

Thiago Assunção Valentino

**Efeito da armazenagem em NaOCl na
degradação morfológica da interface
adesiva e na resistência de união em
diferentes substratos**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Odontologia de Piracicaba, da Universidade
Estadual de Campinas, para a obtenção do
Título de Mestre em Clínica Odontológica, na
Área de Dentística

Orientador: Prof. Dr. Luiz André Freire Pimenta

Co-orientador: Prof. Dr. Lourenço Correr Sobrinho

PIRACICABA

2007

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**

Bibliotecário: Marilene Girello – CRB-8ª. / 6159

V235e

Valentino, Thiago Assunção.

Efeito da armazenagem em NaOCl na degradação morfológica da interface adesiva e na resistência de união em diferentes substratos. / Thiago Assunção Valentino. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2007.

Orientadores: Luiz André Freire Pimenta, Lourenço Correr Sobrinho.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Esmalte dentário. 2. Dentina. 3. Resinas compostas. 4. Adesivos dentinários. 5. Resistência à tração. I. Pimenta, Luiz André Freire. II. Correr Sobrinho, Lourenço. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. IV. Título.

(mg/fop)

Título em Inglês: Effect of NaOCl storage on morphologic degradation of adhesive interface and bond strength in different substrates

Palavras-chave em Inglês (Keywords): 1. Dental enamel. 2. Dentin. 3. Composite resins. 4. Dentin bonding agents. 5. Tensile strength

Área de Concentração: Dentística

Titulação: Mestre em Clínica Odontológica

Banca Examinadora: Lourenço Correr Sobrinho, Simonides Consani, Renato Herman Sundfeld

Data da Defesa: 15-02-2007

Programa de Pós-Graduação: Clínica Odontológica



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de MESTRADO, em sessão pública realizada em 15 de Fevereiro de 2007, considerou o candidato THIAGO ASSUNÇÃO VALENTINO aprovado.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Lourenço Correr Sobrinho", written above a horizontal line.

PROF. DR. LOURENÇO CORRER SOBRINHO

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Renato Hermann Sundfeld", written above a horizontal line.

PROF. DR. RENATO HERMANN SUNDFELD

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Simonides Consani", written above a horizontal line.

PROF. DR. SIMONIDES CONSANI

Dedicatória

Dedico este trabalho,

Aos meus pais **Humberto Assunção Valentino e Rosa Elena de Freitas Valentino**, por sempre me apoiarem a realizar meus sonhos, com incentivo, dedicação e amor. Ao meu Pai, pelo exemplo deixado de dignidade, educação, amizade e exemplo a ser seguido. Sempre busco e buscarei os objetivos na minha vida seguindo seu exemplo e me espelhando na tentativa de sempre lhe deixar orgulhoso dos meus passos. À minha mãe, pelo porto forte no qual sempre buscamos e encontramos um amparo nas horas em que precisamos. Esta vitória é nossa e sempre amarei muito vocês.

Aos meus irmãos **Rodrigo, Marcelo e Júnior** pela amizade e apoio durante mais esta etapa em minha vida.

Agradecimento Especial

Ao meu orientador **Prof. Dr. Luiz André Freire Pimenta**, por ter acreditado no meu potencial e por ter dado a oportunidade da realização deste sonho. Apesar da distância que nos separou, sempre se mostrou prestativo e disposto a me ajudar e orientar, contribuindo para a minha formação e crescimento profissional. Obrigado por compartilhar parte de seu conhecimento e me mostrar os caminhos para caminhar sozinho.

Ao meu co-orientador **Prof. Dr. Lourenço Correr Sobrinho**, pela co-orientação durante todo o meu mestrado, sendo fundamental na minha formação e sempre exemplo de um profissional competente e um grande amigo. Agradeço o aceite de me orientar no doutorado e que este seja o princípio da criação de um grande laço profissional e pessoal.

Agradecimentos

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas nas pessoas do seu Diretor, **Prof. Dr. Francisco Haiter Neto**, e Diretor Associado, **Prof. Dr. Marcelo de Castro Meneghim**.

Ao **Prof. Dr. Mário Alexandre Coelho Sinhoreti**, Coordenador Geral dos Programas de Pós-Graduação e à **Profa. Dra. Renata Cunha Matheus Rodrigues Garcia**, Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Clínica Odontológica da FOP-UNICAMP.

À **CAPES** (Centro de Aperfeiçoamento Pessoal de Ensino Superior), por acreditar na minha capacidade profissional e no meu projeto de pesquisa, através da concessão de bolsa de estudos de Demanda Social.

Ao **Prof. Dr. Luis Roberto Marcondes Martins**, pela amizade e disponibilidade de informações, por sua reconhecida capacidade profissional e pelo saudável convívio durante o curso. Além de me proporcionar a realização do programa estágio docente contribuindo enormemente para a minha formação clínica.

Aos professores da Área de Dentística, **Profa. Dra. Gisele Maria Marchi Baron**, **Prof. Dr. Marcelo Giannini**, **Prof. Dr. Luís Alexandre Maffei Sartini Paullilo**, **Prof. Dr. José Roberto Lovadino** e **Prof. Dr. Flávio Henrique Baggio Aguiar**. Muito obrigado por contribuírem para a minha formação docente.

Ao **Prof. Dr. Renato Herman Sundfeld**, verdadeiro incentivador da minha vida profissional e carreira docente, por semear esta vontade de ser pesquisador e mostrar que pesquisador não é aquela pessoa que publica vários trabalhos e sim é a pessoa que realiza apenas um trabalho, mas com o amor e dedicação que designa em suas pesquisas.

Ao **Prof. Dr. Gilberto Antônio Borges**, pela amizade adquirida ao longo do mestrado, sempre se mostrando uma pessoal amiga e com uma enorme vontade de vencer os desafios, se tornando um exemplo a ser seguido.

A todo o corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Clínica Odontológica da FOP-Unicamp.

À aluna de doutorado **Larissa Maria Assad Cavalcante** por me acolher durante a minha chegada e ter se tornado, além de uma grande amiga, minha “orientadora” de laboratório. Obrigado Larissa, você foi fundamental por eu chegar até aqui e sempre lhe serei grato.

À aluna de doutorado **Vanessa Gallego Arias**, por seu jeito irreverente de ser e cativar a todos, e por ter contribuído para minha formação.

À minha turma de Mestrado 2005, **Leonardo Vieira de Oliveira, Fernanda Regina Voltarelli, Cláudia Batitucci dos Santos Daroz e André Luís Faria e Silva**. Grandes amigos com quem pude conviver bem e aprender muito; pelos bons e difíceis momentos por que passamos nessa difícil caminhada; pela ajuda mútua e atenção constante. Certamente eu os guardarei comigo, com carinho, por toda a vida.

Aos grandes amigos **Wagner Araújo de Negreiros, Daniel Ferreira Filgueiras, Tiago Galvão**, pela ótima convivência, grande amizade e apoio constante; pelos momentos de alegria e lazer que compartilhamos.

Aos funcionários da Área de Dentística, **Fernanda, Pedro e Mônica**, pela constante ajuda e amizade.

A **Deus** por estar presente em todos os momentos da minha vida, dando-me firmeza e serenidade para encarar as dificuldades.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para minha formação e por eu chegar até aqui, muito obrigado.

Epígrafe

“Aqueles que estão apaixonados pela prática sem a ciência são iguais ao piloto que navega sem lente ou bússola e nunca tem a certeza para onde vai. A prática deve estar sempre baseada em um perfeito conhecimento da teoria”.

Leonardo da Vinci

Resumo

O objetivo deste estudo *in vitro* foi analisar o efeito da armazenagem em solução de hipoclorito de sódio a 10% (NaOCl), para acelerar a degradação hidrolítica e simular o envelhecimento da interface adesiva ao longo do tempo, através da avaliação da resistência de união adesiva com a utilização do teste de microtração. A solução de hipoclorito de sódio a 10% é usada em curtos períodos de tempo (horas) resultando em decréscimo significativo da resistência de união no substrato dentinário após a armazenagem nesta solução; entretanto, o mecanismo de degradação gerado por esta solução não é totalmente compreendido, desde que o NaOCl é um agente proteolítico não-específico, que poderia degradar não apenas as fibrilas colágenas expostas não encapsuladas na camada híbrida, mas também a interface adesiva. Foram avaliados 2 sistemas adesivos comercialmente disponíveis: um sistema adesivo de frasco único Single Bond (SB) e um sistema adesivo contendo *primer* autocondicionante Clearfil SE Bond (SE). Foram utilizados neste experimento, 80 incisivos bovinos hígidos, 40 para esmalte e 40 para dentina, e 40 blocos confeccionados em resina composta, totalizando 120 unidades experimentais divididas em 12 grupos ($n = 10$). Após a restauração com resina composta Filtek Z250, a amostra foi armazenada em água destilada por 24 horas, a 37 °C. Para a realização do teste de microtração, as unidades experimentais foram cortadas em forma de palitos de 1 mm² e 8 *palitos* de cada unidade experimental foram armazenados em solução de hipoclorito de sódio a 10 % (NaOCl) por 2 horas (Grupos experimentais) ou em água destilada (H₂O) por 24 horas (Grupos controle). O padrão de fratura foi observado com o auxílio da Microscopia Eletrônica de Varredura e foram realizadas fotomicrografias em magnitude de 80X para classificação do padrão de fratura e 1000X para caracterização dos detalhes das regiões mais expressivas das superfícies analisadas. As médias convertidas em MPa para os valores de união foram analisadas pelo teste de Análise de Variância (ANOVA) fatorial (3X2X2) e teste de Tukey para comparação das médias, ambos ao nível de 5 %. Os valores médios de microtração foram: Esmalte/NaOCl/SB = 29.3(4.0) a; Esmalte/NaOCl/SE = 20.7(3.4) b; Esmalte/H₂O/SB = 31.2(5.0) a; Esmalte/H₂O/SE =

20.8(2.9) b; Dentina/NaOCl/SB = 13.5(1.6) c; Dentina/NaOCl/SE = 7.5(1.1) d; Dentina/H₂O/SB = 34.9(3.4) a; Dentina/H₂O/SE = 20.3(3.7) b; ResinaComposta/NaOCl/SB = 24.1(7.0) b; ResinaComposta/NaOCl/SE = 42.8(4.7) a; ResinaComposta/H₂O/SB = 26.6(2.7) b; ResinaComposta/H₂O/SE = 41.3(3.5) a. O padrão de fratura foi predominantemente adesivo para os substratos esmalte e resina composta, independentemente do sistema adesivo empregado e, para dentina, o padrão de fratura para a armazenagem em H₂O foi predominantemente adesivo e para a armazenagem em NaOCl foi predominantemente na área de degradação. A armazenagem em NaOCl apresentou maior potencial significativo de degradação e desproteinização para o substrato dentinário e o sistema autocondicionante empregado apresentou uma menor suscetibilidade à degradação. Este experimento *in vitro* provou ser efetivo na degradação de apenas das fibras colágenas na dentina, este método poderia ser útil para se prever o desempenho clínico dos sistemas adesivos.

Palavras-chave: Esmalte dentário, Dentina, Resina Composta, Adesivo Dentinário, Resistência à tração, Armazenagem em NaOCl.

Abstract

The purpose of this *in vitro* study was to investigate the fast effect of the 10 % hypochlorite sodium storage in simulation to hydrolytic degradation and adhesive interface aged for long time, through to evaluate the bond strength of microtensile bond test. The 10% NaOCl solution used in short periods of time (hours) resulting in a significant decrease in bond strength in dentin after storage in that solution; however the mechanism of degradation generated by this solution is not totally understood, since sodium hypochlorite is a non-specific proteolytic agent, which could degrade not only the exposed collagen fibrils underneath the hybrid layer, but also the adhesive interface. For 2 adhesive systems available commercially: one-bottle total-etch adhesive system Single Bond (SB) and primer self-etching adhesive system Clearfil SE Bond (SE). For this study, 80 sound bovine incisors, 40 for enamel and 40 for dentin, and 40 blocks building-up in composite resin, entirely 120 experimental units (n = 10). After sample restoration with resin composite Filtek Z250, the sample was stored in distilled water at 37 °C for 24 hours. For the microtensile bond test performance, the experimental units were sectioned into 1 mm² beams and 8 beams for each experimental unit were stored in 10 % hypochlorite sodium (NaOCl) for 2 hours (Experimental groups) or in distilled water (H₂O) for 24 hours (Control groups), entirely 960 beams observed. The failure pattern was observed in Scanning Electron Microscope (MEV) and photomicrographs were accomplished in 80X magnification for failure pattern classification and 1000X for details characterization of the more expressive areas for analysed surfaces. The means converted in MPa for the bond strength values were analysed by the Statistical Analysis (ANOVA) factorial (3X2X2) and Tukey test for multiple comparison, both at level 5%. The mean values for the microtensile test were: Enamel/NaOCl/SB = 29.3(4.0) a; Enamel/NaOCl/SE = 20.7(3.4) b; Enamel/H₂O/SB = 31.2(5.0) a; Enamel/H₂O/SE = 20.8(2.9) b; Dentin/NaOCl/SB = 13.5(1.6) c; Dentin/NaOCl/SE = 7.5(1.1) d; Dentin/H₂O/SB = 34.9(3.4) a; Dentin/H₂O/SE = 20.3(3.7) b; ResinComposite/NaOCl/SB = 24.1(7.0) b;

ResinComposite/NaOCl/SE = 42.8(4.7) a; ResinComposite/H₂O/SB =26.6(2.7) b; ResinComposite/H₂O/SE = 41.3(3.5) a. The failure pattern was predominantly adhesive for the substrates enamel e resin composite, independently adhesive system utilized and, for dentin, the failure pattern for H₂O storage was predominantly adhesive and for NaOCl storage was predominantly in degradation area. NaOCl storage showed a bigger degradation and desproteinization potential significantly for the dentin substrate and the self-etching adhesive system tested showed smaller degradation susceptibility. This *in vitro* test proves to be effective in degrading just the collagen fibrils in dentin, this method might be very useful to predict the performance of the adhesive systems in clinics.

Key-words: Enamel, Dentin, Composite Resin, Adhesive System, Microtensile Bond Test, NaOCl storage.

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	05
2.1. Interação entre os Substratos Dentais e Sistemas Adesivos.....	05
2.2. Interação entre os Substratos Dentais e Sistemas Adesivos com a aplicação de NaOCl após o Condicionamento Ácido.....	20
2.3. Aplicação da Solução de NaOCl como Meio de Armazenagem.....	28
3. PROPOSIÇÃO.....	31
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	33
5. RESULTADOS.....	53
6. DISCUSSÃO.....	69
7. CONCLUSÃO.....	83
REFERÊNCIAS.....	85
ANEXOS.....	91
Anexo 1 – Análise Estatística.....	91
Anexo 2 – Dados Tabulados.....	101

1. Introdução

Atualmente, inúmeras pesquisas científicas vêm sendo desenvolvidas e, como consequência, inovações tecnológicas e novas técnicas de análise do potencial dos materiais adesivos possibilitam que pesquisas clínicas e laboratoriais busquem novos caminhos para os procedimentos restauradores. O maior desafio da Odontologia Adesiva Moderna está em preparar uma estrutura que resista aos ataques químicos, aos desafios mecânicos intrabucais e promova uma união estável com as resinas compostas a serem aplicadas subjacentemente (De Munck *et al.* 2003), além de apresentar estabilidade e ser impermeável os fluidos bucais e substâncias bacterianas (Hashimoto *et al.* 2002).

A obtenção de excelência nos procedimentos de união é dependente da composição morfológica dos substratos dentais, principalmente para a compreensão das diferenças entre estes procedimentos de união (De Munck *et al.* 2003). O esmalte apresenta-se como uma estrutura heterogênea, constituída de aproximadamente 95% de mineral, 2% de material orgânico e 3% de água em peso (Retief. 1974). Este conteúdo mineral é constituído basicamente de cristais de hidroxiapatita, dispostos de maneira muito organizada, ao longo dos prismas na forma de bastões, com diâmetro de aproximadamente 5 µm e uma aparência de “buraco de fechadura” quando observados em corte transversal (Swift *et al.* 1995). A dentina, por sua vez, forma-se partir da secreção de uma matriz orgânica produzida pelos odontoblastos, constituída predominantemente de colágeno do tipo I e o principal componente inorgânico é, à semelhança do esmalte, a hidroxiapatita.. Em peso, a dentina maturada é constituída por aproximadamente 70% de matéria inorgânica, 18% de matéria orgânica e 12% de água (Butler. 1995).

A adesão de materiais à estrutura dental vem sendo pesquisada desde a década de 1950, principalmente baseada em estudos de Buonocore (1955) que utilizou o condicionamento com ácido fosfórico para promover adesão de materiais resinosos ao substrato esmalte. Fusayama *et al.* (1979) apresentaram uma técnica adesiva, denominada de “condicionamento ácido total”, que sugeriu o condicionamento dos substratos esmalte e

dentina simultaneamente com ácidos, assim como a posterior utilização de monômeros adesivos. A partir do conhecimento da técnica do condicionamento ácido total e da camada híbrida de adesão (Nakabayashi. 1982), a busca por um sistema adesivo capaz de aderir plenamente aos substratos dentais passou a ser considerada durante o processo restaurador.

Com base nestes conhecimentos, a evolução dos sistemas adesivos tem contribuído para a manutenção, ao longo do tempo, das condições clínicas satisfatórias das restaurações dentais. Entretanto, descolorações das margens das restaurações e/ou a presença de cáries recorrentes são frequentemente constatadas quando as interfaces adesivas são clinicamente avaliadas. Na literatura, nos deparamos com vários estudos *in vivo* (Hashimoto *et al.* 2000; Koshiro *et al.* 2005, Saboia *et al.* 2006) e *in vitro* (Yamauti *et al.* 2003; Pimenta *et al.* 2004; Yoshida *et al.* 2004, Osorio *et al.* 2005) que têm procurado entender o mecanismo da degradação da interface de união dente/sistema adesivo, buscando simular a dinâmica e complexidade da cavidade bucal. Segundo Yoshida *et al.* (2004), informações a respeito da degradação da interface de união são ainda muito limitadas.

A análise desta degradação tem sido conduzida principalmente com o uso de testes de armazenagem em água (Pimenta *et al.* 2004), testes em humanos (Hashimoto *et al.* 2000; Koshiro *et al.* 2005) e em macacos (Takahashi *et al.* 2002). Embora estes testes mostrem resultados promissores, segundo Yoshida *et al.* (2004), a necessidade de um longo período de teste (por exemplo: meses ou anos) é necessário para a obtenção dos resultados. Com o intuito de analisar esta interação entre substrato e meio de armazenagem, Yamauti *et al.* (2003), Yoshida *et al.* (2004) e Osório *et al.* (2005) propuseram armazenar seus espécimes em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl). Os autores justificam que devido ao poder desproteinizante da solução de NaOCl, este meio promove uma rápida degradação da interface dente/sistema adesivo. Segundo Yamauti *et al.* (2003), cerca de 50% da resistência de união é comprometida para o substrato dentinário com apenas 2 horas de armazenagem.

Atualmente, um dos maiores problemas para os sistemas adesivos se concentra na degradação da interface de união. A zona de dentina desmineralizada, pelos condicionadores ácidos, é insuficientemente infiltrada pelos monômeros resinosos e

acredita-se que a degradação da interface adesiva começa a ser instalada especialmente na base da camada híbrida produzida pelos sistemas adesivos que requerem condicionamento ácido prévio (Sano *et al.* 1995). Segundo Van Meerbeek *et al.* (2003), a técnica do condicionamento ácido convencional pode apenas garantir a eficiência da interdifusão monômero resinoso/dentina desmineralizada se toda a quantidade de água remanescente na superfície dentinária for completamente eliminada e substituída pelos monômeros resinosos.

Dentro das limitações dos sistemas adesivos convencionais, a sua maior sensibilidade devido ao controle de umidade e a necessidade de sua composição apresentar solventes, que precisam desempenhar o papel de volatilização da água durante o processo de interdifusão dos monômeros resinosos, se apresentam como desvantagens a serem consideradas durante os procedimentos restauradores. Se a água permanecer dentro da camada de fibrilas colágenas expostas, a fotoativação dos monômeros resinosos dentro da camada híbrida formada pode ser afetada e os monômeros deixarão de ocupar um espaço que se tornará desprotegido pela desmineralização ácida e pela ausência de interdifusão de monômero resinoso (Sano *et al.* 1995). Este processo de falta de interdifusão dentro da camada híbrida resulta na redução das propriedades mecânicas desta região afetada (Koshiro *et al.* 2005) e subsequente decréscimo na resistência de união.

Em virtude destas desvantagens dos sistemas adesivos convencionais de dois ou três passos que utilizam o condicionamento ácido prévio, uma nova abordagem para a união aos substratos dentais surgiu com o desenvolvimento dos sistemas adesivos autocondicionantes. Estes sistemas promovem uma simultânea desmineralização e penetração durante a aplicação do *primer* ácido (Van Meerbeek *et al.*, 2003). Este fato promove uma completa infiltração dos monômeros resinosos, uma vez que os passos lavagem e controle da umidade do substrato, que são realizados após o condicionamento ácido para os adesivos convencionais, não são mais necessários (Miyasaki *et al.*, 2002). Segundo Van Meerbeek *et al.* (2003), os sistemas adesivos primer-autocondicionantes de dois-passos poderiam penetrar além da *smear layer* e condicionar a dentina subjacente, formando o que os autores denominam de uma “camada híbrida verdadeira”.

Os sistemas autocondicionantes, ao contrário dos convencionais, por apresentarem este menor risco de criar uma insuficiente infiltração na dentina desmineralizada, têm sido apresentados por serem menos suscetíveis à degradação em relação aos sistemas adesivos convencionais. Em adição, cristais de hidroxiapatita residuais foram observados dentro da camada híbrida como resultado da capacidade moderada de condicionamento dos sistemas autocondicionantes de dois-passos. Os monômeros resinosos infiltram na base da dentina desmineralizada, polimerizando suficientemente *in situ* para produzir uma união mais resistente à degradação (Inoue *et al.* 2005). Entretanto, Tay *et al.* (2002) reportaram que uma pequena zona de dentina desmineralizada também pode ser formada com alguns sistemas adesivos autocondicionantes.

Diante destes aspectos, torna-se relevante o conhecimento dos processos de degradação dos componentes da camada híbrida obtida por diferentes sistemas adesivos frente aos substratos esmalte, dentina e resina composta, através da armazenagem em solução de NaOCl. Com o objetivo de buscar o melhoramento dos tratamentos adesivos e o conhecimento de seu desempenho longitudinalmente, na tentativa de prever o comportamento clínico destes materiais adesivos quando submetidos aos desafios de degradação.

2. Revisão de Literatura

A revisão de literatura foi didaticamente subdividida em: (2.1) Interação entre os substratos dentais e sistemas adesivos, (2.2) Interação entre os substratos dentais e sistemas adesivos com a aplicação de NaOCl após o condicionamento ácido e (2.3) Aplicação da solução de NaOCl como meio de armazenagem.

2.1. Interação entre os substratos dentais e sistemas adesivos:

Com o intuito de se obter um substrato modificado, que promovesse melhores padrões adesivos de materiais ao esmalte e à dentina, foi proposto o tratamento químico da superfície dental por ácidos. Este conceito foi inicialmente relatado por Buonocore (1955), que demonstrou que a adesão de resinas restauradoras acrílicas ao esmalte poderia ser significativamente melhorada após o condicionamento da superfície com ácido ortofosfórico a 85% por 30 segundos. Os resultados mostraram uma maior retenção da resina acrílica restauradora, medida pelo fator tempo nas condições intra-buciais dos voluntários. A aplicação deste ácido alterava a energia superficial do esmalte através da criação de irregularidades seletivas, que facilitavam a penetração dos compostos monoméricos, permitindo assim um embricamento micromecânico do adesivo nas microporosidades criadas pelo ácido.

Segundo Retief *et al.* (1974), a efetividade do condicionamento ácido na promoção da adesão ao esmalte levou ao desenvolvimento de pesquisas que voltassem a avaliar a aplicação deste pré-tratamento no substrato dentinário. O esmalte por se apresentar como uma estrutura heterogênea, constituída de aproximadamente 95% de mineral, 2% de material orgânico e 3% de água em peso, já apresentava uma adesão micromecânica aos materiais resinosos, tornando esta união ao esmalte dental um procedimento clínico com maior confiabilidade. Já a adesão ao substrato dentinário permanecia um desafio na busca de resultados confiáveis e duradouros. Aliado ao problema

da baixa qualidade de adesão obtida, o condicionamento ácido era altamente questionado no que concernia ao potencial dano pulpar causado sobre a dentina biologicamente vital.

Fusayama *et al.* (1979) avaliaram a adesão do sistema Clearfil Bond System F em superfícies de esmalte, dentina hígida e dentina cariada. Foi empregado o condicionamento ácido prévio tanto das superfícies de esmalte quanto de dentina com ácido fosfórico a 40%. Os espécimes foram armazenados por uma semana, um mês e três meses. Os resultados do experimento revelaram que, com o condicionamento ácido, os valores de união em esmalte foram aumentados de 2,58 MPa para 10,93 MPa, assim como em dentina, de 1,65 MPa para 6,10 MPa. Mesmo em dentina cariada, os valores obtidos foram semelhantes aos mostrados para a dentina não condicionada. Achados importantes deste estudo mostram que, após três meses de armazenagem, os valores de união não apresentaram decréscimo, e em esmalte foi possível observar um leve aumento nos valores de unia, contrariamente aos sistemas adesivos previamente estudados. Este fato sugeriu a possibilidade de uma adesão química deste material com o substrato. Além disso, o adesivo avaliado mostrou animadores valores de adesão à dentina cariada, o que permitiu a manutenção desta camada, também denominada *inner layer*, preservando uma maior quantidade de estrutura dental.

Tendo em vista as possíveis desvantagens dos agentes condicionantes à base de oxalatos, Nakabayashi (1982) estudou o efeito do condicionamento de superfícies de esmalte e dentina com uma solução à base de ácido nítrico 10% e cloreto férrico a 3% (solução 10:3) por 30 segundos. Os autores avaliaram a efetividade do monômero 4-META, tanto em dentes humanos quanto em dentes bovinos. Os monômeros hidrófilos e hidrófobos, como o 4-META, penetraram de modo micromecânico por entre a teia de fibrilas colágenas expostas, formando uma estrutura mista com fibrilas colágenas envolvidas por resina e cristais de hidroxiapatita, sendo que, após a polimerização, esta se constituía em uma zona ácido-resistente. Tal camada promoveu um aumento na resistência de união da resina chegando a valores de 18 MPa, em dentina bovina. Posteriormente, esta camada foi denominada “Camada Híbrida”, ou “Zona de Interdifusão Resina/Dentina”. A obtenção de tais resultados permitiu concluir que a obtenção de uma ótima adesão não se dava exclusivamente pela formação de prolongamentos resinosos (*tags*) no interior da

dentina, mas sim pela retenção micromecânica dos agentes resinosos com as fibrilas colágenas na dentina intertubular.

Pashley (1991) afirmou que o desafio na Odontologia Adesiva está em desenvolver sistemas adesivos que vão produzir altos valores de união ao substrato dentinário, em semelhança aos valores de união obtidos para o substrato de esmalte. Os autores colocam que o substrato dentinário apresenta algumas limitações em relação ao processo de união que é dependente da profundidade de preparação deste substrato, presença de *smear layer* e dificuldade do controle da secagem. Além disso, o contato com os fluidos orais, por exemplo, a contaminação da caixa proximal com sangue, provoca um decréscimo nos valores de união e que a descontaminação desta dentina deve ser realizado rigorosamente antes da aplicação do sistema adesivo. Os autores ainda, apontam que as forças de contração de polimerização são dependentes da forma do preparo cavitário e da inserção da resina composta. Em cavidades classe I, a inserção errônea da resina composta pode gerar forças de contração de polimerização que excedem os valores de união à dentina. Como conclusão, o desenvolvimento de futuros sistemas adesivos que não cedam à contração de polimerização poderia amenizar o problema de microinfiltração.

