

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
OPÇÃO DENTÍSTICA**

Neimar Sartori

**EFICÁCIA DA UNIÃO ADESIVA EM DENTES RESTAURADOS
PELAS TÉCNICAS DA DENTINA SATURADA COM ÁGUA E
COM ETANOL SOB PRESSÃO PULPAR SIMULADA APÓS
ENVELHECIMENTO ARTIFICIAL**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do grau de doutor em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Élitó Araújo

Co-orientadores: Prof. Dr. Luiz Clóvis Cardoso Vieira e Prof. Dr. Sillas Duarte Júnior

Florianópolis

2011

S251e Sartori, Neimar

Eficácia da união adesiva em dentes restaurados pelas técnicas da dentina saturada com água e com etanol sob pressão pulpar simulada após envelhecimento artificial [tese] / Neimar Sartori ; orientador, Élito Araújo. - Florianópolis, SC, 2011.

113 p.: il., grafs., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Odontologia.

Inclui referências

1. Odontologia. 2. Adesivos dentinários. 3. Dentina. 4. Resistência à Tração. 5. Microscopia Confocal. 6. Microscopia eletrônica. I. Araújo, Elito. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Odontologia. III. Título.

CDU 616.314

Neimar Sartori

**EFICÁCIA DA UNIÃO ADESIVA EM DENTES RESTAURADOS
PELAS TÉCNICAS DA DENTINA SATURADA COM ÁGUA E
COM ETANOL SOB PRESSÃO PULPAR SIMULADA APÓS
ENVELHECIMENTO ARTIFICIAL**

Esta tese foi julgada adequada para a obtenção do título de doutor e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia.

Florianópolis, 25 de novembro de 2011.

Prof. Dr. Ricardo de Souza Magini
Coordenador do Curso

Banca Examinadora

Prof. Dr. Élito Araújo
Orientador
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.^a Dr.^a Ana Carolina Botta Martins de Oliveira
Faculdade de Odontologia de Araras

Prof. Dr. Gilberto Müller Arcari
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Dr. Sylvio Monteiro Júnior
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Dr. Victor Humberto Orbegoso
Universidade Federal de Alfenas

Dedico este trabalho à minha amada esposa, **Lais Dalmagro Peruchi**, pelo amor e apoio incondicional em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

A *Deus*, por conceder-me o dom da vida e tantas conquistas.

À minha amada e querida esposa, *Lais Dalmagro Peruchi*, pela ajuda, carinho, compreensão e atenção nos momentos bons e ruins das nossas vidas. Obrigado pelo auxílio no desenvolvimento das partes prática e teórica deste trabalho e pelo incentivo e dedicação, especialmente durante o estágio no exterior.

Aos meus pais, *Clari Ana Sartori* e *Luiz Sartori*, por abdicarem parte de suas vidas pela minha educação e assim permitirem que esse momento pudesse acontecer. Obrigado pelos ensinamentos, pelo apoio em todos os momentos, por nunca reclamarem da minha ausência e por acreditarem que eu posso ir muito longe.

À minha irmã, *Rafaela Sartori*, muito obrigado pelo carinho todas as vezes que nos encontramos. Poder acompanhar o seu crescimento e evolução é motivo de orgulho para mim.

Aos meus *avôs e avós*, obrigado pelo exemplo, carinho, simplicidade, amor, dedicação, compreensão e amizade que vocês sempre demonstraram.

Aos meus *tios e primos*, por todos os momentos que passamos juntos e por contribuírem com o meu crescimento.

À toda a família da minha esposa, que sempre me recebeu com muito carinho. Obrigado pelo apoio e incentivo.

Ao meu orientador, professor Dr. *Élito Araújo*, sempre comprometido com a docência, organizado, dedicado e exigente. Obrigado pelos ensinamentos, excelente orientação e incentivo à realização deste trabalho. Obrigado pela motivação dada inclusive na graduação.

Ao meu co-orientador, professor Dr. **Luiz Clóvis Cardoso Vieira**, humilde, sincero, carismático, que me ensinou muito desde a graduação. Obrigado pela ajuda, incentivo e oportunidades.

Ao meu co-orientador estrangeiro, professor Dr. **Sillas Duarte Júnior**, primeiramente pela oportunidade do estágio no exterior. Sinto-me honrado por ter sido escolhido por pessoa de tamanha competência. Obrigado pela disponibilidade, por todos os ensinamentos no laboratório, as revisões, por sempre buscar novas possibilidades inovadoras e por acreditar no meu potencial. Obrigado, também, pela valorosa ajuda em vários momentos nos Estados Unidos, desde a instalação até a partida. Poder contar com o senhor em um território desconhecido foi imprescindível.

Ao professor Dr. **Luiz Narciso Baratieri**, um profissional exemplar e trabalhador, incansável no ensino de uma odontologia de excelência. Obrigado por todo o incentivo durante os cursos de mestrado e doutorado na UFSC e pela confiança depositada em mim para realizar o estágio no exterior.

Ao professor Dr. **Sylvio Monteiro Júnior**, exemplo de professor. Obrigado por despertar em mim o interesse pelo ensino e pesquisa, por ser um grande exemplo a ser seguido e por todos os conselhos durante a nossa convivência. É uma honra tê-lo como membro da banca examinadora deste trabalho.

Ao professor Dr. **Alfredo Meyer Filho**, obrigado por sempre ser um ótimo professor e pela disponibilidade desde a graduação.

Ao professor Dr. **Cléo Nunes de Souza**, pelo compartilhamento das suas experiências e por toda a dedicação no ensino da odontologia.

Ao professor Dr. **Gilberto Müller Arcari**, pelos ensinamentos e convívio durante esta jornada. Obrigado por estar sempre disponível e por aceitar participar da banca examinadora deste trabalho.

Ao professor Dr. **Guilherme Carpena Lopes**, pelo incentivo à pesquisa e à publicação. Obrigado pelo conhecimento passado nas disciplinas ministradas no doutorado.

Ao professor Dr. **Hamilton Pires Maia**, obrigado por dividir o seu valioso conhecimento.

À professora Dra. **Jussara Karina Bernardon**, obrigado pela convivência agradável nos trabalhos que realizamos juntos.

Ao professor Dr. **Mauro Amaral Caldeira de Andrada**, obrigado pelo exemplo de liderança e incentivo.

À professora Dra. **Renata Gondo**, obrigado pela convivência e pelo exemplo.

Aos professores Dr. **Victor Humberto Orbegoso** e Dr.^a **Ana Carolina Botta Martins de Oliveira**, por prontamente aceitarem o convite para a participação como examinadores externos na banca de defesa deste trabalho.

Ao professor Dr. **Ricardo de Souza Magini**, coordenador do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, pela preocupação e empenho para o bom funcionamento do curso.

À professora Dra. **Mirian Marly Becker**, muito obrigado pela amizade, carinho e incentivo.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Odontologia que contribuíram para a nossa formação, muito obrigado.

Ao professor Dr. **Jin-Ho Phark**, pela paciência, ajuda na língua inglesa e apoio nas pesquisas e microscopias. A convivência no laboratório foi de extrema importância para a minha evolução.

À professora Dra. **Fabiana Varjão**, obrigado pelo tempo despendido na apresentação da Universidade, funcionários e laboratórios; pela ajuda nas pesquisas e por todas as dicas valiosas de vivência no exterior.

À professora Dra. **Maria Manuela Lopes**, obrigado pelo empenho na execução das imagens de microscopia eletrônica de transmissão presentes nesta tese.

Ao colega **Renan Belli**, um grande amigo, com o qual tive o prazer de realizar vários trabalhos. Obrigado pela amizade, parceria, apoio e toda a ajuda concedida.

Ao colega **Max Schmeling**, pela amizade, convivência e oportunidade de realização de trabalhos em conjunto.

Ao colega **Marcelo Taveira Barbosa**, pela amizade e preocupação em todos os momentos. Obrigado por sempre manter contato.

À colega **Silvana Batalha Silva**, pela amizade, convívio e ajuda no momento em que vivemos na mesma cidade no exterior.

Aos amigos e colegas de pós-graduação **Sheila, Daniel, Juan, Juliana, Júnio, Fábio, Kazuza, Luana Lima, Cássio e Jackeline**, pelo convívio agradável e aprendizado em conjunto.

Aos meus colegas de trabalhos na Universidade do Sul de Santa Catarina, **Carla, Frederico, Graciela, Gustavo, Jorge, Karen, Keila, Maria Estela, Naudy, Renata e Simone**. Obrigado pelo companheirismo no exercício de nossas atividades.

Às professoras da língua inglesa **Honey Massey, Sima e Marylyn McLaughlin**, pelo ensino, ótima convivência e organização de eventos sociais nos Estados Unidos.

Aos funcionários das disciplinas de Dentística, **Léa e Bruno**, e Estágio Supervisionado em Clínica Integrada do Adulto e do Idoso, **Talita**, pela competência, eficiência e empenho no desenvolvimento dos trabalhos.

À funcionária **Ana**, secretária do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, pelo esforço e dedicação na execução do seu trabalho.

Às funcionárias da Case Western University, **Bess Weiss e Margaret Behnke**, pela amizade, ajuda e competência na realização dos trabalhos.

Ao professor **Adriano Ferreti Borgatto**, pela oportunidade de aprender Bioestatística com uma pessoa tão qualificada.

Ao revisor de português, **Giovanni Secco**, pelo excelente trabalho de revisão do texto e pelas dicas gramaticais.

Aos funcionários da UFSC **Batista, Lauro, Luiz e Rosângela**, muito obrigado pelo auxílio no desenvolvimento das atividades clínicas e laboratoriais.

Aos meus amigos **Alessandra, Angélica, Carlos Thiesen, Dagobert, Eduardo, Gabriel, Larissa, Lívia, Marcel, Mirella, Naiara, Neide, Marcos, Renata Sander**, pela amizade, companheirismo e apoio.

Aos amigos que conheci no exterior **Alex, Ana Arruda, Ana Carolina, Ana Luisa, Ana Paula, Anthony, Arick, Baiya, Bess, Chao, Cristian, Cristina, Dalia, Diana, Ellen, Eleftheria, Flávia, Giselle, Honey, Ilya, Jack, John, Lucas, Malgorzata, Martha, Ondine, Randa,**

Samara, Silvia, Suzana, Wilma, Yoko, Yo e Zhao, pela ajuda e convivência valiosa em um momento em que eu estava longe do meu país.

À *Universidade Federal de Santa Catarina*, pela ótima formação na graduação, mestrado e doutorado. Foram mais de dez anos como aluno dessa instituição, o que é motivo de orgulho para mim.

À *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior* (Capes), por conceder a bolsa-sanduíche para estágio no exterior.

À *Case Western Reserve University* e à *University of Southern California*, pela oportunidade de estágio no exterior. Obrigado por disponibilizar as suas dependências, equipamentos e profissionais para a execução deste trabalho.

A todos que contribuíram para a consolidação deste trabalho.

Bom mesmo é ir à luta com determinação,
abraçar a vida com paixão,
perder com classe
e vencer com ousadia,
porque o mundo pertence a quem se atreve
e a vida é “muito” para ser insignificante.

Augusto Branco

RESUMO

Objetivo: Avaliar a resistência de união (μ TBS) à dentina e a nanoinfiltração na interface adesiva de dentes restaurados pelas técnicas adesivas da dentina saturada com água ou com etanol sob pressão pulpar simulada.

Métodos: Quarenta e oito terceiros molares hígidos foram selecionados e processados para o teste de μ TBS da dentina. Os dentes selecionados foram divididos em 8 grupos experimentais, de acordo com o sistema adesivo utilizado [Adper Single Bond Plus, 3M ESPE (SB); Adper Scotchbond Multi-Purpose, 3M ESPE (MP); All-Bond 2, BISCO (AB) e One-Step Plus, BISCO (OS)]; 4 grupos restaurados pela técnica da dentina saturada com água e os demais pela técnica da dentina saturada com etanol (A). Todos os dentes foram restaurados com uma resina composta micro-híbrida (Z250, 3M ESPE) sob 20 cm de pressão pulpar simulada. Após 24 h ou envelhecimento (E) artificial (20.000 ciclos térmicos seguidos por 600.000 ciclos de carga mecânica), as amostras foram seccionadas nas direções X/Y para se obterem filetes com $0,6\pm 0,2$ mm² de área de adesão. Todos os espécimes foram fraturados por tensão a uma velocidade de 1,0 mm/min. Os dados foram submetidos aos testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney ($\alpha=0,05$). Além disso, 2 dentes por grupo foram processados para avaliar a nanoinfiltração por meio da microscopia eletrônica de transmissão (TEM) e microscopia confocal de varredura laser (CLSM).

Resultados: O grupo SBA apresentou os maiores valores de μ TBS (38,4 MPa), e o grupo OS(E), os menores valores (2,5 MPa). Após o envelhecimento artificial, os grupos SBA e MPA apresentaram os melhores resultados de μ TBS, 35,63 Mpa e 30,80 MPa respectivamente. As imagens de CLSM e TEM mostram nanoinfiltração dentro da camada híbrida de todos os sistemas adesivos, independentemente da técnica adesiva utilizada.

Conclusão: A técnica da dentina saturada com etanol aumentou a resistência de união dos adesivos à base de álcool e água (SBA e MPA), contudo a nanoinfiltração não foi eliminada.

Palavras-chave: Adesivos dentinários. Dentina. Materiais dentários. Resistência à tração. Microscopia confocal de varredura laser. Microscopia eletrônica de transmissão.

ABSTRACT

Objectives: To study long-term microtensile bond strengths (μ TBS) and nanoleakage into dentin under simulated pulpal pressure using water- or ethanol-wet bonding techniques.

Methods: 48 recently extracted molars were selected and processed for dentin μ TBS. The selected teeth were randomly assigned to 8 experimental groups [Adper Single Bond Plus, 3M ESPE (SB); Adper Scotchbond MP, 3M ESPE (MP); All Bond 2, BISCO (AB); and One-Step Plus, BISCO (OS)], where 4 groups were restored using water-wet bonding and the other half restored using ethanol-wet bonding technique (A). The specimens were restored with a microhybrid resin composite (Z250, 3M ESPE). All restorative procedures were performed under 20cm of simulated pulp pressure. The specimens were tested after 24 hours and after artificial aging (E) by 20,000 thermal cycles, and 600,000 mechanical load cycles. Teeth were sectioned in X/Y directions to obtain sticks with a cross section of 0.6 ± 0.2 mm². All sticks were fractured by tension at a crosshead speed of 1.0 mm/min. The data were submitted to Kruskal-Wallis and Mann-Whitney Tests ($\alpha=0.05$). In addition, two specimens per group were processed for nanoleakage using TEM and CLSM.

Results: Group SBA presented the highest μ TBS values (38.4 MPa) while the group OS(E) lowest μ TBS values (2.5 MPa). After the artificial aging groups SBA and MPA presented the best μ TBS values, 35.63 MPa and 30.80 MPa respectively. CLSM and TEM images showed intense nanoleakage within the hybrid layer for all adhesives, irrespective of the used technique.

Conclusions: Ethanol-wet bonding technique improved bond strengths of ethanol- and water-based adhesives (SBA and MPA); however, nanoleakage was not eliminated.

Keywords: Dentin bonding. Dentin. Dental materials. Tensile strength. Confocal laser scanning microscopy. Transmission electron microscopy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Amostra fixa ao disco de resina composta com tubo de silicone no interior do disco.	50
Figura 2 – Dispositivo para simular a pressão pulpar com as amostras em posição.	50
Figura 3 – Condicionamento da dentina com ácido fosfórico por 15 s.	51
Figura 4 – Remoção do excesso de água com papel absorvente.	51
Figura 5 – Aplicação do etanol a 100% por 30 s.	53
Figura 6 – Fotoativação do sistema adesivo.	53
Figura 7 – Máquina termocicladora.	53
Figura 8 – Equipamento para mastigação simulada.	54
Figura 9 – Amostra fixada no dispositivo de corte com cola à base de cianocrilato.	54
Figura 10 – Primeira secção longitudinal da amostra.	54
Figura 11 – Aspecto após a segunda secção da amostra para a confecção dos espécimes.	55
Figura 12 – Corte final para a obtenção dos filetes (espécimes).	55
Figura 13 – Espécime fixado ao dispositivo de microtração com cola à base de cianocrilato.	55
Figura 14 – Dispositivo posicionado na máquina de teste universal.	55
Figura 15 – Dissolução do corante isotiocianato de tetrametil rodamina B no sistema adesivo.	56
Figura 16 – Aplicação do sistema adesivo com o corante na amostra.	56
Figura 17 – Aspecto da amostra preparada para o CLSM após o polimento.	57
Figura 18 – Microscópio confocal de varredura laser.	58
Figura 19 – Curvas de absorção e emissão de luz dos dois corantes utilizados e seus respectivos filtros.	58
Figura 20 – Amostra coberta com esmalte de unha 1 mm acima e abaixo da interface adesiva.	59
Figura 21 – Amostras imersas em solução reveladora sob luz fluorescente.	59
Figura 22 – Representação gráfica em barras verticais para as médias, em MPa, obtidas nos 4 adesivos avaliados nesta pesquisa laboratorial.	65
Figura 23 – Representação gráfica em barras verticais para as médias, em MPa, obtidas nas duas técnicas adesivas utilizadas neste estudo.	66
Figura 24 – Representação gráfica em barras verticais para as médias, em MPa, obtidas das duas técnicas adesivas utilizadas para os adesivos que utilizam álcool como solvente.	67
Figura 25 – Representação gráfica em barras verticais para as médias, em MPa, obtidas das duas técnicas adesivas utilizadas para os adesivos que utilizam acetona como solvente.	68
Figura 26 – Representação gráfica em barras verticais para as médias, em MPa, obtidas nos dois momentos avaliados (24 horas e envelhecido artificialmente).	69

