TATHIANE LARISSA LENZI

**Efeito da condição do substrato e do tempo de condicionamento na
estabilidade da união de sistemas adesivos à dentina de dentes decíduos**

São Paulo

2013

TATHIANE LARISSA LENZI

**Efeito da condição do substrato e do tempo de condicionamento na
estabilidade da união de sistemas adesivos à dentina de dentes decíduos**

Versão Original

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

Área de Concentração: Odontopediatria

Orientadora: Profa. Dra. Daniela Prócida Raggio

São Paulo

2013

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

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

Lenzi, Tathiane Larissa.

Efeito da condição do substrato e do tempo de condicionamento na estabilidade da união de sistemas adesivos à dentina de dentes decíduos / Tathiane Larissa Lenzi : orientadora Daniela Prócida Raggio. -- São Paulo, 2013.

85 p. : fig.: quadros ; 30 cm.

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

Versão original.

1. Adesivos dentinários. 2. Dente decíduo. 3. Dentina. 4. Cárie dentária 5. Resistência à tração - Odontologia. I. Raggio, Daniela Prócida. II. Título.

Lenzi TL. Efeito da condição do substrato e do tempo de condicionamento na estabilidade da união de sistemas adesivos à dentina de dentes decíduos. Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências Odontológicas.

Aprovado em: / /2013

Banca Examinadora

Prof(a). Dr(a). _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a). _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a). _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a). _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a). _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

À minha família amada...

Aos meus pais, Alenor e Mauren.

Sou imensamente feliz por ser filha de duas pessoas tão maravilhosas como vocês!!! Vocês me deram o maior presente: a vida! E fizeram de tudo para garantir minha felicidade, me apoiando incondicionalmente em todos os momentos... sempre com **MUITO AMOR!** Muito obrigada pelas lições de vida, respeito e caráter. De vocês vêm meus exemplos mais preciosos! **Mãe**, minha luz, minha força! Obrigada pela dedicação, cuidado e amor! Muito obrigada por sempre me encorajar a realizar os meus sonhos, pelo colo e pelas palavras certas nos momentos que precisei, pelas ligações diárias que amenizaram a saudade, por ser meu porto seguro! **Pai**, meu herói! Desde pequena sempre tivemos uma ligação forte! Obrigada pelo amor e carinho, por vibrar a cada conquista minha e me mostrar que com meu esforço e dedicação, e incentivo de vocês, posso chegar onde eu quiser! **Agradeço a vocês por cada palavra, gesto e sentimento! AMO MUITO VOCÊS!!!**

Ao meu irmão, Guilherme.

Somos tão diferentes, mas ao mesmo tempo nos tornamos iguais... Iguais no amor, cuidado e apoio um ao outro! Sou muito feliz por te ter como irmão... o meu mano caçula! Você tem um coração gigante! Te admiro muito! Muito obrigada pelo incentivo não apenas nessa caminhada, mas em toda vida! **AMO VOCÊ!**

Ao meu amor, Gustavo.

MEU AMIGO, PARCEIRO, COMPANHEIRO, CONFIDENTE... MEU TUDO!

Sou muito feliz por Deus ter te colocado em minha vida, de um jeito meio torto, mas perfeito e por você estar presente **POR INTEIRO** em todos os momentos, apesar da distância física dos últimos anos! Confesso que não foi fácil, mas passou rápido... e me fez ter a certeza que eu quero estar todos os próximos dias, meses e anos da minha vida ao seu lado! ... mesmo que ainda precisemos esperar mais um pouquinho para isso! Certamente essa experiência tornou o nosso amor mais maduro e a nossa ligação cada vez mais forte!

Muito obrigada pela cumplicidade, respeito, admiração, confiança e amor, tão puro e verdadeiro! Obrigada pelo apoio incondicional, pela doação sem cobrar nada em troca, pela imensa paciência comigo, pela companhia, mesmo *on-line*, sempre tão confortante e gostosa, pelas inúmeras ligações diárias - ainda bem que a Tim existe!(rs), por cuidar de mim... por ser meu **AMOR PERFEITO**, mesmo com as nossas imperfeições! **Obrigada por fazer dos meus sonhos a extensão dos seus e vice-versa!!!** **OBRIGADA POR TUDO** o que você é e faz por mim! **TE AMO!!!**

“Se me dessem um último pedido eu escolheria você. Se a vida acabasse hoje ou daqui a mil anos, eu escolheria você.”

Caio F. Abreu

A vocês, que mesmo há quilômetros, estiverem sempre ao meu lado...

**...não dedico apenas este trabalho, mas o que há de melhor em mim,
todos os dias.**

*“Aproveitemos o material humano de que dispomos: família, amigos e amores.
Escassos, raros e profundamente necessários.”*

Martha Medeiros

AGRADECIMENTOS

A Deus, pois sem Ele nada seria possível...

Obrigada por sempre guiar o meu caminho e colocar ao meu lado as pessoas certas, meus "anjinhos sem asas", no momento e lugar certos. Todas elas, sem exceção, foram essenciais para que eu me tornasse a pessoa que sou hoje. Sem elas eu nunca teria chegado até aqui! Obrigada por permitir ser quem eu sou, com todos meus defeitos, virtudes e sonhos (e quantos sonhos!!!) e me mostrar que tudo acontece no seu tempo. Tudo acontece exatamente quando deve acontecer.

Meu ingresso na pós-graduação em Odontopediatria da FOU SP - e o voto de confiança em mim depositado - é uma grande prova disso! Esta tese é fruto de muito trabalho, dedicação e amor pelas coisas que faço, mas, sem dúvida, é reflexo das pessoas maravilhosas que Deus colocou em minha vida nesses últimos 3 anos. Quando saí de Santa Maria eu não fazia ideia que a vinda a São Paulo me reservaria tantas coisas boas... inesquecíveis! Eu jamais poderia imaginar o número de pessoas que cruzariam o meu caminho e o quanto marcariam a minha vida para sempre! E mais ainda... o quanto eu amadureceria profissionalmente e pessoalmente!

Não vou dizer que foi fácil a transição da proteção familiar para a independência justamente em São Paulo(rs)... mas a distância e a saudade das pessoas que eu amo foi delicadamente amenizada pela atenção e carinho que recebi diariamente de todos os meus queridos colegas, professores - os quais tenho todos no mais alto posto de meus ídolos - e funcionários! Com certeza, vocês são minha segunda família! Sem falar no mundo de conhecimento, aprendizado, realizações e oportunidades! Olhando para trás, eu vejo que tudo valeu muuuito a pena!!! E é por isso, que eu só tenho que agradecer!!!

À minha especialíssima orientadora, Profa. Dra. Daniela Prócida Raggio... minha querida Dani!

Como é difícil encontrar as palavras certas, à altura do seu merecimento, para agradecer por tudo o que você é, fez e continua fazendo por mim! Você me acolheu de braços e coração abertos como sua orientada, sem mesmo me conhecer! Só por isso, já é possível imaginar a grandeza da sua pessoa!

Tenho a absoluta certeza que sempre esteve escrito... que TINHA QUE SER VOCÊ... pois não me imagino doutora sem ter tido a benção de tê-la como ORIENTADORA e PROFESSORA... e você fez isso brilhantemente!

Você é uma orientadora maravilhosa, que me apoiou em todos os momentos, me ofereceu todas as oportunidades que estavam ao seu alcance e possibilitou que eu abraçasse outras que foram surgindo, me orientou em todos os passos acadêmicos, me permitiu crescer como profissional, mas sobretudo, como ser humano e vibrou a cada conquista minha... cada conquista nossa! Você agregou à minha vida seus valores mais nobres ("ninguém chega a lugar nenhum sozinho") e mostrou que tudo passa... mas os bons momentos e sentimentos ficam guardados para sempre!

Você é realmente admirável!!! Admiro muuuito seu caráter irretocável, sua alegria de viver, sua competência, seu equilíbrio e seu respeito pela individualidade de todas as suas orientadas. Você é linda por dentro e por fora... ilumina por onde passa! Você é um exemplo de MÃE, MULHER, PROFESSORA, PESQUISADORA, ODONTOPEDIATRA, ESPOSA, AMIGA! Sou sua fã! Quem sabe um dia eu consiga ser um pouquinho de você!

Mas posso dizer que o maior presente que eu ganhei, foi a sua amizade! Agradeço todos os dias pela vida ter nos encontrado! Temos muitas coisas em comum, que vão muito além da nossa relação orientada-orientadora ou mesmo do fato de eu ter nascido no mesmo dia que sua irmã Gabi! Como eu disse... tinha que ser! Sou

muito feliz por dividir minha vida com você, sejam os bons momentos ou os nem tão bons assim! Muito obrigada pelo carinho de todos os dias, pela confiança, pelo respeito com que sempre me tratou, pelos nossos cafezinhos no departamento e longos almoços fora da USP, pelas viagens tão especiais (seja para Campos ou para Grécia), pelo aprendizado tão enriquecedor (Sou mais ionomérica graças a você!!!), pelos projetos e artigos, pela companhia nos cursos (...e o entendimento sobre os alunos profundos(rs)), pelas palavras sempre tão afetuosas, pelas nossas conversas sobre TUDO na sua sala e os questionamentos científicos também, pelas risadas, por tudo o que você me proporcionou! Nosso convívio me permitiu conhecer sua família tão especial - Filipe, Vitoco e Babi... e eu pude perceber que você é a extensão da sua casa no seu trabalho!

Dani querida, devo muito do que sou a você! **MUITO OBRIGADA POR TUDO**, de coração! Que, independente do que Deus tem reservado para mim, onde quer que eu esteja, a gente nunca se perca e a nossa amizade dure para sempre! Você é insubstituível! **ADORO VOCÊ!!!**

Ao querido Prof. Dr. Fausto Medeiros Mendes. Que você é uma mente brilhante, uma das pessoas mais inteligentes que eu conheço, todo mundo sabe! E eu te admiro demais por isso! Mas você, mais do que um ícone no meio científico, é um ser humano fantástico, dono de um coração enorme! Você é muito especial para mim! Sou muito feliz e abençoada por você fazer parte da minha vida!

Muito obrigada pelos ensinamentos tão preciosos, pelas ajudas estatísticas, pelos cafés e almoços (é uma honra almoçar com os "tops da odontopediatria"), pelas oportunidades acadêmicas, pelo torcida e apoio, pelos conselhos (Deus sempre sabe o que faz... é só ter paciência), por abrir minha mente (é importante saber um pouco de tudo), pela amizade e momentos de descontração, pelo carinho de todos os dias e os abraços tão confortantes! Nunca vou esquecer (no bom sentido) a entrevista para seleção da pós... obrigada por acreditar em mim!

Te quero sempre por perto, afinal, ao seu lado minha autoestima está sempre alta(rs)! Para você, eu posso ser Tathi, mas também posso ser sempre Gi! E se Gustavo e Maria não existissem em nossas vidas, eu casaria com você!!!(rs)

Te adoro muito! Sou sua fã! OBRIGADA POR TUDO!!!

À querida e sempre meiga Profa. Dra. Mariana Minatel Braga. Mari, você nem imagina o quanto eu te admiro! Admiro sua integridade, competência, inteligência e disposição em ajudar e querer bem todos a sua volta. Onde você está sempre há alegria e doçura espalhada pelo ar! Você é um ESPELHO para muitas pessoas! Me inspira sempre a ser professora! Obrigada por todo seu carinho, incentivo, oportunidades que me proporciona, e também pela amizade, ensinamentos valiosos que vou levar para vida toda e pelos momentos maravilhosos que passamos juntas! Olhando para você, eu realmente percebo o quão linda e gratificante é a vida acadêmica! Sou sua fã! Adoro você! **MUITO OBRIGADA POR TUDO!!!**

Ao estimado Prof. Dr. José Carlos Pettorossi Imparato. Me lembro como se fosse hoje... do pedido por uma foto com algumas colegas do mestrado em uma reunião da SBPqO. Você relutou, mas acabou aceitando!(rs) Quem diria que daí por diante nossos caminhos se estreitariam e nossa convivência cresceria tanto! E muito mais do que isso... que um dia eu teria a honra de ministrar um curso ao seu lado. Minha primeira aparição pública!(rs) Inesquecível! Você é um exemplo de professor e empreendedor na Odontologia!

Muito obrigada por **TODAS** as oportunidades acadêmicas, pelos conselhos, pelo carinho! Obrigada acima de tudo por confiar em mim! Você me possibilitou um crescimento que jamais imaginei ter... me permitiu ser professora e ter a certeza que estou no caminho certo! Você é muito importante para mim! É um prazer

conviver e trabalhar com uma pessoa maravilhosa como você! Sou sua fã! **MUITO OBRIGADA POR TUDO, CHEFE!!!**

Ao Prof. Dr. Marcelo Bonecker, exemplo de disciplina e liderança! A realização do doutorado em Odontopediatria na FOU SP é um grande sonho! Muito obrigada por consentir que esse sonho se tornasse realidade!

Ao Prof. Dr. Antonio Carlos Guedes Pinto. O senhor é um admirável exemplo de competência, liderança e de ensino a Odontopediatria. Obrigada pelas oportunidades acadêmicas, pelos sábios conselhos sobre a vida e nossa linda profissão e por mostrar que é impossível dissociá-las quando tudo que fazemos envolve amor e dedicação! Muito obrigada!!!

À Profa. Dra. Maria Salete Nahás Pires Corrêa - a doce e amada "Sassá", exemplo de PROFESSORA e ODONTO PEDIATRA para todos! É um honra poder aprender e conviver com a senhora! Nunca vou esquecer os dias de clínica e as "aulas" de condicionamento! A senhora é um espetáculo!

À Profa. Dra. Ana Lídia Ciamponi pelo carinho e agradável convívio. Admiro seu jeito de encarar a vida! **À Profa. Dra. Cláudia Perez Trindade** pelos momentos compartilhados na clínica de graduação noturno, sempre com bom-humor e alto- astral que lhe são peculiares. Você tem o dom de animar qualquer ambiente!

À Profa. Dra. Ana Estela Haddad pela convivência e atenção. **À Profa. Dra. Márcia Turolla Wanderley** pelo carinho e momentos compartilhados durante todos esses anos. Admiro sua paixão pelo trauma!

À minha querida turma de pós-graduação! Ale Reyes, Camila Guglielmi, Chaiana Piovesan, Chris Murakami, Dani Bittar, Dani Hesse, Janaina Aldrigui, Jenny Abanto, Karlinha Rezende, Nadia Jabbar, Tati Novaes, Tuca Matos e Vanessinha. Deus realmente sabe o que faz! Uniu pessoas tão singulares para formar essa turma tão maravilhosa... a "melhor turma de todos os tempos"... aquela que sempre vai deixar saudades! Obrigada de **CORAÇÃO** por toda amizade, carinho, respeito, companheirismo, aprendizado e apoio de vocês! Obrigada por me receberem tão bem em São Paulo e fazerem da nossa salinha a extensão da minha casa! Obrigada por me deixarem fazer parte da vida de cada uma de vocês! Admiro e desejo muito **SUCESSO** a todas! Vocês são inesquecíveis!!!

Chaia, você dividiu comigo o sonho do doutorado! Muito obrigada por **TODOS** os momentos compartilhados... na salinha da FOUSP e em nossa casa paulista! Momentos que eu jamais esquecerei! Obrigada pela amizade, respeito, apoio e confiança! Você é realmente especial para mim! Conte sempre comigo!

Camilinha e **Dani Hesse**, muito obrigada por me agregaram a dupla! E juntas formamos o trio de paquitas da Dani!!! Agradeço todo carinho, confiança e amizade!!! Vocês são muito especiais! **Camilinha**, você é umas das pessoas mais serenas e meigas que eu conheço! Obrigada pela parceria no laboratório - quantas histórias para contar dos nossos túbulos - e nas viagens! **Dani Hesse**, você é realmente única! Adoro seu jeito e admiro a maneira como você encara a vida! Sua amizade é muito importante para mim! Vou sentir saudades das risadas (a brincalhona oficial da turma), da companhia de todos os dias, das conversas, das nossas viagens inesquecíveis!

Torço muito pela felicidade de vocês! **ADORO VOCÊS!!!**

Karla com K, minha sis do coração!!! Que felicidade que a vida nos encontrou! E posso dizer que foi amor à primeira vista(rs)... Desde o primeiro dia na USP, quando nos conhecemos, não pude mais desgrudar de você! Você é a alegria em pessoa... ilumina por onde passa! Impossível não associar a pós-graduação ao seu alto-astral todos os dias na salinha e ao "Hello!!!" de todas as manhãs! Engraçado como temos afinidades... e como nós nos completamos com as nossas diferenças (minha alma gêmea!!!). Além de uma amiga muito amada e querida, te considero minha irmã da vida ... aquela que tem um lugar muito especial no meu coração! Minha AMIGA-IRMÃ para vida toda!!!

Obrigada por todo seu carinho, pelos conselhos, pelos abraços carinhosos, pelas palavras sempre tão confortantes, pelas ligações diárias, pelas risadas e choros, pelos passeios ao shopping e as aventuras rodoviárias(rs), pelas viagens, pela preocupação e cuidado de irmã, pelo apoio incondicional, por estar presente em TODOS os momentos, mesmo de longe! OBRIGADA POR TUDO, MINHA SIS! Seu coração é maior do que você! Você é uma pessoa maravilhosa que merece tudo o que há de melhor! Estarei SEMPRE torcendo por você (na primeira fila) e sei que a recíproca é verdade! TE ADORO E ADMIRO demais!!!

Tati Novaes, minha xará querida!!! Sinceramente, te invejo ("inveja branca"). Você é demais!!! Admiro demais sua dedicação, organização e amor por tudo o que faz! Obrigada pelo carinho em todos os momentos, pelo trabalho em equipe e a vivência de ser professora! **Tuquinha** linda! Adoro sua alegria! Obrigada pela companhia, pelas conversas e pelo sorriso confortante!

Jenny, admiro sua determinação! Aprendi muito com você! Obrigada pela recepção em São Paulo, pelo carinho e por todos os momentos compartilhados! **Chris Murakami**, obrigada pela convivência!

Dani Bittar e Nadinha, adoro o bom-humor e alegria de vocês! Obrigada pelo carinho de sempre! **Jana**, obrigada pelo carinho e pelos conselhos... acabei descobrindo que temos muitas coisas em comum!