Butler (1995) afirmou que a formação de dentina envolve secreção de uma matriz de proteínas pelos odontoblastos antes da deposição de cristais de apatita. Esta matriz de proteínas provavelmente apresenta um papel na transformação de pré-dentina em dentina. As propriedades químicas e físicas do colágeno dentinário, similares àquelas encontradas no tecido ósseo, são especialmente adaptadas para a aglutinação da matriz de proteínas e para servirem como um arcabouço para a deposição mineral. Fosfoproteínas e proteínas específicas dentinárias são secretadas na frente de mineralização e são envolvidas neste processo de mineralização da dentina que circunda a polpa. Proteínas dentinárias são especialmente produzidas pelos odontoblastos e por células da polpa, e podem ser semelhantes às proteínas produzidas pelo tecido ósseo. Os autores mostram que a constituição do substrato dentinário em peso e afirmaram que a dentina maturada é constituída por aproximadamente 70% de matéria inorgânica, 18% de matéria orgânica e 12% de água. O principal componente inorgânico da dentina é a hidroxiapatita. Embora o mecanismo da dentinogênese não tenha sido completamente elucidado, estudos detalhando

a produção da matriz de dentina deveriam dar atenção especial para o processo de dentinogênese.

Sano *et al.* (1995) apresentaram o termo “nanoinfiltração” e observaram que a maioria dos estudos de microinfiltração envolve, quantitativamente, a magnitude de movimentação de uma molécula indicadora através de uma fenda entre os materiais restauradores e as paredes cavitárias. O presente estudo microscópico avaliou a migração do nitrato de prata entre a interface adesiva formada entre a dentina e 5 diferentes sistemas adesivos, usado para restaurar 5 cavidades, na ausência de formação de fendas. Diferentes padrões de infiltração foram observados, mas todos eles indicaram presença de infiltração dentro da camada híbrida quando a observação em microscopia eletrônica de varredura foi utilizada. Os valores de microinfiltração observados, do maior para o menor, foram All-Bond 2 > Suberbond C&B > Scotchbond Multi-Purpose > Clearfil Liner Bond System > Kuraray Experimental System, KB-200. Para a distinção deste tipo especial de microinfiltração dentro da base dos sistemas adesivos, ou seja, presença de poros dentro da camada híbrida na ausência da formação de fendas, os autores propuseram o termo “nanoinfiltração”.

Swift Jr *et al.* (1995) propuseram fornecer uma breve história da adesão aos substratos esmalte e dentina, bem como uma revisão sobre o atual “estado da arte” em relação aos processos de adesão. Os autores avaliaram a técnica do condicionamento ácido, os benefícios da união ao esmalte, os problemas de união à dentina, a relevância de estudos *in vitro*, fatores clínicos para a união à dentina e o desenvolvimento de novos sistemas adesivos. A habilidade dos clínicos para realizar os procedimento de união dos materiais restauradores ao esmalte dental tem, fundamentalmente, mudado diversas áreas como a preparação cavitária, a prevenção de cáries secundárias e as opções de tratamentos estéticos. Embora a adesão à dentina tem se mostrado ser mais difícil em relação ao esmalte dental, avanços nos sistemas adesivos tem apresentado melhorias na reabilitação envolvendo o substrato dentinário, deixando a adesão à dentina um procedimento mais previsível. Ainda, os autores na tentativa de elucidação da união ao esmalte, afirmam que este substrato se constitui basicamente de cristais de hidroxiapatita, dispostos de maneira

muito organizada, ao longo dos prismas na forma de bastões, com diâmetro de aproximadamente 5 µm e uma aparência de “buraco de fechadura” quando observados em corte transversal.

Partindo da premissa de que a durabilidade da interface adesiva em restaurações de compósito é importante na longevidade do tratamento odontológico, Sano *et al.* (1999) avaliaram, através de um estudo *in vivo*, a integridade adesiva promovida por um sistema autocondicionante. Cavidades com formato arredondado foram preparadas em 12 dentes de macaco (*Macaca fuscata*), sob anestesia geral. As cavidades foram restauradas com o sistema adesivo Clearfil Liner Bond 2 e com a resina composta Clearfil Photo Posterior. Os dentes foram extraídos em diferentes intervalos de tempo (imediatamente, 180 dias e 360 dias após os procedimentos restauradores), sendo preparados e submetidos ao teste de microtração um dia após o sacrifício dos animais. Microscopicamente, ao longo do tempo, pode-se observar um aumento das porosidades no topo da camada híbrida. A força de união manteve-se relativamente constante, não diferindo estatisticamente para os três intervalos de tempo avaliados (média de 19 MPa).

Com o intuito de estudar a degradação *in vivo* da união resina/dentina em humanos, Hashimoto *et al.* (2000) realizaram um estudo clínico com avaliações entre 1 e 3 anos. Os autores enfatizam que esta longevidade das restaurações em resina é, atualmente, uma área de grande interesse na Odontologia Adesiva. Entretanto, nenhum trabalho com o intuito de se investigar a durabilidade desta união *in vivo* tinha sido conduzido previamente. Dessa forma, os autores propuseram um estudo que investigou a degradação da união resina/dentina, em uma condição *in vivo* e com análises em 1, 2 e 3 anos. Cavidades foram preparadas em primeiros molares e o sistema adesivo de escolha foi o Scotchbond Multi-Purpose que foi aplicado nas cavidades de acordo com as instruções do seu fabricante. Após 1 a 3 anos dos procedimentos restauradores, seguido da erupção dos dentes permanentes, os dentes restaurados foram extraídos e, imediatamente após a extração, os dentes foram seccionados perpendicularmente à interface de união e foram realizadas constrições para a obtenção de espécimes em forma de “ampulheta”. Em seguida, o teste de microtração foi ensaiado em uma velocidade de quebra de 1.0 mm/min. Após a quebra, os

espécimes foram cuidadosamente preparados para a microscopia eletrônica de varredura para a classificação do padrão de fratura. Os resultados apresentaram diferenças estatísticas significantes entre os 3 grupos analisados ($p < 0.05$). Os valores apresentados foram 28,3 +/- 11,3 MPa (Grupo controle), 15,2 +/- 4,4 MPa (para 1 para 2 anos) e 9,1 +/- 5,1 MPa (para 2 para 3 anos). A análise do padrão de fratura demonstrou que os espécimes que foram submetidos e envelhecidos pelo meio bucal apresentaram a porção de dentina desmineralizada aumentada em relação ao grupo controle. Ainda, a degradação da resina composta e a degradação das fibras colágenas foram observadas entre os espécimes envelhecidos pelo meio bucal. Os autores concluem que a degradação das estruturas de união resina/dentina ocorre após o envelhecimento em cavidade bucal.

Nakajima *et al.* (2000) compararam a adesão dos sistemas adesivos One-Step, Single Bond e Clearfil Photo Bond sobre substratos dentinários secos ou úmidos. Terceiros molares humanos tiveram suas superfícies dentinárias expostas e restauradas de acordo com as normas dos fabricantes dos sistemas adesivos, sobre uma superfície dentinária úmida ou sobre a superfície dentinária seca por 5 segundos com jatos de ar. Os dentes foram avaliados quanto à resistência a microtração, bem como sob microscopia eletrônica de varredura. Os valores de adesão foram significativamente menores, para todos os sistemas adesivos, quando da união à dentina seca. Além disso, não foi possível verificar a presença de uma camada híbrida definida. Os maiores valores de união foram obtidos pelo sistema adesivo Single Bond, quando aplicado em dentina úmida (49,9 MPa), não diferindo estatisticamente do sistema adesivo One-Step. Os resultados suportaram a hipótese de que a adesão formada somente através dos prolongamentos resinosos (dentina seca) é catastróficamente menor do que a adesão promovida por um substrato dental devidamente hibridizado (dentina úmida).

Eliades *et al.* (2001) investigaram se a separação dos monômeros resinosos ocorre para os sistemas adesivos de frasco-único aplicados após o condicionamento da superfície dentinária. A metodologia empregada utilizou espécimes com substrato dentinário cobertos com a *smear layer* obtidos a partir de pré-molares hígidos, em seguida, os autores realizaram o condicionamento ácido e analisaram em espectroscopia micro-MIR FTIR, antes e após o tratamento com os sistemas adesivos de frasco-único Single Bond,

One-Step, *Primer & Bond 2.1*, Scotchbond 1 e Syntac-Sprint. Os diferentes espectros observados (condicionamento, *primer* sem o condicionamento para as mesmas superfícies de dentina) e foram construídos gráficos e os espectros comparados ao do adesivo original. Os picos da área de C=C/C...C (adesivos aromáticos) e C=C/C=O (adesivos alifáticos) foram utilizados para a avaliação da extensão da separação dos monômeros relativo ao espectro original dos sistemas adesivos, não ultrapassando 2 micrômetros da zona de interdifusão resina-dentina. Foram utilizados 3 espécimes do substrato dentinário para cada sistema adesivo testado. Como resultados relevantes, todos os adesivos demonstraram separação dos componentes dos monômeros para a dentina condicionada, sendo os valores médios apresentados de 68,7 a 81,9% relativo à referência. Os autores mostram que o alto peso molecular dos monômeros hidrófilos e hidrófobos predominou nas regiões sondadas e o sistema adesivo Prime & Bond 2.1 demonstrou a alta extensão de separação dos monômeros. E ainda, que uma distribuição heterogênea dos monômeros aplicados sobre uma dentina condicionada poderia afetar o desempenho de fotoativação dos sistemas adesivos de frasco-único durante o procedimento adesivo restaurador e afetar a estabilidade mecânica e química do polímero formado.

Hashimoto *et al.* (2002) avaliaram alterações morfológicas na interface dentina-resina após um ano de armazenagem em água destilada. Os autores observaram que esta degradação da interface adesiva promovida pelo sistema adesivo convencional One Step após um ano de armazenamento e buscaram avaliar o padrão de degradação deste sistema adesivo para espécimes armazenados em forma de palitos ou em dentes inteiros (por exemplo: com margens em esmalte). Os dentes foram avaliados quanto à microtração e ao tipo de fratura da interface adesiva. Diferenças significativas foram obtidas para o controle (55,9 MPa), espécimes armazenados em dentes inteiros (68,9 MPa) ou em palitos (28,1 MPa). A análise morfológica do padrão de fratura revelou que a fase resinosa da camada híbrida foi gradualmente extraída da periferia dos palitos, em direção à parte central dos palitos. Os autores justificam que este fato está diretamente relacionado com o decréscimo nos valores de união após um ano de armazenagem.

Miyasaki *et al.* (2002) buscando analisar a interfase dentina-resina, objetivaram estudar a adesão de sistemas adesivos à dentina que resulta da impregnação do adesivo dentro da dentina superficialmente desmineralizada pela presença de um agente condicionador ácido. Propuseram investigar a composição química da dentina impregnada pelo sistema adesivo através do uso da espectroscopia laser micro-Raman. Utilizaram dentes bovinos que foram hibridizados por um sistema adesivo de dois - passos, restaurados e seccionados no sentido paralelo aos túbulos dentinários. Em seguida, as superfícies foram polidas com um pasta de diamante de 1 micrômetro de granulação e o espectro Raman foi sucessivamente registrado ao longo de uma linha perpendicular à interface dentina-adesivo. As quantias relativas de hidroxiapatita (960 cm⁻¹, P-O), sistema adesivo (640 cm⁻¹, anel aromático) e substrato orgânico (1450 cm⁻¹, C-H) na interface dentina-adesivo foram calculadas. Dos resultados obtidos para a espectroscopia Raman, a camada híbrida representa uma transição gradual na quantidade relativa de adesivo da resina para a dentina. Evidência de uma pobre saturação do sistema adesivo na dentina desmineralizada com o sistema adesivo de frasco-único foi detectada. Os autores colocam como significância clínica, que a não homogeneidade da composição da camada híbrida foi detectada e o grau de impregnação do sistema adesivo encontrado parecer ser diferente entre os sistemas adesivos.

Takahashi *et al.* (2002) objetivaram avaliar a durabilidade *in vivo*, ao longo do tempo, através do estudo da força de união e das características morfológicas das interfaces adesivas entre a dentina e dois sistemas adesivos. Foram utilizados cavidades classe V nas superfícies vestibulares de 6 dentes intactos de macaco, e esses dentes foram restaurados com o sistema adesivo Unifil Bond/Unifil F e com o ionômero Fuji Bond LC/Clearfil AP-X. Após um ano, mais 10 cavidades classe V foram restauradas com os mesmos materiais e o macaco foi sacrificado depois de 24 horas deste procedimento. Para a realização de um experimento *in vitro*, foram utilizados mais 6 dentes extraídos de macaco, onde estes dentes foram restaurados da mesma forma descrita para a experimentação *in vivo* e, em seguida, estes dentes foram armazenados em água destilada a 37 °C por 24 horas. Todos os espécimes preparados foram submetidos ao teste de microtração (microTBS). As

superfícies fraturadas após a execução do teste, foram levadas ao microscópio eletrônico de varredura para a análise do padrão de fratura e as alterações morfológicas. Não foi constatada diferença estatística significativa para o teste de microTBS para o sistema adesivo Unifil Bond nas três condições experimentais (1 dia e 1 ano *in vivo*, e 1 dia *in vitro*), e o padrão de padrão se apresentou predominantemente falha coesiva adesiva (Unifil F). Entretanto, a análise microscópica mostrou que a porosidade aumentou após o tempo de 1 ano para o interface de união do sistema adesivo Unifil Bond. Para a força de união do ionômero Fuji LC após 1 dia *in vitro*, foi significativamente maior que 1 ano *in vivo*. A análise do padrão de fratura para o Fuji LC se apresentou predominantemente coesiva. Os autores concluem que os valores de união tendem a decrescer após 1 ano de análise *in vivo*.

Tay *et al.* (2002) questionaram a ocorrência de nanoinfiltração em sistemas adesivos autocondicionantes, uma vez que estes, a princípio, não devem apresentar um déficit de penetração e condicionamento. Superfícies dentinárias foram tratadas com os seguintes sistemas adesivos: Imperva Fluoro Bond, Unifil Bond e ABF (sistema de dois - passos), e o sistema AQ Bond (sistema ultra-simplificado). Como grupo controle, foram utilizados 4 resinas experimentais a base de poli-HEMA (100% HEMA, 90% HEMA-10% água, 75% HEMA- 10% água polimerizados quimicamente e 100% HEMA polimerizado termo-mecanicamente). Fatias dentais obtidas após a restauração dos espécimes foram imersas em solução de nitrato de prata por 24 horas e preparadas para inspeção em microscopia eletrônica de transmissão. Nanoinfiltração foi observada para todos os espécimes. Depósitos granulares e reticulares foram encontrados por entre a fina camada híbrida criada pelos sistemas adesivos autocondicionantes de dois - passos. Já para o sistema adesivo simplificado, excessivos depósitos de nitrato de prata foram encontrados por todo o complexo hibridizado. Crescente nanoinfiltração foi encontrada para espécimes de poli-HEMA que continham maior quantidade de água e que não estavam bem polimerizados. Baseado nos resultados obtidos, os autores concluíram que a incorporação de prata por estes adesivos pode não ser causada por déficits entre a penetração e condicionamento, mas sim por áreas de alta permeabilidade, com domínios de água

(escassa evaporação), que levam a formação de áreas de incompleta polimerização e de formação de hidrogéis.

A influência da efetividade da hibridização e do meio de difusão nos componentes da interface adesiva foi avaliada por De Munck *et al.* (2003). Para tanto, foram utilizados sistemas adesivos convencionais, sendo dois de frasco único e dois de múltiplos frascos. Os espécimes foram restaurados, e em seguida armazenados inteiros ou sob a forma de palitos, em água destilada, por 4 anos. Baseado nos resultados obtidos foi possível observar que a exposição indireta à água (por exemplo: espécimes inteiros) não reduziu os valores de união para nenhum sistema adesivo testado. No entanto, para os espécimes armazenados em palitos, uma significativa redução da resistência de união foi observada para os sistemas adesivos de frasco único. Os autores concluíram que as interfaces formadas por estes sistemas adesivos são muito mais susceptíveis à degradação hidrolítica, provavelmente porque apresentam propriedades muito mais hidrófilas que os sistemas adesivos de três - passos.

Van Meerbeek *et al.* (2003) avaliaram a adesão aos substratos esmalte e dentina. Os autores relatam que a adesão aos tecidos dentais pode ser alcançada através da abordagem de sistemas adesivos de “condicionamento prévio”, “autocondicionantes” e “ionômeros de vidro modificados por resina”. Os autores correlacionam o mecanismo básico da adesão à dentina e ao esmalte para os três tipos de abordagem e demonstram através da caracterização química das interfaces dente-biomaterial, utilizando a análise ultra-morfológica. Os autores concluem que existe uma grande diversidade de testes laboratoriais para se avaliar o mecanismo de união aos substratos dentais. Um consenso para a determinação da efetividade de união em laboratórios deveria envolver: (1) teste de força de união de microtração, (2) teste da efetividade de selamento dos sistemas adesivos e (3) teste de fadiga mecânico. Na literatura há uma carência de padronização destas metodologias, mas existe uma boa correlação entre testes laboratoriais e clínicos. Os autores concluem ainda, que uma adição química adicional com potencial de união à hidroxiapatita, como ocorre nos sistemas autocondicionantes de pH moderado, parece ser

um promissor avanço em relação à durabilidade da união ao longo do tempo, e ainda mostrando ser uma técnica de baixa sensibilidade e de fácil aplicação.

Embora o conceito de adesão ao substrato dentinário se apresenta com resultado da infiltração dos monômeros adesivos na superfície da dentina desmineralizada, ainda não é claro o mecanismo de como os monômeros selam as fibrilas colágenas em condições de umidade dentinária. Wang *et al.* (2003) analisaram esta eficiência de hibridização da interface dentina/adesivo com a utilização da técnica de adesão “úmida” e objetivaram determinar a qualidade e a estrutura molecular das interfaces dentina/adesivo formadas com a técnica da adesão “úmida” quando comparada com a formação da interface dentina/adesivo com condições controladas (hibridização ótima). Para cada dente extraído, terceiros molares humanos não-erupcionados, uma parte foi desmineralizada, desidratada e infiltrada com o sistema adesivo Single Bond sob as condições ótimas de hibridização; a outra parte remanescente foi tratada com o sistema adesivo Single Bond em condições de umidade. A interface dentina/adesivo foi submetida ao método de coloração tricômio de Goldner; e as interfaces foram analisadas pela espectroscopia micro-Raman. Os resultados histomorfológicos e da espectroscopia micro-Raman sugeriram que, sob condições de umidade, a interface adesiva/dentina se apresentou como uma rede colágena porosa, primariamente infiltrada pelo adesivo à base de HEMA, Single Bond, instável quanto à hidrólise.

Pimenta *et al.* (2004) avaliaram a influência de diferentes tratamentos dentinários e do tempo de armazenagem na força de união à dentina. Foram utilizados 220 incisivos bovinos que foram divididos em três grupos: (1) Condicionamento total e Single Bond, (2) Condicionamento total + degradação do colágeno com NaOCl a 10% e Single Bond e (3) Sem condicionamento e autocondicionante experimental. Cada grupo foi subdividido em 5 subgrupos de acordo com o tempo de armazenagem em água a 37 °C: 1 dia, 7 dias, 30 dias, 6 meses e 12 meses. A força de união foi obtida através do teste de cisalhamento. Nenhuma interação foi observada entre tratamento de superfície e tempo de armazenagem. O tempo de armazenagem não afetou significativamente a força de união. Diferenças estatísticas foram observadas entre os diferentes tratamentos na superfície

dentínaria. O sistema adesivo Single Bond aplicado após o condicionamento ácido apresentou os mais altos valores de força de união quando comparado aos outros tipos de tratamento de superfície. A remoção do colágeno afetou negativamente a força de união e o sistema autocondicionante experimental (3M ESPE) apresentou valores intermediários.

Reis *et al.* (2004) determinaram a força de união promovida por um sistema adesivo (Scotchbond) ao esmalte e dentina humanos, bovinos e suínos, e comparam a micromorfologia através do microscópio eletrônico de varredura. Foram utilizados 30 dentes hígidos recém-extraídos, 10 para cada tipo de substrato estudado. As coroas dentais foram lixadas e, depois de restauradas, foram preparadas fatias de 0,8 mm que foram transformadas em formato de ampulheta. O teste Tukey apresentou diferenças significativas para a força de união obtida entre esmalte e dentina ($p < 0,05$). Entretanto, não houve diferenças significativas para os valores de união entre os dentes humanos, bovinos e suínos. As fotomicrografias revelaram uma morfologia dentínaria semelhante para os três tipos analisados. Entretanto, para os espécimes confeccionados em esmalte suíno, estes apresentaram uma distribuição diferente para os prismas de esmalte. Os autores concluem que os dentes bovinos são possíveis substitutos para os dentes humanos, tanto para o substrato de esmalte quanto para o substrato dentinário. Entretanto, apesar dos dentes suínos apresentarem força de união semelhante aos dentes humanos e bovinos, a morfologia para o substrato de esmalte se apresenta uma configuração diferente.

Tay *et al.* (2004) avaliaram a agressividade dos sistemas adesivos autocondicionantes no substrato esmalte não desgastado. Os autores relatam que os fabricantes dos sistemas adesivos autocondicionantes de pH moderado preconizam o uso conjunto do ácido fosfórico quando procedimentos adesivos serão realizados na superfície dental hígida. A hipótese nula testada foi que não há diferença entre sistemas adesivos autocondicionantes mais agressivos e os sistemas adesivos que utilizam condicionamento ácido prévio, na adesão ao esmalte dental hígido. A ultra-estrutura e a força de união (microTBS) para os sistemas adesivos Xeno III e Simplicity, no substrato de esmalte hígido. Os dentes, após os procedimentos adesivos, foram submetidos à termociclagem. O sistema adesivo Clearfil SE Bond, um sistema autocondicionante de pH moderado, foi

utilizado como controle negativo, e o sistema adesivo One-Step, um sistema autocondicionante utilizado no substrato de esmalte hígido após o condicionamento ácido foi utilizado como controle positivo. Os autores observaram diferenças na espessura nas camadas híbridas formadas e a agressividade de dissolução dos cristais de hidroxiapatita foi diferente para os 4 sistemas adesivos testados.

Inoue *et al.* (2005) avaliaram a estabilidade hidrolítica de um sistema autocondicionante à dentina. Os autores relatam que os monômeros funcionais interagem quimicamente com a hidroxiapatita remanescente dentro da camada híbrida, produzida pelos sistemas adesivos autocondicionantes de pH moderado. O monômero funcional 10-MDP interage mais intensamente com a hidroxiapatita e com os sais de cálcio, se mostrando desta forma mais estável em relação à hidrólise, quando comparado aos monômeros 4-MET e Phenyl-P. Os autores investigaram a hipótese de que a interação química dos adesivos autocondicionantes promove uma união mais estável, utilizando a ciclagem térmica para envelhecimento das interfaces adesivas. A força de união obtida através do teste de microtração para o monômero 10-MDP não decresceu significativamente após 100.000 ciclos, mas decresceu após 50.000 e 30.000 ciclos para os monômeros à base de 4-MET e Phenyl-P, respectivamente. Igualmente, a ultra-estrutura da interface adesiva foi inalterada após 100.000 ciclos para o monômero à base de 10-MDP, enquanto que para os monômeros 4-MET e Phenyl-P, a interface adesiva apresentou lacunas e fibrilas colágenas menos definidas. Os autores concluem que seus achados mostram que a durabilidade ao longo do tempo para a interface de união depende do potencial de união química dos monômeros funcionais.

Kenhima *et al.* (2005) mensuraram a capacidade de tamponamento de sistemas adesivos autocondicionantes e avaliaram o efeito da espessura da camada híbrida na profundidade de formação de fenda e avaliaram a força de união para o substrato dentinário. Os sistemas autocondicionantes utilizados foram: Clearfil SE Bond (SE), *primer* autocondicionante Optibond Solo Plus mais Optibond Solo Plus (SO), Tyrian Self Priming mais One Step Plus (TY), Single Bond (SB) and Scotchbond Multi-Purpose Plus (SC). Trinta molares (n=5) foram seccionados e polidos para formação da camada *smear layer*.

Em seguida, os dentes foram restaurados e cortados em palitos de 0.8 mm². Para a microtração, foram observadas diferenças estatísticas apenas para o fator adesivo ($p=0,001$) e TY apresentou os menores valores de microtração. Para formação de fenda, ambos os fatores, adesivos e espessura da camada híbrida, apresentaram diferenças significantes. A maior média para profundidade de fendas foi observada para o SE. Uma relação linear foi observada entre o pH e formação de fenda e entre pH e microtração. Entretanto, uma correlação positiva foi observada apenas entre pH e formação de fenda ($R=0,99$). Não foi detectada relação entre microtração e formação de fenda ($R=0,04$). Embora a espessura da camada híbrida não apresentou efeito na força de união resina-dentina, a espessura afetou adversamente a profundidade de formação de fendas. Os valores de microtração não foram afetados pela acidez dos *primers* autocondicionantes; entretanto, maior agressividade dos *primers* autocondicionantes apresentaram menor média de profundidade de fendas. Os sistemas adesivos convencionais apresentaram maiores valores de microtração e menores profundidades de formação de fendas.

Em um estudo *in vivo*, Koshiro *et al.* (2005) avaliaram a degradação da união promovida entre dentina-resina por um sistema autocondicionante e por um sistema que utiliza condicionamento ácido prévio. Os autores relatam que a união entre dentina-resina degrada no meio bucal devido à agressividade deste meio. Com o objetivo de obter uma grande introspecção do processo de degradação da união adesiva, os autores buscaram, usando a microscopia eletrônica de transmissão (TEM), elucidar a estrutura da interface adesiva para dois sistemas adesivos unidos à dentina, após um ano de degradação *in vivo*. Foram realizadas cavidades classe V preparadas nas superfícies vestibulares de 14 dentes hígidos de 2 macacos e, estes dentes, foram restaurados usando um sistema adesivo autocondicionante de dois - passos, Unifil Bond, e um sistema convencional de dois - passos, Single Bond. Os dentes foram, em seguida, restaurados com a resina composta microhíbrida Z250. Após um ano, 10 outros dentes foram restaurados utilizando-se os mesmos materiais, constituindo dessa forma os grupos controles. Após um dia, os macacos foram abatidos, e os dentes após terem sido seccionados, foram levados ao teste de força de união de microtração e a ultra-estrutura da interface adesiva foi averiguada pelo TEM.

Entretanto, nenhuma alteração notável na morfologia da interface dentina-resina foi observada entre os períodos de armazenagem de 1 ano e 1 dia para o sistema adesivo autocondicionante Unifil Bond. Para o sistema adesivo convencional Single Bond, a interface de união exibiu sinais de degradação da interface, em particular na base da camada híbrida de 3 μm de profundidade. Os autores concluem que a interface de união produzida pelo sistema adesivo convencional de dois - passos foi menos resistente à degradação quando comparado ao sistema adesivo autocondicionante empregado.

Hashimoto *et al.* (2006) avaliaram os efeitos de erros comuns na habilidade de selar dos sistemas adesivos com utilizam condicionamento ácido prévio. Eles avaliaram o efeito de erros comuns no uso de sistemas adesivos convencionais, na redução da força de união, na movimentação de fluído e na formação de nano-infiltração de sistemas de união à dentina. Foram utilizados adesivos convencionais que foram usados para a hibridização do substrato dentinário, realizada de acordo com as orientações dos fabricantes dos sistemas adesivos, com meticulosa evaporação do solvente (Grupo controle), ou com a introdução dos erros comuns: adesão úmida sem a evaporação do solvente (não-evaporação) e adesão seca. Após 24 horas dos procedimentos adesivos, a força de união do grupo controle se apresentou significativamente maior que os outros grupos testados ($p < 0,05$). Para todos os grupos, a alta permeabilidade inicial declinou significativamente após 24 horas. A movimentação de fluído através da dentina hibridizada foi similar entre o grupo controle e o grupo da adesão seca, entretanto a permeabilidade foi significativamente maior para o grupo de não-evaporação do solvente, até mesmo transcorrido 24 horas. Uma extensiva impregnação por prata dentro da camada híbrida foi observada através da TEM para os grupos não-evaporados e adesão seca após 24 horas. A adesão seca causa colapso da matriz colágena e interfere na infiltração do adesivo. Em contraste, uma inadequada evaporação do solvente e/ou água residual durante a união à dentina resultam na incompleta polimerização ou diluição do adesivo, causando uma severa nano-infiltração. Os autores colocam como significância clínica que o aumento da permeabilidade associada à incompleta evaporação do solvente para os adesivos convencionais podem levar a uma pobre força de união.