Figura 27 – Representação gráfica em barras verticais para as médias, em MPa, de todos os grupos avaliados neste estudo.....	71
Figura 28 – Gráfico de colunas verticais ilustrando a diferença no percentual dos padrões de fratura dos grupos avaliados.....	72
Figura 29 – Microscopia confocal de varredura laser do adesivo Adper Single Bond Plus utilizando-se a técnica da dentina saturada com água nas amostras envelhecidas.	73
Figura 30 – Microscopia confocal de varredura laser do adesivo Adper Single Bond Plus utilizando-se a técnica da dentina saturada com etanol nas amostras envelhecidas.	73
Figura 31 – Microscopia confocal de varredura laser do adesivo Adper Scotchbond Multi-Purpose utilizando-se a técnica da dentina saturada com água nas amostras envelhecidas.	74
Figura 32 – Microscopia confocal de varredura laser do adesivo Adper Scotchbond Multi-Purpose utilizando-se a técnica da dentina saturada com etanol nas amostras não envelhecidas.....	75
Figura 33 – Microscopia confocal de varredura laser do adesivo One-Step Plus utilizando-se a técnica da dentina saturada com água nas amostras envelhecidas.	76
Figura 34 – Microscopia confocal de varredura laser do adesivo One-Step Plus utilizando-se a técnica da dentina saturada com etanol e não envelhecido.	76
Figura 35 – Microscopia confocal de varredura laser do adesivo All-Bond 2 utilizando-se a técnica da dentina saturada com água nas amostras envelhecidas.	77
Figura 36 – Microscopia confocal de varredura laser do adesivo All-Bond 2 utilizando-se a técnica da dentina saturada com etanol nas amostras envelhecidas.	77
Figura 37 – Microscopia eletrônica de transmissão do adesivo Adper Single Bond Plus utilizando-se a técnica da dentina saturada com água e nas amostras não envelhecidas.....	79
Figura 38 – Microscopia eletrônica de transmissão do adesivo Adper Single Bond Plus utilizando-se a técnica da dentina saturada com etanol nas amostras não envelhecidas.....	79
Figura 39 – Microscopia eletrônica de transmissão do adesivo Adper Scotchbond Multi-Purpose utilizando-se a técnica da dentina saturada com água nas amostras envelhecidas.	80
Figura 40 – Microscopia eletrônica de transmissão do adesivo Adper Scotchbond Multi-Purpose utilizando-se a técnica da dentina saturada com etanol nas amostras envelhecidas.	81
Figura 41 – Microscopia eletrônica de transmissão do adesivo One-Step Plus utilizando-se a técnica da dentina saturada com água nas amostras não envelhecidas.	82
Figura 42 – Microscopia eletrônica de transmissão do adesivo One-Step Plus utilizando-se a técnica da dentina saturada com etanol nas amostras não envelhecidas.	82

Figura 43 – Microscopia eletrônica de transmissão do adesivo All-Bond 2 utilizando-se a técnica da dentina saturada com água nas amostras envelhecidas.
.....83

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Marca comercial, composição química, modo de aplicação, número do lote e validade dos sistemas adesivos utilizados neste estudo.....52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Estatísticas descritivas da quantidade de amostras avaliadas (n), medianas, médias, desvios padrão (DP), coeficientes de variação (CV), valores mínimos (Mín) e máximos (Máx) e erros padrão (EP).	63
Tabela 2 – Tamanho da amostra (n), medianas, médias com os respectivos resultados estatísticos, desvios padrão (DP), coeficientes de variação (CV), valores mínimo (Mín) e máximo (Máx) e o erros padrão (EP) dos dados obtidos no teste de resistência de união para os adesivos avaliados.	64
Tabela 3 – Tamanho da amostra (n), medianas, médias com os respectivos resultados estatísticos, desvios padrão (DP), coeficientes de variação (CV), valores mínimo (Mín) e máximo (Máx) e o erros padrão (EP) dos dados obtidos no teste de resistência de união para as técnicas adesivas (dentina saturada com água e etanol).	65
Tabela 4 – Tamanho da amostra (n), medianas, médias com os respectivos resultados estatísticos, desvios padrão (DP), coeficientes de variação (CV), valores mínimo (Mín) e máximo (Máx) e o erros padrão (EP) dos dados obtidos no teste de resistência de união para as técnicas adesivas (adesivos à base de álcool).	66
Tabela 5 – Tamanho da amostra (n), medianas, médias com os respectivos resultados estatísticos, desvios padrão (DP), coeficientes de variação (CV), valores mínimo (Mín) e máximo (Máx) e o erros padrão (EP) dos dados obtidos no teste de resistência de união para as técnicas adesivas (adesivos à base de acetona).	68
Tabela 6 – Tamanho da amostra (n), medianas, médias com os respectivos resultados estatísticos, desvios padrão (DP), coeficientes de variação (CV), valores mínimo (Mín) e máximo (Máx) e o erros padrão (EP) dos dados obtidos no teste de resistência de união para os momentos avaliados.	69
Tabela 7 – Médias das combinações entre os adesivos, as técnicas adesivas e os momentos avaliados, em MPa, obtidas pela força de união e o detalhamento estatístico pelo teste de Mann-Whitney.	70

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

μm – Micrômetro

μTBS – Resistência de união à microtração

AB – Grupo do estudo restaurado com o adesivo All-Bond utilizando-se a técnica da dentina saturada com água

AB(E) – Grupo do estudo restaurado com o adesivo All-Bond utilizando-se a técnica da dentina saturada com água e envelhecido artificialmente

ABA – Grupo do estudo restaurado com o adesivo All-Bond utilizando-se a técnica da dentina saturada com etanol

ABA(E) – Grupo do estudo restaurado com o adesivo All-Bond utilizando-se a técnica da dentina saturada com etanol e envelhecido artificialmente

Bis-GMA – Bisfenol A glicidil metacrilato

BPDM – Bisfenil dimetacrilato

CE – Coeficiente de variação

CLSM – Microscopia confocal de varredura laser

cm – Centímetro

cm^2 – Centímetro quadrado

DP – Desvio padrão

EP – Erro padrão

h – Hora

H_3PO_4 – Ácido fosfórico

HEMA – 2-hidroxietil metacrilato

kV – Quilovolt

M – Mol

min – Minuto

ml – Mililitro

mm – Milímetro

mm^2 – Milímetro quadrado

MMP – Metaloproteinase da matriz extracelular

MP – Grupo do estudo restaurado com o adesivo Adper Scotchbond Multi-Purpose utilizando-se a técnica da dentina saturada com água

MP(E) – Grupo do estudo restaurado com o adesivo Adper Scotchbond Multi-Purpose utilizando-se a técnica da dentina saturada com água e envelhecido artificialmente

MPA – Grupo do estudo restaurado com o adesivo Adper Scotchbond Multi-Purpose e utilizando-se a técnica da dentina saturada com etanol

MPa – Megapascal

MPA(E) – Grupo do estudo restaurado com o adesivo Adper Scotchbond Multi-Purpose, utilizando-se a técnica da dentina saturada com etanol e envelhecido artificialmente

mW – Miliwatt

N – Newton

n – Tamanho da amostra

nm – Nanômetro

NTG-GMA – N-tolilglicina glicidil metacrilato

°C – Grau Celsius

OS – Grupo do estudo restaurado com o adesivo One-Step Plus utilizando-se a técnica da dentina saturada com água

OS(E) – Grupo do estudo restaurado com o adesivo One-Step Plus utilizando-se a técnica da dentina saturada com água e envelhecido artificialmente

OSA – Grupo do estudo restaurado com o adesivo One-Step Plus utilizando-se a técnica da dentina saturada com etanol

OSA(E) – Grupo do estudo restaurado com o adesivo One-Step Plus utilizando-se a técnica da dentina saturada com etanol e envelhecido artificialmente

p – Significância estatística

s – Segundo

SB – Grupo do estudo restaurado com o adesivo Adper Single Bond Plus utilizando-se a técnica da dentina saturada com água

SB(E) – Grupo do estudo restaurado com o adesivo Adper Single Bond Plus utilizando-se a técnica da dentina saturada com água e envelhecido artificialmente

SBA – Grupo do estudo restaurado com o adesivo Adper Single Bond Plus utilizando-se a técnica da dentina saturada com etanol

SBA(E) – Grupo do estudo restaurado com o adesivo Adper Single Bond Plus utilizando-se a técnica da dentina saturada com etanol e envelhecido artificialmente

TEM – Microscopia eletrônica de transmissão

UDMA – Uretano dimetacrilato

α – Nível de significância de 5%

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	31
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	35
2.1 ADESÃO DENTÁRIA	37
2.2 COMPLICAÇÕES DA ADESÃO À DENTINA.....	38
2.3 DEGRADAÇÃO DA CAMADA HÍBRIDA E INIBIÇÃO DA COLAGENASE	40
2.4 ADESÃO PELA TÉCNICA DA DENTINA SATURADA COM ETANOL	40
3 PROPOSIÇÃO	43
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	47
4.1 OBTENÇÃO E PREPARO DOS DENTES.....	49
4.2 DISTRIBUIÇÃO DOS GRUPOS	49
4.3 PROTOCOLO RESTAURADOR.....	50
4.4 PREPARO DOS ESPÉCIMES PARA O TESTE DE MICROTRAÇÃO.....	53
4.5 ANÁLISE DOS MODOS DE FRATURA.....	55
4.6 ANÁLISE DA INTERFACE ADESIVA EM MICROSCOPIA CONFOCAL DE VARREDURA LASER.....	56
4.7 ANÁLISE DA NANOINFILTRAÇÃO NO MICROSCÓPIO ELETRÔNICO DE TRANSMISSÃO	58
4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	60
5 RESULTADOS.....	61
5.1 TESTE DE RESISTÊNCIA DE UNIÃO ADESIVA.....	63
5.1.1 Análise descritiva dos dados	63
5.1.2 Análise dos adesivos avaliados	64
5.1.3 Análise das técnicas adesivas avaliadas	65
5.1.3.1 Análise das técnicas adesivas avaliadas para os adesivos que utilizaram álcool como solvente.....	66
5.1.3.2 Análise das técnicas adesivas avaliadas para os adesivos que utilizaram acetona como solvente.....	67

5.1.4 Análise do envelhecimento	68
5.1.5 Análise da interação entre as três variáveis nominais avaliadas	70
5.1.6 Análise do padrão de falha dos espécimes	72
5.2 MICROSCOPIA CONFOCAL DE VARREDURA LASER.....	72
5.2.1 Adesivo Adper Single Bond Plus	73
5.2.2 Adesivo Adper Scotchbond Multi-Purpose	74
5.2.3 Adesivo One-Step Plus	75
5.2.4 Adesivo All-Bond Plus	77
5.3 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO	78
5.3.1 Adesivo Adper Single Bond Plus	78
5.3.2 Adesivo Adper Scotchbond Multi-Purpose	80
5.3.3 Adesivo One-Step Plus	81
5.3.4 Adesivo All-Bond 2	83
6 DISCUSSÃO	85
7 CONCLUSÕES.....	95
REFERÊNCIAS.....	99
ANEXOS.....	109
ANEXO A – Certificado do comitê de ética	111
ANEXO B – Termo de consentimento livre e esclarecido.....	113

1 Introdução

1 INTRODUÇÃO

Devido especialmente à introdução da técnica do condicionamento ácido do esmalte (BUONOCORE, 1955), a odontologia restauradora evoluiu como nunca na história. Uma das mudanças foi a exigência de que os profissionais não apenas restaurem a forma e a função dos dentes que sofreram injúrias, mas também restabeleçam a estética com restaurações duráveis. Atualmente, grande variedade de marcas comerciais e de cores de resina composta está disponível no mercado, possibilitando a confecção de restaurações praticamente invisíveis.

Os sistemas adesivos atuais permitem melhor interação do adesivo com o substrato dentinário, embora a adesão à dentina continue sendo mais fraca e menos previsível que a adesão ao esmalte (SANTINI; PLASSCHAERT; MITCHELL, 2001). Quando o sistema adesivo não consegue preencher toda a área desmineralizada (HASHIMOTO et al., 2002; REIS et al., 2004), fibras colágenas continuam expostas e sujeitas à degradação por hidrólise e à ação das proteases fisiológicas e bacterianas, diminuindo a resistência de união adesiva e aumentando a infiltração ao longo do tempo (DORFER et al., 2000; HASHIMOTO et al., 2004). Para evitar a biodegradação da interface adesiva, é imprescindível que o sistema adesivo penetre por toda a área desmineralizada e seja adequadamente polimerizado (SANO, 2006).

Com o intuito de aumentar a longevidade das restaurações adesivas em dentina, sugeriu-se a aplicação de etanol a 100% após o condicionamento ácido e previamente à aplicação de sistemas adesivos hidrofóbicos (PASHLEY et al., 2007). O etanol penetra na área desmineralizada, diminui as dimensões das fibras colágenas, evapora a água presente nos espaços interfibrilares e aumenta o espaço destes, facilitando a penetração do sistema adesivo (PASHLEY et al., 2007; HOSAKA et al., 2009; SHIN et al., 2009). Diante dessas considerações, justifica-se a realização deste estudo para avaliar a efetividade da adesão à dentina de quatro sistemas adesivos hidrofílicos disponíveis no mercado, e para isso se utilizam as técnicas da dentina saturada com água e com etanol sob pressão pulpar simulada.

2 Revisão de Literatura

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ADESÃO DENTÁRIA

O condicionamento do esmalte com ácido fosfórico foi introduzido na odontologia para tornar a superfície asperizada micromecanicamente, aumentando a energia da superfície, de forma a permitir que a resina acrílica escoasse para o interior das microporosidades, o que criava os prolongamentos resinosos retentivos e, conseqüentemente, proporcionava uma união mecânica entre o esmalte e a resina (BUONOCORE, 1955). A técnica do condicionamento ácido do esmalte não foi amplamente utilizada nos primeiros anos devido à elevada contração de polimerização e ao alto coeficiente de expansão térmica dos materiais restauradores acrílicos. Somente em meados dos anos 1960 a técnica do condicionamento ácido do esmalte foi redescoberta devido ao desenvolvimento das resinas compostas a partir da adição de partículas de carga à resina epóxica (BOWEN, 1963). Atualmente, o condicionamento ácido é utilizado com o intuito de limpar o esmalte, aumentar a rugosidade superficial, por meio da remoção dos cristais prismáticos e aprismáticos, e aumentar a energia livre de superfície (BUSSCHER; RETIEF; ARENDS, 1987), permitindo a infiltração dos monômeros, o selamento da superfície e a retenção das restaurações de resina composta (NAKABAYASHI; PASHLEY, 1998).

A adesão à dentina pela técnica do condicionamento ácido total não teve o mesmo sucesso que ao esmalte (BRUDEVOLD; BUONOCORE; WILEMAN, 1956) devido à hidrofobicidade dos adesivos utilizados naquela época, bem como à falta de conhecimento sobre as características da dentina como substrato para adesão (NAKABAYASHI; PASHLEY, 1998). Um importante avanço no conhecimento sobre a adesão à dentina ocorreu com o estudo de Fusayama *et al.*, (1979) sobre o condicionamento ácido simultâneo do esmalte e da dentina com ácido fosfórico a 37%. Esse estudo demonstrou que o condicionamento ácido não aumentou os danos à polpa dental e que melhorou substancialmente a retenção das restaurações. O sistema adesivo funcionou muito bem na dentina, pois Fusayama somente removia a dentina infectada por cárie, sem estender os limites da cavidade até a dentina normal (NAKABAYASHI; PASHLEY, 1998). Como a dentina afetada por cárie é, normalmente, esclerótica e quase impermeável (TAGAMI *et al.*, 1992), o

condicionamento ácido não aumentava significativamente a permeabilidade da dentina (PASHLEY, 1991). Contudo, quando o preparo cavitário era estendido até a dentina normal, ocorria invasão bacteriana e irritação pulpar (NAKABAYASHI; PASHLEY, 1998).

Nakabayashi, Kojima e Masuhara (1982) conseguiram demonstrar que, sob condições adequadas, os monômeros adesivos conseguem penetrar em profundidade na dentina desmineralizada, envolver as fibras colágenas e, ao se polimerizarem, formar a camada híbrida. Contudo, a técnica do condicionamento ácido da dentina só obteve aceitação mundial no início da década de 1990, dez anos após a elucidação desse conceito (VAN MEERBEEK et al., 1992).

O condicionamento ácido da dentina diminui sua energia de superfície, possivelmente devido à exposição das fibras colágenas, e dificulta a penetração do sistema adesivo (ATTAL; ASMUSSEN; DEGRANGE, 1994). Dessa forma, é necessário aplicar um primer – moléculas ambifílicas, com afinidade à superfície dentinária (hidrofílicas) e à resina do adesivo (hidrofóbicas) (EICK et al., 1997) – sobre a superfície desmineralizada para restabelecer a energia de superfície, de forma a permitir a penetração do adesivo nos espaços interfibrilares e nos túbulos dentinários, o que proporciona resistência estrutural à camada híbrida (NAKABAYASHI; PASHLEY, 1998). Atualmente, a adição de monômeros hidrofílicos aos sistemas adesivos modernos aumenta a resistência de união adesiva imediata à dentina, porém a interface resina-dentina torna-se menos resistente com o passar do tempo (CARRILHO et al., 2005; MALACARNE et al., 2006), pois esses monômeros absorvem de 5% a 12% de água (MALACARNE et al., 2006), comprometendo as propriedades mecânicas dos polímeros da interface adesiva (HOSAKA et al., 2009).

2.2 COMPLICAÇÕES DA ADESÃO À DENTINA

Uma intervenção conservadora na odontologia restauradora é possível graças à evolução dos sistemas adesivos, porém a durabilidade das restaurações adesivas em dentina ainda é relativamente pequena (CARRILHO et al., 2005). A dificuldade de adesão à dentina está relacionada às características desse substrato. A dentina é composta de uma matriz de colágeno preenchida por cristais nanométricos de apatita dispersos entre cilindros ocos paralelos hipermineralizados e pobres em colágeno (MARSHALL et al., 1997). O tecido responsável pela formação dos túbulos é chamado de dentina peritubular, ou intratubular,

sendo 9% mais mineralizada que a dentina intertubular, localizada entre os túbulos (BHASKAR, 1989). Além das características estruturais da dentina, sua composição química dificulta a adesão, pois a dentina é composta de aproximadamente 30% de volume de matéria orgânica, 20% de água e 50% de mineral (MARSHALL et al., 1997).

O condicionamento ácido da dentina desmineraliza a hidroxiapatita superficial, remove a lama dentinária e desoblitera os túbulos, permitindo a união entre os sistemas adesivos e a dentina (NAKABAYASHI; KOJIMA; MASUHARA, 1982; NAKABAYASHI; PASHLEY, 1998). Para a formação de uma camada híbrida ideal, é imprescindível que a dentina condicionada permaneça úmida, permitindo que o *primer* penetre por toda a área desmineralizada. Se a dentina for desidratada, as fibras colágenas colapsarão e haverá diminuição dos espaços interfibrilares e menor infiltração dos monômeros resinosos (NAKABAYASHI; KOJIMA; MASUHARA, 1982). Por outro lado, o excesso de água provoca o aparecimento de bolhas no interior da camada híbrida (TAY et al., 2005) e prejudica a interdifusão dos monômeros pela dentina intertubular e a polimerização do sistema adesivo (KANCA, 1992; JACOBSEN; SODERHOLM, 1995).

Clinicamente, além da umidade superficial da dentina, há a umidade proveniente da câmara pulpar, que é ampliada pelo condicionamento ácido da dentina. Em outras palavras, o processo de limpeza do substrato dentinário aumenta a quantidade de água proveniente da câmara pulpar, tornando os procedimentos adesivos mais difíceis (TAY; GWINNETT; WEI, 1996). A umidade proveniente da câmara pulpar é mais prejudicial para a adesão do que a superficial, pois o fluxo de umidade proveniente da câmara pulpar continua durante e após os procedimentos adesivos, especialmente na região dos cornos pulpares, prevenindo o contato entre a dentina desmineralizada e o sistema adesivo (TAY; GWINNETT; WEI, 1996; SAURO et al., 2009).

A dificuldade em se criar uma camada híbrida ideal é maior em dentina profunda (KANCA, 1992), haja vista que a quantidade de água aumenta gradativamente em direção à polpa devido ao aumento do número e do calibre dos túbulos dentinários (GARBEROGLIO; BRANNSTROM, 1976). Consequentemente, a camada híbrida formada sobre dentina demasiadamente umedecida é mais permeável devido à insuficiente evaporação do solvente e à inadequada polimerização do adesivo (CADENARO et al., 2005; BRESCHI et al., 2007; CADENARO et al., 2009).