Ale Reyes, obrigada pela amizade, disposição em ajudar sempre e por todos os bons momentos que passamos juntas! Admiro você!!! **Vanessinha**, obrigada pela companhia de todos os dias! Acredite na sua força porque você tem de sobra!

Aos amigos da turma mais animada - Juan e Tamara!

Baby (Juanito), talvez você não imagine o quanto é importante para mim! Você é um amigo muito querido e especial... daqueles que a gente quer ter sempre por perto! É muito bom compartilhar minha vida com você... afinal, o que fica são os bons momentos e isso você me proporcionou de sobra! ADORO VOCÊ!!!

Ta, minha amiga linda e amada! Como Caio F. Abreu diz: "Nesta estrada quero achar gente doce, límpida, verdadeira e disposta..." Você com certeza é uma delas na minha vida!!! O mestrado me presenteou com a sua amizade e o doutorado ajudou a cultivá-la. Afinal, tivemos um convívio intenso (na faculdade e em casa... 24 horas por dia!), com muito respeito, carinho e cumplicidade! Obrigada pelas conversas e pelos mates, pelas risadas e choros também, pelas discussões científicas e nossa admiração pelo "mundo da adesão", pelos conselhos, pelos momentos de descontração - das comprinhas e happy hour no shopping aos dias no sofá, pela nossa amizade verdadeira, por estar sempre presente em minha vida, em todos os momentos, e já fazer parte da minha família... OBRIGADA POR TUDO!!!

Sou muito feliz por saber que podemos contar uma com a outra! Te quero sempre por perto (mesmo longe!!!)... TE ADORO MUITO!!!

Aos colegas e amigos da turma nova. Muito obrigada por todos os momentos, experiências e sentimentos compartilhados. Vocês são muito especiais! Desejo muito sucesso a vocês! De cada um, fica a lembrança de algo bom... **Ana Flávia** (solicitude), **Thais** (esforço), **Isa** (questionamento - "não concordo"), **Ju Kimura** (emoção), **Ju Mattos** (dedicação), **Caleb** (alegria), **Gustavo** (bom coração), **Gabi** (simpatia), **Helena** (pureza), **Paty** (tranquilidade), **Rafa** (bom-humor), **Levi** (serenidade) e **Renatinha** (comunicação).

"Saudade a gente tem dos pedaços de nós que ficam pelo caminho."

(Martha Medeiros)

Thatá, você é parte integrante da turma "velha" também! **ADMIRO** e tenho um orgulho enorme de você! Obrigada pelo bom-humor, pelo carinho, pela companhia sempre gostosa, por esse coração tão puro e gigante! Você merece o que há de melhor!

Renatinha, você chegou para completar o "time das gaúchas" e encher a nossa casa de alegria! Você é mais uma pessoa especial que Deus colocou no meu caminho... que eu tive a grata oportunidade de conhecer melhor em São Paulo. Obrigada pela companhia, pelos almoços, pelos mates e brigadeiros aos domingos, pelas conversas, pelo carinho, pela amizade! Gosto muito de você! Conte sempre comigo!

Ana querida, você não existe! Nunca vi tanta doçura e solicitude juntas! Você é mais um presente que eu ganhei na pós-graduação! Obrigada pelas palavras certas em todas as horas, pela companhia, pela troca de experiências, pela amizade... Com muito carinho sempre estive presente! Gosto muito de você!

Paquitas amadas... Não poderia deixar de agradecer a todas vocês juntas (Ana, Camilinha, Dani Hesse e Tamara) por tudo o que são e fazem por mim! Sou muito feliz por ter a oportunidade de trabalhar e conviver com vocês! Como a nossa querida orientadora nos mostrou, ninguém faz nada sozinho! E como a letra diz: "Todos somos um e juntos não existe mal nenhum.... nós somos invencíveis, pode crer..."

À Gabi Bonini e Babou pelas oportunidades acadêmicas e confiança. Admiro muito vocês!!!

Aos queridos Lucila - você é um exemplo para mim!!!, **Cassio, Isa Cadioli, Paulinha, Fabi e Thiago Saads** por também me acompanharam nesta jornada!

À Universidade Federal de Santa Maria - Onde tudo começou... - pela formação de qualidade durante a graduação e pós-graduação e a todos os mestres envolvidos nesse processo, cujas palavras me ensinaram a ver o mundo.

À Profa. Dra. Rachel de Oliveira Rocha, minha querida orientadora! Você me acolheu carinhosamente no mestrado e me ajudou a cultivar a "sementinha" do amor à pesquisa que havia sido plantada na época da iniciação científica com o Prof. Susin. Mais ainda... você me mostrou o caminho da docência e o quanto essa trajetória pode ser recompensadora, apesar de todo esforço e dedicação que envolve! Meus primeiros slides, as primeiras frases decoradas que depois se tornaram tão naturais, as primeiras apresentações, os primeiros "palitos" no laboratório... você me pegou pela mão e em todos os momentos esteve presente! Me ensinou valores importantíssimos que vou levar para a vida toda! TE ADMIRO e te tenho como exemplo! Admiro sua integridade, competência e dedicação a tudo que faz! Obrigada pela confiança e apoio, especialmente para que o sonho do doutorado fosse possível! Muito obrigada pela paciência e disponibilidade ao me

ajudar a sanar minhas dúvidas e indagações, pelas palavras sempre sábias e confortantes, pelos encontros no Dani Café... POR TUDO! Sou eternamente grata a você! Com a nossa convivência pude conhecer sua família linda... Marina, Paulinha e Fábio. Você é muito importante para mim! Espero poder conviver e trabalhar com você por muuuito tempo!

Ao querido Prof. Alexandre Henrique Susin, meu orientador durante a iniciação científica. Acho que você nem imagina a importância que tem em minha vida. Jamais esquecerei minha primeira pesquisa científica... e a bendita ciclagem térmica manual!(rs) Muito obrigada por ter acolhido as "Meninas Super Poderosas", pelas horas de discussão científica, ou não, nas sextas-feiras a tarde, pelo incentivo à pesquisa e docência e pela generosidade em compartilhar seu conhecimento sobre o "fantástico mundo da adesão". Você com certeza é responsável por minha escolha pela vida acadêmica! Embora eu tenha desviado a trajetória para a Odontopediatria, a adesão continua fazendo parte dela! Posso dizer que existe uma Materiana por trás da Odontopediatra ou vice-versa!

Aos professores da Disciplina de Odontopediatria da UFSM: Ana Paula, Marta, Juliana, Leandro e Thiago pelo exemplo e ensinamentos durante a graduação e pós-graduação que me fizeram trilhar no mundo da Odontopediatria. Em especial, ao Thiago, pela disponibilidade, generosidade, apoio e coração gigantesco! Com certeza, você tem uma parcela imensamente significativa no meu ingresso no doutorado. **Muito obrigada!**

À Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo - uma instituição que respira ciência! Pelas infinitas oportunidades de aprendizagem. É um orgulho fazer parte dessa história!

Ao Departamento de Ortodontia e Odontopediatria pela oportunidade de realizar o curso de Doutorado.

A todos os funcionários da Disciplina de Odontopediatria: **Anne** ("Annezinha") - pela meiguice e solicitude; **Antônio** - por trás de um semblante sério, existe um nobre coração; **Julio** - pela força e bom humor; **Fátima** ("Fafá") - pela alegria de viver e sua risada inconfundível ("um sorriso vale mais do que mil palavras") e pelos cafés diários e **Marize** ("Ma") - pelo zelo de mãe (sem contar as caronas!!!) e manejo com as questões práticas da pós-graduação. Obrigada a todos vocês pela amizade, convivência diária, prontidão em ajudar e carinho recebido durante esses anos. Vocês são muito especiais!

Ao Departamento de Biomateriais e Biologia Oral e ao Departamento de Dentística pela disponibilidade de sua infraestrutura física, materiais e equipamentos e pela possibilidade da minha presença constante. Obrigada **Rosa Cristina Nogueira** ("Rosinha") pela gentileza e bom humor de todos os dias durante minhas idas e vindas ao laboratório do Departamento de Biomateriais e Biologia Oral.

Ao Prof. Dr. Victor Elias Arana-Chavez pela disponibilidade, confiança e ajuda com as microscopias eletrônicas de varredura. Obrigada por manter as portas do laboratório do Departamento de Biomateriais e Biologia Oral sempre abertas para que eu pudesse desenvolver não somente a parte experimental da tese, mas outros projetos realizados com sua parceria.

A todos os técnicos dos laboratórios de pesquisa por contribuírem para a realização deste e muitos outros projetos. Agradeço ao **Antonio** ("Seu Antônio" ou "Anthony" - já me permito esta intimidade!) pelo bom humor e infinita ajuda, a

"Soninha" pela disponibilidade e ao **Douglas** pela paciência em ensinar a fazer os litros e mais litros de soluções DES/RE! Em especial, à querida **Liz**, do Laboratório de Caracterização Tecnológica da Escola Politécnica da FOU SP pela doçura e imenso auxílio com as microscopias em todos os momentos (mesmo os desesperadores!!!).

Aos alunos de pós-graduação do Departamento de Biomateriais e Biologia Oral pela convivência no laboratório e no crédito de estatística. Não poderia deixar de agradecer ao **Prof. Antônio Muench** pelos ensinamentos estatísticos. O senhor é um exemplo de mestre!

À fofíssima Karen Akemi Fukushima ("Fuko"). Seu nome já diz tudo: *Akemi - linda luz!* Você é umas das pessoas mais doces e iluminadas que eu já conheci! Dona de um coração gigante! Obrigada pela companhia no laboratório (só assim eu pude ficar até tarde no "laboratório vizinho" estourando meus palitos!), pelas jantinhas em casa (a cozinheira oficial do ap das gaúchas), por me permitir fazer parte da sua vida... pela nossa amizade! Estarei sempre torcendo por você!

Ao meu querido amigo Eugenio! Nunca imaginei que um dia seria amiga de um *argentino(rs)* Brincadeira à parte, você é um ser humano ímpar! Te admiro muito! Obrigada por estar sempre disposto a me ajudar, por ouvir minhas dúvidas nos momentos de "crises existenciais" e me tranquilizar (ou pelo menos tentar!) em relação ao futuro, pelas risadas, pela amizade sincera! Obrigada pelas vezes que me causou alguma inquietude dentro do que discutimos... isso realmente foi importante para mim! Te desejo toda felicidade do mundo! Você merece!!!

Às estagiárias e companheiras da clínica de ART da FOU SP pelos momentos que passamos juntas as quartas-feiras à tarde.

Ao Banco de Dentes Humanos da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo pela doação dos dentes para esta pesquisa.

A todos os funcionários do SDO pela estruturação, formatação, correção das referências e pela elaboração da Ficha Catalográfica.

A todos os alunos dos cursos de aperfeiçoamento, especialização e mestrado por me inspirarem como professora. Em especial, à **turma de mestrado de excelência da São Leopoldo Mandic** pelo agradável convívio! Vocês são muitos especiais para mim! **Aos professores do curso de mestrado de excelência da São Leopoldo Mandic** pela confiança e respeito!

À Suzane Nobre, my dear teacher, pela correção do Abstract.

Aos meus familiares, que mesmo longe, sempre torceram por mim e vibraram com as minhas conquistas! Muito bom quando estamos todos juntos!

À querida família Niederauer de Freitas, Tia Irene, Tio Vitélio, Fran e Rodrigo, por serem uma continuação da minha família... sempre com muito afeto e carinho estiveram presentes! Obrigada pela intensa torcida em todos os momentos! Em especial, à Tia Irene, pela preocupação constante, incentivo e apoio incondicional, pelas ligações e conselhos concedidos com muito carinho e pelos cuidados de mãe!

A Nina, a mais nova integrante da família! A minha "substituta" em casa nos momentos de ausência durante esses anos!

Aos meus amigos e amigas, por fazerem parte da minha vida, entenderem minha ausência em muitos momentos e sempre me apoiarem em tudo! Adoro vocês!!!

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP, pela concessão da bolsa de estudos (Processo 2009/16597-0). **Obrigada!!!**

A todos que de alguma maneira, contribuíram para a execução deste trabalho!

A todos vocês, meu eterno carinho e gratidão!

MUITO OBRIGADA!!!

A autora da dissertação, bem como sua orientadora, não apresentam nenhum tipo de interesse comercial ou financeiro em nenhum produto ou empresa citados na pesquisa.

“Abraça o que te faz sorrir. Sonha que é de graça.”

Caio Fernando Abreu

RESUMO

Lenzi TL. Efeito da condição do substrato e do tempo de condicionamento na estabilidade da união de sistemas adesivos à dentina de dentes decíduos [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2013. Versão Original.

Este estudo objetivou investigar a influência da redução do tempo de condicionamento na união de sistemas adesivos à dentina hígida e afetada por cárie de dentes decíduos, por meio de testes de microtração, nanoinfiltração e avaliação micromorfológica da interface adesiva. A superfície dentinária de 48 segundos molares decíduos foi exposta e os dentes divididos aleatoriamente em 8 grupos experimentais de acordo com o substrato (dentina hígida e afetada por cárie – ciclagem de pH por 14 dias), sistema adesivo (Adper Single Bond 2 – adesivo convencional de dois passos e Clearfil SE Bond - sistema autocondicionante de dois passos) e tempo de condicionamento (recomendado pelo fabricante e metade do tempo). Desta forma, o adesivo Adper Single Bond 2 foi aplicado à dentina após condicionamento com ácido fosfórico a 35% por 15 ou 7 segundos e o agente de união do Clearfil SE Bond após 20 ou 10 segundos de aplicação do *primer*. Blocos de resina composta (Filtek Z250) foram confeccionados e, após 24 horas de armazenamento em água destilada, os dentes foram seccionados para obtenção de espécimes com área de secção transversal de aproximadamente 0,8 mm². Metade dos espécimes foi submetida imediatamente ao teste de microtração e a outra metade após 12 meses de armazenamento em água destilada. O padrão de fratura foi avaliado em estereomicroscópio com aumento de 400x. Dois espécimes de cada dente nos respectivos períodos de armazenamento foram imersos em nitrato de prata amoniacal por 24 horas e revelados (8 horas) para avaliação da nanoinfiltração em microscopia eletrônica de varredura. Adicionalmente, dois dentes para cada grupo experimental (n=16) foram preparados como descrito para o teste de microtração e seccionados perpendicularmente à interface adesiva, após 24 horas, para análise da micromorfologia e espessura da camada híbrida. Os valores de resistência de união, expressos em megapascal (MPa), foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey ($\alpha = 0,05$). As demais avaliações

foram descritivas. Os sistemas adesivos apresentaram valores similares de resistência de união imediata. Decréscimo dos valores de resistência de união ocorreu após 12 meses de armazenamento em água, exceto para o adesivo Clearfil SE Bond em substrato hígido. A adesão à dentina afetada foi menor em comparação à dentina hígida. A nanoinfiltração também foi mais pronunciada neste substrato. O tempo de condicionamento influenciou apenas a adesão do sistema adesivo Adper Single Bond 2. Maiores valores de resistência de união e menor infiltração de nitrato de prata na interface adesiva foram observados quando o tempo de condicionamento ácido foi reduzido pela metade, independente do substrato. Camadas híbridas mais finas foram produzidas quando a dentina decídua foi condicionada por 7 segundos, especialmente em dentina afetada. Predomínio de fratura adesiva/mista foi observado para todos os grupos experimentais. Em conclusão, o efeito da redução no tempo de condicionamento é material dependente e resulta em maior estabilidade da união de sistema adesivo convencional de dois passos à dentina hígida e afetada de dentes decíduos.

Palavras-chave: Adesivos dentinários. Dente decíduo. Dentina. Cárie dentária. Microscopia eletrônica de varredura. Resistência à tração.

ABSTRACT

Lenzi TL. Effect of substrate condition and etching time on the bonds stability of adhesive systems to dentin of primary teeth [thesis]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2013. Versão Original.

This study aimed to investigate the influence of shortening the etching time on bond of adhesive systems to sound and caries-affected dentin of primary teeth by microtensile and nanoleakage tests, and micromorphological evaluation of the adhesive interface. The dentinal surface of 48 second primary molars was exposed and the teeth were randomly assigned to 8 experimental groups according to substrate (sound and caries-affected dentin - pH-cycling for 14 days), adhesive system (Adper Single Bond 2 – two-step etch-and-rinse adhesive system and Clearfil SE Bond – two step self-etch adhesive system) and etching time (recommend by manufacturers and half-reduced time). Thus, the adhesive Adper Single Bond 2 was applied to dentin after 35% phosphoric acid etching for 15 or 7 seconds, and the bond of Clearfil SE Bond after 20 or 10 seconds of primer application. Composite resin blocks (Filtek Z250) were built and, after 24 hours of storage in distilled water, the teeth were sectioned to obtain specimens with cross-sectional area of approximately 0.8 mm². Half of the specimens were immediately subjected to microtensile test and the other half after 12 months of storage in distilled water. The fracture pattern was evaluated with a stereomicroscope at 400x magnification. Two specimens from each tooth in the respective storage periods were immersed in ammoniacal silver nitrate for 24 hours and revealed (8 hours) to evaluate the nanoleakage in scanning electron microscope. Additionally, two teeth for each experimental group (n=16) were prepared as described for the microtensile test and perpendicularly sectioned to the adhesive interface, after 24 hours, for analysis of micromorphology and thickness of the hybrid layer. Bond strength values, expressed in megapascal (MPa), were submitted to Analysis of Variance (ANOVA) and Tukey's tests ($\alpha = 0.05$). Other evaluations were descriptive. The adhesive systems presented similar immediate bond strength values. A decrease in bond strength values occurred after 12 months of water storage, except for Clearfil SE Bond in sound substrate. Bonding to caries-affected dentin was lower compared to sound

dentin. The nanoleakage was also more pronounced in this substrate. Etching time only influenced the bonding of the adhesive system Adper Single Bond 2. Higher bond strength values and lower infiltration of silver nitrate into adhesive interface were observed when the etching time was half-reduced, irrespective of the substrate. Thinner hybrid layers were produced when the primary dentin was acid etched for 7 seconds, especially in caries-affected dentin. Predominance of adhesive/mixed fracture was observed for all experimental groups. In conclusion, the effect of shortening the etching time is material dependent and results in higher bond stability of two-step etch-and-rinse adhesive system to sound and caries-affected dentin of primary teeth.