Van Landuyt *et al.* (2006) testaram a hipótese que o sistema autocondicionante de dois - passos Clearfil SE Bond se uni de forma igualitária e efetiva ao esmalte/dentina com e sem condicionamento ácido prévio com ácido fosfórico. Superfícies foram preparadas para os substratos esmalte e dentina utilizando dentes humanos e os dentes foram divididos em duas metades por um sulco preparado. Uma metade foi primeiramente condicionada com ácido fosfórico a 40%, enquanto que a outra metade era protegida. Em seguida, o Clearfil SE Bond foi aplicado seguindo as instruções do fabricante e, em seguida, cada superfície foi restaurada com a resina composta Z100. Após 24 horas de armazenagem, os espécimes foram preparados para o teste de microtração. Em adição, as interfaces esmalte/dentina preparadas, com o sistema adesivo Clearfil, com e sem condicionamento ácido foram examinadas pela Feg-SEM e TEM. Um significativo aumento para a efetividade de união para o sistema Clearfil com condicionamento ácido prévio foi observado para o substrato esmalte. Uma superfície mais micro-retentiva foi observada pela TEM e Feg-SEM quando o esmalte foi condicionado. Já o condicionamento para o substrato dentinário reduziu significativamente a força de união. A TEM indicou que uma camada híbrida de baixa qualidade foi formada pelo condicionamento ácido prévio. Os autores concluem que a utilização do sistema adesivo Clearfil SE Bond, com o condicionamento ácido prévio promove maiores valores de união para o substrato de esmalte e que este condicionamento deve ser limitado a este substrato.

2.2. Interação entre os substratos dentais e sistemas adesivos com a aplicação de NaOCl após o condicionamento ácido:

Sabóia *et al.* (2000) avaliaram os efeitos da remoção do colágeno na resistência ao cisalhamento. Foram utilizados dois sistemas de união, Prime & Bond 2.1 e Single Bond. Utilizando-se a dentina de terceiros molares humanos como substrato. Após planificação da dentina, nos grupos controle (G1 e G3) foi aplicado o ácido fosfórico a 37% e os sistemas adesivos foram aplicados de acordo com os fabricantes. Nos grupos experimentais (G2 e G4), após o condicionamento ácido, foi aplicada uma solução de

NaOCl por 1 minuto, para a remoção do colágeno exposto pelo condicionamento ácido. Foram confeccionados cilindros de 3 mm de diâmetro e 5 mm de altura com resina composta Z100. Após 24 horas, em ambiente úmido, foi realizado o teste de cisalhamento na velocidade de 0,5mm/minuto. Os resultados demonstraram que a remoção do colágeno resultou no aumento da resistência adesiva para o “*primer*” a base de acetona (Prime & Bond 2.1), e diminuiu a resistência adesiva quando foi utilizado o “*primer*” a base de água (Single Bond). A união realizada em superfície com colágeno resultou em valores de união semelhantes para os dois sistemas de união. Os autores relatam que houve uma predominância de falhas coesivas em dentina para os espécimes do grupo com hipoclorito e Prime & Bond 2.1. a análise em MEV demonstrou diferenças morfológicas marcantes entre os espécimes dos grupos tratados e não tratados com hipoclorito de sódio, sendo que apenas nas amostras em que o colágeno não foi removido houve a formação da camada híbrida.

O procedimento clínico da desproteinização com o NaOCl aplicado na dentina após a etapa do condicionamento ácido não recebe na literatura um protocolo consensual. Vários tipos de aplicação vem sendo sugeridos, ao longo do tempo, dependendo da concentração da solução de NaOCl, do seu tempo e modo de aplicação, e da qualidade do tecido a ser desproteinizado. Concentrações altas (10% e 12% em volume) e baixas (1,5%, 5% em volume) de solução de NaOCl ou na consistência de gel de NaOCl vem sendo utilizados em um período de tempo que varia de segundos a horas.

Bedran de Castro *et al.* (2000) estudaram a influência da remoção do colágeno na resistência ao cisalhamento de três sistemas de união de frasco único. Foram utilizados 120 incisivos bovinos que foram divididos em 6 grupos aleatórios (n = 15). As áreas adesivas foram pré-determinadas com papeis adesivos perfurados no centro, cuja perfuração apresentava 3 mm de diâmetro. O Grupo 1 (G1): foi condicionado com ácido fosfórico a 37%, durante 15 segundos, lavados e desproteinizados com uma solução de NaOCl a 10% durante 60 segundos e aplicados o sistema adesivo Bond One. Grupo 2 (G2): utilizou-se apenas o sistema adesivo Bond One. Grupo 3 (G3): sistema adesivo Optibond SOLO e aplicação da solução de NaOCl após o condicionamento ácido. Grupo 4: utilizou-se apenas o sistema adesivo Optibond SOLO. Grupo 5 (G5): sistema adesivo Single Bond e aplicação da solução de NaOCl após o condicionamento ácido. Grupo 6 (G6): utilizou-se

apenas o sistema adesivo Single Bond. Os resultados de cisalhamento, convertidos em MPa, apresentaram um aumento significativo nos valores de cisalhamento para todos os sistemas união nos grupos em que se utilizou o NaOCl, exceto para o sistema adesivo Optibond SOLO. O sistema Optibond SOLO não apresentou diferenças estatísticas significantes quando comparados com o grupo sem colágeno. Os sistemas de união não diferiram estatisticamente entre si. Os autores concluíram que a remoção do colágeno pode aumentar os valores de união, dependendo do sistema adesivo utilizado.

Perdigão *et al.* (2000) analisaram o efeito da remoção do colágeno através da aplicação do gel de NaOCl a 10% (AD gel/ Kuraray) na resistência ao cisalhamento de dois sistemas de união de frasco único. Foram selecionados 80 incisivos bovinos hígidos. Os sistemas de união Prime & Bond NT e Single Bond foram aplicados de acordo com as instruções do fabricante (Grupos controle) ou após o tratamento da dentina com o gel de NaOCl a 10% por 15, 30 ou 60 segundos (Grupos experimentais). Os espécimes foram submetidos a 500 ciclos térmicos (5 – 55°C) e armazenados em água a 37°C por 24 horas. O aumento no tempo de aplicação do NaOCl resultou em decréscimo progressivo dos valores de resistência adesiva, independente do sistema adesivo empregado. Para o Single Bond, a aplicação do AD gel por 60 segundos, reduziu em 38% a resistência adesiva em relação ao grupo controle, enquanto que para o Prime & Bond NT, a redução foi de 31%. Os autores concluíram que a camada de colágeno desempenha um papel importante no mecanismo de união dos materiais testados, através da formação da camada híbrida de adesão.

Di Renzo. (2001) avaliou as modificações químicas dentinárias provocadas pelo tratamento com NaOCl e o ácido maléico. As modificações químicas foram caracterizadas através do microscópio fotoacústico (FTIRS), com mensuração dos espectros formados. Para isso, foram utilizados fragmentos dentinários de molares humanos, os quais tiveram seus esmaltes removidos, lavados, secados a vácuo e seus espectros mensurados através do FTIR. As amostras foram imersas em uma solução comercial de NaOCl a 12%, durante 30 minutos, lavadas com água, secadas a vácuo e seus espectros novamente medidos. Estas foram expostas na solução de NaOCl em intervalos de 0, ½, 1, 2, 6, 18, 30 e 48 horas. Para avaliar a ação do NaOCl, após o condicionamento ácido, as amostras foram

condicionadas com ácido maléico, durante 2 minutos, lavadas e os espectros medidos. As amostras foram expostas à solução de NaOCl, nos tempos de 0, 10 e 30 segundos, 1, 2, 5 e 15 minutos. Após cada intervalo de tempo, os corpos-de-prova foram lavados, secados e seus espectros medidos. O espectro da hidroxiapatita também foi medido para a comparação com a dentina desproteinizada. Os resultados demonstraram que os espectros são dependentes do tempo de exposição com o NaOCl. A hidroxiapatita se mostrou insolúvel em NaOCl, para os grupos não condicionados. Após 6 horas de imersão em NaOCl sem condicionamento, os discos de dentina mostraram-se mais brilhantes, indicando uma penetração profunda do agente nas amostras, entretanto, não houve uma remoção total do material orgânico nas amostras não condicionadas. Os espectros para as amostras condicionadas mostraram perda mineral e a presença de uma área rica em matéria orgânica. Já para as amostras condicionadas e tratadas com NaOCl durante 10, 30 e 60 segundos, um espectro intermediário foi observado quando comparado com as amostras condicionadas e tratadas com NaOCl por 2 minutos. Para os espécimes tratados com o agente desproteinizante por 2 minutos, o material orgânico foi removido. Para este tempo, o espectro mostrou-se semelhante ao da dentina mineralizada. Os tempos superiores mostraram que não houve diferença nos espectros. Os autores concluíram que o tratamento com ácido e NaOCl por 2 minutos, removeu a *smear layer* e apresentou uma composição similar a da dentina mineralizada.

O termo nanoinfiltração tem sido introduzido para explicar a trajetória de penetração dentro da camada híbrida na junção compósito/dentina na ausência da formação de *gap*. Pioch *et al.* (2001) propuseram um estudo para determinar a influência do tratamento com NaOCl na dentina para a formação da nanoinfiltração. Cavidades Classe V foram preparadas a partir de 40 molares humanos com as margens cervicais localizadas em dentina. Após o condicionamento com ácido fosfórico, 20 exemplares foram tratados com solução de NaOCl a 10 % por 60 segundos, e 20 exemplares foram usados como controle. Os espécimes foram expostos à solução de nitrato de prata. Após a embebição, eles foram seccionados, secos, metalizados como ouro e analisados em SEM. Para todos os espécimes no grupo controle, as imagens de retrodispersão indicaram a penetração de nitrato de prata dentro da camada híbrida. Não foi observado penetração de nitrato de prata nos dentes que

foram tratados com NaOCl. Concluíram que a remoção das fibrilas colágenas pelo uso do NaOCl evitou a formação de nanoinfiltração com os materiais testados.

Correr *et al.* (2004) avaliaram o efeito do hipoclorito de sódio na força de cisalhamento (SBS) usando três sistemas adesivos na dentina de dentes decíduos. Utilizaram neste estudo *in vitro*, 40 molares decíduos hígidos. As coroas foram longitudinalmente seccionadas, embebidas em resina de poliestireno e fatiadas até a dentina superficial ser alcançada. Os exemplares foram designados em dois grupos (n=15): G1 – Single Bond; G2 – NaOCl e Single Bond; G3 – Prime & Bond 2.1; G4 – NaOCl e Prime & Bond 2.1; G5 – Clearfil SE Bond; G6 – NaOCl e Clearfil SE Bond. Todos os sistemas adesivos foram aplicados de acordo com as recomendações de seus fabricantes, exceto pela aplicação da solução de hipoclorito de sódio a 10% por 60 segundos nos grupos 2, 4 (depois do condicionamento ácido) e 6 (antes da aplicação do sistema adesivo). Não foi encontrada diferença estatística significativa entre os grupos com e sem o tratamento do substrato com solução de NaOCl a 10%, não importando o material utilizado. O tipo de fratura mais freqüente encontrada foi do tipo mista, observada para todos os grupos. Os autores concluem que o tratamento da superfície dentinária com NaOCl a 10% não afeta a força de união entre resina/dentina na denteição decídua.

Mountouris *et al.* (2004) avaliaram o potencial de desproteíntização de uma solução de NaOCl aplicada por ação de fricção na composição molecular e morfologia da *smear layer* e nas superfícies dentinárias coronárias humanas. Utilizaram 2 grupos experimentais, nas quais superfícies dentinárias foram preparadas com condicionamento ácido prévio (Grupo A) ou com a *smear layer* (Grupo B) e, em seguida, foram sequencialmente tratadas com solução de NaOCl por intervalos de tempo variando de 5 a 120 segundos e analisadas pelo micro espectroscópio FTIR e microscópio de força atômica. Em ambos os grupos analisados, o tratamento com NaOCl reduziu a matriz orgânica (picos de amida I, II e III), mas não afetou carbonatos e fosfatos. No grupo A, o valor de desproteíntização foi lento e alcançou um pico de valor de 120 segundos. Os túbulos dentinários se tornaram visíveis após 40 segundos de tratamento; após 120 segundos, uma porosidade excessiva foi detectada, com valores Ra (mineral para matriz) presentes não estatisticamente significantes em relação ao grupo B. Para o grupo B após 10 segundos, a

extensão da desproteção foi acentuada, alcançando um patamar entre 30 e 60 segundos, e atingindo um máximo após 120 segundos. O diâmetro tubular, a porosidade tubular e Ra foram aumentados; a área de dentina intertubular foi reduzida. Para ambos os grupos após 40 segundos de tratamento, a proporção mineral para matriz registrada foi similar para a dentina seccionada sem *smear layer*.

Pimenta *et al.* (2004) avaliaram a influência de diferentes tratamentos dentinários e do tempo de armazenagem na força de união à dentina. Foram utilizados 220 incisivos bovinos que foram divididos em três grupos: (1) Condicionamento total e Single Bond, (2) Condicionamento total e degradação do colágeno com NaOCl a 10% e Single Bond e (3) Sem condicionamento e autocondicionante experimental. Cada grupo foi subdividido em 5 subgrupos de acordo com o tempo de armazenagem em água a 37 °C: 1 dia, 7 dias, 30 dias, 6 meses e 12 meses. A força de união foi obtida através do teste de cisalhamento. Nenhuma interação foi observada entre tratamento de superfície e tempo de armazenagem. O tempo de armazenagem não afetou significativamente a força de união. Diferenças estatísticas foram observadas entre os diferentes tratamentos na superfície dentinária. O sistema adesivo Single Bond aplicado após o condicionamento ácido apresentou os mais altos valores de força de união quando comparado aos outros tipos de tratamento de superfície. A remoção do colágeno afetou negativamente a força de união e o sistema autocondicionante experimental (3M ESPE) apresentou valores intermediários.

Shinohara *et al.* (2004) avaliaram o efeito de três diferentes sistemas adesivos na microinfiltração de restaurações Classe V após o uso do hipoclorito de sódio. Foram utilizados neste experimento 9 grupos experimentais (n=20): G1 – Single Bond; G2 – solução de NaOCl a 10% e Single Bond; G3 – NaOCl gel a 10% e Single Bond; G4 – Prime & Bond NT; G5 – solução de NaOCl a 10% e Prime & Bond NT; G6 – NaOCl gel a 10% e Prime & Bond NT; G7 – Gluma One Bond; G8 – solução de NaOCl a 10% e Gluma One Bond; G9 – NaOCl gel a 10% e Gluma One Bond. Tanto a solução de hipoclorito de sódio a 10% aplicada aos grupos 2, 5 e 8, quanto o gel de NaOCl a 10 % aplicado aos grupos 3, 6 e 9, foram aplicadas por 60 segundos após o condicionamento ácido. Os espécimes foram termociclados durante 1000 ciclos (5 a 55°C) e imersos em solução de

azul de metileno por 4 horas. Os resultados mostraram que o tratamento com hipoclorito de sódio aumentou a microinfiltração marginal no substrato dentinário e, para o esmalte, não foram observadas diferenças estatísticas significativas. Dependendo do sistema adesivo utilizado, a aplicação de NaOCl aumenta a microinfiltração ao longo das margens dentinárias.

Torres *et al.* (2004) avaliaram os efeitos da remoção do colágeno exposto após a realização do condicionamento ácido na microinfiltração de restaurações com e sem aplicação de um compósito *flow* e submeteram suas unidades experimentais a termociclagem e a armazenagem em água. Utilizaram cavidades Classe V que foram preparadas em 180 dentes bovinos, que foram divididos em três grupos de acordo com a técnica adesiva utilizada: Grupo controle – Single Bond, Grupo Hipoclorito – após o condicionamento ácido foi aplicado uma solução aquosa de hipoclorito de sódio a 10% por 1 minuto e Grupo Hipoclorito/Resina Flow – aplicado da mesma maneira que o grupo Hipoclorito. Cada grupo foi dividido em 3 subgrupos que foram armazenados por 24 horas, 6 ou 12 meses e submetidos a 500, 1500 ou 2500 ciclos térmicos, respectivamente. Em seguida, os espécimes foram corados com nitrato de prata e observados em estereomicroscópio para análise da microinfiltração (escores 0 a 4). Após 12 meses, todos os grupos apresentaram aumento na microinfiltração e não foram observadas diferenças estatísticas entre os grupos hipoclorito e hipoclorito/resina *flow* que, por sua vez, foram estatisticamente inferiores ao grupo controle. Os autores mostraram em seu trabalho que a remoção do colágeno reduziu a microinfiltração marginal quando comparados ao grupo que realizou a técnica de aplicação convencional. O uso de um compósito do tipo *Flow* não produziu efeito significativo na redução da microinfiltração e que nenhuma técnica estudada foi capaz de prevenir completamente o efeito da microinfiltração.

Correr *et al.* (2006) avaliaram as alterações do condicionamento ácido na dentina de dentes decíduos quando submetidos a diferentes tempos e concentrações de hipoclorito de sódio (NaOCl). Utilizaram 40 dentes decíduos distribuídos em 8 grupos experimentais de acordo com o tratamento superficial dentinário (ácido fosfórico a 35% por 7 segundos e/ou aplicação de NaOCl), concentração da solução de NaOCl (5% ou 10%) e

tempo de aplicação (0, 30, 60 e 120 segundos). Todos os espécimes foram preparados para análise em microscopia eletrônica de superfície e as fotomicrografias foram classificadas de acordo com o escore: 0 – presença de *smear layer*; 1 – ausência de *smear layer* + fibrilas colágenas não-alteradas; 2 – ausência de *smear layer* + fibrilas colágenas ligeiramente alteradas; 3 – ausência de *smear layer* + fibrilas colágenas severamente alteradas; 4 – ausência de *smear layer* e ausência de fibrilas colágenas. Todos os grupos tratados com solução de NaOCl foram significativamente diferentes e apresentaram alterações na rede de fibrilas colágenas. A remoção completa do colágeno foi apenas observada quando solução de NaOCl a 5% foi aplicada por 120 segundos e solução de NaOCl a 10 % por 30, 60 e 120 segundos. Os autores concluem que a ação da solução de NaOCl produz mudanças significantes na dentina de dentes decíduos condicionada previamente. E que para altas concentrações de solução de NaOCl, menor tempo é requerido para remoção completa da rede de fibrilas colágenas na dentina decídua.

Saboia et al. (2006) propuseram um estudo piloto *in vivo* que avaliaram, durante 2 anos, o efeito da remoção das fibrilas colágenas expostas pelo condicionamento ácido no desempenho clínico de lesões cervicais sem a presença de lesões cariosas. Foram utilizados 2 sistemas adesivos e 56 restaurações em 14 pacientes, cada paciente recebeu pelo menos 4 restaurações. Não foram usadas preparos cavitários ou retenções mecânicas. As variáveis testadas foram: (1) tratamento dentinário prévio à aplicação dos sistemas adesivos (condicionamento ácido apenas ou remoção das fibrilas colágenas previamente) e (2) tipo de composição dos sistemas adesivos (acetona ou etanol). Para os grupos com apenas condicionamento ácido, os substratos esmalte e dentina foram condicionados com ácido fosfórico 37% por 15 segundos, lavados e gentilmente secados. Os sistemas adesivos foram aplicados e fotoativados de acordo com as instruções dos fabricantes. Para o grupos que utilizaram o condicionamento ácido e a remoção das fibrilas colágenas, os substratos esmalte e dentina foram condicionados e lavados, em seguida, foi aplicado a solução de NaOCl a 10% por 60 segundos e lavado novamente antes da aplicação dos sistemas adesivos. As restaurações foram avaliadas pelos fatores: sensibilidade pós-operatória imediata e pós-operatória, retenção, descoloração marginal e presença de cáries

secundárias. O tempo de medição foi de 12 e 24 meses após os dentes terem sido restaurados, usando o critério USPHS modificado. Os resultados foram analisados usando os testes estatísticos Kruskal-Wallis e Wilcoxon ($p=0,05$). Após 24 meses, a proporção de retenção para o adesivo Prime & Bond 2.1 com e sem pré-tratamento com NaOCl foi de 80% e 63%, respectivamente. A retenção correspondente para o adesivo Single Bond foi de 70% e 90%, respectivamente. Descolorações marginais foram mínimas. As análises estatísticas revelaram que não houveram diferenças significantes para os períodos de análise entre os grupos para os fatores retenção e descoloração marginal. Nenhuma sensibilidade pós-operatória ou presença de cáries secundárias foram detectadas durante o experimento.

2.3. Aplicação da solução de NaOCl como meio de armazenagem

Yamauti *et al.* (2003) reportaram em seus estudos a hidrólise do colágeno dentro da união substrato/adesivo ao longo do tempo. Esta hidrólise poderia ser a uma das razões para a degradação da adesão. Em seu estudo objetivaram determinar os efeitos do NaOCl na união dos sistemas adesivos (sistema adesivo com condicionamento ácido total e sistema adesivo *primer* autocondicionante) com o substrato dentinário, com o objetivo de acelerar o teste da durabilidade da união adesiva. Espécimes de dentina hibridizados foram produzidos utilizando o sistema adesivo Liner Bond 2V, um sistema adesivo *primer* autocondicionante, e utilizando o sistema adesivo OptiBond SOLO, um sistema adesivo com condicionamento ácido total previamente à aplicação do sistema adesivo. Ambos os sistemas adesivos foram utilizados de acordo com as orientações dos seus fabricantes. Os espécimes foram seriadamente seccionados através das direções x e y na interface de união para a obtenção dos palitos (com área adesiva de 0,9 mm²). Os espécimes foram armazenados em solução de NaOCl por 1-5 horas, após terem sido estocados em água a 37°C por 24 horas. Os espécimes correspondentes ao grupo controle foram testados sem a exposição à armazenagem em solução de NaOCl. Depois da armazenagem, o teste de união de microtração foi realizado para quantificar a força de união dos espécimes. Os resultados

foram analisados pelo teste two-way ANOVA e para comparação das médias foi utilizado o teste de Fisher, ambos ao nível de significância de 5%. Todos os palitos foram observados em SEM para classificação do padrão de fratura e examinados utilizando um software para análise de imagens. A força de união decresceu com o aumento do tempo de armazenagem em solução de NaOCl. As imagens analisadas demonstraram que o NaOCl tem um efeito maior na estrutura de união do Optibond SOLO do que na estrutura de união do Liner Bond 2V, embora ambos os sistemas adesivos tenham sido afetados pela armazenagem em solução de NaOCl. Os autores concluem que a deterioração da adesão foi responsabilizada pelo efeito do NaOCl na camada híbrida. Esta deterioração poderia ocorrer em humanos nos casos de desproteinização dentro da área de adesão.

Yoshida *et al.* (2004) investigaram os efeitos do NaOCl na adesão dente-resina para simular as situações, ao longo do tempo, de durabilidade do potencial adesivo e da invasão cariogênica. Foram confeccionados espécimes de dentes restaurados a partir de dois sistemas adesivos (Excite e One-Bond). Em seguida, foram seriadamente confeccionados palitos, com 0,9 mm² de área adesiva, e os espécimes foram armazenados em solução de NaOCl a 10% por 0 (grupo controle), 2, 4 e 6 horas após os espécimes terem sido armazenados em água a 37°C por 24 horas. Depois dos processos de armazenagem, o teste de microtração foi realizado. Microfractografias em SEM foram conduzidas para se calcular o modo do padrão de fratura, através da análise das imagens. Em adição, a interface adesiva foi examinada com o uso da microscopia eletrônica de transmissão (TEM). Nos espécimes correspondentes ao grupo controle, a força de união não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os sistemas adesivos Excite (45,6 ± 15,0) e One-Bond (56,9 ± 12,9). Por outro lado, a força de união para o substrato dentinário apresentou diferença estatística significativa, Excite (80,6 ± 21,2) e One-Bond (50,7 ± 11,2). A força de união decresceu com o aumento do tempo de armazenagem para ambos os sistemas adesivos com união nos substratos esmalte e dentina. A deterioração da dentina mineralizada dos palitos resultou na redução da força de união a adesão resina-esmalte. Para a união no substrato dentinário, a interface adesiva foi gradualmente dissolvida do exterior para a região central do palito. A depleção das fibrilas colágenas dentro da dentina desmineralizada ou da deformação da camada híbrida foi encontrada através das análises em

SEM e TEM. Essas alterações morfológicas são responsáveis pela redução da força de união na adesão dentina-resina.

Osorio *et al.* (2005) avaliaram o efeito do tratamento com EDTA na resistência à degradação da interface de união. A existência de fibrilas colágenas não protegidas dentro da camada híbrida compromete a longevidade das restaurações. Isto poderia ser evitado se soluções que não sejam ácidos fortes, como o EDTA, fossem aplicadas na dentina desmineralizada. A hipótese testada foi que a durabilidade da resistência de união poderia ser melhorada com a aplicação e desmineralização proporcionada pelo EDTA. Superfícies dentinárias (dentes humanos e bovinos) foram hibridizadas: (1) após a aplicação do condicionamento ácido, e depois da desmineralização com EDTA com (2) um sistema adesivo com condicionamento ácido prévio e com (3) um sistema adesivo *primer* autocondicionante. Os dentes foram seccionados na forma de *palitos* e metade dos espécimes foi imersa em NaOCl, durante 5 horas, enquanto que a outra metade foi imersa em água destilada. Os *palitos* foram submetidos ao teste de microtração e foram aplicados os testes ANOVA e teste de comparação múltipla ($P < 0,05$). Não foram observadas diferenças na resistência de união entre os 3 procedimentos de união, embora a resistência de união obtida nos molares humanos foi superior aos incisivos bovinos. Após a imersão em solução de NaOCl, apenas os espécimes submetidos à desmineralização por EDTA mantiveram a resistência de união inicial. Os autores concluem que a rede de fibrilas colágenas é melhor preservada após a desmineralização com EDTA.

3. Proposição

O presente estudo *in vitro* apresentou como objetivos avaliar o comportamento ao longo do tempo da interface resina/substrato promovida por dois sistemas adesivos, um sistema com condicionamento ácido prévio e outro sistema adesivo contendo um *primer* autocondicionante, aplicados a três diferentes substratos quanto à resistência de tração através do ensaio de microtração.

Propôs-se então analisar:

1. O efeito da armazenagem em solução de hipoclorito de sódio a 10%, por 2 horas, na resistência à tração através de ensaios de microtração nos substratos esmalte, dentina e resina composta;
2. A micromorfologia do padrão de fratura com o auxílio do Microscópio Eletrônico de Varredura.

A hipótese nula deste trabalho foi de que não há diferenças na resistência de união promovida pelos sistemas adesivos em estudo, quando aplicados nos substratos esmalte, dentina e resina composta, após um período de 2 horas de armazenagem em solução de hipoclorito de sódio a 10% ou por 24 horas em água destilada.

4. Materiais e Métodos

4.1. Delineamento Experimental

Os fatores em estudo deste experimento *in vitro* foram substratos em três níveis (superfície de esmalte, dentinária e resina composta), sistema adesivo em dois níveis (frasco único Single Bond e *primer* autocondicionante Clearfil SE Bond) e meio de armazenamento em dois níveis (24 horas em água destilada e 2 horas em solução de hipoclorito de sódio a 10%). Considerando os diferentes níveis estudados, foram constituídas 120 unidades experimentais (40 dentes bovinos hígidos para esmalte, 40 dentes bovinos hígidos para dentina e 40 blocos confeccionados de resina composta) que, após o preparo e seccionamento, totalizaram doze grupos experimentais com 80 repetições (palitos) por grupo, fornecendo 960 análises de força de união. Este estudo caracterizou-se como um experimento de blocos ao acaso para o fator tempo de armazenagem. A variável de resposta, resistência de união, em MPa (Mega Pascal) foi avaliada quantitativamente, através de ensaios de microtração. A análise estatística foi realizada através do teste de Análise de Variâncias (ANOVA) com três fatores em esquema fatorial 3 x 2 x 2 (substrato x sistema adesivo x meio de armazenagem), e quando diante de significância estatística ao nível de 5%, o teste de Tukey foi realizado para a comparação das médias, ao nível de 5%. O fluxograma que esquematiza o delineamento experimental proposto para este experimento está ilustrado na Figura 1.

