ANA FLÁVIA BISSOTO CALVO

**Efeito de diferentes modelos de envelhecimento na resistência de união em
dentina decídua hígida e cariada**

São Paulo

2015

ANA FLÁVIA BISSOTO CALVO

Efeito de diferentes modelos de envelhecimento na resistência de união em dentina decídua hígida e cariada

Versão Corrigida

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

Orientador: Profa. Dra. Daniela Prócida Raggio

São Paulo

2015

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

Calvo, Ana Flávia Bissoto.

Efeito de diferentes modelos de envelhecimento na resistência de união em dentina decídua hígida e cariada / Ana Flávia Bissoto Calvo; orientadora Daniela Prócida Raggio -- São Paulo, 2015.

90 p. : il. : fig., tab., graf. ; 30 cm.

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

Versão corrigida.

1. Adesivos dentinários. 2. Cimentos de ionômeros de vidro. 3. Resistência de união - Odontologia. 4. Dente decíduo. 5. Materiais restauradores. I. Raggio, Daniela Prócida. II. Título.

Calvo AFB. Efeito de diferentes modelos de envelhecimento na resistência de união em dentina decídua hígida e cariada. Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências Odontológicas.

Aprovado em: / / 2015

Banca Examinadora

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

*Aos meus pais **Aldo e Maria Lúcia**, por todo apoio e incentivo e por todo esforço sempre despendido para realizarmos nossos sonhos. Por serem pessoas maravilhosas, exemplos de honestidade e integridade para todos que têm o privilégio do convívio e um orgulho para nós seus filhos! Aos meus irmãos **César, Carol e Guilherme**, muito obrigada por partilhar todos os momentos e estarem sempre prontos a me ajudar!*

*Ao **Luiz Paulo e Ana Victória**, pela alegria de acordar com vocês todos os dias e compartilhar ao menos uma das refeições. Pelo apoio incondicional em todos os momentos e incentivo nos momentos mais difíceis.*

Queria que soubessem que os desafios de cada dia tornam-se mais leves quando sabemos que há um porto seguro nos esperando no final do dia! Muito obrigada, Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

À Deus, por estar sempre iluminando nosso caminho e me apresentando com pessoas maravilhosas.

*À Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, na pessoa do diretor **Prof. Dr. Waldyr Antônio Jorge** por toda oportunidade de aprendizado e pela realização de estar nesta universidade.*

*À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo, **FAPESP**, e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, **CAPES**, pelas bolsas concedidas (2012/11846-5).*

*À meus pais **Aldo e Maria Lúcia** e meus irmãos **César, Carol e Guilherme** meus eternos agradecimentos, pelo exemplo, presença, amor e por ajudar em toda logística **SEMPRE**. Eu me sinto como um polvo, cheio de braços direitos a me ajudar. Sem vocês, seria impossível chegar até aqui! Muito Obrigada!*

*Ao **Luiz Paulo** meu amigo e eterno amor, obrigada pelo apoio e incentivo em todos os momentos, me ensinando a olhar cada situação por outras perspectivas, sempre com sábias palavras e ótimos exemplos. À minha querida **Ana Victória**, sem dúvida o meu maior presente de toda minha vida, obrigada por ser essa companheirinha de todos os momentos, amiga e por me proporcionar tantas alegrias e ensinamentos, sempre disposta a ajudar! Um verdadeiro tesouro e o motivo maior de toda nossa batalha. À vocês dois, obrigada por entenderem a minha ausência e a distância em alguns momentos.*

*À família Calvo, **Sr Anibal, D. Laurinda, Mário, Iolanda, Cá, Lú e Luis Felipe, Mari e Marcelo**, gostaria de agradecer a todos pelo convívio e todo incentivo. Em especial, a Landa um exemplo de profissional, professora e pesquisadora, com esse coração imenso sempre pronta a ajudar! Uma pessoa que inspira todos que estão ao seu lado é um orgulho fazer parte dessa família!*

*À **profa Dra. Daniela Prócida Raggio**, minha querida orientadora, não tenho como agradecer tanto aprendizado. Amizade e orientação se completaram nessa trajetória. Obrigada por confiar em meu trabalho antes mesmo do início dessa jornada, por me receber de braços abertos e me deixar tão a vontade como poucos sabem fazer! Pelas discussões científicas (e as não científicas), pela deliciosa companhia em todas as clínicas; nas discussões cirúrgicas, por todas as oportunidades em especial as de aprender com você, com suas alunas e orientadas; pela confiança nos projetos, pela autonomia nos dada, por sempre nos mostrar a delícia que é trabalharmos juntas, transmitir essa paixão pela vida acadêmica e compartilhar tudo o que sabe e acredita. Queria lhe agradecer por toda paciência e pela infinita vontade em nos ajudar. Porém, mais do que tudo isso por sempre lembrar que o mais importante é que precisamos formar pessoas! As pessoas que estão ao nosso lado e admiramos nos servem de espelho e com certeza aprendi muito com você, um exemplo de mãe e profissional! Terei sempre muito o que contar, meu eterno agradecimento!*

*Aos professores do Departamento de Odontopediatria, cada um com suas particularidades e preferências ajudaram a ter uma formação mais completa: a **profa Dra. Ana Estela Haddad**, me aproximando da teleodontologia; a **profa Dra Ana Lídia Ciamponi**, discutindo os casos especiais e os cuidados com esses pacientes; o **Prof. Dr Fausto Mendes** e os grandes ensinamentos epidemiológicos e estatísticos, discussões dos artigos, perguntas que despertavam a curiosidade e vontade para estudar mais e mais, um exemplo de pesquisador que por trás dessa feição séria tem um grande coração; **profa Dra Mariana**, pelas discussões desde a especialização, e todos os ensinamentos em especial nos últimos anos, nas aulas de revisão sistemática sempre atenciosa e repleta de disponibilidade em ajudar! Um exemplo de perseverança; **profa Dra. Marcia Wanderley**, sempre dividindo seus conhecimentos de trauma e vivência clínica; **prof Dr José Carlos P. Imparato**, com seus ensinamentos de dentística, remoção parcial e zelo nas esculturas gostaria de lhe agradecer também por todas as oportunidades e confiança em meu trabalho; **prof Dr Marcelo** pelo convívio, pelas conversas e por orquestrar toda a equipe e a **profa. Dra Salete** um exemplo de pessoa e profissional, admirada e respeitada por todos, com invejável paciência, sábias palavras e rodinhas nos pés, está sempre*

*pronta a ensinar! **Meus mestres, muito obrigada por compartilhar seus conhecimentos e lapidarem a minha formação de odontopediatra, professora e pesquisadora.***

*Às paquitas, minhas queridas, **Camilinha, Dani Hesse, Tamara e Thati Lenzi** muito obrigada por me receberem de braços abertos, (mesmo não tendo ficado loira...rsrs). Foi um imenso prazer e aprendizado poder agregar com vocês uma orientação ímpar como a da Dani. Sim agregar, pois uma das coisas que ela nos ensina é que não dividimos, agregamos! O trabalho em equipe, as discussões, os projetos, as preocupações e apreensões até mesmo fora do âmbito da odontologia nos uniram e nos fizeram crescer. Às novas orientadas que vieram integrar a equipe, ainda com o mesmo perfil **Laysa** muito solícita e estudiosa, responsável, muito obrigada pela ajuda e preocupação sempre! **Izabel**, sempre pronta pra qualquer trabalho e **Aline** entusiasmada com a odontologia e com uma alegria de viver. Torço por vocês e tenho certeza que terão muito sucesso em suas vidas.*

*Aos colegas de pós - graduação, nossos dias são mais leves quando podemos compartilhar com pessoas maravilhosas como vocês. Tantas coisas passamos juntos, aulas, laboratórios, clínicas... experiências que serão lembradas para sempre! Cada um com seu jeito e suas qualidades formaram o que sempre ouvi dizer: a família da odontopediatria. **Aline Galvão**, aventureira e pronta para romper fronteiras em nome da odontologia; **Caleb**, sempre alegre e pronto pra luta; **Camila**, um grade esforço para conseguir conciliar todos os afazeres com a pós - graduação, com sua meiguice nos conquistou; **Carol**, sempre solícita e amável; **Carmela**, com cara de séria e lutadora, aumentou time das gaúchas e nos presenteou com esse sotaque maravilhoso, um exemplo de endodontista! **Deyse**, muito inteligente e estudiosa, e o melhor é que compartilha com todos com o maior prazer, aprendi muito com vc! **Edu**, um típico japonês, quieto e trabalhador, nossas discussões científicas agregaram muito meus conhecimentos; **Evelyn**, muito estudiosa e concentrada, batalhadora, amigas em comum nos aproximaram, será muito feliz e realizada, tenho certeza! **Fernanda**, muito responsável e correta; **Gabi**, um pessoa muito querida e amável, esforçada e dedicada, foi um prazer imenso ter sua companhia nessa fase; **Gustavo**: sempre nos presenteando com um chocolate,*

com bondade não cabe em seu coração e além disso muito batalhador, em breve seus esforços serão recompensados, você merece! **Izabel**, trabalhadora e interessada, a tutora oficial dos holandeses; **Juliana Mattos**, muito aplicada e reponsável uma das mais novas mães da nossa turma; **Juan**, "**Baby**" você é uma pessoa muito especial, obrigada pelo carinho e oportunidade sempre! **Jenny**, um exemplo de concentração e de trabalho; **Helena**, discreta mas sempre presente preocupada em nos ajudar; **Muri**, recém chegado, mas sempre muito interessado; **Patrícia**, responsável e maezinha agora cuidando das duas princesas; **Rafael** além dos conhecimentos científicos muitas risadas e descontração, você com certeza fez a diferença na nossa turma; **Renatinha**, a mais epidemiológica de todos, nos ensinando sobre a qualidade de vida; **Taciana**, a nova integrante do grupo dos especiais, seja bem vinda! **Thais Cordeschi**, aplicada e estudiosa. Gostaria de lhes agradecer por fazerem parte da minha formação, desses anos que passamos juntos e por estarem sempre prontos a me ajudar.

Algumas pessoas acabam ficando mais próximas de nós e temos o prazer e a oportunidade de conhecê-las mais intimamente e acabam fazendo parte da nossa vida:

Minha querida irmã-científica, **Tamara Tedesco**, quanta coisa dividimos esses últimos anos, dias no laboratório, buscas intermináveis de revisões sistemáticas, discussões de resultados e as estatísticas!! Alegrias e incertezas mesmo estando longe, sempre presente! Uma cumplicidade única que nos fez crescer. Preciso lhe agradecer pois você dividiu comigo uma das coisas mais preciosas: seus amigos! (que não são poucos!!) Me apresentou ao laboratório de materiais e todos que lá estão. Sempre foi muito bom compartilhar com você todos os acontecimentos, esse prazer fez os anos parecerem dias, nessa jornada. Espero poder continuar tendo esse privilégio ainda por muito tempo!

A mais nova mãe da turma: **Thaíz Gimenes**, minha irmã de alma, como costumamos dizer. Você sabe o quanto admiro, uma amiga que sabe o que quer e com certeza chegará em seu objetivo com louvor! Muito dedicada e inteligente, autodidata em vários aspectos, se tivesse um pouquinho disso tudo estaria feliz. Sempre preocupada em nos representar perante a faculdade e defender os interesses dos alunos de pós - graduação sem esperar nada em troca. Muito

obrigada por todas as terapias, pelas discussões, funnel plots, e por compartilhar esse momento lindo com o Antônio, que nossa amizade perdure por muitos anos.

*A minha querida amiga **Juliana Kimura**, desde o início nos identificamos e as voltas do noturno para Campinas eram maravilhosas! Uma pena que o caminho era mais curto do que gostaríamos... Uma pessoa: muito correta, dedicada e responsável. Às vezes parece que conversamos por telepatia! Jujú, você é um exemplo a ser seguido, tenho muito orgulho de ter amigas como você! Acho que nossa amizade vai além dos vínculos da pós-graduação e isso me deixa muito feliz!*

*À **Tatiane Novaes**, uma super mãezinha para todos nós! Muito inteligente e responsável, é uma líder nata! Sempre preocupada com todos. Muito obrigada pela companhia nas clínicas, confiança, convivência e por todos os conselhos! Fico feliz que nossa parceria ainda permanecerá por muito tempo!*

*À **Alessandra Reys**, muito obrigada pelas conversas e discussões científicas e não científicas, pelo exemplo de pessoa e profissional e pela perseverança. Tenho muito orgulho de você, já colhe frutos da sua caminhada: Parabéns!!*

*À **Isabela Floriano**, com suas "discordâncias", nos instiga a pensar e encontrar os argumentos para as justificativas. Obrigada por estar presente nessa fase da minha formação.*

*À querida **Dani Hesse**, tenho muito a agradecer, sempre solícita, trabalhadora e objetiva, aprendi muito com você. Obrigada por tudo!!*

*À **Laysa Yoshioka**, minha querida, sempre amável e disposta a ajudar, muito interessada, segredo de sucesso!! Obrigada por tudo! Espero poder um dia retribuir.*

*À **Karlinha Rezende**, com seu inconfundível "Bom dia amiguinhos!! Foi sempre uma alegria compartilhar esses anos com você! Tenho certeza que está reservado o melhor pra sua vida!*

*Ao **Levy Anderson Alves**, obrigada pelos ensinamentos de metaboloma, pelas discussões dos casos especiais, pela idéias, conversas, pelo dakin (rsrs) e pela principalmente amizade!!*

*Vocês sabem: **agradeço a Deus todos os dias** por ter pessoas como vocês em minha vida!! Não sei se sou merecedora de tanta alegria!*

***Aos amigos** que prontamente me ajudaram como **voluntários dessa pesquisa**, sem o apoio, o cuidado e a cumplicidade de vocês não seria possível realizá-lo.*

*À profa **Dra Cíntia Tabchoury**, pesquisadora e pessoa admirável, responsável por toda base sólida que adquiri durante meu mestrado, com rigor técnico e instigando nossos questionamentos. Sempre disposta a ajudar e discutir, tive a felicidade de ter suas considerações sempre pertinentes na qualificação deste projeto. Meu eterno muito obrigada!*

*Ao prof. **Dr André Reis**, ainda me lembro quando, juntamente com a Poliana, me incentivou a entrar na carreira acadêmica. Além disso, preciso agradecer pela sua colaboração na qualificação deste projeto, foi importante para sua execução.*

*Ao **Cássio Alencar**, um amigo sempre presente e pronto ajudar. Um exemplo de professor que tem paixão pelo que faz e não mede esforços para atingir seus objetivos. Serei eternamente grata por todas as discussões e oportunidades.*

*Às queridas amigas, **Lucila Camargo, Gabriela Bonini, Janaina Merli e Anna Carolina Mello** muito obrigada pelas oportunidades e convivência, os nossos encontros são sempre são maravilhosos!*

Aos meus amigos e familiares que estiveram ao meu lado sempre me apoiando e torcendo por mim!

*Ao Departamento de Biomateriais e Biologia Oral - FOUSP, por disponibilizar seus laboratórios para condução desta pesquisa. Em especial, **Antônio, Rosinha e Douglas**, por sempre estarem dispostos e prontos a ajudar. Sem vocês a realização deste e dos demais trabalhos nunca seria possível. Muito obrigada !*

*Ao **Banco de Dentes Humanos** da FOUSP, na pessoa do **prof Dr José Carlos P. Imparato**. Pela doação dos dentes utilizados nesta pesquisa.*

Ao laboratório do Ipen, na pessoa de Elizabeth Somassari, pela esterilização dos dentes com radiação gama.

Ao Laboratório de caracterização tecnológica, escola Politécnica da USP, na pessoa de Sheila do Carmo, nas análises de microscopia de varredura deste e outros projetos.

*Aos secretários e técnicos da odontopediatria: **Anne, Antônio, Fátima, Júlio e Marize** pela paciência e toda ajuda nas diferentes fases desse projeto.*

*Ao serviço da SDO, na pessoa da bibliotecária **Vânia Funaro** pela correção e confecção da ficha catalográfica.*

À todos que ajudaram direta ou indiretamente nesse projeto.