Keywords: Dentin-bonding agents. Deciduous tooth. Dentin. Dental caries. Scanning electron microscopy. Tensile strength.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 4.1 - Esquema do preparo dos corpos de prova e obtenção dos espécimes para a execução dos testes utilizados no estudo: (A) Remoção do esmalte oclusal dos segundos molares decíduos com o propósito de obter superfície dentinária plana, seguido da remoção do esmalte circundante à dentina. (B) Confecção de blocos de resina composta após os procedimentos adesivos, de acordo com o grupo experimental. (C) Seccionamento dos corpos de prova perpendicularmente à interface adesiva (sentido vestibulo-lingual). (D) Obtenção e inclusão de secções centrais dos dentes (duas por grupo) para avaliação da espessura da camada híbrida. (E) Sequência de cortes para obtenção de espécimes em forma de palito. (F) Seleção dos espécimes. (G) Distribuição aleatória dos espécimes de acordo com o período de armazenamento em água destilada. (H) Teste de nanoinfiltração. (I) Teste de microtração.....54
- Gráfico 5.1 - Distribuição percentual dos tipos de fratura para o sistema adesivo Adper Single Bond 2.....60
- Gráfico 5.2 - Distribuição percentual dos tipos de fratura para o sistema adesivo Clearfil SE Bond.....60
- Figura 5.1 - Fotomicrografias em MEV (aumento de 100x) da porção de dentina de espécimes que apresentaram fratura do tipo adesiva/mista. (a) e (b) falhas adesivas; (c) falha adesiva associada à fratura coesiva em resina; (d) fratura adesiva associada à falha coesiva em dentina. A – adesivo; CR - coesiva em resina; CD - coesiva em dentina.....61
- Figura 5.2 - Fotomicrografias em MEV (aumento de 1000x) da nanoinfiltração na interface adesiva para o sistema adesivo Adper Single Bond 2 nas diferentes condições experimentais. Nos espécimes testados imediatamente, poucas áreas de deposição de nitrato de prata foram observadas na interface adesiva (indicadores nas Figuras a, c, e, g). Após 12 meses, uma maior quantidade de nitrato de prata foi observada quando a dentina hígida e afetada foram condicionadas por 15 segundos (mais indicadores nas Figuras d, h). A – camada de adesivo; RC – resina composta; CH – camada híbrida; D – dentina.....62

Figura 5.3 - Fotomicrografias em MEV (aumento de 1000x) da nanoinfiltração na interface adesiva para o sistema Clearfil SE Bond nas diferentes condições experimentais. Nos espécimes testados imediatamente, poucas áreas de deposição de nitrato de prata foram observadas na interface adesiva (indicadores nas figuras a, c, e, g). Após 12 meses, uma maior quantidade de nitrato de prata foi observada na interface adesiva apenas em substrato afetado pela lesão de cárie (Figuras f, h) (mais indicadores). A – camada de adesivo; RC – resina composta; CH – camada híbrida; D – dentina.....63

Figura 5.4 - Fotomicrografias em MEV (aumento de 5000x) representativas das interfaces adesivas produzidas com o adesivo Adper Single Bond 2 após 15 e 7 segundos de condicionamento ácido da dentina hígida e afetada de dentes decíduos. Camadas híbridas (entre setas) mais espessas são observadas nas Figuras a ($\pm 3,54 \mu\text{m}$) e b ($\pm 6,59 \mu\text{m}$) em comparação as Figuras c ($\pm 2,26 \mu\text{m}$) e d ($\pm 3,45 \mu\text{m}$), para dentina hígida e afetada, respectivamente. A espessura da camada híbrida formada após 7 segundos de condicionamento ácido da dentina afetada foi similar àquela produzida após 15 segundos de condicionamento da dentina hígida. Longos *tags* resinosos com ramificações laterais podem ser vistos (indicadores), exceto quando a dentina afetada foi condicionada pelo tempo recomendado pelo fabricante. A – camada de adesivo; RC – resina composta; D – dentina.....65

Figura 5.5 - Fotomicrografias em MEV (aumento de 5000x) representativas das interfaces adesivas produzidas com o adesivo Clearfil SE Bond após 20 e 10 segundos de aplicação do *primer* em dentina hígida e afetada de dentes decíduos. Camadas híbridas menos distintas e curtos *tags* de resina foram observados. Escassos *tags* resinosos com ramificações laterais são vistos apenas nas Figuras a e b (indicadores). A – camada de adesivo; RC – resina composta; D – dentina.....66

LISTA DE QUADROS

Quadro 4.1 - Grupos experimentais de acordo com o substrato, sistema adesivo e tempo de condicionamento.....	47
Quadro 4.2 - Composição das soluções utilizadas na ciclagem de pH.....	48
Quadro 4.3 - Materiais utilizados e seus respectivos fabricantes, composições, pH e lotes.....	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 5.1 - Médias dos valores de resistência de união imediata (MPa) e os desvios-padrão considerando os fatores sistema adesivo, substrato e tempo de condicionamento.....	56
Tabela 5.2 - Médias dos valores de resistência de união (MPa) e os desvios-padrão do sistema adesivo Adper Single Bond 2 para todos os grupos experimentais.....	57
Tabela 5.3 - Médias dos valores de resistência de união (MPa) e os desvios-padrão do sistema adesivo Clearfil SE Bond para todos os grupos experimentais.....	58
Tabela 5.4 - Número e percentual (%) de espécimes, total de palitos testados de acordo com o padrão de fratura e fraturas prematuras para todos os grupos experimentais.....	59

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	31
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	33
2.1 Mecanismos de adesão à dentina e classificação dos sistemas adesivos.....	34
2.2 Peculiaridades da dentina de dentes decíduos como substrato para adesão.....	37
2.3 Interações dos substratos dentinários hígido e afetado por cárie com os sistemas adesivos.....	40
2.4 Qualidade e durabilidade da interface resina-dentina: ensaios mecânicos de adesão e avaliações microestruturais.....	42
3 PROPOSIÇÃO.....	46
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	47
4.1 Descrição geral e seleção da amostra.....	47
4.2 Grupos experimentais.....	47
4.2.1 Grupo substrato afetado por cárie.....	48
4.3 Preparo dos corpos de prova.....	48
4.4 Procedimentos restauradores.....	49
4.4.1 Procedimentos restauradores – grupo Adper Single Bond 2.....	50
4.4.2 Procedimentos restauradores – grupo Clearfil SE Bond.....	50
4.5 Teste de microtração.....	51
4.6 Análise do padrão de fratura.....	52
4.7 Nanoinfiltração – Análise da penetração do nitrato de prata na interface adesiva em microscopia eletrônica de varredura.....	52
4.8 Microscopia eletrônica de varredura – Avaliação da micromorfologia e espessura da camada híbrida.....	53
4.9 Análise estatística.....	55
5 RESULTADOS.....	56
5.1 Resistência de união imediata.....	56
5.2 Degradação da união.....	56
5.3 Padrão de fratura.....	58
5.4 Nanoinfiltração.....	61
5.5 Micromorfologia e espessura da camada híbrida.....	63

6 DISCUSSÃO.....	67
7 CONCLUSÃO.....	73
REFERÊNCIAS.....	74
ANEXO.....	85

1 INTRODUÇÃO

Tradicionalmente, o conhecimento adquirido sobre dentes permanentes é transferido aos decíduos, visto que o mesmo protocolo de aplicação de sistemas adesivos tem sido indicado para ambos os substratos, apesar das diferenças microestruturais entre a dentina decídua e permanente.

A dentina de dentes decíduos apresenta menor conteúdo mineral (1) e aumento da concentração de carbonato (2) quando comparada à dentina de dentes permanentes. Além disso, o maior número de túbulos dentinários verificado em dentes decíduos (3) promove vias de difusão mais rápidas e fáceis para o agente ácido (4), ao mesmo tempo em que a maior espessura de dentina peritubular parece ser responsável pela liberação de maiores quantidade de cálcio em relação à dentina permanente (5).

Todas essas características conferem a esse substrato maior solubilidade e menor capacidade de tamponamento e, como consequência, maior reatividade a soluções acídicas, resultando em zonas de desmineralização mais profundas quando a dentina decídua é condicionada pelo tempo recomendado para dentes permanentes (6-7).

O aumento da desmineralização da dentina dificulta a impregnação de adesivo em sua totalidade, propiciando a manutenção de fibrilas colágenas desprovidas de reforço mineral e/ou monomérico na base da camada híbrida e subsequente degradação hidrolítica (8) e enzimática (9) dos constituintes da união resina-dentina ao longo do tempo.

Uma forma simples e, aplicável clinicamente, de diminuir a discrepância entre a profundidade de desmineralização e infiltração dos monômeros resinosos é o controle do tempo de condicionamento ácido. Tem sido demonstrado que a redução do tempo de condicionamento da dentina decídua em aproximadamente metade do tempo recomendado para dentes permanentes não influencia negativamente a resistência de união imediata de sistemas adesivos (10-13), assim como favorece a estabilidade longitudinal das interfaces adesivas (12). Apesar de promissores, os resultados foram obtidos somente sobre dentina hígida.

Com o advento da filosofia de Mínima Intervenção na Odontologia e a possibilidade de recuperação biológica da dentina afetada por cárie (14-15), a

remoção seletiva do tecido cariado tem sido amplamente preconizada, com o objetivo de preservar estrutura dentária e evitar comprometimento pulpar. Sendo assim, a dentina afetada pelo processo carioso representa atualmente a condição clínica mais prevalente e relevante para a adesão.

O desempenho dos sistemas adesivos é diretamente influenciado por alterações químicas e micromorfológicas observadas na dentina afetada, culminando em menores valores de resistência de união (16-22), maior zona de dentina desmineralizada (23-24) e conseqüentemente, uma maior suscetibilidade à deterioração (25) em relação à dentina hígida.

Neste contexto, a redução do tempo de condicionamento poderia minimizar a quantidade de colágeno exposto na base da camada híbrida e melhorar, desta forma, a qualidade da interface adesiva, a fim de garantir funcionalidade e proteção biológica promovidas pelas restaurações aderidas a este substrato estruturalmente alterado. Todavia, essa premissa ainda não encontra respaldo científico.

Assim, o presente estudo se propõe a investigar o efeito da redução do tempo de condicionamento na longevidade da união de diferentes sistemas adesivos à dentina hígida e afetada de dentes decíduos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Com o melhor entendimento da cárie dentária como doença e uma maior compreensão dos seus fatores etiológicos, atrelados aos princípios da filosofia de Mínima Intervenção, procedimentos invasivos que resultavam em remoção desnecessária de estrutura dentária foram substituídos por condutas conservadoras. Assim, o tratamento de lesões diagnosticadas precocemente, em estágios iniciais em esmalte e/ou dentina, passou a envolver medidas de paralisação do processo carioso e controle clínico. Em estágios mais avançados, os procedimentos restauradores minimamente invasivos, concomitante com ações promotoras de saúde passaram a ser priorizados (26).

Sabe-se que dentes decíduos exercem um papel relevante no desenvolvimento do sistema estomatognático, justificando-se mantê-los na cavidade bucal até o momento da esfoliação fisiológica. O uso de materiais adesivos permite a recuperação da estrutura dental e a preservação dos tecidos sadios, seguindo os preceitos da Mínima Intervenção. Entretanto, frente ao atual paradigma restaurador, que preconiza a manutenção da dentina afetada nos preparos cavitários, os materiais restauradores estão sendo solicitados a se aderir a superfícies diversas das quais foram idealizados.

Ainda que a efetividade imediata da união das restaurações contemporâneas seja favorável, sua principal limitação é a durabilidade, pois as interfaces adesivas estão constantemente expostas à biodegradação em meio bucal (8). Diversos fatores que podem influenciar a integridade e durabilidade da união resina-dentina, como tipo de dente (dentes decíduos ou permanentes) e condição do substrato (dentina hígida e afetada por cárie), composição e protocolo de aplicação dos sistemas adesivos têm sido investigados com o intuito de melhorar a qualidade das interfaces adesivas.

Essas conjunturas suscitaram a investigação da condição do substrato e do tempo de condicionamento na resistência de união imediata e em longo prazo de diferentes sistemas adesivos à dentina de dentes decíduos. Assim sendo, a revisão de literatura foi didaticamente subdividida em tópicos: 2.1) Mecanismos de adesão à dentina e classificação dos sistemas adesivos; 2.2) Peculiaridades da dentina de dentes decíduos como substrato para adesão; 2.3) Interações dos substratos

dentinários hígido e afetado por cárie com os sistemas adesivos; 2.4) Qualidade e durabilidade da interface resina-dentina: ensaios mecânicos de adesão e avaliações microestruturais.

2.1 Mecanismos de adesão à dentina e classificação dos sistemas adesivos

Fatos marcantes como a proposta do condicionamento ácido do esmalte (27), do condicionamento ácido da dentina (28), a descrição da camada híbrida, terminologia pela qual é conhecida a zona de interdifusão resina-dentina (29) e a possibilidade de adesão ao substrato dentinário úmido (30) suscitaram significativas mudanças na Odontologia Restauradora.

Inúmeras pesquisas têm sido realizadas com o propósito de aperfeiçoar a qualidade da adesão aos substratos dentários. Isso porque a adesão à dentina é um processo mais complexo e menos previsível do que a adesão ao esmalte (31). O desafio imposto pelo substrato dentinário deve-se à sua heterogeneidade, em termos de estrutura e composição (32-33), a qual varia regionalmente em um mesmo dente, e à sua característica intrinsecamente úmida. Essas diferenças se intensificam quando diferentes substratos são comparados, como dentina hígida e afetada por cárie, devido às alterações decorrentes dos processos fisiopatológicos, o que também poderia ser esperado para dentina decídua e permanente.

A dentina apresenta estrutura basicamente tubular, composta por 20% de água e 30% de matriz orgânica em volume. Nesse sentido, componentes hidrofílicos foram adicionados aos monômeros hidrofóbicos para facilitar a infiltração do agente de união entre as fibrilas colágenas expostas pela ação dos ácidos e proporcionar a formação da camada híbrida, fator primordial na adesão à dentina.

Os sistemas adesivos contemporâneos são constituídos de três componentes básicos: agente condicionador, *primer* e adesivo ou *bond*, que podem ser apresentados separadamente ou associados. Segundo as etapas operatórias, podem ser classificados em duas categorias: sistemas *etch and rinse* ou convencionais (com condicionamento ácido prévio, seguido de lavagem) e sistemas *self-etch* ou autocondicionantes (34).

Os sistemas adesivos *etch and rinse* podem apresentar-se comercialmente em três frascos, com os componentes (ácido, *primer* e adesivo) fornecidos

separadamente, constituindo os chamados sistemas de três etapas ou em um único frasco (*primer* e adesivo), denominados adesivos de duas etapas (34).

O condicionamento prévio da dentina com ácido fosfórico 35-37% remove a *smear layer* (lama dentinária) e *smear plug* (tampão de lama na entrada do túbulo) e desmineraliza as estruturas dentinárias subjacentes. Essa etapa é considerada crítica, em virtude da necessidade do procedimento de lavagem para eliminar o agente condicionador e da exigência de manutenção da umidade intrínseca da dentina (35). A desidratação do substrato dentinário promove o colapso das fibrilas colágenas, reduzindo a infiltração dos monômeros resinosos. Da mesma forma, a umidade residual excessiva pode dificultar a ação dos monômeros no substrato desmineralizado, pela diluição desses componentes (35).

Já os sistemas adesivos autocondicionantes suprimem a etapa de condicionamento prévio do substrato, uma vez que a aplicação dos monômeros ácidos promove simultaneamente a desmineralização dos componentes inorgânicos e a infiltração do adesivo nas fibrilas colágenas da dentina (34), com a incorporação de parte da lama dentinária na camada híbrida. Assim, a possibilidade de discrepância entre a desmineralização do substrato e subsequente infiltração dos monômeros resinosos, inerente aos adesivos que demandam condicionamento prévio, é reduzida e com isso, falhas decorrentes de erros no protocolo adesivo são minimizadas.

Os sistemas *self-etch* são subdivididos em materiais de duas etapas e passo único, consoantes à apresentação, respectivamente, em duas soluções distintas, *primer* e adesivo e em versão simplificada, na qual, independente do número de soluções, a aplicação é feita em passo operatório único. Além disso, podem ainda, ser classificados conforme sua acidez em fortes ($\text{pH} < 1$), intermediários ($1 < \text{pH} < 2$) e suaves ($\text{pH} > 2$) (34). As diferenças de pH, concentração de ácido e capacidade tampão determinam o grau de desmineralização e, conseqüentemente, padrões de hibridização distintos.

A despeito do grande número de sistemas adesivos disponíveis comercialmente, a indicação clínica depende da eficácia dos mesmos. Uma revisão sistemática da literatura (36) sobre o desempenho clínico dos sistemas adesivos demonstrou que os adesivos convencionais de três passos e os autocondicionantes de dois passos apresentam desempenho clínico bom. Já os adesivos convencionais de dois passos foram menos efetivos, enquanto que os sistemas autocondicionantes

de passo único ainda apresentam desempenho ineficiente, evidenciando que a simplificação da técnica compromete sua efetividade. A presença de monômeros hidrofílicos e acídicos nos sistemas de passo único implica em grandes quantidades de água para permitir sua ionização, resultando em camadas híbridas mais permeáveis e suscetíveis à degradação (37).

Ainda que ensaios clínicos ofereçam maior evidência científica, fatores relativos a questões éticas, longo tempo, recursos financeiros e humanos dificultam ou inviabilizam estes estudos. Sendo assim, a maioria dos estudos envolvendo a avaliação da interação material/substrato dental é laboratorial (38). Mesmo porque, a evolução dos sistemas adesivos é tão dinâmica que estudos clínicos longitudinais acabam envolvendo materiais já em desuso no mercado. Ademais, estudos laboratoriais tem a vantagem de avaliar, inicialmente, uma variável de interesse com menos vieses (39), visto que é possível isolar o fator a ser estudado.

A resistência de união é um importante indicador da eficácia dos sistemas adesivos, uma vez que possibilita ao material resistir às tensões decorrentes da contração de polimerização da resina composta, evitando a formação de fendas que possam levar a microinfiltração, lesões de cárie secundárias e sensibilidade pós-operatória (34). Os testes de resistência de união são meios simples e efetivos para avaliar o desempenho dos sistemas adesivos (40) e tem sido amplamente utilizados.