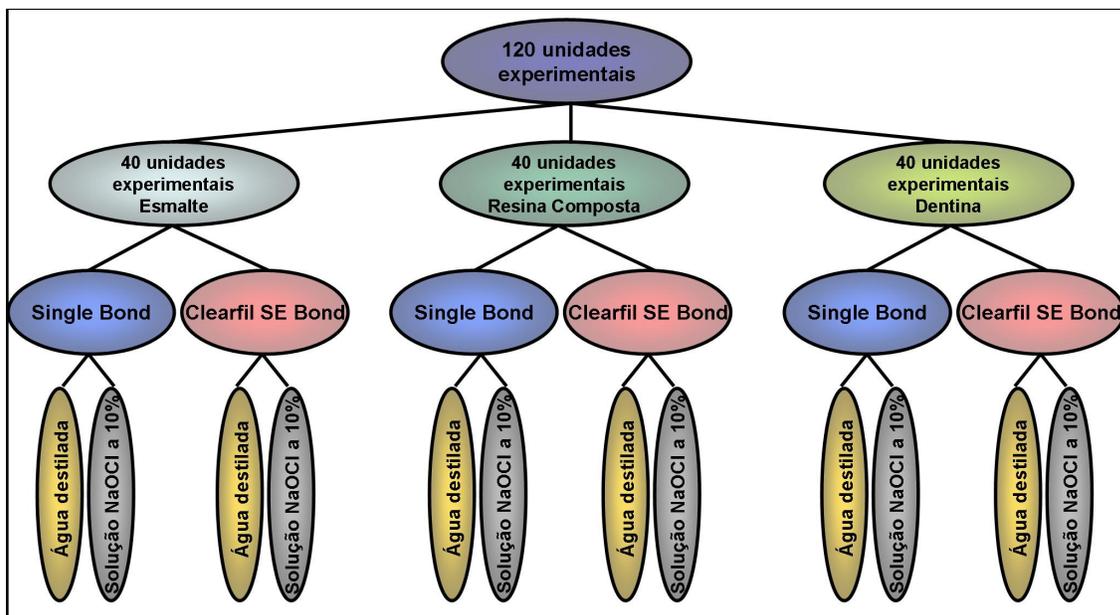


Figura 1. Fluxograma do delineamento experimental utilizado

4.2. Materiais adesivos empregados

Este trabalho analisou o efeito da armazenagem em solução de NaOCl a 10%, em dois sistemas adesivos comercialmente disponíveis; um sistema adesivo de frasco único: Single Bond (3M Dental Products; St. Paul, MN, USA) e um sistema adesivo contendo primer autocondicionante: Clearfil SE Bond (Kuraray Co, Osaka, Japan) (Figura 2). As composições referentes aos 2 sistemas adesivos empregados estão no Quadro 1. Os procedimentos restauradores adesivos foram realizados conforme as orientações de seus fabricantes.

Quadro 1 - Sistemas adesivos a serem empregados, seus componentes e fabricantes

Sistema Adesivo	Componentes	Fabricante
Single Bond	Ácido: fosfórico a 35% (3M Dental Products, St. Paul, MN, USA) Adesivo: solução de água, etanol, HEMA, bis-GMA, dimetacrilatos, copolímero funcional de ácido poliacrílico e poliitacônico.	3M Dental Products, St. Paul, MN, USA
Clearfil SE Bond	Primer: MDP, HEMA, dl-canforoquinona, N,N dietanol-p-toluidina, água; Adesivo: MDP, bis-GMA, HEMA, dimetacrilato hidrófobo, dl-canforoquinona, N dietanol-p-toluidina, sílica coloidal silanizada.	Kuraray Co, Osaka, Japan



Figura 2. Materiais adesivos e resina composta empregados

4.3.Preparo dos substratos experimentais

Os preparos dos substratos experimentais bem como as características inerentes a cada substrato estão enumerados abaixo.

4.3.1. Preparo das unidades experimentais em esmalte

Foram utilizados, para se analisar o efeito da armazenagem em solução de NaOCl a 10%, em esmalte, 40 incisivos bovinos hígidos (Figura 3), recém-extraídos, que após coletados, foram inicialmente limpos com curetas periodontais, onde foram removidos remanescentes de tecidos periodontais (Figura 4), a fim de se remover debris orgânicos e inorgânicos, em seguida, foi realizada profilaxia com pedra pomes e água (Figura 5), lavados em abundância com água destilada, armazenados em cloramina T a 0,5% (ISO 11404), para desinfecção, e congelados em frascos plásticos, até o momento da utilização, não ultrapassando um período superior a um mês após a extração.

Os dentes bovinos tiveram suas raízes cortadas na junção cimento-esmalte (Figura 6) e as superfícies vestibulares dos incisivos bovinos (n = 40) foram planificadas e padronizadas com auxílio de uma politriz mecânica (MaxiGrind Solotest, São Paulo, SP, Brasil), empregando-se discos de lixas de Al₂O₃, de granulações # 320, 400 e 600 (Figura 7), de forma crescente, sob constante irrigação com água destilada, obtendo-se desta forma, uma superfície plana (Figura 8). A planificação final da superfície e a padronização da formação da *smear layer* foram obtidas através da utilização do último disco de lixa de granulação # 600.

Uma área de 25 mm² (5 x 5 mm) foi delimitada com lápis no terço médio da face vestibular com o auxílio de um paquímetro digital Mahr 16 ES (Carl Mahr, GmbH, Esslinger, German) para receber a aplicação dos sistemas adesivos (Figura 9), realizada de acordo com as recomendações dos fabricantes conforme esquematizado no Quadro 2.

Posteriormente, um bloco confeccionado com resina composta híbrida Filtek Z250 (3M Dental Products, St. Paul, MN, USA), na cor A2, foi adicionada de forma de dois incrementos de 2 mm e fotoativadas com luz proveniente de um lâmpada halógena,

através do aparelho Optilux Demetron 501 (Demetron Kerr Danbury, CT 06810-4153, USA), por 20 segundos por incremento, obtendo um bloco (5X5 mm² de área) confeccionado de 4mm de altura (Figura 10).

A intensidade de luz foi periodicamente monitorada através de um radiômetro (Radiometer, Demetron Research Corporation, Danbury, CT, USA), para assegurar que a fonte de luz emitida fosse ótima durante toda a fotoativação. A intensidade de luz média produzida pelo aparelho fotoativador ao longo de todo o experimento foi de 780 mW/cm².

Quadro 02 – Recomendações dos fabricantes para o substrato de esmalte

Sistema Adesivo	Recomendações do Fabricante em Esmalte
Single Bond	Aplicar ácido fosfórico a 35% (3M Dental Products, St. Paul, MN, USA) ao substrato por 30 segundos, lavar, remover excesso de água com papel absorvente, deixar úmido, aplicar duas camadas consecutivas do adesivo, secar gentilmente por 5 segundos, fotopolimerizar por 10 segundos.
Clearfil SE Bond	Aplicar primer por 20 segundos, secar com leve jato de ar, aplicar adesivo e uniformizar a camada com leve jato de ar, fotopolimerizar por 10 segundos.



Figura 3. Dentes incisivos centrais bovinos selecionados



Figura 4. Limpeza dos dentes bovinos com curetas periodontais



Figura 5. Profilaxia com pasta de pedras pomes



Figura 6. Corte da raiz bovina ao nível da junção cimento-esmalte



Figura 7. Planificação da superfície vestibular com o auxílio de uma politriz mecânica

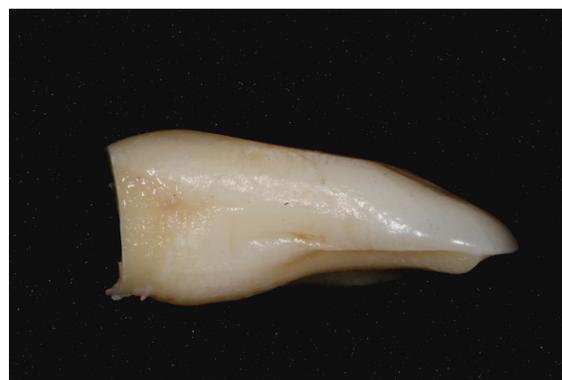


Figura 8. Superfície vestibular planificada para o substrato esmalte



Figura 9. Área de 5 x 5 mm delimitada na superfície vestibular após planificação



Figura 10. Bloco confeccionado com resina composta Z250 na cor A2

4.3.2. Preparo das unidades experimentais em dentina

O protocolo de limpeza e armazenagem dos espécimes para o substrato dentinário (n=40) foram os mesmos realizados para o preparo dos espécimes em esmalte. O preparo dos espécimes em dentina diferiu na utilização da politriz mecânica (MaxiGrind Solotest, São Paulo, SP, Brasil), que foi realizado de forma mais acentuada com o uso de discos de lixas de Al_2O_3 , de forma crescente, de granulação # 180, 320, 400 e 600, obtendo-se desta forma uma superfície dentinária plana e padronizada (Figura 11). O A planificação final da superfície e a padronização da formação da *smear layer* também foram obtidas através da utilização do disco de lixa de granulação #600.

Após este procedimento, todas as superfícies dentinárias foram inspecionadas em microscópio óptico com 20 vezes de aumento, a fim de se encontrar possíveis áreas de esmalte remanescente. Os dentes que possuíam superfícies em esmalte foram desgastados novamente em politriz mecânica, com disco de lixa de granulação #600.

Os dentes, após os procedimentos de planificação, tiveram suas porções radiculares removidas com o auxílio de discos diamantados dupla face (KG Sorensen Ind. E Com. LTDA, Barueri, SP, Brasil) montados em baixa rotação, restando dessa forma a

parte coronária intacta, a espessura remanescente de dentina foi mensurada empregando-se um paquímetro digital Mahr 16 ES (Carl Mahr, GmbH, Esslinger, German). Esta superfície dentinária analisada apresentava um desgaste em profundidade padronizado, superficial e distante da câmara pulpar, apresentando uma espessura remanescente, após os procedimentos de planificação, sempre maior que 2 mm (Figura 12). Objetivando desta forma a obtenção de um comprimento adequado dos *palitos* para a análise do teste de microtração para mensuração da força de união

Da mesma forma que realizado nos espécimes de esmalte, uma área de 25 mm², delimitada com lápis no terço médio da face vestibular, foi delimitada com o auxílio de um paquímetro digital Mahr 16 ES (Carl Mahr, GmbH, Esslinger, German) para receber a aplicação dos sistemas adesivos (Figura 13), que foram realizadas de acordo com as recomendações dos fabricantes para a superfície dentinária, conforme esquematizado no Quadro 3. Posteriormente, uma restauração com resina composta híbrida Filtek Z250 (3M Dental Products, St. Paul, MN, USA), na cor A2, foi construída e fotoativada conforme os procedimentos descritos para os espécimes em esmalte (Figura 14).

A intensidade de luz foi periodicamente monitorada através de um radiômetro (Radiometer, Demetron Research Corporation, Danbury, CT, USA), para assegurar que a fonte de luz emitida fosse ótima durante toda a fotoativação. A intensidade de luz média produzida pelo aparelho fotoativador ao longo de todo o experimento foi de 780 mW/cm².

Quadro 03 - Recomendações dos fabricantes para o substrato de dentina

Sistema Adesivo	Recomendações do Fabricante em Dentina
Single Bond	Aplicar ácido fosfórico a 35% (3M Dental Products, St. Paul, MN, USA) ao substrato por 15 segundos, lavar, remover excesso de água com papel absorvente, deixar úmido, aplicar duas camadas consecutivas do adesivo, secar gentilmente por 5 segundos, fotopolimerizar por 10 segundos.
Clearfil SE Bond	Aplicar primer por 20 segundos, secar com leve jato de ar, aplicar adesivo e uniformizar a camada com leve jato de ar, fotopolimerizar por 10 segundos.

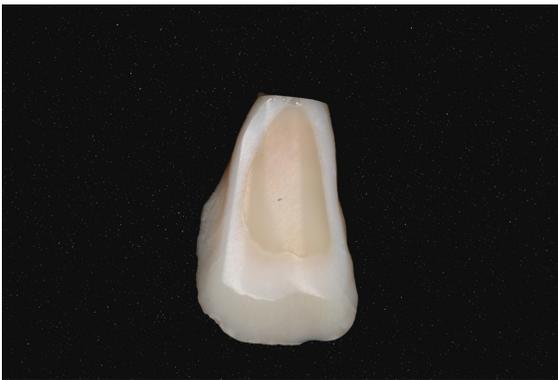


Figura 11. Superfície vestibular planificada para o substrato dentinário



Figura 12. Mensuração da espessura dentinária remanescente



Figura 13. Delimitação da área de 5 x 5 mm² para o substrato dentinário



Figura 14. Superfície dentinária restaurada com resina composta Z250, na cor A2

4.3.3. Preparo das unidades experimentais em resina composta

Para a observação do efeito da armazenagem da solução de NaOCl a 10% sobre os materiais adesivos resinosos, tendo em mãos a matriz metálica ilustrada na figura 15, foram confeccionados blocos de resina composta (n=40) de 25 mm² de área por 6 mm de profundidade com a resina composta híbrida Filtek Z250 (3M Dental Products, St. Paul, MN, USA), na cor A4, que foi adicionada em forma de 3 incrementos de 2 mm cada (figura 16) e fotoativada com fonte de luz proveniente de uma lâmpada halógena Optilux Demetron 501 (Demetron Kerr Danbury, CT 06810-4153, USA) por 20 segundos cada incremento. Antes da polimerização do último incremento, uma tira de poliéster foi utilizada para a promoção de uma superfície plana de resina composta (Figura 17), em virtude da obtenção de uma superfície plana da superfície para a realização do teste de união idealizado.

A intensidade de luz foi periodicamente monitorada através de um radiômetro (Radiometer, Demetron Research Corporation, Danbury, CT, USA), para assegurar que a fonte de luz emitida fosse ótima para a fotoativação. Em média, a intensidade de luz aferida foi de 780 mW/cm².

Após a confecção dos blocos de resina composta, estes simularam a área a ser restaurada delimitada como no substrato de esmalte e de dentina, ou seja, apresentavam uma área de 5 x 5 mm². Em seguida, os sistemas adesivos foram aplicados com o mesmo protocolo dos sistemas adesivos em esmalte (Quadro 2) sobre a superfície de 25 mm² e restaurados de forma de 2 incrementos de 2mm (figura 18), com uma resina composta híbrida Filtek Z250 (3M Dental Products, St. Paul, MN, USA), na cor A2 para melhor visualização da área de interface adesiva em relação à resina da base confeccionada na cor A4. Cada incremento foi fotoativado por 20 segundos de acordo com as instruções do fabricante da resina composta empregada.



Figura 15. Matriz metálica utilizada para a confecção dos blocos de resina composta



Figura 16. Bloco de resina composta de 6mm confeccionado em Z250 na cor A4

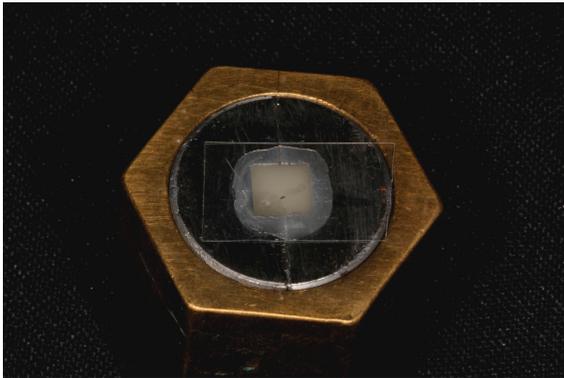


Figura 17. Tira de poliéster posicionada sobre a matriz metálica



Figura 18. Bloco de resina composta restaurado com a resina Z250 na cor A2

4.4. Preparo e confecção dos espécimes para o teste de microtração

Após a aplicação dos sistemas adesivos e restauração das superfícies delimitadas e planificadas de esmalte (n=40), de dentina (n=40) e nas superfícies dos blocos confeccionados em resina composta (n=40), os corpos-de-prova foram armazenados em frascos escuros em água destilada em estufa a 37°C, por 24 horas, e, em seguida, foram

preparados para o teste de microtração para mensuração dos valores de força de união (ISO 11405).

Todos os espécimes dentais, esmalte (figura 19) e dentina (figura 20), foram individualmente fixados em blocos cilíndricos de acrílico com o auxílio de cera pegajosa (Kota Ind. e Com. LTDA, São Paulo, SP, Brasil), paralelamente ao seu longo eixo, enquanto que os blocos de resina composta foram fixados perpendicularmente ao seu longo eixo (figura 21). O conjunto bloco cilíndrico/espécime foi acoplado a um dispositivo confeccionado para girar 90° e permitir um correto direcionamento dos cortes e a obtenção de palitos mais homogêneos e com lados equidistantes (figura 22), diminuindo desta forma discrepâncias em relação à largura dos palitos.

Toda a amostra (n=120), montada no dispositivo contendo o conjunto bloco cilíndrico/espécime, foi cortada em uma cortadeira metalográfica de precisão (Isomet 1000, Buehler, Lake Bluff, II, USA) nos eixos X e Y. As secções foram realizadas de forma seriada com espessura de 1,0 mm, com o auxílio de um disco diamantado de alta concentração (Extec Corp., Enfield, CT, USA), com uma velocidade de giro de 400 rpm sob irrigação constante com água destilada.

Após a realização dos cortes seriados na cortadeira metalográfica de precisão nos eixos X e Y, a separação total dos palitos das unidades experimentais seccionadas (Figuras 23, 24 e 25) foi realizada com a utilização de discos diamantados dupla face (KG Sorensen Ind. E Com. LTDA, Barueri, SP, Brasil), quando necessário. Dessa forma, foram obtidos corpos-de-prova retangulares, denominados *palitos*. Com o auxílio de um paquímetro digital (Carl Mahr, GmbH, Esslinger, Alemanha) os *palitos* foram mensurados e 8 *palitos*, de 1 mm² de área de secção transversal, foram selecionados para cada elemento da amostra, totalizando 960 *palitos* no total analisados.

Através do uso de um gel adesivo à base de cianocrilato (Super Bond, Henkel Loctite Adesivos LTDA, Itapevi, SP, Brasil), os 960 corpos-de-prova foram fixados individualmente em microdispositivos em forma de matriz (figura 26) e, em seguida, foram acoplados ao dispositivo de microtração MT Jig (figura 27), o qual se encontrava acoplado em uma máquina de ensaio universal (EMIC LTDA, São José dos Pinhás, PR, Brasil) para a mensuração dos valores de união através do teste de microtração. A fixação dos *palitos*

foi realizada nas suas extremidades, de modo a posicionar a área de adesão perpendicularmente ao longo eixo da força de tração.

Durante todo o teste, o evento foi monitorado por um programa de computador (MT Teste) que apresentava em sua tela um gráfico representativo do carregamento em função do deslocamento. Os valores máximos de resistência de união, em quilograma-força (Kgf) foram registrados no momento da fratura, logo após a interrupção do movimento da máquina de ensaio. O teste de microtração foi realizado a uma velocidade de 0,5 mm/mim com uma célula de carga de 50 Kgf e, os valores de união finais foram coletados para posterior conversão em MPa, sendo o valor da área transformada de mm² em cm². Os valores obtidos em Kgf foram divididos pela a respectiva área de cada espécime, obtendo-se desta forma os valores em MPa, através da fórmula $R = (F/A) / 9,8$. Onde R = força de união em MPa, F = força de união em Kgf, A = área de união calculada e uma constante = 9,8.

Após a realização do teste, as duas porções fraturadas foram cuidadosamente removidas da matriz de acrílico e a área correspondente à interface adesiva foi mensurada com o auxílio de um paquímetro digital (Carl Mahr, GmbH, Esslinger, Alemanha) (figura 28) que foram, juntamente com os valores de Kgf cedidos pelo teste de microtração, designados ao cálculo dos valores de força de união em MPa. As porções fraturadas foram devidamente armazenadas em *ependorfs* e visualizadas para a constatação do padrão de fratura com o auxílio de um microscópio eletrônico de varredura (MEV).

Para a classificação do padrão de fratura em MEV, foram aleatoriamente selecionados 4 dentes por grupo experimental e 5 palitos por unidade experimental, totalizando 20 palitos para a análise do padrão de fratura de cada grupo experimental.



Figura 19. Conjunto dente restaurado/bloco de acrílico para o substrato esmalte



Figura 20. Conjunto dente restaurado/bloco de acrílico para o substrato dentina

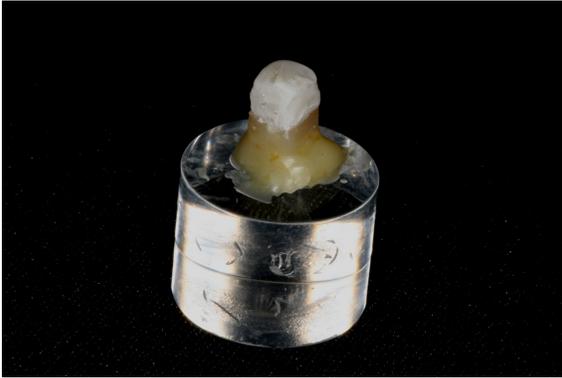


Figura 21. Conjunto bloco de resina/bloco de acrílico para o substrato resina composta



Figura 22. Dispositivo de corte que se movimenta em 90° e que recebeu os blocos de acrílico

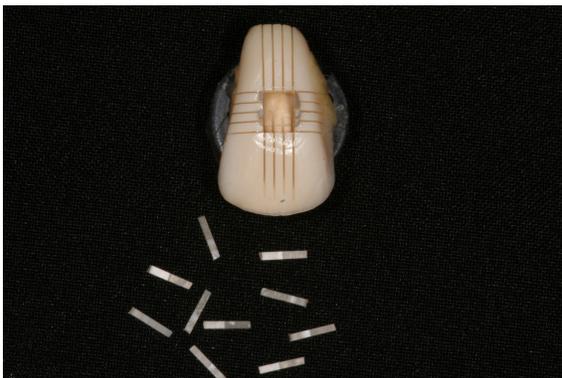


Figura 23. Substrato esmalte seccionado de forma que suas secções formassem um ângulo de 90°

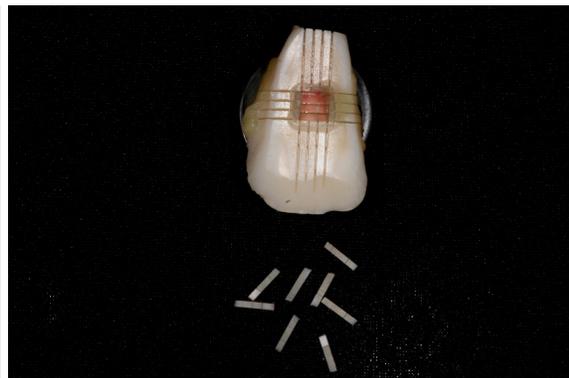


Figura 24. Substrato dentina seccionado de forma que suas secções formassem um ângulo de 90°

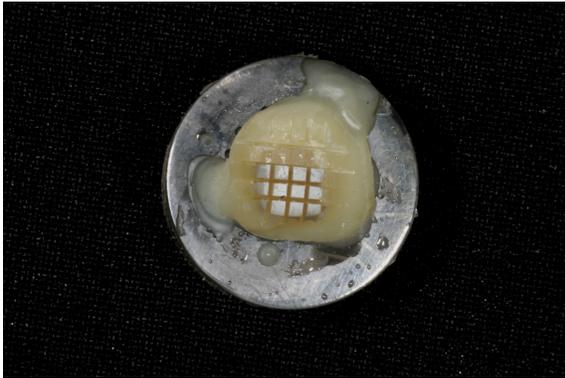


Figura 25. Substrato resina composta seccionado de forma que suas secções formam um ângulo de 90°



Figura 26. Microdispositivos em forma de matriz com os *palitos* fixados

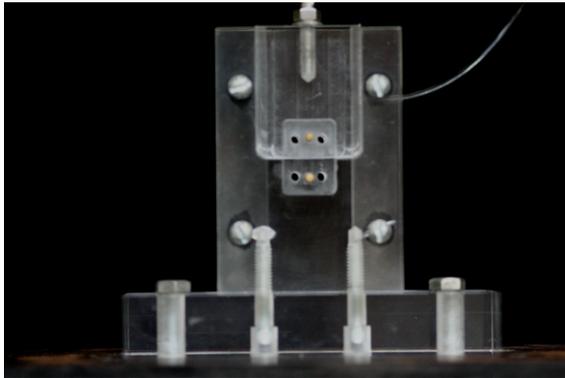


Figura 27. Dispositivo de Microtração MT Jig que receberá os microdispositivos



Figura 28. Mensuração com paquímetro digital dos lados do *palito* fraturado

4.5. Armazenagem em solução de hipoclorito de sódio

Para análise o efeito da armazenagem em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) no envelhecimento da interface adesiva ao longo do tempo, nos *palitos* dentais e nos *palitos* de resina composta, foi empregada uma solução aquosa de NaOCl a 10%, em

um período de tempo de armazenagem de 2 horas, conforme ilustrado na figura 29. Os grupos controle foram armazenados em água destilada por 24 horas.

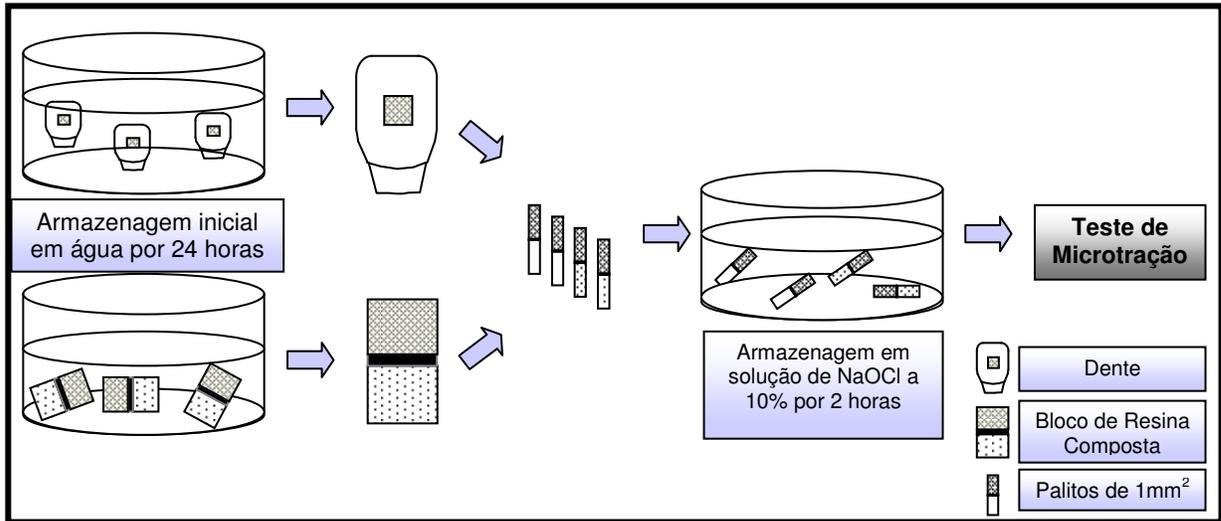


Figura 29 – Ilustração dos procedimentos experimentais a serem realizados

Desta forma, este estudo visa averiguar se o tipo de substrato, sistema adesivo e meio de armazenagem podem estar interagindo. Os grupos experimentais se constituíram de *palitos* que foram armazenados em solução de hipoclorito de sódio a 10% por 2 horas e os grupos controle se constituíram de *palitos* que foram armazenados em água destilada por 24 horas, conforme esquematizado no Quadro 4.