2.3 DEGRADAÇÃO DA CAMADA HÍBRIDA E INIBIÇÃO DA COLAGENASE

Quando o adesivo não preenche toda a área de dentina desmineralizada, fibras colágenas permanecem expostas e sujeitas à biodegradação por hidrólise e à ação das proteases fisiológicas (SANO, 2006). A degradação do colágeno é produzida pelas enzimas metaloproteinases da matriz extracelular (MMPs), derivadas do próprio tecido dentinário, as quais apresentam atividade colagenolítica e gelatinolítica (PASHLEY et al., 2004; MAZZONI et al., 2006; HOSAKA et al., 2009). As enzimas responsáveis pelas atividades gelatinolíticas (MMP-2 e MMP-9) e colagenolíticas (MMP-8 e MMP-20) são ativadas pelo condicionamento ácido da dentina (TJADERHANE et al., 1998; SULKALA et al., 2002) e deixam a interface adesiva mais suscetível a infiltrações ao longo do tempo (DORFER et al., 2000; HASHIMOTO et al., 2002).

Para reduzir a biodegradação da interface adesiva, uma completa penetração na trama colágena e uma adequada polimerização do adesivo são pré-requisitos essenciais (SANO, 2006). Entretanto, a atividade das MMPs só pode ser inibida pela incorporação de inibidores de protease, tais como digluconato de clorexidina (PASHLEY et al., 2004) e álcool (TEZVERGIL-MUTLUAY et al., 2011), após o condicionamento ácido da dentina e previamente à aplicação do sistema adesivo.

2.4 ADESÃO PELA TÉCNICA DA DENTINA SATURADA COM ETANOL

A técnica adesiva da dentina saturada com etanol é uma nova abordagem sobre o uso de sistemas adesivos de condicionamento ácido total proposta para melhorar a durabilidade da adesão (HOSAKA et al., 2009). Essa técnica consiste em substituir a água dos espaços interfibrilares e intrafibrilares da dentina condicionada, usando etanol a 100% (PASHLEY et al., 2007; HOSAKA et al., 2009; SADEK et al., 2010). Essa nova abordagem da técnica adesiva parece promissora, pois o etanol diminui as dimensões das fibras colágenas, aumenta os espaços interfibrilares, faz a água presente na trama colágena evaporar e torna a superfície menos hidrofílica, facilitando a penetração do sistema adesivo (PASHLEY et al., 2007; HOSAKA et al., 2009; SADEK et al., 2010). Conseqüentemente, há melhor encapsulação das fibras colágenas, menor degradação da interface adesiva ao longo do tempo e melhor

polimerização do sistema adesivo (PASHLEY et al., 2007; HOSAKA et al., 2009; SADEK et al., 2010). Além disso, o etanol aplicado após o condicionamento ácido e previamente à aplicação do sistema adesivo diminui em 14% a atividade gelatinolítica da MMP-9 (TEZVERGIL-MUTLUAY et al., 2011).

Apesar de a técnica parecer promissora (PASHLEY et al., 2007; SADEK et al., 2010), é necessário adicionar um passo aos procedimentos adesivos para aplicar o etanol. Dessa forma, mais evidências científicas são necessárias para justificar o uso dessa técnica (HOSAKA et al., 2009).

3 Proposição

3 Proposição

Este estudo *in vitro* tem como objetivos:

1. Avaliar se o sistema adesivo utilizado interfere nos valores de resistência de união à dentina e na qualidade da interface adesiva.
2. Avaliar se a aplicação do etanol a 100% após o condicionamento ácido e previamente à aplicação do sistema adesivo interfere na resistência de união à dentina e na qualidade da interface adesiva.
3. Avaliar se o envelhecimento artificial influencia na resistência de união à dentina e na qualidade da interface adesiva.

4 Materiais e Métodos

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 OBTENÇÃO E PREPARO DOS DENTES

Oitenta terceiros molares hígidos foram obtidos por meio de doação dos órgãos dentais extraídos na Clínica de Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina após parecer positivo do Comitê de Ética da referida universidade, protocolado sob o nº 359/2009 (Anexo A). Após concordar com a doação do órgão dental, o paciente assinou o termo de doação, no qual declarava estar ciente de que seu dente seria utilizado nesta pesquisa (Anexo B).

Os dentes coletados foram armazenados em uma solução de cloramina T a 0,5% por 1 semana para prevenir a proliferação bacteriana e estocados em água destilada para serem utilizados dentro de 6 meses após a extração. Todos foram seccionados perpendicularmente ao longo eixo do dente, 3,5 mm abaixo da junção cimento-esmalte, com um disco diamantado (Diamond Wafering Blades, Buehler Ltd, Lake Bluff, IL, EUA) montado em uma máquina de corte de precisão (Isomet 1000, Buehler Ltd) sob refrigeração com água. O tecido pulpar foi cuidadosamente removido da câmara pulpar sem alterar a superfície dentinária. Posteriormente, o esmalte oclusal foi removido com um corte perpendicular ao longo eixo do dente, 2,5 mm acima da junção cimento-esmalte, para expor dentina coronária média, com uma espessura dentinária de, no mínimo, 1,0 mm do corno pulpar mais próximo da superfície preparada.

4.2 DISTRIBUIÇÃO DOS GRUPOS

Os segmentos coronários foram divididos aleatoriamente em 8 grupos, de acordo com a técnica adesiva – dentina saturada com etanol ou dentina saturada com água – e com os sistemas adesivos Adper Single Bond Plus (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA), Adper Scotchbond Multi-Purpose (3M ESPE), One-Step Plus (Bisco Inc, Schaumburg, IL, EUA), e All-Bond 2 (Bisco Inc).

Antes dos procedimentos adesivos, os dentes foram montados num dispositivo de pressão pulpar simulada. Inicialmente, um disco de resina composta com 10 mm de diâmetro por 1,0 mm de altura com uma perfuração interna foi fixado na parte inferior dos dentes com uma cola à base de cianoacrilato (Zapit, Dental Ventures of North America, Corona, CA, EUA) para limitar a abertura da câmara pulpar. Em seguida, um tubo de silicone com 18 gauge de luz na perfuração foi acoplado ao

disco de resina (Figura 1). A outra extremidade do tubo ficou presa numa haste metálica a 20 cm de altura da base do dispositivo (Figura 2), que simula a pressão pulpar (SADEK et al., 2007).



Figura 1 – Amostra fixa ao disco de resina composta com tubo de silicone no interior do disco.



Figura 2 – Dispositivo para simular a pressão pulpar com as amostras em posição.

Em seguida, uma seringa com água destilada foi acoplada na extremidade do tubo preso na haste metálica para preencher completamente o tubo de silicone e a câmara pulpar. Após o completo preenchimento da câmara pulpar com água, a interface tubo-disco foi seca e foram aplicadas duas camadas de cola à base de cianocrilato (Zapit, Dental Ventures of North America) para uma completa vedação, evitando o vazamento de água. Posteriormente, as secções dentais foram lixadas, sob refrigeração, com lixa de carbureto de silício número 600 por 60 s, para produzir uma lama dentinária padronizada (PASHLEY et al., 1988). Os dentes foram, então, posicionados na base do dispositivo próximo à haste metálica.

4.3 PROTOCOLO RESTAURADOR

Todos dos dentes foram condicionados com ácido fosfórico a 35% (Adper Scotchbond Etchant, 3M ESPE) por 15 s (Figura 3) e, em seguida, lavados por 15 s. O excesso de água foi removido com o auxílio de papel absorvente – técnica da dentina saturada com água -

(Figura 4). Para os grupos restaurados pela técnica da dentina saturada com etanol foram aplicados 2,0 ml de etanol a 100% (Sigma-Aldrich Co. LLC) lentamente durante 30 s - técnica da dentina saturada com etanol - (Figura 5). O excesso de etanol foi removido com o auxílio de papel absorvente. Em seguida, os sistemas adesivos foram aplicados de acordo com as recomendações dos fabricantes, conforme descrito no Quadro 1.



Figura 3 – Condicionamento da dentina com ácido fosfórico por 15 s.



Figura 4 – Remoção do excesso de água com papel absorvente.

A fotoativação do sistema adesivo com o aparelho fotopolimerizador de luz halógena (Elipar 2500, 3M ESPE) com intensidade de 600 mW/cm^2 (Figura 6) a uma distância de 2,0 mm. Em seguida, uma restauração de resina composta (Filtek Z250, 3M ESPE) foi confeccionada em cinco incrementos de aproximadamente 1,0 mm de espessura, os quais foram fotoativados individualmente por 20 s.

Após a execução da restauração, os dentes foram removidos do dispositivo de pressão pulpar simulada e acondicionados em 100% e umidade por 24 h a uma temperatura de $37 \text{ }^\circ\text{C}$. Quarenta dentes foram aleatoriamente selecionados para o envelhecimento artificial, o qual se consistiu em fadiga térmica de 20.000 ciclos de termociclagem (Haake, Sigma-Aldrich Co. LLC) com alternância de 30 s de banho a uma temperatura de $5 \text{ }^\circ\text{C}$ e 30 s de banho a $55 \text{ }^\circ\text{C}$, com tempo de transferência de 10 s entre eles (Figura 7), seguidos por fadiga mecânica de 600.000 ciclos (SD Mechatronik GmbH, System Willytec, Feldkirchen-Westerham, Alemanha) com 40 N de carga vertical (Figura 8).

Produto	Composição química	Modo de aplicação	Lote e validade
Adper Scotchbond Etchant (3M ESPE)	35% H ₃ PO ₄	- Condicionar a dentina por 15 s - Lavar por 15 s com jato de ar e água - Remover o excesso de água da dentina	9NA 2011/12
Adper Single Bond Plus (3M ESPE)	Dimetacrilatos, HEMA, copolímero de ácido polialquenoico, sílica coloidal tratada com silano, álcool, água, fotoiniciadores	- Aplicar 2 camadas, agitando por 15 s - Aplicar jato de ar por 5 s a 10 cm de distância - Fotoativar por 10 s	8UK 2011/11
Adper Scotchbond Multi-Purpose (3M ESPE)	<i>Primer</i> : HEMA, copolímero de ácido polialquenoico, água	- Aplicar 1 camada de <i>primer</i> - Aplicar jato de ar por 5 s a 10 cm de distância - Aplicar 1 camada de adesivo - Aplicar jato de ar por 5 s a 10 cm de distância - Fotoativar por 10 s	<i>Primer</i> : 9CA 2012/01
	Adesivo: Bis-GMA, HEMA, aminas terciárias, fotoiniciadores		Adesivo: 9RK 2011/12
One-Step Plus (Bisco Inc)	BPDM, Bis-GMA, HEMA, acetona, fotoiniciadores, partículas vítreas de fluorossilicato	- Aplicar 2 camadas, agitando por 15 s - Aplicar jato de ar por 5 s a 10 cm de distância - Fotoativar por 10 s	1000004239 2012/04
All-Bond 2 (Bisco Inc)	<i>Primer A</i> : NTG-GMA, acetona, álcool, água	- Dispensar e misturar igual quantidade de <i>primer A</i> e <i>primer B</i> - Aplicar 5 camadas da mistura dos <i>primers</i> Aplicar jato de ar por 5 s a 10 cm de distância - Aplicar 1 camada da resina D/E - Aplicar jato de ar por 5 s a 10 cm de distância - Fotoativar por 20 s	<i>Primer A</i> : 1000003169 2012/01
	<i>Primer B</i> : BPDM, fotoiniciadores, acetona		<i>Primer B</i> : 100000317 0 2011/12
	Resina D/E: Bis-GMA, UDMA, HEMA		Resina D/E: 1000002247 2012/01
Filtek Z250 (3M ESPE)	Cerâmica tratada com silano, BISEMA6, UDMA, BISGMA, TEGDMA	- Utilizar incrementos de, no máximo, 2 mm para construir a restauração - Fotoativar cada incremento por 20 s	N153352 2013/03

Quadro 1 – Marca comercial, composição química, modo de aplicação, número do lote e validade dos sistemas adesivos utilizados neste estudo.



Figura 5 – Aplicação do etanol a 100% por 30 s.



Figura 6 – Fotoativação do sistema adesivo.



Figura 7 – Máquina termocicladora.

4.4 PREPARO DOS ESPÉCIMES PARA O TESTE DE MICROTRAÇÃO

Vinte quatro horas após a confecção da restauração ou após os processos de envelhecimento artificial, os dentes foram fixados num dispositivo de corte com cola à base de cianocrilato (Zapit, Dental Ventures of North America) (Figura 9) e seccionados longitudinalmente nos eixos “x” e “y” através das interfaces adesivas (Figuras 10, 11 e 12) com um disco diamantado em baixa rotação (Diamond Wafering Blades,

Buehler LTD) numa máquina de corte (Isomet 1000, Buehler Ltd) sob irrigação constante com água, criando espécimes de $0,6 \pm 0,2 \text{ mm}^2$. Os filetes da região central dos dentes foram selecionados para o teste de microtração.



Figura 8 – Equipamento para mastigação simulada.



Figura 9 – Amostra fixada no dispositivo de corte com cola à base de cianocrilato.



Figura 10 – Primeira secção longitudinal da amostra.

Entre 60 e 80 filetes por grupo foram fixados a dispositivos de microtração (PERDIGÃO et al., 2002) com adesivo à base de cianoacrilato (Zapit, Dental Ventures of North America) e submetidos à tração em uma máquina de teste universal (Instron 1000, Instron Corp.,

Canton, MA, EUA) com uma célula de carga de 100 N a uma velocidade de 1,0 mm/min (Figuras 13 e 14). A resistência de união à microtração (μ TBS) em Megapascals (MPa) foi obtida pela divisão da força imposta no momento da fratura (em N) pela área de adesão (em mm^2). As falhas prematuras ocorridas durante o preparo dos espécimes foram registradas como 0 MPa e incluídas no cálculo da média final.



Figura 11 – Aspecto após a segunda secção da amostra para a confecção dos espécimes.



Figura 12 – Corte final para a obtenção dos filetes (espécimes).



Figura 13 – Espécime fixado ao dispositivo de microtração com cola à base de cianocrilato.



Figura 14 – Dispositivo posicionado na máquina de teste universal.

4.5 ANÁLISE DOS MODOS DE FRATURA

Os modos de fratura foram avaliados num estereoscópio com 32 vezes de aumento e classificados de acordo com o tipo de fratura em: coesiva (fratura inteiramente na dentina ou na resina composta); mista (falha na interface dentina-resina, incluindo a fratura coesiva de um dos substratos); e adesiva (falha na interface dentina-resina).

4.6 ANÁLISE DA INTERFACE ADESIVA EM MICROSCOPIA CONFOCAL DE VARREDURA LASER

Para analisar a interface adesiva, as amostras foram marcadas com dois corantes em quantidade suficiente para permitir a liberação de sinais fluorescentes e foram examinadas com o uso de um microscópio confocal de varredura laser de fótons múltiplos com apropriada excitação e filtros para passagem da luz (WATSON, 1989).

Inicialmente, um ou dois grãos de isotiocianato de tetrametil rodamina B (Sigma-Aldrich Co. LLC) (emissão: 586 nm / absorção: 529 nm – absorve a luz verde e reflete a vermelha) foram dissolvidos em três gotas de cada componente do sistema adesivo (Figura 15), misturando-se até a obtenção de uma solução homogênea (GRIFFITHS; WATSON; SHERRIFF, 1999) para restaurar os dentes conforme descrito anteriormente (Figura 16).



Figura 15 – Dissolução do corante isotiocianato de tetrametil rodamina B no sistema adesivo.

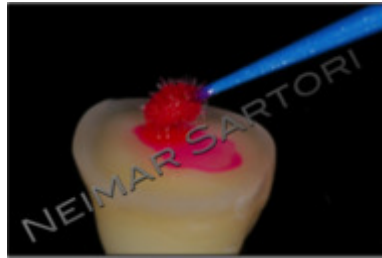


Figura 16 – Aplicação do sistema adesivo com o corante na amostra.

Após cada um dos períodos de armazenamento (24 h ou envelhecimento artificial), as câmaras pulpares foram preenchidas com solução aquosa de fluoresceína de sódio (Sigma-Aldrich Co. LLC) a uma concentração de 0,1% (emissão: 514 nm / absorção: 490 nm – absorve a luz azul e reflete a verde) com o auxílio de uma pipeta, mantidos 4 h, para permitir que a solução atingisse a interface adesiva (GRIFFITHS *et al.*, 1999; D'ALPINO *et al.*, 2006). Os dentes foram mantidos parcialmente imersos em água para evitar a desidratação. Após esse período, a solução foi removida do interior das câmaras pulpares, e fatias de 1,0 mm de espessura foram obtidas do centro de cada dente com o uso de um disco diamantado sob refrigeração. Em seguida as

fatias foram polidas com o uso de lixas sequenciais de carbureto de silício nas granulações 600, 800 e 1200 (Figura 17).

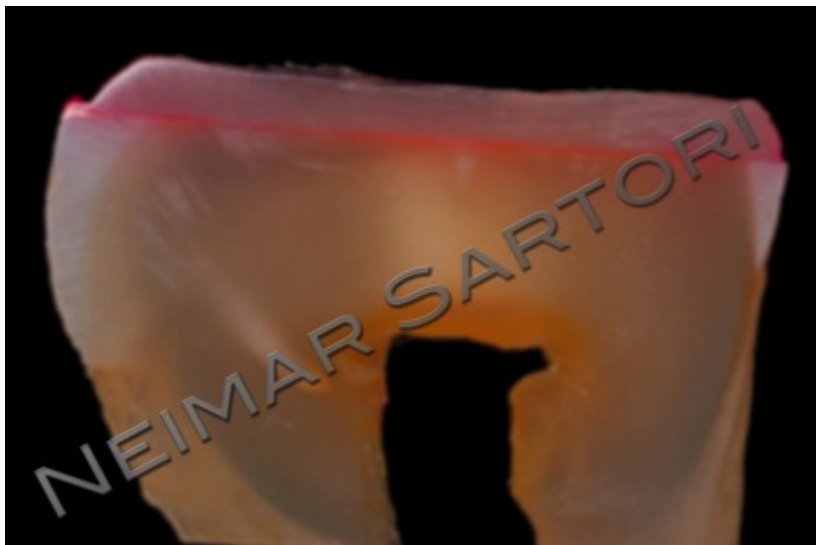


Figura 17 – Aspecto da amostra preparada para o CLSM após o polimento.

Amostras de todos os grupos foram posicionadas no microscópio confocal de varredura laser (Figura 18) (FV1000 Fluoview, Olympus, Shinjuku-ku, Tóquio, Japão) com a superfície polida voltada para cima. Imagens de fluorescência foram geradas com o uso dos lasers de hélio-neônio verde (emissão de 543 nm) e de argônio multilinhas (emissão de 457, 488, 514 nm). A luz fluorescente foi conduzida através de filtros de 560-660 nm e de 505-525 nm no sistema de detecção de luz fluorescente, para evitar a sobreposição das curvas de emissão (Figura 19). Imagens de fluorescência foram obtidas abaixo da superfície com magnificação de 100 vezes, criando uma série de imagens de fluorescência. Os corantes fluorescentes presentes na interface dente-restauração foram registrados e processados usando o software Fiji ImageJA 1.44h, de domínio público.