O teste de microtração proposto por Sano et al. (41) é considerado o ensaio mais adequado para a avaliação da resistência de união de materiais adesivos aos substratos dentais em pequenas áreas, proporcionado a distribuição mais uniforme das tensões. Além disso, possibilita a avaliação da resistência de união em diferentes regiões do mesmo substrato (34), em superfícies irregulares (41) e em diferentes substratos, como dentina hígida e afetada (16).

A despeito do considerável número de pesquisas que avaliaram a resistência de união de sistemas adesivos convencionais e autocondicionantes à dentina de dentes humanos, poucos estudos utilizaram dentes decíduos, especialmente por meio do teste de microtração (10, 13, 42-45). Os resultados destas investigações têm revelado que o desempenho dos adesivos convencionais de dois ou três passos e dos sistemas autocondicionantes de dois passos é superior comparado aos sistemas autocondicionantes de passo único (13, 45). Além disso, os valores de resistência de união de sistemas adesivos com condicionamento ácido prévio de

dois passos e autocondicionantes de dois passos à dentina de dentes decíduos são similares (42-43).

2.2 Peculiaridades da dentina de dentes decíduos como substrato para adesão

Não obstante a limitada informação sobre a resistência de união de sistemas adesivos à dentina decídua, estudos comparativos sobre desempenho adesivo em dentina de dentes decíduos e permanentes ainda são controversos. Enquanto alguns estudos têm demonstrado menores valores de resistência de união à dentina decídua (46-48), outros têm revelado resultados similares entre os substratos (42-43, 49) ou ainda, desempenho superior em dentina decídua (50).

Além das evidentes discrepâncias de tamanho, diferenças na composição, umidade intrínseca, permeabilidade dentinária e densidade tubular existem entre dentes decíduos e permanentes, que podem influenciar no desempenho dos sistemas adesivos. A área de dentina intertubular é menor em dentes decíduos quando comparada aos dentes permanentes em razão da maior densidade dos túbulos dentinários (3, 51). A espessura da dentina peritubular dos dentes decíduos pode ser de duas a cinco vezes maior do que a dentina dos permanentes (5). Quimicamente, a dentina de dentes decíduos parece ser mais reativa a soluções acidificadas, o que poderia ser explicado pelo menor grau de mineralização observado nos tecidos dentários decíduos (1, 52) e aumento da concentração de carbonato (2).

A maior reatividade a substâncias ácidas sugerida para a dentina de dentes decíduos tem sido utilizada como argumento para justificar a formação de camadas híbridas aproximadamente 25 a 30% mais espessas nos dentes decíduos quando a dentina é condicionada pelo mesmo tempo recomendado para dentes permanentes (6-7). Entretanto, não há correlação positiva entre a espessura da camada híbrida e resistência de união. Camadas híbridas mais espessas tem maior chance de incorporar porosidades e imperfeições em seu interior (53), resultando em menores valores de resistência de união.

A profundidade de desmineralização da dentina também pode, além das características inerentes ao substrato, ser influenciada pela composição, concentração e forma de aplicação do agente condicionador (54-56), incluindo o seu tempo de permanência em contato com a estrutura dentária. Tempos mais longos de

condicionamento acarretam em zonas de desmineralização da dentina mais profundas. A camada híbrida ideal deveria ser espessa o suficiente para permitir o embricamento adesivo em torno das fibrilas colágenas expostas, mas a zona de desmineralização não deveria ser excessivamente profunda. Nesse sentido, redução no tempo de condicionamento tem sido sugerida para a dentina de dentes decíduos (10, 57).

Em contrapartida, também tem sido demonstrado que a ação do agente condicionador é similar na dentina de dentes decíduos e permanentes, com formação de camada híbrida de espessura similar quando da utilização do mesmo protocolo adesivo (43, 46). Diante da inexistência de comprovação científica, algumas pesquisas tem investigado o efeito da redução do tempo de condicionamento na união de diferentes sistemas adesivos à dentina de dentes decíduos (10-13, 58).

O estudo pioneiro conduzido por Sardella et al. (10) avaliou a influência da diminuição do tempo de condicionamento na resistência de união de um sistema adesivo convencional e um autocondicionante à dentina de dentes decíduos. Os adesivos foram testados de acordo com as orientações do fabricante e com metade do tempo de condicionamento preconizado, 7 segundos para o Single Bond e 10 segundos para o Clearfil SE Bond. A resistência de união do adesivo convencional foi superior à do autocondicionante. A redução do tempo de condicionamento em 50% aumentou a resistência de união à dentina decídua, somente para o Single Bond. Além disso, camadas híbridas menos espessas foram formadas quando a dentina foi condicionada com ácido fosfórico por 7 segundos. Camadas híbridas menos distintas foram observadas quando o Clearfil SE Bond foi utilizado, independente do tempo de condicionamento.

Bolaños-Carmona et al. (58) analisaram o efeito de diferentes tempos de condicionamento (5, 15 e 30 segundos) na micromorfologia e resistência de união de um adesivo convencional de dois passos (Excite) à dentina decídua. O condicionamento ácido da dentina por 5 segundos resultou em menores valores de resistência de união quando comparado aos demais tempos avaliados. Relação linear entre tempo de condicionamento e profundidade de desmineralização foi observada através da avaliação microscópica realizada pelo Tricrômico de Masson. Por meio desta técnica, o colágeno não completamente protegido por adesivo, após a remoção do conteúdo inorgânico que o envolvia, fica disponível para reagir com o

corante e ser facilmente identificado nas lâminas por sua coloração vermelha, tornando possível a mensuração da zona de colágeno exposta na base da camada híbrida. Com base nos achados, os autores concluíram que 15 segundos seria o tempo de condicionamento mínimo adequado para dentina de dentes decíduos.

Já no estudo de Torres et al. (11), o tempo de condicionamento (7, 10, 15 ou 20 segundos) não afetou os valores de resistência de união imediata à dentina decídua. Recentemente, Osorio et al. (13) investigaram o efeito da redução do tempo de condicionamento da dentina na rugosidade, microdureza e resistência de união de adesivo convencional de dois passos (Single Bond), autocondicionante de dois passos (Clearfil SE Bond) e autocondicionante de passo único (One Up Bond F). Maiores valores de microdureza foram obtidos quando o tempo de condicionamento foi reduzido pela metade somente para os adesivos autocondicionantes. O tempo de condicionamento não influenciou os valores de resistência de união do sistema Clearfil SE Bond. Por outro lado, a diminuição do tempo de condicionamento proporcionou aumento nos valores de resistência de união e na rugosidade da dentina intertubular quando da utilização dos demais adesivos.

Além de não interferir negativamente na resistência de união imediata, modificações nos protocolos adesivos deveriam aumentar a durabilidade da união resina-dentina. Neste sentido, Sanabe et al. (12) verificaram o efeito do tempo de condicionamento na degradação da união resina-dentina após 6 meses de armazenamento em água destilada. Para isso, o adesivo Adper Single Bond foi aplicado sobre a dentina decídua condicionada com ácido fosfórico a 35% por 15 ou 7 segundos, enquanto que o sistema Clearfil SE Bond foi aplicado à dentina condicionada com SE *primer* por 20 ou 10 segundos. Não houve decréscimo dos valores de resistência de união para o adesivo autocondicionante após 6 meses de avaliação, independente do tempo de condicionamento. Entretanto, a redução no tempo de condicionamento da dentina decídua aumentou a longevidade das interfaces adesivas produzidas com o sistema Adper Single Bond.

Embora favoráveis, esses dados foram obtidos em dentina hígida, não existindo na literatura a mesma evidência para a dentina afetada por cárie, que é atualmente o substrato dentinário mais prevalente durante os procedimentos restauradores adesivos.

2.3 Interações dos substratos dentinários hígido e afetado por cárie com os sistemas adesivos

Os conceitos atuais da Odontologia Restauradora são caracterizados por abordagens menos invasivas das lesões de cárie, restritas à remoção dos tecidos irreversivelmente afetados pelo processo carioso (14).

Clinicamente, a dentina cariada pode ser dividida em duas camadas: externa e interna (14). A camada externa apresenta consistência amolecida, coloração amarelada e aspecto úmido. Histologicamente apresenta-se desmineralizada, altamente contaminada e com degradação das fibrilas colágenas, sendo, portanto, não passível de remineralização. É denominada dentina infectada e comumente é removida. Na porção mais interna, a dentina afetada, apresenta aspecto seco, muitas vezes coloração mais escurecida e consistência mais endurecida que a camada anterior. Apesar de desmineralizada, apresenta processos odontoblásticos viáveis e matriz de colágeno intacta, passível de endurecimento, podendo ser preservada nos preparos cavitários (14-15).

Uma vez que a remoção de dentina infectada é suficiente para assegurar a paralisação do processo carioso desde que haja um adequado selamento marginal das restaurações, é imperativa a investigação da adesão de sistemas adesivos à dentina afetada por cárie.

Devido a fenômenos químicos e fisiológicos que ocorrem durante a evolução do processo carioso, a dentina afetada possui uma zona de dentina intertubular com menor conteúdo mineral e maior número de porosidades (17, 23), que facilitam a difusão dos agentes condicionadores, resultando em zona de dentina desmineralizada mais profunda. Adicionalmente, a obliteração dos túbulos dentinários por cristais de cálcio e fosfato resistentes à dissolução ácida (16, 59), ao mesmo tempo em que representa um mecanismo de defesa à invasão bacteriana, também limita a penetração dos monômeros resinosos e a formação de *tags* de resina (17, 59).

Tais características comprometem o desempenho dos sistemas adesivos nesse substrato, resultando na formação de camadas híbridas mais espessas (16, 23, 25, 60), maior exposição da zona de dentina desmineralizada na base da camada híbrida (23-24) e inferioridade da resistência de união em relação à dentina hígida (16-22). Todavia, a maioria das investigações tem sido conduzida em dentes

permanentes. Além de escassos, os resultados obtidos em dentes decíduos não apontam em uma única direção. Alguns estudos têm reportado maiores valores de resistência de união à dentina afetada em comparação à dentina hígida (61-62), enquanto que outros demonstraram desempenho adesivo similar entre os substratos (63-64) ou ainda, menores valores de resistência de união à dentina afetada de dentes decíduos (65-66). Diferenças metodológicas dificultam a comparação dos resultados.

Um aspecto metodológico a ser destacado é a utilização de métodos colorimétricos para identificação e remoção parcial do tecido cariado, cuja seletividade tem sido discutida na literatura. Corantes a base de fucsina, além de pigmentarem a dentina altamente contaminada, com colágeno degradado, coram, embora menos intensamente, dentina hígida, resultando em remoção desnecessária do tecido dentinário (67). Logo, o substrato resultante após remoção do tecido cariado em associação ao uso de corantes passa a ser praticamente dentina hígida, o que poderia explicar os valores de resistência de união similares (63-64) ou ainda superiores (61-62) obtidos em dentes decíduos.

Vale salientar ainda, que o substrato dentinário naturalmente afetado por cárie de dentes decíduos é difícil de ser obtido em condições que permitam a realização de testes de adesão devido às pequenas dimensões dentinárias e proximidade pulpar, concorrendo para lesões cariosas com envolvimento pulpar, o que justifica a existência de limitada informação acerca desse substrato clinicamente relevante. Neste contexto, métodos de indução de lesões de cárie artificial têm sido propostos, possibilitando a execução e padronização do substrato para os ensaios de adesão.

Um estudo (68) comparou dois métodos químicos (ciclagem de pH e géis ácidos) e um modelo microbiológico para indução de lesões em dentina de dentes decíduos, em termos de microdureza e análise morfológica. Segundo os autores, o modelo dinâmico de ciclagem de pH é considerado mais apropriado para simular a dentina afetada pela lesão de cárie, uma vez que os valores de microdureza obtidos foram similares aos da camada de dentina afetada pela lesão de cárie natural. Além disso, os achados de microscopia eletrônica de varredura evidenciaram superfícies dentinárias regulares, com presença de moderada desmineralização da dentina intertubular e abertura dos túbulos dentinários. Já o modelo microbiológico parece ser mais indicado para simular a camada de dentina infectada, previamente à remoção do tecido cariado.

Pesquisas que utilizaram o método de ciclagem de pH para indução de dentina afetada por cárie relataram menores valores de resistência de união à esse substrato em comparação à dentina hígida de dentes decíduos (65-66), corroborando os achados supracitados dos estudos que usaram dentina afetada natural de dentes permanentes.

2.4 Qualidade e durabilidade da interface resina-dentina: ensaios mecânicos de adesão e avaliações microestruturais.

Grande parte das investigações acerca da resistência de união dos sistemas adesivos é realizada em curto prazo após a realização dos procedimentos adesivos, geralmente 24 horas. No entanto, a dinâmica da cavidade bucal oferece grandes desafios à integridade e durabilidade das restaurações adesivas, representados por alterações de temperatura, umidade constante, esforços mastigatórios e reações químicas diversas (31).

A interação destes fatores, todavia, dificulta a identificação da razão pela qual ocorrem as falhas das restaurações. Assim, pesquisas laboratoriais têm sido amplamente utilizadas para a avaliação do desempenho dos sistemas adesivos. Diversos parâmetros têm sido usados na tentativa de simular o envelhecimento das restaurações a fim de prever a sua efetividade clínica, tais como: imersão em solução de hipoclorito de sódio (69-70), ciclagens mecânica (65, 71) e térmica (70) e, ainda, ciclagem de pH simulando o desafio cariogênico (65, 72) ou armazenamento em água (31, 73-74), sendo o último o mais difundido. Tem sido demonstrado que o armazenamento dos espécimes em água com exposição direta da interface adesiva por longo período (mínimo seis meses) (31), bem como, a troca diária da solução de armazenamento simulam de maneira rápida e confiável a degradação da união resina-dentina (74).

O envelhecimento *in vitro* (31, 73) e *in vivo* (8, 75) dessas restaurações tem demonstrado a ocorrência de redução gradual da resistência de união ao substrato dentinário, resultante da degradação dos constituintes da interface adesiva ao longo do tempo. Dentre esses constituintes, a camada híbrida representa a principal forma de retenção micromecânica de materiais adesivos à dentina. No entanto, a profundidade de desmineralização da dentina geralmente excede a capacidade de impregnação dos monômeros, resultando na manutenção de fibrilas colágenas

desprovidas de reforço mecânico na base da camada híbrida (53, 76). Essa zona é observada tanto para sistemas convencionais (23) como para os adesivos autocondicionantes (77). Isso ocorre como resultado de uma série de fatores, tais como redução gradual dos espaços interfibrilares no sentido da dentina desmineralizada, alto peso molecular e baixa hidrofília de alguns monômeros resinosos presentes nos adesivos dentinários (78) e o gradiente de umidade da dentina (79).

Os mecanismos de degradação da interface adesiva envolvem a deterioração tanto dos constituintes poliméricos (80) como das fibrilas colágenas expostas (35), presentes na união resina-dentina, os quais são suscetíveis à hidrólise e à ação de enzimas denominadas metaloproteinases (MMPs) (9). Tais enzimas estão presentes no próprio substrato dentinário e são liberadas durante sua dissolução pela ação dos condicionadores ácidos (9) ou em decorrência do processo carioso (81). Embora o processo de degradação possa ser dividido em três estágios: plastificação do polímero pela água, eluição de monômeros da camada híbrida ou de adesivo e deterioração hidrolítica e enzimática da matriz dentinária (82), ainda não existe consenso sobre qual componente da interface é mais predisposto a esses eventos (83).

Além disso, a presença dessa zona de colágeno exposto favorece a nanoinfiltração, a qual permite o ingresso de fluidos diversos, produtos do metabolismo bacteriano e metaloproteinases provenientes da saliva. Em conjunto, todos esses fatores culminam com a falência funcional das restaurações adesivas.

O termo nanoinfiltração foi introduzido para descrever a ocorrência de espaços nanométricos dentro da camada híbrida, mesmo na ausência de fenda na interface de união resina-dentina (84). Essa técnica utiliza um traçador de baixo peso molecular, o nitrato de prata (AgNO_3), para identificar em microscopia eletrônica tais porosidades na interface (85). Deposição de grãos de prata na camada híbrida tem sido identificada, independente da estratégia adesiva.

Enquanto que a discrepância entre a desmineralização do substrato e subsequente infiltração monomérica tem sido apontada como responsável pela infiltração de nitrato de prata na interface adesiva produzida com os adesivos convencionais, a nanoinfiltração observada quando do uso de sistemas autocondicionantes ocorre devido à presença de regiões dentro da matriz resinosa polimerizada, na qual a água não é totalmente removida, acarretando em regiões de

polimerização incompleta e/ou formação de hidrogéis. A deposição de prata pode ainda ocorrer devido à presença de monômeros ácidos que são mais suscetíveis à absorção de água (86). À medida que a nanoinfiltração representa a degradação da interface adesiva, que resulta em redução da resistência de união, uma relação inversa entre nanoinfiltração e resistência de união é esperada (87-89).

Conforme previamente mencionado, muitas pesquisas têm reportado menores valores de resistência de união imediata à dentina de dentes decíduos comparado à dentina permanente, devido à formação de uma camada de desmineralização mais espessa que não é completamente impregnada por adesivo em sua totalidade (7). Essas zonas também parecem mais sujeitas à degradação. Entretanto, poucos são os estudos que avaliaram a longevidade da união à dentina em dentes decíduos. Ademais, a maioria investigou o efeito de modificações nos protocolos adesivos (69, 90-91) e não exclusivamente o comportamento dos sistemas adesivos em longo prazo (8).

Hashimoto et al. (8) investigaram *in vivo* a durabilidade da união à dentina de dentes decíduos. Molares decíduos foram restaurados com sistema adesivo Scotchbond Multi Uso e após o período de um a três anos, foram extraídos e submetidos ao teste de microtração. Os valores de resistência de união obtidos foram comparados aos valores obtidos de restaurações realizadas *in vitro* e testadas imediatamente. Degradação da interface adesiva com redução dos valores de resistência de união foi observada com o aumento da idade da restauração.