Quadro 04 – Grupos experimentais analisados de acordo com os substratos, sistemas adesivos e meios de armazenagem

Grupo	Substrato	Sistema Adesivo	Meio de Armazenagem
I	Esmalte	Single Bond	H ₂ O destilada/24 horas
II	Esmalte	Single Bond	Solução de NaOCl a10%/2 horas
III	Esmalte	Clearfil SE Bond	H ₂ O destilada/24 horas
IV	Esmalte	Clearfil SE Bond	Solução de NaOCl a10%/2 horas
V	Dentina	Single Bond	H ₂ O destilada/24 horas
VI	Dentina	Single Bond	Solução de NaOCl a10%/2 horas
VII	Dentina	Clearfil SE Bond	H ₂ O destilada/24 horas
VIII	Dentina	Clearfil SE Bond	Solução de NaOCl a10%/2 horas
IX	Resina Composta	Single Bond	H ₂ O destilada/24 horas
X	Resina Composta	Single Bond	Solução de NaOCl a10%/2 horas
XI	Resina Composta	Clearfil SE Bond	H ₂ O destilada/24 horas
XII	Resina Composta	Clearfil SE Bond	Solução de NaOCl a10%/2 horas

4.6. Classificação do padrão de fratura em Microscopia eletrônica de Varredura (MEV)

Após o teste de microtração, os *palitos* foram mantidos em estufa a 37 °C até sua fixação em *stubs* metálicos (Procind Mecânica e Instalações Industriais, Piracicaba, SP), nos quais os espécimes foram posicionados verticalmente, com a face fraturada voltada para a parte superior (Figura 30); com o auxílio de fitas adesivas de carbono para a realização da metalização em metalizador “Super Cool” (modelo SCD 050, Balzers, Germany) para que recebessem o recobrimento com ouro.



Figura 30. Palitos fraturados posicionados em stub metálico e metalizados com ouro

Os corpos-de-prova metalizados foram levados à Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), JEOL JSM 5600LV (JEOL, Japão). Em MEV, foram realizadas fotomicrografias, em magnitude de 80X para a visualização dos palitos e classificação do padrão de fratura, e 1000X das regiões mais expressivas das superfícies a serem analisadas para consolidação da classificação do padrão de fratura averiguado.

A classificação do padrão de fratura variou de acordo com o tipo de superfície a ser analisada. Para os *palitos* confeccionados em esmalte, a classificação foi: fratura adesiva, fratura coesiva em esmalte, fratura coesiva em resina composta e mista (parte adesiva, parte coesiva); para os *palitos* confeccionados em dentina, a classificação seguiu o padrão proposto por Yamauti et al. em 2003 e Yoshida et al. em 2004, o qual se apresentou: fratura adesiva, fratura coesiva em dentina, fratura coesiva em resina composta, mista (parte adesiva, parte coesiva) e a inclusão da classificação de fratura na área de degradação devido ao meio de armazenagem. Para os *palitos* confeccionados em resina composta, a classificação foi: fratura adesiva, fratura coesiva em resina composta e mista (parte adesiva, parte coesiva).

4.7. Análise estatística

Os resultados convertidos em MPa foram tabulados e analisados por meio da Análise de Variância (ANOVA) em 3 fatores, em esquema fatorial 3 x 2 x 2 (substrato x sistema adesivo x meio de armazenagem), adotando-se o nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$). Quando diante de diferença estatística significativa entre as médias examinadas, o teste Tukey, em nível de 5% de significância ($\alpha = 0,05$), foi realizado para comparação entre as médias.

5. Resultados

5.1. Avaliação do teste de microtração

A análise estatística ANOVA e o teste Tukey para os dados de microtração encontram-se na íntegra no Anexo 1 e os valores de resistência adesiva de todos os grupos experimentais encontram-se descritos no Anexo 2.

O método estatístico empregado neste estudo constituiu-se em uma análise estatística descritiva, que analisou os valores médios e os desvios padrão obtidos a partir do teste de união de microtração (Tabela 2); bem como em uma análise estatística analítica, que se dividiu em duas partes: análise multivariante, caracterizada pelo teste ANOVA (Análise de Variância) (Tabela 1), e uma análise bivariante, que se caracterizou pelo teste de Tukey, ambos ao nível de significância de 5% (Tabela 2).

Tabela 1. Análise de Variância (ANOVA três critérios) para os fatores em estudo: 1- Substrato, 2 – Meio de Armazenagem e 3 – Sistema Adesivo

	df Effect	MS Effect	df Error	Ms Error	F	p-level
1	2	2.146,606	108	15,16080	141,5893	0,000000
2	1	1.144,268	108	15,16080	75,4754	0,000000
3	1	31,605	108	15,16080	2,0847	0,151678
1*2	2	891,877	108	15,16080	58,8278	0,000000
1*3	2	2.370,130	108	15,16080	156,3328	0,000000
2*3	1	172,525	108	15,16080	11,3797	0,001032
1*2*3	2	30,316	108	15,16080	1,9996	0,140366

Tabela 2. Valores Médios (Desvio Padrão) obtidos a partir do teste de união de microtração, em relação aos 3 níveis de fatores analisados

Sustrato	Sistema Adesivo			
	Single Bond		Clearfil SE Bond	
	Água destilada	NaOCl	Água destilada	NaOCl
Esmalte	31,2(5,0) a	29,3(4,0) a	20,8(2,9) b	20,7(3,4) b
Dentina	34,9(3,4) a	13,5(1,6) c	20,3(3,7) b	7,5(1,1) d
Resina Composta	26,6(2,7) b	24,1(7,0) b	41,3(3,5) a	42,8(4,7) a

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%. Diferentes letras comparam, na horizontal, os níveis de substratos (Esmalte, Dentina e Resina Composta)

A ANOVA (Tabela 1) dos valores de resistência de união analisados demonstrou haver interações estatisticamente significantes para o fator substrato ($p = 0,0000$) e para o fator meio de armazenagem ($p = 0,0000$), bem como nas interações duplas: interação sistema adesivo x meio de armazenagem ($p = 0,0010$), interação substrato x sistema adesivo ($p = 0,0000$) e interação substrato x meio de armazenagem ($p = 0,0000$). Não foi observada diferença estatisticamente significativa para o fator sistema adesivo ($p = 0,1516$) e não foi possível detectar interação tripla entre os fatores em estudo substrato, sistema adesivo e meio de armazenagem ($p = 0,1403$).

O teste de Tukey (Tabela 2) foi empregado para evidenciar as diferenças estatísticas significativas entre cada fator em estudo, além da interação entre eles. Este teste está apresentado a seguir de acordo com as interações estatísticas observadas.

5.1.1. Fator Substrato

Foram observadas diferenças estatísticas significantes entre todos os substratos avaliados ($p = 0,0000$). O substrato resina composta apresentou-se superior ao

substrato esmalte que, por sua vez, apresentou-se superior ao substrato dentina (Tabela 3). Esses resultados demonstraram que o substrato dentinário foi o mais susceptível à degradação ao longo do tempo, simulada pelos meios de armazenagem.

Tabela 3. Médias de resistência de união dentro do fator Substrato

Substrato	Média MPa	5%
Esmalte	25,5	b
Dentina	19,1	c
Resina Composta	33,7	a

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%

5.1.2. Fator Meio de Armazenagem

Foram observadas diferenças estatísticas entre os meios de armazenagem água destilada e solução de NaOCl a 10% ($p = 0,0000$). O meio de armazenagem água destilada apresentou resultados de força de união com superioridade estatística em relação ao meio de armazenagem solução de NaOCl a 10% (Tabela 4). Esses resultados demonstraram que a solução de NaOCl a 10% apresenta um potencial de degradação superior ao da armazenagem em água destilada para o curto período de tempo de armazenagem testado.

Tabela 4. Médias de resistência de união dentro do fator Meio de Armazenagem

Meios de armazenagem	Média MPa	5%
Água destilada	29,17	a
NaOCL	22,99	b

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%

5.1.3. Interação Substrato – Meio de Armazenagem

Foram observadas diferenças estatísticas para a interação substrato – meio de armazenagem ($p = 0,0000$) (Tabela 5). Os resultados mostraram uma superioridade dos substratos esmalte e resina composta, independentemente do meio de armazenagem, em relação ao substrato dentinário. Apenas para o substrato dentinário, a armazenagem em solução de NaOCl a 10% afetou negativamente os valores de força de união testados, sendo que para os demais substratos, considerando a armazenagem em solução de NaOCl a 10% por 2 horas, não foi observada degradação significativa, não apresentando a solução experimental um efeito degradante inespecífico significativo, se mostrando apenas capaz de promover uma desproteinização em 2 horas de armazenagem, evidenciada pela degradação das fibrilas colágenas em dentina.

Tabela 5. Médias de resistência de união para a interação Substrato – Meio de Armazenagem

Meio de Armazenagem	Substrato		
	Esmalte	Dentina	Resina Composta
Água destilada	26,0 b	27,6 b	33,9 a
NaOCL	25,0 b	10,5 c	33,4 a

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%

5.1.4. Interação Substrato – Sistema Adesivo

Foram observadas diferenças estatísticas para a interação substrato – sistema adesivo ($p = 0,0000$) (Tabela 6). Os resultados mostraram uma superioridade do sistema adesivo Single Bond para os substratos esmalte e dentina, e uma superioridade do sistema adesivo Clearfil SE Bond para o substrato confeccionado em resina composta. Neste estudo *in vitro* que não simulou a movimentação hidrodinâmica através dos túbulos

dentinários, o sistema que utiliza condicionamento ácido previamente à aplicação do monômero resinoso apresentou um comportamento mais estável em relação aos substratos dentais avaliados.

Tabela 6. Médias de resistência de união para a interação Substrato – Sistema Adesivo

Sistema Adesivo	Substrato		
	Esmalte	Dentina	Resina Composta
Single Bond	30,27 b	24,22 cd	25,31 c
Clearfil SE Bond	20,76 d	13,91 e	42,05 a

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%

5.1.5. Interação Meio de Armazenagem – Sistema Adesivo

Foram observadas diferenças estatísticas para a interação meio de armazenagem – sistema adesivo ($p = 0,0010$) (Tabela 7). A análise da interação entre meios de armazenagem e adesivos mostrou que o sistema adesivo Single Bond apresentou melhor desempenho em relação ao sistema adesivo Clearfil SE Bond quando armazenado em água destilada por 24 horas. Entretanto, quando os sistemas adesivos testados foram armazenados em solução de NaOCl a 10% por 2 horas, ambos foram afetados negativamente pela armazenagem e não diferiram entre si. Para o meio de armazenagem água destilada, os valores de união obtidos foram superiores aos valores obtidos para a armazenagem em solução de NaOCl a 10%, independente do tipo de sistema adesivo empregado.

Tabela 7. Médias de resistência de união para a interação Meio de Armazenagem – Sistema Adesivo

Meio de Armazenagem	Sistema Adesivo	
	Single Bond	Clearfil SE Bond
Água destilada	30,9 a	27,5 b
NaOCL	22,3 c	23,7 c

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%

5.2. Classificação do padrão de fratura e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Os corpos-de-prova metalizados e levados à MEV foram observados através de fotomicrografias em magnitude de 80X para a classificação do padrão de fratura e de 1000X para caracterização das regiões mais expressivas das superfícies analisadas para consolidação da classificação do padrão de fratura. O modo de classificação do padrão de fratura foi realizado de acordo com o tipo de superfície analisada.

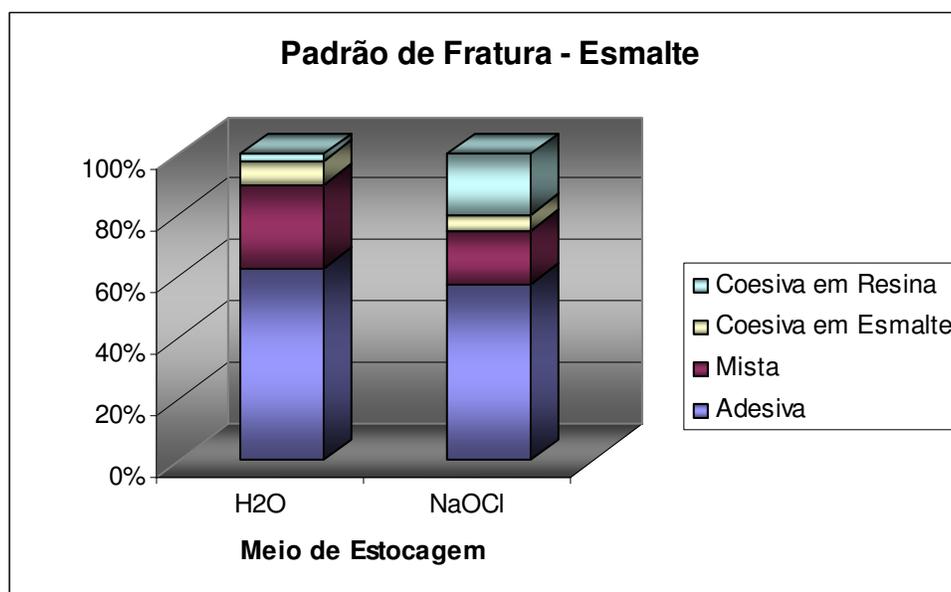
5.2.1. Classificação do padrão de fratura para o substrato esmalte

Para o substrato esmalte, as fraturas se apresentaram predominantemente adesivas, independentemente do tipo de sistema adesivo empregado e dos meios de armazenagem. Para o meio de armazenagem água destilada, as fraturas analisadas, numericamente, se apresentaram como 25 fraturas predominantemente adesivas, 11 fraturas do tipo mista, 3 fraturas coesivas em esmalte e 1 fratura coesiva em resina composta. Para o meio de armazenagem NaOCl, as fraturas analisadas se apresentaram como 23 fraturas predominantemente adesivas, 7 fraturas do tipo mista, 2 fraturas coesivas em esmalte e 8 fraturas coesivas em resina composta (Tabela 8; Gráfico 1).

Tabela 8. Padrão de Fratura para o Substrato Esmalte em relação aos Meios de Armazenagem

Padrão de Fratura Substrato Esmalte	Meio de Armazenagem	
	H ₂ O	NaOCl
Adesiva	25	23
Mista	11	7
Coesiva em Esmalte	3	2
Coesiva em Resina	1	8

Gráfico 1. Padrão de Fratura para o Substrato Esmalte em relação aos Meios de Armazenagem



5.2.2. Classificação do padrão de fratura para o substrato resina

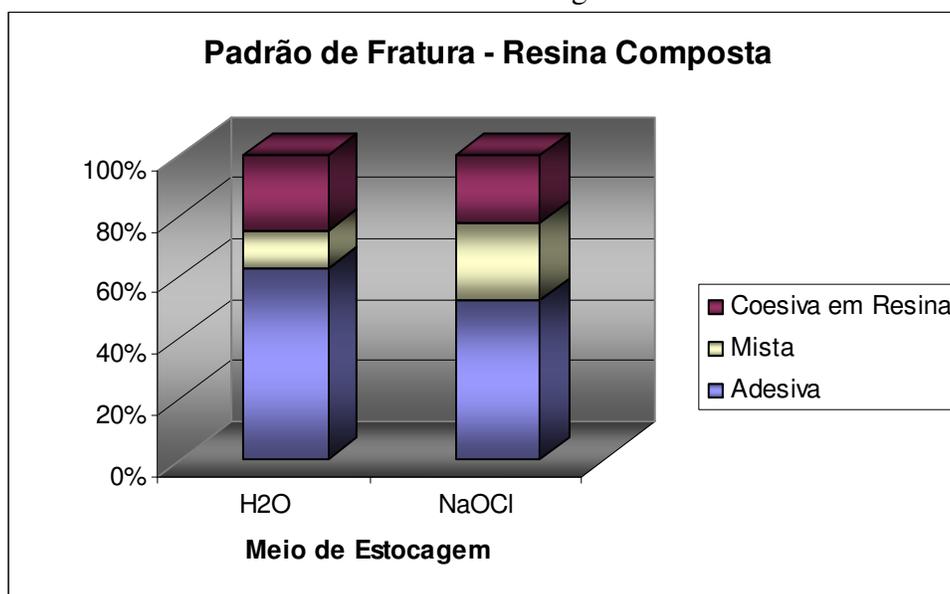
Para o substrato confeccionado a partir de resina composta, à semelhança com o substrato esmalte, as fraturas se apresentaram predominantemente adesivas, independentemente do tipo de sistema adesivo empregado e dos meios de armazenagem.

Para o meio armazenagem água destilada, as fraturas analisadas, numericamente, se apresentaram como 25 fraturas predominantemente adesivas, 5 fraturas do tipo mista e 10 fraturas coesivas em resina composta. Para o meio de armazenagem NaOCl, as fraturas analisadas se apresentaram como 21 fraturas predominantemente adesivas, 10 fraturas do tipo mista e 9 fraturas coesivas em resina composta (Tabela 9; Gráfico 2).

Tabela 9. Padrão de Fratura para o Substrato Resina Composta em relação aos Meios de Armazenagem

Padrão de Fratura Substrato Resina Composta	Meio de Armazenagem	
	H ₂ O	NaOCl
Adesiva	25	21
Coesiva em Resina	10	9
Mista	5	10

Gráfico 2. Padrão de Fratura para o Substrato Resina Composta em relação aos Meios de Armazenagem



5.2.3. Classificação do padrão de fratura para o substrato dentina

A classificação do padrão de fratura para o substrato dentinário, foi realizado de acordo com Yamauti et al. em 2003 e Yoshida et al. em 2004. Estes autores, devido à rápida degradação da armazenagem de seus espécimes em solução de NaOCl a 10%, observaram uma área de degradação que foi predominante para a classificação do padrão de fratura, em relação às classificações antes observadas na literatura.

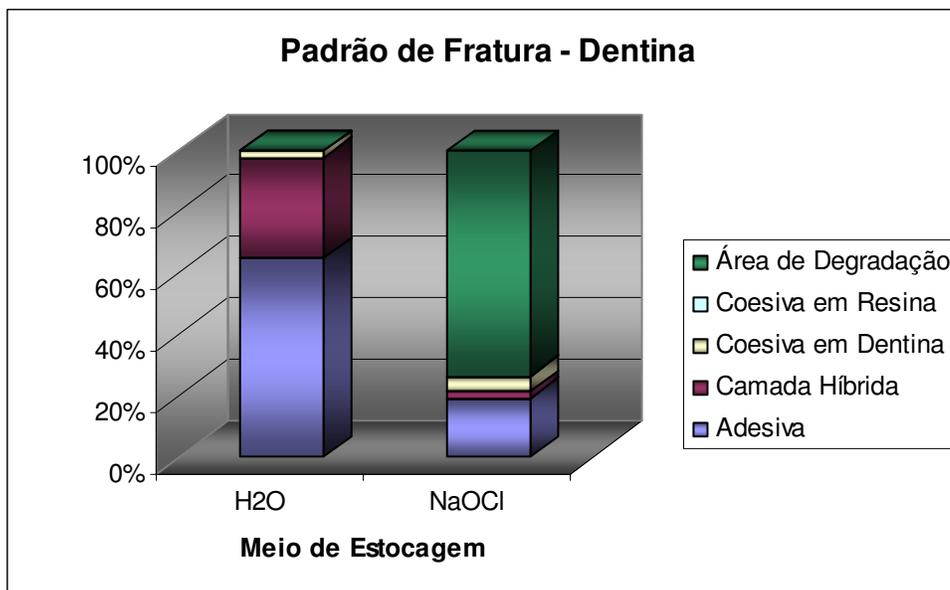
Para o meio de armazenagem água destilada, as fraturas do substrato dentinário se apresentaram predominantemente adesivas, independentemente do tipo de sistema adesivo empregado. As fraturas analisadas, numericamente, se apresentaram como 26 fraturas predominantemente adesivas, 13 fraturas na camada híbrida, 1 fratura coesiva em dentina, 0 fratura coesiva em resina composta e 0 fratura na área de degradação.

Para o meio de armazenagem solução de NaOCl a 10%, as fraturas analisadas se apresentaram como 8 fraturas predominantemente adesivas, 1 fraturas na camada híbrida, 2 fraturas coesivas em dentina, 0 fratura coesiva em resina composta e 31 fraturas na área de degradação. (Tabela 10; Gráfico 3).

Tabela 10. Padrão de Fratura para o Substrato Dentina em relação aos Meios de Armazenagem

Padrão de Fratura Substrato Dentina	Meio de Armazenagem	
	H ₂ O	NaOCl
Adesiva	26	8
Camada Híbrida	13	1
Coesiva em Dentina	1	2
Coesiva em Resina	0	0
Área de Degradação	0	31

Gráfico 3. Padrão de Fratura para o Substrato Dentina em relação aos Meios de Armazenagem



5.3. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As fotomicrografias em magnitude de 80X que foram utilizadas para a classificação do padrão de fratura, bem como fotomicrografias em magnitude de 1000X das regiões mais expressivas das superfícies analisadas encontram-se a seguir, dispostas de acordo com o tipo de substrato experimental analisado.

5.3.1. Padrão de Fratura para o Substrato Esmalte

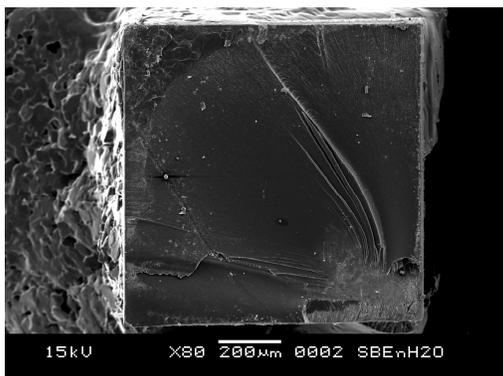


Figura 30. Fratura Adesiva para o adesivo Single Bond armazenado em Água Destilada

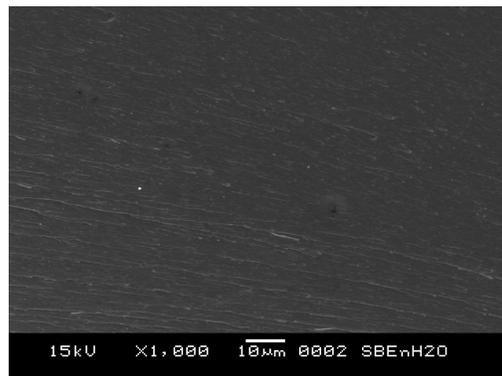


Figura 31. Detalhe da Fratura Adesiva para o adesivo Single Bond armazenado em Água Destilada

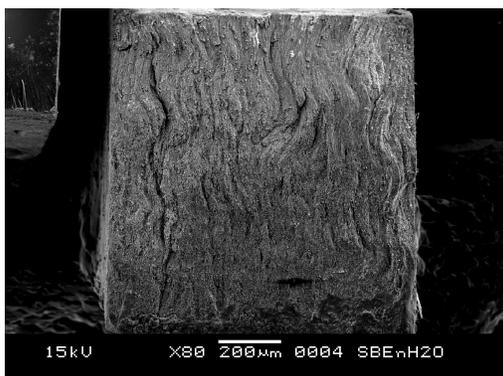


Figura 32. Fratura Coesiva em Esmalte para o adesivo Single Bond armazenado em Água Destilada

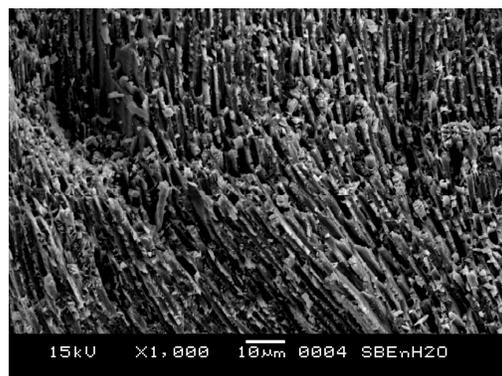


Figura 33. Detalhe da Fratura Coesiva em Esmalte para o adesivo Single Bond armazenado em Água Destilada

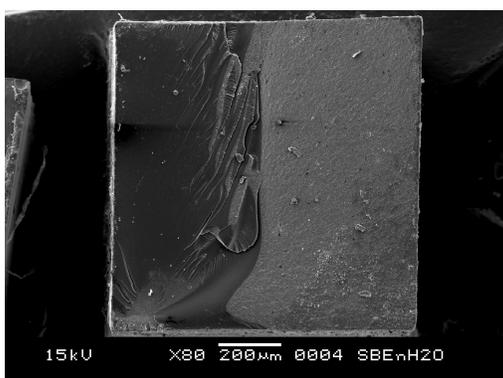


Figura 34. Fratura Mista para o adesivo Single Bond armazenado em Água Destilada

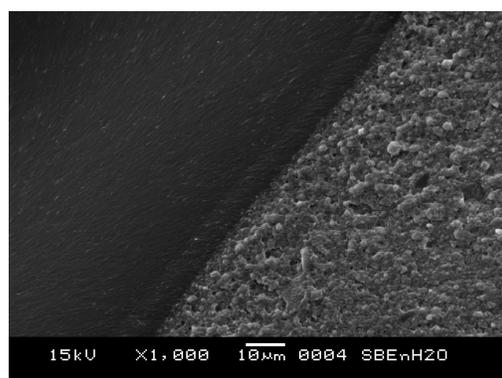


Figura 35. Detalhe da Fratura Mista para o adesivo Single Bond armazenado em Água Destilada

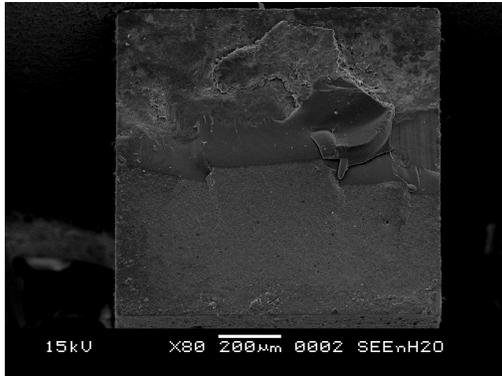


Figura 36. Fratura Coesiva em Resina Composta para o adesivo Single Bond armazenado em Água Destilada

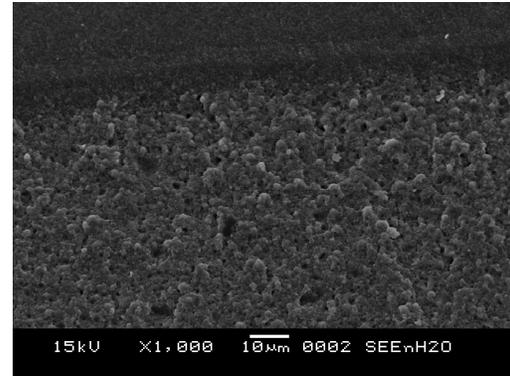


Figura 37. Detalhe da Fratura Coesiva em Resina Composta para o adesivo Single Bond armazenado em Água Destilada

5.3.2. Padrão de Fratura para o Substrato Dentina

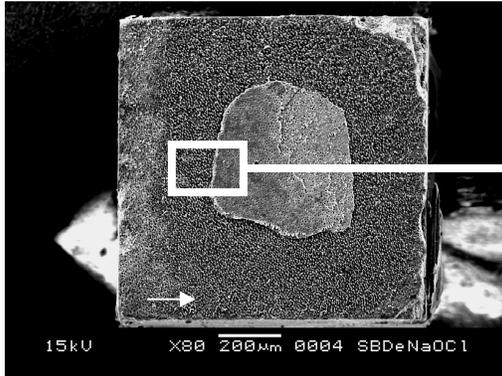


Figura 38. Fratura na Área de Degradação (Seta) para o adesivo Single Bond armazenado em NaOCl

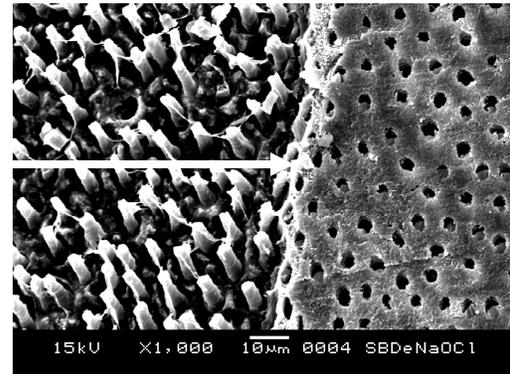


Figura 39. Detalhe da Fratura na Área de Degradação para o adesivo Single Bond armazenado em NaOCl