Figura 18 – Microscópio confocal de varredura laser.

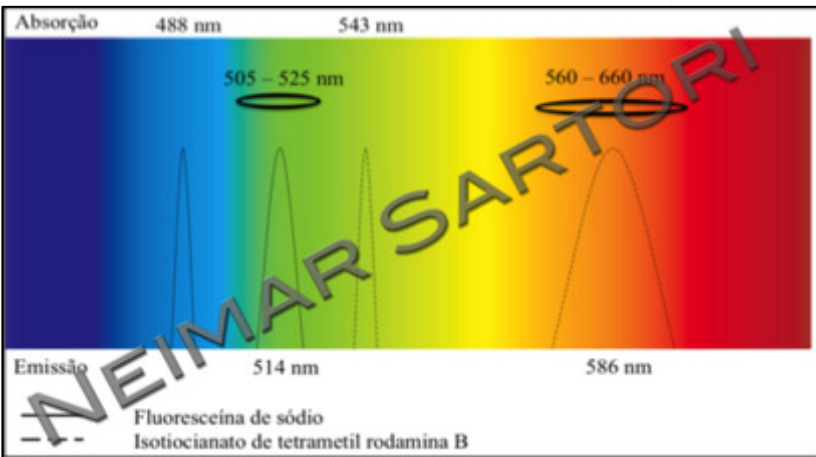


Figura 19 – Curvas de absorção e emissão de luz dos dois corantes utilizados e seus respectivos filtros.

4.7 ANÁLISE DA NANOINFILTRAÇÃO NO MICROSCÓPIO ELETRÔNICO DE TRANSMISSÃO

Um dente adicional por grupo foi restaurado conforme descrito anteriormente para avaliar a nanoinfiltração na interface adesiva. Após

os dois períodos de estocagem, removeu-se uma fatia com 1,0 mm de espessura do centro do dente. Inicialmente, as fatias dentais foram cobertas com duas camadas de esmalte de unha, exceto 1,0 mm acima e abaixo da interface adesiva. Depois da secagem do esmalte de unha (Figura 20), as amostras foram colocadas em água destilada por 20 min para serem reidratadas (AGEE et al., 2003).

As amostras foram então armazenadas numa solução aquosa com 50% do peso de nitrato de prata amoniacal, num ambiente totalmente escuro, por 24 h. Depois disso, as fatias foram lavadas com água destilada e, então, imersas em solução reveladora por 8 h sob luz fluorescente (TAY et al., 2003a) (Figura 21).



Figura 20 – Amostra coberta com esmalte de unha 1 mm acima e abaixo da interface adesiva.

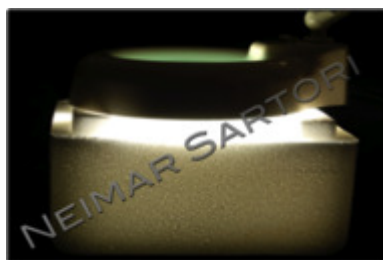


Figura 21 – Amostras imersas em solução reveladora sob luz fluorescente.

Após a revelação, as amostras foram lavadas em água corrente por 1 min, o esmalte de unha foi removido, e as amostras foram fixadas com formaldeído/glutaraldeído a 2,5% em 0,1 M de cacodilato de sódio por 12 h, a uma temperatura de 4 °C. As amostras foram, então, lavadas por três vezes numa solução com 20 ml de 0,2 M de cacodilato de sódio por 20 min, 1 min em água destilada, e desidratadas em concentrações ascendentes de álcool: 25%, 50% e 75% por 20 minutos cada, 95% por 30 min e 100% por 1 h (DUARTE et al., 2009).

As fatias foram imersas em óxido de propileno e resina epóxica por 24 horas, e finalmente embebidas em resina epóxica (Buhler, Ltd). A interface adesiva das amostras foram seccionadas com o auxílio de um micrótomo a uma espessura de, aproximadamente, 90 nm (TAY; PASHLEY; YOSHIYAMA, 2002). Em seguida, a nanoinfiltração do nitrato de prata dentro da camada híbrida e adesiva foi analisada por meio de um microscópio eletrônico de transmissão (H-8100, Hitachi Co., Tóquio, Japão) com uma voltagem de aceleração de 100 kV.

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística descritiva dos grupos foi realizada considerando-se os resultados do teste de resistência de união adesiva ao teste de microtração. Inicialmente, os dados foram submetidos ao teste de Kolmogorov-Smirnov, para verificar se a distribuição dos dados ocorria de forma normal. Verificado que não havia normalidade na distribuição dos dados ($p < 0,001$), as possíveis diferenças estatísticas entre os grupos estudados foram analisadas pelos testes de Kruskal-Wallis e de Mann-Whitney. O detalhamento do teste de Kruskal-Wallis foi realizado por meio da comparação dos grupos dois a dois pelo teste de Mann-Whitney. Em todos os testes foi adotado o nível de 5% de significância ($\alpha = 0,05$).

5 Resultados

5 RESULTADOS

Para facilitar a interpretação dos dados encontrados neste trabalho, os resultados foram apresentados em três seções distintas: teste de resistência de união adesiva; microscopia confocal de varredura laser; e microscopia eletrônica de transmissão.

5.1 TESTE DE RESISTÊNCIA DE UNIÃO ADESIVA

5.1.1 Análise descritiva dos dados

O presente estudo é constituído por 1.150 valores de resistência adesiva ao teste de microtração, em MPa, divididos em 16 grupos. Oito grupos foram avaliados 24 h após a confecção das restaurações de resina composta, e os outros 8 foram testados após 20.000 ciclos de termociclagem e 600.000 ciclos de mastigação com 40 N de carga.

A Tabela 1 apresenta a estatística descritiva dos dados de resistência de união ao teste de microtração de todos os grupos testados nesta investigação científica.

Tabela 1 – Estatísticas descritivas da quantidade de amostras avaliadas (n), medianas, médias, desvios padrão (DP), coeficientes de variação (CV), valores mínimos (Mín) e máximos (Máx) e erros padrão (EP).

Grupo	n	Mediana	Média	DP	CV	Mín	Máx	EP
SB	80	32,5	33,7	32,9	97,7	0,0	83,9	3,7
SB(E)	60	0,0	11,9	21,3	179,0	0,0	73,0	2,8
SBA	84	39,5	38,4	25,8	67,2	0,0	89,8	2,8
SBA(E)	70	36,6	35,6	29,4	82,6	0,0	91,0	3,5
MP	73	18,5	19,2	20,4	106,1	0,0	71,7	2,4
MP(E)	78	0,0	19,0	29,2	153,5	0,0	92,6	3,3
MPA	83	35,5	35,6	26,1	73,2	0,0	83,6	2,9
MPA(E)	77	26,2	30,8	30,3	98,4	0,0	96,8	3,5
OS	65	17,9	21,1	22,9	108,1	0,0	77,8	2,8
OS (E)	60	0,0	2,5	9,1	368,3	0,0	46,3	1,2
OSA	66	0,0	9,7	18,3	189,4	0,0	86,4	2,3
OSA(E)	68	0,0	11,2	20,6	183,5	0,0	66,8	2,5
AB	79	8,9	27,4	30,5	111,2	0,0	74,6	3,4
AB(E)	70	0,0	22,0	33,4	151,6	0,0	107,8	4,0
ABA	74	19,5	22,4	23,8	105,8	0,0	76,2	2,8
ABA(E)	64	0,0	20,8	29,9	144,2	0,0	94,6	3,7

SB - Adper Single Bond Plus; MP - Adper Scotchbond Multi-Purpose; OS - One-Step Plus; AB - All-Bond 2; A - Técnica da dentina saturada com etanol; (E) - Envelhecido artificialmente.

5.1.2 Análise dos sistemas adesivos avaliados

A Tabela 2 apresenta a comparação entre os quatro sistemas adesivos avaliados neste estudo, independentemente da técnica adesiva utilizada ou do envelhecimento. O teste de Kruskal-Wallis mostrou que há diferenças estatisticamente significantes entre os grupos ($p < 0,001$). O detalhamento da análise pelo teste de Mann-Whitney também é apresentado na Tabela 2.

Tabela 2 – Tamanho da amostra (n), medianas, médias com os respectivos resultados estatísticos, desvios padrão (DP), coeficientes de variação (CV), valores mínimo (Mín) e máximo (Máx) e o erros padrão (EP) dos dados obtidos no teste de resistência de união para os adesivos avaliados.

Adesivo	n	Mediana	Média	DP	CV	Mín	Máx	EP
SB	294	28,0	31,1 ^a	29,6	95,2	0,0	91,0	1,7
MP	311	20,9	26,4 ^a	27,7	104,8	0,0	96,8	1,6
OS	259	0,0	11,3 ^b	19,7	173,9	0,0	86,4	1,2
AB	289	0,0	23,0 ^c	29,1	126,4	0,0	94,6	1,7

Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si, pelo teste Mann-Whitney, ao nível de significância de 5%.

Observa-se que existe diferença estatística ($p < 0,001$) entre os sistemas adesivos utilizados, ou seja, os grupos que foram restaurados utilizando os adesivos à base de álcool e água (Adper Single-Bond Plus e Adper Scotchbond Multi-Purpose) apresentaram resistência de união superior aos grupos restaurados com os adesivos que utilizam acetona como solvente (One-Step Plus e All-Bond 2). Nota-se ainda que há diferença estatística entre os adesivos à base de acetona, pois os grupos restaurados com o adesivo One-Step Plus apresentaram menores valores de adesão ao teste de microtração. Esses resultados podem ser bem evidenciados na Figura 22.

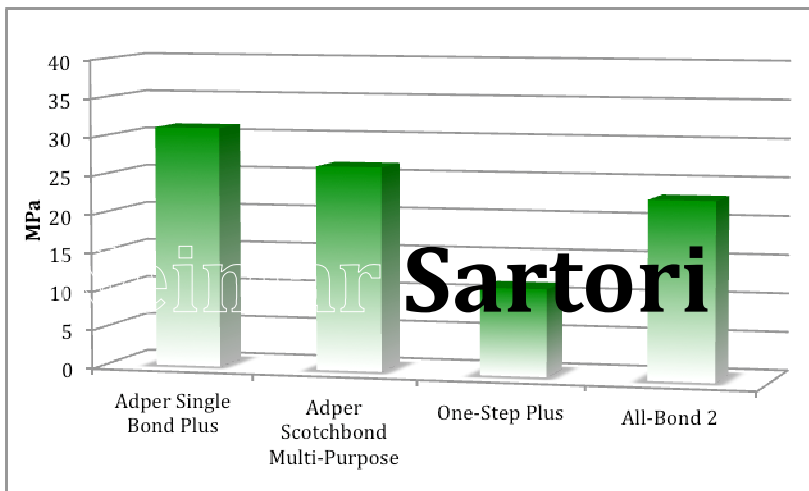


Figura 22 – Representação gráfica em barras verticais para as médias, em MPa, obtidas nos 4 adesivos avaliados nesta pesquisa laboratorial.

5.1.3 Análise das técnicas adesivas avaliadas

A Tabela 3 apresenta a comparação entre as duas técnicas adesivas avaliadas neste estudo, independentemente do adesivo utilizado ou do envelhecimento. O teste de Mann-Whitney mostrou que não há diferenças significantes entre os grupos ($p=0,061$).

Tabela 3 – Tamanho da amostra (n), medianas, médias com os respectivos resultados estatísticos, desvios padrão (DP), coeficientes de variação (CV), valores mínimo (Mín) e máximo (Máx) e o erros padrão (EP) dos dados obtidos no teste de resistência de união para as técnicas adesivas (dentina saturada com água e etanol).

Técnica	n	Mediana	Média	DP	CV	Mín	Máx	EP
Água	564	0,0	20,2 ^a	27,6	136,6	0,0	92,6	1,2
Etanol	586	19,8	26,4 ^a	27,8	105,5	0,0	96,8	1,2

Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si, pelo teste Mann-Whitney, ao nível de significância de 5%.

Pelos dados apresentados na Tabela 3 conclui-se que não há diferença estatística entre as técnicas adesivas utilizadas quando analisadas independentemente do adesivo utilizado ou do

envelhecimento ($p=0,061$). Esses resultados podem ser mais bem evidenciados na Figura 23.

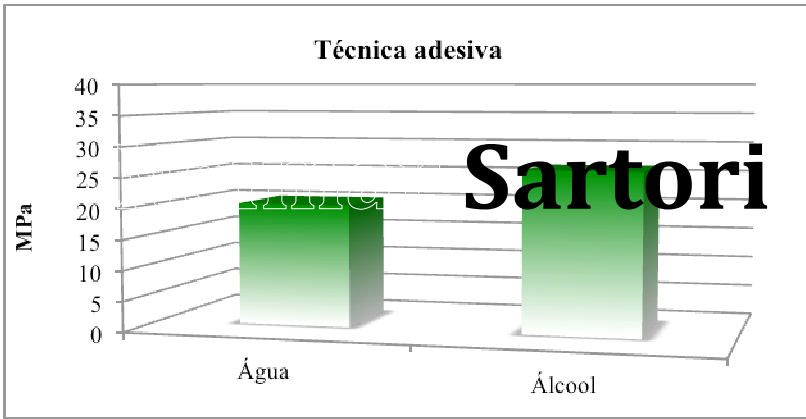


Figura 23 – Representação gráfica em barras verticais para as médias, em MPa, obtidas nas duas técnicas adesivas utilizadas neste estudo.

5.1.3.1 Análise das técnicas adesivas avaliadas para os adesivos que utilizaram álcool como solvente

A Tabela 4 apresenta a comparação entre as duas técnicas adesivas avaliadas neste estudo, independentemente do adesivo à base de álcool utilizado (Adper Single Bond Plus ou Adper Scotchbond Multi-Purpose) ou do envelhecimento. O teste de Mann-Whitney mostrou que há diferenças significantes entre as técnicas para os adesivos à base de álcool ($p<0,001$).

Tabela 4 – Tamanho da amostra (n), medianas, médias com os respectivos resultados estatísticos, desvios padrão (DP), coeficientes de variação (CV), valores mínimo (Mín) e máximo (Máx) e o erros padrão (EP) dos dados obtidos no teste de resistência de união para as técnicas adesivas (adesivos à base de álcool).

Técnica	n	Mediana	Média	DP	CV	Mín	Máx	EP
Água	291	20,1	21,6 ^a	27,9	129,1	0,0	92,6	1,6
Etanol	314	34,0	35,2 ^b	27,9	79,2	0,0	96,8	1,6

Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si, pelo teste Mann-Whitney, ao nível de significância de 5%.

Observa-se que, apesar de não haver diferença estatística na comparação geral das técnicas ($p=0,061$), quando se considera o solvente dos adesivos como uma variável nominal, existe diferença estatisticamente significativa entre as técnicas ($p=0,001$). Nota-se que os grupos restaurados com os adesivos Adper Single Bond Plus e Adper Scotchbond Multi-Purpose pela técnica da dentina saturada com etanol apresentaram maiores valores de resistência de união do que os grupos restaurados pela técnica da dentina saturada com água com os mesmos adesivos citados acima. Esses resultados estão bem evidenciados na Figura 24.

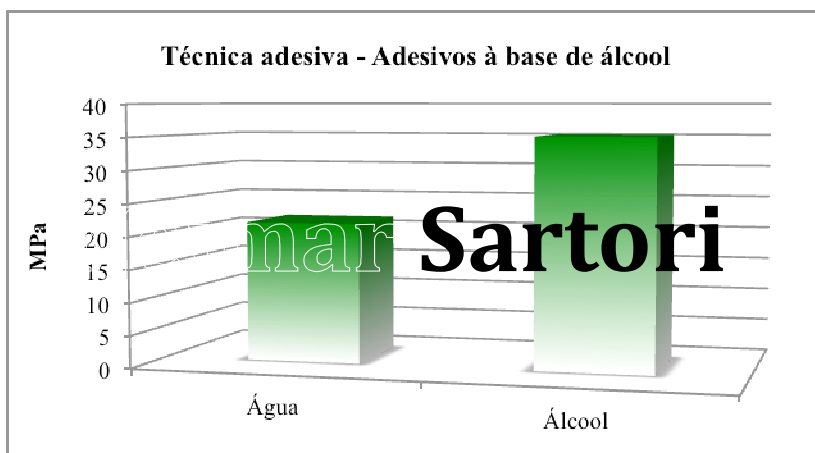


Figura 24 – Representação gráfica em barras verticais para as médias, em MPa, obtidas das duas técnicas adesivas utilizadas para os adesivos que utilizam álcool como solvente.

5.1.3.2 Análise das técnicas adesivas avaliadas para os adesivos que utilizaram acetona como solvente

A Tabela 5 apresenta a comparação entre as duas técnicas adesivas avaliadas neste estudo, independentemente do adesivo à base de acetona utilizado (One-Step Plus ou All-Bond 2) ou do envelhecimento. O teste de Mann-Whitney mostrou que não há diferença estatística entre as técnicas para os adesivos à base de acetona ($p=0,469$).

Tabela 5 – Tamanho da amostra (n), medianas, médias com os respectivos resultados estatísticos, desvios padrão (DP), coeficientes de variação (CV), valores mínimo (Mín) e máximo (Máx) e o erros padrão (EP) dos dados obtidos no teste de resistência de união para as técnicas adesivas (adesivos à base de acetona).

Técnica	n	Mediana	Média	DP	CV	Mín	Máx	EP
Água	273	0,0	18,8 ^a	27,3	145,5	0,0	92,5	1,7
Etanol	272	0,0	16,1 ^a	24,0	149,0	0,0	94,6	1,5

Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si, pelo teste Mann-Whitney, ao nível de significância de 5%.

Observa-se na Tabela 6 que não há diferença estatística na comparação entre as técnicas para os adesivos à base de acetona ($p=0,233$). Esses resultados estão bem evidenciados na Figura 25.

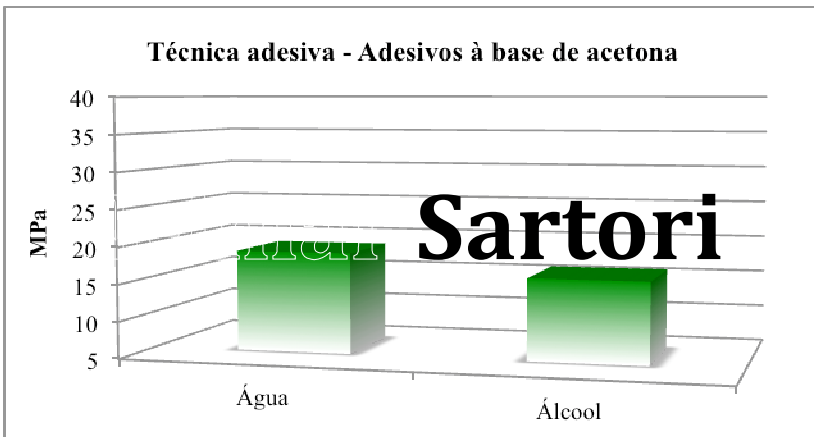


Figura 25 – Representação gráfica em barras verticais para as médias, em MPa, obtidas das duas técnicas adesivas utilizadas para os adesivos que utilizam acetona como solvente.