"A mente que se abre a uma nova idéia
jamais voltará ao seu tamanho original."

Albert Einstein

RESUMO

Calvo AFB. Efeito de diferentes modelos de envelhecimento na resistência de união em dentina decídua hígida e cariada [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2015. Versão Corrigida.

A resistência de união (RU) dos materiais deve ser avaliada após a degradação da interface adesiva, tentando simular um processo que ocorre naturalmente ao longo do tempo na cavidade bucal. O presente estudo avaliou a degradação da interface adesiva em diferentes materiais utilizando o modelo de envelhecimento *in vitro* e *in situ* em dentina hígida e cariada. Noventa segundos molares decíduos hígidos e sem defeitos de esmalte, foram aleatoriamente divididos em dois grupos de acordo com o substrato a ser testado (hígido e com lesão de cárie induzida). A seguir, cada um dos grupos foi subdividido aleatoriamente de acordo com o material restaurador (n=15): resina composta associada ao sistema adesivo - RC, cimento de ionômero de vidro modificado por resina - CIVMR e cimento de ionômero de vidro de alta viscosidade - CIVAV. A superfície da dentina foi preparada e com o auxílio de cânulas de polietileno, foram confeccionados os espécimes com os materiais restauradores. Partes de um mesmo dente foram submetidas a cada envelhecimento: *in vitro* (24 horas e 6 meses) – armazenados em água destilada à 37°C; e *in situ* (uso de dispositivo intraoral palatino por voluntários em uma fase experimental de 7 dias). Os espécimes foram submetidos ao teste de microcisalhamento (MPa) para avaliação da RU, seguido de análise do padrão de fratura em estereomicroscópio (400X). Os dados foram submetidos a análise de variância de medidas repetidas seguida pelo teste de Bonferroni ($\alpha = 5\%$). De forma geral, o armazenamento por seis meses em água degradou o grupo CIVMR em dentina hígida ($p < 0,001$) e RC em dentina cariada ($p = 0,007$), para os outros materiais não houve diferença estatística ($p = 1,00$). O modelo *in situ* influenciou negativamente os valores de RU nos grupos RC e CIVMR ($p < 0,001$) no substrato hígido e na RC ($p < 0,001$), CIVMR ($p = 0,001$) e CIVAV ($p = 0,020$) no substrato cariado. Concluí-se que no modelo *in vitro*, seis meses em água destilada não foram suficientes para degradar a interface de união dos materiais avaliados e o modelo *in situ* é uma

metodologia rápida que pode ser utilizada para avaliar a degradação da interface de união de materiais restauradores em dentina cariada de dentes decíduo.

Palavras-chave: Dente decíduo. Cimentos de ionômeros de vidro. Adesivos dentinários. Resistência ao cisalhamento. Resistência de materiais. Envelhecimento.

ABSTRACT

Calvo AFB. Different degradations models to evaluate bond strength in sound and caries primary dentin [thesis]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2015. Versão Corrigida.

Materials bond strength (BS) should be evaluated after degradation of the adhesive interface, simulating the intra-oral environment. This study assessed the degradation of the bonding interface of different materials using *in vitro* and *in situ* models of aging in sound and caries - affected primary dentin. Ninety sound second primary molars without enamel defects were randomly assigned into two groups (sound and induced carious) according to the substrate to be tested. Then each group was subdivided according to the restorative material (n=15): composite resin associated with the adhesive system - CR, resin-modified glass ionomer cement - RMGIC or high-viscous glass ionomer cement- HVGIC. Dentin surface was prepared and with the aid of polyethylene tubes specimens of each restorative materials were prepared. Parts of a same tooth were subjected to *in vitro* and *in situ* models of aging. For *in vitro* model, the specimens were stored in distilled water at 37°C during 24 hours per 6 months; and for *in situ* model an intraoral palatal device was confectioned and used by volunteers in an experimental phase for 7 days. Specimens were submitted to microshear test (MPa) for BS evaluation and then stereomicroscopy (400X) analysis of failure mode. Data were analyzed by repeated measures ANOVA followed by Bonferroni test ($\alpha = 5\%$). In general, the storage for six months in distilled water degraded the RMGIC group in sound dentin ($p < 0.001$) and RC group in caries-affected dentin substrate ($p = 0.007$), for the others materials there was no statistical difference ($p = 1.00$). The *in situ* model, adversely, influenced the BS in RC and RMGIC groups ($p < 0.001$) in sound substrate, and in RC ($p < 0.001$), RMGIC ($p = 0.001$) and HVGIC ($p = 0.020$) in caries-affected dentin. We can conclude that in *in vitro* model, using six months distilled water, was not sufficient to degrade the bonded interface of the evaluated materials and *in situ* model is a faster method to evaluate degradation of the adhesion interface of restorative materials in caries-affected dentin.

Key-words: Deciduous tooth. Glass ionomer cement. Dentin-bonding agents. Shear strength. Material resistance. Aging.

LISTA DE FIGURAS

Figura 4.1 - Delineamento do estudo	42
Figura 4.2 - Esquema ilustrativo do corte de segundos molares decíduos.....	44
Figura 4.3 - Esquema ilustrativo da sequência da indução de lesão de cárie em dentina e aferição de dureza de superfície inicial e final	45
Figura 4.4 - Materiais restauradores avaliados: A: Resina composta associada ao sistema ecth - and - rinse - Z250 ^{MR} e Adper Scotchbond ^{MR} Multiuso; B: CIVMR - Vitremer ^{MR} ; C: CIVAV - Fuji IX	46
Figura 4.5 - Aparelho fotopolimerizador Optilux 501 (Kerr Corp, Orange, CA,, US) com radiômetro acoplado.....	46
Figura 4.6 - Dispositivo utilizado para corte das cânulas de polietileno	48
Figura 4.7 - Teste de microcissalhamento em máquina de ensaio universal	50
Figura 4.8 - Dispositivo intraoral palatino com espécimes de RC, CIVMR e CIVAV em substrato hígido e cariado, antes da colocação da tela plástica.....	53
Figura 4.9 - Conjunto de dentina - material restaurador na presença de biofilme, coletado após o período experimental in situ	54

Figura 4.10 - Classificação do padrão de fratura: A - adesiva; B - coesiva em dentina; C - coesiva em material restaurador; D - Mista (adesiva e coesiva) 54

Figura 5.1 - Distribuição em percentagem dos padrões de fratura dos materiais testados nos períodos experimentais de 24 horas, seis meses e sete dias *in situ* no substrato hígido64

Figura 5.2 - Distribuição em percentagem dos padrões de fratura dos materiais testados nos períodos experimentais de 24 horas, seis meses e sete dias *in situ* no substrato cariado..... 64

Figura 5.3 - Tipos de falha observadas no substrato hígido após teste de microcisolhamento. A - falha adesiva (CIVMR); B - falha coesiva (CIVAV); C - falha mista (RC) 65

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 5.1 - Dureza da superfície inicial e final da dentina de dentes decíduos em todos os grupos. 57
- Gráfico 5.2- Análise da resistência de União (MPa) por materiais restauradores (RC - resina composta; CIVMR - cimento de ionômero de vidro modificado por resina; CIVAV - cimento de ionômero de vidro de alta viscosidade) comparando os métodos de envelhecimento em dentina hígida 59
- Gráfico 5.3- Análise da resistência de União (MPa) nos métodos de envelhecimento (24 horas - *baseline*; após seis meses e sete dias de degradação *in vitro* e *in situ*, respectivamente) comparando os materiais restauradores em dentina hígida 60
- Gráfico 5.4- Análise da resistência de União (MPa) por materiais restauradores (RC - resina composta; CIVMR - cimento de ionômero de vidro modificado por resina; CIVAV - cimento de ionômero de vidro de alta viscosidade) comparando os métodos de envelhecimento em dentina cariada 62
- Gráfico 5.5- Análise de resistência de União (MPa) nos métodos de envelhecimento (24 horas - *baseline*; após seis meses e sete dias de degradação *in vitro* e *in situ*, respectivamente) comparando os materiais restauradores em dentina cariada 63

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	22
2 REVISÃO DA LITERATURA	24
2.1 REMOÇÃO DO TECIDO CARIADO	24
2.2 CONDIÇÕES DO SUBSTRATO: HÍGIDO E CARIADO	25
2.2.1 Diferenças ultra-estruturais da dentina	25
2.2.2 Métodos de indução de lesão de cárie	26
2.3 ADESÃO E OS DIFERENTES MATERIAIS RESTAURADORES	27
2.3.1 Sistema adesivo associado à resina composta	28
2.3.2 Cimento de ionômero de vidro	29
2.4 AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA DE UNIÃO	31
2.4.1 Teste de resistência de união	32
2.4.2 Degradação da interface de união - importância e metodologias utilizadas	33
3 PROPOSIÇÃO	40
4 MATERIAL E MÉTODOS	41
4.1 ASPECTOS ÉTICOS	41
4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	41
4.3 RESISTÊNCIA DE UNIÃO	43
4.3.1 Obtenção de blocos de dentes humanos	43
4.3.2 Indução da lesão de cárie	44
4.3.3 Procedimento adesivo/restaurador	45
4.3.3.1 Preparo das superfícies	46
4.3.3.2 Inserção do material	47
4.3.4 Ensaio mecânico de microcisolamento	49
4.4 MODELOS DE ENVELHECIMENTO	51
4.4.1 Modelo <i>in vitro</i>	51
4.4.2 Modelo <i>in situ</i>	51
4.4.2.1 Seleção dos voluntários	52
4.4.2.2 Preparo dos dispositivos intraoral	52
4.4.2.3 Fase experimental	53
4.5 ANÁLISE DO PADRÃO DE FRATURA	54

4.6 ANÁLISE EM MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV).....	55
4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA	55
5 RESULTADOS	57
5.1 AFERIÇÃO DA DUREZA DE SUPERFÍCIE ANTES E APÓS INDUÇÃO DE LESÃO DE CÁRIE	57
5.2 RESISTÊNCIA DE UNIÃO AO MICROCISALHAMENTO.....	57
5.2.1 Substrato Hígido	58
5.2.2 Substrato Cariado	60
5.3 ANÁLISE DO PADRÃO DE FRATURA.....	63
5.3.1 Microscopia Eletrônica de Varredura	65
6 DISCUSSÃO	66
7 CONCLUSÕES	73
REFERÊNCIAS	74
ANEXOS	85

1 INTRODUÇÃO

As evidências científicas mais recentes mostram que a remoção parcial do tecido cariado é um procedimento mais conservador e vantajoso comparado com a remoção total, podendo diminuir o risco de complicações pulpares nos dentes tratados (Ricketts et al., 2013; Schwendicke et al., 2013). A técnica preconiza a remoção da dentina superficial, infectada, e a manutenção da dentina afetada nas paredes pulpares. Além disso a remoção total na junção amelodentinária, sem a necessidade de realização de formas de contorno e conveniência, pois o material restaurador recobre esses substratos (Maltz et al., 2011, Hesse et al., 2014). Em geral, o procedimento restaurador é realizado com materiais adesivos, que se unem diretamente ao substrato por suas características próprias, como os cimentos de ionômero de vidro, ou com o auxílio de um sistema adesivo associado a resina composta. O Tratamento Restaurador Atramático (ART) preconiza o uso do cimento de ionômero de vidro de alta viscosidade (CIVAV) como material restaurador (Hilgert et al., 2014), que apresenta propriedades mecânicas melhoradas para suportar esforços mastigatórios.

Um dos desfechos avaliados como sucesso do tratamento odontológico é a longevidade da restauração (Hesse et al., 2014), e a sua falha pode estar relacionada com a degradação da interface de união. O desempenho dos materiais restauradores podem ser avaliados por meio de estudos clínicos, porém eles apresentam algumas limitações como o alto custo, maior número de pacientes e maior tempo experimental para avaliação do desfecho. Pensando na avaliação de materiais restauradores, que estão em constante reformulação para melhorias, é interessante que os resultados sejam conseguidos em menor período de tempo para que este não fique obsoleto.

Uma maneira que tem sido utilizada para responder parcialmente a esses questionamentos, de forma mais rápida é a avaliação da resistência de união por meio de estudos *in vitro* (Tjärderhane, 2015). A avaliação da interface adesiva de diferentes materiais e substratos ou preparos da superfície são algumas das possibilidades de seu uso encontradas na literatura, que podem ser estudadas imediatamente (Bonifácio et al., 2012) ou após a degradação (Calvo et al., 2014) da interface de adesiva. Infelizmente, até o presente momento poucos estudos

avaliaram a degradação da interface adesiva do CIVAV em dentina afetada. A avaliação da interface adesiva é uma metodologia validada e busca, inúmeras vezes, simular as características e o estresse sofridos pela restauração na cavidade bucal, como a presença da saliva, as variações de temperatura, as forças mastigatórias e até mesmo os desafios cariogênicos. Porém, dificilmente é possível aplicá-los ao mesmo tempo.

Um tipo de estudo que une algumas vantagens dos trabalhos laboratoriais como a padronização de variáveis, menor número amostral e consegue mimetizar diversas características da cavidade bucal é o modelo *in situ* (Zero, 1995). Um estudo avaliou a degradação da resistência de união do sistema adesivo à dentina de dente permanente com esse modelo e mostrou ser método adequado a curto prazo para se avaliar a degradação da interface adesiva (Reinke et al., 2012). Porém, não há trabalhos que utilizaram essa metodologia para avaliar o substrato cariado em dentes decíduos, assim como utilizando o material restaurador ionômico de vidro.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Para facilitar a leitura, este item será dividido em tópicos: a doença cárie - perspectiva atual do tratamento; condições dos substratos: hígido e cariado; a adesão e os diferentes materiais restauradores e por fim a avaliação da resistência de união.

2.1 REMOÇÃO DO TECIDO CARIADO

Com o advento da Odontologia de Mínima Intervenção e a evolução dos materiais adesivos, a necessidade de preparos cavitários com formas de contorno e conveniência e extensão preventiva não são mais requisitos necessários para o tratamento restaurador.

Em 1979, Fusayama descreveu sinteticamente a dentina cariada em duas camadas: a mais externa infectada por bactérias, não remineralizável e a mais interna descrita como afetada, e passível de remineralização. Atualmente, a ciência tem reportado a remoção apenas da dentina infectada deixando como remanescente a dentina afetada na superfície pulpar e axial da cavidade, e remoção total nas paredes circundantes, em especial na junção amelo-dentinária (Ribeiro et al., 1999; Maltz et al., 2011, 2013; Hesse et al., 2014). Um procedimento que, de acordo com uma revisão sistemática, diminui o risco de exposição pulpar (Schwendicke et al., 2013). Há ainda, alguns pesquisadores de vanguarda que sugerem o selamento da lesão, sem remoção de nenhum tecido dental (Innes et al., 2011; Chibinski et al., 2013; Hesse et al., 2014).

As evidências científicas recentes mostram que a dentina afetada remanescente é capaz de se remineralizar, e depois de seis meses de selamento não há diferença estatística na contagem bacteriana após remoção total ou parcial do tecido cariado (Lula et al., 2009). A presença de uma microbiota menos complexa após o procedimento, provavelmente está relacionada à diminuição de nutrientes exógenos provenientes da saliva e do biofilme, causada pelo vedamento da cavidade com o material restaurador (Paddick et al., 2005). Adicionalmente, uma

recente revisão sistemática realizada por Ricketts et al. (2013), mostrou não haver evidências de que as restaurações realizadas após remoção parcial de tecido cariado tem maior risco de falha.

Assim, na prática clínica nos deparamos com substratos hígido nas paredes circundantes e afetado ou cariado (como será referida a partir deste momento) no restante da cavidade, o que torna a adesão um grande desafio.

2.2 CONDIÇÕES DOS SUBSTRATOS: HÍGIDO E CARIADO

As diferenças entre os substratos estão diretamente relacionadas com sua adesão ao material restaurador. O conhecimento de suas particularidades é bastante importante para podermos mimetizar os substrato de forma padronizada nos experimentos *in vitro*.

