma simultânea. Esforços inovadores também foram direcionados para a utilização de substâncias condicionadoras incorporadas em agentes de cimentação, culminando com o desenvolvimento dos cimentos resinosos autoadesivos, em que a aplicação de sistemas adesivos previamente à cimentação não é necessária (11).

Da mesma forma, uma nova proposta de adesão ao esmalte e dentina foi desenvolvida e a característica de autoadesão foi incorporada às resinas compostas. São as resinas compostas *flow* autoadesivas, que podem ser consideradas como uma espécie de sistema de "passo a menos" (1). Isso porque elas combinam a capacidade adesiva dos sistemas adesivos e as propriedades restauradoras das resinas compostas (12), o que permite a sua inserção na cavidade sem a aplicação prévia de um sistema adesivo (13).

Sobre a resina autoadesiva, é possível encontrar na literatura estudos sobre sua morfologia, ensaios de resistência adesiva e propriedades mecânicas, modificações nos protocolos de utilização, assim como estudos de toxicidade, sorção e solubilidade (14-19). Porém, essas pesquisas foram realizadas em espécimes compostos apenas pela resina autoadesiva ou relacionadas à interação dessas resinas aos tecidos dentais sadios. Dessa forma, estudos são necessários sobre a utilização das resinas autoadesivas sobre a dentina afetada, visto que se trata de uma realidade clínica atual.

2 REVISÃO DA LITERATURA

A Dentística Restauradora e a Cariologia contemporânea têm como objetivo a realização de procedimentos que visa a máxima preservação da estrutura dental e, consequentemente, a proteção do tecido pulpar (2). Nesse contexto, o tradicional conceito de remoção total do tecido cariado para o tratamento de lesões de cárie foi substituído pelo conceito conservador que permite a remoção parcial desse tecido, seguido de restauração. Tal filosofia pôde ser estabelecida após estudos que comprovaram que o tecido cariado dentinário é formado por camadas, as quais apresentam diferenças de composição entre si (4). A dentina infectada constitui a camada mais externa, é necrótica, amolecida e recebe este nome por ser altamente infectada por bactérias. Ela contém fibras colágenas degeneradas que não podem ser remineralizadas, devendo ser removida durante o preparo cavitário (20). Porém, preconiza-se a manutenção da camada interna, chamada de dentina afetada, por ser composta por um tecido mais endurecido e passível de remineralização na ausência de sinais e sintomas de comprometimento pulpar (20).

Histologicamente, a cárie em dentina pode ser diferenciada em cinco zonas: normal, subtransparente, transparente, turva e infectada. A zona mais profunda é a zona "normal" e corresponde à dentina hígida. As duas zonas ainda consideradas profundas são as zonas "subtransparente" e "transparente", onde a desmineralização ocorreu, no entanto, a estrutura do colágeno permanece íntegra e sem penetração bacteriana. Essas duas zonas compreendem a denominada "dentina afetada por cárie", a qual deve ser mantida em circunstâncias favoráveis segundo as evidências clínicas. As duas zonas mais superficiais são a zona "turva" e a zona "infectada", que são caracterizadas pela desorganização tubular da dentina, pela decomposição da estrutura de colágeno e pela infiltração bacteriana. Essas camadas compõem a dentina infectada (21).

Após essa descoberta, o clínico passou a realizar procedimentos restauradores não apenas sobre a dentina hígida, mas também sobre a dentina afetada por cárie mantida na parede pulpar das cavidades (20).

2.1 O TECIDO CARIADO E OS SISTEMAS ADESIVOS

Tornou-se importante conhecer as características da dentina afetada por cárie visto que ela compõe a interface adesiva de restaurações em diversas situações clínicas atualmente.

O processo cariioso em dentina consiste em episódios dinâmicos e cíclicos de desmineralização e remineralização (DES-RE), sendo que a porção mineral da dentina é composta principalmente por hidroxiapatita (20).

A dentina afetada por cárie é mais desmineralizada em comparação com a dentina hígida, apresenta maior porosidade na dentina intertubular, pela perda mineral por ação dos ácidos das bactérias envolvidas no processo cariioso, e possui seu conteúdo orgânico alterado pelas toxinas exógenas produzidas pelos microrganismos. Na dentina intratubular da quando afetada pela cárie, há a formação de cristais de cálcio ácido-resistentes que impedem a infiltração dos monômeros resinosos dos adesivos dentro dos túbulos (22-24). Portanto, devido a essas diferenças descritas, a interação molecular que ocorre entre os materiais adesivos e a dentina afetada se dá de forma diferente da dentina hígida (22).

Relembrando e conceituando os sistemas adesivos atuais, pode-se afirmar que os sistemas adesivos são substâncias que devem ser aplicadas sobre o substrato dental seguindo uma sequência específica para promover a adesão de restaurações em resina composta: 1- agente condicionador, representado por um ácido; 2- primer, composto por uma substância hidrofílica e um solvente, capaz de penetrar na dentina e ter o seu solvente evaporado juntamente com moléculas de água; 3- adesivo, substância hidrofóbica, composto por monômeros resinosos capazes de formar a camada híbrida e promover a adesão do dente à resina composta. Os sistemas adesivos podem apresentar os três componentes separados ou associados entre si, o que determinará a sua aplicação em 1, 2 ou 3 passos clínicos (25).

Atualmente, a classificação dos sistemas adesivos é baseada no seu mecanismo de ação e no tratamento dado à camada de esfregaço. Eles podem ser chamados de “condicione e lave” ou de “autocondicionante” (10). A última categoria de sistemas adesivos lançada no mercado compreende os adesivos universais, que podem ser utilizados tanto na estratégia “condicione e lave” como na estratégia autocondicionante (25,26).

Quando utilizado sobre a dentina hígida, o sistema adesivo do tipo “condicione e lave” é caracterizado pela inicial aplicação do ácido fosfórico seguido de sua lavagem, cujo objetivo é a completa remoção da camada de esfregaço presente sobre a dentina e dentro dos túbulos dentinários, promovendo a desmineralização (3). Em seguida, são aplicados o primer e o adesivo, que podem estar em frascos separados ou em mesmo frasco. Porém, acredita-se que ocorra uma discrepância entre a profundidade condicionada pelo ácido e a profundidade infiltrada pelos monômeros resinosos do adesivo (27,28). Como consequência, pode ocorrer uma zona de colágeno dentinário exposto e não infiltrado, o qual está vulnerável à degradação hidrolítica e enzimática. Outros fatores podem influenciar negativamente no desempenho de união desse sistema adesivo, como por exemplo, o condicionamento ácido em excesso, o risco de colapamento das fibras colágenas durante a secagem com jatos de ar, e o controle da umidade após a lavagem (27).

Diferentemente dos sistemas “condicione e lave”, os sistemas adesivos autocondicionantes não passam pela etapa do condicionamento ácido separadamente, pois eles têm monômeros ácidos que simultaneamente executam as funções do ácido e do primer (29,30). Dessa forma, não há a etapa de lavagem e remoção total da camada de esfregaço, e sim uma dissolução do fosfato de cálcio que permanece no mesmo local (31). A dissolução da camada de esfregaço ocorre parcialmente e a desmineralização atinge menor profundidade dentinária do que a obtida pelos sistemas do tipo “condicione e lave” (27).

De forma geral, quando os sistemas adesivos são aplicados na dentina afetada ocorre uma desmineralização ácida mais profunda por causa da natureza parcialmente desmineralizada da dentina intertubular (32). Porém, este fato não é uma vantagem. A resistência de união na dentina afetada é menor do que a resistência encontrada na dentina hígida, porque as propriedades mecânicas da dentina afetada são inferiores (33).

O sistema adesivo do tipo autocondicionante, quando utilizado sobre a dentina afetada não é capaz de dissolver e remover os depósitos minerais ácido-resistentes presentes nos túbulos dentinários devido ao pH mais elevado desse sistema. O colágeno desorganizado presente também não é facilmente removido (34), dificultando a infiltração de monômeros do adesivo e influenciando negativamente no selamento da interface adesivo-dentina (35,36). Outra consideração importante está relacionada com a camada de esfregaço formada. A camada de esfregaço na

dentina afetada pela cárie é espessa, irregular e rica em componentes orgânicos em comparação com a dentina hígida. Esse fato também dificulta a penetração dos monômeros adesivos na dentina subjacente, contribuindo para a adesão inferior dos adesivos autocondicionantes à dentina afetada (37).

O sistema adesivo do tipo “condicione e lave” também não é capaz de dissolver completamente os depósitos ácido resistentes presentes na dentina afetada, o que dificulta a formação dos *tags* resinosos. O condicionamento com ácido fosfórico é considerado muito agressivo para ser utilizado sobre a dentina intertubular parcialmente desmineralizada pela cárie. Sendo que a discrepância entre a profundidade de desmineralização e a penetração do adesivo, comuns nesse tipo de sistema, não pode ser evitada (38).

O sistema adesivo universal Single Bond Universal e o sistema autocondicionante Clearfil SE possuem em sua composição o monômero funcional 10-MDP, que é capaz de interagir ionicamente com a hidroxiapatita e quando aplicado na estratégia autocondicionante, promove esta união e ocorre a formação de “nano-camadas” (39). Yoshida et al. (40) propuseram estudar se essa nano-camada realmente se forma sobre a dentina humana hígida ao utilizar os sistemas Single Bond Universal e Clearfil SE. Para a análise ultraestutural foi utilizada a microscopia eletrônica de transmissão. Os autores observaram que ambos os adesivos revelaram nano-camadas na interface adesiva em diferentes graus dependendo do adesivo, não só no interior da camada híbrida, mas também na camada de adesivo propriamente dito, particularmente quando usado o Clearfil SE. Os autores observaram que, em nano-camadas de duas moléculas de 10-MDP, formava-se o sal MDP-Ca, considerado significativamente estável, o que provavelmente faz com que a interface adesiva fique mais resistente à biodegradação e pode ser a explicação para a documentada longevidade clínica de sistemas adesivos que possuem como base o monômero funcional 10-MDP.

Sobre a adesão de sistemas adesivos universais à dentina afetada por cárie, apenas dois estudos de um mesmo grupo de pesquisa foram publicados. O método de análise utilizado foi a resistência de união variando o modo de aplicação do sistema, ou seja, de forma autocondicionante ou “condicione e lave”. Ao comparar os valores obtidos pelo sistema Single Bond Universal sobre as dentinas hígida e afetada por cárie, os autores concluíram que a resistência de união na dentina afetada não foi influenciada pelo modo de aplicação do sistema adesivo. Porém, os

valores foram estatisticamente menores do que os valores obtidos na dentina hígida (41). Os autores também compararam a utilização do sistema universal sobre as dentinas híginas e afetadas de dentes decíduos e de dentes permanentes, e concluíram que a resistência de união na dentina afetada não é influenciada pelo tipo de dentição (decídua ou permanente) e novamente confirmaram que o modo de aplicação dos adesivos universais não influencia na união à dentina afetada (42).

Além da hidroxiapatita, a dentina possui outros componentes minerais que podem ser influenciados durante o processo carioso. A dentina afetada pela cárie apresenta um baixo teor de magnésio (Mg), cálcio (Ca) e fósforo (P) em comparação com a dentina hígida (43). Durante o processo DES-RE, a redução do conteúdo de Mg na dentina começa antes do início da diminuição do teor de Ca e P. Assim, as mudanças no conteúdo de Mg podem ser consideradas o primeiro sinal de desmineralização da dentina por ação da cárie e ocorre na dentina peritubular (44).

À medida que o conteúdo mineral da matriz dentinária é perdido durante o processo carioso, o seu volume é substituído por água. O conteúdo de água da dentina hígida equivale a aproximadamente 10%, enquanto que a dentina afetada pela cárie pode conter de 14% a 53% de água (45). Por outro lado, a permeabilidade da dentina afetada pela cárie diminui devido à oclusão dos túbulos (45). Esses fatores fazem com que a infiltração dos sistemas adesivos na dentina saturada por água não ocorra de forma uniforme, principalmente em camadas mais espessas de dentina afetada pela cárie (46). Após a formação da camada híbrida nesse tipo de dentina, é possível observar regiões bem infiltradas pelo adesivo, exibindo pouca água residual, enquanto que, outras regiões adjacentes podem não estar devidamente infiltradas e podem conter uma quantidade muito pequena de componentes resinosos e ter de 30 a 40% de água residual (47). Acredita-se que esse pequeno conteúdo resinoso em zonas ricas em água resultam em interfaces que se degradam ao longo dos primeiros dois anos. A rigidez dessas interfaces é tão baixa que elas podem falhar por fadiga ao passarem por uma tensão cíclica excessiva sob função normal (48).

A dentina afetada pela cárie apresenta valores de dureza cerca de 50% menores do que os valores da dentina hígida, mesmo com as deposições minerais que ocultam os túbulos dentinários após o processo da cárie (33). Além disso, a resistência à tração de restaurações sobre a dentina afetada é também inferior à da dentina hígida, e há uma correlação positiva entre a microdureza Knoop e a

resistência a tração na dentina afetada pela cárie. Acredita-se que os valores mais baixos de dureza e resistência de união da dentina afetada pela cárie são atribuídos à perda de mineral que acontece na dentina intertubular (49).

A matriz orgânica da dentina contém diferentes proteínas extracelulares, como colágeno tipo I, proteoglicanas, fosfoproteínas e sialoproteínas. Com relação ao conteúdo orgânico na camada de dentina afetada por cárie, a composição de aminoácidos não apresenta diferenças significativas em relação à dentina hígida (50). Entretanto, ocorre uma redução nas ligações intermoleculares do colágeno e uma alteração na sua estrutura, porém, essa mudança é reversível e este fato reforça o conceito de que a dentina afetada pela cárie é passível de remineralização (50).