Investigações que avaliem a estabilidade da união de sistemas adesivos à dentina afetada por cárie também são limitadas (25, 65, 90-94). Considerando dentes decíduos, até o momento, nenhum estudo analisou *in vitro* o desempenho de sistemas adesivos, em longo prazo, à dentina afetada por cárie, por meio de ensaios mecânicos. Marquezan et al. (65) investigaram a resistência à degradação de restaurações de cimento de ionômero de vidro modificado por resina e sistema adesivo convencional sobre dentina hígida e afetada de dentes decíduos submetidas a desafio cariogênico e ciclagem mecânica. O substrato cariado influenciou negativamente os valores de resistência de união do sistema adesivo, bem como a infiltração de nitrato de prata na interface adesiva. Embora a ciclagem mecânica não tenha comprometido a adesão de ambos os materiais, o desafio cariogênico, por meio da ciclagem de pH, resultou em decréscimo dos valores de resistência de união do sistema adesivo à dentina decídua. Os desafios cariogênico e mecânico,

por sua vez, não influenciaram a infiltração do nitrato de prata na interface adesiva, independente do material.

Erhardt et al. (25) analisaram a longevidade da união de sistemas adesivos convencionais e autocondicionantes à dentina hígida e afetada de dentes permanentes, por meio do teste de microtração e avaliações morfológicas. Os valores de resistência de união à dentina afetada diminuíram após seis meses de armazenamento em água, independente do sistema adesivo. Além disso, as avaliações morfológicas demonstraram que as interfaces resina-dentina afetada são mais propensas à degradação, provavelmente devido à maior espessura da zona rica em colágeno não envolvido por adesivo.

Desta forma, estratégias têm sido propostas a fim de tornar as interfaces adesivas mais resistentes à hostilidade do meio bucal, entre elas, o uso de inibidores de metaloproteinases. As evidências científicas atuais apontam que o uso digluconato de clorexidina, após o condicionamento do substrato dentinário, pode prevenir ou minimizar a deterioração das fibrilas colágenas expostas, contribuindo para a formação de interfaces adesivas mais estáveis longitudinalmente (90-91). Contudo, a incorporação da clorexidina nos procedimento adesivos representa uma etapa clínica adicional, o que é crítico em Odontopediatria.

Neste cenário, a redução do tempo de condicionamento ácido é um procedimento clínico de fácil controle e aplicabilidade, que além de demandar menos tempo, visa suplantear a problemática da discrepância entre a profundidade de desmineralização da dentina e sua subsequente infiltração por constituintes dos sistemas adesivos.

Uma vez que a atividade de metaloproteinases é maior em dentina afetada (90), o que torna esse substrato ainda mais predisposto à deterioração das interfaces adesivas, a diminuição do tempo de condicionamento poderia afetar de forma positiva a qualidade da união, como já observado em dentina decídua hígida (12). Dessa forma, a influência do tempo de condicionamento da dentina afetada por cárie de dentes decíduos, em termos de resistência à degradação, deve ser averiguada.

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo geral do presente estudo foi avaliar a influência da redução do tempo de condicionamento na união de um sistema adesivo convencional de dois passos e um autocondicionante de dois passos à dentina hígida e afetada de dentes decíduos. Para isso, foram propostos os seguintes objetivos específicos:

- Investigar o efeito do tempo de condicionamento da dentina de dentes decíduos na resistência de união imediata;
- Analisar a influência do tempo de condicionamento na degradação da união à dentina de dentes decíduos;
- Comparar a união à dentina hígida e afetada por cárie de dentes decíduos;
- Avaliar a micromorfologia e espessura da camada híbrida em função do tempo de condicionamento da dentina hígida e afetada de dentes decíduos;
- Verificar o impacto da redução no tempo de condicionamento ácido na infiltração de nitrato de prata na interface adesiva de dentes decíduos, na avaliação imediata e após 12 meses de armazenamento em água destilada.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O protocolo de pesquisa do presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, sob o parecer número 26/2010 (Anexo A).

4.1 Descrição geral e seleção da amostra

Foram selecionados 64 segundos molares decíduos provenientes do Banco de Dentes Humanos da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, seguindo o critério de inclusão de ausência de lesão de cárie, restaurações, trincas ou opacidades, condições avaliadas por meio de exame visual.

Após a seleção, os dentes foram limpos com pasta de pedra-pomes e água, aplicada com escova de Robinson em baixa rotação, e armazenados em solução salina 4°C e cristais de timol (18) pelo período mínimo de 30 dias, com trocas semanais da solução de armazenamento.

4.2 Grupos experimentais

Os dentes foram divididos aleatoriamente em 8 grupos, de acordo com o delineamento experimental apresentado no quadro 4.1.

Substrato	Sistema Adesivo	Tempo de condicionamento
Hígido	Adper Single Bond 2	Recomendado pelo fabricante (15 segundos)
		Metade do tempo de condicionamento ácido (7 segundos)
	Clearfil SE Bond	Recomendado pelo fabricante (20 segundos)
		Metade do tempo de aplicação do <i>primer</i> (10 segundos)
Afetado por cárie	Adper Single Bond 2	Recomendado pelo fabricante (15 segundos)
		Metade do tempo de condicionamento ácido (7 segundos)
	Clearfil SE Bond	Recomendado pelo fabricante (20 segundos)
		Metade do tempo de aplicação do <i>primer</i> (10 segundos)

Quadro 4.1 – Grupos experimentais de acordo com o substrato, sistema adesivo e tempo de condicionamento

4.2.1 Grupo substrato afetado por cárie

Os dentes pertencentes ao grupo substrato afetado por cárie foram submetidos a desafio cariogênico por meio de ciclagem de pH para o desenvolvimento de lesões de cárie artificiais, após a remoção do esmalte oclusal. Os mesmos tiveram sua porção cervical selada com adesivo epóxico (Araldite Hobby, Ciba Especialidades Químicas Ltda., São Paulo, SP, Brasil) e receberam duas camadas de esmalte ácido-resistente (esmalte cosmético) para a impermeabilização da porção cervical, até cerca de 2 milímetros (mm) da superfície.

Em seguida, foram submetidos individualmente a 14 ciclos de imersão, por 8 horas em 10 mililitros de solução desmineralizadora e por 16 horas em volume idêntico de solução remineralizadora, em temperatura ambiente e sem agitação (68, 95). As soluções foram trocadas a cada ciclo e em cada intervalo, os dentes foram lavados com água deionizada e secos com papel absorvente. A composição das soluções utilizadas está descrita no quadro 4.2.

Solução Desmineralizadora	Solução Remineralizadora
2,2 mM de CaCl_2	1,5 mM de CaCl_2
2,2 mM de NaH_2PO_4	0,9 mM de NaH_2PO_4
50 mM de ácido acético	0,15 mM de KCl
pH ajustado de 4,8 com 1M de KOH	pH igual a 7,0

Quadro 4.2 – Composição das soluções utilizadas na ciclagem de pH

4.3 Preparo dos corpos de prova

O preparo dos corpos de prova foi realizado da mesma maneira para todos os grupos experimentais, os quais foram constituídos de 8 dentes, divididos aleatoriamente. Seis dentes foram utilizados no teste de microtração e 2 dentes foram analisados morfológicamente em microscópio eletrônico de varredura.

O esmalte oclusal dos dentes foi removido com disco diamantado em máquina de cortes (Labcut 1010, Extex Co, Enfield, CT, EUA) com o propósito de expor a superfície dentinária. O esmalte circundante a dentina foi removido com ponta diamantada em alta rotação.

A dentina oclusal exposta foi abrasionada com lixa de carbureto de silício de granulação 600 por 30 segundos para a obtenção da camada de lama dentinária padronizada (43).

4.4 Procedimentos restauradores

Os materiais utilizados, bem como seu fabricantes, composições, pH e lotes são descritos no quadro 4.3.

Material	Fabricante	Composição	pH	Lote
Adper Single Bond 2 Sistema adesivo com condicionamento ácido prévio de dois passos	3M ESPE St. Paul, MN, EUA	Agente condicionador Ácido fosfórico 35 % (gel)	0,6	N187625
		10% em peso de nanopartículas de sílica, Bis-GMA, HEMA, dimetacrilatos, copolímero dos ácidos poliacrílico e poliitacônico, água, etanol e fotoiniciadores	4,7	N190766BR
Clearfil SE Bond Sistema adesivo autocondicionante de dois passos	Kuraray Medical Inc. Tóquio, Japão	<i>Primer</i> – MDP, HEMA, dimetacrilatos hidrofílicos, canforoquinona, água, N,N- dietanol-p-toluidina	2,0	00955A
		<i>Bond</i> – MDP, HEMA, Bis-GMA, dimetacrilatos hidrofóbicos, canforoquinona, N,N- dietanol-p-toluidina, sílica coloidal		01416A
Filtek Z250 Resina composta cor A 3,5	3M ESPE St. Paul, MN, EUA	Bis-GMA, UDMA, Bis-HEMA, zircônia, sílica		8 UH

Abreviaturas: Bis-GMA – bisfenol A diglicidil éter metacrilato; Bis-HEMA - Bisfenol 2-hidroxietil metacrilato; HEMA – 2-hidroxietil metacrilato; MDP - metacriloiloxidecil dihidrogenio fosfato; UDMA - uretano dimetacrilato

Quadro 4.3 – Materiais utilizados e seus respectivos fabricantes, composições, pH e lotes

4.4.1 Procedimentos restauradores – grupo Adper Single Bond 2

Para o grupo Adper Single Bond 2, o condicionamento prévio do substrato dentinário foi realizado com gel de ácido fosfórico a 35% (Scotch Etchant, 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA) por 15 segundos (de acordo com as recomendações do fabricante) ou 7 segundos (metade do tempo de condicionamento ácido), seguido de lavagem. O excesso de água foi removido com papel absorvente. Após, foram aplicadas duas camadas consecutivas do sistema adesivo, seguidas de jatos de ar comprimido por 5 segundos, à distância de 20 centímetros. O sistema adesivo foi fotoativado por 10 segundos.

4.4.2 Procedimentos restauradores – grupo Clearfil SE Bond

O sistema Clearfil SE Bond, composto por *primer* e agente de união, não requer condicionamento prévio do substrato. Desta forma, o *primer* foi aplicado na superfície dentinária seca, por 20 segundos (de acordo com as recomendações do fabricante) ou 10 segundos (metade do tempo de aplicação), seguido de jatos de ar comprimido por 20 segundos a uma distância de 20 centímetros. Seguidamente, foi realizada a aplicação do agente de união, com aplicador do tipo *Microbrush*[®], saturado na solução. Antecedendo a fotoativação (10 segundos), jatos de ar comprimido foram aplicados por 5 segundos, a fim de uniformizar a camada do agente de união.

Após a aplicação dos protocolos adesivos, de acordo com o sistema adesivo e o tempo de condicionamento, foram confeccionados blocos com resina composta (Filtek Z250, 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA), inserida em incrementos, com aproximadamente 1,5 mm de espessura e fotoativados individualmente por 20 segundos. Todos os procedimentos envolvendo fotoativação foram realizados com o mesmo aparelho Optilux 500 (Demetron/Kerr, Danbury, CT, EUA), cuja irradiância foi avaliada com auxílio de um radiômetro (450 ± 10 mW/cm², Model 100, Optilux Radiometer, Demetron/Kerr, Danbury, CT, EUA).

Todos os dentes foram armazenados em água destilada a 37°C por 24 horas.

4.5 Teste de microtração

Os dentes foram seccionados perpendicularmente à interface adesiva em dois sentidos com disco diamantado (Extec 12205, Extec Co, Enfield, CT, EUA) em máquina de cortes (Labcut 1010, Extec Co, Enfield, CT, EUA) a fim de se obterem espécimes em forma de palito com área de secção transversal média de 0,8 mm².

Cada espécime foi cuidadosamente inspecionado em lupa estereoscópica (Olympus SZ-CTV, Olympus, Tóquio, Japão) com aumento de 30x. Todos os que apresentaram interfaces defeituosas, com irregularidades ou bolhas nas proximidades da união resina-dentina e presença de esmalte foram excluídos da amostra. Esse processo de seleção permitiu, em média, a utilização de 17-20 espécimes por dente, totalizando para cada grupo de 104 a 120 espécimes. Os mesmos tiveram sua área adesiva individualmente mensurada com paquímetro digital com resolução de 0,01 mm (Modelo 500-144B, Mytutoyo Sul Americana Ltda., Suzano, SP, Brasil).

Os espécimes de cada grupo experimental foram ainda divididos aleatoriamente de acordo o período de armazenamento em água destilada. Desta forma, metade dos espécimes foi tracionada imediatamente (após 24 horas) e o restante após 12 meses de armazenamento em água destilada contendo azida de sódio a 0,2%. A água destilada não foi trocada durante o período de armazenamento, e seu pH foi mensalmente monitorado com auxílio de um pHmetro (PG 2000, Ind. e Com. Eletro Eletrônica Gehaka Ltda., São Paulo, SP, Brasil).

Os espécimes foram fixados individualmente com adesivo de cianoacrilato (Zapit, Dental Venture of America Inc., Corona, CA, EUA), a dispositivos metálicos (*jigs*) adaptados a máquina de ensaios mecânicos para o teste de microtração (Kratos Dinâmetros, Cotia, SP, Brasil), com velocidade de 1mm/min até o momento da fratura. Os valores de carga máxima suportada pela união resina-dentina foram obtidos em Newton e posteriormente convertidos em Mega Pascal (MPa), dividindo-se a força máxima atingida no momento da fratura (N) pela área da interface adesiva (mm²).

4.6 Análise do padrão de fratura

Após a realização do ensaio de tração, os espécimes foram avaliados em microscópio com aumento de 400x (HMV II, Shimadzu, Kyoto, Japão), a fim de determinar o tipo de fratura: adesiva/mista (fratura na interface adesiva ou associada à fratura coesiva em resina ou dentina) ou coesiva (fratura exclusivamente em dentina ou resina).

Os espécimes que apresentaram fraturas classificadas como coesivas, tanto em dentina como em resina, foram excluídos do cálculo das médias de resistência de união, pois estes não representam a resistência adesiva e sim, da resistência coesiva do material restaurador ou do substrato.

Espécimes representativos com fraturas classificadas como adesiva/mista, para cada grupo experimental (n=5), foram aleatoriamente selecionados para análise em microscópio eletrônico de varredura (Quanta 600 FEG, FEI Company, Hillsboro, Oregon, EUA). Após montagem em *stubs* metálicos e metalização com ouro, ambas as partes desses espécimes (dentina e resina) foram examinadas conjuntamente e fotomicrografias ilustrativas foram obtidas em aumentos de 100x e 3000x.

4.7 Nanoinfiltração – Análise da penetração de nitrato de prata na interface adesiva em Microscopia Eletrônica de Varredura

Dois espécimes de cada dente e em cada período de armazenamento em água destilada (24 horas e 12 meses) foram selecionados aleatoriamente para o teste de nanoinfiltração e preparados de acordo com a metodologia proposta por Tay et al. (86), conforme descrita a seguir.

Os espécimes foram impermeabilizados com esmalte cosmético até 1 mm da interface adesiva e reidratados em água destilada por 10 minutos previamente à imersão em solução aquosa de nitrato de prata amoniacal por 24 horas. Os mesmos foram impregnados com prata, seguido de lavagem em água destilada e imersão em solução reveladora (Kodak, Rochester, NY, EUA) por 8 horas sob luz fluorescente para redução dos íons de prata ou diamino de prata em grãos de prata metálicos. Removido o esmalte cosmético com lixa de carbureto de silício de granulação 600, os espécimes foram incluídos em resina epóxi (Epoxide, Buehler Ltd, Lake Bluff, IL,

EUA), em uma matriz de policloreto de vinila (PVC), de 1 centímetro de altura e 2 centímetros de diâmetro. Sob uma placa de vidro foi posicionada fita dupla face para que os espécimes fossem posicionados paralelamente uns aos outros. Em cada PVC, um espécime de cada grupo experimental foi incluído (n=8).

O polimento foi realizado com uma sequência de lixas de granulação decrescente (1000, 1500 e 4000), seguida de feltro impregnado com pastas diamantadas de 1 e 0,25 μm em politriz automática (AROPOL-E, Cotia, SP, Brasil). Entre cada granulação e ao final, os espécimes foram limpos e imersos em água em cuba ultrassônica (Dabi Atlante – 3L, Ribeirão Preto, SP, Brasil). O excesso de água foi removido com papel absorvente e espécimes foram desidratados em dessecador contendo sílica coloidal por 24 horas. Por fim, foram metalizados para avaliação do padrão de penetração do nitrato na interface adesiva em microscópio eletrônico de varredura (Quanta 600 FEG, FEI Company, Hillsboro, Oregon, EUA), operado em modo de elétrons retroespalhados com voltagem de 10 kV.

4.8 Microscopia Eletrônica de Varredura – Avaliação da micromorfologia e espessura da camada híbrida

Adicionalmente, dois dentes de cada grupo experimental (n = 16) foram preparados como descrito anteriormente para o teste de microtração e após, seccionados perpendicularmente à interface adesiva com disco diamantado (Extex 12205, Extex Co, Enfield, CT, EUA) para obtenção de espécimes (seções) com 1 mm de espessura. Foram selecionadas as duas seções centrais de cada dente a fim de avaliar o impacto do protocolo de aplicação dos sistemas adesivos na dentina hígida e afetada por cárie de dentes decíduos em termos de micromorfologia e espessura da camada híbrida.

Os espécimes foram incluídos em resina epóxi (Epoxide, Buehler Ltd, Lake Bluff, IL, EUA) e polidos sequencialmente com lixas de carbureto de silício de granulação decrescente (600, 1200 e 2000). Em seguida, foram expostos a tratamento com HCl 6 N por 1 minuto e NaOCl 1% por 10 minutos, e desidratados em soluções de concentração crescente de etanol (30%, 50%, 95% por 30 minutos cada, e 100% por 60 minutos). Após a utilização da última solução, os espécimes foram secos por imersão em hexametildisilazano (HMDS, Ted Pella, Redding, CA,

USA) por 30 minutos e mantidos em dessecador a vácuo por 24 horas. Posteriormente, foram metalizados com liga ouro-paládio para análise em microscópio eletrônico de varredura (Quanta 600 FEG, FEI Company, Hillsboro, Oregon, EUA), operado em modo de elétrons secundários com voltagem de 10 kV.

O diagrama esquemático da parte experimental do estudo está ilustrado na figura 4.1.