2.2.1 Diferenças ultra-estruturais da dentina

Clinicamente a dentina cariada apresenta-se mais amolecida e úmida do que o substrato hígido. Sabe-se também que as características morfológicas do substrato interferem na união do material restaurador (Erhardt et al., 2008).

A dentina cariada apresenta mais fibrilas colágenas que o substrato hígido e a região peritubular parcialmente desmineralizada (Fusayama, 1979; Nakajima et al., 2011). Além disso, a dureza é significativamente menor (Hosoya et al., 2000; Erhardt et al., 2014), embora os túbulos dentinários se encontrem parcialmente ocluídos por cristais minerais (Ogawa et al., 1983). Durante a formação da lesão de cárie, o processo de des- e remineralização faz com que parte do mineral da matriz dentinária seja substituída por água, e por isso sua quantidade pode variar de 14 à 53% na dentina cariada enquanto na dentina hígida é de 10% (Ito et al., 2005), embora a permeabilidade da dentina cariada diminua devido à oclusão dos túbulos dentinários (Nakajima et al., 2011). Outra característica importante é a presença de uma camada de *smear layer* mais espessa e enriquecida de matéria orgânica na

dentina afetada (Kunawarote et al., 2011), fato que interfere na penetração do sistema adesivo.

2.2.2 Métodos de indução de lesão de cárie

Para os materiais restauradores, os estudos *in vitro* são realizados tentando prever o seu desempenho na prática clínica. Como já exposto anteriormente, na cavidade a ser restaurada as dentinas hígida e cariada podem coexistir, e por isso é importante que os estudos sejam realizados também no substrato cariado. A utilização de dentes com lesão de cárie natural seria uma opção interessante para testar as propriedades dos materiais, mas a dificuldade de obtenção e padronização dos dentes com características semelhantes de lesão como profundidade, atividade dureza e extensão, faz com que essa não seja a primeira opção. E por isso, estudos foram realizados para comparar a indução de lesão de cárie artificial com as lesões de cárie natural (Marquezan et al., 2009a; Pacheco et al., 2013) com o objetivo de verificar qual metodologia de indução da lesão poderia se assemelhar ao desafio natural.

A literatura relata diversas metodologias para indução de lesão de cárie artificial em diferentes substratos: ciclagem de soluções com diferentes pH - ciclagem de pH (ten Cate; Duijsters, 1982; Mendes; Nicolau, 2004; Alves et al., 2013; Calvo et al., 2014; Lenzi et al., 2014); imersão em gel ácido (Marquezan et al., 2009a; Pacheco et al., 2013); uso de modelo microbiológico produzido a partir de uma única bactéria (Pacheco et al., 2013; Ricci et al., 2014; Lenzi et al., 2014) ou modelo de biofilme a partir de saliva humana (Van de Sande et al., 2011), além das metodologias *in situ* (Aires et al., 2002).

Marquezan et al. (2009a) compararam o uso de gel ácido, ciclagem de pH e a indução microbiológica, todas após 14 dias, com controle negativo (dentina hígida) e controle positivo (dentina com lesão de cárie natural). As imagens de microscopia eletrônica de varredura e a dureza aferidas mostraram que a lesão induzida por ciclagem de pH, simulando o processo de des- e remineralização, é mais apropriada para mimetizar uma superfície com características mais próximas da dentina cariada pronta pra ser restaurada e que o método microbiológico resulta em uma superfície

parecida com a dentina infectada, semelhante ao encontrado na cavidade previamente a remoção parcial de cárie.

E considerando a adesão nos diferentes substratos, Lenzi et al. (2014) compararam a Resistência de União (RU) após a indução de lesão de cárie ciclagem de pH e o modelo microbiológico. Eles demonstraram que apesar do modelo bioquímico ser mais barato e sua técnica menos limitada, algumas características como a presença de biofilme e saliva não são reproduzidas; por outro lado, o modelo microbiológico, produz um substrato com cor e textura semelhantes a dentina infectada que precisa ser removida previamente ao procedimento restaurador. Essa remoção pode expor a dentina mais profunda, com diferentes densidades tubular ou até mesmo o corno pulpar, em especial nos dentes decíduos nos quais a espessura de dentina é bastante reduzida, interferindo nos resultados de RU. Os autores concluíram que, após a remoção da dentina semelhante a infectada no grupo de indução microbiológica, apesar da RU ser menor que na dentina hígida, não foi encontrada diferença estatística entre os grupos. Sendo assim, ambas as metodologias podem ser utilizadas para avaliar a RU de materiais restauradores após remoção parcial de tecido cariado.

2.3 ADESÃO E OS DIFERENTES MATERIAIS RESTAURADORES

Infelizmente ainda não há evidências disponíveis na literatura sobre o melhor material restaurador para ser utilizados em dentes decíduos (Yengopal et al., 2009). Mas sabe-se que a resina é considerada um material de boa longevidade (Opdam et al., 2014) e o cimento de ionômero de vidro de alta viscosidade tem mostrado bons resultados em cavidades que envolvem uma única face (Hilgert et al., 2014) e duas faces (Raggio et al., 2013). Além disso, em cavidades ocluso-proximais o cimento de ionômero de vidro tem uma relação positiva com a prevenção de lesão de cárie nas margens das restaurações (Raggio et al., 2015) (informação pessoal)¹.

¹ Raggio DP, Tedesco TK, Calvo AFB, Braga MM. Do glass ionomer cements prevent caries lesions in margins of restorations in primary teeth? A systematic review and meta-analysis. 2015. Artigo enviado para apreciação na International Journal of Pediatric Dentistry.

2.3.1 Sistema adesivo associado à resina composta

As restaurações de resina composta associada ao sistema adesivo apresentam longevidade clínica com taxa de falha de 2,4% após dez anos de realização (Opdam et al., 2014). Porém, para sua correta realização são necessários procedimentos como anestesia e isolamento absoluto que resultam em maior tempo de atendimento, fato importante a ser considerado quando nos referimos ao atendimento infantil.

Os adesivos são compostos por monômeros hidrófilo e hidrófobo, que têm funções pré-estabelecidas para garantir a adesão tanto ao substrato quanto a resina composta. Todos os sistemas são compostos por três etapas:

1- O condicionamento ácido: realizado com uma solução ácida que desmineraliza a superfície de esmalte e dentina tornando-os mais receptivo ao material;

2- O Primer: uma solução de monômero hidrófilo e solventes, que evapora a água presente no substrato e aumenta a energia de superfície da dentina, ajudando na penetração do monômero;

3- O bond: uma solução que contém os monômeros hidrofóbicos que irão se unir ao material restaurador (Ozer; Blatz, 2013).

Essas etapas, em alguns tipos de adesivos, podem ocorrer de forma simultânea, mas aqui iremos nos restringir ao produto de três frascos, no qual as etapas ocorrem separadamente e é considerado padrão ouro na odontologia em termos de durabilidade de adesão (De Munck et al., 2005), por apresentar adesão significativamente maior em comparação a outros sistemas adesivos (De Munck et al., 2005; Vashisth et al., 2014).

O condicionamento ácido, tanto na dentina hígida como na cariada, faz com que a *smear layer* seja removida, a dentina superficial seja desmineralizada e as fibras colágenas fiquem expostas formando uma rede micro-retentiva (Nakajima et al., 2011; Ozer; Blatz, 2013). O monômero precisa penetrar nas áreas desmineralizadas para formar a camada híbrida (monômero + colágeno) mas por vezes, há dificuldade de penetração nas camadas mais profundas.

Na dentina cariada, a camada de colágeno é mais espessa (Erhardt et al., 2008; Ricci et al., 2014) e a hibridização não ocorre em toda a sua profundidade (Ricci et al., 2014), além do excesso de água que pode competir com o monômero, a presença de radicais livres podem dificultar a polimerização completa do adesivo comprometendo a RU (Spencer et al., 2005). Apesar da dentina cariada apresentar-se mais porosa e com desmineralização prévia (Spencer et al., 2010), o depósito mineral que tampona a dentina tubular é mais resistente ao condicionamento ácido e por isso é parcialmente removida nesta etapa, impedindo a penetração do adesivo e a formação de tags de resina, resultando em menor resistência de união (RU) (Nakajima et al., 2011).

Assim, podemos observar que a forma de união do sistema adesivo associado a resina composta ocorre basicamente por interação micromecânica. As diferenças entre os substratos, faz com que a RU do sistema adesivo à dentina cariada seja menor do que na dentina hígida (Wei et al., 2008; Erhardt et al., 2014).

2.3.2 Cimento de ionômero de vidro

O cimento de ionômero de vidro (CIV) foi introduzido na odontologia em meados dos anos 70 (Wilson; Kent, 1972). Após 20 anos, com maior conhecimento e ampla utilização do Tratamento Restaurador Atraumático - ART houve a necessidade de um material que tomasse presa mais rápido e que apresentasse melhores propriedades mecânicas para ser utilizado como material definitivo em cavidades expostas aos esforços mastigatórios. Sendo assim, modificações como menores espessura das partículas de vidro, o acréscimo de ácido poliacrílico anidro com maior peso molecular, além da maior proporção pó-líquido, resultou em um cimento de ionômero de vidro de alta viscosidade (CIVAV) (Frankenberger et al., 1997; Sidhu, 2011). O primeiro a ser criado foi o Fuji IX (GC corp.) e continua sendo utilizado atualmente para os procedimentos restauradores não apenas de campo para o qual foi idealizado, como também em consultórios particulares e saúde pública (Sidhu, 2011).

O CIV apresenta vantagens como: permitir que a cavidade restaurada seja conservadora, liberação de flúor para a estrutura dental e superfícies adjacentes e sua reincorporação, biocompatibilidade, expansão térmica linear semelhante ao dente e adesão a superfície dental reforçando a estrutura remanescente (Erickson; Glasspoole, 1994). Mas também apresenta propriedades não muito favoráveis como a sensibilidade a perda e ganho de água, podendo sofrer sorção e solubilidade nas primeiras horas, pouca resistência a abrasão e desgaste (Cho; Cheng, 1999) e menores valores de resistência de união em relação ao sistema adesivo, apesar de clinicamente apresentar desempenho semelhante a resina composta e amálgama em dentes decíduos (Raggio et al., 2013; Hilgert et al., 2014).

O CIV é um dos poucos materiais que se auto adere ao tecido dental sem a necessidade de preparo da superfície (Van Meerbeek et al., 2003). Por meio da ligação iônica forte entre grupo carboxílico, presente no ácido polialquenóico do material, e os íons cálcio da hidroxiapatita dental que permaneceram ligados as fibras colágenas (Yoshida et al., 2000; Fukuda et al., 2003) formam uma ligação estável com dente (Wilson et al., 1983) considerada benéfica em termos de resistência a degradação (De Munck et al., 2005). Porém, nem todos os grupos carboxílicos disponíveis se ligam ionicamente ao cálcio, estudos com espectroscopia de raio-x mostraram que o ácido em proporções de 10:1 (poliacrílico:maleico) a adesão ocorre em dois terços da quantidade dos grupos carboxílicos em contrapartida com apenas metade da quantidade no caso de ácido poliacrílico puro (Yoshida et al., 2000; Fukuda et al., 2003). Isso demonstra que a composição do material pode interferir na qualidade da adesão.

Na década de 90, buscando minimizar algumas limitações do material convencional como as propriedades mecânicas desfavoráveis (resistências mecânica e adesiva) e a sensibilidade a umidade (com sinérese e embebição) após sua manipulação, foi desenvolvido o cimento de ionômero de vidro modificado por resina (CIVMR) combinando as propriedades dos dois materiais (Sidhu, 2011). Nesse produto, adicionalmente a principal reação ácido-base comumente observada no material, há uma segunda reação de polimerização (Sidhu, 2011), sendo portanto um produto que apresenta presa dual. Além disso, o CIVMR vem acompanhado de um primer composto por ácido fraco e monômeros resinosos para favorecer as propriedades adesivas.

Uma forma de promover essa reação complementar é por meio da modificação nas cadeias laterais dos ácidos poliquenóicos presentes no material que, na presença de fotoiniciadores, se polimerizam com a aplicação da luz; outra forma que não necessita da presença da luz é o acréscimo de compostos resinosos como o hidroxietilmetacrilato (HEMA) no material, e nesse caso a presa inicial ocorre pela formação de uma matriz de polimerização e posteriormente a reação ácido-base fortalece a matriz formada (Sidhu, 2011).

Embora o CIV seja capaz de estabelecer uma ligação direta com o dente sem a necessidade de nenhum tratamento da superfície, o seu condicionamento prévio com um ácido fraco, como o ácido poliacrílico, favorece a resistência de união do material ao dente no CIVMR (Peutzfeldt, 1996; Inoue et al., 2001) também observado melhora de RU no CIAV após o condicionamento com ácido poliacrílico fraco (Raggio et al., 2010). O aumento da RU pode ser atribuído a três fatores: 1- limpeza do restos de tecido cariado que haviam sido removidos; 2- desmineralização parcial da superfície, de até 1 µm de profundidade, criando micro-retenções para o material e 3- pela interação química do ácido poliacrílico com a hidroxiapatita residual formando uma camada estável e fortemente ligada chamada de “fase em gel” (Van Meerbeek et al., 2003) e além disso o monômero presente no primer seria responsável pela adesão mecânica ao dente.

A diferença da adesão mecânica do CIVMR e do sistema adesivo está no maior peso molecular do polímero do ionômero em relação ao monômero do sistema adesivo (Van Meerbeek et al., 2003; De Munck et al., 2004), essa característica limita a penetração do material, e conseqüentemente forma camadas híbridas mais superficiais. Com o intuito de melhorar a adesão do CIV, foi testado o condicionamento com o ácido fosfórico utilizado no sistema adesivo, mas o alto peso molecular também não permite que o polímero penetre na profundidade dessa desmineralização, sendo portanto contra-indicado o seu uso em restaurações de CIV (De Munck et al., 2004).

Sendo assim, podemos concluir que o CIVMR se une a superfície dentinária por meio da combinação da adesão micromecânica e química entre o material restaurador e os minerais do dente.

2.4 AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA DE UNIÃO

Na cavidade bucal, as restaurações estão expostas à diversos tipos de estresses: mecânico (pelas forças mastigatórias), térmico, químico (variação de temperatura e pH) e enzimático. Esses fatores podem interferir na integridade da interface adesiva. Um dos propósitos da utilização de testes de resistência de união, é avaliar a capacidade de união real de determinado adesivo, sendo diretamente proporcional ao seu desempenho frente a tais estresses e em teoria, responsável pela maior sobrevida clínica (Van Meerbeek et al., 2003).

2.4.1 Teste de resistência de união

O teste de resistência de união (RU) é uma metodologia considerada efetiva para avaliar as propriedades adesivas dos materiais. Em 1994, Sano et al. sugeriram a substituição de macro por micro testes para essa avaliação, considerando que a área testada apresenta uma relação inversamente proporcional aos valores de RU (Phrukkanon et al., 1998). Os testes realizados em menores áreas de adesão ($\pm 3 \text{ mm}^2$) evitariam que as falhas do material, provenientes da contração de polimerização por exemplo, resultassem em falhas coesivas e assim avaliariam de forma mais fidedigna a adesão do material. Além disso, essa nova metodologia teria benefícios como a possibilidade de comparar diferenças regionais na dentina e ainda aumentar o número de espécimes por dente. Alguns anos depois, Pashley et al. (1999) revisaram as modificações dos micro-testes e concluíram que um dos maiores benefícios seria a possibilidade de avaliar a longevidade da interface de união, e desde então a microtração (μTBS) e microcisalhamento (μSBS) têm sido utilizados nos estudos de adesão (Scherrer et al., 2010).