O problema causado pela fraca resistência de união à dentina afetada pode ser minimizado clinicamente se houver dentina e/ ou esmalte hígidos nas margens da restauração, que possam fornecer maiores valores de união na interface (22). No entanto, considerando que a adesão na parede pulpar da cavidade é fortemente influenciada pela tensão gerada na contração de polimerização das resinas compostas, a baixa força de união à dentina afetada pode causar maior deterioração da interface adesiva (38).

A composição propriamente dita dos adesivos podem afetar a união à dentina afetada pela cárie porém, o efeito das diferentes composições ainda não está claro na literatura (20).

2.2 OS CIMENTOS DE IONÔMERO DE VIDRO E A CÁRIE AFETADA

Anteriormente à consolidação dos sistemas adesivos durante a década de 90, o conceito minimamente invasivo já era aplicado para o tratamento de lesões de cárie profundas e o material comumente utilizado era o cimento de ionômero de vidro (51). O objetivo principal era evitar a remoção desnecessária da estrutura dental, diminuir o risco de exposição pulpar, e tentar estimular o processo de esclerose tubular, reduzindo a permeabilidade da dentina residual afetada (52).

Nesse contexto, era empregado o tratamento restaurador atraumático (ART), que consiste na remoção do esmalte e da dentina infectados pela cárie para impedir a progressão da lesão e induzir a remineralização dos tecidos dentais, ao utilizar o

cimento de ionômero de vidro como material restaurador. Dessa forma, o ART é considerado um tratamento combinado entre a técnica e o material (53).

Os cimentos de ionômeros de vidro (CIV) são utilizados na odontologia nas áreas preventiva e restauradora (54). Os CIVs convencionais são compostos por fluoroaluminossilicato de vidro (pó) e uma solução aquosa de ácido polialcenóico, como o ácido poliacrílico (líquido). Previamente à aplicação do CIV, é recomendada a utilização de um ácido poliacrílico, a fim de desmineralizar o substrato da dentina e expor a rede de fibras colágenas, onde o cimento é infiltrado. Forma-se então uma camada híbrida rasa (1 a 2 μm de profundidade) formada entre o colágeno desmineralizado e o cimento infiltrado, que irá contribuir para adesão micro e nanomecânica (55). Como limitações, os CIVs possuem uma estética insatisfatória, são sensíveis à umidade, possuem baixa tenacidade e baixas resistências de união e ao desgaste (56).

Com o objetivo de melhorar as propriedades mecânicas dos CIVs convencionais, foram introduzidos no mercado os cimentos de ionômero de vidro modificados por resina (57). A interação química com os tecidos dentais é o principal mecanismo de união para esse tipo de ionômero, que ocorre por meio da formação de ligações iônicas entre grupos carboxílicos do CIV modificado por resina e os íons de cálcio do esmalte e da dentina (58). O outro mecanismo de ligação inclui a união micro-mecânica nas irregularidades e porosidades da superfície (57).

Além das propriedades mecânicas adequadas, um cimento de ionômero de vidro também deve fornecer boa vedação e ter a capacidade de remineralização para obter melhores taxas de sucesso clínico. Dessa forma, os conceitos de ART contemporâneos, juntamente com o advento da última geração de sistemas adesivos, influenciaram radicalmente nos procedimentos operatórios para o tratamento da cárie dentária. A aplicação de CIV fotopolimerizáveis na dentina desmineralizada pela cárie em associação a materiais restauradores estéticos representam procedimentos adesivos que são realizados atualmente na odontologia minimamente invasiva (59).

2.3 AS RESINAS AUTOADESIVAS

Recentemente, uma nova categoria de materiais autoadesivos foi desenvolvida: as resinas compostas *flow* autoadesivas. De acordo com as instruções do fabricante, essas resinas não exigem nenhum protocolo de condicionamento ácido ou aplicação de sistemas adesivos previamente à sua utilização. Por isso, o desenvolvimento desse material teve como principal objetivo a simplificação dos passos clínicos (60).

A composição básica das resinas autoadesivas se assemelha à composição dos adesivos autocondicionantes devido à presença de monômeros ácidos que podem variar quanto à sua acidez. Como exemplo, há o monômero dimetacrilato glicerol fosfato com acidez leve (GPDM, pH = 1,9) e os metacrilatos carboxílicos com acidez ultra suave (4-MET) (61). Por essa razão, esse tipo de resina é capaz de condicionar parcialmente o substrato dental e penetrar na camada de esfregaço, formando uma camada híbrida com dimensões submicrométricas (61).

Desde que as resinas autoadesivas foram introduzidas, a maioria das pesquisas publicadas sobre esse material se referem à resistência adesiva aos tecidos dentais e como resultado, a baixa resistência de união das resinas autoadesivas ao esmalte e à dentina hígida foi evidenciada (17-19).

Em virtude dos baixos valores de união encontrados, estudos com o objetivo de aumentar a resistência de união das resinas autoadesivas por meio da utilização de condicionamento ácido prévio e/ou da aplicação de sistemas adesivos foram realizados, mesmo que isso representasse a inclusão de mais uma etapa clínica. Rengo et al. (18) realizaram um estudo com a finalidade de avaliar a influência do condicionamento ácido no selamento marginal de restaurações confeccionadas com um sistema adesivo autocondicionante associado à resina autoadesiva Vertise *Flow* em comparação a uma resina *flow* convencional. Foi analisada a interação desses materiais com o esmalte e com a dentina. Os autores concluíram que o condicionamento ácido não beneficiou o selamento das restaurações em esmalte. Em dentina, o condicionamento ácido influenciou negativamente o selamento das restaurações confeccionadas com a resina *flow* autoadesiva.

Com o objetivo de avaliar a resistência de união e a capacidade de selamento de uma resina composta autoadesiva, Vichi et al. (61) se propuseram a comparar o desempenho da resina Vertise *Flow* com o de quatro sistemas adesivos associados às resinas compostas *flow* convencionais, por meio de ensaios de cisalhamento,

microinfiltração e microscopia eletrônica de varredura. Os materiais foram aplicados sobre esmalte e dentina. Em relação à resina *Vertise Flow*, os autores observaram satisfatório selamento marginal, porém a resistência de união foi menor quando comparada à resistência obtida pelos sistemas adesivos testados quando associados às resinas compostas convencionais.

Pesquisas sobre algumas propriedades mecânicas foram realizadas (14-16). Salermo et al. (14) desenvolveram um estudo com o objetivo de caracterizar a morfologia de superfície e as propriedades mecânicas de quatro resinas *flow* presentes no mercado e utilizadas com finalidade restauradora. Entre elas, foi testada uma resina *flow* autoadesiva e uma resina composta convencional foi considerada como controle. Os espécimes eram constituídos apenas pelo material a ser testado confeccionado em matrizes de teflon. Como método de análise, foram utilizados: microscopia eletrônica de varredura, microscopia de força atômica e nanoindentação (dureza e módulo de elasticidade). Os autores observaram que a resina autoadesiva *Vertise Flow* e as resinas do tipo *flow* Filtek XT e a Surefil SDR exibiram rigidez semelhante à resina composta convencional. A análise dos componentes das resinas confirmou que as propriedades mecânicas das resinas são otimizadas com o aumento de partículas de carga em sua composição. A resina *flow* que obteve os maiores valores de dureza e módulo de elasticidade foi a resina *Vertise Flow*, mesmo com partículas de carga representando apenas 40% de seu volume. Os autores concluíram que apesar de as resinas *flow*, via de regra, possuírem propriedades mecânicas insuficientes para serem utilizadas como material restaurador em restaurações amplas como as resinas do tipo *bulk*, a resina *Vertise Flow* pode representar uma exceção a esse consenso ao evidenciar resultados promissores neste estudo laboratorial.

Pesquisas sobre a morfologia da interface adesiva formada pelas resinas autoadesivas e a dentina ainda são escassas na literatura. Os estudos realizados com esse objetivo utilizaram a microscopia eletrônica de varredura, a tomografia de coerência óptica, a microscopia confocal de varredura a laser e a microscopia de transmissão como métodos de análise. Como resultados, os autores detectaram fendas ao longo da interface (1,62) e baixa interação com a dentina (60).

Em 2017 foi publicado um estudo com o objetivo de caracterizar ultramorfologicamente a interface formada entre uma resina autoadesiva e o esmalte, assim como, entre a mesma resina e a dentina, por meio da microscopia

eletrônica de transmissão e da análise da microinfiltração de nitrato de prata. Como fator de variação, as superfícies de esmalte e dentina foram tratadas, anteriormente à adesão, de três formas: com pontas diamantadas, com lixas de polimento ou através da fratura dental (com a finalidade de obter superfícies sem camada de esfregaço). Os autores observaram que a efetividade na adesão da resina autoadesiva ao esmalte e à superfície dentinária coberta por uma camada de esfregaço é menos eficaz do que a dos adesivos atuais. Os autores salientaram que as interfaces investigadas neste estudo eram superfícies planas e que em situações clínicas, onde uma configuração menos plana está presente, a interface pode ser mais desafiada e apresentar mais falhas.

Baseando-se na literatura, é possível observar que as características da interface criada entre dente e resina autoadesiva e a sua capacidade de adesão é um tema atualmente estudado. Porém, para que os resultados já evidenciados possam ser melhor compreendidos e o cirurgião-dentista tenha segurança na indicação das resinas autoadesivas, fazem-se necessários estudos sobre as propriedades mecânicas desse material simulando situações clínicas. Não há na literatura nenhuma pesquisa envolvendo as resinas autoadesivas e a dentina afetada por cárie.

2.4 O ESTUDO DA INTERFACE ADESIVA

Vários são os aspectos que devem ser considerados em relação à eficiência e à durabilidade da adesão de materiais aos tecidos dentais. Podem ser incluídos a heterogeneidade da estrutura dental e sua composição, a hidrofília da dentina, as características do substrato dental após a instrumentação da cavidade (3) e as características específicas do próprio material, como por exemplo, suas propriedades mecânicas e seu mecanismo de união com o esmalte e com a dentina (3,31).

As propriedades mecânicas dos sistemas adesivos e da interface envolvida na adesão de restaurações de resinas compostas, ou seja, camada híbrida, dentina e resina composta têm sido relacionadas à qualidade da adesão (63). A dureza, em particular, é considerada uma grandeza eficaz tanto para avaliar como para prever o desempenho de materiais dentários (64). A mensuração da dureza representa uma

forma indireta de avaliação do grau de polimerização e é relacionada à detecção de sinais de degradação quando as interfaces são avaliadas a longo prazo (65,66).

As características do substrato dental também desempenham um papel importante no mecanismo de adesão, principalmente do substrato dentinário (67). Com relação à dureza da dentina, sabe-se que a dentina afetada apresenta menor microdureza do que a dentina hígida (68). A microdureza da dentina depende da quantidade de matriz mineralizada por milímetro quadrado (69). Dessa forma, a mensuração da dureza pode ser realizada para a obtenção de evidências indiretas da perda ou ganho mineral na dentina afetada (70). Com a formação da camada híbrida, observa-se então uma transição gradual entre os diferentes componentes, o que pode resultar em um gradiente heterogêneo de propriedades mecânicas (71).

Ao criar artificialmente lesões de cárie, os pesquisadores podem controlar a profundidade das lesões e a sua perda mineral. Assim, é possível padronizar algumas características das lesões induzidas (72), visto que, ao utilizar lesões de cárie naturais uma grande variabilidade é encontrada, além da dificuldade prática e ética para trabalhar com essas lesões (72-74).

Para a criação de lesões de cárie *in vitro*, os estudos utilizam métodos químicos e métodos bacterianos (75,76). Os métodos químicos utilizam substâncias desmineralizadoras com diferentes pH e podem obter como resultado propriedades mecânicas, como a dureza, semelhantes às das lesões naturais (75). Por outro lado, o método bacteriano é capaz de produzir uma morfologia dentinária mais próxima da encontrada nas cáries naturais porém, são tecnicamente mais difíceis de realizar em comparação à desmineralização química (75).

Para observação e descrição da morfologia das interfaces de união, as microscopias são amplamente utilizadas e compreendem variados métodos de análise. A versatilidade da microscopia eletrônica de varredura (MEV) proporciona a obtenção de informações significativas sobre a interface adesiva formada entre os tecidos dentários e os biomateriais adesivos restauradores, por meio da reflexão de elétrons localizados sobre a superfície da amostra (77). Além disso, a técnica de preparação de espécimes para MEV é menos destrutiva em comparação à microscopia eletrônica de transmissão, por exemplo (77,78). Ao utilizar a MEV, é possível obter as características morfológicas da interface, mensurar a espessura da camada híbrida e da camada de adesivo, observar e mensurar os *tags* formados (79) assim como as bolhas e fendas presentes (1).

A microscopia confocal de varredura a laser representa um método pouco invasivo e não destrutivo para estudar a morfologia da interface de união entre materiais e a dentina (80). Este método de análise é adequado para estudar a presença de materiais adesivos, restauradores e cimentantes infiltrados na dentina. O preparo dos espécimes consiste na incorporação prévia de marcadores fluorescentes (corantes) nos materiais a serem estudados, para que, durante o escaneamento da interface a laser, os fluoróculos presentes nos marcadores sejam excitados e a localização precisa dos materiais infiltrados ou não, seja detectada (81). Em uma única interface, é possível utilizar vários marcadores para identificar diferentes materiais e estruturas que a compõem, pois eles podem ser diferenciados de acordo com o comprimento de onda utilizado para estimulá-los (81). Essa técnica permite a visualização de *tags* de resina, a mensuração da espessura da camada de adesivo, a avaliação de possíveis defeitos ou alterações na interface de restaurações e a observação da morfologia da camada híbrida formada em finas secções ópticas, o que permite a construção de imagens tridimensionais da área analisada (82,83).