5.1.4 Análise do envelhecimento

A Tabela 6 apresenta os resultados da comparação entre os momentos 24 h e após envelhecimento, independentemente da técnica ou do adesivo utilizado. O teste de Mann-Whitney mostrou que há

diferença estatisticamente significativa entre os dois momentos ($p < 0,001$).

Tabela 6 – Tamanho da amostra (n), medianas, médias com os respectivos resultados estatísticos, desvios padrão (DP), coeficientes de variação (CV), valores mínimo (Mín) e máximo (Máx) e o erros padrão (EP) dos dados obtidos no teste de resistência de união para os momentos avaliados.

Momento	n	Mediana	Média	DP	CV	Mín	Máx	EP
24 horas	604	20,1	26,7 ^a	27,1	101,7	0,0	89,8	1,1
Envelhecido	546	0,0	19,7 ^b	28,3	143,7	0,0	96,8	1,2

Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si, pelo teste Mann-Whitney, ao nível de significância de 5%.

Observa-se na Tabela 6 que há diferença estatisticamente significativa na comparação entre os momentos avaliados ($p < 0,001$). Essa diferença ocorreu porque no grupo envelhecido houve redução da resistência adesiva. Além disso, houve muitas falhas prematuras nos grupos envelhecidos, fato que pode ser comprovado pelo valor da mediana desse grupo (0,00). Isso indica que mais de 50% dos valores desse grupo foram iguais a zero, ou seja, falhas prematuras. Esses resultados estão bem evidenciados na Figura 26.

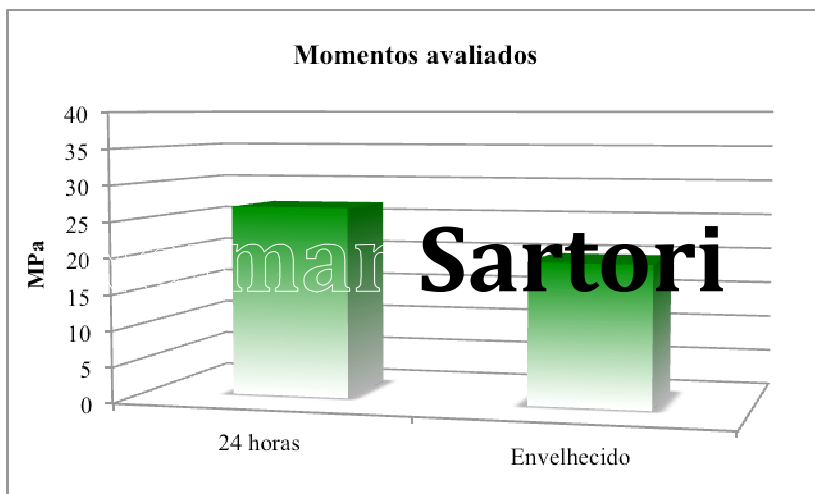


Figura 26 – Representação gráfica em barras verticais para as médias, em MPa, obtidas nos dois momentos avaliados (24 horas e envelhecido artificialmente).

5.1.5 Análise da interação entre as três variáveis nominais avaliadas

A Tabela 7 apresenta os resultados de todos os grupos avaliados e a análise estatística considerando a interação entre todas as variáveis avaliadas (sistema adesivo, técnica de adesão e envelhecimento). A análise entre os adesivos e entre os momentos para cada técnica foi realizada com o teste de Kruskal-Wallis, e o detalhamento, com o teste de Mann-Whitney.

Tabela 7 – Médias das combinações entre os adesivos, as técnicas adesivas e os momentos avaliados, em MPa, obtidas pela força de união e o detalhamento estatístico pelo teste de Mann-Whitney.

Adesivo	Saturada com água		Saturada com etanol		p-valor
	24 horas	Envelhecido	24 horas	Envelhecido	
SB	33,71 ±32,9 ^{aA}	11,92 ±21,3 ^{bA}	38,43 ±25,8 ^{aA}	35,63 ±29,4 ^{aA}	< 0,001
MP	19,20 ±20,37 ^{aBC}	19,00 ±29,2 ^{aA}	35,63 ±26,1 ^{bA}	30,80 ±30,32 ^{bA}	< 0,001
OS	21,14 ±22,9 ^{aC}	2,46 ±9,06 ^{bB}	9,65 ±18,28 ^{cB}	11,24 ±20,63 ^{cB}	< 0,001
AB	27,44 ±30,50 ^{aAB}	22,00 ±33,35 ^{aA}	22,44 ±23,8 ^{aC}	20,75 ±29,9 ^{aB}	0,181
p-valor	0,007	0,001	<0,001	<0,001	

Médias seguidas por letras minúsculas iguais nas linhas (para cada adesivo) não diferem entre si, pelo teste Mann-Whitney, ao nível de significância de 5%.

Médias seguidas por letras maiúsculas iguais nas colunas (para cada momento) não diferem entre si, pelo teste Mann-Whitney, ao nível de significância de 5%.

Observa-se na Tabela 7 que, na comparação entre os momentos e as técnicas para cada adesivo (letras minúsculas), há diferença estatisticamente significativa para todos os adesivos, exceto para o adesivo All-Bond 2 ($p=0,118$). O grupo restaurado com o adesivo Adper Single Bond Plus pela técnica da dentina saturada com água e envelhecido apresentou menor resistência adesiva que os demais grupos restaurados com esse adesivo ($p<0,001$). O grupo restaurado com o adesivo Adper Scotchbond Multi-Purpose pela técnica da dentina saturada com etanol e testado 24 h após a confecção da restauração apresentou maior resistência adesiva que os dois grupos restaurados pela técnica da dentina saturada com água com esse adesivo ($p<0,001$). O

grupo restaurado com o adesivo One-Step Plus pela técnica da dentina saturada com água e não envelhecido apresentou maior resistência adesiva que o restante dos grupos restaurados com esse adesivo ($p < 0,001$).

Nota-se ainda, na comparação entre os adesivos (letras maiúsculas), que sempre há diferença estatisticamente significativa entre eles. Nos grupos restaurados pela técnica da dentina saturada com água e envelhecidos há diferença estatisticamente significativa entre os adesivos: o grupo restaurado com o adesivo One-Step Plus apresentou menor resistência adesiva que os demais grupos. Quando os grupos foram restaurados pela técnica da dentina saturada com etanol, o adesivo One-Step apresentou menor resistência adesiva que os demais grupos na avaliação após 24 h. Após o envelhecimento, os grupos restaurados por essa técnica com os adesivos à base de acetona (One-Step Plus e All-Bond 2) apresentaram menor resistência adesiva que os grupos restaurados com adesivos que utilizaram álcool com solvente (Adper Single Bond Plus e Adper Scotchbond Multi-Purpose).

Os resultados da Tabela 7 são bem evidenciados na Figura 27.

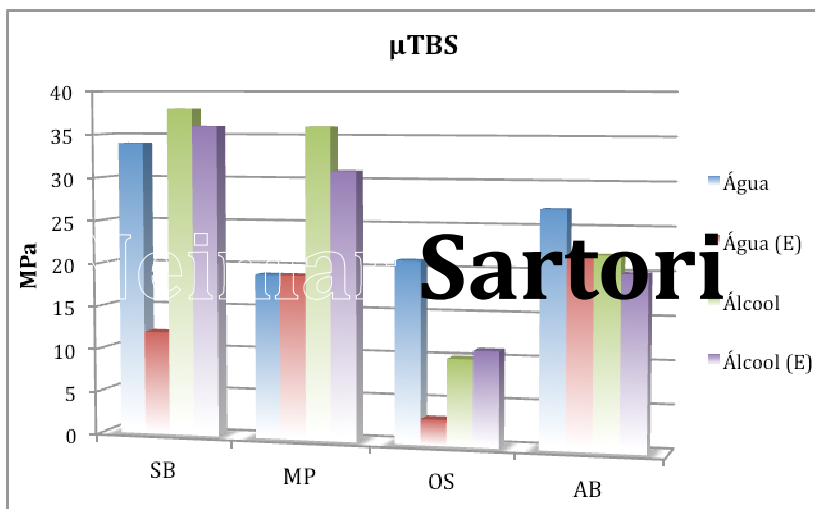


Figura 27 – Representação gráfica em barras verticais para as médias, em MPa, de todos os grupos avaliados neste estudo.

5.1.6 Análise do padrão de falha dos espécimes

Os dados dos padrões de fratura foram obtidos a partir da análise dos espécimes fraturados sob a luz de um estereoscópio com 32 vezes de aumento. A distribuição dos tipos de fratura dentro dos grupos avaliados é apresentada na Figura 28.

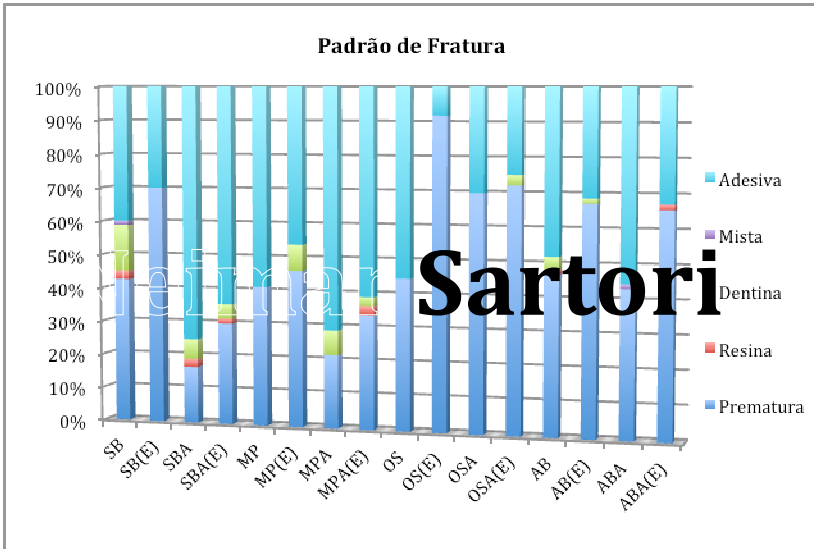


Figura 28 – Gráfico de colunas verticais ilustrando a diferença no percentual dos padrões de fratura dos grupos avaliados.

Observa-se na Figura 28 que todos os adesivos testados apresentaram falhas prematuras. Porém, os adesivos One-Step Plus e All-Bond 2 apresentaram maior percentual de falhas prematuras que os demais adesivos avaliados neste estudo.

5.2 MICROSCOPIA CONFOCAL DE VARREDURA LASER

Para facilitar a interpretação qualitativa da microscopia confocal de varredura laser foram selecionadas imagens representativas dos sistemas adesivos e das técnicas restauradoras avaliadas.

5.2.1 Adesivo Adper Single Bond Plus

As Figuras 29 e 30 são imagens representativas dos grupos restaurados com o adesivo Adper Single Bond Plus pelas técnicas da dentina saturada com água e com etanol.

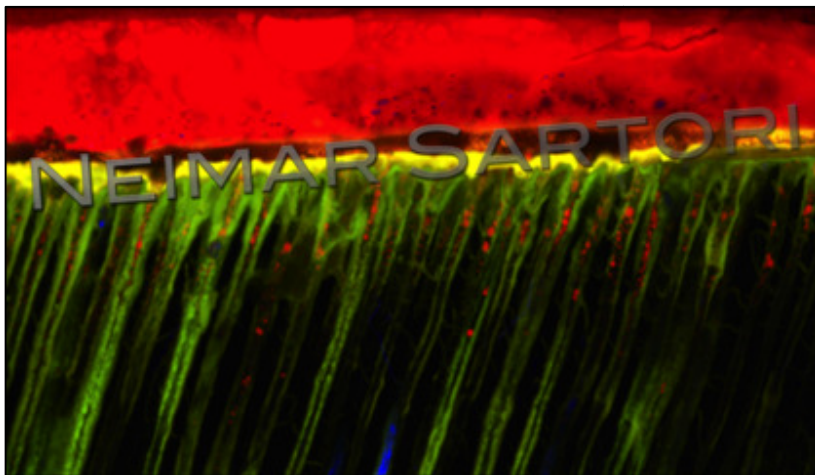


Figura 29 – Microscopia confocal de varredura laser do adesivo Adper Single Bond Plus utilizando-se a técnica da dentina saturada com água nas amostras envelhecidas.



Figura 30 – Microscopia confocal de varredura laser do adesivo Adper Single Bond Plus utilizando-se a técnica da dentina saturada com etanol nas amostras envelhecidas.

A Figura 29 mostra que o corante colocado no interior da câmara pulpar penetrou por toda a camada híbrida e no sistema adesivo. Isso ocorreu porque a presença de água proveniente da câmara pulpar preveniu a penetração do sistema adesivo na dentina desmineralizada e nos túbulos dentinários, bem como a polimerização do sistema adesivo. Nota-se ainda que houve limitada formação de prolongamentos de resina dentro dos túbulos dentinários. A presença de bolhas na superfície dentinária (manchas escuras) impedem o íntimo contato entre o sistema adesivo e a dentina desmineralizada.

Observa-se na Figura 30 que a utilização da técnica da dentina saturada com etanol não evitou a penetração da água proveniente da câmara pulpar para o interior da camada híbrida e do sistema adesivo, inibindo a polimerização do sistema adesivo. Como o etanol interage melhor com o sistema adesivo do que a água, há um contato mais íntimo entre o sistema adesivo e a dentina, bem como a formação de pequenos prolongamentos dentro dos túbulos dentinários.

5.2.2 Adesivo Adper Scotchbond Multi-Purpose

As Figuras 31 e 32 são imagens representativas dos grupos restaurados com o adesivo Adper Scotchbond Multi-Purpose pelas técnicas da dentina saturada com água e com etanol.

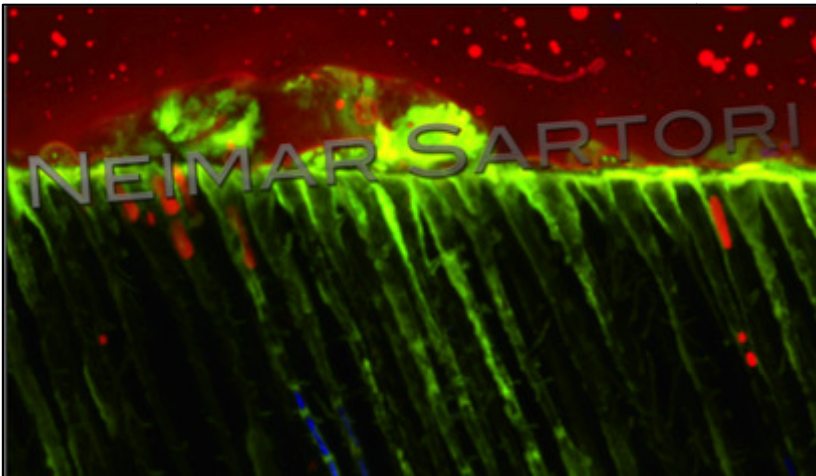


Figura 31 – Microscopia confocal de varredura laser do adesivo Adper Scotchbond Multi-Purpose utilizando-se a técnica da dentina saturada com água

nas amostras envelhecidas.

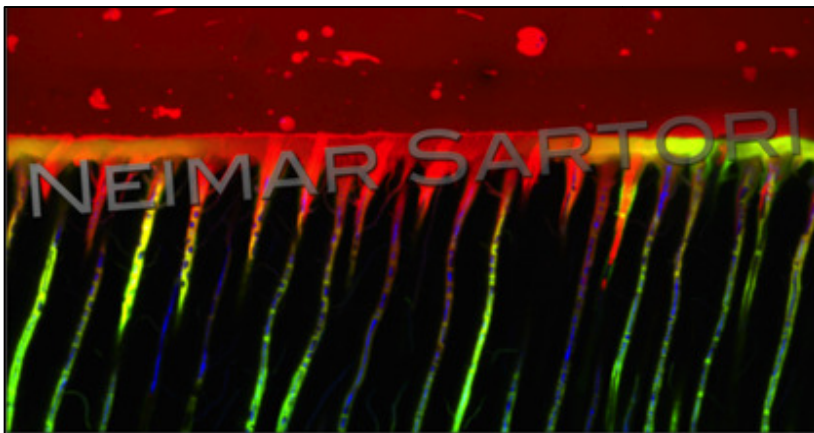


Figura 32 – Microscopia confocal de varredura laser do adesivo Adper Scotchbond Multi-Purpose utilizando-se a técnica da dentina saturada com etanol nas amostras não envelhecidas.

Observa-se na Figura 31 que houve a penetração do corante verde em toda a extensão da camada híbrida, ou seja, a presença da água proveniente da câmara pulpar impediu a adequada penetração do sistema adesivo na dentina desmineralizada, para formar a camada híbrida, bem como para o interior dos túbulos dentinários, para a formação de prolongamentos resinosos. Além disso, observa-se a formação de grandes bolhas de água na superfície da dentina.

Nota-se na Figura 32 que a utilização da técnica da dentina saturada com etanol possibilitou melhor interação entre o sistema adesivo Adper Scotchbond Multi-Purpose e a dentina, porém não evitou a infiltração do corante para dentro da camada híbrida.

5.2.3 Adesivo One-Step Plus

As Figuras 33 e 34 são imagens representativas dos grupos restaurados com o adesivo One-Step Plus pelas técnicas da dentina saturada com água e com etanol.

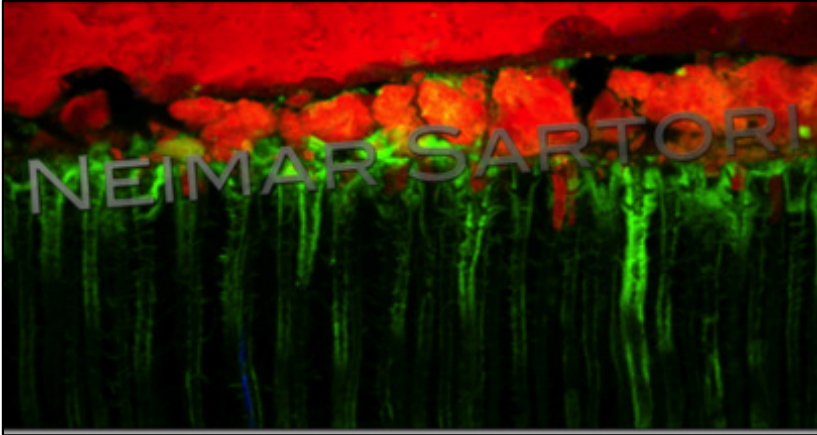


Figura 33 – Microscopia confocal de varredura laser do adesivo One-Step Plus utilizando-se a técnica da dentina saturada com água nas amostras envelhecidas.