O teste de microtração é o mais utilizado, especialmente para os sistemas adesivos (De Munck et al., 2005). Os espécimes são preparados a partir de cortes

longitudinais nos eixos x e y, perpendiculares à interface de união entre dente - material restaurador. A execução dessa técnica resulta em frágeis corpos de prova sendo necessário um cuidado especial para evitar microfraturas na interface adesiva pois elas enfraqueceriam a ligação entre material e substrato dentinário, subestimando os reais valores de RU (Roeder et al., 2011). Nos testes de microtração com CIV, parte das fraturas são observadas na matriz do material, acima da fase em gel (Van Meerbeek et al., 2003) não avaliando a verdadeira resistência adesiva, e sim coesiva do material. Portanto, para materiais susceptíveis ao efeito do preparo da amostra, como o CIV, é indicada a utilização do teste de microcissalhamento (Armstrong et al., 2010; Roeder et al., 2011; Sirisha et al., 2014), que gera menos estresse e danos nos espécimes durante a sua confecção (Roeder et al., 2011). Contudo alguns autores sugerem que a remoção da cânula utilizada para a confecção dos espécimes seja feita com cuidado para não imprimir tensões na interface adesiva. A indicação do seu uso foi demonstrada no estudo de Bonifácio et al. (2012), que compararam ambos microtestes e concluíram que as propriedades adesivas do CIV são melhor avaliadas no teste de microcissalhamento.

O teste de microcissalhamento se fundamenta em avaliar a resistência de união de espécimes cilíndricos de material confeccionados sobre a superfície dental. Um fio metálico com 0,2 mm de diâmetro é preso à célula de carga da máquina de ensaio universal e envolve o espécime, próximo a superfície de união, reduzindo a chance de fraturas coesivas. Em máquina de ensaio universal, a força de afastamento é aplicada na interface de união até o momento de falha, os valores são dados em Newton e transformados em MPa considerando a área de adesão (Shimada et al., 2002).

2.4.2 Degradação da interface de união - importância e metodologias utilizadas

Roeder et al. (2011) relataram haver correlação entre os dados de resistência de união dos estudos *in vitro* e a retenção clínica de restaurações classe V, em especial nos dados após a degradação. Sendo assim, ressaltam a importância de se avaliar a resistência adesiva após a degradação da interface de união.

A interface adesiva entre dente - material restaurador pode ser degradada pela sua exposição a água e também às enzimas presentes no próprio dente e na saliva, sendo tempo-dependente (Tjärderhane, 2015). Normalmente, a RU é avaliada após 24 horas (El Zohaire et al., 2010; Bonifácio et al., 2012; Alves et al., 2013; Lenzi et al., 2014), sendo que esses dados são importantes para avaliar as características gerais dos materiais, porém não podem predizer o sucesso a longo prazo (Heintze; Zimemerli, 2011). Para isso, a RU deve ser avaliada após o envelhecimento, como o armazenamento por longos períodos em água (Heintze; Zimemerli, 2011; De Munck et al., 2012). Os dados iniciais servem como parâmetro para verificar o percentual de degradação ocorrida ao longo do tempo.

A redução da RU pode estar relacionada a diversos fatores: a biodegradação dos componentes da camada híbrida (colágeno e/ou os polímeros) devido a penetração incompleta do monômero na dentina (Van Meerbeek et al., 2003; De Munck et al., 2004; Pashley et al., 2004; Erhardt et al., 2008); a distribuição não homogênea da camada de monômero na zona de interdifusão; a polimerização (ou conversão) parcial do material (Marquezan et al., 2009b); a alteração da matriz orgânica pelo preparo da superfície ou pela degradação enzimática do colágeno (Pashley et al., 2004); pode ainda estar relacionada a degradação enzimática do polímero (Ferracane, 2006); ou a separação das nanofases (hidrofílica e hidrofóbica) dos adesivos que interfere nas propriedades mecânicas e aumentam a susceptibilidade da hidrólise catalisada por esterase (Kostoryz et al., 2009) ou simplesmente pela hidrólise passiva.

A degradação da camada híbrida, propriamente dita, ocorre a partir de uma sequência de eventos que se inicia logo após a desmineralização da dentina. No tecido sadio as metaloproteínases (MMPs) se encontram inativadas por estarem ligadas ao inibidor tecidual de MMP 1 (TIMP - 1) (Ishiguro et al., 1994). O estímulo de enzimas proteolíticas presentes no tecido dental, como por exemplo as MMPs são capazes de degradar o colágeno da camada híbrida (Pashley et al., 2004). Sugere-se que essa degradação seja acentuada ainda mais logo após aplicação do sistema adesivo, os monômeros resinosos levemente ácidos podem inibir a ligação entre TIMP - MMP e ativar as MMPs (Sulkala et al., 2001). O processo continua com a hidrólise e conseqüentemente a extração do adesivo que estava infiltrado na dentina desmineralizada. Essa extração é potencializada pela entrada de água nas ligações fracas ou hidrofílicas do adesivo. O adesivo pobremente polimerizado,

devido aos espaços entre os fotoiniciadores e a parte hidrofílica, se degradam mais rapidamente em ambiente aquoso. A contínua dissociação da resina pelas nanoinfiltrações e o movimento da água por toda extensão da camada híbrida formam canais de transporte relativamente largos (Breschi et al., 2008). Assim a matriz do colágeno infiltrada por resina é exposta e se torna ainda mais vulnerável à ação das enzimas proteolíticas (Pashley et al., 2004; De Munck et al., 2005). A clorexidina é um dos produtos que mais tem sido utilizado como inibidor das MMPs, apresentando efeito benéfico na resistência de união após o envelhecimento, porém não mostra estabilidade após maiores períodos de tempo (Montagner et al., 2014).

O processo de degradação química e enzimática dos adesivos de metacrilato ocorre de maneira similar. Como descrito anteriormente, a água penetra nas ligações fracas ou hidrofílicas do adesivo, promovendo a hidrólise química do éster presente no metacrilato. Essa reação ocorre de forma lenta em pH neutro, como o da saliva, mas o consumo de alimentos ou ácidos produzidos pelas bactérias podem causar uma acidez transitória na interface de união exposta e acelerar o processo. Os produtos da hidrólise do éster são carboxilato e álcool que apresentam características mais hidrofílicas que o primeiro, aumentando a entrada de água (Spencer et al., 2010). Com o passar do tempo a degradação aumenta e permite o acesso de enzimas presentes na saliva humana como a esterase (Okuda et al., 2002), e a susceptibilidade do metacrilato à esterase já está bem sedimentada (Yourtee et al., 2001). Os monômeros e os polímeros de monometacrilatos (por exemplo, HEMA) apresentam maior resistência a ação da esterase do que os dimetacrilatos (BisGMA e TEGDMA) (Yourtee et al., 2001).

A saliva humana contém enzimas como a colesterol esterase e pseudocolinesterase em quantidades suficientes para degradar a resina composta (Jaffer et al., 2002). Assim podemos dizer que, quando expostos ao fluido oral as ligações do éster da matriz do metacrilato são expostas a duas formas de ação hidrolíticas: hidrólise química causada pelos ácidos e hidrólise enzimática estimulada pelas enzimas salivares, principalmente a esterase (Spencer et al., 2010). Vale lembrar que propriedades do material também influenciam na degradação da resina composta (Malacarne et al., 2006; Reis et al., 2007).

A literatura reporta diversas metodologias *in vitro* para promover a degradação da interface de união de materiais restauradores, sendo que a mais utilizada e validada é o armazenamento em água (De Munck et al., 2005). A troca de

água realizada diariamente é uma forma de acelerar a degradação da interface de união (Skovron et al., 2010). A associação da água com a diminuição da resistência de união foi demonstrada no estudo em que se comparou a RU de dois sistemas adesivos e após a imersão dos espécimes em água ou óleo, por períodos de seis meses e um ano não observou-se diminuição das propriedades adesivas no grupo que ficou em óleo (Carrilho et al., 2005).

O armazenamento em água é uma metodologia de simples execução e de baixo custo (Deng et al., 2014). Mas em busca de simular as características da cavidade bucal e avaliar a degradação da interface de união, os estudos *in vitro* utilizam outras soluções como por exemplo a saliva artificial e o solução de Hipoclorito de Sódio (NaOCl). Porém, os resultados são um pouco controversos e estão diretamente relacionados a solução de armazenamento, ao tempo e a composição do material.

Komori et al. (2009) avaliaram a degradação da interface de união de dois sistemas adesivos em dentina hígida e naturalmente cariada após seis meses de armazenamento em saliva artificial, e observaram diferença somente nos valores de RU da dentina hígida para o sistema de três frascos. Por outro lado, um estudo que comparou diversos sistemas adesivos a dentina hígida após seis meses de armazenamento em água, não foi observado degradação hidrolítica na interface de união com o mesmo sistema adesivo (Cantanhede de Sá et al., 2012).

Alguns estudos de degradação também foram realizados com o CIV. De Munck et al. (2004), observaram que a RU de CIVMR em dentes permanentes diminuiu significativamente após o armazenamento em água por quatro anos estando a interface de união exposta ao meio ou não. Em um período de tempo menor, outro estudo avaliou o armazenamento em água por dois anos puderam observar a degradação da interface de união do CIVAV e do CIV nanoparticulado pasta–pasta, mas não houve diferença significativa nos valores de RU para o CIVMR comparado com o *baseline*, em dentina de dentes decíduos hígida e cariada (Calvo et al., 2014). Em contrapartida, Fagundes et al. (2009), avaliaram a adesão em dentina hígida de dente permanente e observaram diminuição dos valores de RU do CIVMR após três meses de imersão em água com 0,02% de azida sódica, esse último utilizado como bactericida, mas a sua influencia sobre a interface de união ainda não foi estudada.

As restaurações na cavidade bucal sofrem degradação hidrolítica e o uso de NaOCl, um agente desproteinizante que remove o componente orgânico da interface material restaurador – dente tenta isolar essa situação. Marquezan et al. (2009b) puderam observar degradação da interface de união do CIVMR e dentina de dentes decíduo e permanente após cinco horas de imersão em solução de NaOCl, provavelmente a alta porcentagem de HEMA (46%) na composição do material resultou em polimerização ineficiente da mistura aumentando a permeabilidade da água pelo CIVMR facilitando a degradação dos componentes resinosos, consequentemente as fibrilas colágenas ficaram expostas e também se degradaram. Corroborando com esses estudos, Fagundes et al. (2009), compararam a degradação química provocada pela solução de NaOCl e hidrolítica (água por três meses) de dois CIVMR a dentina de dente permanente hígida e observaram diminuição nos valores de RU após ambos os processos comparado com o *baseline*. Com isso podemos verificar que diferentes soluções poderiam influenciar na degradação da interface adesiva.

Outras metodologias como ciclagem térmica (relacionada com o potencial de ligação química do monômero, ou seja com o tipo de material) (Inoue et al., 2005); a ciclagem de soluções com diferentes pH (com intuito de simular o efeito do desafio cariogênico) e a ciclagem mecânica (mimetizando as forças mastigatórias) são encontradas na literatura (Marquezan et al., 2010) para avaliar a interface de união de diferentes materiais com variados objetivos como: comparar diferentes substratos, opções de preparo, condicionamento da superfície dentinária ou ainda simplesmente para classificar os materiais restauradores. Deng et al. (2014), compararam a RU do sistema adesivo em dentina hígida após armazenamento em água, com trocas diárias, termociclagem, imersão em solução de NaOCl e ciclagem de pH e encontraram degradação similar em todas as metodologias, mas ressaltam que cada uma tem sua indicação.

Como citado anteriormente, a degradação pode ocorrer por ação de enzimas provenientes da saliva mas além disso, os desafios cariogênicos podem apresentar um importante papel na degradação da interface de união. O modelo de ciclagem de pH simula as alterações do pH presentes no processo de des- e remineralização porém não tem o acúmulo do biofilme, sendo essa uma condição importante a ser estudada. Poucos estudos avaliam a ação do biofilme sobre a interface de união, alguns utilizam o biofilme de uma única espécie (Alencar et al., 2014), metodologia

importante para definir a influência de cada tipo de bactéria, mas a condição clínica fica melhor representada por um biofilme multiespécie (Li et al., 2014; Borges et al., 2014). No entanto, até presente momento, não há estudos que utilizaram essa metodologia para avaliar a RU na interface de adesão do CIV.

Borges et al. (2014), avaliaram a influência do biofilme multiespécie associado ao desafio cariogênico na RU de sistemas adesivos à dentina permanente após diferentes períodos de tempo. Não houve diferença estatisticamente significativa nos valores de RU comparados com o *baseline*, assim como nos espécimes armazenados em água por três meses. No entanto foi possível observar uma alteração no tipo de fratura, sugerindo que houve modificações na interface de união. Os espécimes dos grupos com biofilme estavam imersos em saliva humana em repouso, o fluxo salivar pode provocar uma eluição da interface e potencializar a degradação, o modelo *in situ* poderia ser utilizado para avaliar a degradação sob condições de fluxo contínuo de saliva humana.

Como podemos perceber, vários modelos de envelhecimento *in vitro* têm sido utilizados para avaliar a RU. Mas a maioria dos estudos mimetizam apenas uma das variáveis de degradação que ocorrem *in vivo*, ou mais que uma de forma subsequente, em contraste com a situação clínica em que vários fatores ocorrem simultaneamente (De Munck et al., 2005). O modelo *in situ* conseguiria controlar algumas variáveis e deixaria os espécimes em condições mais próximas daquelas que ocorrem na cavidade bucal em um curto período de tempo (Zero, 1995).

O estudo pioneiro utilizando esse modelo de degradação para avaliar a RU de sistema adesivo a dentina hígida realizado por Reinke et al. (2012), observou menor resistência de união no grupo submetido ao desafio cariogênico quatro vezes ao dia. Porém, durante o período experimental, a interface de união não ficou exposta aos desafios cariogênicos, sua exposição direta poderia acelerar a degradação e diminuir o período experimental. Os autores, concluíram que o modelo *in situ* é uma metodologia de curta duração adequada para se avaliar a degradação da interface de união entre resina e dentina hígida.

Há ainda na literatura, trabalhos que mostram o aumento da degradação com o passar do tempo também na cavidade bucal. As 22 restaurações realizadas em dentes decíduos com sistema adesivo de três frascos, após remoção total de tecido cariado, permaneceram na cavidade bucal por até três anos após sua realização. A avaliação dos grupos: controle, de 1 a 2 anos e após 3 anos mostraram valores

decrecentes de RU (Hashimoto et al., 2000). Porém estudos clínicos são mais onerosos, demandam maior tempo experimental e tamanho amostral para padronização das variáveis, além da necessidade da colaboração dos retornos do paciente.

Com tudo que foi exposto, podemos verificar que nos últimos anos, diversos tipos de estudo foram utilizados para avaliar a RU de materiais restauradores e prever o que ocorre na cavidade bucal. Porém, há uma lacuna na literatura científica quanto a avaliação da degradação da interface adesiva em condições próximas as da cavidade bucal, como no modelo *in situ*, para avaliar a degradação da interface de união em substrato cariado com diferentes materiais restauradores.

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo geral do presente estudo foi investigar o uso de modelo *in situ* para avaliar a degradação da interface de união. Para isso, foram propostos os seguintes objetivos específicos:

- Avaliar a resistência de união de diferentes materiais após armazenamento em água, por seis meses, *in vitro*.
- Avaliar a resistência de união de diferentes materiais após degradação da interface de união utilizando o modelo *in situ*, por sete dias.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Essa seção foi subdividida em itens com a finalidade de torná-la mais didática.

4.1 ASPECTOS ÉTICOS

O protocolo de pesquisa do presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo – FOUSP (protocolo nº 350.875 – Anexo A). A participação dos voluntários está de acordo com as Diretrizes e Normas Regulamentadoras do Conselho Nacional de Saúde (Resolução nº 466/12) de 12/12/2012 do Conselho Regional de Saúde, Ministério da Saúde, Brasília, DF. Foram realizados estudos laboratoriais *in vitro* e *in situ* para os quais foram selecionados noventa (90) segundos molares humanos decíduos hígidos, doados pelo Banco de Dentes Humanos da FOUSP (ANEXO B), limpos com pedra pomes e água, imersos em solução bacteriostática/bactericida de cloramina T triidratada 0,5% a 4°C por uma semana (Perdigão, 2010) e mantidos sob refrigeração (4°C) em água destilada até o momento de sua utilização.