Em alguns estudos, a microscopia confocal é utilizada com a finalidade de ilustrar e justificar os resultados encontrados por outros métodos de análise, como a resistência adesiva por exemplo (84). Em outros estudos da literatura, a microscopia confocal é utilizada em comparação a outras microscopias, como a microscopia eletrônica de transmissão, ou em comparação à tomografia de coerência óptica com o objetivo de reforçar as características observadas nas interfaces (62,85). Porém, esta microscopia também tem sido utilizada como método principal de avaliação das características de interfaces formadas tanto por sistemas adesivos como por cimentos de ionômero de vidro e cimentos resinosos utilizados para a cimentação de retentores intra-canais e peças protéticas. Isso, em virtude da mínima intervenção nos espécimes durante o seu preparo e por evidenciar de forma clara a interação dos materiais com a superfície dental (56)

Se a tendência futura dos materiais dentários é a simplificação dos procedimentos operatórios, o desenvolvimento de um produto de passo único ou de sistemas simplificados torna-se uma proposta de interesse por parte dos fabricantes de produtos odontológicos e dos cirurgiões-dentistas. Porém, antes da aplicação clínica, a interação dos materiais com a superfície dental e as propriedades desses

materiais recentemente desenvolvidos precisam ser avaliadas *in vitro* de forma a simular situações clínicas da atualidade.

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo deste estudo foi analisar a interface adesiva entre uma resina autoadesiva e a dentina humana hígida e afetada por cárie, em comparação a interface formada por dois materiais (sistema adesivo e cimento de ionômero de vidro) quanto às seguintes propriedades:

1. Microdureza das camadas que compõem a interface adesiva (camada de material, camada híbrida e dentina) com o uso dos três materiais;
2. Características morfológicas das diferentes interfaces formadas por meio da microscopia eletrônica de varredura e da microscopia confocal de varredura a laser.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ATENDIMENTO ÀS NORMAS DE BIOÉTICA

Inicialmente, o projeto de pesquisa foi encaminhado ao Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (CEP-FOUSP) para a sua aprovação e ao Biobanco de Dentes Humanos da FOUSP para a obtenção dos dentes humanos. Número do parecer: 1.730.988 (Anexo A).

4.2 A AMOSTRA

4.2.1 Preparo inicial da amostra

No total, considerando os espécimes excluídos durante as etapas experimentais, foram utilizados 54 molares humanos hígidos, não erupcionados e recém-extraídos. Os dentes foram limpos com curetas periodontais, escova de Robinson e pasta de pedra pomes e água e avaliados em lupa estereoscópica com aumento de 50x para que dentes com defeitos estruturais pudessem ser excluídos da amostra. Os dentes selecionados foram armazenados em solução de timol 0,1% em geladeira (~4°C) até o momento da utilização.

A superfície oclusal dos dentes foi removida com o auxílio de lixas de carboneto de silício de granulação 180 (Buehler Ltd., Lake, IL, USA), acopladas em politriz (Ecomet, Buehler Ltd., Lake, IL, USA) sob refrigeração, para a exposição da dentina oclusal. Posteriormente, as raízes foram seccionadas com discos diamantados dupla face acoplados em máquina de corte sob refrigeração (Labcut 1010, Extec, Enfield, USA).

Foram confeccionados preparos cavitários com dimensões de 6 mm de largura x 2 mm de altura x 2 mm de profundidade (Figura 4.1), utilizando uma ponta diamantada nº1090 (KG Sorensen, Cotia, SP, Brasil) em alta rotação, sob refrigeração. Para a padronização dos preparos, foi confeccionado um padrão em uma folha de acetato para delimitar a forma de contorno dos preparos. Para padronizar a profundidade, foi realizada uma marcação na ponta diamantada. Após

a confecção dos preparos, a profundidade era confirmada com o auxílio de uma sonda periodontal milimetrada. A limpeza das cavidades foi realizada com pasta de pedra pomes e água associada a uma escova de Robinson em baixa rotação, seguida de lavagem abundante.

Figura 4.1 – Esquematização da confecção do preparo cavitário

4.2.2 Preparo da amostra para o desafio cariogênico

Os espécimes foram fixados nas extremidades de fios de aço com cola de cianocrilato de etila (SuperBonder® gel, Loctite, Henkel Ltda) (Figura 4.2a). Esses conjuntos dente/fio foram fixados na tampa de um recipiente, em que posteriormente foi armazenado o meio de cultura ideal para o desafio cariogênico. Os espécimes foram posicionados de forma que ficassem em uma altura similar, sem encostar uns nos outros e nem nas paredes do recipiente.

Esta etapa do estudo consistiu no preparo dos espécimes para a fase microbiológica (86,87). O objetivo era produzir dentina afetada por cárie apenas na metade da parede pulpar dos preparos cavitários. Para que isso fosse possível, todo o restante do espécime foi isolado com esmalte cosmético (Figura 4.2b). O recipiente foi preenchido com água destilada, suficiente para que os espécimes ficassem submersos, e foi enviado para a esterilização com radiação gama (25Kgy) no Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN – USP).

Figura 4.2 – Espécimes fixados em fios metálicos (a) e recipiente contendo os espécimes isolados com esmalte cosmético para o desafio cariogênico (b)

4.2.3 Cultura bacteriana

A cepa de *S. mutans* utilizada para a obtenção da dentina afetada por cárie foi a UA159 (sorotipo c), de cariogenicidade conhecida e mantida em estoque congelada em glicerol (86,87).

Para o seu cultivo, foi preparado o meio de cultura *Tryptic Soy Broth* (TSB, Difco, Livonia, MI, EUA). Trata-se de um meio líquido o qual foi preparado segundo as orientações do fabricante, enriquecido com sacarose a 5% (Synth, Diadema, São Paulo, SP), esterilizado em autoclave e armazenado em temperatura ambiente até o momento do uso.

Para o controle de contaminação, preparado o meio de cultura sólido *Tryptic Soy Agar* (TSA, Difco, Livonia, MI, EUA), o qual foi produzido segundo as orientações do fabricante e esterilizado em autoclave. Em seguida, esse meio, ainda em sua fase líquida, foi transferido para placas de Petri, as quais permaneceram em temperatura ambiente ($\pm 21^{\circ}\text{C}$) durante 24 h para confirmar que não havia contaminação do meio durante o processo. Posteriormente, as placas de Petri foram armazenadas em geladeira (4°C) até o momento do uso.

Após o preparo dos meios, 15 ml de TSB foram transferidos para um tubo Falcon e 100 μl da cepa de *S. mutans* foram adicionados ao tubo, seguido de armazenamento a 37°C , em câmara de CO_2 durante 24 h para cultivo bacteriano e

obtenção do caldo inóculo. De acordo com esta descrição, foram preparados dois tubos Falcon.

Ao fim deste período de incubação, foi verificado se não havia contaminação oportunista nos tubos e se as culturas estavam compostas apenas pelo *S. mutans*. Para esta verificação, as culturas foram semeadas, através da técnica de esgotamento em duas placas de Petri contendo o meio TSA, e armazenadas a 37°C em câmara de CO₂ durante 48 h.

Foi confirmada a ausência de contaminação. Em seguida, dois novos tubos Falcon contendo 20 ml de TSB receberam 500 µl do caldo inóculo de seu tubo correspondente. Este procedimento foi repetido durante 6 dias para o crescimento bacteriano (Figura 4.3).

Após este período, foi realizada a contagem das bactérias presentes em cada tubo. Como os tubos apresentavam caldos com turvação, a absorbância dos caldos foi medida pelo equipamento espectrofotômetro no comprimento de onda de 600 nm. O parâmetro zero utilizado foi a absorbância do meio de cultura sem o caldo inóculo e o tubo mais turvo apresentou o valor de 0,921 e foi o caldo inóculo utilizado no desafio cariogênico.

Figura 4.3 – Esquematização da obtenção do caldo inóculo

4.2.4 Desafio cariogênico

No recipiente contendo os espécimes esterilizados, foram adicionados 200 ml de meio TSB e 2 ml do caldo inóculo. O mesmo foi armazenado a 37°C em câmara de CO₂. A cada 24 h a tampa do recipiente contendo os espécimes fixados era rosqueada em um novo recipiente, idêntico e estéril, contendo 200 ml de novo TSB. Este procedimento foi repetido a cada 24 h durante 5 dias (Figura 4.4).

Figura 4.4 – Esquematisação do desafio cariogênico

Durante esse período, além da troca de meio, foi realizado diariamente o controle de contaminação. Com o auxílio de uma alça plástica, uma amostra do meio contendo o crescimento bacteriano das últimas 24 h foi semeada no meio TSA e mantida a 37°C em câmara de CO₂. No dia seguinte, a cultura foi analisada em lupa para a confirmação da ausência de contaminação.

Ao término do desafio, os espécimes foram destacados dos fios de aço e o biofilme formado foi lavado com água destilada e removido com gaze. O esmalte cosmético foi removido com instrumentos cortantes manuais. Os espécimes foram limpos com pasta de pedra pomes e água e ficaram armazenados de forma individual e submersos em água destilada a 4°C até o momento do uso. A eficiência do desafio e a confirmação da produção da dentina afetada foi realizada por meio de sondagem com explorador e exame radiográfico (86). Durante a sondagem, era

possível identificar uma diferença tátil entre a dentina hígida e afetada sem que houvesse descolamento de dentina. No RX, caso cavitações fossem identificadas, o espécime era descartado. As figuras 4.5 a 4.10 ilustram o desafio cariogênico.

Figura 4.5 – Espécimes contendo biofilme durante a troca de meio

Figura 4.6 – Espécimes durante o desafio cariogênico (Frasco escurecido devido à radiação gama)

Figura 4.7 – Os espécimes encharcados pelo caldo são suficientes para o crescimento bacteriano no novo meio

Figura 4.8 – Espécime evidenciando metade da parede pulpar afetada por cárie

Figura 4.9 – Análise em microscópio para controle de contaminação

Figura 4.10 – Placa de Petri contendo crescimento apenas de *S. mutans*

4.3 PROCEDIMENTOS RESTAURADORES

4.3.1 Para os ensaios de microdureza e MEV

As cavidades foram restauradas de acordo com os grupos experimentais abaixo:

Grupo Single Bond Universal (SB) – o sistema adesivo Single Bond Universal (3M ESPE, Seefeld, Bayern, Alemanha) foi aplicado sobre a dentina úmida, segundo a estratégia autocondicionante. Uma camada do adesivo foi aplicada de forma ativa por 20 s seguido de secagem com ar por 5 s. Uma segunda camada foi aplicada e fotoativada por 20 s. A resina Filtek Z350 XT *Flowable Restorative* (3M ESPE, Seefeld, Bayern, Alemanha) foi inserida em duas porções (1 mm cada) com a ponta aplicadora do produto. A fotoativação foi de 20 s por camada.

Grupo Fuji II Light-Cured (FU) – previamente à inserção do cimento de ionômero de vidro (CIV), foi aplicado o condicionador cavitário Cavity Conditioner (GC Corporation, Tóquio, Japão) durante 10 s com uma mecha de algodão. A cavidade foi lavada e seca com papel absorvente deixando a dentina úmida. O CIV Fuji II LC (GC Corporation, Tóquio, Japão) foi proporcionado e manipulado segundo as orientações do fabricante. O CIV foi inserido na cavidade em duas camadas, com auxílio da seringa Centrix® utilizando a ponta aplicadora de diâmetro intermediário (Centrix Incorporated, Shelton, USA). Cada camada foi fotoativada por 20 s. Ao final, foi aplicado um selante de superfície fotoativado sobre a restauração (GC Fuji COAT LC; GC Corporation, Tóquio, Japão).

Grupo Vertise *Flow* (VF) – a resina composta autoadesiva Vertise *flow* (Kerr Co., Orange, CA, USA) foi aplicada com auxílio do aplicador original do produto e segundo a orientação do fabricante: aplicação de uma pequena porção da resina com a ponta dispensadora e com o auxílio do pincel, a resina foi adaptada em todas as paredes da cavidade exercendo uma pressão moderada durante 20 s, formando uma fina camada de aproximadamente 0,5 mm. Fotoativação por 20 segundos. O restante da cavidade foi preenchido com duas camadas que foram fotoativadas por 20 s cada.

Figura 4.11 – Forma de apresentação dos materiais utilizados

A composição dos materiais fornecida pelos fabricantes pode ser observada na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 – Composição básica dos materiais utilizados

Material	Composição básica
Single Bond Universal (EM – ESPE) Lotes: 643238; 645031	BIS-GMA, monômero fosfato MDP, HEMA, metacrilato modificado com copolímero do ácido poliacenóico, etanol, água, iniciadores, silano
Filtek Z350 XT Flow (3M - ESPE) Cor: A2 Lote: N831098	BIS-GMA, TEGDMA e Procrilat K; fluoreto de itérbio (0,1 a 0,5 μm), sílica (20 e 75 nm) e aglomerados de sílica e zircônia (0,6 a 10 μm)
Cavity Conditioner (GC) Lote: 1605031	Solução de ácido poliacrílico
Fuji II LC (GC) Cor: A2 Lotes: 1702081(pó); 1702091(liq.) 1612011(pó); 1611251(liq.)	Pó: vidro de fluoraluminossilicato (95%, 5,9 μm), ácido poliacrílico (5%). Líquido: ácido poliacrílico (30-40%), TEGDMA, água destilada (50-55%)
Vertise Flow (Kerr) Cor: A2 Lote: 6180390	GPDM e co-monômeros de metacrilato, partículas pré-polymerizadas, bário de vidro, nanopartículas de sílica coloidal e fluoreto de itérbio (1 μm)

Durante a confecção das restaurações de todos os grupos, foi posicionada sobre a última camada do material inserido uma tira de matriz de poliéster a qual foi mantida em posição durante a fotoativação. Foi utilizado o fotoativador Bluephase (Ivoclar; Victoria, Australia, AU), com intensidade de aproximadamente 1000 mW/cm². Os espécimes foram armazenados em água destilada a 37°C durante 24 h.

Após esse período, os espécimes foram incluídos em resina epóxica Epofix (Struers; Ballerup, Denmark) com o auxílio de matrizes quadradas (1,2 cm X1,2 cm) e armazenados em estufa a 37°C durante 24 h para a completa polimerização da resina epóxica.