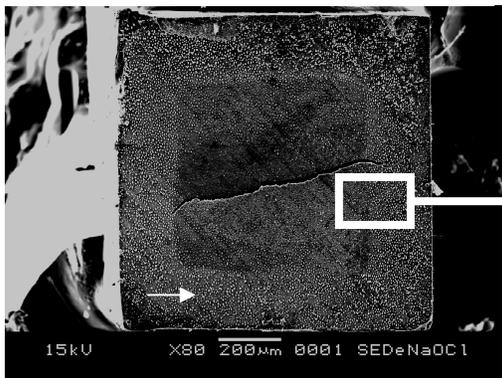


Figura 40. Fratura na Área de Degradação (Seta) para o adesivo Clearfil armazenado em NaOCl

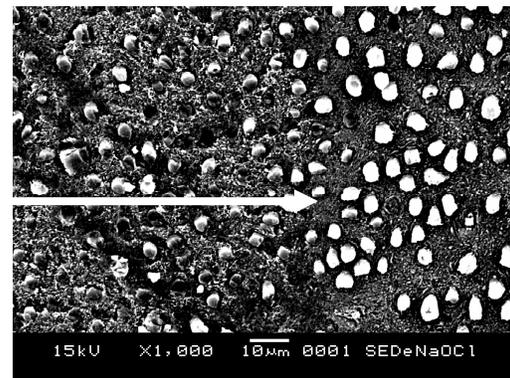


Figura 41. Detalhe da Fratura na Área de Degradação para o adesivo Clearfil SE Bond armazenado em NaOCl

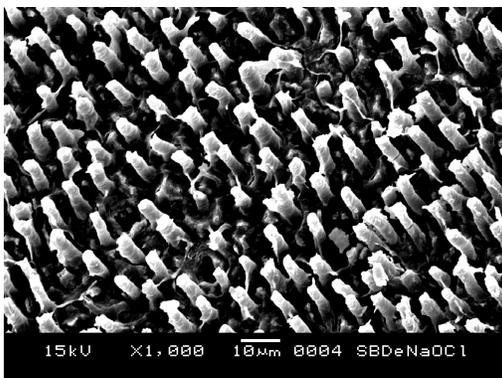


Figura 42. Detalhe da Área de Degradação para o adesivo Single Bond armazenado em NaOCl

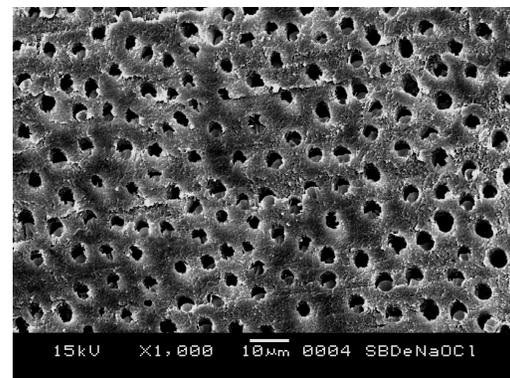


Figura 43. Detalhe da Área Não Degradada para o adesivo Single Bond armazenado em NaOCl

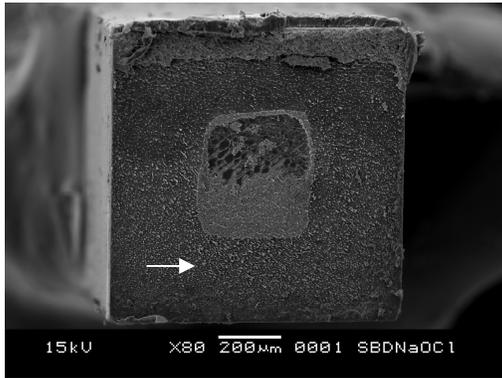


Figura 44. Fratura na Área de Degradação (Seta) para o adesivo Single Bond armazenado em NaOCl

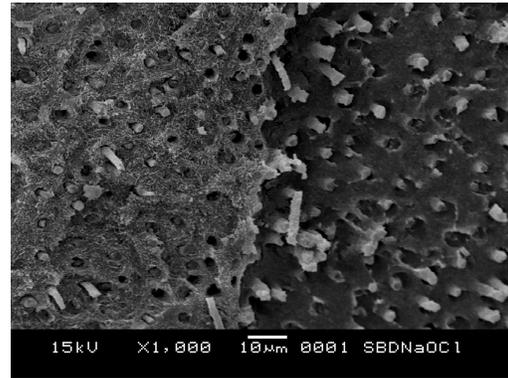


Figura 45. Detalhe Fratura na Área de Degradação para o adesivo Single Bond armazenado em NaOCl

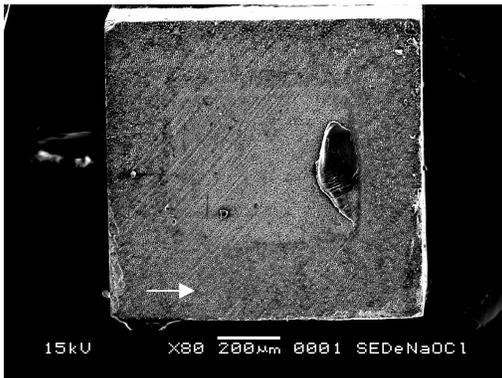


Figura 46. Fratura na Área de Degradação (Seta) para o adesivo Clearfil SE Bond armazenado em NaOCl

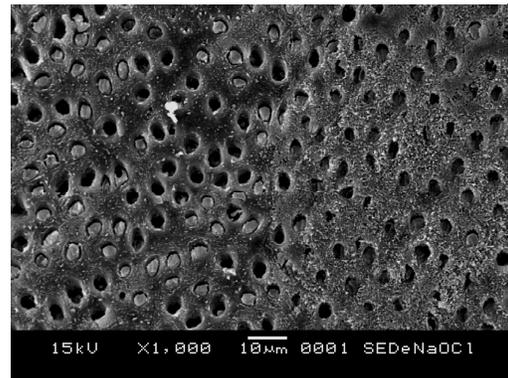


Figura 47. Detalhe da Fratura na Área de Degradação para o adesivo Clearfil SE Bond armazenado em NaOCl

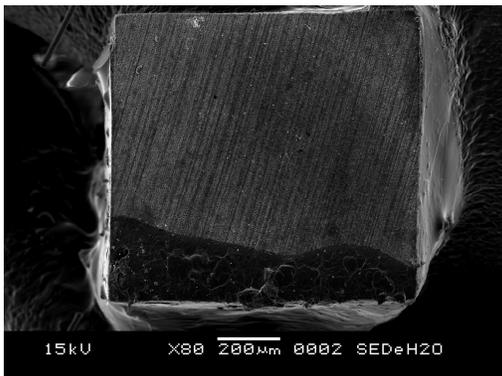


Figura 48. Fratura na Camada Híbrida para o adesivo Clearfil SE Bond armazenado em Água Destilada

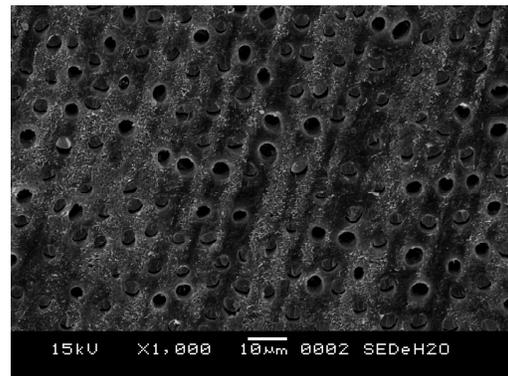


Figura 49. Detalhe da Fratura na Camada Híbrida para o adesivo Clearfil SE Bond armazenado em Água Destilada

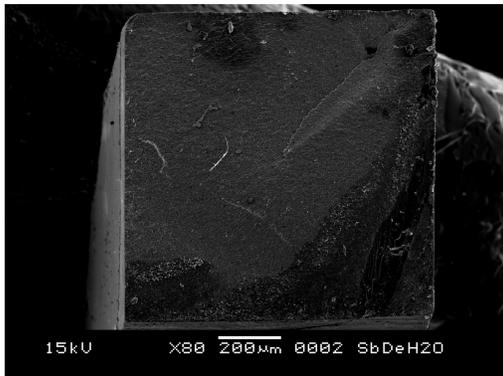


Figura 50. Fratura Adesiva para o adesivo Single Bond armazenado em Água Destilada

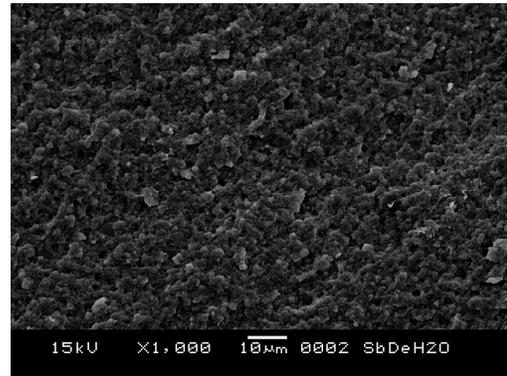


Figura 51. Detalhe da Fratura Adesiva para o adesivo Single Bond armazenado em Água Destilada

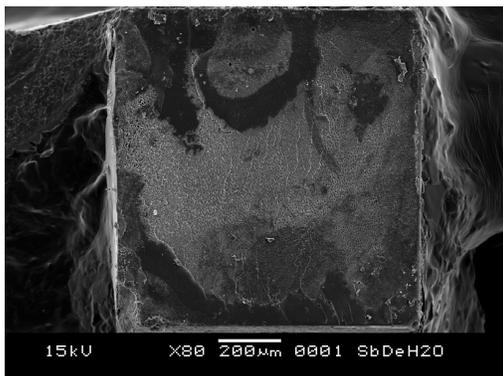


Figura 52. Fratura Coesiva em Dentina para o adesivo Single Bond armazenado em Água Destilada

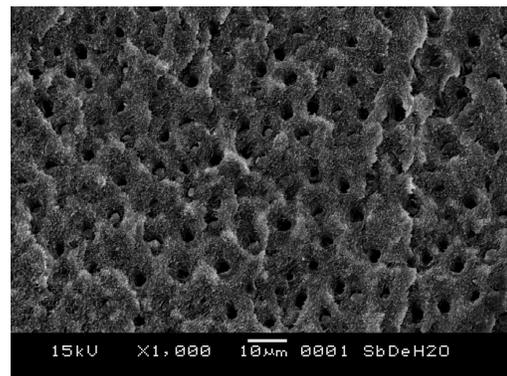


Figura 53. Detalhe da Fratura Coesiva em Dentina para o adesivo Single Bond armazenado em Água Destilada

5.3.3. Padrão de Fratura para o Substrato Resina Composta

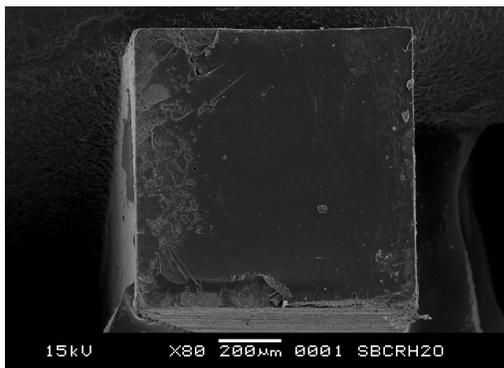


Figura 54. Fratura Adesiva para o adesivo Single Bond armazenado em Água Destilada

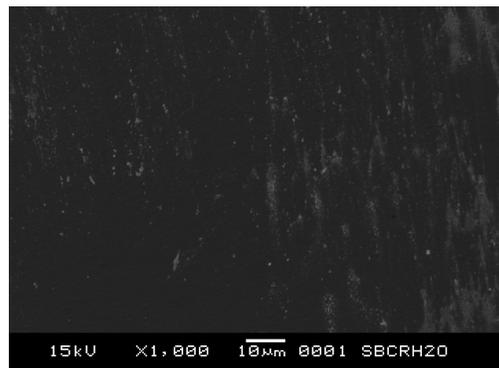


Figura 55. Detalhe da Fratura Adesiva para o adesivo Single Bond armazenado em Água Destilada

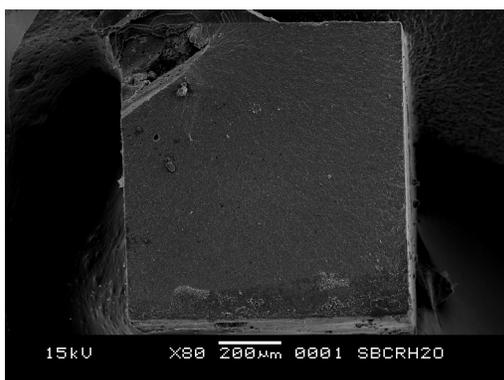


Figura 56. Fratura Coesiva em Resina Composta para o adesivo Single Bond armazenado em Água Destilada

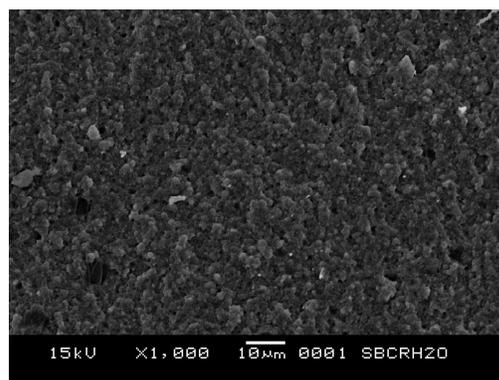


Figura 57. Detalhe da Fratura Coesiva em Resina Composta para o adesivo Single Bond armazenado em Água Destilada

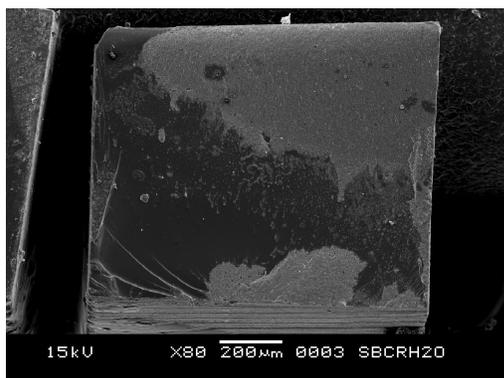


Figura 58. Fratura Mista para o adesivo Single Bond armazenado em Água Destilada

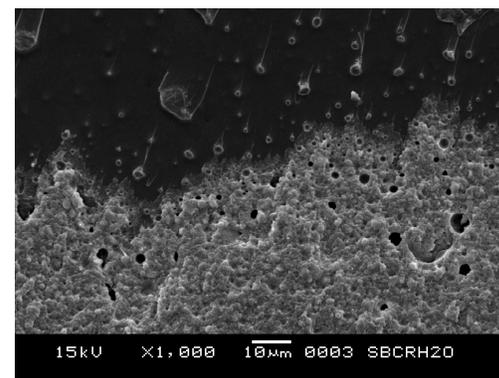


Figura 59. Detalhe da Fratura Mista para o adesivo Single Bond armazenado em Água Destilada

6. *Discussão*

A Odontologia Restauradora atual está baseada nos conceitos de união à estrutura dental, proporcionando uma maior preservação da estrutura dental sadia que antes era sacrificada para a obtenção de retenções adicionais, buscando proporcionar maior longevidade das restaurações, sendo assim, a busca por maior longevidade de união à estrutura dental, atualmente, é objetivo de inúmeras pesquisas. A qualidade e a durabilidade das interações sistemas adesivos/substratos são totalmente dependentes das propriedades do substrato dental a ser restaurado e do conhecimento da composição química dos sistemas adesivos frente aos desafios dinâmicos e mecânicos encontrados na cavidade bucal (De Munck *et al.* 2003).

A opção pela utilização de dentes bovinos foi que experimentos científicos em dentes humanos envolvendo quantidade significativa de dentes são cada vez mais escassos e difíceis de realizar. Reis *et al.* (2004) mostraram que dentes bovinos podem substituir dentes humanos com propriedades em experimentos científicos, razão pela qual foram utilizados dentes bovinos neste experimento. A possibilidade de padronização dos substratos de esmalte e dentinário, bem como a boa correlação entre a morfologia e composição entre dentes humanos e bovinos, faz com que os dentes bovinos sejam a primeira escolha na substituição aos dentes humanos.

A análise dos resultados para a interação substrato - meio de armazenagem (Tabela 5), mostrou que o substrato dentinário foi o mais susceptível à degradação ao longo do tempo, simulada pelo meio de armazenagem solução de NaOCl a 10%. Esta diferença entre os substratos esmalte e dentina justifica-se pelo fato da união ao esmalte ser um procedimento de união estável, previsível e clinicamente comprovado devido à sua composição mineral e morfologia conhecida (Swift *et al.* 1995). A união à dentina se apresenta dinâmica e complexa devido à sua composição, conteúdo de água e presença de maior quantidade de matriz orgânica, além de sua natureza tubular em conjunto com uma dinâmica tissular (Pashley *et al.* 1991). A dentina, que é formada a partir da secreção de uma matriz orgânica produzida pelos odontoblastos, é constituída predominantemente de

colágeno do tipo I (Butler. 1995) e, esta presença de colágeno é a via de degradação para a solução de NaOCl devido esta solução agir como um desproteinizante inespecífico.

A análise dos valores de união adesiva encontrados para interação substrato - meio de armazenagem (Tabela 5) mostrou que a armazenagem em solução de NaOCl a 10% apresentou um potencial de degradação superior ao da armazenagem em água destilada para o substrato dentinário. Este potencial de degradação da solução de NaOCl, para o substrato dentinário, está de acordo os achados de Yamauti *et al.*, 2003 e Yoshida *et al.*, 2004, que mostraram que o meio de armazenagem solução de NaOCl apresenta um efeito proteolítico não – específico que, efetivamente, remove os componentes orgânicos da interface resina/substrato dental, devido à sua habilidade de dissolução das fibrilas colágenas não – encapsuladas pelo agente adesivo, gerando desta forma uma maior degradação da interface de união e menores valores de força de união, como observados nos grupos submetidos à armazenagem em solução de NaOCl a 10%.

A solução de NaOCl é, a priori, utilizada na odontologia para a realização de limpeza em preparos endodônticos devido ao seu potencial desproteinizante. Vários estudos utilizaram este potencial de degradação da solução de NaOCl como uma passo operatório a ser realizado após o condicionamento com ácido fosfórico, com o intuito de remover as fibrilas colágenas expostas e expor uma superfície mineral para a união ao substrato dentinário, objetivando deixar esta superfície semelhante ao substrato de esmalte. Vários tipos de aplicação de NaOCL vem sendo sugeridos, ao longo do tempo, dependendo da concentração da solução de NaOCl, do seu tempo e modo de aplicação, e da qualidade do tecido a ser desproteinizado. Em relação aos valores de união obtidos com esta técnica operatória, Bedran de Castro *et al.* (2000) observaram um aumento na força de união. Por outro lado, Perdigão *et al.* (2000) e Pimenta *et al.* (2004) observaram que a força de união foi afetada negativamente. Para Sabóia *et al.* (2000), Correr *et al.* (2004) e Sabóia *et al.* (2006), os valores de união não foram afetados pelo tratamento com NaOCL após a exposição das fibrilas colágenas pelo condicionamento ácido.

Ainda com o intuito de analisar o efeito desproteinizante da solução de NaOCl, em relação ao seu potencial de remoção das fibrilas colágenas e o que esta remoção

implica na formação de microinfiltração. Pioch *et al.* (2001) e Torres *et al.* (2004) observaram que ocorre uma redução na formação de microinfiltração e nanoinfiltração, respectivamente. Por outro lado, Shinohara *et al.* (2004) observaram um aumento na formação de microinfiltração. Em relação ao potencial desproteinizante da solução de NaOCl, Di Renzo. (2001), Mountouris *et al.* (2004), Pimenta *et al.* (2004) e Correr *et al.* (2006) observaram que o emprego da solução de NaOCl promove a remoção da teia de fibrilas colágenas expostas pelo condicionamento ácido, mostrando dessa forma o potencial de degradação desta solução frente à matéria orgânica, colágeno, predominante no substrato dentinário (Butler. 1995).

A evolução dos sistemas adesivos tem contribuído para a manutenção, ao longo do tempo, das condições clínicas satisfatórias das restaurações dentais. Entretanto, descolorações das margens das restaurações e/ou a presença de cáries recorrentes são frequentemente constatadas quando as interfaces adesivas são clinicamente avaliadas. Na literatura, encontra-se vários estudos *in vivo* (Hashimoto *et al.* 2000; Koshiro *et al.* 2005; Inoue *et al.* 2005; Sabóia *et al.* 2006) e *in vitro* (Yamauti *et al.* 2003; Yoshida *et al.* 2004; Osorio *et al.* 2005) que tem procurado demonstrar o mecanismo da degradação da interface de união dente/adesivo, buscando simular a dinâmica e complexidade da cavidade bucal. Segundo Yoshida *et al.* (2004), informações a respeito da degradação da interface de união são muito limitadas. A análise desta degradação tem sido conduzida principalmente com o uso de testes de armazenagem em água (Pimenta *et al.* 2004), testes em humanos (Hashimoto *et al.* 2000; Koshiro *et al.* 2005) e em macacos (Takahashi *et al.* 2002). Embora estes testes mostrem resultados promissores e dignos de boa aceitação por parte dos pesquisadores, segundo Yoshida *et al.* (2004), a necessidade de um longo período de teste (por exemplo: meses ou anos) é necessário para a obtenção dos resultados, o que justifica o uso do teste de armazenagem em solução de NaOCl que apresenta a vantagem de degradar a interface de união em horas, devido ao poder desproteinizante deste meio de armazenagem.

Com o intuito de analisar esta interação entre substrato e meio de armazenagem (Tabela 5), Yamauti *et al.* (2003) avaliaram a força de união de um sistema

contendo *primer* autocondicionante e de um sistema que utiliza condicionamento ácido prévio, Liner Bond 2V e OptiBond SOLO respectivamente, através da armazenagem de palitos, confeccionados apenas em dentina, em uma solução de NaOCl a 10%, por um período de 1 – 5 horas. Obtiveram como resultados desta armazenagem em NaOCl que, após uma hora de armazenagem, os resultados de força de união reduziram em torno de 50% dos valores iniciais para ambos sistemas adesivos empregados e, nos demais tempos de armazenagem, não apresentou diferenças estatísticas significantes. As fotomicrografias apresentaram que a armazenagem em NaOCl apresentou uma maior potencial de degradação para o sistema adesivo que utilizou o condicionamento ácido prévio quando comparado com o sistema que contém *primer* autocondicionante. Os autores justificam esta menor propensão de degradação do sistema autocondicionante devido ao seu potencial de encapsulamento das fibrilas colágenas e, dessa forma, ser mais resistente às reações proteolíticas que ocorrem na dentina. Estes achados colaboram com os resultados deste experimento em relação à degradação entre os diferentes tipos de sistemas adesivos empregados. O sistema adesivo *primer* autocondicionante empregado apresentou um potencial de degradação menor em relação ao sistema adesivo convencional, o que se explica na maior exposição de fibrilas colágenas proporcionadas pelo processo de hibridização do sistema adesivo convencional simplificado, sendo estas fibrilas colágenas expostas a via de degradação da interface de união.

Da mesma forma, Yoshida *et al.*, 2004, na tentativa de investigar o efeito da armazenagem em solução de NaOCl a 10% na força de união aos substratos dentina e esmalte, realizaram a armazenagem em períodos de 2, 4 e 6 horas. Para o substrato de esmalte, à semelhança deste experimento, foi observado um decréscimo gradual com o aumento do tempo de armazenagem, porém não significativo. Uma possível explicação seria que ocorre uma deterioração da superfície mineralizada da dentina. Para o substrato dentinário, após 2 horas de armazenagem, ocorreu uma grande redução nos valores de resistência de união, com interação estatística significativa, o que não foi observado para os demais tempos experimentais de armazenagem. Uma possível explicação para esta grande redução da força de união, após 2 horas de armazenagem, é a ocorrência de grandes

alterações morfológicas no substrato dentinário, proporcionando uma gradual dissolução da interface adesiva, no sentido da periferia para o centro da interface de união. Esses achados também corroboram com os valores de união encontrados para o substrato dentinário, já para o substrato de esmalte e de resina composta, não foram encontrados resultados de decréscimo da força de união provavelmente devido ao tempo de armazenagem realizado de 2 horas.

Na expectativa de elucidação de onde se inicia esta degradação da interface de união, muitos pesquisadores tem se concentrado na zona de dentina desmineralizada que é insuficientemente infiltrada pelo monômero resinoso e acredita-se que esta degradação comece a ser instalada especialmente na base da camada híbrida produzida pelos sistemas adesivos que requerem condicionamento ácido prévio (Sano *et al.* 1995). A técnica do condicionamento ácido convencional pode apenas garantir a eficiência da interdifusão monômero resinoso/dentina desmineralizada se toda a quantidade de água remanescente na superfície dentinária for completamente eliminada e substituída pelos monômeros resinosos durante a subsequente aplicação do *primer* do sistema adesivo (Van Meerbeek *et al.* 2003). Se a água permanecer dentro da camada de fibrilas colágenas expostas, a fotoativação dos monômeros resinosos dentro da camada híbrida formada pode ser afetada e os monômeros deixarão de ocupar um espaço que se tornará desprotegido pela desmineralização ácida e pela ausência de interdifusão de monômero resinoso (Sano *et al.* 1995). Este processo de falta de interdifusão dentro da camada híbrida resulta na redução das propriedades mecânicas desta região afetada (Koshiro *et al.* 2005), sendo esta uma provável explicação para a degradação e para o decréscimo da força de união quando a interface dente/resina é armazenada para a simulação de seu envelhecimento.

Os resultados deste experimento *in vitro* mostraram que para a interação entre substrato e sistema adesivo, ilustrados na Tabela 6, o sistema adesivo Single Bond apresentou valores de união melhores para os substratos esmalte e dentina; e o sistema adesivo Clearfil SE Bond apresentou melhores resultados para o substrato confeccionado em resina composta. Entretanto, quando os sistemas adesivos estudados foram submetidos aos meios de armazenagem, o sistema adesivo Clearfil SE Bond se equiparou ao sistema

adesivo Single Bond (Tabela 7), mostrando-se menos susceptível à degradação devido ao seu maior potencial de encapsulamento das fibrilas colágenas em relação ao sistema adesivo convencional (Inoue *et al.* 2005).

Uma possível explicação para uma maior susceptibilidade dos sistemas adesivos que utilizam condicionamento ácido prévio de dois ou três passos requerem as etapas de condicionamento, lavagem, controle da umidade do substrato e aplicação do sistema *primer*/adesivo para a promoção de um encapsulamento das fibrilas colágenas pelos monômeros resinosos e, subsequente, formação da camada híbrida de adesão (Kenshima *et al.* 2005). Entretanto, estudos recentes têm demonstrado que os monômeros adesivos não são capazes de infiltrar completamente na dentina desmineralizada, deixando uma camada de fibras colágenas desprotegidas, devido à presença de uma camada híbrida não encapsulada pelos monômeros adesivos (Wang *et al.* 2003). Esta camada não protegida tem sido considerada responsável pela degradação das interfaces adesivas, diante da exposição ao desafio ácido/básico do meio bucal. (Hashimoto *et al.* 2000), o que torna o sistema adesivo convencional mais susceptível à degradação (Tabela 7).

Outra desvantagem dos sistemas que utilizam condicionamento ácido prévio, além do número de passos envolvidos nos procedimentos de união, é a desmineralização da dentina intertubular e a manutenção da umidade e porosidade interfibrilar que é requerida para a penetração do sistema adesivo no substrato dentinário. Portanto, a técnica de adesão “úmida” tem sido designada como essencial para sistemas adesivos que utilizam esta técnica, desde que a água previne o colapso das fibrilas colágenas e permite a penetração dos monômeros adesivos (Nakajima *et al.* 2000). Ainda, o próprio grau de umidade deve ser diferente para cada composição de sistema adesivo e este fato não tem sido controlado nos procedimentos adesivos clínicos e nos estudos laboratoriais (Kenshima *et al.* 2005).