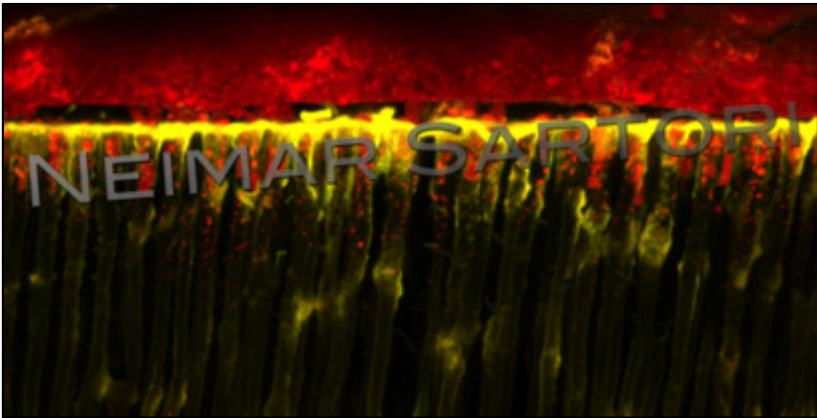


Figura 34 – Microscopia confocal de varredura laser do adesivo One-Step Plus utilizando-se a técnica da dentina saturada com etanol e não envelhecido.

Nota-se na Figura 33 que a camada híbrida e a base do adesivo One-Step Plus foram completamente danificadas pelo processo de envelhecimento artificial. Além disso, percebe-se que os prolongamentos de resina não vedaram os túbulos dentinários, o que permitiu a passagem de corante colocado no interior da câmara pulpar.

Já na Figura 34 observa-se que os prolongamentos resinosos estão incompletos e incapazes de vedar os túbulos dentinários, de forma a permitir a passagem do corante proveniente da câmara pulpar para o

interior da camada híbrida. Percebe-se ainda que a maioria dos prolongamentos resinosos se desprenderam da camada adesiva.

5.2.4 Adesivo All-Bond 2

As Figuras 35 e 36 são imagens representativas dos grupos restaurados com o adesivo All-Bond 2 pelas técnicas da dentina saturada com água e com etanol.

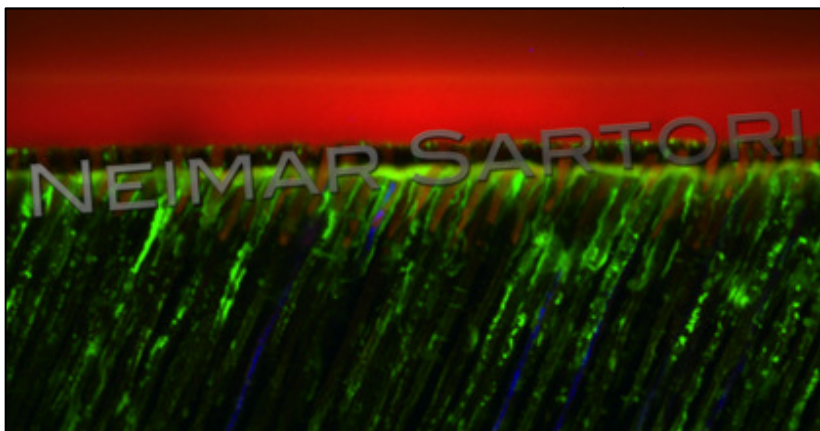


Figura 35 – Microscopia confocal de varredura laser do adesivo All-Bond 2 utilizando-se a técnica da dentina saturada com água nas amostras envelhecidas.

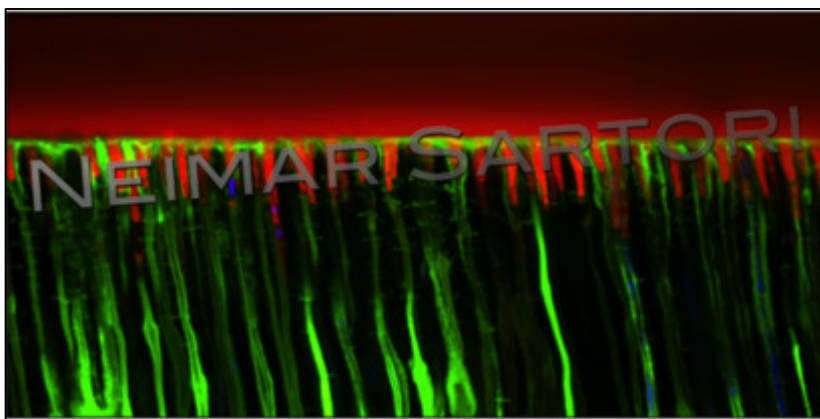


Figura 36 – Microscopia confocal de varredura laser do adesivo All-Bond 2 utilizando-se a técnica da dentina saturada com etanol nas amostras envelhecidas.

Observa-se na Figura 35 que a camada híbrida está infiltrada pelo corante colocado no interior da câmara pulpar. Um acúmulo de água pode ser observado na base da camada híbrida entre os túbulos dentinários. Porém, o que mais chama a atenção é a separação do sistema adesivo All-Bond 2 da dentina.

Nota-se na Figura 36 que, quando a técnica da dentina saturada com etanol foi utilizada, houve a formação dos prolongamentos de resina em algumas regiões da dentina. Contudo, esses prolongamentos não impediram a penetração da água proveniente da câmara pulpar para o interior da camada híbrida. Entretanto, diferentemente da figura anterior, a base da camada híbrida não está saturada com água.

5.3 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO

Selecionaram-se imagens representativas dos sistemas adesivos e das técnicas restauradoras utilizados nas amostras avaliadas em microscópio eletrônico de transmissão.

5.3.1 Adesivo Adper Single Bond Plus

As Figuras 37 e 38 são imagens representativas dos grupos restaurados com o adesivo Adper Single Bond Plus pelas técnicas da dentina saturada com água e com etanol.

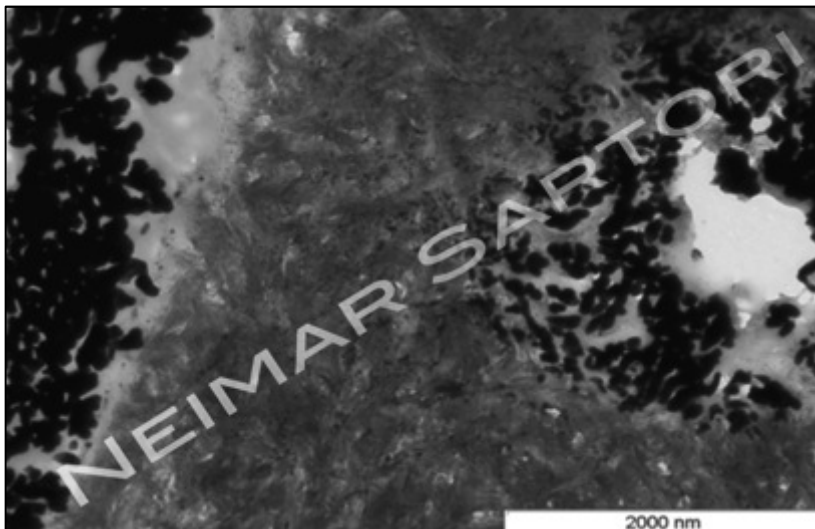


Figura 37 – Microscopia eletrônica de transmissão do adesivo Adper Single Bond Plus utilizando-se a técnica da dentina saturada com água e nas amostras não envelhecidas.

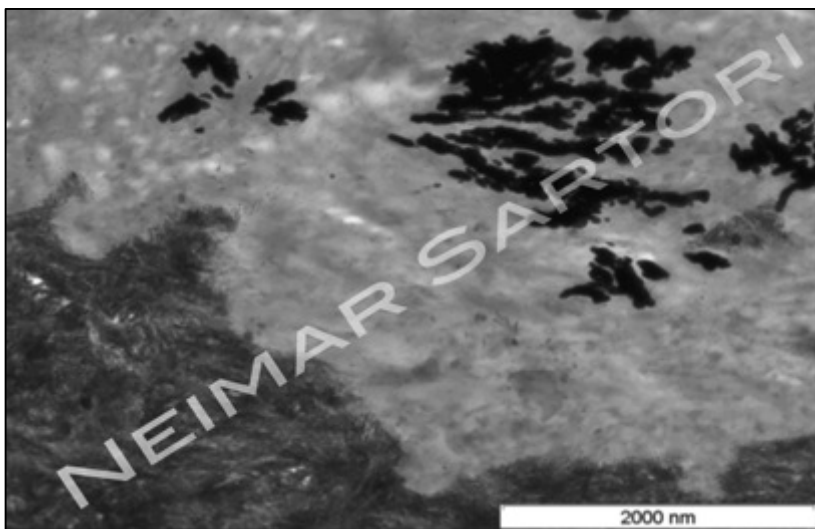


Figura 38 – Microscopia eletrônica de transmissão do adesivo Adper Single Bond Plus utilizando-se a técnica da dentina saturada com etanol nas amostras não envelhecidas.

As Figuras 37 e 38 mostram claramente a infiltração das partículas de prata no interior da camada híbrida e no interior do sistema

adesivo. Nota-se que, com o adesivo Adper Single Bond Plus, a quantidade de nitrato de prata é maior na amostra restaurada utilizando-se a técnica da dentina saturada com água (Figura 37) do que na restaurada pela técnica da dentina saturada com etanol (Figura 38). O acúmulo reticular de nitrato de prata amoniacal sugere que a água presente entre as fibras colágenas não foram completamente removidas, resultando em porosidade de dimensões nanométricas no interior da camada híbrida. A técnica da dentina saturada com álcool diminuiu, de uma certa forma, a quantidade de prata, entretanto não eliminou completamente porosidades no interior da camada híbrida.

5.3.2 Adesivo Adper Scotchbond Multi-Purpose

As Figuras 39 e 40 são imagens representativas dos grupos restaurados com o adesivo Adper Scotchbond Multi-Purpose pelas técnicas da dentina saturada com água e com etanol.

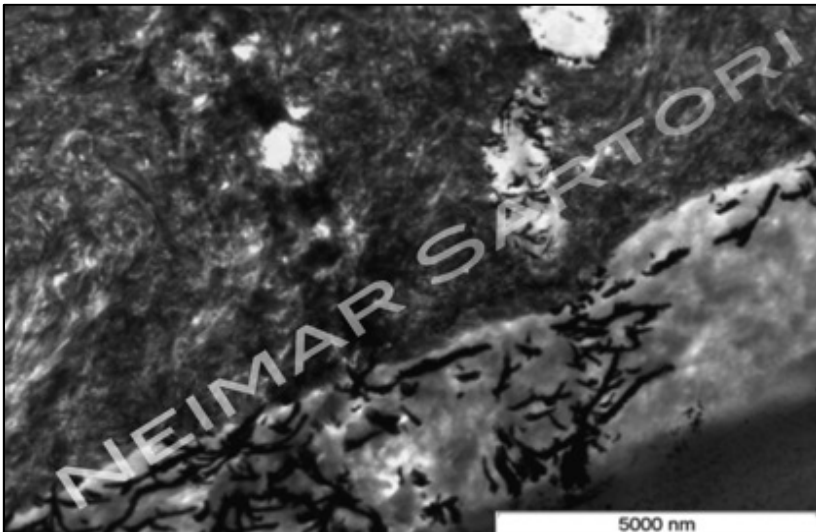


Figura 39 – Microscopia eletrônica de transmissão do adesivo Adper Scotchbond Multi-Purpose utilizando-se a técnica da dentina saturada com água nas amostras envelhecidas.

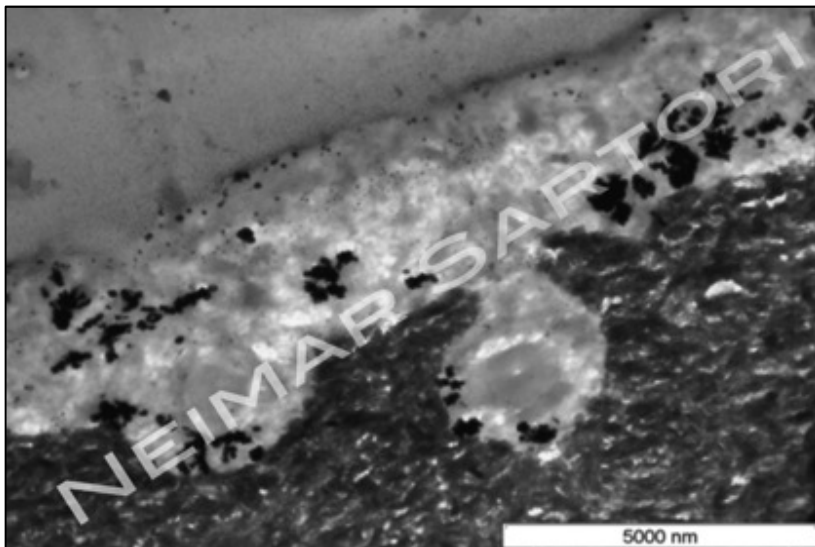


Figura 40 – Microscopia eletrônica de transmissão do adesivo Adper Scotchbond Multi-Purpose utilizando-se a técnica da dentina saturada com etanol nas amostras envelhecidas.

Observa-se na Figura 39 que as partículas de prata penetraram nos túbulos dentinários, na camada híbrida e por toda a extensão da camada adesiva. Nota-se ainda que a nanoinfiltração se estende por toda a camada híbrida. Na Figura 40 percebe-se que a infiltração foi menor do que a observada quando a técnica da dentina saturada com água foi utilizada. Contudo, a técnica da dentina saturada com etanol não evitou a formação das árvores de água no interior das camadas híbrida e adesiva, as quais foram preenchidas pelo nitrato de prata. Além disso, depósitos pontiformes de prata podem ser observados no topo da camada híbrida demonstrando falha na polimerização do sistema adesivo naquele nível.

5.3.3 Adesivo One-Step Plus

As Figuras 41 e 42 são imagens representativas dos grupos restaurados com o adesivo One-Step Plus pelas técnicas da dentina saturada com água e com etanol.

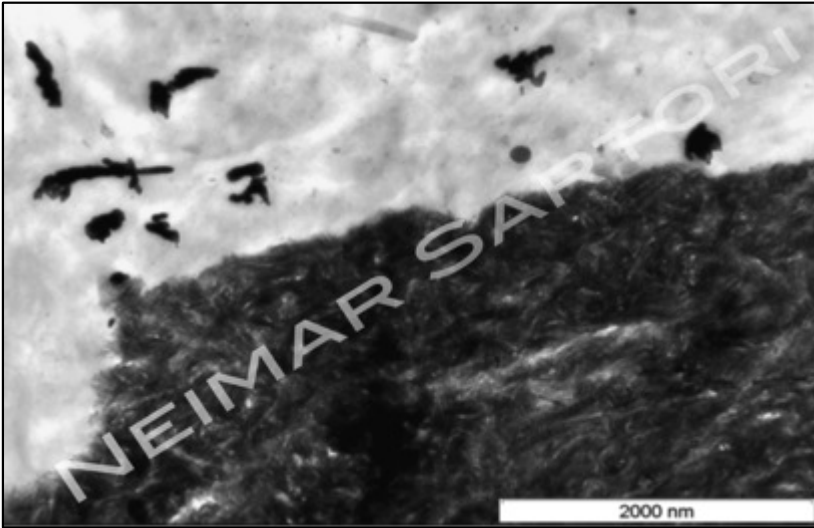


Figura 41 – Microscopia eletrônica de transmissão do adesivo One-Step Plus utilizando-se a técnica da dentina saturada com água nas amostras não envelhecidas.

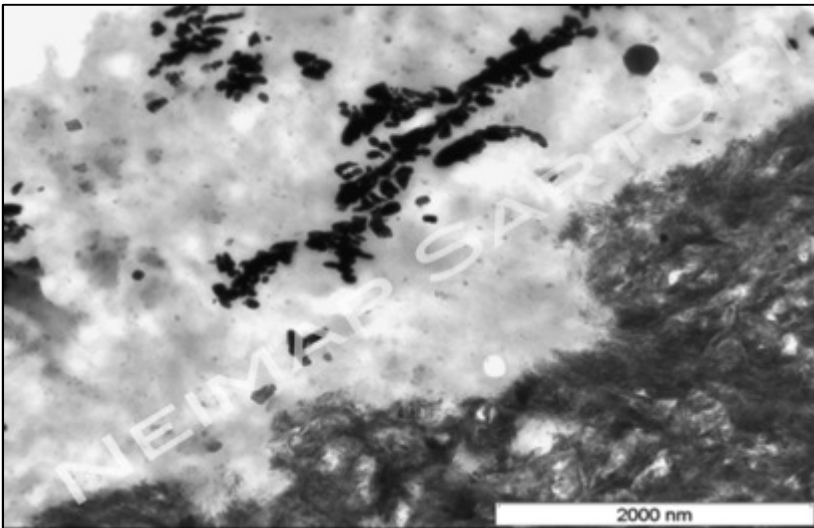


Figura 42 – Microscopia eletrônica de transmissão do adesivo One-Step Plus utilizando-se a técnica da dentina saturada com etanol nas amostras não envelhecidas.

Observa-se nas amostras do adesivo One-Step Plus (Figuras 41 e 42) que houve maior infiltração das partículas de prata em forma reticular nas amostras restauradas utilizando-se a técnica da dentina saturada com etanol.

5.3.4 Adesivo All-Bond 2

As Figuras 43 e 44 são imagens representativas dos grupos restaurados com o adesivo All-Bond 2 pelas técnicas da dentina saturada com água e com etanol.

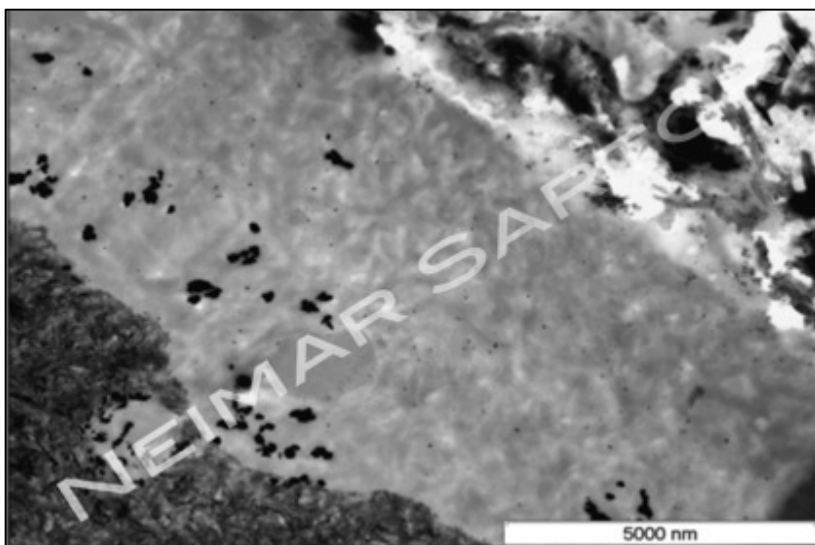


Figura 43 – Microscopia eletrônica de transmissão do adesivo All-Bond 2 utilizando-se a técnica da dentina saturada com água nas amostras envelhecidas.