Os espécimes foram cortados no sentido vestibulo-lingual, utilizando um disco diamantado acoplado em um equipamento para corte de dentes (Isomet 1000, Buehler Ltd.; Lake Bluff, IL, USA), sob refrigeração, para a obtenção de dois espécimes por dente, um mesial e outro distal, sendo um envolvendo a dentina hígida e outro a dentina afetada por cárie. Foram realizadas marcações previamente à confecção das restaurações, indicando o local exato entre as duas dentinas para a realização desse corte.

Desta forma, as análises foram realizadas de acordo com os 6 subgrupos formados (Quadro 4.1).

Quadro 4.1 – Subgrupos experimentais

Subgrupos	Composição da interface
Grupo SBH	Single Bond Universal + Filtek <i>Flow</i> + dentina hígida
Grupo SBA	Single Bond Universal + Filtek <i>Flow</i> + dentina afetada
Grupo FUH	Fuji II LC + dentina hígida
Grupo FUA	Fuji II LC + dentina afetada
Grupo VFH	Vertise <i>Flow</i> + dentina hígida
Grupo VFA	Vertise <i>Flow</i> + dentina afetada

A superfície de interesse exposta pelo corte, contendo a interface adesiva, foi inicialmente desgastada para eliminar a área de transição entre dentina hígida e afetada por cárie e, em seguida, polida com discos de desbaste diamantados (Apex DGD, Buehler Ltd.; Lake Bluff, IL, USA) em uma sequência de granulação

decrecente: 75 μm (vermelho) durante 30s, 45 μm (púrpura) por 30 s, 35 μm (amarelo) por 60 s, 15 μm (branco) por 60 s e 8 μm (azul) por 90 s, sob refrigeração, adaptados à base magnética da politriz Ecomet e com velocidade de 300 r.p.m. O polimento foi realizado com soluções de diamante policristalino de 6 μm , 3 μm e 1 μm associadas aos panos MasterTex, PoliCloth e VelTex (Buehler Ltd; Lake Bluff, IL, USA), respectivamente. Foram realizadas lavagens com água destilada em cuba ultrassônica após a utilização de cada disco e de cada pano durante 180 s, sendo a lavagem final durante 5 minutos, para limpeza e remoção dos resíduos originados durante a etapa do polimento. Neste momento os espécimes estavam prontos para a análise da microdureza.

4.4 PREPARO COMPLEMENTAR PARA LEITURA EM MEV

Para análise em microscopia eletrônica de varredura, os espécimes finalizados foram desmineralizados sendo imersos individualmente (Figura 4.12a) em ácido clorídrico 1M durante 30 s, seguido de lavagem em água destilada durante 1 min. Em seguida, foram desproteinizados com hipoclorito de sódio a 1%, onde permaneceram imersos durante 30 min, seguido de lavagem em água destilada por 1 min.

Os espécimes foram imersos em solução de glutaraldeído a 2,5%, para fixação, durante 2 h. A seguir, foram imersos em solução tampão de fosfato de sódio 0,1 M durante 5 min. Esse processo de lavagem foi repetido 3 vezes.

Posteriormente, os espécimes foram desidratados por meio da imersão em uma sequência de soluções de álcool com concentração em ordem crescente: 30%, 50%, 70%, 90%, 96% e absoluto. Cada imersão durava 10 min, sendo que na metade do tempo, o álcool era renovado. Para o álcool absoluto, o tempo de imersão foi de 20 min, também sendo renovado a cada 5 min.

Para a secagem, os espécimes foram imersos em hexadimetil disilazona (HMDS, Sigma-Aldrich; St. Louis, MO, EUA) durante 20 min. O excesso de HMDS foi removido e os espécimes permaneceram em capela com exaustor durante 2 h para a sua completa evaporação.

Os espécimes foram fixados em *stubs* com o auxílio de fita dupla face de carbono e foram levados à metalizadora para o recobrimento com uma camada de platina para a análise em MEV (Figura 4.12b).

Figura 4.12 – Espécimes armazenados individualmente durante os processos de desmineralização, desproteinização, lavagem, fixação, desidratação e secagem (a). Espécimes metalizados e fixados em *stubs* para leitura em MEV

4.5 PREPARO DOS MATERIAIS ADESIVOS/RESTAURADORES PARA MICROSCOPIA CONFOCAL

Para análise em microscopia confocal foi necessário adicionar aos materiais adesivo/restaurador um corante fluorescente (marcador), na concentração de 0,1% do volume, para que fosse detectado na análise microscópica (82).

O marcador utilizado foi a rodamina 6G em pó (Molecular Probes by Life Technologies, Eugen, OR, EUA) sendo que, para o adesivo Single Bond Universal foi incorporado 0,96 mg de rodamina diretamente no seu frasco original (82). Para o cimento de ionômero de vidro Fuji II LC foi incorporado 0,41mg ao líquido, diretamente no seu frasco original. Os frascos permaneceram em constante movimentação em máquina agitadora (Scilogex SK-O180-E Analog Orbital Shaler; Scilogex LLC, Rocky Hill/CT, EUA) por duas horas, para a completa dissolução do marcador, e permaneceram armazenados em geladeira e ao abrigo de luz para que o marcador não perdesse a sua fluorescência (4.13 a e b).

O mesmo marcador foi incorporado na resina Vertise *flow*. Por se tratar de um material mais consistente, o mesmo foi espatulado juntamente com o marcador em

pó (0,00013mg/13g) sobre papel específico para esta finalidade até que o material apresentasse cor homogênea. O material era transferido para a seringa Centrix® e utilizado imediatamente para a restauração dos espécimes. A ponteira mais fina do sistema Centrix® foi utilizada por ter exatamente o mesmo diâmetro da ponteira original da resina Vertise *flow*.

Com os materiais marcados, o procedimento restaurador, assim como, a inclusão, o corte, o polimento e a limpeza dos espécimes foram realizados da mesma forma descrita acima para os espécimes de microdureza (Figura 4.13c).

Figura 4.13 – Materiais após a incorporação do marcador rodamina 6G (a e b) e espécimes finalizados para a leitura em microscopia confocal (c)

4.6 MICRODUREZA

Após o polimento, os espécimes (n=5) foram posicionados no microdurômetro (HMV-G21DT, Shimadzu Co., Tokyo, Japan) para a obtenção dos valores de dureza utilizando a carga de 50 mN e 30 s de espera. Foram realizadas 5 indentações no sentido horizontal localizadas com distância de 100 µm no sentido horizontal ao longo de cada camada de interesse. As camadas avaliadas foram três: a camada do material adesivo/restaurador, a camada híbrida e a dentina. Assim, foram 15 indentações por espécime.

No sentido vertical, as indentações, tanto na camada de material como na camada híbrida, eram realizadas o mais próximo possível da interface entre material/dente. A distância de 50 µm entre elas era mantida para garantir que uma indentação não iria interferir na outra. A distância entre a indentação da camada

híbrida e a indentação realizada apenas em dentina foi de 100 μm . Essa distância foi estabelecida em estudo piloto em que indentações foram realizadas no sentido vertical, partindo da camada híbrida em direção a dentina até que não houvesse mais a presença de material infiltrado nos túbulos dentinários. Esta distância foi ainda confirmada nas análises de microscopia confocal em que foi possível mensurar a profundidade de penetração dos materiais testados na dentina.

Para análise estatística, foi considerada a média dos valores de dureza em cada camada.

Figura 4.14 – Esquematização das indentações na interface entre adesivo e dentina

Figura 4.15 – Esquematização das indentações nas interfaces entre resina autoadesiva e dentina ou entre cimento de ionômero de vidro e dentina

Figura 4.16 – Equipamento microdurômetro HMV - G21DT

Figura 4.17 – Imagens das indentações realizadas nas camadas de adesivo (a), dentina (b) e camada híbrida (c).

4.7 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

Os espécimes (n=3) foram analisados no microscópio eletrônico de varredura Quanta FEG 650 (FEI, Oregon, EUA) no Laboratório de Caracterização Tecnológica, instalado no Departamento de Engenharia de Minas e de Petróleo da Escola Politécnica da USP (Figura 4.17a). O microscópio foi utilizado em alto vácuo e ótica eletrônica com operação de 10.00 a 15.00 kV. Foram capturadas eletromicrografias nos aumentos de 1000x, 2500x, 5000x e 10000x no centro da parede de fundo das cavidades e a distância de trabalho foi de 10 mm.

4.8 MICROSCOPIA CONFOCAL

Os espécimes (n=10) foram analisados no Centro de Facilidades para a Pesquisa (CEFAP) da USP (Figura 4.17b), localizado no Instituto de Ciências Biomédicas IV. Os espécimes foram posicionados em um suporte circular para microscopia e levados para análise no microscópio confocal de varredura a laser Zeiss LSM 780-NLO (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Jena, Alemanha). A leitura da interface foi realizada pelo feixe laser de Hélio Neônio (HeNe) com 543 nm e potência de 5%. Foi utilizado um filtro de emissão nos comprimentos de onda de 563 nm a 633 nm para detectar a fluorescência dos materiais previamente marcados. Uma série de imagens representando cortes virtuais de 4 μ m de espessura foram obtidas do centro da parede pulpar de cada espécime nos aumentos de 200x e 600x. A imagem final representa a sobreposição das imagens obtidas e possui a dimensão de 1.024 pixels.

Figura 4.18 – Equipamentos Quanta FEG 650 (a) e Zeiss LSM 780-NLO (b)

4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

4.9.1 Análise Quantitativa - Microdureza

Os resultados originais consistiram de 450 valores de microdureza obtidos das três camadas avaliadas: camada de material, camada híbrida e dentina. Para a análise estatística, foi utilizada a média dos valores das 5 indentações realizadas em cada camada, de forma que, foi atribuído um valor de microdureza para cada camada por espécime, resultando em 90 dados.

Foi aplicada a análise de variância (ANOVA) dois fatores (material restaurador e tipo de dentina) para cada camada da interface adesiva separadamente. O teste de Tukey foi realizado para detectar as diferenças estatísticas entre os subgrupos amostrais. Os testes estatísticos foram realizados no programa Origin 2017 Professional.

4.9.2 Análise Qualitativa – MEV

A análise qualitativa foi baseada em quatro eletromicrografias representativas de cada grupo obtidas em aumentos distintos (1000x, 2500x, 5000x e 10000x). As características ultramorfológicas das interfaces criadas foram descritas com o objetivo de compará-las entre si, visto que foram utilizados três materiais que atuam por diferentes mecanismos de união e que foram utilizados sobre a dentina hígida e dentina afetada por cárie.

4.9.3 Análise Qualitativa – Microscopia Confocal

A análise qualitativa foi baseada em duas imagens representativas de cada grupo obtidas nos aumentos de 200x e 600x. As características morfológicas das interfaces criadas foram analisadas e descritas. O objetivo principal desta análise foi detectar a penetração dos materiais na dentina e comparar as características entre as diferentes interfaces estudadas.

5 RESULTADOS

5.1 MICRODUREZA

Os resultados originais consistiram de 450 dados de dureza: 3 camadas analisadas por espécime (material, camada híbrida e dentina), 5 indentações em cada camada, 2 tipos de dentina (hígida e afetada), 5 repetições e 3 materiais estudados (adesivo, cimento de ionômero de vidro e resina autoadesiva) ($3 \times 5 \times 2 \times 5 \times 3 = 450$).

Os dados foram tabulados e a análise estatística foi realizada separadamente para cada camada. Para os dois fatores de variação (material e tipo de dentina) foi realizada a ANOVA e teste de Tukey utilizando o programa Origin Pro 2017.

5.1.1 Camada de material

Para a análise estatística, foram calculadas as médias das 5 indentações realizadas na camada de material de cada espécime, o que resultou em 30 valores (Tabela 5.1).

Tabela 5.1 – Média dos valores de dureza Knoop das indentações realizadas na camada de material

	SB Universal	Fuji II	Vertise Flow
Dentina Hígida	23,50	51,18	45,94
	23,20	53,88	45,10
	21,52	52,80	45,10
	19,96	52,86	44,60
	21,58	54,06	43,14
Dentina Afetada	22,72	50,80	46,28
	23,32	53,72	44,70
	21,62	52,40	44,34
	19,68	51,86	43,96
	21,26	54,02	42,92

Para a comparação entre os grupos foi calculada a ANOVA (Tabela 5.2), a qual demonstrou haver diferença estatística significativa entre todos os materiais utilizados para compor a interface adesiva com a dentina ($p < 0,05$). As médias comparadas entre si pelo teste Tukey demonstraram que o cimento de ionômero de vidro Fuji II ($M=52,75 \pm 1,2$) evidenciou os maiores valores de dureza, seguido da resina composta Vertise *Flow* ($M=44,6 \pm 1,1$) e do sistema adesivo Single Bond Universal ($M=21,8 \pm 1,4$).

O substrato não influenciou na dureza do material, de forma que, não foram detectadas diferenças estatisticamente significantes quando utilizados sobre as dentinas hígida e cariada ($p=0,4956$) e nem quando analisada a interação de materiais versus tipo de dentina ($p=0,98942$). Ver Tabela 5.2 e Gráfico 5.1.

Tabela 5.2 – ANOVA de dois fatores para a variável dureza da camada de material

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F	p
Material	5137,18856	2	2568,59428	813,3233	$1,5423E^{-13}$
Resíduo 1	37,89776	12	3,15815	-	-
Substrato	0,77441	1	0,77441	10,10808	0,00793
Interação	0,03443	2	0,01721	0,22468	0,80206
Resíduo 2	0,91936	12	0,07661	-	-

Tabela 5.3 – Médias e desvios padrão para a variável dureza da camada de material

	SB Universal	Fuji II	Vertise Flow	Média
Hígida	$21,9 \pm 1,4^{Ac}$	$52,9 \pm 1,1^{Aa}$	$44,8 \pm 1,0^{Ab}$	$39,87 \pm 1,17$
Afetada	$21,7 \pm 1,4^{Ac}$	$52,6 \pm 1,3^{Aa}$	$44,4 \pm 1,2^{Ab}$	$39,57 \pm 1,3$
Média	$21,8 \pm 1,4$	$52,75 \pm 1,2$	$44,6 \pm 1,1$	-

Letras distintas indicam diferença estatística ($p < 0,05$). Análise entre colunas (minúsculas) e entre linhas (maiúsculas).