Em virtude destas desvantagens dos sistemas adesivos convencionais de dois ou três passos que utilizam o condicionamento ácido prévio, uma nova abordagem para a união aos substratos dentais surgiu com o desenvolvimento dos sistemas adesivos autocondicionantes. Estes sistemas promovem uma simultânea desmineralização e penetração durante a aplicação do *primer* (Van Meerbeek *et al.* 2003). Este fato promove uma completa infiltração dos monômeros resinosos, uma vez que os passos lavagem e

controle da umidade do substrato, que são realizados após o condicionamento ácido para os adesivos convencionais, não são mais necessários (Miyasaki *et al.* 2002). Segundo Van Meerbeek *et al.* (2003), os sistemas adesivos primer-autocondicionantes de dois - passos poderiam penetrar além da *smear layer* e condicionar a dentina subjacente, formando o que os autores denominam de uma “verdadeira camada híbrida”. Essas vantagens dos sistemas autocondicionantes, corroboram com a menor susceptibilidade apresentada pelo sistema adesivo Clearfil SE Bond ao processo de degradação da interface de união.

Uma grande variedade de sistemas adesivos autocondicionantes está disposta no mercado. Eles diferem de acordo com o número de frascos, passos de aplicação e acidez da solução *primer*. Van Meerbeek *et al.* (2003) classificam os sistemas autocondicionantes em relação ao seu pH. Sistemas autocondicionantes fortes apresentam pH menor que 1, sistemas autocondicionantes moderados apresentam pH entre 1 – 2 e sistemas autocondicionantes considerados fracos apresentam pH maior que 2. O sistema adesivo autocondicionante de dois - passos Clearfil SE Bond foi escolhido devido a sua acidez moderada, pH 1.9 e, segundo Van Meerbeek *et al.* (2003), os sistemas autocondicionantes moderados apresentam uma união mais promissora à estrutura dental por apresentarem em sua camada híbrida de adesão cristais de hidroxiapatita aderidos às fibras colágenas. Devido ao pH moderado, a desmineralização da dentina não ocorre de forma semelhante ao condicionamento com ácido fosfórico, restando assim cristais de hidroxiapatita que vão se ligar aos monômeros 10 – MDP do sistema Clearfil SE Bond e promover uma união mais duradoura e menos susceptível à degradação hidrolítica.

Estudos *in vivo* e *in vitro* da durabilidade da interface de união dente - biomaterial têm reportado que ocorre degradação nesta interface de união (Inoue *et al.* 2005). Em particular, isto ocorre quando a interface de união é exposta aos fluídos bucais ou à água por um período variando de poucos meses a anos (Hashimoto *et al.* 2000; De Munck *et al.* 2003; Hashimoto *et al.* 2002; Pimenta *et al.* 2004). Segundo De Munck *et al.* (2003), esta interface resina-dentina produzida pelos sistemas adesivos de dois - passos, que requerem condicionamento ácido prévio, e indiretamente expostas à água (por exemplo: protegidas por um selamento periférico de esmalte) degrada menos que as interfaces

diretamente expostas à água, indicando que a margem em esmalte sela e protege a união dentina-resina da degradação.

A interação entre meios de armazenagem e sistemas adesivos sempre apresentou uma superioridade dos valores de união para os substratos armazenados em água (Tabela 7). Ainda, esta interação mostrou que a armazenagem em solução de NaOCl a 10% equiparou os valores de união para o substrato dentinário entre os sistemas adesivos Single Bond e Clearfil SE Bond que eram anteriormente superiores para o sistema adesivo Single Bond. Na tentativa de elucidar esta maior degradação dos sistemas adesivos que utilizam condicionamento ácido prévio, Inoue *et al.* (2005) correlacionaram a degradação da interface de união *in vivo* entre um sistema autocondicionante de dois – passos e um sistema convencional de dois – passos. Seus resultados demonstraram que o sistema adesivo convencional de dois – passos Single Bond exibiu sinais de degradação da interface de união, em particular na base da camada híbrida de 3 μm de profundidade. Os autores concluíram que a interface de união produzida pelo sistema adesivo convencional se apresentou menos resistente à degradação em relação à resistência de degradação para o sistema adesivo autocondicionante. Estes achados corroboram com os resultados obtidos para os sistemas adesivos empregados neste estudo.

O desenvolvimento dos sistemas autocondicionante de dois – passos ocorreu na tentativa de solucionar estas dificuldades encontradas pelos sistemas convencionais. Os sistemas autocondicionantes, ao contrário dos convencionais, apresentam um menor risco de criar uma insuficiente infiltração na dentina desmineralizada. Esta dentina desmineralizada é substancialmente menos profunda devido à utilização de monômeros ácidos que são aplicados, condicionam e infiltram simultaneamente na dentina desmineralizada (Nakabayashi *et al.* 1998). Entretanto, Tay *et al.* (2002) recentemente reportaram que uma pequena zona de dentina desmineralizada também pode ser formada com alguns sistemas adesivos autocondicionantes. Em adição, os cristais de hidroxiapatita residuais foram observados dentro da camada híbrida como resultado da capacidade moderada de condicionamento do adesivo Unifil Bond. Os monômeros resinosos infiltram na base da dentina desmineralizada, polimerizando suficientemente *in situ* para produzir uma união mais resistente à degradação (Inoue *et al.* 2005). Isto poderia ser uma explicação

para o sistema adesivo Clearfil SE Bond ter se apresentando menos suscetível à degradação em relação ao sistema convencional.

A interação química entre o sistema adesivo e o substrato é considerada promissora em relação à degradação ao longo do tempo. Monômeros como o 4-MET tem mostrado que são capazes de interagir com o cálcio da hidroxiapatita. O desafio está na interação dos monômeros funcionais com a hidroxiapatita de modo a resultar em uma ligação entre o cálcio – grupo carboxílico que seja estável ao longo do tempo na condição de umidade da cavidade bucal (Van Meerbeek *et al.* 2003). A manutenção dos cristais de hidroxiapatita ao redor das fibrilas pode também protegê-las melhor contra a degradação hidrolítica e, dessa forma, proteger a degradação da união (Hashimoto *et al.* 2000; Van Meerbeek *et al.* 2003). O sistema adesivo Clearfil SE Bond apresenta o monômero funcional MDP que também é digno desta interação entre sistema adesivo e o substrato, reforçando desta forma seu melhor desempenho no controle da degradação da interface de união.

Takahashi *et al.* (2002) relataram que a força de união para um sistema autocondicionante, após um ano em função na cavidade bucal de macacos, decresceu para 70 % em relação aos valores dos grupos controles realizados após 24 horas, mas esta redução na força de união não foi significativamente diferente. Para a armazenagem em solução de NaOCl, Yoshida *et al.* (2004) observaram um decréscimo de 50 % da força de união para os palitos confeccionados a partir do substrato dentinário, mostrando que a degradação pela armazenagem em NaOCl atua como um rápido meio de envelhecimento da interface, se tornando desta forma um promissor meio de armazenagem para estudos de curto período de tempo.

Koshiro *et al.* (2005) observaram algumas alterações na morfologia da interface de união para o sistema adesivo Single Bond após um ano de desempenho clínico. Basicamente, quando era dentina condicionada com ácido fosfórico, a *smear layer* dentinária produzida durante a preparação cavitária era removida e concomitantemente desmineraliza a superfície dentinária em uma profundidade de 3 – 5 µm. As fibrilas colágenas são quase sempre completamente expostas em relação à dissolução da hidroxiapatita e ocorre a formação de microporos ao longo da cadeia de fibrilas colágenas,

para posterior embricamento micromecânico dos monômeros resinosos (Van Meerbeek *et al.* 2003). Entretanto, os autores relatam que cristais de hidroxiapatita foram observados na base da camada híbrida formada. Este fato poderia ser resultado de fatores como: (1) o sistema adesivo Single Bond penetra incompletamente na dentina profunda desmineralizada e (2) a solução condicionadora não realiza seu papel de agente condicionador corretamente devido à água remanescente na dentina profunda ou devido ao exudato proveniente dos túbulos dentinários. Estes achados contribuem para explicar a maior degradação do sistema adesivo Single Bond quando submetido ao meio de armazenagem NaOCl a 10%.

A composição dos sistemas adesivos é responsável pelas suas particularidades frente à interação com os substratos e frente à durabilidade ao longo do tempo. O resultado do peso molecular entre o monômero HEMA e o co-polímero polialquênico para o sistema adesivo Single Bond implica em um comportamento distinto desses constituintes durante os procedimentos de união. HEMA pode difundir-se mais rapidamente e de forma mais fácil dentro da camada de fibrilas colágenas, expostas pelo condicionamento ácido, que o co-polímero (Eliades *et al.* 2001). Em adição, o ácido polialquênico reage com o cálcio cedido pela dentina para formar um gel. Este gel poderia retardar uma interdifusão adequada dos monômeros resinosos, pelo fato de que a camada híbrida deveria ser constituída principalmente de fibrilas colágenas infiltradas por monômeros HEMA de baixo peso molecular e que são polimerizados para formar várias cadeias lineares de HEMA (De Munck *et al.* 2003). Estes polímeros podem reagir com a água residual na base da dentina desmineralizada, que foi insuficientemente removida pela ação do primer, criando vários hidro-géis de HEMA (De Munck *et al.* 2003). Esta diferença de comportamento entre os constituintes do sistema adesivo Single Bond também corroboram para a maior susceptibilidade deste sistema adesivo à degradação.

A possibilidade de que a dentina desmineralizada devido ao incompleto encapsulamento das fibrilas colágenas remanescentes ocorre após os procedimentos de adesão, a degradação nesta região não-encapsulada poderia ocorrer de forma mais acentuada em comparação à região que apresenta uma camada híbrida com o total encapsulamento das fibrilas colágenas por monômeros resinosos fotoativados. As fibrilas

colágenas não – protegidas são mais propensas à degradação hidrolítica, à ataques enzimáticos, ao estresse mecânico e térmico, na cavidade bucal. Consequentemente, as fibrilas colágenas incompletamente encapsuladas ou a dentina desmineralizada inadequadamente infiltrada poderiam ser degradadas, como uma evidência do alargamento dos espaços interfibrilares (Eliades *et al.* 2001) e, posteriormente, poderia acarretar na desnaturação das fibrilas colágenas e/ou perda dos monômeros resinosos insuficientemente fotoativados.

A incompleta evaporação do solvente ou a retenção de água dentro da interface pode resultar em uma diluição, incompleta fotoativação e/ou separação de fases do sistema adesivo nos prolongamentos resinosos, além de uma permeabilidade da interface de união dentinária. A baixa força de união para adesão “seca” é devido à pobre infiltração dos monômeros resinosos dentro da matriz de fibrilas colágenas. A baixa força de união para a adesão “úmida” é, provavelmente, devido à pobre ligação – cruzada e ao baixo grau de conversão dos monômeros resinosos (Hashimoto *et al.* 2006). O aumento da permeabilidade da interfase de união pode proporcionar maior degradação dos sistemas adesivos convencionais ao longo do tempo, contribuindo com os achados deste experimento.

O fenômeno do aumento de permeabilidade dentro da interface dente – resina foi primeiramente descrita para os sistemas adesivos autocondicionantes de um – passo e manifestou, morfológicamente, como um aprisionamento de gotículas ao longo da superfície impregnada por sistema adesivo fotoativado (Tay *et al.* 2002). Segundo Tay *et al.* (2002), a movimentação de água através das camadas híbrida e adesiva tem subsequentemente sido relatadas para os sistemas adesivos simplificados que não apresentam uma camada de resina hidrofóbica quando comparados aos sistemas adesivos convencionais de três – passos que empregam uma camada de resina hidrofóbica. Sistemas adesivos convencionais simplificados de dois - passos, como o Single Bond, também apresentam permeabilidade, até em condições em que a remoção do solvente é realizada de forma meticulosa (Hashimoto *et al.* 2006).

Monômeros específicos constituintes dos sistemas adesivos de dois – passos primer – autocondicionantes, de pH considerado moderado entre os autocondicionantes, são capazes de interagir quimicamente com a hidroxiapatita remanescente e disponível dentro da camada híbrida. A natureza molecular específica dos monômeros funcionais e o subsequente valor de dissolução dos sais de cálcio tem sido demonstrado ser determinante para a atual eficácia da união química e para a estabilidade dos adesivos ao longo do tempo (Inoue *et al.* 2005). O monômero 10-MDP, constituinte do sistema adesivo Clearfil SE Bond, se apresenta não apenas interagindo intensivamente com a hidroxiapatita, mas também apresenta uma união hidroliticamente estável com o cálcio.

O conceito de durabilidade da união adesiva, ao longo do tempo, é também dependente do potencial de união química dos monômeros funcionais. Inoue *et al.* (2005), em um trabalho envolvendo os sistemas adesivos à base de 10 – MDP, 4 – MET e Phenyl – P, procurando testar a estabilidade hidrolítica através da união à dentina, encontraram que o sistema adesivo à base de 10 – MDP, Clearfil SE Bond, apresentou-se superior frente à estabilidade hidrolítica da interface adesiva quando os sistemas adesivos foram submetidos ao teste de ciclagem mecânica. Corroborando com os resultados apresentados para a interação entre meio de armazenagem e sistema adesivo.

Diversos estudos mostram que o sistema adesivo Clearfil SE Bond consegue infiltrar na camada parcialmente desmineralizada de forma excelente, mantendo os cristais de hidroxiapatita ao redor das fibrilas colágenas, servindo desta forma como receptores para a união química adicional (Van Meerbeek *et al.* 2003; Yoshida *et al.* 2004). Sendo assim, esta união química adicional contribuirá para a prevenção de forma eficiente da degradação das fibrilas colágenas. A manutenção da hidroxiapatita ao redor das fibrilas colágenas poderia melhor protegê-las contra a hidrólise, contra a degradação da interface de união (Sano *et al.* 1999; Hashimoto *et al.* 2002; Van Meerbeek *et al.* 2003) e contra a micro e nanoinfiltração (Van Meerbeek *et al.* 2003).

A interação de um sistema adesivo autocondicionante com o substrato dentinário se correlaciona com a estabilidade da união dupla, micromecânica e química,

entre adesivo/dentina, buscando um encapsulamento ótimo das fibrilas colágenas. Por outro lado, a interação de um sistema adesivo autocondicionante com o substrato de esmalte não se apresenta de forma consensual dentro da literatura. Alguns fabricantes destes sistemas preconizam o condicionamento com ácido fosfórico previamente à sua utilização frente ao substrato de esmalte, principalmente em casos onde o esmalte dental não sofreu nenhuma instrumentação, apresentando-se íntegro (Van Landuyt *et al.* 2006).

O padrão de fratura encontrado para os palitos confeccionados em dentina e armazenados em solução de NaOCl, designado neste trabalho como padrão de fratura na “área de degradação”, foi inicialmente proposto por Yamauti *et al.* (2003) que relataram que a degradação dos palitos utilizados se degradaram da periferia em sentido ao centro do espécime, constituindo desta forma uma degradação da interface de união de forma centrípeta. Os autores ainda sugerem que este padrão de degradação é dependente do tipo e composição dos sistemas adesivos, o que poderia comprovar a maior ou menor poder de degradação destes adesivos frente à sua composição na formação da interface de união.

A área de degradação dos palitos, armazenados em solução de NaOCl a 10%, se mostrou predominantes na área de degradação, independentemente do tipo de sistema adesivo utilizado, mas apenas para o substrato dentinário. Esses achados concordam com os trabalhos de Yamauti *et al.* (2003) e Yoshida *et al.* (2004), que apresentaram o mesmo padrão de degradação para o substrato dentinário. Para os substratos esmalte e resina composta, a predominância de fraturas adesivas ocorreu independentemente do meio de armazenagem utilizado.

Com o intuito de estudar a degradação *in vivo* da união resina-dentina em humanos, Hashimoto *et al.* (2000) realizaram um estudo clínico com avaliações entre 1 e 3 anos. Os autores enfatizam que esta longevidade das restaurações em resina é, atualmente, uma área de grande interesse na Odontologia Adesiva. A análise do padrão de fratura demonstrou que os espécimes que foram submetidos e envelhecidos pelo meio bucal apresentaram a porção de dentina desmineralizada aumentada em relação ao grupo controle (analisado imediatamente após os procedimentos adesivos). Ainda, a degradação da resina composta e a degradação das fibrilas colágenas foram observadas entre os espécimes envelhecidos pelo meio bucal. Os autores concluem que a degradação das estruturas de

união resina-dentina ocorre após o envelhecimento em cavidade bucal. A armazenagem em NaOCl apresentou um poder de degradação da interface de união semelhante, com a vantagem de ser realizado em horas, mostrando ser um rápido meio de armazenagem que consegue simular o envelhecimento e a degradação hidrolítica da cavidade bucal.

Uma diferença observada, no padrão de degradação para os diferentes tipos de sistemas adesivos, foi de que o sistema adesivo autocondicionante (Figura 38) apresentou uma menor área de degradação em relação ao sistema adesivo convencional (Figura 40). O padrão de degradação centrípeto se perpetuou ao longo de todos os palitos analisados em MEV, da mesma forma que uma menor área de degradação sempre foi observada para o sistema autocondicionante Clearfil SE Bond. Este evento pode ser explicado devido ao sistema autocondicionante apresentar uma dupla interação com o substrato dentinário (Van Landuyt *et al.* 2006), uma melhor encapsulamento das fibrilas colágenas expostas e devido ao sistema convencional apresentar uma maior propensão à degradação na base de sua camada híbrida (Inoue *et al.* 2005).

Com base nos dados analisados neste experimento *in vitro*, a armazenagem em solução de NaOCl a 10%, por 2 horas, é um excelente método para a simulação rápida da degradação apenas para o substrato dentinário, de acordo com o tempo de armazenagem proposto. Dessa forma, a hipótese nula é rejeitada devido à não degradação dos substratos de esmalte e resina composta pelo meio de armazenamento experimental. Enfatizando assim, que para um período de 2 horas de armazenagem, o efeito desproteinizante da solução de NaOCl se apresentou soberano frente ao efeito de degradante inespecífico esperado.

7. Conclusão

Considerando as condições experimentais sob as quais foi realizado este estudo *in vitro* e a metodologia de armazenagem em solução de NaOCl a 10% por 2 horas empregadas, podemos concluir que:

1. A armazenagem em solução de NaOCl a 10 % serve como um rápido meio de armazenagem, simulando a degradação ao longo do tempo, para o substrato dentinário, apresentando um efeito desproteinizante significativo;
2. O sistema adesivo autocondicionante Clearfil SE Bond apresenta menor degradação da interface de união, em relação ao sistema adesivo convencional Single Bond;
3. Os substratos esmalte e resina composta apresentaram menor susceptibilidade à degradação em relação ao substrato dentinário;
4. O padrão de fratura é influenciado pelo meio de armazenagem e pelo substrato analisado, mostrando que a degradação morfológica da interface adesiva diminui os valores de força de união apenas para o substrato dentinário.

Referências*

- Bedran de Castro AKB, Hara AT, Pimenta LA. Influence of collagen removal on shear bond strength of one-bottle adhesive in dentin. *J Adhes Dent.* 2000; 2(4):271-277.
- Buonocore MG. Simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. *J Dent Res.* 1955; 34(6):849-853.
- Butler WT. Dentin matrix proteins and dentinogenesis. *Connect Tissue Res.* 1995; 14(1):381-387.
- Correr GM, Puppini-Rontani RM, Correr-Sobrinho L, Sinhoreti M, Consani S. Effect of sodium hypochlorite on dentin bonding in primary teeth. *J Adhes Dent.* 2004; 6(4):307-312.
- Correr GM, Alonso RC, Grando MF, Borges AF, Puppini-Rontani RM. Effect of sodium hypochlorite on primary dentin - a scanning electron microscopy (SEM) evaluation. *J Dent.* 2006; 34(7):454-459.
- De Munck J, Van Meerbeek B, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Suzuki K *et al.* Four-year water degradation of total-etch adhesives bonded to dentin. *J Dent Res.* 2003; 82(2):136-140.
- Di Renzo M. A photoacoustic FTIRS study of the chemical modifications of human dentin surfaces: II deproteination. *Biomater.* 2001; 22(8):793-797.

* Norma de acordo com a Unicamp/FOP, baseada na norma do International Committee of Medical Journal Editors – Grupo Vancouver. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o Medline.

- Eliades G, Vougiouklakis G, Palaghias G. Heterogeneous distribution of single-bottle adhesive monomers in the resin-dentin interdiffusion zone. *Dent Mater.* 2001; 17:277-283.
- Fusayama T, Nakamura M, Kurosaki N, Iwaku M. Non-pressure of a new adhesive restorative resin. *J Dent Res.* 1979; 58(4):1364-70.
- Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Endo K, Sano H, Oguchi H. In vivo degradation of resin-dentin bonds over 1 to 3 years. *J Dent Res.* 2000; 79:1385-1391.
- Hashimoto M, Ohno H, Sano H, Tay FR, Kaga M, Kudou Y *et al.* Micromorphological changes in resin-dentin bonds after 1 year water storage. *J Biomed Mater Res.* 2002; 63:306-311.
- Hashimoto M, Tay FR, Svizero NR, Gee AJ, Feilzer AJ, Sano H *et al.* The effects of common errors on sealing ability of total-etch adhesives. *Dent Mater.* 2006; 22:560-568.
- Inoue S, Koshiro K, Yoshida Y, De Munck J, Nagakane K, Suzuki K *et al.* Hydrolytic Stability of self-etch adhesives bonded to dentin. *J Dent Res.* 2005; 84(12):1160-1164.
- Kenshima S, Reis A, Uceda-Gomez N, Tancredo LLF, Rodrigues Filho LE, Nogueira FN *et al.* Effect of smear layer thickness and pH of self-etching adhesive systems on the bond strength and gap formation to dentin. *J Adhes Dent.* 2005; 7:117-126.
- Koshiro K, Inoue S, Sano H, De Munck J, Van Meerbeek B. *In vivo* degradation of resin-dentin bonds produced by a self-etch and an etch-and-rinse adhesive. *Eur J Oral Sci.* 2005; 113:341-348.

- Miyasaki M, Onose H, Moore BK. Analysis of the dentin-resin interface by use of laser Raman spectroscopy. *Dent Mater.* 2002; 18:576-580.
- Mountouris G, Silikas N, Eliades G. Effect of sodium hypochlorite treatment on the molecular composition and morphology of human coronal dentin. *J Adhes Dent.* 2004; 6(3):175-182.
- Nakabayashi N. Resin reinforced dentin due to infiltration of monomers into the dentin at the adhesive interface. *J Jpn Soc Dent Mater Dev.* 1982; 1:78-81
- Nakabayashi N, Pashley DH. Hybridization of dentinal hard tissues. Quintessence Publishing Co. 1998; 54-56.
- Nakajima M, Kanemura N, Pereira PN, Tagami J, Pashley DH. Comparative microtensile bond strength and SEM analysis of bonding to wet and dry dentin. *Am J Dent.* 2000; 13:324-328.
- Osorio R, Erhardt MC, Pimenta LA, Osorio E, Toledano M. EDTA treatment improves resin-dentin bonds' resistance to degradation. *J Dent Res.* 2005; 84(8):736-40.
- Pashley DH. Dentin bonding: overview of the substrate with respect to adhesive material. *J Esthet Dent.* 1991; 3(2):46-50.
- Perdigão J, Lopes M, Geraldeli S, Lopes GC, Garcia-Godoy F. Effect of a sodium hypochlorite gel on dentin bonding. *Dent Mater.* 2000; 16(5):311-323.
- Pimenta LA, Amaral CM, Bedran de Castro AKB, Ritter AV. Stability of dentin bond strengths using different bonding techniques after 12 months: Total-etch, deproteinization and self-etching. *Oper Dent.* 2004; 29(5):592-598.

- Pioch T, Staehle HJ, Duschner H, Garcia-Godoy F. Nanoleakage at the composite-resin interface: A review. *Am J Dent.* 2001; 14(4):251-258.
- Reis AF, Giannini M, Kavaguchi A, Soares CJ, Line SRP. Comparasion of microtensile bond strength to enamel and dentin of human, bovine and porcine teeth. *J Adhes Dent.* 2004; 6:117-121.
- Retief, D.H. Effect of conditioning the enamel surface with phosphoric acid. *J Dent Res.* 1974; 52:333-341.
- Saboia V, Rodrigues AL, Pimenta LA. Effect of collagen removal on shear bond strength of two single-bottle adhesive systems. *Oper Dent.* 2000; 25(5):397-402.
- Saboia V, Almeida PC, Ritler AV, Swift EJ Jr, Pimenta LA. 2-year clinical evaluation of sodium hypochlorite treatment in the restoration of non-cariou cervical lesions: a piloty study. *Oper Dent.* 2006; 31(5):530-5.
- Sano H, Takatsu T, Ciucchi B, Horner JA, Matthews WG, Pashley DH. Nanoleakage: leakage within the hybrid layer. *Oper Dent.* 1995; 20:18-25.
- Sano H, Yoshikawa T, Pereira PNR, Kanemura N, Morigami M, Tagami J *et al.* Long-term durability of dentin bonds made with a self-etching primer, in vivo. *J Dent Res.* 1999; 78:906-911.
- Shinohara MS, Bedran-de-Castro AK, Amaral CM, Pimenta LA. The effect of sodium hypochlorite on microleakage of composite resin restorations using three adhesive systems. *J Adhes Dent.* 2004; 6(2):123-127.
- Swift Jr EJ, Perdigão J, Heyman HO. Bonding to enamel and dentin. A brief history and state of the art. *Quintessence Int.* 1995; 26(2):95-110.

- Takahashi A, Inoue S, Kawamoto C, Ominato R, Tanaka T, Sato Y *et al.* *In vivo* long-term durability of the bond to dentin using two adhesive systems. *J Adhes Dent.* 2002; 4:151-159.
- Tay FR, King NM, Chan K, Pashley DH. How can nonleakage occur in self-etching adhesive systems that demineralize and infiltrate simultaneously? *J Adhes Dent.* 2002; 4:255-269.
- Tay FR, Pashley DH, King NM, Carvalho RM, Tsai J, Lai SC *et al.* Aggressiveness of self-etch adhesives on unground enamel. *Oper Dent.* 2004; 29:309-16.
- Torres CRG, De Araujo MA, Torres AC. Effects of dentin collagen removal on microleakage of bonded restorations. *J Adhes Dent.* 2001; 6(1):33-42.
- Van Landuyt KL, Kanumilli P, De Munck J, Peumans M, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Bond strength of a mild self-etch adhesive with and without prior acid-etching. *J Dent.* 2006; 34:77-85.
- Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P *et al.* Buonocore memorial lecture. Adhesión to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent.* 2003; 28:215-235.
- Wang Y, Spencer P. Hybridization efficiency of the adhesive/dentin interface with wet bonding. *J Dent Res.* 2003; 82:141-145.
- Yamauti M, Hashimoto M, Sano H, Ohno H, Carvalho RM, Kaga M *et al.* Degradation of resin-dentin bonds using NaOCl storage. *Dent Mater.* 2003; 19:399-405.

Yoshida E, Hashimoto M, Hori M, Kaga M, Sano H, Oguchi H. Deproteinizing effects on resin-tooth bond structures. *J Biomed Mater Res.* 2004; 68B:29-35.