4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Foi realizado um estudo para avaliar a degradação da interface de união de diferentes materiais (Resina Composta associado ao sistema adesivo – RC, Cimento de Ionômero de Vidro Modificado por Resina - CIVMR e CIV de Alta Viscosidade - CIVAV), por meio de ensaios mecânicos de microcissalhamento, após dois modelos de envelhecimento *in vitro* e *in situ* (figura 4.1). Noventa segundo molares decíduos hígidos e sem defeitos de esmalte, foram aleatoriamente divididos em dois grupos de acordo com o substrato a ser testado (hígido e com lesão de cárie induzida). A seguir, cada um dos grupos foi subdividido de acordo com o material restaurador:

RC, CIVMR e CIVAV (n=15). Após a confecção dos espécimes de material restaurador, partes de um mesmo dente foram destinadas a cada tipo de envelhecimento: *in vitro* (24 horas e 6 meses) – armazenados em água destilada à 37° C; e *in situ* – uso de dispositivo intraoral palatino durante 7 dias (figura 4.1). O preparo da superfície, a manipulação e proteção do material foram realizados de acordo com as orientações do fabricante. As análises foram realizadas em máquina de ensaio universal (Kratos, Kratos Dinamômetros, São Paulo, Brasil) e o resultado dado em Mega pascal (MPa).

Neste estudo a variável de resposta, resistência de união, foi avaliada quantitativamente por meio dos ensaios mecânicos de microcisalhamento. Os fatores de variação foram: substrato dentinário, em dois níveis (hígido e cariado), tempo de envelhecimento em três níveis (24 horas, 6 meses e 7 dias); e tipo de material adesivo utilizado em três níveis RC, CIVMR e CIVAV. Os dados de RU foram analisados com ANOVA para dados vinculados seguido do teste de Bonferroni.

Figura 4.1 - Delineamento do estudo de acordo com os materiais (CIVAV - Cimento de ionômero de vidro de alta viscosidade; CIVMR - cimento de ionômero de vidro modificado por resina e RC - Sistema adesivo associado à resina composta) e os grupos de envelhecimento (GC - grupo controle -24h; GV - envelhecimento *in vitro*; GS - envelhecimento *in situ*)

4.3 RESISTÊNCIA DE UNIÃO

A avaliação da interface adesiva pode ser realizada por meio da resistência de união entre dentina e material-restaurador.

4.3.1 Obtenção dos blocos de dente humano

Para a realização deste estudo, foram utilizados noventa (90) segundos molares decíduos hígidos, previamente examinados com auxílio de lupa (aumento de 10x) para exclusão daqueles que apresentavam fraturas, trincas ou hipoplasias no esmalte.

Para a obtenção dos blocos dentais foi utilizada cortadeira de precisão (Isomet 1000/Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, EUA) e disco diamantado dupla face (Buehler® Diamond Wafering Blade) sob refrigeração para evitar trincas. Os dentes foram fixados em peça acrílica de suporte e cortados paralelamente a face oclusal distantes 1,3 mm ($\pm 0,1$ mm) da mesma, dando origem a duas superfícies contíguas, as quais serão chamadas de pulpar e oclusal de acordo com a proximidade da face oclusal ou câmara pulpar, respectivamente.

O fragmento pulpar foi novamente fixado e o terço cervical desgastado com lixa d'água de carbeto de silício de granulação #320 (Buehler), sob refrigeração, em máquina politriz (Politriz Ecomet 3 - Buehler Ltd, Lake Bluff, IL, EUA) até ser obtido uma espessura de 2 mm ($\pm 0,1$ mm) e cortado em blocos planos com dimensões 4x4 mm² para o experimento *in situ*. O fragmento oclusal foi dividido em duas partes e aleatorizado para os experimentos *in vitro* (testados após 24 horas ou seis meses) (figura 4.2).

Figura 4.2 - Esquema ilustrativo do corte de segundo molares decíduos

Para a padronização da *smear layer*, ambas as superfícies contíguas (oclusal e pulpar) foram polidas com lixa de carbeto de silício de gramatura #600 (Buehler) (ISO 6344-1:1998) sob refrigeração em politriz (Politriz Ecomet 3 - Buehler Ltd, Lake Bluff, IL, EUA) por um minuto (Burrow et al., 2002; Hashimoto et al., 2001; Pereira et al., 2000). Em metade dos dentes foi realizada a indução de lesão de cárie artificial por meio de ciclagem de pH e posteriormente, todos os fragmentos foram esterilizados com radiação gama (25 Kgy) antes do procedimento adesivo/restaurador (Carvalho et al., 2009).

4.3.2 Indução de lesão de cárie

Os dentes aleatorizados para a indução de lesão de cárie (n=45) tiveram os blocos dentais proveniente dos fragmentos pulpar e oclusal impermeabilizados com duas camadas de verniz ácido resistente (Colorama Maybelline, Ltda, São Paulo, SP, Brasil) com exceção da superfície polida com lixa de granulação #600.

Em seguida foram submetidos ao desenvolvimento de lesão de cárie artificial pelo modelo dinâmico de ciclagem de pH. Imersos individualmente em 10 ml de solução desmineralizadora (2,2 mM CaCl_2 , 2,2 mM NaH_2PO_4 , 50 mM de ácido

acético ajustado em pH de 4,8) por 8 horas e no mesmo volume de solução remineralizadora (1,5 mM de CaCl_2 , 0,9 mM de NaH_2PO_4 e 0,15 M de KCl, ajustada a pH 7,0) por 16 horas (ten Cate e Duijsters, 1982, modificado por Marquezan et al., 2009a). Os blocos dentais foram lavados com água destilada e deionizada e secos com papel absorvente a cada troca. A ciclagem foi realizada por 14 dias à temperatura ambiente, sem agitação, com troca diária das soluções.

Para certificar a indução de lesão de cárie, um único operador aferiu de forma padronizada a dureza da superfície antes e após o processo de des- e remineralização, com identador tipo Knoop (HMV II, Shimadzu, Kyoto, JPN). Para isso cinco identações, equidistantes 100 μm uma da outra, com carga de 5 g por 5 s foram realizadas na superfície da dentina (Vale et al., 2011). Foi calculada a média das cinco identações por dente (Knoop) e a média de todos os dentes por grupo de material (figura 4.3).

Figura 4.3 - Esquema ilustrativo da sequência da indução de lesão de cárie em dentina e aferição de dureza de superfície inicial e final

4.3.3 Procedimento adesivo/restaurador

Os dentes, hígidos e cariados, foram aleatorizados em três grupos de acordo com o material restaurador: Resina Composta Microhíbrida – RC (Z250, 3M ESPE, St Paul, MN, EUA) associado ao sistema adesivo etch - and - rinse de três passos (Adper Scotchbond^{MR} Multiuso, 3M ESPE, St Paul, MN, EUA) - grupo controle; Cimento de Ionômero de Vidro Modificado por Resina – CIVMR (Vitremer^{MR} 3M

ESPE, St Paul, MN, EUA) e Cimento de Ionômero de Vidro de Alta Viscosidade – CIVAV (Fuji IX, GC Corporation, Tokyo, Japão) (Figura 4.4).

Os materiais foram manipulados por um único operador de acordo com as orientações dos fabricantes (Quadro 4.1). A fotoativação, quando necessária, foi realizada pelo tempo recomendado utilizando o aparelho Optilux 501 (Kerr Corp, Orange, CA, USA), com intensidade de 600 mW/cm^2 , confirmado pelo radiômetro do próprio aparelho (Figura 4.5).

Figura 4.4 - Materiais restauradores avaliados: A: Resina composta associada ao sistema ecth - and -rinse - Z250^{MR} e Adper Scotchbond^{MR} Multiuso; B: CIVMR - Vitremer^{MR}; C: CIVAV - Fuji IX

Figura 4.5 - Aparelho fotopolimerizador Optilux 501 (Kerr Corp, Orange, CA, USA) com radiômetro acoplado

4.3.3.1 Preparo das superfícies

O preparo das superfícies a serem restauradas foi realizado de acordo com o

material a ser utilizado, da seguinte forma:

Para o grupo resina composta microhíbrida Z250 (RC), foi aplicado ácido fosfórico a 35% (Adper Scotchbond^{MR}, 3M ESPE, St Paul, MN, EUA) por 15 segundos, em seguida lavado por 15 segundos e o excesso de umidade removido com papel absorvente. Logo após, foi aplicada uma camada de *primer* (Adper Scotchbond^{MR} Primer Multiuso, 3M ESPE, St Paul, MN, EUA), seguido de secagem com seringa triplice por 5 segundos e aplicação de adesivo (Adper Scotchbond^{MR} Multiuso, 3M ESPE, St Paul, MN, EUA) na superfície tratada e fotoativação por 10 segundos.

O grupo do Vitremer^{MR} (CIVMR) teve a superfície de dentina condicionada com o *primer* que acompanha o material, durante 30 segundos, seguido de secagem por 15 segundos com ar comprimido e fotoativação por 20 segundos.

O condicionamento da superfície do grupo a ser restaurado com o Fuji IX (CIVAV), foi realizado com ácido poliacrílico (Raggio et al., 2010), seguido da lavagem padronizada com pensos de algodão e secagem com papel absorvente.

4.3.3.2 Inserção do material

Depois do preparo das superfícies, cânulas de polietileno translúcidas foram usadas como matriz para a confecção dos espécimes, com dimensões de 1,20 mm de diâmetro e 1 mm de altura. O corte das cânulas foi realizado com o auxílio de um dispositivo próprio (Odeme Biotech, Joaçaba, SC, Brasil) (Figura 4.6) para garantir o paralelismo das faces e consequentemente a correta adaptação à superfície da dentina (Andrade et al., 2014).

Foram confeccionados dois espécimes de cada material nos blocos dentais e considerou-se a média dos mesmos como resultado. Os materiais foram inseridos nas cânulas com o auxílio de uma espátula de inserção nº 1 (Duflex, Brasil) e naqueles que tinham indicação, foi feita a proteção da superfície como recomendado pelo fabricante.

Figura 4.6 - Dispositivo utilizado para corte das cânulas de polietileno

Material/ Fabricante (n° Lote)	Característica	Composição	Técnica de uso
Adper^{MR} Scotchbond^{MR} Multiuso (Primer e Adesivo) 3M/ESPE St. Paul, EUA (#N443048 e #N465871) + Filtek Z250^{MR} 3M/ESPE St. Paul, EUA (#N435435)	Sistema adesivo convencional (três passos) com condicionamento ácido prévio	Agente condicionador ácido fosfórico 35% Solução aquosa de 2-hidroxietilmetacrilato (HEMA) e um copolímero do ácido polialcenóico	-Condicionamento com ácido fosfórico por 15s. Lavagem por 15s e secagem deixando a superfície úmida. -Aplicação de uma camada de primer. Leve secagem por 5s.
	Resina composta microhíbrida	BIS-GMA, BIS-EMA(6), UDMA com pequenas quantidades de TEGDMA, Nanopartículas de sílica, nanoaglomerado de zirconia e sílica	-Aplicação de duas camadas do adesivo. Fotoativação por 10s. -Inserção da resina em incrementos oblíquos fotoativados por 40s cada.

continua

continuação

Material/ Fabricante (nº Lote)	Característica	Composição	Técnica de uso
Vitremer^{MR} 3M/ESPE St. Paul, EUA (#1312800283)	Cimento de ionômero de vidro modificado por resina	<i>Primer:</i> copolímero funcional de metacrilato de ácidos poliacrílico e polialquenóico, HEMA, etanol e fotoiniciadores Pó: vidro de fluoraluminossilicato, persulfeto de potássio microencapsulado e ácido ascórbico, pigmentos Líquido: solução aquosa de ácido policarboxílico modificado com grupos metacrilatos, copolímeros funcional do metacrilato de ácidos poliacrílico e polialcenóico, água, HEMA e fotoiniciadores	- Condicionamento: aplicação do primer por 30s. Secar 15s e fotoativar por 20s; - Manipulação (proporção pó:líquido 2.5/1 em peso). - Inserção em incremento único; - Fotoativação por 40s; - Aplicação do adesivo <i>Finishing Gloss</i> e fotoativação por 20s.
Fuji IX GC Corporation, Tokyo, JPN (#1211051)	Cimento de ionômero de vidro de alta viscosidade	Pó: Vidro de flúor-alumino-lantânio-silicato, copolímeros dos ácidos acrílico e maleico, pigmentos Líquido: Água, ácido poliacrílico	- Condicionamento com ácido poliacrílico. Lavar e secar; - Manipulação (proporção pó:líquido 3,0:1 em peso) até obtenção de uma pasta de consistência homogênea; - Inserção em incremento único;

Quadro 4.1 - Informação dos fabricantes sobre as características, a composição e a técnica de uso dos materiais utilizados no procedimento adesivo-restaurador

4.3.4 Ensaio mecânico de microcisalhamento

Os blocos da porção oclusal de cada dente, de ambos os substratos, foram aleatorizadas entre os modelos de experimento *in vitro* (testados após 24 h ou após

6 meses) e o bloco obtido a partir do fragmento pulpar do mesmo dente foi utilizado no experimento *in situ* e testado após uso de dispositivo intraoral palatino por 7 dias.

Independentemente do modelo de envelhecimento, o ensaio mecânico de microcisalhamento foi realizado da mesma forma em todos os espécimes. Após armazenamento, as matrizes de polietileno foram removidas com o auxílio de uma lâmina de bisturi número 15 (Embramed, Jurubatuba, SP, BR) e em seguida os espécimes foram observados em lupa estereoscópica com 40x de aumento para certificação de ausência de defeitos na interface adesiva.

Os espécimes foram levados à máquina de ensaio universal (Kratos, Kratos Dinamômetros, São Paulo, Brasil), fixados em um dispositivo e submetidos ao teste de microcisalhamento. Um fio metálico com 0,2 mm de diâmetro em contato com o semi-círculo inferior dos cilindros do material restaurador envolveu simultaneamente esse cilindro e o prolongamento da célula de carga, mantendo contato com a superfície de dentina e o mais próximo possível da interface adesiva (figura 4.7). A força de cisalhamento foi aplicada com a velocidade de 0,5 mm/min até que ocorresse a fratura (Hara et al., 2001).

Os valores de carga máxima suportada pela união dentina/material restaurador foram dados em Newton (N) e posteriormente convertidos a Mega Pascal (MPa), considerando a área de adesão de cada espécime mensurados com auxílio de paquímetro digital com precisão de 0,01mm (Mitutoyo, Tokyo, JPN).

Figura 4.7 - Teste de microcisalhamento em máquina de ensaio universal

4.4 MODELOS DE ENVELHECIMENTO

Os espécimes foram submetidos a diferentes modelos de envelhecimento da interface de união (*in vitro* e *in situ*) a fim de se avaliar a degradação de cada um deles e em diferentes substratos e materiais restauradores.

4.4.1 Modelo *in vitro*

Após a confecção dos espécimes e armazenamento individual em água destilada a 37°C por 24h, o Grupo Controle (GC) foi testado imediatamente; o Grupo *in vitro* (GV), ficou armazenado individualmente em 1,5 mL de água destilada a 37°C por 6 meses antes de ser submetido ao ensaio mecânico de microcisalhamento.

4.4.2 Modelo *in situ*

Os espécimes destinados ao grupo *in situ* (GS) foram alocados em um dispositivo acrílico palatino e a degradação da interface de união foi avaliada após 7 dias do uso intrabucal.

Previamente ao experimento *in situ*, foi realizado um estudo piloto, com a mesma metodologia utilizada no estudo, a fim de se definir o número de voluntários e também o tempo do estudo. Assim três voluntários, que contemplassem os critérios de inclusão e exclusão, semelhantes aos descritos a seguir para o presente estudo, receberam e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido e participaram do estudo piloto *in situ*, cego e de boca dividida (de acordo com o material restaurador: CIVAV - Cimento de Ionômero de Vidro de Alta Viscosidade e RC - Resina Composta), realizado em 1 fase de 7 dias, durante a qual os voluntários utilizaram um dispositivo acrílico palatal com 4 conjuntos de blocos de dentina cariada-material restaurador, dois de CIVAV e dois com RC. Os conjuntos foram submetidos a desafio cariogênico com acúmulo de biofilme e exposição à sacarose 20%. Após 5 e 7 dias do início do tratamento, um conjunto de cada material foi

coletado e imediatamente submetido ao teste de microcisalhamento na máquina de ensaio universal (Kratos, Kratos Dinamômetros, Brasil). Após o período experimental, pode-se observar diferença estatística entre os valores de resistência de união dos materiais restauradores à dentina cariada entre o *baseline* e a coleta de sete dias, com o poder da amostra para ambos os materiais. Assim, definiu-se por realizar o experimento *in situ* pelo período de sete dias com quinze voluntários.