Gráfico 5.1 – Médias e desvios padrão para a variável dureza da camada de material sobre as dentinas hígida e afetada por cárie

5.1.2 Camada híbrida

Para a análise estatística, foram calculadas as médias das 5 indentações realizadas na camada híbrida de cada espécime, o que resultou em 30 valores (Tabela 5.4).

Tabela 5.4 – Média dos valores de dureza Knoop das indentações realizadas na camada híbrida

	SB Universal	Fuji II	Vertise Flow
Dentina Hígida	32,84	26,18	24,66
	33,92	25,08	25,06
	33,58	27,02	29,54
	35,74	28,10	23,22
	32,46	26,16	27,52
Dentina Afetada	10,42	13,46	12,62
	12,86	11,86	11,40
	13,78	11,72	17,74
	18,26	10,06	12,02
	15,98	16,10	16,78

A ANOVA (Tabela 5.5) evidenciou diferenças estatisticamente significantes entre os materiais ($p < 0,05$), entre os substratos ($p < 0,05$) e na interação de ambos ($p = 0,05$). A camada híbrida composta pela dentina hígida e pelo sistema adesivo Single Bond Universal apresentou o maior valor de dureza ($M = 33,7 \pm 1,3$). Quando comparados os materiais Fuji II ($M = 26,5 \pm 1,1$) e Vertise *Flow* ($M = 26,0 \pm 2,5$) sobre a dentina hígida, não foram detectadas diferenças entre si e foram observados valores de dureza menores.

Após a análise da dureza das camadas híbridas sobre a dentina afetada, não houve diferença estatisticamente significativa nos valores de dureza entre os materiais: Single Bond Universal ($M = 14,2 \pm 3,0$), Vertise *Flow* ($M = 14,1 \pm 3,0$) e Fuji II ($M = 12,6 \pm 2,2$).

Porém, foram detectadas diferenças significativas entre os tipos de dentina, sendo que, a camada híbrida em dentina hígida ($M = 28,73 \pm 1,63$) apresentou maior dureza que a camada híbrida em dentina afetada para todos os materiais testados ($M = 13,63 \pm 2,73$). Ver Tabela 5.6 e Gráfico 5.2.

Tabela 5.5 – ANOVA de dois fatores para a variável dureza da camada híbrida

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F	p
Material	117,03855	2	58,51927	7,3719	0,00816
Resíduo 1	95,2579	12	7,93816	-	-
Substrato	1702,86482	1	1702,86482	629,61284	$9,73355E^{-12}$
Interação	76,8396	2	38,4198	14,20524	$6,85684E^{-4}$
Resíduo 2	32,45547	12	2,70462	-	-

Tabela 5.6 – Médias e desvios padrão para a variável dureza da camada híbrida

	SB Universal	Fuji II	Vertise Flow	Média
Hígida	$33,7 \pm 1,3$ ^{Aa}	$26,5 \pm 1,1$ ^{Ab}	$26,0 \pm 2,5$ ^{Ab}	$28,73 \pm 1,63$
Afetada	$14,2 \pm 3,0$ ^{Ba}	$12,6 \pm 2,2$ ^{Ba}	$14,1 \pm 3,0$ ^{Ba}	$13,63 \pm 2,73$
Média	$23,95 \pm 2,15$	$19,55 \pm 1,65$	$20,05 \pm 2,75$	-

Letras distintas indicam diferença estatística ($p < 0,05$). Análise entre colunas (minúsculas) e entre linhas (maiúsculas).

Gráfico 5.2 – Médias e desvios padrão para a variável dureza da camada híbrida sobre as dentinas hígida e afetada por cárie

5.1.3 Dentina

Para a análise estatística, foram calculadas as médias das 5 indentações realizadas na dentina de cada espécime, o que resultou em 30 valores (Tabela 5.7).

Tabela 5.7 – Média dos valores de dureza Knoop das indentações realizadas na dentina

	SB Universal	Fuji II	Vertise Flow
Dentina Hígida	27,42	26,40	21,84
	25,70	21,10	22,48
	28,74	26,22	25,38
	28,76	25,58	20,58
	28,84	21,18	25,18
Dentina Afetada	14,72	23,24	20,46
	13,50	18,76	17,46
	17,86	20,70	21,94
	23,78	19,96	16,26
	20,82	16,64	22,54

A ANOVA (Tabela 5.8) demonstrou que a dureza da dentina afetada foi significativamente menor que a dureza da dentina hígida ($p < 0,05$). Porém, na dentina hígida, foram detectadas diferenças de acordo com o material utilizado. A dureza da dentina com o Single Bond Universal foi a maior ($M = 27,9 \pm 1,4$), a dureza do subgrupo VFH foi a menor ($M = 23,0 \pm 2,1$) e o subgrupo FUH obteve valores intermediários ($M = 24,0 \pm 2,7$). Ver tabela 5.9 e gráfico 5.3.

Tabela 5.8 – ANOVA de dois fatores para a variável dureza da dentina

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F	p
Material	13,20019	2	6,60009	0,52058	0,607
Resíduo 1	152,13896	12	12,67825	-	-
Substrato	250,90992	1	250,90992	103,36315	$2,99439E^{-7}$
Interação	60,12216	2	30,06108	12,38376	0,00121
Resíduo 2	29,12952	12	2,42746	-	-

Tabela 5.9 – Médias e desvios padrão para a variável dureza da dentina

	SB Universal	Fuji II	Vertise Flow	Média
Hígida	$27,9 \pm 1,4$ ^{Aa}	$24,0 \pm 2,7$ ^{Aab}	$23,0 \pm 2,1$ ^{Ab}	$24,96 \pm 2,06$
Afetada	$18,1 \pm 4,2$ ^{Ba}	$19,7 \pm 2,4$ ^{Ba}	$19,7 \pm 2,8$ ^{Ba}	$19,17 \pm 3,13$
Média	$23,0 \pm 2,8$	$21,85 \pm 2,55$	$21,35 \pm 2,45$	-

Letras distintas indicam diferença estatística ($p < 0,05$). Análise entre colunas (minúsculas) e entre linhas (maiúsculas).

Gráfico 5.3 – Médias e desvios padrão para a variável dureza da dentina

5.2 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

Eletromicrografias representativas da MEV podem ser observadas nas Figuras 5.1 a 5.3.

Para o grupo Single Bond Universal sobre a dentina hígida, as imagens evidenciam a formação de uma camada híbrida de espessura uniforme, onde é possível observar com distinção a zona de interdifusão do adesivo nos túbulos dentinários. Pode-se observar uma grande densidade por área de *tags* resinosos, com predominância de *tags* longos e finos. Porém, *tags* curtos também são observados com clareza. No grupo em que foi utilizado o adesivo Single Bond Universal sobre a dentina afetada por cárie, observa-se que a região da dentina afetada não apresenta uma estrutura organizada e tubular, ela apresenta uma topografia irregular e em diferentes planos. Observa-se que a camada de dentina afetada foi removida pelos ácidos utilizados durante o preparo dos espécimes necessário para a leitura em MEV. É possível observar a camada híbrida com espessuras distintas ao longo da interface. O adesivo apresenta-se embricado entre as irregularidades da dentina de forma que é possível observar a formação de *tags* resinosos curtos em algumas regiões (Figura 5.1).

Figura 5.1 - Eletromicrografias representativas ilustram a interface criada com o adesivo Single Bond Universal sobre a dentina hígida (a, b, c, d) e sobre a dentina afetada (e, f, g, h) nos aumentos de 1000x, 2500x, 5000x e 10000x

A interface composta pela resina *Vertise Flow* sobre a dentina hígida evidencia a formação de *tags* resinosos. Há a formação de *tags* longos e finos em algumas regiões e em outras há *tags* curtos e/ou mal formados. Não houve a formação de fendas na interface.

As eletromicrografias do grupo *Vertise Flow* sobre a dentina afetada evidenciam a falha de união desde material ao substrato dentinário. Em todos os espécimes foi possível observar fendas ao redor da restauração de forma que os *tags* resinosos formados apresentam formato irregular e sinuoso nas regiões em que houve a penetração da resina. *Tags* que permaneceram conectados entre a resina e a dentina são observados. A superfície em que ocorreu o descolamento da resina é tão irregular, que impediu que os elétrons penetrassem nessa topografia e favoreceu o acúmulo dos mesmos nessa região, fazendo com quem a imagem ficasse esbranquiçada.

A maioria dos espécimes restaurados com o cimento de ionômero de vidro modificado por resina apresentou fendas em regiões localizadas da interface, tanto sobre dentina hígida como sobre dentina afetada. A falha observada entre o CIV e a dentina hígida evidencia *tags* quebrados e aderidos à dentina e ao cimento. Observa-se porções de material aderidas à dentina. A dentina hígida subjacente à interface apresenta um padrão de desmineralização diferente do observado na dentina mais profunda.

A falha de união observada no grupo do CIV sobre a dentina afetada também apresentou *tags* fraturados e curtos. Não há sinais de que uma penetração mais profunda do material na dentina tenha ocorrido. Assim como nos outros grupos, é possível observar que a dentina afetada foi removida durante o preparo dos espécimes para a MEV.

Figura 5.2 - Eletromicrografias representativas ilustram a interface criada com a resina Vertise *Flow* sobre a dentina hígida (a, b, c, d) nos aumentos de 1000x, 2500x, 5000x e 10000x, e sobre a dentina afetada (e, f) nos aumentos de 1000x e 2500 x. A captura de imagens em maiores aumentos para o grupo de dentina afetada não foi realizada pois não foi possível observar todas as camadas da interface em virtude da fenda

Figura 5.3 - Eletromicrografias representativas ilustram a interface criada com CIV Fuji II LC sobre a dentina hígida (a, b, c) e sobre a dentina afetada (e, f, g, h) nos aumentos de 1000x, 2500x, 5000x e 10000x.

5.3 MICROSCOPIA CONFOCAL DE VARREDURA A LASER

As imagens obtidas pela microscopia confocal de varredura a laser nos aumentos de 200x e 600x demonstraram que os materiais testados foram devidamente corados pela rodamina 6G e podem ser visualizados na cor vermelha (Figura 5.4 e 5.5). Nesta microscopia, foi possível caracterizar a interface e a micropermeabilidade dos materiais nas dentinas estudadas.

O sistema adesivo Single Bond Universal, o qual foi utilizado na estratégia autocondicionante, foi capaz de penetrar nos túbulos dentinários da dentina hígida. A camada híbrida formada atingiu uma considerável profundidade e pôde ser observada claramente. Pode-se também distinguir a camada de adesivo, a qual se apresentou com espessura homogênea ao longo da interface. A camada de adesivo e a camada híbrida apresentaram-se em contato e sem evidências de fendas entre elas.

Nas imagens em que foi utilizado o cimento de ionômero de vidro modificado por resina, pode-se observar um embricamento do material sobre a dentina hígida. Houve a formação de *tags* consideravelmente curtos, em torno de 10-20 μm , quando comparados com os *tags* formados pelo adesivo, evidenciando que este material teve uma capacidade de penetração inferior. Foi observada a penetração do material em maior profundidade apenas em algumas áreas isoladas. O material não se descolou da superfície dentinária.

A interface formada pela resina composta autoadesiva do tipo *flow* apresentou características intermediárias quando comparadas com os dois materiais acima descritos. Ou seja, a resina Vertise *Flow* foi capaz de penetrar nos túbulos dentinários da dentina hígida atingindo maior profundidade quando comparada à obtida pelo CIV, porém não atingiu a profundidade obtida pelo adesivo. A quantidade de túbulos infiltrados pela resina foi menor quando comparada com a quantidade infiltrada pelo sistema adesivo. Foi observada a formação de *tags* com comprimentos variados. Assim como nos outros materiais, não houveram indícios de formação de fendas na interface.

Figura 5.4 – Imagens representativas ilustram as características das interfaces e a micropermeabilidade dos materiais testados sobre a dentina hídida nos aumentos de 200x e 600x: Sigle Bond Universal (a,b), Fuji II LC (c,d) e Vertise Flow (e,f)

A microscopia confocal de varredura a laser evidenciou a formação de interfaces com características distintas quando os materiais foram utilizados sobre a dentina afetada por cárie (Figura 5.5).

As imagens demonstraram que, quando o Single Bond Universal foi utilizado, houve a formação de uma camada de adesivo irregular e com espessura variável ao longo da interface. Pode-se observar que, na camada híbrida imediatamente abaixo da camada de adesivo, houve a formação de *tags* resinosos em uma considerável quantidade de túbulos dentinários. Com o aumento da profundidade dentinária, houve a infiltração do adesivo em uma quantidade menor de túbulos. Assim, a camada híbrida formada evidenciou *tags* com diferentes comprimentos atingindo uma profundidade inferior quando comparado com o mesmo adesivo utilizado na dentina hígida.

Quando o cimento CIV Fuji II foi utilizado na dentina afetada por cárie, não foi possível observar a formação de *tags* curtos, observados na dentina hígida. O embricamento do material sobre as irregularidades da dentina afetada foi sugerido, porém, por não haver nenhum sinal de material infiltrado na região mais superficial da dentina, não foi possível afirmar se houve ou não a formação de fendas nos espécimes desse grupo. Assim como na dentina hígida, pontos isolados de infiltração do CIV foi observado em profundidades maiores.