Anexo 1

Análise estatística

Statistical Analysis – 3 way ANOVA and Tukey's test (0.05).
Summary of all Effects; design: (data mestrado corrigido.sta)
1-SUBSTRATE, 2-STORAGE, 3-ADHESIVE

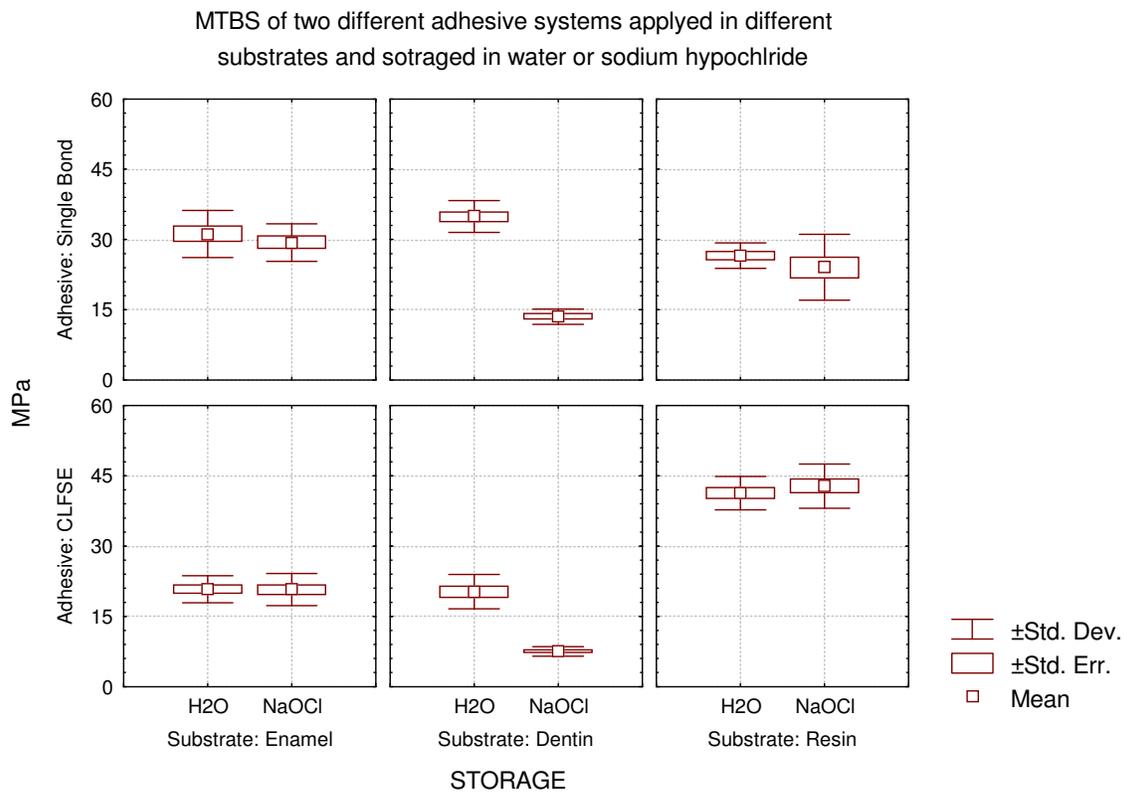
MPA

Enamel	H2O	SB	31.2 (5.0) [⊕]
Enamel	H2O	CFSEB	20.8 (2.9) ^{⊕⊕}
Enamel	NaOCl	SB	29.3 (4.0) [⊕]
Enamel	NaOCl	CFSEB	20.7 (3.4) ^{⊕⊕}
Dentin	H2O	SB	34.9 (3.4) [*]
Dentin	H2O	CFSEB	20.3 (3.7) ^{**}
Dentin	NaOCl	SB	13.5 (1.6) ^{***}
Dentin	NaOCl	CFSEB	7.5 (1.1) ^{****}
Resin	H2O	SB	26.5 (2.7) ^{∅ ∅}
Resin	H2O	CFSEB	41.3 (3.5) [∅]
Resin	NaOCl	SB	24.1 (7.0) ^{∅ ∅}
Resin	NaOCl	CFSEB	42.8 (4.7) [∅]

Summary of all Effects; design: (data mestrado corrigido.sta).
Different symbols compare the substrates (resin, enamel and dentin). Same number of symbols indicates no statistical significant difference among groups.

Statistical Analysis – 3 way ANOVA
 1-SUBSTRATE, 2-STORAGE, 3-ADHESIVE

	df Effect	MS Effect	df Error	Ms Error	F	p-level
1	2	2146.606	108	15.16080	141.5893	0.000000
2	1	1144.268	108	15.16080	75.4754	0.000000
3	1	31.605	108	15.16080	2.0847	0.151678
12	2	891.877	108	15.16080	58.8278	0.000000
13	2	2370.130	108	15.16080	156.3328	0.000000
23	1	172.525	108	15.16080	11.3797	0.001032
123	2	30.316	108	15.16080	1.9996	0.140366



1 – SUBSTRATE

Means (unweighted) (data mestrado corregido.sta)
F(2,108)=141.59; p<0.000

MPA			
Resin	33.7 a
Enamel	25.5 b
Dentin	19.1 c

Tukey HSD test; variable MPA (data mestrado corregido.sta)
Probabilities for Post Hoc Tests
MAIN EFFECT: SUBST

	Enamel	Dentin	Resin
Enamel (25.5)		0.000113	0.000113
Dentin (19.1)	0.000113		0.000113
Resin (33.7)	0.000113	0.000113	

2 – STORAGE

Means (unweighted) (data mestrado corregido.sta)
F(1,108)=75.48; p<.0000

MPA			
....	H2O	29.17537 a
....	NaOCl	22.99943 b

Tukey HSD test; variable MPA (data mestrado corregido.sta)
Probabilities for Post Hoc Tests
MAIN EFFECT: STORAGE

	Enamel	Dentin
H2O (29.2)		0.000113
NaOCl (23.0)	0.000113	

3 – Interaction SUBSTRATE X STORAGE

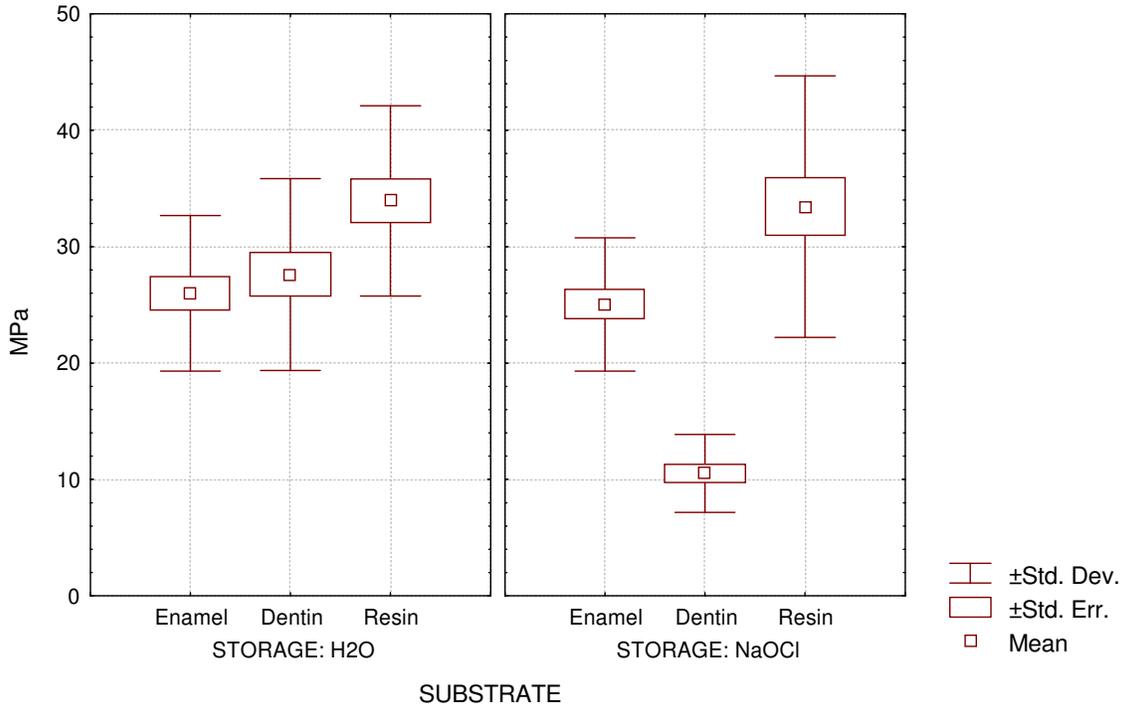
Means (unweighted) (data mestrado corrigido.sta)
 F(2,108)=58.83; p<.0000

MPA			
Resin	H2O	33.9 a
Resin	NaOCl	33.4 a
Enamel	H2O	26.0 b
Enamel	NaOCl	25.0 b
Dentin	H2O	27.6 b
Dentin	NaOCl	10.5 c

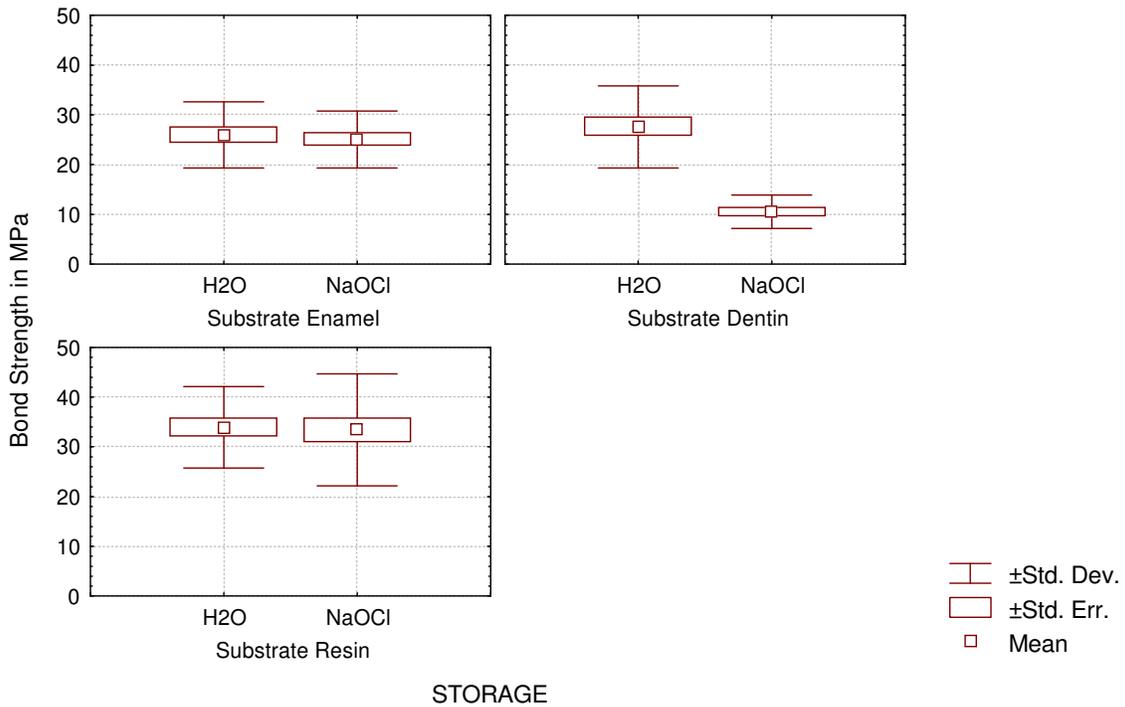
Tukey HSD test; variable MPA (data mestrado corrigido.sta)
 Probabilities for Post Hoc Tests
 INTERACTION: 1 x 2

	Enamel H2O	Enamel NaOCl	Dentin H2O	Dentin NaOCl	Resin H2O	Resin NaOCl
Enamel H2O (26.0)		.972199	.779868	.000118	.000118	.000119
Enamel NaOCl (25.0)	.972199		.307037	.000118	.000118	.000118
Dentin H2O (27.6)	.779868	.307037		.000118	.000133	.000212
Dentin NaOCl (10.5)	.000118	.000118	.000118		.000118	.000118
Resin H2O (33.9)	.000118	.000118	.000133	.000118		.998566
Resin NaOCl 33.4	.000119	.000118	.000212	.000118	.998566	

Box-plot comparing the MTBS in different substrates when the resin composite restorations were stored in water or sodium hypochloride



Box-plot comparing the MTBS in different substrates when the resin composite restorations were stored in water or sodium hypochloride



4 – Interaction SUBSTRATE X ADHESIVE

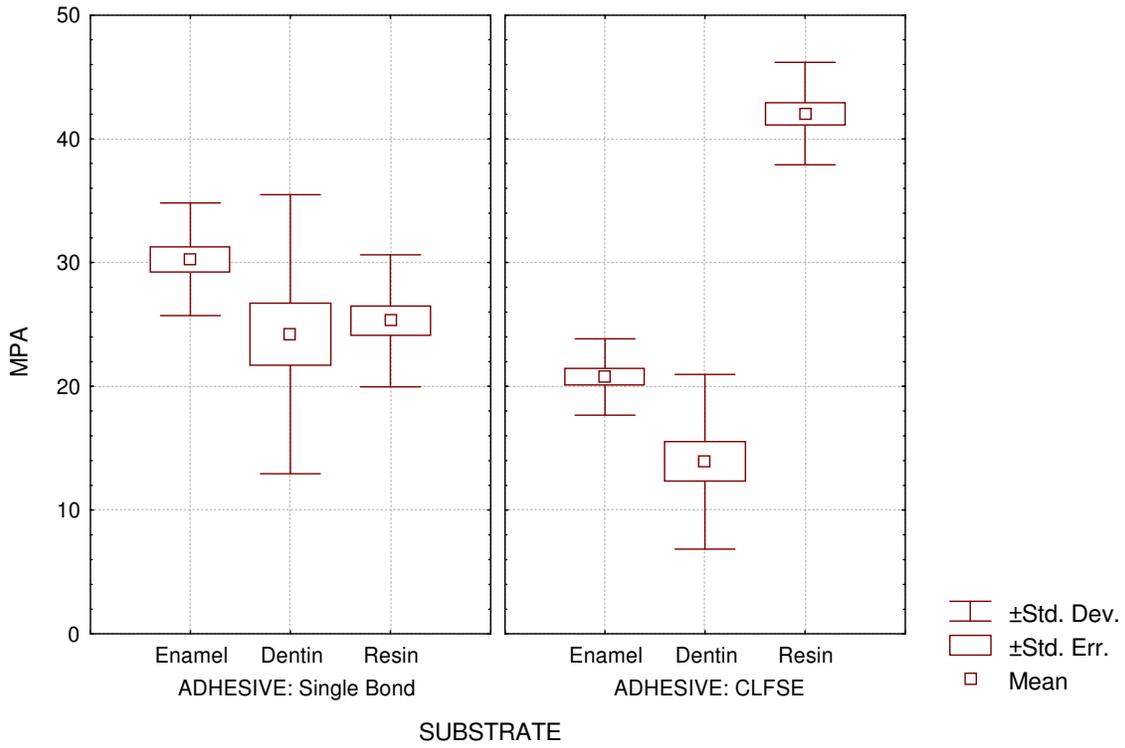
Means (unweighted) (data mestrado corrigido.sta)
 $F(2,108)=156.33$; $p<0.000$

MPA			
Resin	CFSEB	42.1a
Enamel	SB	30.3b
Resin	SB	25.3 c
Dentin	SB	24.2cd
Enamel	CFSEB	20.8d
Dentin	CFSEB	13.9e

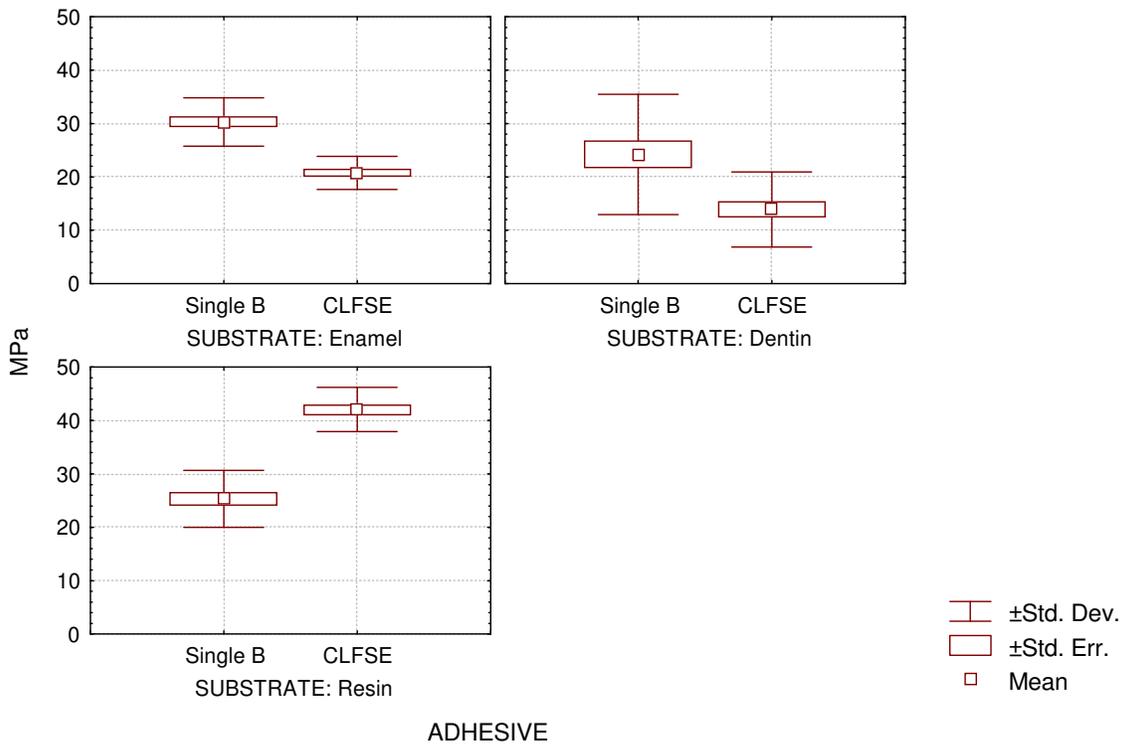
Tukey HSD test; variable MPA (data mestrado corrigido.sta)
 Probabilities for Post Hoc Tests
 INTERACTION: 1X 3

	Enamel SB	Enamel SE	Dentin SB	Dentin SE	Resin SB	Resin SE
Enamel SB (30.3)		.000118	.000158	.000118	.001520	.000118
Enamel CFSEB(20.8)	.000118		.063890	.000120	.004705	.000118
Dentin SB (24.2)	.000158	.063890		.000118	.949237	.000118
Dentin CFSEB (13.9)	.000118	.000120	.000118		.000118	.000118
Resin SB (25.3)	.001520	.004705	.949237	.000118		.000118
Resin CFSEB (42.1)	.000118	.000118	.000118	.000118	.000118	

Box-Plot ADHESIVE X SUBSTRATE



Box-Plot for Variable: MPA (ADHESIVE X SUBSTRATE)



5 – Interaction STORAGE X ADHESIVE

Means (unweighted) (data mestrado corrigido.sta)
 $F(1,108)=11.38$; $p<.0010$

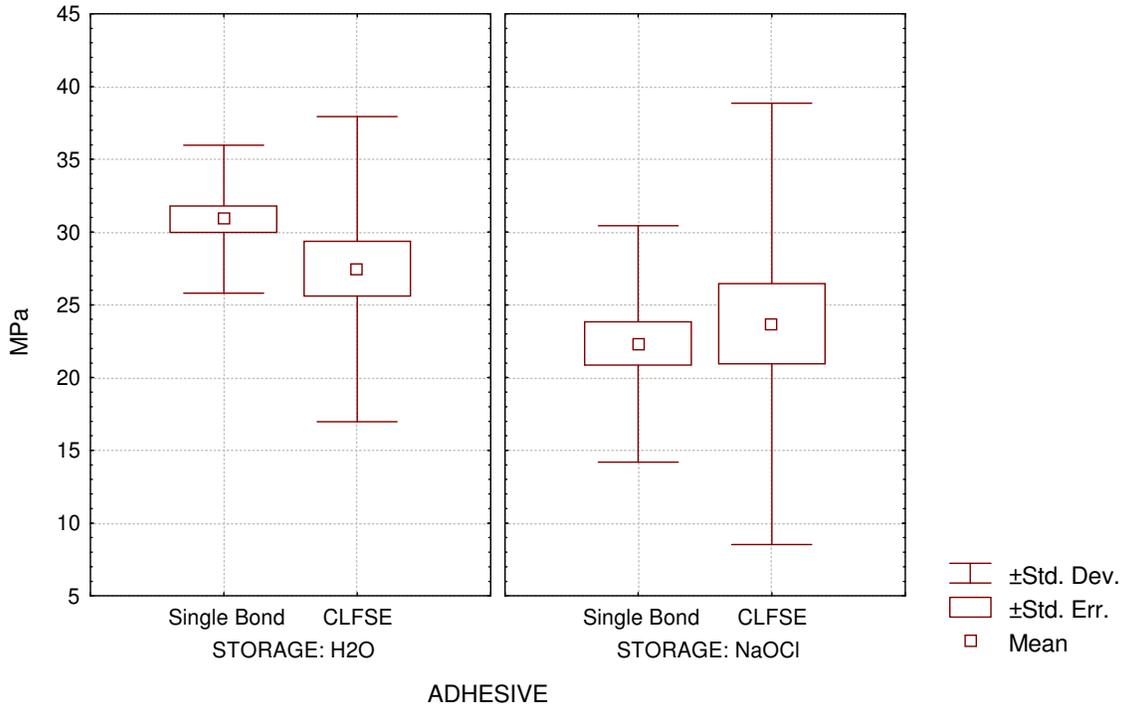
MPA

....	H2O	SB	30.9 a
....	H2O	CFSEB	27.5 b
. ...	NaOCl	CFSEB	23.7 c
... ..	NaOCl	SB	22.3 c

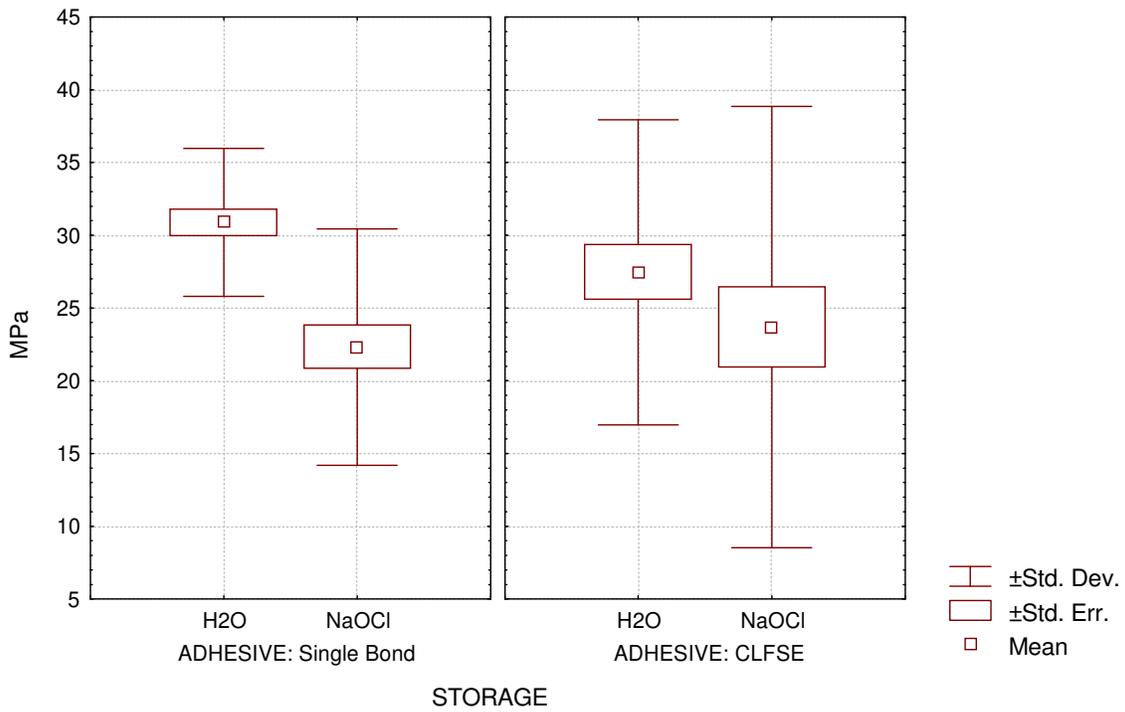
Tukey HSD test; variable MPA (data mestrado corrigido.sta)
 Probabilities for Post Hoc Tests
 INTERACTION: 2 x 3

	H2O SB	H2O CFSEB	NaOCl SB	NaOCl CFSEB
H2O SB (30.9)		.005142	.000136	.000136
H2O CFSEB (27.5)	.005142		.000142	.001660
NaOCl SB (22.3)	.000136	.142	.	.524411
NaOCl CFSEB (23.7)	.000136	.001660	.524411	

Box-plot of the MTBS of different adhesive systems stored in water or sodium hypochloride



Box-plot of the MTBS of different adhesive systems stored in water or sodium hypochloride



Anexo 2

Valores de força de união tabulados

Variáveis:

Substratos: 1)Esmalte; 2)Dentina e 3)Resina Composta

Meios de armazenagem: 1)H₂O e 2)NaOCl

Sistema adesivos: 1)Single Bond e 2)Clearfil SE Bond

Substrato	Armazenagem	Sistemas adesivos	MPa
1	1	1	26,0402
1	1	1	38,7362
1	1	1	38,9832
1	1	1	30,9928
1	1	1	28,5948
1	1	1	31,5227
1	1	1	25,0895
1	1	1	27,1955
1	1	1	29,2069
1	1	1	35,6501
1	1	2	20,7942
1	1	2	22,8263
1	1	2	25,3374
1	1	2	18,157
1	1	2	19,7054
1	1	2	20,5964
1	1	2	24,0328
1	1	2	15,698
1	1	2	21,9387
1	1	2	18,7236
1	2	1	29,4866
1	2	1	26,9113
1	2	1	38,3005
1	2	1	29,2696
1	2	1	26,2099
1	2	1	25,6476
1	2	1	24,6602
1	2	1	31,5963
1	2	1	28,934
1	2	1	32,4603

1	2	2	20,0056
1	2	2	26,2621
1	2	2	20,9892
1	2	2	18,2197
1	2	2	17,2209
1	2	2	23,1288
1	2	2	26,5142
1	2	2	18,2934
1	2	2	18,2609
1	2	2	18,5167
2	1	1	34,3998
2	1	1	41,4555
2	1	1	33,4571
2	1	1	35,1483
2	1	1	35,1452
2	1	1	31,4101
2	1	1	32,512
2	1	1	36,1235
2	1	1	39,1345
2	1	1	30,3448
2	1	2	22,0596
2	1	2	20,3688
2	1	2	23,9224
2	1	2	19,2155
2	1	2	16,7079
2	1	2	17,6132
2	1	2	15,8443
2	1	2	21,6181
2	1	2	17,8258
2	1	2	27,7361
2	2	1	12,4028
2	2	1	12,2243
2	2	1	14,2053
2	2	1	17,0598
2	2	1	14,1061
2	2	1	13,5641
2	2	1	11,6871
2	2	1	14,6398
2	2	1	13,5687
2	2	1	11,7792
2	2	2	7,0486
2	2	2	6,4725
2	2	2	5,9147
2	2	2	8,8629
2	2	2	6,358
2	2	2	8,6329
2	2	2	7,7629
2	2	2	8,7464

2	2	2	7,6214
2	2	2	7,8282
3	1	1	30,9989
3	1	1	29,2345
3	1	1	26,3909
3	1	1	24,2765
3	1	1	20,7998
3	1	1	26,7666
3	1	1	27,2118
3	1	1	26,3646
3	1	1	26,3193
3	1	1	27,1229
3	1	2	35,1806
3	1	2	43,1221
3	1	2	40,8921
3	1	2	42,0089
3	1	2	38,1726
3	1	2	44,1757
3	1	2	44,2375
3	1	2	43,9755
3	1	2	45,0192
3	1	2	36,3878
3	2	1	23,9959
3	2	1	36,7884
3	2	1	20,4292
3	2	1	14,6728
3	2	1	13,5908
3	2	1	28,2781
3	2	1	30,8301
3	2	1	22,1925
3	2	1	25,9348
3	2	1	23,9814
3	2	2	38,7528
3	2	2	37,7122
3	2	2	40,7149
3	2	2	42,4599
3	2	2	45,3095
3	2	2	35,6838
3	2	2	43,0434
3	2	2	50,2727
3	2	2	45,1671
3	2	2	48,7817