4.4.2.1 Seleção dos voluntários

Para a execução da fase experimental *in situ* foram selecionados 15 voluntários de ambos os sexos que cumprissem os critérios de inclusão e exclusão. Para tal deveriam ser adultos jovens, de ambos os gêneros, com boa saúde geral e oral. Não fumantes, que não estivessem sob tratamento ortodôntico, que não tivessem consumido antibióticos há pelo menos dois meses ou medicamentos que interferissem no fluxo salivar, além disso que estivessem aptos a cumprir o protocolo experimental. Os voluntários receberam orientações verbal e escrita sobre a pesquisa e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido de acordo com o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo - FOUSP e de acordo com a Resolução nº 466/12 do Conselho Nacional da Saúde.

4.4.2.2 Preparo dos dispositivos intra-oral

Após o aceite em participar da pesquisa e a moldagem da arcada superior dos voluntários, foram confeccionados, em resina acrílica autopolimerizável, dispositivos intraorais palatinos contendo três cavidades de cada lado, medindo 5 x 5 x 4 mm, que serviram de sítio para fixação dos substratos dentinários testados. Os blocos de dentina hígidos e cariados foram aleatorizados quanto ao lado que ocupariam no dispositivo de cada voluntário, da mesma forma a posição dos espécimes de cada material. Seguindo o mapa dos voluntários, os conjuntos de

bloco dentinário-material restaurador foram fixados no dispositivo intra-bucal com cera pegajosa. Uma tela plástica foi presa na superfície doacrílico na região dos conjuntos de blocos dentais (Pecharki et al., 2005; Ribeiro et al., 2005), deixando um espaço de 1 mm para proteção, acúmulo e retenção do biofilme formado durante a fase experimental (figura 4.8).

Figura 4.8 - Dispositivo intraoral palatino com espécimes de RC, CIVMR e CIVAV em substrato hígido e cariado, antes da colocação da tela plástica

4.4.2.3 Fase experimental

Os voluntários utilizaram o dispositivo intraoral palatino diariamente, inclusive para dormir, sendo removido apenas durante as refeições e higienização bucal. Nesses períodos, o dispositivo foi mantido em ambiente úmido com o objetivo de manter os microrganismos do biofilme dental viáveis. Para formação do biofilme, quatro vezes ao dia, em horários pré-determinados (08:00, 11:00, 14:00 e 17:00h) os voluntários removiam os dispositivos e dispensavam 1 gota de sacarose 20% sobre os blocos dentais e após cinco minutos o aparato era reinserido na cavidade bucal.

Para a realização da higiene bucal o dispositivo deveria estar fora da boca e escovado apenas na parte acrílica, utilizando dentifrício fluoretado (Colgate total 12, Colgate-palmolive industrial Ltda, SP, Brasil - 1450 ppm de flúor). Após serem lavados cuidadosamente, eram reinseridos na cavidade bucal. Os voluntários receberam informações verbal e escrita para não usarem qualquer outro produto antibacteriano.

Ao término do período experimental de 7 dias os voluntários entregaram o dispositivo acrílico palatino ao pesquisador, os blocos dentais foram coletados (figura 4.9) e imediatamente analisados de acordo com o protocolo de ensaio mecânico de microcissalhamento descrito anteriormente.

Figura 4.9 - Conjunto de dentina - material restaurador na presença de biofilme, coletado após o período experimental *in situ*

4.5 ANÁLISE DO PADRÃO DE FRATURA

Após os testes de microcissalhamento, o padrão de fratura de todos os espécimes foi avaliado com o auxílio de lupa estereoscópica, com aumento de 400x (HNV II, Shimadzu, Kyoto, JPN). As fraturas foram classificadas como adesiva (entre o material restaurador e a superfície dentinária); coesiva em dentina ou coesiva em material restaurador (na superfície da dentina ou do material restaurador, respectivamente) ou mista (parte adesiva e parte coesiva) (figura 4.10). Nos caso das fraturas mistas, foram consideradas para a análise aquelas que tivessem no máximo 25% de fratura coesiva.

Figura 4.10 - Classificação do padrão de fratura: A - adesiva; B - coesiva em dentina; C - coesiva material restaurador; D - Mista (adesiva e coesiva)

4.6 ANÁLISE EM MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

Os espécimes mais representativos de cada padrão de fratura, foram processados para análise em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV). Os espécimes foram fixados em glutaraldeído 2,5% (SPI CHEN – Spi Supplies, PA, EUA) durante 18 h, lavados em solução tampão de fosfato de sódio 0,1 M (Sigma, St. Louis, MO, EUA) com três lavagens de cinco minutos cada. A seguir foi realizada a desidratação por banhos em crescente concentração de etanol - 30%; 50%; 70%; 90%; 96% com dois banhos de 5 min em cada concentração seguidas de quatro banhos de 5 min no álcool absoluto (100%). Os espécimes foram então imersos em HMDS - Hexametildisilazona (Sigma, St. Louis, MO, EUA) por 20 min e secos a temperatura ambiente em capela de fluxo laminar equipada com exaustor. Em seguida foi feita a montagem em *stub* de alumínio e recobrimento com filme de platina (aproximadamente 15-20 nm de espessura). A análise das imagens foi realizada em MEV-FEI (modelo Quanta 600 FEG), operado em modo alto vácuo, com aceleração de 10kV.

4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Primeiramente, foi verificada a influência da variável *voluntário* nos resultados de resistência de união. Por meio da análise de multinível verificou-se que o voluntário não influenciou nos valores de resistência de união entre os diferentes materiais e por isso essa variável não foi considerada na análise.

Para analisar os dados de resistência de união, o dente foi considerado a unidade experimental, sendo que um terço dele foi testado após 24 horas, e os outros dois terços após a degradação por seis meses e sete dias, respectivamente. Os substratos foram analisados separadamente - hígido e cariado. O teste ANOVA de medidas repetidas foi utilizado para analisar os dados de RU nos diferentes tipos de materiais, comparando os modelos de estudo e o teste de Bonferroni para avaliar as diferenças. Além disso, para verificar as possíveis diferenças das falhas prematuras entre os grupos, foi utilizado o teste qui-quadrado considerando o

substrato e o modelo de degradação. Para os grupos que apresentaram diferença estatística de fratura prematura, essas falhas foram incluídas na análise estatística e para elas foi atribuído metade do menor valor obtido em cada grupo experimental (Reis et al., 2003). O padrão de fratura nos grupos experimentais foi analisado pelo teste de qui-quadrado. As análises foram descritas de acordo com os materiais em cada modelo analisado, sendo os substratos avaliados separadamente.

As análises foram realizadas com o programa SPSS V22 (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA) e para todas as análises foi considerado o nível de significância de 5%.

5 RESULTADOS

5.1 AFERIÇÃO DA DUREZA DE SUPERFÍCIE ANTES E APÓS INDUÇÃO DE LESÃO DE CÁRIE

Metade dos dentes selecionados foram submetidos à ciclagem de pH para indução de lesão de cárie artificial. As médias de dureza de superfície inicial e final dos dentes decíduos, hígidos e cariados respectivamente, divididos nos grupos estão dispostos no gráfico 5.1. As médias dos blocos para o estudo *in vitro* e *in situ* foram consideradas e observa-se a redução da dureza inicial para a final e ausência de diferença estatística entre os grupos de materiais.

* Letras maiúsculas iguais mostram não haver diferenças entre os grupos.

Gráfico 5.1 - Dureza da superfície inicial e final da dentina de dentes decíduos em todos os grupos

5.2 RESISTÊNCIA DE UNIÃO AO MICROCISALHAMENTO

O presente estudo teve como parâmetros avaliados a condição do *substrato dentinário* (hígido e cariado), o *tempo de armazenamento* (24 horas e seis meses *in vitro* e sete dias *in situ*) e *tipo de material restaurador* (resina composta associada ao sistema adesivo; cimento de ionômero de vidro modificado por resina e cimento de ionômero de vidro de alta viscosidade). A combinação dos parâmetros resultou em um total de 18 grupos (n=15) e os resultados estão dispostos de acordo com o tipo de substrato.

No experimento *in situ*, dos 15 voluntários convidados a participar do estudo, um foi excluído por apresentar dificuldades na utilização do dispositivo intraoral palatino. Na análise estatística inicialmente verificou-se a normalidade dos dados, e no experimento *in situ* a variável *voluntário* não influenciou os valores de resistência de união e por isso essa variável foi desconsiderada das análises; o dente foi considerado como unidade experimental nas análises seguintes.

5.2.1 Substrato Hígido

Os valores de média (desvio padrão) da resistência de união (MPa) dos materiais restauradores nos diferentes tempos experimentais, assim como o número de espécimes testados/confeccionados em dentina hígida de molares decíduos estão dispostos na tabela 5.1.

Tabela 5.1 - Médias (desvio padrão) de resistência de união (MPa), número de espécimes testados/confeccionados dos materiais restauradores à dentina hígida de dentes decíduos nos tempos experimentais

tempo material	<i>in vitro</i>		<i>in situ</i>
	24 horas	6 meses	7 dias
RC	6,99 (2,29) 27/30	6,83 (2,14) 28/30	2,33 (0,90) 24/28
CIVMR	2,49 (1,07) 25/30	1,18 (0,70) 21/30	1,60 (1,02) 24/28
CIVAV	2,41(1,12) 26/30	2,63 (1,67) 27/30	1,91 (1,17) 21/28

RC - Resina Composta; CIVMR - Cimento de Ionômero de Vidro Modificado por Resina; CIVAV - Cimento de Ionômero de Vidro de Alta Viscosidade.

Considerando as variáveis tempo de degradação e material restaurador, para o grupo controle - RC associado ao sistema adesivo, podemos observar uma diferença estatisticamente significativa entre o *baseline* (24 horas) e o período de sete dias *in situ* ($p < 0,001$), porém seis meses de armazenamento em água não promoveu degradação estatisticamente significativa ($p = 1,000$). Para o grupo CIVMR, houve diferença estatisticamente significativa entre os valores de resistência adesiva após 24 horas e seis meses ($p < 0,001$), e também após o período de sete dias do experimento *in situ* comparado ao *baseline* (24 horas) ($p < 0,001$). No grupo de CIVAV, os períodos de seis meses em água e sete dias *in situ* não promoveram degradação estatisticamente significativa se comparado ao *baseline* ($p = 1,000$ e $p = 0,663$, respectivamente). Os modelos de degradação *in vitro* e *in situ* mostraram diferença estatisticamente significativa somente no grupo de RC ($p < 0,001$) (Gráfico 5.2).

24 h - 24 horas após a confecção dos espécimes (*baseline*);

6 m - armazenados por seis meses em água destilada;

7 d - utilização do modelo *in situ* por 7 dias.

* Letras maiúsculas iguais mostram não haver diferenças entre os grupos.

Gráfico 5.2 - Análise da resistência de União (MPa) por materiais restauradores (RC - resina composta; CIVMR - cimento de ionômero de vidro modificado por resina; CIVAV cimento de ionômero de vidro de alta viscosidade) comparando os métodos de envelhecimento em dentina hígida

Ao compararmos as variáveis material restaurador e cada tempo de degradação, no *baseline* (24 horas), houve diferença estatisticamente significativa entre o sistema adesivo associado a resina composta e os CIVMR ($p<0,001$) e o CIVAV ($p<0,001$), sem diferença entre os grupos de CIV ($p=0,989$). Após seis meses de degradação, além da diferença estatística entre o grupo RC e os grupos CIVMR ($p<0,001$) e CIVAV ($p<0,001$), o CIVMR apresentou degradação mais significativa comparado com o CIVAV ($p=0,038$); de forma semelhante, a degradação após o modelo *in situ*, a RC mostrou valores de RU semelhantes ao CIVAV ($p=0,114$) e com diferença estatística do grupo CIVMR ($p=0,032$), sendo que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos CIVMR e CIVAV ($p=0,848$) (figura 5.3).

RC - resina composta associada ao sistema adesivo;

CIVMR - cimento de ionômero de vidro modificado por resina;

CIVAV - cimento de ionômero de vidro de alta viscosidade.

* Letras maiúsculas iguais mostram não haver diferenças entre os grupos.

Gráfico 5.3 - Análise de resistência de União (MPa) nos métodos de envelhecimento (24 horas - *baseline*; após seis meses e sete dias de degradação *in vitro* e *in situ*, respectivamente) comparando os materiais restauradores em dentina hígida

5.2.2 Substrato Cariado

Os valores de média (desvio padrão) da resistência de união (MPa) dos materiais restauradores nos diferentes tempos experimentais, assim como o número de espécimes testados/confeccionados em dentina cariada de molares decíduos estão dispostos na tabela 5.2.

Tabela 5.2 - Médias (desvio padrão) de resistência de união (MPa), número de espécimes testados/confeccionados dos materiais restauradores à dentina cariada de dentes decíduos nos tempos experimentais

material \ tempo	<i>in vitro</i>		<i>in situ</i>
	24 horas	6 meses	7 dias
RC	4,34 (1,31) 28/30	2,89 (1,38) 28/30	1,63 (1,16) 19/28
CIVMR	2,84 (0,85) 26/30	2,79 (1,43) 22/30	1,10 (0,71) 19/28
CIVAV	1,63 (0,68) 28/30	1,72 (1,16) 28/30	0,70 (0,51) 18/28

RC - Resina Composta; CIVMR - Cimento de Ionômero de Vidro Modificado por Resina; CIVAV - Cimento de Ionômero de Vidro de Alta Viscosidade.

A análise estatística do grupo RC associada ao sistema adesivo, mostrou ter ocorrido degradação da interface de união após o período experimental de seis meses ($p=0,007$) e também dos sete dias do experimento *in situ* ($p<0,001$); para o grupo CIVMR, o tempo experimental de seis meses não diminuiu a resistência de união comparado ao *baseline* ($p=1,00$), porém após o período de sete dias do experimento *in situ* foi possível observar a degradação da interface de união e menores valores de resistência adesiva ($p=0,001$). De forma semelhante, o armazenamento em água por seis meses não foi capaz de promover a degradação da interface de união no CIVAV ($p=1,00$) mas o período de sete dias do experimento *in situ*, promoveu uma redução estatisticamente significativa dos valores de resistência adesiva em relação ao *baseline* ($p=0,020$).

Ainda se os dois modelos de degradação forem comparados em dentina cariada, tanto o grupo controle (RC) como os experimentais (CIVMR e CIVAV) tiveram maior perda da resistência de união após o experimento *in situ* (Gráfico 5.4).

24 h - 24 horas após a confecção dos espécimes (*baseline*);

6 m - armazenados por seis meses em água destilada;

7 d - utilização do modelo *in situ* por 7 dias.

* Letras maiúsculas iguais mostram não haver diferenças entre os grupos.

Gráfico 5.4 - Análise da resistência de União (MPa) por materiais restauradores (RC - resina composta; CIVMR - cimento de ionômero de vidro modificado por resina; CIVAV - cimento de ionômero de vidro de alta viscosidade) comparando os métodos de envelhecimento dentina cariada

Na análise da resistência de união por materiais restauradores comparando os diferentes modelos de envelhecimento (figura 5.5), pode-se verificar que no *baseline* (24 horas) a RU da RC é maior que nos grupos CIVMR ($p=0,001$) e CIVAV ($p<0,001$) e de forma semelhante há diferença estatisticamente significativa entre CIVMR e CIVAV ($p=0,006$). Após seis meses de armazenamento em água não foi encontrada diferença estatística entre os grupos RC e CIVMR ($p=0,974$), assim como entre CIVMR e CIVAV ($p=0,80$), porém com diferença estatisticamente significativa entre os grupos RC e CIVAV ($P=0,049$). Quanto ao experimento *in situ*, as diferenças nos valores de RU foram estatisticamente significantes entre os grupos de RC e CIVMR ($p=0,049$) e RC e CIVAV ($p=0,003$), porém sem diferença significativa entre os grupos CIVMR e CIVAV ($p=0,551$).