A interface formada pela resina Vertise *Flow* sobre a dentina afetada por cárie apresentou um padrão significativamente diferente do apresentado quando este material foi utilizado sobre a dentina hígida. Foi possível diferenciar a camada de material sobre a superfície dentinária, porém, não houve a formação de *tags* resinosos na camada híbrida. A resina penetrou em algumas irregularidades da dentina afetada imediatamente abaixo da camada de material e aglomerados de resina foram observados em algumas regiões da camada híbrida. Da mesma forma como ocorreu no grupo do CIV, não foi possível afirmar se o material permaneceu em contato com a dentina ou se houve a formação de fendas.

Figura 5.5 – Imagens representativas ilustram as características das interfaces e a micropermeabilidade dos materiais testados sobre a dentina afetada nos aumentos de 200x e 600x: Sigle Bond Universal (a,b), Fuji II (c,d) e Vertise Flow (e,f)

6 DISCUSSÃO

A literatura evidencia que as composições específicas dos materiais podem afetar na qualidade e na durabilidade da adesão (3,31). O presente estudo analisou a dureza das camadas que compõem a interface de união dente/restauração com a finalidade de caracterizá-las quanto à esta propriedade mecânica, visto que ela pode exercer influência na estabilidade da adesão.

Conforme o esperado, o fato de a dentina estar hígida ou afetada não exerceu influência na microdureza da camada de material entretanto, esses valores variaram de acordo com o material testado. Apesar de todos os materiais utilizados apresentarem monômeros resinosos fotoativados em sua composição e poderem ser aplicados na dentina durante procedimentos restauradores, eles pertencem a categorias diferentes. O material que apresentou a maior dureza foi o Fuji II, que é um cimento de ionômero de vidro com partículas de 5,9 μm de tamanho. A resina composta autoadesiva *flow* apresentou um valor de dureza intermediário e o sistema adesivo Single Bond Universal, foi o que apresentou os menores valores. A composição básica dos materiais foi evidenciada na Tabela 4.1 e pode ser uma justificativa para os resultados encontrados. Além disso, pesquisadores confirmaram, por meio de microscopia eletrônica de transmissão, a presença de quatro tipos de partículas de carga na composição da Vertise *Flow*, que podem ser de tamanho nanométrico ou atingirem a dimensão de até 1 μm . Dois tipos de partículas de carga de tamanho micrométrico, partículas pré-polimerizadas (40 μm) e partículas de bário aluminossilicato foram identificadas. A menor partícula detectada na matriz foi de sílica coloidal (60).

Estudos atuais reconhecem a importância das propriedades mecânicas dos materiais que formam a interface adesiva e buscam encontrar a correlação entre a dureza e o módulo de elasticidade dos materiais e a resistência de união (88). Essa ideia é baseada no conceito de que, áreas mais resilientes são capazes de minimizar o estresse causado pela contração de polimerização de resinas compostas (89). Porém, Freitas et al. (88) observaram não haver correlação entre a dureza da camada de diferentes sistemas adesivos e a resistência de união. A correlação positiva só foi encontrada entre o módulo de elasticidade e a resistência de união.

A retenção de restaurações e a estabilidade de união a longo prazo na dentina só são possíveis com a interação micromecânica/química de alta qualidade entre adesivo e substrato por meio da formação da camada híbrida, que idealmente é caracterizada como um biopolímero de colágeno-resina que fornece uma ligação contínua e estável entre o adesivo e a dentina (90).

A dureza da camada híbrida foi significativamente influenciada tanto pelo tipo de dentina quanto pelo material utilizado. Estudos indicam que a composição de sistemas adesivos podem influenciar na união à dentina afetada pela cárie, entretanto, o efeito dessas diferenças de composição ainda não está claro (20). O presente estudo também não conseguiu identificar tal influência, visto que, a dureza da camada híbrida na dentina afetada por cárie não evidenciou diferenças entre os materiais testados. Esse fato sugere que a dureza da camada híbrida pode ser mais fortemente influenciada pelo tipo de dentina do que pelo material utilizado, corroborando com os pesquisadores que evidenciaram a influência do substrato na camada híbrida (74).

No presente estudo, a microdureza da camada híbrida formada entre dentina hígida e o Single Bond Universal evidenciou os maiores valores de dureza. Interessantemente, ao analisarmos as eletromicrografias e as imagens obtidas pela microscopia confocal, este foi o subgrupo que evidenciou a maior penetração de material dentro dos túbulos dentinários, sugerindo que, na dentina hígida, a forma com que o material interage com este substrato pode influenciar na propriedade mecânica de dureza. O adesivo SB foi aplicado segundo a estratégia autocondicionante, pois estudos têm evidenciado que a união mais efetiva à dentina ocorre quando são utilizados sistemas adesivos dessa categoria. Isso se deve ao fato dos adesivos autocondicionantes possuírem em sua composição ácidos com pH suave ou ultra suave que promovem o condicionamento e a infiltração do adesivo simultaneamente na dentina (3,10). Além disso, não se recomenda a realização do condicionamento com ácido fosfórico de dentina afetada por cárie (38).

A camada híbrida dos grupos formados pela resina autoadesiva e o cimento de ionômero de vidro na dentina hígida, evidenciaram valores de dureza semelhantes. Baseando-se no pH informado pelo fabricante, a resina *Vertise Flow* poderia interagir com a dentina de forma semelhante aos sistemas adesivos autocondicionantes (61). Teoricamente, a aplicação ativa de uma porção do material de 0,5 mm de espessura durante 20 s tem o objetivo de melhorar a interação dos componentes ácidos da

resina autoadesiva na dentina (61). Entretanto, ao analisar as microscopias, a interação da *Vertise Flow* não foi semelhante ao adesivo autocondicionante utilizado.

Se a camada de adesivo se tornar menos rígida ou quebradiça ao longo do tempo, a distribuição do estresse ao longo da interface pode ser comprometida, o que resulta em deformação plástica ou fratura sob cargas muito pequenas (91). Da mesma forma, uma camada híbrida heterogênea que apresenta defeitos, seja por fraca hibridização ou por degradação de polímeros, é capaz de induzir áreas com altos níveis de estresse e portanto consideradas como locais para iniciação da propagação de falhas (92,93).

Sabe-se que a heterogeneidade da estrutura dental e a sua composição influenciam na camada híbrida e, por esse motivo, a microdureza da dentina foi aferida (3). Conforme o esperado, a dureza da dentina afetada foi significativamente menor do que a dureza da dentina hígida. Entretanto, na dentina hígida, a dureza variou de acordo com o material. A dureza do SBH foi a maior, a dureza do VFH foi a menor e o subgrupo FUH obteve valores intermediários, não se diferenciando nem do maior e nem do menor. Esse achado pode ser explicado pelo fato de a dureza da dentina ter sido mensurada logo abaixo da camada híbrida, dessa forma, a mensuração da dureza foi realizada em áreas que ainda poderiam possuir algum material infiltrado, influenciando na dureza da dentina hígida.

Na análise das microscopias do subgrupo *Vertise Flow* sobre a dentina hígida, tanto a MEV quanto a microscopia confocal evidenciaram que houve a formação de *tags* resinosos no interior dos túbulos dentinários porém, a densidade de *tags* formados por área foi inferior, em comparação ao grupo que utilizou o adesivo Single Bond Universal. Foi possível observar que a resina *Vertise* se manteve em contato com a superfície dentinária, sem que houvesse a formação de fendas na interface. Esse resultado corroborou com estudos prévios que detectaram a formação de *tags* pela *Vertise Flow* na interface dentina-resina, sem que houvesse o descolamento da resina durante a preparação dos espécimes (60). Porém Makishi et al. (62) em estudo sobre a adaptação marginal e resistência de união de resinas autoadesivas à dentina, relataram que dois espécimes descolaram espontaneamente durante o armazenamento de 24 h após a confecção das restaurações e que três espécimes descolaram durante a etapa de polimento. Os mesmos autores não observaram a formação da camada híbrida ao utilizarem a *Vertise Flow* e atribuíram esse resultado à elevada viscosidade do material e sua limitada penetração (1).

Vichi et al. (61) estudaram o selamento marginal e a resistência de união da resina *Vertise Flow* em comparação à resinas do tipo *flow* convencionais e concluíram que, mesmo com a baixa adesão obtida, essa resina autoadesiva foi capaz de promover o melhor selamento marginal. Os autores afirmaram que esse resultado pode ser atribuído ao diferente processo de polimerização da interface. Ou seja, durante um procedimento restaurador utilizando um sistema adesivo seguido da resina composta, esses materiais são aplicados em sequência, assim, a polimerização do material restaurador ocorre após a adesão com o adesivo já ter sido realizada. O estresse de polimerização da resina composta pode atuar concorrendo com a adesão já estabelecida pelo adesivo com o substrato dental (94). No caso das resinas autoadesivas, em que o adesivo não é utilizado, a adesão e a polimerização da resina ocorrem simultaneamente. Assim, os autores sugeriram que a competição entre a união do material e o estresse gerado pela contração de polimerização é reduzida, favorecendo a adaptação marginal do material.

Clinicamente, as restaurações tem sido realizadas em cavidades após a remoção da dentina infectada por cárie, sendo que o assoalho consiste em dentina afetada pela cárie, cuja eficácia na adesão é prejudicada (20).

A dentina afetada pela cárie é muito diferente quanto às características morfológicas, químicas e físicas em comparação com a dentina hígida (24). Essas diferenças influenciaram nas características morfológicas das interfaces formadas entre esse tipo de dentina e todos os materiais utilizados no presente estudo.

Na interface entre o *Single Bond Universal* e a dentina afetada por cárie, observa-se por meio da MEV uma estrutura dentinária mais desorganizada, com topografia irregular e em diferentes planos. Porém, apesar disso, é possível observar a formação de *tags* resinosos curtos e identificar a camada de adesivo embricada entre as irregularidades da dentina. A microscopia confocal confirmou a formação da camada híbrida e exibiu uma camada de adesivo mais espessa que a observada no subgrupo SBH. Quanto à utilização de sistemas adesivos sobre a dentina afetada, observa-se na literatura que, mesmo com características morfológicas diferentes, é possível obter resistência de união semelhante à obtida na dentina hígida ao utilizar o sistema adesivo autocondicionante *Clearfil SE Bond*. Este sistema possui como monômero funcional o 10-MDP (24). Em concordância, Anchieta et al. (79), ao analisar sistemas adesivos após 12 meses de armazenamento, concluíram que o sistema que possuía o monômero funcional 10-MDP mostrou a melhor estabilidade

entre todos os sistemas adesivos testados. Esses achados motivaram a escolha da utilização do Single Bond Universal, pois além de possuir o mesmo monômero funcional em sua composição, ele pertence à categoria dos sistemas mais recentes no mercado, os adesivos universais.

Não há estudos publicados sobre as resinas autoadesivas e a dentina afetada por cárie. No presente estudo foram observadas fendas ao redor da restauração em todos os espécimes avaliados pela MEV, além da presença de *tags* resinosos com formato irregular e sinuoso nas regiões em que houve a penetração da resina. Não houve a formação de *tags* resinosos na camada híbrida. A microscopia confocal evidenciou que a resina penetrou em algumas irregularidades da dentina afetada imediatamente abaixo da camada de material e aglomerados de resina foram observados em algumas regiões da camada híbrida.

O cimento de ionômero de vidro modificado por resina foi testado por ser um material comumente utilizado sobre a dentina afetada por cárie. Entretanto, ao serem analisadas as eletromicrografias, a maioria dos espécimes restaurados com esse material apresentou fendas em regiões localizadas da interface, tanto sobre dentina hígida como sobre dentina afetada. Nas regiões de falha na união com a dentina hígida, observa-se *tags* quebrados e aderidos à dentina e ao cimento, além disso, porções maiores do material permaneceram aderidas à dentina após a fratura, evidenciando uma fratura do tipo coesiva. A dentina hígida subjacente à interface apresenta um padrão de desmineralização diferente do observado na dentina mais profunda, provavelmente em virtude da utilização do ácido poliacrílico utilizado anteriormente à restauração. A falha de união observada no grupo do CIV sobre a dentina afetada também apresentou *tags* fraturados restritos à região da fenda e sem exibir sinais de que uma penetração mais profunda na dentina tivesse ocorrido. Entretanto, os espécimes analisados na microscopia confocal não evidenciaram falhas de união na maioria dos espécimes, portanto, acredita-se que as falhas observadas nos subgrupos IVH E IVA foram em decorrência do preparo necessário para a leitura em MEV (95).

Segundo Peumans et al. (55), durante a adesão dos CIV à dentina, espera-se a formação de uma camada híbrida rasa, com 1 a 2 μm de profundidade, formada entre o colágeno desmineralizado e o cimento infiltrado. No presente estudo, a microscopia confocal também evidenciou a formação da camada híbrida, porém, ela variou de 5 a 8 μm . Toledano et al. (56) realizaram uma pesquisa sobre o selamento

marginal de CIVs, e observaram diferenças entre os cimentos modificados por resina quanto à profundidade de desmineralização e quanto à formação ou não de *tags* (82).

Em apenas um espécime restaurado com o CIV e um espécime restaurado com a resina autoadesiva sobre a dentina hígida, foi possível observar na microscopia confocal a formação de fendas em algumas regiões da interface, ao ser observada a perda de continuidade entre a camada de material e a camada híbrida (Figura 6.1). Porém, esse descolamento do material da superfície dentinária não foi o padrão observado na maioria dos espécimes.

Figura 6.1 – A microscopia confocal evidenciou a formação de fendas na interface formada entre a dentina hígida e dois materiais testados: Fuji II (a) e Vertise *Flow* (b).

Atualmente, há a recomendação de se manter a dentina afetada na parede de fundo das cavidades durante a prática restauradora. Porém, analisando os valores de dureza obtidos nas interfaces formadas pela dentina afetada e analisando as morfologias criadas em que não se observa um padrão homogêneo de interação com os materiais testados, pergunta-se: Qual será a resistência de união obtida nas diferentes interfaces criadas? Qual será o efeito dos movimentos mastigatórios e do

envelhecimento nessas interfaces? Como ficará a adaptação entre o dente e a restauração nessa situação?