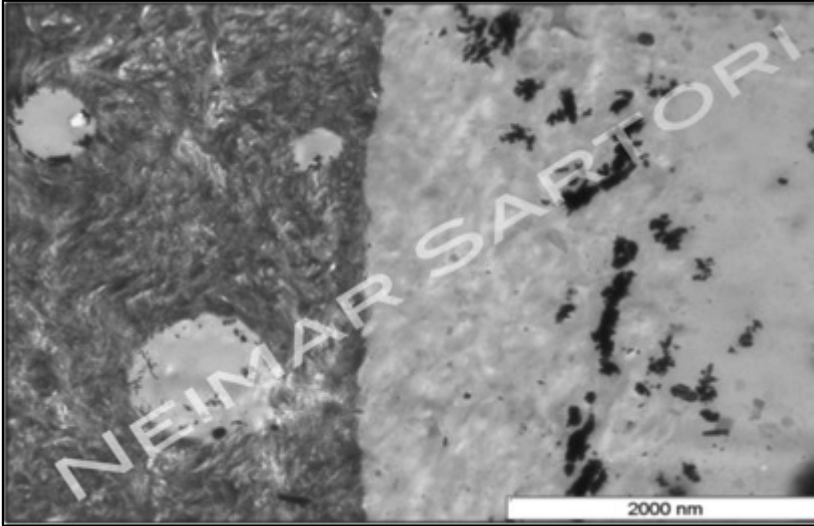


Figura 44 – Microscopia eletrônica de transmissão do adesivo All-Bond 2 utilizando-se a técnica da dentina saturada com etanol nas amostras envelhecidas.

Nota-se que a nanoinfiltração foi semelhante nas amostras restauradas com o adesivo All-Bond 2 pelas técnicas da dentina saturada com água e com etanol (Figuras 43 e 44). Nanoinfiltração foi observada para o sistema, entretanto não tão disperso no interior da camada híbrida como os outros sistemas estudados. Árvores de água foram também observadas direcionando-se do topo da camada híbrida em direção à camada adesiva.

6 Discussão

6 DISCUSSÃO

O sucesso das restaurações adesivas está diretamente relacionado à qualidade e à durabilidade da união à dentina. O desafio de produzir uma união efetiva e duradoura entre o dente e a resina iniciou-se há mais de 50 anos (BRUDEVOLD; BUONOCORE; WILEMAN, 1956) e continua até os dias de hoje. Atualmente, existem inúmeras formulações de sistemas adesivos disponíveis ao clínico, contudo a adesão à dentina continua sendo o elo mais fraco das restaurações adesivas. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar se a técnica da dentina saturada com etanol poderia melhorar a resistência de união adesiva, verificada com teste de microtração, e reduzir a nanoinfiltração, avaliada por meio da microscopia confocal de varredura laser e da microscopia eletrônica de transmissão.

O teste de microtração vem sendo muito utilizado para avaliar a resistência de união adesiva de restauração ao esmalte e à dentina, pois possibilita a obtenção de vários espécimes a partir de uma amostra, bem como para avaliar áreas específicas da amostra (dentina normal, esclerótica, superficial e profunda) (SANO et al., 1994a; PASHLEY; CARVALHO, 1997). Apesar de o teste de microtração gerar um maior número de falhas adesivas que os métodos convencionais (TANUMIHARJA; BURROW; TYAS, 2000), devido à redução da área de superfície aderida (de $0,25 \text{ mm}^2$ a $1,0 \text{ mm}^2$), as falhas coesivas ocorrem quando há uma concentração de tensões localizada no substrato dental ou na resina composta (SANO et al., 1994a; SANO et al., 1994b). Além disso, a redução no tamanho dos espécimes apresenta uma relação inversa com o aumento resistência de união adesiva (SANO et al., 1994a; PHRUKKANON; BURROW; TYAS, 1998), independentemente do formato da área de secção transversa dos espécimes (PHRUKKANON; BURROW; TYAS, 1998). Em outras palavras, quanto menor a área de superfície aderida, maiores são os valores de resistência adesiva obtidos no teste de microtração.

Para evitar que o preparo cavitário influenciasse nos valores de resistência de união adesiva, os materiais restauradores foram aplicados sobre superfícies dentinárias planas, sem paredes circundantes, para anular o efeito do fator C (D'ALPINO, 2005). A profundidade biológica dos preparos cavitários foi padronizada a 1 mm do corno pulpar mais próximo da superfície. Porém, como a distância biológica do preparo difere dentro de um mesmo elemento, observou-se grande variação nos valores de resistência de união. Além disso, todos os espécimes apresentavam superfície de área aderida quadrangular com dimensões

semelhantes, aproximadamente 0,8 mm x 0,8 mm, de acordo com o protocolo descrito por (SANO et al., 1994b).

O desenvolvimento da técnica de microscopia confocal de varredura laser e de novos corantes fluorescentes possibilitou uma análise morfológica da interface adesiva mais confiável (D'ALPINO, 2005). Como as amostras não necessitam de preparações tão elaboradas, como seria o caso para microscopia eletrônica de varredura ou transmissão, evitam-se artefatos de técnica, principalmente, relacionados à desidratação das amostras (WATSON, 1991). Quando os corantes são adicionados em quantidade suficiente aos sistemas adesivos ou no interior da câmara pulpar e fixados em substrato específico, permitem a emissão de sinais fluorescentes, indicando sua presença e destacando o material ou o tecido que foi marcado (WATSON, 1989).

O corante rodamina B é comumente utilizado em microscopia de fluorescência por ser um marcador insolúvel em água, mas extremamente solúvel nos componentes orgânicos dos *primers* e adesivos dentinários (PIOCH et al., 1997; D'ALPINO et al., 2006). Além disso, apresenta alto coeficiente de extinção molar (WATSON, 1989), ou seja, absorve facilmente os fótons, no comprimento de onda ideal de absorção, emitindo fótons fluorescentes (D'ALPINO, 2005). Quando uma quantidade muito grande de rodamina B é adicionada aos sistemas adesivos, ele pode reduzir a porcentagem de conversão de monômeros por impedir que uma quantidade de luz adequada atinja os fotoiniciadores, reduzindo a conversão dos monômeros em polímeros e, conseqüentemente, a resistência de união adesiva (D'ALPINO, 2005; D'ALPINO et al., 2006). Para evitar que o corante influenciasse no desempenho dos sistemas adesivos, utilizou-se somente um ou dois grãos (GRIFFITHS; WATSON; SHERRIFF, 1999) do corante isotiocianato de tetrametil rodamina B em três gotas do componente do sistema adesivo, quantidade que não influencia na resistência de união ao teste de microtração (DING et al., 2010). Apesar de Griffiths, Watson e Sherriff (1999) afirmarem que o corante não interfere nos resultados de resistência de união adesiva, os testes de microtração foram realizados sem a inclusão do corante aos sistemas adesivos.

Para avaliar a microporabilidade do sistema adesivo, ou seja, capacidade de selamento da camada híbrida, o corante fluorescente foi aplicado no interior da câmara pulpar (SIDHU; WATSON, 1998; GRIFFITHS; WATSON; SHERRIFF, 1999). A penetração de corante para o interior da camada híbrida reflete a inabilidade de selamento do sistema adesivo utilizado (GRIFFITHS; WATSON; SHERRIFF, 1999). Quando o sistema adesivo penetra por toda a extensão de dentina

desmineralizada e é adequadamente polimerizado, previne que o corante proveniente dos túbulos dentinários se difunda pelos prolongamentos de resina e atinja a camada híbrida (D'ALPINO, 2005). Apesar de não existirem estudos avaliando a importância dos prolongamentos resinosos para o selamento efetivo da camada híbrida, acredita-se que a união entre a dentina peritubular e a resina é fundamental evitar a permeabilidade da interface adesiva (GRIFFITHS; WATSON; SHERRIFF, 1999). Quando a camada híbrida é corretamente formada na dentina peritubular, a força de adesão às paredes dos túbulos é maior que as forças de contração de polimerização, e os prolongamentos de resina contraem-se em direção às paredes dos túbulos, podendo criar orifícios no interior deles (NAKABAYASHI; PASHLEY, 1998).

A microscopia eletrônica de transmissão foi empregada para avaliar a presença de espaços nanométricos (20-100 nm) no interior da camada híbrida, mesmo na ausência de uma fenda na interface de união adesiva (SANO et al., 1994c; SANO et al., 1995). Inicialmente, as porosidades na interface adesiva foram preenchidas por um marcador de baixo peso molecular, o nitrato de prata, e, em seguida, as amostras foram cuidadosamente preparadas. A interface adesiva foi, então, analisada no microscópio eletrônico de transmissão, para verificar a presença de grãos de prata depositados na interface adesiva (SANO et al., 1995). Essa deposição ocorre nas áreas onde as fibras colágenas não foram completamente encapsuladas pelo sistema adesivo ou onde a resina não foi adequadamente polimerizada (SANO et al., 1995; TAY et al., 2003a) e indicam onde há penetração de fluídos e, conseqüentemente, degradação da união adesiva ao longo do tempo (SANO et al., 1999; HASHIMOTO et al., 2001; TAY et al., 2003a).

Como a quantidade de água remanescente sobre a superfície de dentina após o condicionamento ácido é determinante para o sucesso da união adesiva, a umidade superficial foi controlada com o auxílio de papel absorvente. A utilização de jatos de ar para remover o excesso de água poderia promover o colapso das fibras colágenas devido ao ressecamento da dentina, o qual prejudicaria a penetração do sistema adesivo pela área de dentina desmineralizada. Além da umidade superficial da dentina, há a umidade proveniente da câmara pulpar, que é aumentada pelo condicionamento ácido da dentina devido à desobliteração dos túbulos dentinários, remoção da lama dentinária e desmineralização superficial (NAKABAYASHI; KOJIMA; MASUHARA, 1982). A 1,0 mm de distância da câmara pulpar, o condicionamento ácido aumenta a área de superfície da dentina ocupada pelos túbulos dentinários de 4% para 25% (GARBEROGLIO;

BRÄNNSTROM, 1976), tornando os procedimentos adesivos mais difíceis, por dificultar o preenchimento da trama colágena desmineralizada (TAY; GWINNETT; WEI, 1996; HASHIMOTO et al., 2002; WANG; SPENCER, 2003; SANO, 2006).

Para reproduzir as condições clínicas de pressão pulpar no âmbito laboratorial, os dentes foram restaurados sob 20 cm de pressão pulpar simulada (SADEK et al., 2007). Essa manobra permitiu que a água proveniente da câmara pulpar interagisse com os sistemas adesivos, dificultando a penetração deles nas áreas de dentina desmineralizada e nos túbulos dentinários. As imagens microscópicas de fluorescência mostram que, nas áreas com menor distância biológica, na região acima dos cornos pulpares, há os maiores índices de infiltração do corante fluoresceína, o que indica maior dificuldade do sistema adesivo em penetrar e formar uma camada híbrida adequada. Esse dado corrobora os resultados de outros estudos que afirmam que a umidade interna, proveniente dos túbulos dentinários, é mais prejudicial para a adesão do que a umidade externa, sobre a superfície de dentina (TAY; GWINNETT; WEI, 1996).

A presença de pressão pulpar simulada possibilitou visualizar o aumento de umidade na interface adesiva da dentina durante os procedimentos adesivos, a qual promove o aparecimento de vesículas de água no interior da camada híbrida (TAY et al., 2005) e prejudica a polimerização dos monômeros e a interdifusão do adesivo pela dentina intertubular desmineralizada (TAY; GWINNETT; WEI, 1996). Resultado semelhante foi observado num estudo que avaliou, em tempo real, o aumento da umidade na superfície da dentina, proveniente da polpa dental, após a aplicação do sistema adesivo, antes e após a fotoativação (SAURO et al., 2009). O aumento da umidade produziu bolhas na interface resina-dentina, criando áreas onde não há contato entre a dentina e o sistema adesivo, como pode ser observado nas imagens de microscopia confocal de fluorescência laser. Consequentemente, os espécimes provenientes dessas áreas apresentavam baixos valores de resistência de união e fraturavam prematuramente, durante o preparo dos corpos de prova. Clinicamente, as bolhas de água causam falha adesiva, reduzem a resistência de união e tornam a camada híbrida mais susceptível as degradações hidrolítica e enzimática (pela ação das MMPs). A presença de água na entrada dos túbulos dentinários impede a formação adequada dos prolongamentos resinosos, facilitando a ruptura da adesão nessa área quando associada à contração de polimerização da resina composta restauradora.

A comparação entre os sistemas adesivos mostrou que os grupos restaurados com os adesivos à base de álcool e água (Adper Single Bond Plus e Adper Scotchbond Multi-Purpose) apresentaram resistência de união ao teste de microtração superior à dos grupos restaurados com os adesivos que utilizaram acetona como solvente (One-Step Plus e All-Bond 2). A acetona é um excelente solvente de monômero, entretanto é extremamente volátil e evapora rapidamente após ser dispensada sobre a superfície dentinária, tornando o adesivo muito viscoso, o que pode impedir a correta penetração do solvente através da trama colágena (HOLMES et al., 2007). Como os sistemas adesivos à base de acetona são mais sensíveis à técnica e mais hidrofóbicos do que os que utilizam álcool e água, eles foram mais afetados pela presença de umidade proveniente da câmara pulpar durante os procedimentos adesivos (DE MUNCK et al., 2005; PEUMANS et al., 2005; BALKENHOL et al., 2007). Quando um adesivo à base de acetona é aplicado sobre a dentina muito úmida, a acetona dissolve-se liberando os monômeros resinosos que bloqueiam fisicamente a penetração do sistema adesivo para o interior dos túbulos dentinários, formando pequenos glóbulos de resina dentro deles (TAY; GWINNETT; WEI, 1996). Por isso, os adesivos a base de acetona apresentam resultados de adesão adequados quando analisados *in vitro*, sem pressão pulpar simulada, porém proporcionam desempenho clínico questionável ao longo do tempo (REIS et al., 2003; TAY et al., 2003b).

A técnica da dentina saturada com etanol parece promissora, pois promove melhor encapsulação das fibras colágenas, menor degradação da interface adesiva ao longo do tempo e melhor polimerização do sistema adesivo. Contudo, foi testada somente laboratorialmente, sem pressão pulpar simulada e com adesivos hidrofóbicos especialmente manipulados para esses estudos, não disponíveis comercialmente (PASHLEY et al., 2007; HOSAKA et al., 2009; SADEK et al., 2010). Os resultados do teste de resistência de união à microtração da presente investigação científica mostraram que não há diferença estatisticamente significativa entre as técnicas quando a comparação foi realizada utilizando-se os dados dos quatro sistemas adesivos. Contudo, observa-se que há diferença estatística na resistência de união entre as técnicas adesivas quando os dentes foram restaurados com adesivos que utilizam álcool e água como solvente, Adper Single Bond Plus e Adper Scotchbond Multi-Purpose. As microscopias eletrônicas de transmissão desses adesivos mostram que houve maior nanoinfiltração para o interior das camadas híbridas e adesivas nos grupos restaurados pela técnica da dentina saturada com água. Além disso, observa-se nas

microscopias confocais de fluorescência desses grupos bolhas de água na superfície da dentina e ausência de prolongamentos de resina no interior dos túbulos dentinários. A técnica da dentina saturada com etanol não eliminou a nanoinfiltração, porém melhorou a interação desses adesivos com a dentina, por facilitar a penetração do sistema adesivo para dentro da dentina desmineralizada e dos túbulos dentinários. Isso ocorreu pois o etanol diminui as dimensões das fibras colágenas, aumenta os espaços interfibrilares, evapora a água presente na trama colágena e torna a superfície menos hidrofílica (PASHLEY et al., 2007; HOSAKA et al., 2009; SADEK et al., 2010).

Os baixos resultados de resistência de união dos grupos restaurados com os sistemas adesivos One-Step Plus e All-Bond 2 pela técnica da dentina saturada com etanol podem estar relacionados com a reação entre o etanol e a acetona. A acetona (cuja formulação química se apresenta como uma carbonila entre carbonos) quando em contato com etanol (uma hidroxila ligada a um carbono saturado) produz uma substância resultante instável, por uma adição nucleofílica do álcool ao grupo carbonila, denominada hemicetal (MOTA; DA SILVA; GONÇALVES, 2009). O etanol desidrata o hemicetal, formando um carbocátion terciário, que reage rapidamente com a hidroxila central, formando um solvente, o cetal e água (MOTA; DA SILVA; GONÇALVES, 2009). A água formada durante a aplicação do sistema adesivo, subproduto da reação química entre o etanol e a acetona, impede que ocorra um íntimo contato dos monômeros do adesivo com a dentina desmineralizada, diminuindo a taxa de conversão de monômeros em polímeros do sistema adesivo (HASHIMOTO et al., 2002) e, conseqüentemente, aumentando a hidrólise da interface dente-restauração ao longo do tempo. As imagens de fluorescência mostram que há infiltração do corante fluoresceína em todas as amostras avaliadas pois a camada híbrida não foi adequadamente formada.

A manutenção da resistência adesiva e a ausência de nanoinfiltração nas restaurações de resina composta ao longo do tempo estão diretamente relacionadas à adequada penetração do sistema adesivo por toda a extensão de dentina desmineralizada. Quando as fibras colágenas não encapsuladas pelo sistema adesivo ficam suscetíveis à degradação pelas enzimas das matrizes metaloproteínases derivadas do próprio tecido dentinário (PASHLEY et al., 2004) e à biodegradação pelas proteases bacterianas (DORFER et al., 2000; HASHIMOTO et al., 2004), há nanoinfiltração e degradação hidrolítica, comprometendo a durabilidade da união adesiva ao longo do tempo (CARRILHO et al., 2005; HOSAKA et al., 2009; LIN et al., 2010). Para

avaliar *in vitro* a longevidade da união adesiva, é necessário envelhecer artificialmente as restaurações. O processo de envelhecimento das restaurações utilizado neste estudo consistiu de 20.000 ciclos térmicos seguidos por 600.000 ciclos de carga mecânica vertical.

Na comparação geral entre os momentos avaliados houve redução nos valores de resistência de união à microtração após o envelhecimento artificial. Contudo, é importante ressaltar que, quando a técnica da dentina saturada com etanol foi utilizada com os adesivos à base de álcool, não houve redução da resistência de união adesiva pelo processo de envelhecimento artificial. A ausência de degradação da interface adesiva pode estar relacionada a dois fatores: primeiro, a inibição das MMPs pelo etanol, previamente à aplicação do sistema adesivo; segundo, como o sistema adesivo consegue preencher as áreas desmineralizadas, permite que a HEMA, componente desses sistemas adesivos, contate as fibras colágenas, podendo reduzir em 99% a atividade gelatinolítica da MMP-9 (TEZVERGIL-MUTLUAY et al., 2011).

Apesar dos estudos *in vitro* não refletirem as mesmas condições da cavidade oral, as quais as restaurações adesivas estão expostas, fornecem importantes informações sobre a previsibilidade clínica das mesmas. A técnica da dentina saturada com etanol melhora o desempenho das restaurações adesivas após o envelhecimento artificial quando utilizada com os adesivos à base de álcool, porém torna o procedimento adesivo mais complexo e aumenta o tempo de trabalho. Dessa forma, o desafio de melhorar a inteiração entre os sistemas adesivos e a dentina para criar uma efetiva e duradoura união dente-resina continua. Futuros estudos clínicos e laboratoriais são necessários para avaliar a citotoxicidade do etanol aos tecidos pulpare, desenvolver métodos para diminuir a quantidade de água proveniente da câmara pulpar e meios para tornar a superfície dentinária menos hidrofílica durante os procedimentos adesivos.