Figura 4.1 – Esquema do preparo dos corpos de prova e obtenção dos espécimes para a execução dos testes utilizados no estudo: (A) Remoção do esmalte oclusal dos segundos molares decíduos com o propósito de obter superfície dentinária plana, seguido da remoção do esmalte circundante à dentina. (B) Confecção de blocos de resina composta após os procedimentos adesivos, de acordo com o grupo experimental. (C) Seccionamento dos corpos de prova perpendicularmente à interface adesiva (sentido vestibulo-lingual). (D) Obtenção e inclusão de seções centrais dos dentes (duas por grupo) para avaliação da espessura da camada híbrida. (E) Sequência de cortes para obtenção de espécimes em forma de palito. (F) Seleção dos espécimes. (G) Distribuição aleatória dos espécimes de acordo com o período de armazenamento em água destilada. (H) Teste de nanoinfiltração. (I) Teste de microtração

4.9 Análise estatística

A unidade experimental do estudo foi o dente. Os espécimes que se romperam antes do teste de microtração (fraturas prematuras) foram incluídos na análise estatística, uma vez que representam a fragilidade da interface adesiva. A não inclusão destes resultaria em superestimação dos valores de resistência de união. Para isso, um valor arbitrário e correspondente a aproximadamente metade do valor mínimo registrado no estudo (4,0 MPa) foi atribuído a esses espécimes.

Os valores de resistência de união foram avaliados quanto à distribuição dos dados pelo teste de Kolmogorov-Smirnov, e a homogeneidade de variâncias dos grupos a serem comparados pelo teste de Cochran. A Análise de Variância de três fatores (sistema adesivo, substrato e tempo de condicionamento) e teste de Tukey foram utilizados para comparação dos grupos quanto aos valores de resistência de união imediata.

Posteriormente, verificou-se o efeito do tempo de condicionamento (2 níveis), do substrato (2 níveis) e do período de armazenamento (2 níveis) na degradação das interfaces adesivas. Considerando o dente como unidade experimental, metade dos espécimes de cada dente foi testada imediatamente (24 horas) e a outra metade após 12 meses. Assim, a média dos valores de resistência de união (MPa) de todos os espécimes por hemi-dente foi considerada na análise estatística. Para cada grupo experimental, foram considerados os dados de 6 hemi-dentes por grupo.

Os dados obtidos para cada sistema adesivo foram submetidos à Análise de Variância de três fatores de medidas repetidas (substrato, tempo de condicionamento e período de armazenamento), sendo o período de armazenamento incluído no modelo como medida repetida. O teste de Tukey foi utilizado para comparação das médias, com nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas com o programa GMC, versão 7.7.

As fraturas foram descritas como frequência absoluta e porcentagem do total de espécimes para cada grupo. A micromorfologia e espessura da camada híbrida, assim como, a nanoinfiltração foram avaliadas apenas qualitativamente.

5 RESULTADOS

Os dados referentes à resistência de união imediata serão apresentados considerando o sistema adesivo como um dos fatores de variação. Os demais resultados serão apresentados separadamente para cada sistema adesivo. É importante salientar que a média da área de secção transversal dos espécimes foi $0,83 \pm 0,02 \text{ mm}^2$, não sendo verificada diferença estatisticamente significativa entre as áreas dos espécimes dos diferentes grupos testados (dados não demonstrados - Análise de Variância e Teste de Tukey; $p > 0,05$).

5.1 Resistência de união imediata

As médias dos valores de resistência de união imediata, em MPa, e os respectivos desvios-padrão considerando os fatores sistema adesivo, substrato e tempo de condicionamento são apresentados na tabela 5.1. Somente o fator substrato foi estatisticamente significativo ($F = 77,19$; $p < 0,01$).

A adesão à dentina afetada foi inferior em comparação à dentina hígida. O desempenho dos sistemas adesivos foi semelhante e o tempo de condicionamento não influenciou a resistência de união imediata de ambos os adesivos à dentina hígida e afetada.

Tabela 5.1 – Médias dos valores de resistência de união imediata (MPa) e os desvios-padrão considerando os fatores sistema adesivo, substrato e tempo de condicionamento (*)

Sistema adesivo	Tempo de condicionamento	Dentina hígida	Dentina Afetada
Adper Single Bond 2	7 segundos	$40,9 \pm 3,2 \text{ A}$	$28,6 \pm 5,1 \text{ B}$
Adper Single Bond 2	15 segundos	$44,2 \pm 6,8 \text{ A}$	$23,3 \pm 6,3 \text{ B}$
Clearfil SE Bond	10 segundos	$41,2 \pm 5,1 \text{ A}$	$28,3 \pm 6,5 \text{ B}$
Clearfil SE Bond	20 segundos	$41,0 \pm 6,5 \text{ A}$	$25,0 \pm 5,0 \text{ B}$

(*) Diferentes letras maiúsculas indicam diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,05$).

5.2 Degradação da união

Adper Single Bond 2

Para o sistema adesivo Adper Single Bond 2, as médias dos valores de resistência de união, em MPa, e os respectivos desvios-padrão para todos os grupos experimentais são apresentados na tabela 5.2. Os fatores substrato ($F=72,47$; $p<0,01$), tempo de condicionamento ($F=7,00$; $p = 0,013$) e período de armazenamento ($F=73,38$; $p<0,01$), bem como a interação tempo de condicionamento vs. período de armazenamento ($F=4,28$; $p=0,037$) foram estatisticamente significantes.

A adesão à dentina afetada por cárie foi inferior quando comparada à dentina hígida. Redução significativa da resistência de união ocorreu após 12 meses de armazenamento em água destilada. No entanto, menor decréscimo dos valores de resistência de união foi observado quando o tempo de condicionamento ácido foi reduzido pela metade (31,4%) em comparação ao tempo recomendado pelo fabricante (52,8%), independente do substrato.

Tabela 5.2 – Médias dos valores de resistência de união (MPa) e os desvios-padrão do sistema adesivo Adper Single Bond 2 para todos os grupos experimentais (*)

Substrato	Dentina hígida		Dentina afetada	
Tempo de condicionamento	7 segundos	15 segundos	7 segundos	15 segundos
Imediato	40,9 ± 3,2 A,a	44,2 ± 6,8 A,a	28,6 ± 5,1 A,b	23,3 ± 6,3 A,b
12 meses	30,1 ± 5,5 B,a	21,6 ± 6,1 C,a	17,6 ± 4,4 B,b	10,3 ± 3,7 C,b

(*) Diferentes letras maiúsculas indicam diferenças estatisticamente significantes considerando a interação tempo de condicionamento vs. período de armazenamento. Diferentes letras minúsculas indicam diferença estatisticamente significativa entre substratos ($p<0,05$).

Clearfil SE Bond

Para o sistema adesivo Clearfil SE Bond, as médias dos valores de resistência de união, em MPa, e os respectivos desvios-padrão para todos os grupos experimentais são apresentados na tabela 5.3. Os fatores substrato ($F=116,13$; $p<0,01$) e período de armazenamento ($F=36,51$; $p<0,01$), bem como a interação substrato vs. período de armazenamento ($F=6,57$; $p=0,015$) foram estatisticamente significantes.

Os valores de resistência de união obtidos em dentina afetada foram inferiores em comparação à dentina hígida. Redução dos valores de resistência de união ocorreu após 12 meses apenas em substrato afetado por cárie.

Tabela 5.3 – Médias dos valores de resistência de união (MPa) e os desvios-padrão do sistema adesivo Clearfil SE Bond para todos os grupos experimentais (*)

<i>Substrato</i>	<i>Dentina hígida</i>		<i>Dentina afetada</i>	
<i>Tempo de condicionamento</i>	10 segundos	20 segundos	10 segundos	20 segundos
Imediato	41,2 ± 5,1 A,a	41,0 ± 6,5 A,a	28,3 ± 6,5 B,a	25,0 ± 5,0 B,a
12 meses	33,6 ± 4,3 A,a	36,4 ± 4,6 A,a	13,2 ± 3,8 B,b	9,6 ± 3,4 B,b

(*) Diferentes letras maiúsculas indicam diferenças estatisticamente entre colunas. Diferentes letras minúsculas indicam diferenças estatisticamente significantes entre linhas ($p < 0,05$).

5.3 Padrão de fratura

A distribuição dos tipos de fratura para todos os grupos experimentais está apresentada na tabela 5.4. Predomínio de fratura adesiva/mista foi observado em todos os grupos.

Tabela 5.4 – Número e percentual (%) de espécimes, total de palitos testados de acordo com o padrão de fratura e fraturas prematuras para todos os grupos experimentais (*)

Grupos	Tempo de condicionamento	Tempo	A/M	CD	CR	Prematura	Total
SB/DH	15 segundos	Imediato	38 (79,2)	9 (18,7)	1 (2,1)	0 (0)	48
		12 meses	34 (72,3)	9 (19,1)	4 (8,6)	0 (0)	47
	7 segundos	Imediato	39 (84,8)	6 (13,0)	1 (2,2)	0 (0)	46
		12 meses	36 (80,0)	4 (8,9)	4 (8,9)	1 (2,2)	45
SB/DA	15 segundos	Imediato	37 (78,7)	4 (8,5)	0 (0)	6 (12,8)	47
		12 meses	34 (73,9)	3 (6,5)	1 (2,2)	8 (17,4)	46
	7 segundos	Imediato	40 (93,0)	0 (0)	1 (2,3)	2 (4,7)	43
		12 meses	36 (87,8)	0 (0)	1 (2,4)	4 (9,8)	41
CSEB/DH	20 segundos	Imediato	27 (65,9)	8 (19,5)	6 (14,6)	0 (0)	41
		12 meses	28 (71,8)	9 (23,1)	2 (5,1)	0 (0)	39
	10 segundos	Imediato	25 (55,6)	11 (24,4)	9 (20,0)	0 (0)	45
		12 meses	27 (61,4)	13 (29,5)	4 (9,1)	0 (0)	44
CSEB/DA	20 segundos	Imediato	38 (86,4)	2 (4,5)	1 (2,3)	3 (6,8)	44
		12 meses	33 (76,7)	2 (4,7)	0 (0)	8 (18,6)	43
	10 segundos	Imediato	37 (92,5)	0 (0)	2 (5,0)	1 (2,5)	40
		12 meses	31 (75,6)	1 (2,4)	2 (4,9)	7 (17,1)	41

(*) SB – Adper Single Bond 2; CSEB: Clearfil SE Bond; DH – dentina hígida; DA – dentina afetada; A/M – fratura adesiva/mista; CD – fratura coesiva em dentina; CR – fratura coesiva em resina; Prematura – fratura pré-teste.

Os gráficos 5.1 e 5.2 apresentam os percentuais do padrão de fratura para cada tipo de sistema adesivo.

Gráfico 5.1 – Distribuição percentual dos tipos de fratura para o sistema adesivo Adper Single Bond 2

A frequência de fraturas coesivas em dentina foi maior nos grupos de tempo de condicionamento ácido total (indicado pelo fabricante). Além disso, esse tipo de fratura não ocorreu quando a dentina afetada foi condicionada por 7 segundos, independente do período de armazenamento. O percentual de fraturas prematuras foi maior em dentina afetada, independente do tempo de condicionamento.

Gráfico 5.2 – Distribuição percentual dos tipos de fratura para o sistema adesivo Clearfil SE Bond

Fraturas prematuras ocorreram somente em dentina afetada, independente do tempo de aplicação do *primer* e foram mais frequentes após 12 meses de armazenamento em água destilada.

Fotomicrografias em MEV representativas de fraturas classificadas como adesiva/mista obtidas em aumento de 100x, são ilustradas na figura 5.1.

Figura 5.1 – Fotomicrografias em MEV (aumento de 100x) da porção de dentina de espécimes que apresentaram fratura do tipo adesiva/mista. (a) e (b) falhas adesivas; (c) falha adesiva associada à fratura coesiva em resina; (d) fratura adesiva associada à falha coesiva em dentina. A - adesivo; CR - coesiva em resina; CD - coesiva em dentina.

5.4 Nanoinfiltração

Fotomicrografias em MEV representativas da infiltração do nitrato de prata na interface adesiva de dentes decíduos para os sistemas adesivos Adper Single Bond

2 e Clearfil SE Bond, considerando todas as condições experimentais, são apresentadas nas figuras 5.2 e 5.3, respectivamente.

Para ambos os sistemas adesivos, poucas áreas de infiltração de nitrato de prata na interface adesiva foram observadas na avaliação imediata, independente do substrato ou tempo de condicionamento.

Após 12 meses, uma maior quantidade de nitrato de prata foi observada nas interfaces adesivas produzidas pelo Adper Single Bond 2 quando dentina hígida e afetada por cárie foram condicionadas pelo tempo recomendado pelo fabricante (15 segundos). Para o adesivo Clearfil SE Bond, a nanoinfiltração não foi influenciada pelo tempo de condicionamento após 12 meses de armazenamento em água destilada. No entanto, a infiltração de nitrato de prata foi mais pronunciada em dentina afetada.

Figura 5.2 – Fotomicrografias em MEV (aumento de 1000x) da nanoinfiltração na interface adesiva para o sistema adesivo Adper Single Bond 2 nas diferentes condições experimentais. Nos espécimes testados imediatamente, poucas áreas de deposição de nitrato de prata foram observadas na interface adesiva (indicadores nas Figuras a, c, e, g). Após 12 meses, uma maior quantidade de nitrato de prata foi observada quando a dentina hígida e afetada foram condicionadas por 15 segundos (mais indicadores nas Figuras d, h). A – camada de adesivo; RC – resina composta; CH – camada híbrida; D – dentina

Figura 5.3 – Fotomicrografias em MEV (aumento de 1000x) da nanoinfiltração na interface adesiva para o sistema Clearfil SE Bond nas diferentes condições experimentais. Nos espécimes testados imediatamente, poucas áreas de deposição de nitrato de prata foram observadas na interface adesiva (indicadores nas Figuras a, c, e, g). Após 12 meses, uma maior quantidade de nitrato de prata foi observada na interface adesiva apenas em substrato afetado pela lesão de cárie (Figuras f, h) (mais indicadores). A – camada de adesivo; RC – resina composta; CH – camada híbrida; D – dentina

5.5 Micromorfologia e espessura da camada híbrida

Fotomicrografias em MEV representativas das interfaces adesivas produzidas com os sistemas adesivos Adper Single Bond 2 e Clearfil SE Bond após diferentes tempos de condicionamento da dentina hígida e afetada decídua estão ilustradas nas figuras 5.4 e 5.5, respectivamente.

Com relação ao adesivo Adper Single Bond 2, camadas híbridas mais finas foram produzidas quando a dentina decídua foi condicionada pela metade do tempo recomendado pelo fabricante (7 segundos), especialmente em dentina afetada. A espessura da camada híbrida produzida em dentina afetada após 7 segundos de condicionamento ácido ($\pm 3,45 \mu\text{m}$) foi similar à camada híbrida formada em dentina hígida após 15 segundos de condicionamento ($\pm 3,54 \mu\text{m}$).

Foi possível identificar claramente a formação de longos *tags* de resina com ramificações laterais, muitos dos quais se apresentaram fraturados devido à perda

do suporte dentinário uma vez que a dentina foi removida pelo tratamento com HCl/NaClO dos espécimes. Tais características foram menos evidentes quando dentina afetada foi condicionada por 15 segundos.

Em contrapartida, as camadas híbridas formadas após aplicação do sistema adesivo autocondicionante não foram claramente visualizadas, de tal forma que, não foi possível mensurar a espessura das mesmas. Entretanto, camadas híbridas produzidas em dentina afetada por cárie foram aparentemente mais espessas que aquelas formadas em dentina hígida. *Tags* resinosos mais curtos e em menor número foram observados, independente do tempo de aplicação do *primer*. Escassos *tags* de resina com ramificações laterais puderam ser visualizados somente quando o *primer* foi aplicado pelo tempo recomendado pelo fabricante (20 segundos), independente do substrato.

Ainda, variações na espessura da camada de adesivo foram identificadas, sem, contudo, serem representativas de um único grupo.

Figura 5.4 – Fotomicrografias em MEV (aumento de 5000x) representativas das interfaces adesivas produzidas com o adesivo Adper Single Bond 2 após 15 e 7 segundos de condicionamento ácido da dentina hígida e afetada de dentes decíduos. Camadas híbridas (entre setas) mais espessas são observadas nas Figuras a ($\pm 3,54 \mu\text{m}$) e b ($\pm 6,59 \mu\text{m}$) em comparação as Figuras c ($\pm 2,26 \mu\text{m}$) e d ($\pm 3,45 \mu\text{m}$), para dentina hígida e afetada, respectivamente. A espessura da camada híbrida formada após 7 segundos de condicionamento ácido da dentina afetada foi similar àquela produzida após 15 segundos de condicionamento ácido da dentina hígida. Longos *tags* resinosos com ramificações laterais podem ser vistos (indicadores), exceto quando a dentina afetada foi condicionada pelo tempo recomendado pelo fabricante. A – camada de adesivo; RC – resina composta; D – dentina

Figura 5.5 – Fotomicrografias em MEV (aumento de 5000x) representativas das interfaces adesivas produzidas com o adesivo Clearfil SE Bond após 20 e 10 segundos de aplicação do *primer* em dentina hígida e afetada de dentes decíduos. Camadas híbridas menos distintas e curtos *tags* de resina foram observados. Escassos *tags* resinosos com ramificações laterais são vistos apenas nas Figuras a e b (indicadores). A – camada de adesivo; RC – resina composta; D – dentina

6 DISCUSSÃO

A qualidade da união resina-dentina é um fator crítico para o sucesso de restaurações adesivas. A produção de vias de difusão a partir da remoção do conteúdo inorgânico tecidual pela aplicação de um agente condicionador ácido é um passo fundamental dentro dos protocolos de adesão à dentina. Idealmente, após o condicionamento da dentina, toda a zona desmineralizada deveria ser infiltrada por monômeros resinosos no processo de formação da camada híbrida, a fim de promover o selamento efetivo deste substrato.

Entretanto, a literatura é unânime em afirmar que a profundidade de desmineralização da dentina e sua subsequente infiltração monomérica é discrepante (53, 96), resultando em interfaces adesivas mais suscetíveis à biodegradação imposta pela cavidade bucal (31).

Considerando que a zona de desmineralização da dentina não impregnada por adesivo em sua totalidade é mais pronunciada em dentes decíduos, a redução do tempo de condicionamento poderia limitar tais efeitos nesse substrato. De fato, no presente estudo, a diminuição do tempo de aplicação do agente condicionador ácido em aproximadamente metade do tempo indicado para dentes permanentes não afetou negativamente a resistência de união imediata à dentina hígida de dentes decíduos para ambos os sistemas adesivos. Resultados similares foram observados em estudos prévios (11-12). Em algumas pesquisas, inclusive, aumento significativo nos valores de resistência de união foi observado (10, 13), justificado pela influência de características inerentes a morfologia e composição química da dentina de dentes decíduos no processo de adesão, e pelo aumento de rugosidade superficial da dentina intertubular observado quando um menor tempo de condicionamento ácido é empregado (13).