Mais estudos sobre a adesão em dentina afetada tornam-se necessários.

7 CONCLUSÕES

Baseando-se na metodologia utilizada e nos resultados obtidos nesta pesquisa é possível concluir que:

1. A dureza da camada de material não foi influenciada pelo tipo de dentina. Ela variou em função da composição de cada material.

A dureza da camada híbrida foi influenciada de acordo com o material utilizado, sendo que o sistema adesivo universal foi capaz de promover os maiores valores de dureza. Além disso, a camada híbrida formada pela dentina afetada por cárie apresentou dureza inferior independente do material utilizado.

A dentina afetada apresentou menor dureza quando comparada com a dentina hígida. Porém, na dentina hígida, o material pode afetar nos valores de dureza.

2. Ao avaliar a morfologia da interface, os materiais testados promoveram a formação de interfaces com características diferentes entre si, entretanto, todos os materiais apresentaram como característica a formação de *tags* resinosos. Porém, quando a interface envolveu a dentina afetada por cárie, observou-se maior quantidade de falhas e as camadas apresentaram-se irregulares.

REFERÊNCIAS¹

1. Fu J, Kakuda S, Pan F, Hoshika S, Ting S, Fukuoka A, et al. Bonding performance of a newly developed step-less all-in-one system on dentin. *Dent Mater J*. 2013;32(2):203–11.
2. Peters MC MM. Minimal intervention and concepts for minimally invasive cavity preparations. *J Adhes Dent*. 2001;3(1):7–16.
3. Cardoso M V., De Almeida Neves A, Mine A, Coutinho E, Van Landuyt K, De Munck J, et al. Current aspects on bonding effectiveness and stability in adhesive dentistry. *Aust Dent J*. 2011;56(SUPPL. 1):31–44.
4. Fusayama T TS. Differentiation of two layers of carious dentin by staining. *J Dent Res*. 1972;51(3):866.
5. Pupo YM, Michél MD, Gomes OM, Lepienski CM GJ. Effect of the regional variability of dentinal substrate and modes of application of adhesive systems on the mechanical properties of the adhesive layer. *J Conserv Dent*. 2012;15(2):132–6.
6. Gamborgi GP, Loguercio AD, Reis A. Influence of enamel border and regional variability on durability of resin-dentin bonds. *J Dent*. 2007;35(5):371–6.
7. Loguercio AD, Moura SK, Pellizzaro A, Dal-Bianco K, Patzlaff RT, Grande RHM, et al. Durability of Enamel Bonding Using Two-step Self-etch Systems on Ground and Unground Enamel. *Oper Dent*. 2008;33(1):79–88.
8. Pashley DH, Tay FR, Breschi L, Tjäderhane L, Carvalho RM, Carrilho M, et al. State of the art etch-and-rinse adhesives. *Dent Mater*. 2011;27(1):1–16.
9. Garcia EJ, Gomes OM GJ. In vitro analysis of bond strength of self-etching adhesives applied on superficial and deep dentin. *Acta Odontol Latinoam*. 2009;22(1):57–62.
10. Van Meerbeek B, Yoshihara K, Yoshida Y, Mine A, De Munck J, Van Landuyt KL. State of the art of self-etch adhesives. *Dent Mater*. 2011;27(1):17–28.

¹ De acordo com Estilo Vancouver.

11. Radovic I, Monticelli F, Goracci C, Vulicevic ZR FM. Self-adhesive resin cements: a literature review. *J Adhes Dent*. 2008;10(4):251–8.
12. Van Meerbeek B, Peumans M, Poitevin A, Mine A, Van Ende A, Neves A, et al. Relationship between bond-strength tests and clinical outcomes. *Dent Mater*. 2010;26(2):100–21.
13. Poitevin A, De Munck J, Van Ende A, Suyama Y, Mine A, Peumans M, et al. Bonding effectiveness of self-adhesive composites to dentin and enamel. *Dent Mater*. 2013;29(2):221–30.
14. Salerno M, Derchi G, Thorat S, Ceseracciu L, Ruffilli R, Barone AC. Surface morphology and mechanical properties of new-generation flowable resin composites for dental restoration. *Dent Mater*. 2011;27(12):1221–8.
15. Wei YJ, Silikas N, Zhang ZT WD. Diffusion and concurrent solubility of self-adhering and new resin–matrix composites during water sorption/desorption cycles. *Dent Mater*. 2011;27(2):197–205.
16. Wei YJ, Silikas N, Zhang ZT, Watts DC. Hygroscopic dimensional changes of self-adhering and new resin-matrix composites during water sorption/desorption cycles. *Dent Mater*. 2011;27(3):259–66.
17. Bektas OO, Eren D, Akin EG, Akin H. Evaluation of a self-adhering flowable composite in terms of micro-shear bond strength and microleakage. *Acta Odontol Scand*. 2012;71(3–4):541–6.
18. Rengo C, Goracci C, Juloski J, Chieffi N, Giovannetti A, Vichi A, et al. Influence of phosphoric acid etching on microleakage of a self-etch adhesive and a self-adhering composite. *Aust Dent J*. 2012;57(2):220–6.
19. Yazici AR, Agarwal I, Campillo-Funollet M, Munoz-Viveros C, Antonson SA, Antonson DE MT. Effect of laser preparation on bond strength of a self-adhesive flowable resin. *Lasers Med Sci*. 2013;28(1):343–7.
20. Nakajima M, Kunawarote S, Prasansuttiorn T, Tagami J. Bonding to caries-affected dentin. *Jpn Dent Sci Rev*. 2011;47(2):102–14.
21. Manton D. Partial caries removal may have advantages but limited evidence on restoration survival. *Evid Based Dent*. 2013;14(3):74–5.

22. Yoshiyama M, Tay FR, Doi J, Nishitani Y, Yamada T, Itou K, et al. Bonding of Self-etch and Total-etch Adhesives to Carious Dentin. *J Dent Res*. 2002;81(8):556–60.
23. Arrais CAG, Giannini M, Nakajima M, Tagami J. Effects of additional and extended acid etching on bonding to caries-affected dentine. *Eur J Oral Sci*. 2004;112(5):458–64.
24. Scholtanus JD, Purwanta K, Dogan N, Kleverlaan CJ FA. Microtensile bond strength of three simplified adhesive systems to caries-affected dentin. *J Adhes Dent*. 2010;12(4):273–8.
25. Hanabusa M, Mine A, Kuboki T, Momoi Y, Van Ende A, Van Meerbeek B, et al. Bonding effectiveness of a new “multi-mode” adhesive to enamel and dentine. *J Dent*. 2012;40(6):475–84.
26. Perdigão J, Sezinando A MP. Laboratory bonding ability of a multi-purpose dentin adhesive. *Am J Dent*. 2012;25(3):153–8.
27. Breschi L, Mazzoni A, Ruggeri A, Cadenaro M, Di Lenarda R, De Stefano Dorigo E. Dental adhesion review: Aging and stability of the bonded interface. *Dent Mater*. 2008;24(1):90–101.
28. Hashimoto M. A review - Micromorphological evidence of degradation in resin-dentin bonds and potential preventional solutions. *J Biomed Mater Res - Part B Appl Biomater*. 2010;92(1):268–80.
29. Akimoto N, Takamizu M, Momoi Y. 10-Year Clinical Evaluation of a Self-Etching Adhesive System. *Oper Dent*. 2007;32(1):3–10.
30. Peumans M, De Munck J, Van Landuyt KL, Poitevin A, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Eight-year clinical evaluation of a 2-step self-etch adhesive with and without selective enamel etching. *Dent Mater*. 2010;26(12):1176–84.
31. Yousry MM, El Naga AA, Hafez RM, El Badrawy W. Microshear bond strength and interfacial morphology of etch-and-rinse and self-etch adhesive systems to superficial and deep dentin. *Quintessence Int*. 2011;42(9).
32. Xuan W, Hou BX Lü YL. Bond strength of different adhesives to normal and caries-affected dentins. *Chin med J*. 2010;123(3).

33. Zheng L, Nakajima M, Higashi T, Foxton RM, Tagami J. Hardness and Young's modulus of transparent dentin associated with aging and carious disease. *Dent Mater J*. 2005;24(4):648–53.
34. Wang Y, Spencer P. Analysis of acid-treated dentin smear debris and smear layers using confocal Raman microspectroscopy. *J Biomed Mater Res*. 2002;60(2):300–8.
35. Sencer P, Wang Y, Walker MP, Swafford JR. Molecular structure of acid-etched dentin smear layers-in situ study. *J Dent Res*. 2001;80(9):1802–7.
36. Wang R, Shi Y, Li T, Pan Y, Cui Y, Xia W. Adhesive interfacial characteristics and the related bonding performance of four self-etching adhesives with different functional monomers applied to dentin. *J Dent*. 2017;62(May):72–80.
37. Kunawarote S, Nakajima M, Foxton RM TJ. Pretreatment effect of mild acidic HOCl solution on adhesive to caries-affected dentin using self-etch adhesive. *Eur J Oral Sci*. 2011;119(1):86–92.
38. Yoshiyama M1, Urayama A, Kimochi T, Matsuo T PD. Comparison of conventional vs self-etching adhesive bonds to caries-affected dentin. *Oper Dent*. 2000;25(3):163–9.
39. Yoshihara K, Yoshida Y, Hayakawa S, Nagaoka N, Irie M, Ogawa T, et al. Nanolayering of phosphoric acid ester monomer on enamel and dentin. *Acta Biomater*. 2011;7(8):3187–95.
40. Yoshida Y, Yoshihara K, Nagaoka N, Hayakawa S, Torii Y, Ogawa T, et al. Self-assembled Nano-layering at the Adhesive Interface. *J Dent Res*. 2012;91(4):376–81.
41. Nicoloso GF, Antoniazzi BF, Lenzi TL, Soares FZM RR. The Bonding Performance of a Universal Adhesive to Artificially-created Caries-affected Dentin. *J Adhes Dent*. 2017;19(4):317–21.
42. Nicoloso GF, Antoniazzi BF, Lenzi TL, Soares FZ RR. Is There a Best Protocol to Optimize Bond Strength of a Universal Adhesive to Artificially Induced Caries-affected Primary or Permanent Dentin? *J Adhes Dent*. 2016;18(5):441–6.

43. Doi J, Itota T, Torii Y, Nakabo S, Yoshiyama M. Micro-tensile bond strength of self-etching primer adhesive systems to human coronal carious dentin. *J Oral Rehabil.* 2004;31(10):1023–8.
44. Tjäderhane L, Hietala EL, Larmas M. Mineral element analysis of carious and sound rat dentin by electron probe microanalyzer combined with back-scattered electron image. *J Dent Res.* 1995;74(11):1770–4.
45. Ito S, Saito T, Tay FR, Carvalho RM, Yoshiyama M, Pashley DH. Water content and apparent stiffness of non-caries versus caries-affected human dentin. *J Biomed Mater Res - Part B Appl Biomater.* 2005;72(1):109–16.
46. Sauro S, Osorio R, Watson TF, Toledano M. Influence of phosphoproteins' biomimetic analogs on remineralization of mineral-depleted resin-dentin interfaces created with ion-releasing resin-based systems. *Dent Mater.* 2015;
47. Brackett MG, Li N, Brackett WW, Sword RJ, Qi YP, Niu LN, et al. The critical barrier to progress in dentine bonding with the etch-and-rinse technique. *J Dent.* 2011;39(3):238–48.
48. Wood JD, Sobolewski P, Thakur V, Arola D, Nazari A, Tay FR, et al. Measurement of micro-strain across resin-dentin interfaces using microscopic moiré interferometry. *Dent Mater.* 2008;24(7):859–66.
49. Nishitani Y, Yoshiyama M, Tay FR, Wadgaonkar B, Waller J, Agee K, et al. Tensile strength of mineralized/demineralized human normal and carious dentin. *J Dent Res.* 2005;84(11):1075–8.
50. Kuboki Y, Ohgushi K FT. Collagen biochemistry of the two layers of carious dentin. *J Dent Res.* 1977;56(10):1233–7.
51. Sauro S, Watson TF, Thompson I, Banerjee A. One-bottle self-etching adhesives applied to dentin air-abraded using bioactive glasses containing polyacrylic acid: an in vitro microtensile bond strength and confocal microscopy study. *J Dent.* 2012;40(11):896–905.
52. Kidd EAM. How “clean” must a cavity be before restoration? *Caries Res.* 2004;38(3):305–13.

53. Murdoch-Kinch CA MM. Minimally invasivedentistry. *J Am Dent Assoc*. 2003;134:87–95.
54. Grandfield K EH. Characterization of dental interfaces with electron tomography. *Biointerphases*. 2014;9(2):29001.
55. Peumans M, Kanumilli P, De Munck J, Van Landuyt K, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Clinical effectiveness of contemporary adhesives: A systematic review of current clinical trials. *Dent Mater*. 2005;21(9):864–81.
56. Toledano M, Osorio R, Cabello I, Osorio E, Toledano-Osorio M, Aguilera FS. Oral Function Improves Interfacial Integrity and Sealing Ability Between Conventional Glass Ionomer Cements and Dentin. *Microsc Microanal*. 2017;23(1):131–44.
57. Coutinho E, Cardoso MV, De Munck J, Neves AA, Van Landuyt KL, Poitevin A, et al. Bonding effectiveness and interfacial characterization of a nano-filled resin-modified glass-ionomer. *Dent Mater*. 2009;25(11):134–57.
58. Inoue S, Abe Y, Yoshida Y, De Munck J, Sano H, Suzuki K, et al. Effect of conditioner on bond strength of glass-ionomer adhesive to dentin/enamel with and without smear layer interposition. *Oper Dent*. 2004;29(6):685–92.
59. Lynch CD, Blum IR, Frazier KB, Haisch LD, Wilson NH. Repair or replacement of defective direct resin-based composite restorations: contemporary teaching in U.S. and Canadian dental schools. *J Am Dent Assoc*. 2012;143(2):157–63.
60. Mine A, De Munck J, Van Ende A, Poitevin A, Matsumoto M, Yoshida Y, et al. Limited interaction of a self-adhesive flowable composite with dentin/enamel characterized by TEM. *Dent Mater*. 2017;33(2):209–17.
61. Vichi A, Margvelashvili M, Goracci C, Papacchini F, Ferrari M. Bonding and sealing ability of a new self-adhering flowable composite resin in class I restorations. *Clin Oral Investig*. 2013;17(6):1497–506.
62. Makishi P, Pacheco RR, Sadr A, Shimada Y, Sumi Y, Tagami J, et al. Assessment of Self-Adhesive Resin Composites: Nondestructive Imaging of Resin-Dentin Interfacial Adaptation and Shear Bond Strength. *Microsc Microanal*. 2015;21(6):1523–9.