RC - resina composta associada ao sistema adesivo;

CIVMR - cimento de ionômero de vidro modificado por resina;

CIVAV - cimento de ionômero de vidro de alta viscosidade.

* Letras maiúsculas iguais mostram não haver diferenças entre os grupos.

Gráfico 5.5 - Análise de resistência de União (MPa) nos métodos de envelhecimento (24 horas - *baseline*; após seis meses de degradação *in vitro* e sete dias *in situ*) comparando os materiais restauradores em dentina cariada

5.3 ANÁLISE DO PADRÃO DE FRATURA

A distribuição dos padrões de fratura dos materiais testados (RC, CIVMR e CIVAV) após os períodos experimentais (24 horas, degradado 6 meses em água e após o experimento *in situ*) nos substratos hígido e cariado, estão dispostos nas figuras 5.1 e 5.2, respectivamente. O teste Qui-quadrado não mostrou diferença estatisticamente significativa para os tipos de fratura em cada um dos períodos experimentais no substrato hígido (24 horas - $p=1,00$; 6 meses - $p=1,00$; *in situ* - $p=0,363$) e cariado (24 horas - $p=0,585$; 6 meses - $p=0,656$; *in situ* - $p=0,583$), com predominância de fraturas adesivas e mistas.

Quanto as falhas prematuras, o teste Qui-quadrado mostrou diferença significativa entre os materiais após seis meses em água no substrato hígido (tabela 5.1), com maior número de falhas no grupo do CIVMR ($p=0,048$) e não mostrou diferença significativa entre os materiais nos outros tempos testados nesse substrato

(24 horas – $p=0,802$; sete dias – $p=0,786$). No substrato cariado não houve diferença significativa entre nenhum dos tipos de envelhecimento (24 horas – $p=0,637$; seis meses – $p=0,081$; sete dias – $p=0,973$). No entanto, o número de falhas prematuras foi significativamente maior no experimento *in situ* em todos os materiais no substrato cariado ($p=0,002$) (Tabela 5.2).

Figura 5.1 - Distribuição em porcentagem dos padrões de fratura dos materiais testados nos períodos experimentais de 24 horas, seis meses *in vitro* e sete dias *in situ* no substrato hígido

Figura 5.2 - Distribuição em porcentagem dos padrões de fratura dos materiais testados nos períodos experimentais de 24 horas, seis meses *in vitro* e sete dias *in situ* no substrato cariado

5.3.1 Microscopia Eletrônica de Varredura

Os espécimes mais representativos das fraturas adesivas, mistas e coesivas em todos os grupos experimentais, foram examinados em microscopia eletrônica de varredura (MEV) (50x) e estão representados na figura 5.3. As falhas foram consideradas mistas se tivessem no máximo 25% de material restaurador, porcentagens maiores foram consideradas coesivas.

Figura 5.3 - Tipos de falha observadas no substrato hígido após teste de microcisalhamento. A - falha adesiva (CIVMR); B - falha coesiva (CIVAV); C - falha mista (RC)

6 DISCUSSÃO

Os estudos *in vitro* apresentam vantagens como a padronização de variáveis, necessidade de menor número amostral, rápida execução e menor custo (Zero et al., 1995). Eles podem ser utilizados com diversas finalidades, uma delas é a de prever o comportamento dos materiais restauradores na cavidade bucal. Considerando as propriedades mecânicas, os testes de resistência de união (RU) são metodologias bastante utilizadas para avaliar a interação entre material restaurador e substrato. Como exposto anteriormente, além dos valores iniciais de RU, um fator primordial a ser estudado é como esta interface se comporta após o envelhecimento (De Munck et al., 2012) sendo fundamental avaliá-la de forma mais próxima aquela que ocorre na cavidade bucal.

Embora haja diversos testes, nesse estudo utilizamos o teste de microcissalhamento para avaliar a RU após diferentes modelos de envelhecimento, pelo fato de ser o mais indicado para materiais friáveis como o CIVs (Bonifácio et al., 2012; De Munck et al., 2012). A correta aplicação do teste de microcissalhamento a esse estudo, pode ser observada pela distribuição homogênea entre os grupos de materiais das fraturas adesivas, coesivas e mistas, com predominância das adesivas e mistas.

O comportamento de cada material nos diferentes modelos de envelhecimento está diretamente relacionado com a sua composição (Yoshida et al., 2000) e o modo como se une ao substrato. Pudemos observar que em dentina hígida de dentes decíduos, o grupo RC não sofreu influência do armazenamento em água à 37°C por seis meses, corroborando com estudos prévios com trocas periódicas da solução (Erhardt et al., 2008) ou mantendo a solução de armazenamento (Cantanhede de Sá et al., 2012). Embora em microscopia, haja aumento na zona de colágeno exposta após seis meses (Sanabe et al., 2011), essa diferença pode ser insuficiente para resultar em diferenças na RU em dentina hígida.

As propriedades mecânicas de um material e a sua composição são considerados fatores que contribuem para a RU; algumas dessas propriedades são a sorção e solubilidade (Roeder et al., 2011). Skovron et al. (2010), avaliaram a degradação da interface adesiva de dois sistemas adesivos após 1, 3 e 6 meses

(com trocas diárias, semanais e mensais), e mostraram que a troca diária da solução acelera a degradação da interface adesiva, provavelmente devido a maior solubilização do material. Embora seis meses seja o tempo preconizado pela normativa da ISO/TS 11.405 (2003) não há descrição do volume a ser utilizado em relação ao tamanho dos espécimes, assim como não são descritos nos artigos científicos a quantidade de água na qual os espécimes ficaram armazenados. Em nosso entendimento esse é um dado importante da metodologia e sugerimos que fossem descritos nos artigos científicos para que a comparação entre os trabalhos não fosse comprometida. Neste estudo os espécimes (dimensões aproximada de 4 x 4 x 1,3 mm) ficaram armazenados em 1,5 ml de água destilada sem trocas, e a possível saturação do meio de armazenamento pode ter influenciado na degradação da interface de união.

A camada híbrida é descrita como a infiltração dos monômeros resinosos nas fibras colágenas expostas pela remoção da *smear layer* (Nakabayashi et al., 1982). A sua degradação pode ocorrer por hidrólise química ou ação enzimática, essa última causada por enzimas presentes na dentina (metaloproteínases - MMPs) e no fluido salivar (MMPs e esterases, por exemplo), que degradam o colágeno da camada híbrida (Pashley et al., 2004).

O modelo *in situ* é uma metodologia com reduzido tempo experimental com a capacidade de expor os espécimes às condições da cavidade bucal, com a formação de biofilme podendo simular o processo de des e remineralização na interface adesiva e degradou a interface de união do grupo RC, demonstrando a importante função das enzimas salivares (como as MMPs) na perda da estabilidade dessa interface dos materiais resinosos. Esses dados estão em acordo com o estudo pioneiro que utilizou esse modelo de envelhecimento para avaliar a RU de sistema adesivo em dentina hígida permanente (Reinke et al., 2012).

Considerando o CIVAV, nenhum dos modelos de envelhecimento promoveu degradação da interface adesiva na dentina hígida. Devido a sua forte ligação iônica, entre o grupo carboxílico do ácido polialquenóico e a hidroxiapatita do dente (Yoshida et al., 2000; Fukuda et al., 2003) e a hidrólise ser responsável pela maior parte da degradação desse material, possivelmente o armazenamento em 1,5 mL de água destilada por seis meses não tenha sido suficiente para diminuir os valores de RU. Como sabemos a degradação ser tempo-dependente (Tjärderhane, 2015), o maior tempo de armazenamento ou elevados volumes de água poderiam resultar em

maior degradação. Um estudo que avaliou a degradação do CIVAV, no qual os espécimes ficaram armazenados por 24 meses em 10 mL de água, constataram a diminuição da RU em relação ao *baseline* de 24 horas em dentina decídua hígida e cariada (Calvo et al., 2014).

De forma semelhante, não foi observado degradação do CIVAV no modelo *in situ* e substrato hígido. Embora o modelo tenha promovido a degradação nos outros materiais estudados, possivelmente para o CIVAV maior período experimental ou desafios cariogênicos mais frequentes são necessários para que as fortes ligações iônicas estabelecidas entre o material e o dente sejam rompidas. Trabalhos com esse modelo e ponderando esses fatores precisam ser realizados. É preciso considerar que o presente estudo foi do tipo boca dividida e o aumento de desafios cariogênicos poderia implicar na elevação de falhas prematuras ou coesivas (Borges et al., 2014), já ocorridas no substrato cariado com quatro desafios diários, podendo comprometer o estudo.

O acréscimo de partículas resinosas na composição do CIVMR foi realizado com o intuito de melhorar as propriedades mecânicas e adesivas do material, somando uma retenção micromecânica a adesão química inicial (Sidhu, 2011). O armazenamento em água por seis meses, dos espécimes confeccionados em dentina decídua hígida, provocaram diminuição da RU no grupo CIVMR. Esses achados corroboram com os de Fagundes et al. (2009) que observaram degradação da interface de união após três meses de armazenamento em água com azida sódica. Porém, a influência desse composto na degradação ainda não foi estudado. Uma particularidade desse grupo, no presente estudo, foi que diferentemente dos outros materiais, o CIVMR apresentou grande porcentagem de falhas prematuras, consideradas na análise como metade do menor valor de RU. Desconsiderar essas falhas e utilizar apenas a média dos espécimes testados poderia resultar numa visão enganosa do comportamento adesivo do material (Reis et al., 2003). No modelo *in situ*, além da hidrólise, a presença das enzimas salivares e do biofilme seriam os responsáveis por promover a degradação da interface adesiva em especial dos componentes presentes no material como o hidroxietilmetacrilato (HEMA).

As evidências científicas produzidas nos últimos anos têm apontado para uma Odontologia de Mínima Intervenção, mostrando que a remoção parcial do tecido cariado reduz o risco de comprometimento pulpar dos dentes tratados (Schwendicke et al., 2013). Ademais, não há evidências que restaurações realizadas em substrato

de dentina afetada ou cariada apresentem menor longevidade que aquelas realizadas em dentina hígida (Ricketts et al., 2013) demonstrando a importância de estudar esse substrato exposto ao desequilíbrio do processo de des- e remineralização.

Uma maneira indireta para se avaliar a desmineralização na dentina é por meio da dureza de superfície (Vale et al., 2011), sendo a diminuição dos seus valores após a ciclagem de pH demonstrativo da efetividade metodológica utilizada neste estudo para promover lesão de cárie no substrato dentinário. Corroboram com dados prévios em dentina cariada produzidas *in vitro* (Erhardt et al., 2008; Marquezan et al., 2009a) e naturalmente (Erhardt et al., 2008). Os valores de dureza inicial e final foram estatisticamente semelhantes em todos os grupos de materiais a serem testados, demonstrando o mesmo padrão de porcentagem de perda mineral.

A formação da lesão de cárie ocorre pelo desequilíbrio dos processo de des- e remineralização, quando a frequência de des- é maior que a remineralização parte do conteúdo mineral é substituído por água, sendo que a porcentagem de água da dentina cariada varia de 14 a 54% enquanto que na dentina hígida é por volta de 10% (Ito et al., 2005). No procedimento restaurador, o excesso de água pode competir com o monômero do material e os radicais livres dificultarem a polimerização do adesivo (Erhardt et al., 2014). Isso explica os valores de RU do grupo RC no *baseline* menor na dentina cariada se comparada com a hígida, corroborando com outros estudos (Wei et al., 2008; Erhardt et al., 2008; 2014). Além disso, a camada de colágeno mais espessa dificulta a hibridização do adesivo, e os túbulos dentinários permanecem tamponados impedindo a formação de tags de adesivo e consequentemente diminuindo a RU.

Ao se comparar a RU após armazenamento em água dos espécimes de RC por seis meses com o *baseline* no substrato cariado, nota-se redução de seus valores, estando de acordo com a literatura (Erhardt et al., 2008). A degradação pode ser explicada pela associação de acontecimentos: a hidrólise, considerando que a união inicial ser mais fraca e os adesivos parcialmente polimerizados se degradaram mais rapidamente em meio aquoso (Breschi et al., 2008), e também a ação das MMPs presentes na dentina.

De forma semelhante houve degradação significativa da RC no experimento *in situ* tendo como referência o *baseline*. Além da hidrólise do éster presente no metacrilato também há ação adicional das enzimas presentes na saliva (Reinke et

al., 2012). O éster é hidrolisado em carboxilato e álcool, que são mais hidrofílicos que os originou, permitindo maior entrada de água (Spencer et al., 2010) e potencializando a degradação. No modelo *in situ* essa maior degradação torna possível o acesso das enzimas que estão presentes na saliva (Okuda et al., 2002), como a esterase e metaloproteinase, que potencializam a degradação do metacrilato.

Assim como no grupo anterior, a interface adesiva do CIVMR à dentina decídua cariada sofreu degradação após o modelo *in situ*, fato explicado pela hidrólise e ação enzimática da parte resinosa como discutido anteriormente para o grupo de RC. Mas, seis meses em água destilada, não foram suficientes para interferir na estabilidade da RU.

Os grupos de CIVs (CIVMR e CIVAV) apresentaram grande estabilidade na interface adesiva após o armazenamento em água por seis meses. Maior tempo em água mostra haver degradação da interface também na dentina cariada. Calvo et al. (2014) observaram degradação do CIVAV após dois anos de armazenamento em água. No entanto, o modelo *in situ* degradou a interface adesiva desses materiais, considerando que as ligações iônicas iniciais não ocorrem de forma tão estável como na dentina hígida e ficam mais exposta a ação da hidrólise causada pelo fluxo salivar associado as alterações de pH causadas pelo desafios carigênicos. A instabilidade da ligação do ion carboxílico à hidroxiapatia na dentina cariada pode ser observada pela grande porcentagem das fraturas prematuras observadas em todos os grupos de materiais testados nesse substrato no modelo *in situ*.

Precisamos lembrar que na cavidade bucal algumas restaurações tem seus terminos em dentina, como pode ocorrer em cavidades ocluso proximais, porém a face oclusal estará em esmalte e expostas a forças mastigatórias. Este estudo avaliou a degradação com a exposição da interface de união dentina-material restaurador para acelerá-la e entender como ela ocorre nessa interface, supondo que em cavidades com adesão em esmalte ela seria mais lenta (Torkabadi et al., 2009). Além disso, há uma limitação da técnica quanto ao uso do teste de microcissalhamento, indicado para avaliar a RU de CIV, apenas seria possível avaliar a degradação entre esmalte - material restaurador de forma independente e não protegendo a interface dentina - material restaurador. Ademais, na clínica juntamente com a ação hidrolítica e enzimática, as restaurações também estão expostas as forças mastigatórias. A ação mecânica pode causar fratura nas

margens da restauração e expor maior área de contato potencializando a degradação discutida anteriormente. Essa variável de estresse não foi contemplada nesse estudo pioneiro e exploratório em avaliar a degradação *in situ* em dentina cariada, mas é um fator a ser considerado em futuros estudos.

Se a avaliação da RU for realizada por modelo de envelhecimento, comparando os materiais entre si, como disposto nos gráficos 5.3 e 5.5, podemos observar que após seis meses de armazenamento a RC apresenta melhores características adesivas do que os CIVs na dentina hígida; porém, na dentina cariada a presença da camada híbrida mais espessa e a oclusão parcial dos túbulos dentinários por minerais que não se solubilizam com o condicionamento ácido prévio (Ogawa et al., 1983; Nakajima et al., 2011), tornam a adesão menos estável e seus valores de RU se aproximam ao CIVMR.