7 Conclusões

7 CONCLUSÕES

Baseado nos resultados obtidos pode-se concluir que:

1. A utilização de diferentes sistemas adesivos pode interferir nos valores de resistência de união à dentina mas não previne a nanoinfiltração. Os melhores resultados de resistência de união adesiva foram observados nos grupos restaurados com os adesivos Adper Single Bond Plus e Adper Scotchbond Multi-Purpose.
2. A aplicação do etanol a 100% após o condicionamento ácido e previamente à aplicação do sistema adesivo aumenta a resistência de união à dentina dos adesivos que utilizam álcool e água como solvente, porém não evita a nanoinfiltração.
3. O processo de envelhecimento artificial não interfere na resistência de união à dentina dos grupos restaurados pela técnica da dentina saturada com etanol, contudo diminui a resistência de união dos grupos restaurados pela técnica da dentina saturada com água.

Referências

REFERÊNCIAS

AGEE, K. L. et al. Submicron hiati in acid-etched dentin are artifacts of desiccation. **Dent Mater**, v. 19, n. 1, p. 60-68, Jan. 2003.

ATTAL, J. P.; ASMUSSEN, E.; DEGRANGE, M. Effects of surface treatment on the free surface energy of dentin. **Dent Mater**, v. 10, n. 4, p. 259-264, July 1994.

BALKENHOL, M. et al. Influence of solvent type in experimental dentin primer on the marginal adaptation of Class V restorations. **J Dent**, v. 35, n. 11, p. 836-844, Nov. 2007.

BHASKAR, S. N. **Histologia e embriologia oral de Orban**. 10. São Paulo: Artes Médicas, 1989.

BOWEN, R. L. Properties of a silica-reinforced polymer for dental restorations. **J Am Dent Assoc**, v. 66, p. 57-64, Jan. 1963.

BRESCHI, L. et al. Polymerization kinetics of dental adhesives cured with LED: correlation between extent of conversion and permeability. **Dent Mater**, v. 23, n. 9, p. 1066-1072, Sept. 2007.

BRUDEVOLD, F.; BUONOCORE, M.; WILEMAN, W. A report on a resin composition capable of bonding to human dentin surfaces. **J Dent Res**, v. 35, n. 6, p. 846-851, Dec. 1956.

BUONOCORE, M. G. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. **J Dent Res**, v. 34, n. 6, p. 849-853, Dec. 1955.

BUSSCHER, H. J.; RETIEF, D. H.; ARENDS, J. Relationship between surface-free energies of dental resins and bond strengths to etched enamel. **Dent Mater**, v. 3, n. 2, p. 60-63, Apr. 1987.

CADENARO, M. et al. Degree of conversion and permeability of dental adhesives. **Eur J Oral Sci**, v. 113, n. 6, p. 525-530, Dec. 2005.

CADENARO, M. et al. Effect of adhesive hydrophilicity and curing time on the permeability of resins bonded to water vs. ethanol-saturated acid-etched dentin. **Dent Mater**, v. 25, n. 1, p. 39-47, Jan. 2009.

CARRILHO, M. R. et al. Durability of resin-dentin bonds related to water and oil storage. **Am J Dent**, v. 18, n. 6, p. 315-319, Dec. 2005.

D'ALPINO, P. H. et al. Use of fluorescent compounds in assessing bonded resin-based restorations: a literature review. **J Dent**, v. 34, n. 9, p. 623-634, Oct. 2006.

D'ALPINO, P. H. P. **Influência da fonte de luz fotoativadora na resistência de união e na micromorfologia da interface adesiva de restaurações de resina composta**. 2005. 235 f. Tese (Doutorado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Bauru, 2005.

DE MUNCK, J. et al. A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results. **J Dent Res**, v. 84, n. 2, p. 118-132, Feb. 2005.

DING, P. G. et al. Relationship between microtensile bond strength and submicron hiatus at the composite-dentin interface using CLSM visualization technique. **Dent Mater**, v. 26, n. 3, p. 257-263, Mar. 2010.

DORFER, C. E. et al. The nanoleakage phenomenon: influence of different dentin bonding agents, thermocycling and etching time. **Eur J Oral Sci**, v. 108, n. 4, p. 346-351, Aug. 2000.

DUARTE JR, S. et al. Nanoleakage, ultramorphological characteristics, and microtensile bond strengths of a new low-shrinkage composite to dentin after artificial aging. **Dent Mater**, v. 25, n. 5, p. 589-600, May 2009.

EICK, J. D. et al. Current concepts on adhesion to dentin. **Crit Rev Oral Biol Med**, v. 8, n. 3, p. 306-335, 1997.

FUSAYAMA, T. et al. Non-pressure adhesion of a new adhesive restorative resin. **J Dent Res**, v. 58, n. 4, p. 1364-1370, Apr. 1979.

GARBEROGLIO, R.; BRANNSTROM, M. Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules. **Arch Oral Biol**, v. 21, n. 6, p. 355-362, 1976.

GRIFFITHS, B. M. et al. Variable polymerisation shrinkage and the interfacial micropermeability of a dentin bonding system. **J Adhes Dent**, v. 1, n. 2, p. 119-131, Summer 1999.

GRIFFITHS, B. M.; WATSON, T. F.; SHERRIFF, M. The influence of dentine bonding systems and their handling characteristics on the morphology and micropermeability of the dentine adhesive interface. **J Dent**, v. 27, n. 1, p. 63-71, Jan. 1999.

HASHIMOTO, M. et al. Fluid movement across the resin-dentin interface during and after bonding. **J Dent Res**, v. 83, n. 11, p. 843-848, Nov. 2004.

HASHIMOTO, M. et al. Resin-tooth adhesive interfaces after long-term function. **Am J Dent**, v. 14, n. 4, p. 211-215, Aug. 2001.

HASHIMOTO, M. et al. The extent to which resin can infiltrate dentin by acetone-based adhesives. **J Dent Res**, v. 81, n. 1, p. 74-78, Jan. 2002.

HOLMES, R. G. et al. Effect of solvent type and content on monomer conversion of a model resin system as a thin film. **Dent Mater**, v. 23, n. 12, p. 1506-1512, Dec. 2007.

HOSAKA, K. et al. Durability of resin-dentin bonds to water- vs. ethanol-saturated dentin. **J Dent Res**, v. 88, n. 2, p. 146-151, Feb. 2009.

JACOBSEN, T.; SODERHOLM, K. J. Some effects of water on dentin bonding. **Dent Mater**, v. 11, n. 2, p. 132-136, Mar. 1995.

KANCA 3RD, J. Resin bonding to wet substrate. 1. Bonding to dentin. **Quintessence Int**, v. 23, n. 1, p. 39-41, Jan. 1992.

LIN, J. et al. Durability of four composite resin cements bonded to dentin under simulated pulpal pressure. **Dent Mater**, v. 26, n. 10, p. 1001-1009, Oct. 2010.

MALACARNE, J. et al. Water sorption/solubility of dental adhesive resins. **Dent Mater**, v. 22, n. 10, p. 973-980, Oct. 2006.

MARSHALL JR., G. W. et al. The dentin substrate: structure and properties related to bonding. **J Dent**, v. 25, n. 6, p. 441-458, Nov. 1997.

MAZZONI, A. et al. Reactivation of inactivated endogenous proteolytic activities in phosphoric acid-etched dentine by etch-and-rinse adhesives. **Biomaterials**, v. 27, n. 25, p. 4470-4476, Sept. 2006.

MOTA, C. J. A.; DA SILVA, C. X. A.; GONÇALVES, V. L. C. Gliceroquímica: novos produtos e processos a partir da glicerina de produção de biodiesel. **Quím. Nova**, v. 32, n. 3, p. 639-648, 2009.

NAKABAYASHI, N.; KOJIMA, K.; MASUHARA, E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. **J Biomed Mater Res**, v. 16, n. 3, p. 265-273, May 1982.

NAKABAYASHI, N.; PASHLEY, D. H. **Hybridization of dental hard tissues**. Tokyo: Quintessence, 1998.

PASHLEY, D. H. Clinical correlations of dentin structure and function. **J Prosthet Dent**, v. 66, n. 6, p. 777-781, Dec. 1991.

PASHLEY, D. H.; CARVALHO, R. M. Dentine permeability and dentine adhesion. **J Dent**, v. 25, n. 5, p. 355-372, Sept. 1997.

PASHLEY, D. H. et al. Scanning electron microscopy of the substructure of smear layers in human dentine. **Arch Oral Biol**, v. 33, n. 4, p. 265-270, 1988.

PASHLEY, D. H. et al. From dry bonding to water-wet bonding to ethanol-wet bonding. A review of the interactions between dentin matrix and solvated resins using a macromodel of the hybrid layer. **Am J Dent**, v. 20, n. 1, p. 7-20, Feb. 2007.

PASHLEY, D. H. et al. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. **J Dent Res**, v. 83, n. 3, p. 216-221, Mar. 2004.

PEUMANS, M. et al. Clinical effectiveness of contemporary adhesives: a systematic review of current clinical trials. **Dent Mater**, v. 21, n. 9, p. 864-881, Sept. 2005.

PERDIGAO, J. et al. In vivo influence of residual moisture on microtensile bond strengths of one-bottle adhesives. **J Esthet Restor Dent**, v. 14, n. 1, p. 31-38, 2002.

PHRUKKANON, S.; BURROW, M. F.; TYAS, M. J. The influence of cross-sectional shape and surface area on the microtensile bond test. **Dent Mater**, v. 14, n. 3, p. 212-221, June 1998.

PIOCH, T. et al. Applications of confocal laser scanning microscopy to dental bonding. **Adv Dent Res**, v. 11, n. 4, p. 453-461, Nov. 1997.

REIS, A. et al. Moisture spectrum of demineralized dentin for adhesive systems with different solvent bases. **J Adhes Dent**, v. 5, n. 3, p. 183-192, Fall 2003.

REIS, A. et al. Durability of resin dentin interfaces: effects of surface moisture and adhesive solvent component. **Dent Mater**, v. 20, n. 7, p. 669-676, Sept. 2004.

SADEK, F. T. et al. Ethanol wet-bonding challenges current anti-degradation strategy. **J Dent Res**, v. 89, n. 12, p. 1499-1504, Dec. 2010.

SADEK, F. T. et al. Tubular occlusion optimizes bonding of hydrophobic resins to dentin. **J Dent Res**, v. 86, n. 6, p. 524-528, June 2007.

SANO, H. Microtensile testing, nanoleakage, and biodegradation of resin-dentin bonds. **J Dent Res**, v. 85, n. 1, p. 11-14, Jan. 2006.

SANO, H. et al. Tensile properties of mineralized and demineralized human and bovine dentin. **J Dent Res**, v. 73, n. 6, p. 1205-1211, June 1994a.

SANO, H. et al. Relationship between surface area for adhesion and tensile bond strength--evaluation of a micro-tensile bond test. **Dent Mater**, v. 10, n. 4, p. 236-240, July 1994b.

SANO, H. et al. Microporous dentin zone beneath resin-impregnated layer. **Oper Dent**, v. 19, n. 2, p. 59-64, Mar./Apr. 1994c.

SANO, H. et al. Nanoleakage: leakage within the hybrid layer. **Oper Dent**, v. 20, n. 1, p. 18-25, Jan./Feb. 1995.

SANO, H. et al. Long-term durability of dentin bonds made with a self-etching primer, in vivo. **J Dent Res**, v. 78, n. 4, p. 906-911, Apr. 1999.

SANTINI, A.; PLASSCHAERT, A. J.; MITCHELL, S. Effect of composite resin placement techniques on the microleakage of two self-etching dentin-bonding agents. **Am J Dent**, v. 14, n. 3, p. 132-136, June 2001.

SAURO, S. et al. Influence of the hydrostatic pulpal pressure on droplets formation in current etch-and-rinse and self-etch adhesives: a video rate/TSM microscopy and fluid filtration study. **Dent Mater**, v. 25, n. 11, p. 1392-1402, Nov. 2009.

SHIN, T. P. et al. Morphological and chemical characterization of bonding hydrophobic adhesive to dentin using ethanol wet bonding technique. **Dent Mater**, v. 25, n. 8, p. 1050-1057, Aug. 2009.

SIDHU, S. K.; WATSON, T. F. Interfacial characteristics of resin-modified glass-ionomer materials: a study on fluid permeability using confocal fluorescence microscopy. **J Dent Res**, v. 77, n. 9, p. 1749-1759, Sept. 1998.

SULKALA, M. et al. The localization of matrix metalloproteinase-20 (MMP-20, enamelysin) in mature human teeth. **J Dent Res**, v. 81, n. 9, p. 603-607, Sept. 2002.

TAGAMI, J. et al. Effect of aging and caries on dentin permeability. **Proc Finn Dent Soc**, v. 88 Suppl 1, p. 149-154, 1992.

TANUMIHARJA, M.; BURROW, M. F.; TYAS, M. J. Microtensile bond strengths of seven dentin adhesive systems. **Dent Mater**, v. 16, n. 3, p. 180-187, May 2000.

TAY, F. R.; GWINNETT, J. A.; WEI, S. H. Micromorphological spectrum from overdrying to overwetting acid-conditioned dentin in water-free acetone-based, single-bottle primer/adhesives. **Dent Mater**, v. 12, n. 4, p. 236-244, July 1996.

TAY, F. R. et al. Aging affects two modes of nanoleakage expression in bonded dentin. **J Dent Res**, v. 82, n. 7, p. 537-541, July 2003a.

TAY, F. R. et al. Tubular occlusion prevents water-treeing and through-and-through fluid movement in a single-bottle, one-step self-etch adhesive model. **J Dent Res**, v. 84, n. 10, p. 891-896, Oct. 2005.

TAY, F. R. et al. Integrating oxalate desensitizers with total-etch two-step adhesive. **J Dent Res**, v. 82, n. 9, p. 703-707, Sept. 2003b.

TAY, F. R.; PASHLEY, D. H.; YOSHIYAMA, M. Two modes of nanoleakage expression in single-step adhesives. **J Dent Res**, v. 81, n. 7, p. 472-476, July 2002.

TEZVERGIL-MUTLUAY, A. et al. Inhibition of MMPs by alcohols. **Dent Mater**, v. 27, n. 9, p. 926-933, Sept. 2011.

TJADERHANE, L. et al. The activation and function of host matrix metalloproteinases in dentin matrix breakdown in caries lesions. **J Dent Res**, v. 77, n. 8, p. 1622-1629, Aug. 1998.

VAN MEERBEEK, B. et al. Morphological aspects of the resin-dentin interdiffusion zone with different dentin adhesive systems. **J Dent Res**, v. 71, n. 8, p. 1530-1540, Aug. 1992.

WANG, Y.; SPENCER, P. Hybridization efficiency of the adhesive/dentin interface with wet bonding. **J Dent Res**, v. 82, n. 2, p. 141-145, Feb. 2003.

WATSON, T. F. A confocal optical microscope study of the morphology of the tooth/restoration interface using Scotchbond 2 dentin adhesive. **J Dent Res**, v. 68, n. 6, p. 1124-1131, June 1989.

WATSON, T. F. Applications of confocal scanning optical microscopy to dentistry. **Br Dent J**, v. 171, n. 9, p. 287-291, Nov. 9 1991.

Anexas

ANEXO A – Certificado do Comitê de Ética

Certificado Page 1 of 1



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
Pré-Reitoria de Pesquisa e Extensão
Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos

CERTIFICADO nº 352

O Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEPSH) da Pré-Reitoria de Pesquisa e Extensão da Universidade Federal de Santa Catarina, instituído pela PORTARIA N.º 2554-GR/99 de 04 de novembro de 1999, com base nas normas para a constituição e funcionamento do CEPSH, considerando o contido no Regulamento Interno do CEPSH, CERTIFICA que os procedimentos que envolvem seres humanos no projeto de pesquisa abaixo especificado estão de acordo com os princípios éticos estabelecidos pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP:

APROVADO

PROCESSO: 352 TR: 294299

TÍTULO: EFEITO DO TEMPO DE CONDIÇÃOAMENTO ACIDO NA RESISTÊNCIA ADENSIVA, NANODIFUSÃO E DURABILIDADE DA ADESÃO A DENTINA SADI BONDADO COM AGUA E ALGEBE, COM PREPARO IN-LABOR SINGULARIA

AUTOR: LARA CLAYTON COSTA VIEIRA, NEILSON BARREI, ELIAN ASSIS, NELSON CHAVES JR

FLORIANÓPOLIS, 09 de Outubro de 2009.



Prof. Filipe Modolo Sighepp
Sub-Coordenador do CEPSH/UFSC

http://www.cen.ufsc.br/projeto_cen/certificado/certificado.php?id_pesquisa=352 9/10/2009

ANEXO B – Termo de consentimento livre e esclarecido

As informações contidas neste documento têm o objetivo de firmar, por escrito, que a doação dos órgãos dentais será realizada de livre-arbítrio e sem qualquer coação. Cabe ainda ressaltar que este termo foi elaborado de acordo com as diretrizes e normas que regulamentam as pesquisas envolvendo seres humanos, atendendo às Resoluções 196/96 e 251/97 do Conselho Nacional de Saúde.

A pesquisa, **“Eficácia da união adesiva em dentes restaurados pelas técnicas da dentina saturada com água e etanol sob pressão pulpar simulada após envelhecimento artificial”** objetiva avaliar a influência do tempo de condicionamento ácido da dentina, a técnica de adesão e os meios de envelhecimento *in vitro* na resistência adesiva e na nanoinfiltração.

Minha participação nesse estudo constará na doação de meu(s) dente(s) terceiro(s) molar(es), extraído(s) por indicação cirúrgica, e a minha doação é de livre e espontânea vontade, e sei que o(s) meu(s) dente(s) serão usados somente em testes laboratoriais ou análise ultramorfológica em CLSM e TEM. Estou ciente de que não haverá nenhum risco a minha pessoa durante a execução do trabalho de pesquisa e de que meu dente não será utilizado para nenhum estudo de natureza genética.

Se, por qualquer motivo, não quiser fazer a doação de meu(s) dente(s), não serei obrigado a fazê-lo e, mesmo assim, terei os procedimentos aos quais serei submetido, como a cirurgia de extração, realizados na Clínica de Odontologia do Departamento de Odontologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina.

Os pacientes envolvidos na pesquisa terão a garantia do sigilo das informações e a privacidade na identificação dos participantes. Os voluntários terão total liberdade de recusar ou deixar de participar da pesquisa a qualquer momento e sem punição.

Após entender os termos acima mencionados e aceitar as explicações fornecidas, concordo em participar da pesquisa através da doação do(s) meu(s) dente(s).

Eu, _____,
portador do CPF _____, RG _____ declaro
estar ciente e desejo doar meu(s) dente(s) para pesquisa.

Assinatura do paciente

Para efetuar qualquer esclarecimento ou informar a desistência da pesquisa, entrar em contato com Neimar Sartori pelo telefone (48) 9987-8227.

Neimar Sartori
Florianópolis, _____ / _____ / 20__