63. Yasuda G, Inage H, Kawamoto R, Shimamura Y, Takubo C, Tamura Y, et al. Changes in elastic modulus of adhesive and adhesive-infiltrated dentin during storage in water. *J Oral Sci.* 2008;50(4):481–6.
64. Willems G., Celis JP, Lambrechts P, Braem M, Vanherle G. Hardness and Young's modulus determined by nanoindentation technique of filler particles of dental restorative materials compared with human enamel. *J Biomed Mater Res.* 1993;27(6):747–55.
65. Hass V, Folkuenig MS, Reis A, Loguercio AD. Influence of adhesive properties on resin-dentin bond strength of one-step self-etching adhesives. *J Adhes Dent.* 2011;13(5):417–24.
66. Silva S, Malacarne-Zanon J, Carvalho R, Alves M, De Goes M, Anido-Anido A, et al. Effects of Potassium Oxalate on Knoop Hardness of Etch-and-Rinse Adhesives. *Oper Dent.* 2012;37(4):356–62.
67. Jayaprakash T, Srinivasan MR, Indira R. Evaluation of the effect of surface moisture on dentinal tensile bond strength to dentine adhesive: An in vitro study. *J Conserv Dent.* 2010;13(3):116–8.
68. Erhardt MC, Toledano M, Osorio R, Pimenta LA. Histomorphologic characterization and bond strength evaluation of caries-affected dentin/resin interfaces: effects of long-term water exposure. *Dent Mater.* 2008;24(6):786–98.
69. Ilie N, Schöner C, Bücher K, Hickel R. An in-vitro assessment of the shear bond strength of bulk-fill resin composites to permanent and deciduous teeth. *J Dent.* 2014;42(7):850–5.
70. Sakoolnamarka R, Burrow MF, Swain M, Tyas MJ. Microhardness and Ca:P ratio of carious and Carisolv? Treated caries-affected dentine using an ultra-micro-indentation system and energy dispersive analysis of x-rays - A pilot study. *Aust Dent J.* 2005;50(4):246–50.
71. Van Meerbeek B, Willems G, Celis JP, Roos JR, Braem M, Lambrechts P et al. Assessment by nano-indentation of the hardness and elasticity of the resin-dentin bonding area. *J Dent Res.* 1993;72(10):1434–42.
72. Schwendicke F, Eggers K, Meyer-Lueckel H, Dörfer C, Kovalev A, Gorb S, et al. In vitro induction of residual caries lesions in dentin: Comparative mineral

- loss and nano-hardness analysis. *Caries Res.* 2015;49(3):259–65.
73. Nakajima M, Kitasako Y, Okuda M, Foxton RM, Tagami J. Elemental distributions and microtensile bond strength of the adhesive interface to normal and caries-affected dentin. *J Biomed Mater Res - Part B Appl Biomater.* 2005;72(2):268–75.
 74. Wei S, Sadr A, Shimada Y TJ. Effect of caries-affected dentin hardness on the shear bond strength of current adhesives. *J Adhes Dent.* 2008;10(6):431–40.
 75. Marquezan M, Corrêa FNP, Sanabe ME, Rodrigues Filho LE, Hebling J, Guedes-Pinto AC, et al. Artificial methods of dentine caries induction: A hardness and morphological comparative study. *Arch Oral Biol.* 2009;54(12):1111–7.
 76. Zanchi CH, Lund RG, Perrone LR, Ribeiro GA, del Pino FA, Pinto MB et al. Microtensile bond strength of twostep etch-and-rinse adhesive systems on sound and artificial caries-affected dentin. *Am J Dent.* 2010;23(3):152–6.
 77. Mammadov R, Tekinay AB, Dana A, Guler MO. Microscopic characterization of peptide nanostructures. *Micron.* 2012;43(2–3):69–84.
 78. Zhu YY, Ding GQ, Ding JN, Yuan NY. AFM, SEM and TEM studies on porous anodic alumina. *Nanoscale Res Lett.* 2010;5(4):725–34.
 79. Anchietà RB, Machado LS, Martini AP, Dos Santos PH, Giannini M, Janal M, et al. Effect of long-term storage on nanomechanical and morphological properties of dentin-adhesive interfaces. *Dent Mater.* 2015;31(2):141–53.
 80. Sidhu SK, Watson TF. Resin-modified glass-ionomer materials. Part 1: Properties. *Dent Updat.* 1995;22(10):429–32.
 81. Arrais CA, Miyake K, Rueggeberg FA, Pashley DH, Giannini M. Micromorphology of resin/dentin interfaces using 4th and 5th generation dual-curing adhesive/cement systems: a confocal laser scanning microscope analysis. *J Adhes Dent.* 2009;11(1):15–6.
 82. D'Alpino PH, Pereira JC, Svizero NR, Rueggeberg FA, Pashley DH. Factors affecting use of fluorescent agents in identification of resin-based polymers. *J Adhes Dent.* 2006;8(5):285–92.

83. de Oliveira MT, Arrais CA, Aranha AC, de Paula Eduardo C, Miyake K, Rueggeberg FA et al. Micromorphology of resin-dentin interfaces using one-bottle etch&rinse and self-etching adhesive systems on laser-treated dentin surfaces: a confocal laser scanning microscope analysis. *lasers surg med*. 2010;42(7):662–70.
84. Barreto M, Rosa R, Seballos V, Machado E, Valandro L, Kaizer O, et al. Effect of Intracanal Irrigants on Bond Strength of Fiber Posts Cemented With a Self-adhesive Resin Cement. *Oper Dent*. 2016;41(6):e159–67.
85. Sauro S, Osorio R, Watson TF, Toledano M. Influence of phosphoproteins' biomimetic analogs on remineralization of mineral-depleted resin–dentin interfaces created with ion-releasing resin-based systems. *Dent Mater*. 2015;31(7):759–77.
86. de Azevedo CS, Garbui BU, Martins e Silva C, Simionato Lorenzetti MR, de Freitas AZ, Matos AB. Obtaining artificially caries-affected dentin for in vitro studies. *J Contemp Dent Pr*. 2014;15(1):12–9.
87. Diniz IMA, Horta ID, Azevedo CS, Elmadjian TR, Matos AB, Simionato MRL, et al. Antimicrobial photodynamic therapy: A promise candidate for caries lesions treatment. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2015;12(3):511–8.
88. Freitas PH, Giannini M, França R, Correr AB, Correr-Sobrinho L, Consani S. Correlation between bond strength and nanomechanical properties of adhesive interface. *Clin Oral Investig*. 2017;21(4):1055–62.
89. Pongprueksa P, Kuphasuk W, Senawongse P. The elastic moduli across various types of resin/dentin interfaces. *Dent Mater*. 2008;24(8):1102–6.
90. Anchieta RB, Rocha EP, Sundfeld RH, Martin Jr M, GianniniM RA. Micromechanics of dentin/adhesive interface infuction of dentin depth: 3d finite element analysis. *Int J Clin Dent*. 2011;4(199–210).
91. Hosaka K, Nakajima M, Takahashi M, Itoh S, Ikeda M, Tagami J et al. Relationship between mechanicalproperties of one-step self-etch adhesives and watersorption. *Dent Mater*. 2010;26:306–7.
92. Ito S, Hashimoto M, Wadgaonkar B, Svizero N, Carvalho RM, Yiu C et al. Effects of resin hydrophilicity on water sorptionand changes in modulus of elasticity. *Biomaterials*. 2005;26:6449–59.

93. Martini AP, Anchietà RB, Rocha EP, Freitas Junior AC, Almeida EO, Sundfeld RH et al. Influence of voids in the hybrid layer based on self-etching adhesive systems: a 3-DFE analysis. *J Appl Oral Sci.* 2009;17:19–26.
94. Davidson CL, Feilzer AJ. Polymerization shrinkage and polymerization shrinkage stress in polymer-based restoratives. *J Dent.* 1997;25(6):435–40.
95. Pioch T, D'Souza PD, Staehle HJ, Duschner H. Resin-dentin interface studied by SEM & CLSM. *Microsc Anal.* 1996;42:15–6.

ANEXO A - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DA UNIVERSIDADE DE SÃO
PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP														
<p>DADOS DO PROJETO DE PESQUISA</p> <p>Título da Pesquisa: Estudo da interface de uma resina autoadesiva e dentina afetada por cárie</p> <p>Pesquisador: Míriam Lacalle Turbino</p> <p>Área Temática:</p> <p>Versão: 2</p> <p>CAAE: 53515116.8.0000.0075</p> <p>Instituição Proponente: Universidade de São Paulo</p> <p>Patrocinador Principal: Financiamento Próprio</p> <p>DADOS DO PARECER</p> <p>Número do Parecer: 1.730.988</p> <p>Apresentação do Projeto:</p> <p>O objetivo deste estudo consiste em avaliar a dureza, o grau de conversão, a adaptação marginal e as características morfológicas da interface adesiva formada por uma resina composta autoadesiva (Vertise Flow – Kerr) e a dentina sadia e afetada por cárie, em comparação a um sistema adesivo associado a uma resina flow convencional. Preparos cavitários serão realizados na dentina oclusal de molares humanos (2 mm x 6 mm x 2 mm). Será produzida dentina afetada por cárie na metade da parede pulpar dos preparos, os quais serão restaurados e cortados no sentido méso-distal do dente para evidência da interface adesiva. Metade dos espécimes será submetida aos ensaios de dureza e a outra metade dos espécimes será analisada por microscopia eletrônica de varredura com a finalidade de mensurar a largura da maior fenda de desadaptação marginal encontrada nas restaurações e descrever as características morfológicas da interface. Para análise do grau de conversão, os espécimes serão confeccionados a partir de 10 molares humanos preparados e que passaram pelo ensaio cariogênico como os demais dentes. Os dentes serão cortados no sentido vestibulo-lingual de forma que sejam obtidas duas fatias (2 mm de espessura) por dente, uma com dentina sadia e a outra com dentina afetada. Os materiais restauradores serão inseridos nos preparos de forma que o grau de conversão seja aferido antes e depois da fotoativação. Cada variável resposta será avaliada separadamente por meio de análise de variância dois fatores e teste de Tukey, em caso de normalidade. As características morfológicas serão descritas após análise</p>														
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td colspan="3">Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227</td> </tr> <tr> <td>Bairro: Cidade Universitária</td> <td colspan="2">CEP: 05.508-900</td> </tr> <tr> <td>UF: SP</td> <td colspan="2">Município: SAO PAULO</td> </tr> <tr> <td>Telefone: (11)3091-7960</td> <td>Fax: (11)3091-7814</td> <td>E-mail: cepfo@usp.br</td> </tr> </table>			Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227			Bairro: Cidade Universitária	CEP: 05.508-900		UF: SP	Município: SAO PAULO		Telefone: (11)3091-7960	Fax: (11)3091-7814	E-mail: cepfo@usp.br
Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227														
Bairro: Cidade Universitária	CEP: 05.508-900													
UF: SP	Município: SAO PAULO													
Telefone: (11)3091-7960	Fax: (11)3091-7814	E-mail: cepfo@usp.br												
<small>Página 01 de 03</small>

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO

Continuação do Parecer: 1.730.988

qualitativa.

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo deste estudo consiste em avaliar a dureza, o grau de conversão, a adaptação marginal e as características morfológicas da interface adesiva formada por uma resina composta autoadesiva (Vertise Flow – Kerr) e a dentina sadia e afetada por cárie, em comparação a um sistema adesivo associado à uma resina flow convencional.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos mínimos. Sem benefícios diretos aos participantes.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Projeto bem estruturado e com forte embasamento científico.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Apresenta todos os termos necessários.

Recomendações:

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados ao CEP-FOUSP relatórios parciais anuais referentes ao andamento da pesquisa e relatório final, utilizando-se da opção "Enviar Notificação" (descrita no Manual "Submeter Notificação", disponível na Central de Suporte - canto superior direito do site www.saude.gov.br/plataformabrasil).

Qualquer alteração no projeto original deve ser apresentada "emenda" a este CEP, de forma objetiva e com justificativas para nova apreciação.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_664369.pdf	05/09/2016 13:39:33		Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto.pdf	09/08/2016 10:03:08	Paula Mendes Acatauassú Carneiro	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoPlataformaBrasil2.pdf	28/07/2016 09:08:29	Paula Mendes Acatauassú Carneiro	Aceito

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227

Bairro: Cidade Universitária CEP: 05.508-900

UF: SP Município: SÃO PAULO

Telefone: (11)3091-7960 Fax: (11)3091-7814 E-mail: cepfo@usp.br

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO

Continuação do Parecer: 1.730.988

Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	BancodeDentes.PDF	23/02/2016 22:37:58	Miriam Lacalle Turbino	Aceito
---	-------------------	------------------------	---------------------------	--------

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 16 de Setembro de 2016

Assinado por:

Maria Gabriela Haye Biazevic
(Coordenador)

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 05.508-900

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3091-7960

Fax: (11)3091-7614

E-mail: oepfo@usp.br