Ademais, a condição biológica do substrato afeta diretamente a qualidade da união resina-dentina. A noção de que a atividade de metaloproteinases, associada à degradação das interfaces, é maior em dentina afetada por cárie, suscitou a investigação da influência do tempo de condicionamento na união a esse substrato. Assim como para dentina hígida, a redução do tempo de condicionamento não comprometeu a adesão imediata à dentina afetada decídua.

Independente do tempo de condicionamento, menores valores de resistência de união foram obtidos em dentina afetada em comparação à dentina hígida, para

ambos os sistemas adesivos. Embora um protocolo artificial de indução de cárie tenha sido utilizado no presente estudo, os resultados confirmam, à semelhança das lesões naturais de cárie, que tal método foi capaz de induzir alterações no substrato que influenciaram negativamente os valores de resistência de união (59, 65-66). O modelo dinâmico de ciclagem de pH proposto por Marquezan et al. (68) promove desmineralização superficial do substrato, sendo considerado o mais adequado para simular a camada de dentina afetada em comparação a outros métodos laboratoriais, entre eles, o microbiológico.

Adicionalmente as alterações na fase inorgânica que comprometem a adesão à dentina afetada, a obliteração dos túbulos dentinários por cristais resistentes à dissolução ácida limita a infiltração monomérica e a formação de *tags* resinosos (16, 59). No entanto, independente do método, o depósito de cristais de cálcio e fosfato não ocorre quando da indução artificial de lesões de cárie, uma vez que esse fenômeno é decorrente da resposta lenta e crônica do complexo dentino-pulpar frente ao processo carioso (68).

Uma relação linear entre tempo de condicionamento e espessura de camada híbrida tem sido apontada na literatura (54-55). No presente estudo, camadas híbridas mais espessas foram obtidas quando a dentina foi condicionada com gel de ácido fosfórico a 35% por 15 segundos previamente à aplicação do Adper Single Bond 2, especialmente em substrato afetado. A dentina afetada por cárie apresenta menor conteúdo mineral e maior número de porosidades do que a dentina hígida (17, 23), favorecendo a difusão do condicionador ácido, ao mesmo tempo em que o menor conteúdo mineral reduz a capacidade de tamponamento exercida pelo tecido. Como consequência, são formadas camadas híbridas estruturalmente imperfeitas, contendo porosidades (54, 56) e áreas predominantemente hidrófilas (53, 76), além de uma zona de dentina desmineralizada desprovida de reforço mineral e/ou monomérico em sua base, considerada a zona mais fraca da interface adesiva (53).

Todavia, a espessura da camada híbrida produzida em dentina afetada após 7 segundos de condicionamento ácido ($\pm 3,45 \mu\text{m}$) foi similar à camada híbrida formada em dentina hígida após 15 segundos de condicionamento ($\pm 3,54 \mu\text{m}$). Os achados do presente estudo suportam a premissa de que a redução do tempo de condicionamento poderia diminuir a quantidade de colágeno exposto na base da camada híbrida, sobretudo em dentina afetada.

Inexistência de correlação positiva entre aumento de espessura de camada híbrida e maiores valores de resistência de união também tem sido demonstrada (53-54). O condicionamento excessivo do substrato dentinário pode minimizar a resistência de união devido ao colapso das fibrilas colágenas e/ou a precipitação de cristais de ácido-resistentes, impedindo que a zona de dentina desmineralizada seja adequadamente impregnada por monômeros resinosos (54). Sardella et al. (10) demonstraram que maiores valores de resistência de união e camadas híbridas mais finas foram obtidos quando a dentina hígida de dentes decíduos foi condicionada pela metade do tempo recomendado pelo fabricante, quando da utilização do adesivo Single Bond. A mesma influência do tempo de condicionamento não foi verificada para o sistema Clearfil SE Bond. No presente estudo, apesar das diferenças em termos de espessura da camada híbrida, não houve disparidade na resistência de união imediata comparando os tempos de condicionamento para cada substrato (dentina hígida e afetada), independente do sistema adesivo.

Embora camadas híbridas mais espessas tenham sido produzidas em dentina afetada por cárie após a aplicação do sistema autocondicionante, diferenças na espessura da camada híbrida não foram observadas entre os tempos de aplicação de *primer* (10 ou 20 segundos). Zonas de interdifusão resina-dentina absolutamente menos distintas e *tags* resinosos mais curtos e em menor número também foram detectados para o sistema adesivo Clearfil SE Bond. Contudo, já tem sido demonstrado que *tags* de resina não contribuem para a adesão de sistemas autocondicionantes (97) e que a formação de camadas híbridas menos espessas beneficia a estabilidade longitudinal das restaurações adesivas.

Enquanto que a existência de uma zona de dentina desmineralizada é identificada nas interfaces adesivas produzidas com o emprego de sistemas convencionais, tal ocorrência não deveria ser esperada para os sistemas autocondicionantes, uma vez que a desmineralização dos componentes inorgânicos e a penetração do adesivo nas fibrilas colágenas da dentina ocorrem simultaneamente. Embora zonas de colágeno exposto também tenham sido identificadas na base da zona de interdifusão resina-dentina quando da utilização de sistemas autocondicionantes (98), a criação de uma camada híbrida mais homogênea é favorecida, induzindo uma melhor distribuição das tensões ao longo da interface adesiva.

A despeito dos diferentes mecanismos de adesão e composição, valores similares de resistência de união imediata foram observados para os sistemas Adper Single Bond 2 e Clearfil SE Bond, corroborando investigações anteriores (43, 72). Todavia, diferenças significativas no comportamento dos sistemas adesivos foram identificadas em longo prazo.

Pesquisas que avaliaram a durabilidade da união de sistemas adesivos convencionais e autocondicionantes à dentina hígida têm reportado que os adesivos autocondicionantes de dois passos são mais resistentes à degradação (12, 75, 88, 99), quando aplicados de acordo com as orientações dos fabricantes.

Degradação da união resina-dentina ocorreu após 12 meses de armazenamento em água destilada. A redução dos valores de resistência de união para o adesivo Adper Single Bond 2 foi maior quando o tempo de condicionamento ácido foi estendido para 15 segundos, para ambos os substratos. Sanabe et al. (12) também demonstraram que a redução do tempo de condicionamento da dentina hígida exerceu influência positiva na longevidade das interfaces produzidas com sistema Single Bond após 6 meses de armazenamento em água destilada. A diminuição do tempo de condicionamento ácido, embora não tenha impedido a deterioração dos componentes da interface adesiva, parece torná-la menos suscetível aos fenômenos de degradação, provavelmente pela formação de camadas híbridas contendo um menor número de imperfeições em função da redução na profundidade de desmineralização da dentina.

Além do decréscimo dos valores de resistência de união após armazenamento em água, outros parâmetros, como o teste de nanoinfiltração, têm sido empregados para estimar a degradação dos constituintes da união resina-dentina. Na avaliação imediata, poucas áreas de infiltração de nitrato de prata na interface adesiva foram observadas para o adesivo convencional, independentemente do tempo de condicionamento e do substrato. Deposição de prata nos espécimes imediatamente (dentro de 24 horas) representa a água residual decorrente do procedimento de adesivo (100). Entretanto, a nanoinfiltração foi mais pronunciada após os 12 meses quando dentina hígida e afetada foram condicionadas por 15 segundos.

A menor infiltração de nitrato de prata na interface adesiva após 7 segundos de condicionamento evidencia que os maiores valores de resistência de união obtidos refletem em uma maior preservação da rede de colágeno por meio do embricamento

adesivo em torno das fibrilas colágenas, especialmente na base camada híbrida, embora essa avaliação não tenha sido diretamente realizada no presente estudo. Sendo assim, a associação inversa entre o padrão de infiltração na interface e a resistência de união observada denota a influência do tempo de condicionamento sobre a efetividade da união de sistema adesivo convencional de dois passos à dentina decídua.

Por outro lado, quando o sistema autocondicionante foi utilizado, degradação da união foi observada somente em dentina afetada. Similarmente, a nanoinfiltração foi mais pronunciada nesse substrato. As razões apontadas para a estabilidade de união à dentina hígida estabelecida pelo sistema Clearfil SE Bond podem estar relacionadas não apenas à formação de camadas híbridas mais uniformes (101) e maior presença de canforoquinona (102), mas especialmente pela possibilidade de interação química entre o monômero funcional 10 – MDP (10-metacriloiloxidecil dihidrogenio fosfato) e a hidroxiapatita, formando sais de cálcio pouco solúveis (103) que influenciam positivamente a longevidade da união. Assim, é plausível considerar que o menor conteúdo mineral da dentina afetada disponível para a interação com os monômeros funcionais resulte em maior deterioração da interface adesiva.

Todavia, os valores de resistência de união após 12 meses não foram afetados pelo tempo de condicionamento. Isso indica que, mesmo após um curto período de condicionamento da dentina, o *primer* foi capaz de dissolver parcialmente a camada de lama dentinária e desmineralizar a dentina subjacente.

Com relação ao padrão de fratura, predomínio de fratura adesiva/mista foi observado para todos os grupos experimentais, o que é esperado quando do uso do teste de microtração (41-42). No entanto, se compararmos os grupos onde diferentes tempos de condicionamento foram avaliados, podemos observar que os percentuais de fraturas coesivas em dentina foram maiores nos grupos de tempo de condicionamento total (indicado pelo fabricante), especialmente para o sistema adesivo convencional. Tempos prolongados de condicionamento podem ter alterado a distribuição das tensões ao longo da interface adesiva. A presença de uma área de dentina desmineralizada, não infiltrada, decorrente de um maior tempo de condicionamento, provavelmente direcionou a concentração do estresse nessa região ou pelo menos, na zona de dentina mineralizada subjacente, aumentando a ocorrência de fraturas coesivas. De fato, fraturas coesivas ocorridas na zona de dentina desmineralizada

podem ser responsáveis por pelo menos 50% das falhas quando sistemas adesivos a base de água e etanol, como o Adper Single Bond 2 são utilizados (104).

A frequência de fraturas prematuras foi maior em dentina afetada para ambos os sistemas adesivos, o que pode ser atribuído à menor força coesiva do substrato (98). Todavia, menor ocorrência desse tipo de falha foi observado quando o adesivo Adper Single Bond 2 foi aplicado em dentina afetada condicionada por 7 segundos, reiterando o efeito positivo da redução do tempo de condicionamento do substrato dentinário, visto que minimiza o déficit hibridizatório.

Considerando o sistema adesivo Clearfil SE Bond, falhas prematuras em dentina afetada foram mais prevalentes após 12 meses de armazenamento em água. A consideração desses espécimes no cálculo de resistência de união contribuiu significativamente para o decréscimo dos valores após 12 meses; aspecto que não foi verificado em substrato hígido. No entanto, a não inclusão dos espécimes que falharam precocemente superestimaria os resultados. Isto porque, estes são indicativos de maior suscetibilidade da interface de união à técnica de obtenção dos espécimes, maior variabilidade de ação do substrato ou maior sensibilidade ao armazenamento (105).

Ainda que os achados deste estudo laboratorial não possam ser diretamente extrapolados para uma situação clínica, em razão das limitações metodológicas, permitem, todavia, aventar a necessidade de protocolos adesivos específicos para dentes decíduos, e podem servir de guia para futuros ensaios clínicos randomizados.

Assim, em que se pese a ausência de efeito benéfico da diminuição do tempo de aplicação do *primer* na longevidade das interfaces adesivas e, considerando que esta modificação possa ser prejudicial ao desempenho de adesivo autocondicionante em esmalte (106), não há respaldo científico para sua indicação clínica. Por outro lado, a redução do tempo de condicionamento ácido é um procedimento de fácil controle que deve ser encorajado, uma vez que afeta de forma positiva a qualidade da interface adesiva produzida com sistema adesivo convencional de dois passos (Adper Single Bond 2).

7 CONCLUSÃO

Pode-se concluir que:

O efeito da redução no tempo de condicionamento é material dependente e resulta em maior estabilidade da união de sistema adesivo convencional de dois passos à dentina hígida e afetada de dentes decíduos.

REFERÊNCIAS¹

- 1 Angker L, Nockolds C, Swain MV, Kilpatrick N. Quantitative analysis of the mineral content of sound and carious primary dentine using BSE imaging. *Arch Oral Biol.* 2004 Feb;49(2):99-107.
- 2 Sonju Clasen AB, Ruyter IE. Quantitative determination of type A and type B carbonate in human deciduous and permanent enamel by means of Fourier transform infrared spectrometry. *Adv Dent Res.* 1997 Nov;11(4):523-7.
- 3 Sumikawa DA, Marshall GW, Gee L, Marshall SJ. Microstructure of primary tooth dentin. *Pediatr Dent.* 1999 Nov-Dec;21(7):439-44.
- 4 Selvig KA. Ultrastructural changes in human dentine exposed to a weak acid. *Arch Oral Biol.* 1968 Jul;13(7):719-34.
- 5 Hirayama M, Yamada A, Miake K. An electron microscope study on dentinal tubules of human deciduous teeth. *Shikwa Gakuho.* 1992;86:1021-31.
- 6 Nor JE, Feigal RJ, Dennison JB, Edwards CA. Dentin bonding: SEM comparison of the resin-dentin interface in primary and permanent teeth. *J Dent Res.* 1996 Jun;75(6):1396-403.
- 7 Nor JE, Feigal RJ, Dennison JB, Edwards CA. Dentin bonding: SEM comparison of the dentin surface in primary and permanent teeth. *Pediatr Dent.* 1997 May-Jun;19(4):246-52.
- 8 Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Endo K, Sano H, Oguchi H. In vivo degradation of resin-dentin bonds in humans over 1 to 3 years. *J Dent Res.* 2000 Jun;79(6):1385-91.
- 9 Pashley DH, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho RM, et al. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *J Dent Res.* 2004 Mar;83(3):216-21.

¹ De acordo com Estilo Vancouver.

- 10 Sardella TN, de Castro FL, Sanabe ME, Hebling J. Shortening of primary dentin etching time and its implication on bond strength. *J Dent*. 2005 May;33(5):355-62.
- 11 Torres CP, Chinelatti MA, Gomes-Silva JM, Borsatto MC, Palma-Dibb RG. Tensile bond strength to primary dentin after different etching times. *J Dent Child (Chic)*. 2007 May-Aug;74(2):113-7.
- 12 Sanabe ME, Kantovitz KR, Costa CA, Hebling J. Effect of acid etching time on the degradation of resin-dentin bonds in primary teeth. *Am J Dent*. 2009 Feb;22(1):37-42.
- 13 Osorio R, Aguilera FS, Otero PR, Romero M, Osorio E, Garcia-Godoy F, et al. Primary dentin etching time, bond strength and ultra-structure characterization of dentin surfaces. *J Dent*. 2010 Mar;38(3):222-31.
- 14 Fusayama T, Okuse K, Hosoda H. Relationship between hardness, discoloration, and microbial invasion in carious dentin. *J Dent Res*. 1966 Jul-Aug;45(4):1033-46.
- 15 Maltz M, de Oliveira EF, Fontanella V, Bianchi R. A clinical, microbiologic, and radiographic study of deep caries lesions after incomplete caries removal. *Quintessence Int*. 2002 Feb;33(2):151-9.
- 16 Nakajima M, Sano H, Urabe I, Tagami J, Pashley DH. Bond strengths of single-bottle dentin adhesives to caries-affected dentin. *Oper Dent*. 2000 Jan-Feb;25(1):2-10.
- 17 Yoshiyama M, Urayama A, Kimochi T, Matsuo T, Pashley DH. Comparison of conventional vs self-etching adhesive bonds to caries-affected dentin. *Oper Dent*. 2000 May-Jun;25(3):163-9.
- 18 Ceballos L, Camejo DG, Victoria Fuentes M, Osorio R, Toledano M, Carvalho RM, et al. Microtensile bond strength of total-etch and self-etching adhesives to caries-affected dentine. *J Dent*. 2003 Sep;31(7):469-77.
- 19 Pereira PN, Nunes MF, Miguez PA, Swift EJ, Jr. Bond strengths of a 1-step self-etching system to caries-affected and normal dentin. *Oper Dent*. 2006 Nov-Dec;31(6):677-81.

- 20 Nakajima M, Kitasako Y, Okuda M, Foxton RM, Tagami J. Elemental distributions and microtensile bond strength of the adhesive interface to normal and caries-affected dentin. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2005 Feb 15;72(2):268-75.
- 21 Erhardt MC, Rodrigues JA, Valentino TA, Ritter AV, Pimenta LA. In vitro microTBS of one-bottle adhesive systems: sound versus artificially-created caries-affected dentin. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2008 Jul;86(1):181-7.
- 22 Scholtanus JD, Purwanta K, Dogan N, Kleverlaan CJ, Feilzer AJ. Microtensile bond strength of three simplified adhesive systems to caries-affected dentin. *J Adhes Dent*. 2010 Aug;12(4):273-8.
- 23 Wang Y, Spencer P, Walker MP. Chemical profile of adhesive/caries-affected dentin interfaces using Raman microspectroscopy. *J Biomed Mater Res A*. 2007 May;81(2):279-86.
- 24 Haj-Ali R, Walker M, Williams K, Wang Y, Spencer P. Histomorphologic characterization of noncarious and caries-affected dentin/adhesive interfaces. *J Prosthodont*. 2006 Mar-Apr;15(2):82-8.
- 25 Erhardt MC, Toledano M, Osorio R, Pimenta LA. Histomorphologic characterization and bond strength evaluation of caries-affected dentin/resin interfaces: effects of long-term water exposure. *Dent Mater*. 2008 Jun;24(6):786-98.
- 26 Kramer PF, Feldens CA, Romano AR. Promoção de saúde bucal em odontopediatria. São Paulo: Artes Médicas; 2000.
- 27 Buonocore MG. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. *J Dent Res*. 1955 Dec;34(6):849-53.
- 28 Fusayama T, Nakamura M, Kurosaki N, Iwaku M. Non-pressure adhesion of a new adhesive restorative resin. *J Dent Res*. 1979 Apr;58(4):1364-70.
- 29 Nakabayashi N, Kojima K, Masuhara E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. *J Biomed Mater Res*. 1982 May;16(3):265-73.
- 30 Kanca J, 3rd. Resin bonding to wet substrate. II. Bonding to enamel. *Quintessence Int*. 1992 Sep;23(9):625-7.

-
- 31 De Munck J, Van Meerbeek B, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Suzuki K, et al. Four-year water degradation of total-etch adhesives bonded to dentin. *J Dent Res*. 2003 Feb;82(2):136-40.
- 32 Marshall GW, Jr., Marshall SJ, Kinney JH, Balooch M. The dentin substrate: structure and properties related to bonding. *J Dent*. 1997 Nov;25(6):441-58.
- 33 Giannini M, Soares CJ, de Carvalho RM. Ultimate tensile strength of tooth structures. *Dent Mater*. 2004 May;20(4):322-9.
- 34 Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, et al. Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent*. 2003 May-Jun;28(3):215-35.
- 35 Pashley DH, Carvalho RM. Dentine permeability and dentine adhesion. *J Dent*. 1997 Sep;25(5):355-72.
- 36 Peumans M, Kanumilli P, De Munck J, Van Landuyt K, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Clinical effectiveness of contemporary adhesives: a systematic review of current clinical trials. *Dent Mater*. 2005 Sep;21(9):864-81.
- 37 Tay FR, Pashley DH. Water treeing--a potential mechanism for degradation of dentin adhesives. *Am J Dent*. 2003 Feb;16(1):6-12.
- 38 Carvalho RM, Manso AP, Geraldini S, Tay FR, Pashley DH. Durability of bonds and clinical success of adhesive restorations. *Dent Mater*. 2012 Jan;28(1):72-86.
- 39 Bayne SC. Correlation of clinical performance with 'in vitro tests' of restorative dental materials that use polymer-based matrices. *Dent Mater*. 2012 Jan;28(1):52-71.
- 40 Van Noort R, Noroozi S, Howard IC, Cardew G. A critique of bond strength measurements. *J Dent*. 1989 Apr;17(2):61-7.
- 41 Sano H, Shono T, Sonoda H, Takatsu T, Ciucchi B, Carvalho R, et al. Relationship between surface area for adhesion and tensile bond strength--evaluation of a micro-tensile bond test. *Dent Mater*. 1994 Jul;10(4):236-40.

- 42 Burrow MF, Nopnakeepong U, Phrukkanon S. A comparison of microtensile bond strengths of several dentin bonding systems to primary and permanent dentin. *Dent Mater*. 2002 May;18(3):239-45.
- 43 Soares FZ, Rocha R de O, Raggio DP, Sadek FT, Cardoso PE. Microtensile bond strength of different adhesive systems to primary and permanent dentin. *Pediatr Dent*. 2005 Nov-Dec;27(6):457-62.
- 44 Casagrande L, De Hipolito V, De Goes MF, de Araujo FB. Bond strength and interfacial morphology of two adhesive systems to deciduous dentin: in vitro study. *J Clin Pediatr Dent*. 2005 Summer;29(4):317-22.
- 45 Marquezan M, da Silveira BL, Burnett LH, Jr., Rodrigues CR, Kramer PF. Microtensile bond strength of contemporary adhesives to primary enamel and dentin. *J Clin Pediatr Dent*. 2008 Winter;32(2):127-32.
- 46 Senawongse P, Harnirattisai C, Shimada Y, Tagami J. Effective bond strength of current adhesive systems on deciduous and permanent dentin. *Oper Dent*. 2004 Mar-Apr;29(2):196-202.
- 47 Uekusa S, Yamaguchi K, Miyazaki M, Tsubota K, Kurokawa H, Hosoya Y. Bonding efficacy of single-step self-etch systems to sound primary and permanent tooth dentin. *Oper Dent*. 2006 Sep-Oct;31(5):569-76.
- 48 Lenzi TL, Soares FZ, Rocha R de O. Degradation of resin-dentin bonds of etch-and-rinse adhesive system to primary and permanent teeth. *Braz Oral Res*. Nov-Dec; 26(6):511-5, Epub 2012 Sep 27.
- 49 Ricci HA, Sanabe ME, Costa CA, Hebling J. Bond strength of two-step etch-and-rinse adhesive systems to the dentin of primary and permanent teeth. *J Clin Pediatr Dent*. 2010 Winter;35(2):163-8.
- 50 Hosoya Y, Nishiguchi M, Kashiwabara Y, Horiuchi A, Goto G. Comparison of two dentin adhesives to primary vs. permanent bovine dentin. *J Clin Pediatr Dent*. 1997 Fall;22(1):69-76.
- 51 Lenzi TL, Guglielmi C de A, Arana-Chavez VE, Raggio DP. Dentinal Tubule Density and Diameter of Primary and Permanent Teeth. dados não publicados.

- 52 Angker L, Swain MV, Kilpatrick N. Micro-mechanical characterisation of the properties of primary tooth dentine. *J Dent*. 2003 May;31(4):261-7.
- 53 Hashimoto M, Ohno H, Endo K, Kaga M, Sano H, Oguchi H. The effect of hybrid layer thickness on bond strength: demineralized dentin zone of the hybrid layer. *Dent Mater*. 2000 Nov;16(6):406-11.
- 54 Pioch T, Stotz S, Buff E, Duschner H, Staehle HJ. Influence of different etching times on hybrid layer formation and tensile bond strength. *Am J Dent*. 1998 Oct;11(5):202-6.
- 55 Uno S, Finger WJ. Effects of acidic conditioners on dentine demineralization and dimension of hybrid layers. *J Dent*. 1996 May;24(3):211-6.
- 56 Wang Y, Spencer P. Effect of acid etching time and technique on interfacial characteristics of the adhesive-dentin bond using differential staining. *Eur J Oral Sci*. 2004 Jun;112(3):293-9.
- 57 Shashikiran ND, Gunda S, Subba Reddy VV. Comparison of resin-dentine interface in primary and permanent teeth for three different durations of dentine etching. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*. 2002 Dec;20(4):124-31.
- 58 Bolanos-Carmona V, Gonzalez-Lopez S, Briones-Lujan T, De Haro-Munoz C, de la Macorra JC. Effects of etching time of primary dentin on interface morphology and microtensile bond strength. *Dent Mater*. 2006 Dec;22(12):1121-9.
- 59 Nakajima M, Kunawarote S, Prasansuttiorn T. Bonding to caries-affected dentin. *Japan Dent Sci Rev*. 2011 Aug; 47(2):102-14.
- 60 Hosoya Y, Tay FR. Hardness, elasticity, and ultrastructure of bonded sound and caries-affected primary tooth dentin. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2007 Apr;81(1):135-41.
- 61 Tosun G, Koyuturk AE, Sener Y, Sengun A. Bond strength of two total-etching bonding systems on caries-affected and sound primary teeth dentin. *Int J Paediatr Dent*. 2008 Jan;18(1):62-9.
- 62 Nakornchai S, Harnirattisai C, Surarit R, Thiradilok S. Microtensile bond strength of a total-etching versus self-etching adhesive to caries-affected and intact dentin in primary teeth. *J Am Dent Assoc*. 2005 Apr;136(4):477-83.

- 63 Zawaideh F, Palamara JE, Messer LB. Bonding of resin composite to caries-affected dentin after Carisolv((R)) treatment. *Pediatr Dent*. 2011 May-Jun;33(3):213-20.
- 64 Hosoya Y, Kawada E, Ushigome T, Oda Y, Garcia-Godoy F. Micro-tensile bond strength of sound and caries-affected primary tooth dentin measured with original designed jig. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2006 May;77(2):241-8.
- 65 Marquezan M, Osorio R, Ciamponi AL, Toledano M. Resistance to degradation of bonded restorations to simulated caries-affected primary dentin. *Am J Dent*. 2010 Feb;23(1):47-52.
- 66 Alves FBT, Lenzi TL, Reis A, Loguercio AD, Carvalho TS, Raggio DP. The bonding of simplified adhesive systems to the caries-affected dentin of primary teeth. *J Adhes Dent*. *in press*.
- 67 Boston DW, Liao J. Staining of non-carious human coronal dentin by caries-dyes. *Oper Dent*. 2004 May-Jun;29(3):280-6.
- 68 Marquezan M, Correa FN, Sanabe ME, Rodrigues Filho LE, Hebling J, Guedes-Pinto AC, et al. Artificial methods of dentine caries induction: A hardness and morphological comparative study. *Arch Oral Biol*. 2009 Dec;54(12):1111-7.
- 69 Sacramento PA, De Carvalho FG, Pascon FM, Borges AF, Alves MC, Hosoya Y, et al. Influence of NaOCl irrigation and water storage on the degradation and microstructure of the resin/primary dentin interface. *J Adhes Dent*. 2011 Jun;13(3):213-20.
- 70 Erhardt MC, Pisani-Proenca J, Osorio E, Aguilera FS, Toledano M, Osorio R. Influence of laboratory degradation methods and bonding application parameters on microTBS of self-etch adhesives to dentin. *Am J Dent*. 2011 Apr;24(2):103-8.
- 71 Osorio R, Toledano M, Osorio E, Aguilera FS, Tay FR. Effect of load cycling and in vitro degradation on resin-dentin bonds using a self-etching primer. *J Biomed Mater Res A*. 2005 Mar 15;72(4):399-408.
- 72 Rocha R, Soares FZ, Rodrigues CR, Rodrigues Filho LE. Influence of aging treatments on microtensile bond strength of adhesive systems to primary dentin. *J Dent Child (Chic)*. 2007 May-Aug;74(2):109-12.

- 73 Hashimoto M, Fujita S, Nagano F, Ohno H, Endo K. Ten-years degradation of resin-dentin bonds. *Eur J Oral Sci.* 2010 Aug;118(4):404-10.
- 74 Skovron L, Kogeo D, Gordillo LA, Meier MM, Gomes OM, Reis A, et al. Effects of immersion time and frequency of water exchange on durability of etch-and-rinse adhesive. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2010 Nov;95(2):339-46.
- 75 Koshiro K, Inoue S, Tanaka T, Koase K, Fujita M, Hashimoto M, et al. In vivo degradation of resin-dentin bonds produced by a self-etch vs. a total-etch adhesive system. *Eur J Oral Sci.* 2004 Aug;112(4):368-75.
- 76 Wang Y, Spencer P. Hybridization efficiency of the adhesive/dentin interface with wet bonding. *J Dent Res.* 2003 Feb;82(2):141-5.
- 77 Carvalho RM, Chersoni S, Frankenberger R, Pashley DH, Prati C, Tay FR. A challenge to the conventional wisdom that simultaneous etching and resin infiltration always occurs in self-etch adhesives. *Biomaterials.* 2005 Mar;26(9):1035-42.
- 78 Eliades G, Vougiouklakis G, Palaghias G. Heterogeneous distribution of single-bottle adhesive monomers in the resin-dentin interdiffusion zone. *Dent Mater.* 2001 Jul;17(4):277-83.
- 79 Tay FR, Gwinnett AJ, Wei SH. The overwet phenomenon: a scanning electron microscopic study of surface moisture in the acid-conditioned, resin-dentin interface. *Am J Dent.* 1996 Jun;9(3):109-14.
- 80 Carrilho MR, Tay FR, Pashley DH, Tjaderhane L, Carvalho RM. Mechanical stability of resin-dentin bond components. *Dent Mater.* 2005 Mar;21(3):232-41.
- 81 Tjaderhane L, Larjava H, Sorsa T, Uitto VJ, Larmas M, Salo T. The activation and function of host matrix metalloproteinases in dentin matrix breakdown in caries lesions. *J Dent Res.* 1998 Aug;77(8):1622-9.
- 82 Reis AF, Arrais CA, Novaes PD, Carvalho RM, De Goes MF, Giannini M. Ultramorphological analysis of resin-dentin interfaces produced with water-based single-step and two-step adhesives: nanoleakage expression. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2004 Oct 15;71(1):90-8.
- 83 Carrilho MR, Carvalho RM, Tay FR, Pashley DH. Effects of storage media on mechanical properties of adhesive systems. *Am J Dent.* 2004 Apr;17(2):104-8.

- 84 Sano H, Takatsu T, Ciucchi B, Horner JA, Matthews WG, Pashley DH. Nanoleakage: leakage within the hybrid layer. *Oper Dent*. 1995 Jan-Feb;20(1):18-25.
- 85 Sano H, Yoshiyama M, Ebisu S, Burrow MF, Takatsu T, Ciucchi B, et al. Comparative SEM and TEM observations of nanoleakage within the hybrid layer. *Oper Dent*. 1995 Jul-Aug;20(4):160-7.
- 86 Tay FR, Pashley DH, Yoshiyama M. Two modes of nanoleakage expression in single-step adhesives. *J Dent Res*. 2002 Jul;81(7):472-6.
- 87 Reis A, Grande RH, Oliveira GM, Lopes GC, Loguercio AD. A 2-year evaluation of moisture on microtensile bond strength and nanoleakage. *Dent Mater*. 2007 Jul;23(7):862-70.
- 88 Okuda M, Pereira PN, Nakajima M, Tagami J, Pashley DH. Long-term durability of resin dentin interface: nanoleakage vs. microtensile bond strength. *Oper Dent*. 2002 May-Jun;27(3):289-96.
- 89 Marquezan M, Skupien JA, da Silveira BL, Ciamponi A. Nanoleakage related to bond strength in RM-GIC and adhesive restorations. *Eur Arch Paediatr Dent*. 2011 Feb;12(1):15-21.
- 90 Hebling J, Pashley DH, Tjaderhane L, Tay FR. Chlorhexidine arrests subclinical degradation of dentin hybrid layers in vivo. *J Dent Res*. 2005 Aug;84(8):741-6.
- 91 Ricci HA, Sanabe ME, de Souza Costa CA, Pashley DH, Hebling J. Chlorhexidine increases the longevity of in vivo resin-dentin bonds. *Eur J Oral Sci*. 2010 Aug;118(4):411-6.
- 92 Komori PC, Pashley DH, Tjaderhane L, Breschi L, Mazzoni A, de Goes MF, et al. Effect of 2% chlorhexidine digluconate on the bond strength to normal versus caries-affected dentin. *Oper Dent*. 2009 Mar-Apr;34(2):157-65.
- 93 Nakajima M, Hosaka K, Yamauti M, Foxton RM, Tagami J. Bonding durability of a self-etching primer system to normal and caries-affected dentin under hydrostatic pulpal pressure in vitro. *Am J Dent*. 2006 Jun;19(3):147-50.
- 94 Mobarak EH. Effect of chlorhexidine pretreatment on bond strength durability of caries-affected dentin over 2-year aging in artificial saliva and under simulated intrapulpal pressure. *Oper Dent*. 2011 Nov-Dec;36(6):649-60.

- 95 ten Cate JM, Duijsters PP. Alternating demineralization and remineralization of artificial enamel lesions. *Caries Res.* 1982;16(3):201-10.
- 96 Spencer P, Wang Y, Katz JL. Identification of collagen encapsulation at the dentin/adhesive interface. *J Adhes Dent.* 2004 Summer;6(2):91-5.
- 97 Lohbauer U, Nikolaenko SA, Petschelt A, Frankenberger R. Resin tags do not contribute to dentin adhesion in self-etching adhesives. *J Adhes Dent.* 2008 Feb;10(2):97-103.
- 98 Yoshiyama M, Tay FR, Doi J, Nishitani Y, Yamada T, Itou K, et al. Bonding of self-etch and total-etch adhesives to carious dentin. *J Dent Res.* 2002 Aug;81(8):556-60.
- 99 Casagrande L, de Hipolito V, de Goes MF, Barata JS, Garcia-Godoy F, de Araujo FB. Bond strength and failure patterns of adhesive restorations in primary teeth aged in the oral environment. *Am J Dent.* 2006 Oct;19(5):279-82.
- 100 Breschi L, Mazzoni A, Ruggeri A, Cadenaro M, Di Lenarda R, De Stefano Dorigo E. Dental adhesion review: aging and stability of the bonded interface. *Dent Mater.* 2008 Jan;24(1):90-101.
- 101 Yoshida Y, Nagakane K, Fukuda R, Nakayama Y, Okazaki M, Shintani H, et al. Comparative study on adhesive performance of functional monomers. *J Dent Res.* 2004 Jun;83(6):454-8.
- 102 Nunes TG, Garcia FC, Osorio R, Carvalho R, Toledano M. Polymerization efficacy of simplified adhesive systems studied by NMR and MRI techniques. *Dent Mater.* 2006 Oct;22(10):963-72.
- 103 Yoshida Y, Van Meerbeek B, Nakayama Y, Yoshioka M, Snauwaert J, Abe Y, et al. Adhesion to and decalcification of hydroxyapatite by carboxylic acids. *J Dent Res.* 2001 Jun;80(6):1565-9.
- 104 Tay FR, Carvalho RM, Yiu CK, King NM, Zhang Y, Agee K, et al. Mechanical disruption of dentin collagen fibrils during resin-dentin bond testing. *J Adhes Dent.* 2000 Autumn;2(3):175-92.
- 105 Phrukkanon S, Burrow MF, Tyas MJ. Effect of cross-sectional surface area on bond strengths between resin and dentin. *Dent Mater.* 1998 Mar;14(2):120-8.

106 Boj JR, Martin AM, Espasa E, Cortes O. Bond strength and micro morphology of a self-etching primer versus a standard adhesive system with varying etching times in primary teeth. Eur J Paediatr Dent. 2004 Dec;5(4):233-8.

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA****Comitê de Ética em Pesquisa****PARECER DE APROVAÇÃO**

FR – 321869

Protocolo 26/2010

O grupo de trabalho indicado pelo Comitê de Ética em Pesquisa **APROVOU** o protocolo de pesquisa **"Efeito da condição do substrato e do protocolo de aplicação na estabilidade da união de sistemas adesivos à dentina de dentes decíduos"**, de responsabilidade do(a) Pesquisador(a) Tathiane Larissa Lenzi, sob orientação do(a) Prof.(a) Dr.(a) Daniela Procida Raggio.

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados a este Comitê relatórios anuais referentes ao andamento da pesquisa e ao término cópia do trabalho em "cd". Qualquer emenda do projeto original deve ser apresentada a este CEP para apreciação, de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

São Paulo, 16 de abril de 2010.

Profa. Dra. Marcia Turolla Wanderley
Coordenadora do CEP-FOUSP