Na comparação da resistência de união entre os materiais no estudo *in situ* podemos observar que a dentina cariada, com maior porcentagem de água que o substrato hígido (Ito et al., 2005), tornou a união entre ela e o material restaurador mais frágil (Erhardt et al., 2008), demonstrado pelo maior porcentagem de falhas prematuras nesse grupo; além disso, a degradação hidrolítica foi acentuada na adesão química do CIVMR e CIVAV se comparado com o substrato hígido.

Porém, não podemos esquecer que dentina hígida e cariada coexistem nos dentes a serem restaurados (Maltz et al., 2011) e no modelo *in situ* com dentina hígida, o grupo RC mostrou valores de RU semelhantes ao grupo CIVAV, provavelmente a dupla ativação da MMPs pelo condicionamento do ácido fosforórico prévio e pela presença do biofilme com desafios cariogênicos (Reinke et al., 2012), potencializou a degradação da interface. Além disso, as bactérias presentes no biofilme juntamente com o desafio cariogênico que promovem as quedas de pH na interface adesiva resultaram no aceleração da hidrólise do metacrilato (Spencer et al., 2010), presente no adesivo e pobremente polimerizado. A dissociação da resina pelas nanoporosidades (Mazzoni et al., 2015), juntamente com o movimento da água em toda extensão da camada híbrida, formam canais de transporte (Breschi et al., 2008) que expõem a matriz de colágeno infiltrada por resina, deixando-a mais vulnerável à ação das enzimas proteolíticas (Pashley et al., 2004; De Munck et al., 2005), interferindo negativamente na RU. Adicionalmente, a presença das enzimas salivares com fluxo contínuo observado nesse modelo de estudo acelerou a degradação da interface do sistema adesivo (Borges et al., 2014).

Nota-se que as enzimas presentes na saliva e na dentina, como as MMPs, não potencializam a degradação de forma semelhante na interface do CIVAV que é basicamente química, demonstrando sua estabilidade de valores de RU, e valores semelhantes a RC após o experimento *in situ*. Esse resultado interessante que corrobora e auxilia no entendimento dos achados da revisão sistemática realizada por Raggio et al. (2013), a qual mostra longevidade semelhante entre restaurações ocluso-proximais realizadas com CIVAV e RC em dentes decíduos; e reafirma a aplicabilidade do modelo *in situ* para predizer o envelhecimento da interface de união de materiais restauradores de maneira rápida e controlada, podendo direcionar a utilização dos materiais nos estudos clínicos.

7 CONCLUSÕES

O modelo *in situ*, com formação de biofilme e exposição à sacarose, é uma metodologia rápida que pode ser utilizada para promover degradação da interface de união da resina composta, dos cimentos de ionômero de vidro modificado por resina e de alta viscosidade à dentina cariada de dentes decíduos.

O armazenamento em água destilada por seis meses influencia negativamente a RU do CIVMR na dentina hígida e da RC na dentina cariada.

REFERÊNCIAS¹

Aires CP, Tabchoury CP, Del Bel Cury AA, Cury JA. Effect of a lactose-containing sweetener on root dentine demineralization *in situ*. *Caries Res*. 2002;36(3):167-9.

Alencar NA, Fidalgo TK, Cajazeira MR, Maia LC. Influence of the number of adhesive layers on adhesive interface properties under cariogenic challenge using streptococcus mutans. *J Adhes Dent*. 2014;16(4):339-46.

Alves FB, Hesse D, Lenzi TL, Guglielmi Cde A, Reis A, Loguercio AD, Carvalho TS, Raggio DP. The bonding of glass ionomer cements to caries-affected primary tooth dentin. *Pediatr Dent*. 2013;35(4):320-4.

Andrade AM, Garcia EJ, El-Askary FS, Reis A, Loguercio AD, Grande RH. Influence of Different Test Parameters on the Microshear Bond Strength of Two Simplified Etch-and-Rinse Adhesives. *J Adhes Dent*. 2014;16(4):323-31.

Armstrong S, Geraldeli S, Maia R, Raposo LH, Soares CJ, Yamagawa J. Adhesion to tooth structure: a critical review of "micro" bond strength test methods. *Dent Mater*. 2010;26(2):e50-62.

Bonifácio CC, Shimaoka AM, de Andrade AP, Raggio DP, Van Amerongen WE, de Carvalho RC. Micro-mechanical bond strength tests for the assessment of the adhesion of GIC to dentine. *Acta Odontol Scand*. 2012;70(6):555-63.

Borges FB, Kochhann DE Lima EL, Machado FW, Boscato N, Van De Sande FH, Moraes RR2, Cenci MS2. Effect of cariogenic challenge on the stability of dentin bonds. *J Appl Oral Sci*. 2014;22(1):68-72.

Breschi L, Mazzoni A, Ruggeri A, Cadenaro M, Di Lenarda R, De Stefano Dorigo E. Dental adhesion review: aging and stability of the bonded interface. *Dent Mater*. 2008;24(1):90-101.

Burrow MF, Nopnakeepong U, Phrukkanon S. A comparison of microtensile bond strength of several dentin bonding systems to primary and permanent dentin. *Dent Mater*. 2002;18(3):239-45.

¹ De acordo com Estilo Vancouver.

- Calvo AFB, Alves FBT, Lenzi TL, Tedesco TK, Loguercio AD, Raggio DP. Glass ionomer cements bond stability in caries-affected primary dentin. *Int J Adhes Adhes*. 2014;48:183-7.
- Carrilho MR1, Carvalho RM, Tay FR, Yiu C, Pashley DH. Durability of resin-dentin bonds related to water and oil storage. *Am J Dent*. 2005;18(6):315-9.
- Carvalho FG, Gonçalves LS, Carlo HL, Soares CJ, Correr-Sobrinho L, Puppini-Rontani RM. Influence of sterilization method on the bond strength of caries-affected dentin. *Braz Oral Res*. 2009;23(1):11-6.
- Cantanhede de Sá RB, Oliveira Carvalho A, Puppini-Rontani RM, Ambrosano GM, Nikaido T, Tagami J, Giannini M. Effects of water storage on bond strength and dentin sealing ability promoted by adhesive systems. *J Adhes Dent*. 2012;14(6):543-9.
- Chibinski AC, Reis A, Kreich EM, Tanaka JL, Wambier DS. Evaluation of primary carious dentin after cavity sealing in deep lesions: a 10- to 13-month follow-up. *Pediatr Dent*. 2013;35(3):E107-12.
- Cho SY, Cheng AC. A review of glass ionomer restorations in the primary dentition. *J Can Dent Assoc*. 1999;65(9):491-5.
- De Munck J, Van Meerbeek B, Yoshida Y, Inoue S, Suzuki K, Lambrechts P. Four-year water degradation of a resin-modified glass-ionomer adhesive bonded to dentin. *Eur J Oral Sci*. 2004;112(1):73-83.
- De Munck J, Van Landuyt K, Peumans M, Poitevin A, Lambrechts P, Braem M, Van Meerbeek B. A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: Methods and results. *J Dent Res*. 2005;84:118–32.
- De Munck J, Mine A, Poitevin A, Van Ende A, Cardoso MV, Van Landuyt KL, Peumans M, Van Meerbeek B. Meta-analytical review of parameters involved in dentin bonding. *J Dent Res*. 2012;91(4):351-7.
- Deng D, Yang H, Guo J, Chen X, Zhang W, Huang C. Effects of different artificial ageing methods on the degradation of adhesive-dentine interfaces. *J Dent*. 2014;42(12):1577-85.
- El Zohairy AA1, Saber MH, Abdalla AI, Feilzer AJ. Efficacy of microtensile versus

microshear bond testing for evaluation of bond strength of dental adhesive systems to enamel. *Dent Mater*. 2010;26(9):848-54.

Erhardt MC, Toledano M, Osorio R, Pimenta LA. Histomorphologic characterization and bond strength evaluation of caries-affected dentin/resin interfaces: effects of long-term water exposure. *Dent Mater*. 2008;24(6):786-98.

Erhardt MC, Lobo MM, Goulart M, Coelho-de-Souza FH, Valentino TA, Pisani-Proenca J, Conceicao EN, Pimenta LA. Microtensile bond strength of etch-and-rinse and self-etch adhesives to artificially created carious dentin. *Gen Dent*. 2014;62(3):56-61.

Erickson RL, Glasspoole EA. Bonding to tooth structure: a comparison of glass-ionomer and composite-resin systems. *J Esthet Dent*. 1994;6(5):227-44.

Fagundes TC, Toledano M, Navarro MF, Osorio R. Resistance to degradation of resin-modified glass-ionomer cements dentine bonds. *J Dent*. 2009;37(5):342-7.

Ferracane JL. Hygroscopic and hydrolytic effects in dental polymer networks. *Dent Mater*. 2006;22(3):211-22.

Frankenberger R, Sindel J, Krämer N. Viscous glass-ionomer cements: a new alternative to amalgam in the primary dentition? *Quintessence Int*. 1997;28(10):667-76.

Fusayama T. Two layers of carious dentin; diagnosis and treatment. *Oper Dent*. 1979;4(2):63-70.

Fukuda R, Yoshida Y, Nakayama Y, Okazaki M, Inoue S, Sano H, Suzuki K, Shintani H, Van Meerbeek B. Bonding efficacy of polyalkenoic acids to hydroxyapatite, enamel and dentin. *Biomaterials*. 2003;24(11):1861-7.

Hara AT, Pimenta LA, Rodrigues AL Jr. Influence of cross-head speed on resin-dentin shear bond strength. *Dent Mater*. 2001;17(2):165-9.

Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Endo K, Sano H, Oguchi H. Fractographical analysis of resin-dentin bonds. *Am J Dent*. 2001;14(6):355-60.

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;79(6):1385-91.

Heintze SD, Zimmerli B. Relevance of *in vitro* tests of adhesive and composite dental materials. A review in 3 parts. Part 3: *in vitro* tests of adhesive systems. Schweiz Monatsschr Zahnmed. 2011;121(11):1024-40.

Hesse D, Bonifácio CC, Mendes FM, Braga MM, Imparato JC, Raggio DP. Sealing versus partial caries removal in primary molars: a randomized clinical trial. BMC Oral Health. 2014;14:58.

Hilgert LA, de Amorim RG, Leal SC, Mulder J, Creugers NH, Frencken JE. Is high-viscosity glass-ionomer-cement a successor to amalgam for treating primary molars? Dent Mater. 2014;30(10):1172-8.

Hosoya Y, Marshall SJ, Watanabe LG, Marshall GW. Microhardness of carious deciduous dentin. Oper Dent. 2000;25(2):81-9.

Innes NP, Evans DJ, Stirrups DR. Sealing caries in primary molars: randomized control trial, 5-year results. J Dent Res. 2011;90(12):1405-10.

Inoue S, Van Meerbeek B, Abe Y, Yoshida Y, Lambrechts P, Vanherle G, Sano H. Effect of remaining dentin thickness and the use of conditioner on micro-tensile bond strength of a glass-ionomer adhesive. Dent Mater. 2001;17(5):445-55.

Inoue S, Koshiro K, Yoshida Y, De Munck J, Nagakane K, Suzuki K, Sano H, Van Meerbeek B. Hydrolytic stability of self-etch adhesives bonded to dentin J Dent Res. 2005;84(12):1160-4.

Ishiguro K, Yamashita K, Nakagaki H, Iwata K, Hayakawa T. Identification of tissue inhibitor of metalloproteinases-1 (TIMP-1) in human teeth and its distribution in cementum and dentine. Arch Oral Biol. 1994;39(4):345-9.

ISO: Coated abrasives -- Grain size analysis -- Part 1: Grain size distribution test. Technical Specification: No. 6344-1 (1998).

ISO: Dental materials – testing of adhesion to tooth structure. Technical Specification: No. 11405 (2003).

Ito S, Saito T, Tay FR, Carvalho RM, Yoshiyama M, Pashley DH. Water content and

apparent stiffness of non-carries versus carries-affected human dentin. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2005;72(1):109-16.

Jaffer F, Finer Y, Santerre JP. Interactions between resin monomers and commercial composite resins with human saliva derived esterases. *Biomaterials*. 2002;23(7):1707-19.

Komori PC, Pashley DH, Tjäderhane L, Breschi L, Mazzoni A, de Goes MF, Wang L, Carrilho MR. Effect of 2% chlorhexidine digluconate on the bond strength to normal versus carries-affected dentin. *Oper Dent*. 2009;34(2):157-65.

Kostoryz EL, Dharmala K, Ye Q, Wang Y, Huber J, Park JG, Snider G, Katz JL, Spencer P. Enzymatic biodegradation of HEMA/bisGMA adhesives formulated with different water content. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2009;88(2):394-401.

Kunawarote S, Nakajima M, Foxton RM, Tagami J. Effect of pretreatment with mildly acidic hypochlorous acid on adhesion to carries-affected dentin using a self-etch adhesive. *Eur J Oral Sci*. 2011;119(1):86-92.

Lenzi TL, Tedesco TK, Calvo AF, Ricci HA, Hebling J, Raggio DP. Does the method of carries induction influence the bond strength to dentin of primary teeth? *J Adhes Dent*. 2014;16(4):333-8.

Li Y, Carrera C, Chen R, Li J, Lenton P, Rudney JD, Jones RS, Aparicio C, Fok A. Degradation in the dentin-composite interface subjected to multi-species biofilm challenges. *Acta Biomater*. 2014;10(1):375-83.

Lula EC, Monteiro-Neto V, Alves CM, Ribeiro CC. Microbiological analysis after complete or partial removal of carious dentin in primary teeth: a randomized clinical trial. *Caries Res*. 2009;43(5):354-8.

Malacarne J, Carvalho RM, de Goes MF, Svizero N, Pashley DH, Tay FR, Yiu CK, Carrilho MR. Water sorption/solubility of dental adhesive resins. *Dent Mater*. 2006;22(10):973-80.

Maltz M, Alves LS, Jardim JJ, Moura Mdos S, de Oliveira EF. Incomplete carries removal in deep lesions: a 10-year prospective study. *Am J Dent*. 2011;24(4):211-4.

Maltz M, Jardim JJ, Mestrinho HD, Yamaguti PM, Podestá K, Moura MS, de Paula LM. Partial removal of carious dentine: a multicenter randomized controlled trial and

18-month follow-up results. *Caries Res.* 2013;47(2):103-9.

Marquezan M, Corrêa FN, Sanabe ME, Rodrigues Filho LE, Hebling J, Guedes-Pinto AC, Mendes FM. Artificial methods of dentine caries induction: A hardness and morphological comparative study. *Arch Oral Biol.* 2009a;54(12):1111-7.

Marquezan M, Fagundes TC, Toledano M, Navarro MF, Osorio R. Differential bonds degradation of two resin-modified glass-ionomer cements in primary and permanent teeth. *J Dent.* 2009b;37(11):857-64.

Marquezan M, Osorio R, Ciamponi AL, Toledano M. Resistance to degradation of bonded restorations to simulated caries-affected primary dentin. *Am J Dent.* 2010;23(1):47-52.

Mazzoni A, Tjäderhane L, Checchi V, Di Lenarda R, Salo T, Tay FR, Pashley DH, Breschi L4. Role of Dentin MMPs in Caries Progression and Bond Stability. *J Dent Res.* 2015;94(2):241-51.

Mendes FM, Nicolau J. Utilization of laser fluorescence to monitor caries lesions development in primary teeth. *J Dent Child (Chic).* 2004;71(2):139-42.

Montagner AF, Sarkis-Onofre R, Pereira-Cenci T, Cenci MS. MMP Inhibitors on Dentin Stability: A Systematic Review and Meta-analysis. *J Dent Res.* 2014;93(8):733-743.

Nakabayashi N, Kojima K, Masuhara E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. *J Biomed Mater Res.* 1982;16(3):265-73.

Nakajima M, Kunawarote S, Prasansuttiporn T, Tagami J. Bonding to caries-affected dentin. *Jpn Dent Sci Rev.* 2011;47:102-14.

Ogawa K, Yamashita Y, Ichijo T, Fusayama T. The ultrastructure and hardness of the transparent layer of human carious dentin. *J Dent Res.* 1983;62:7—10.

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;27:289–96.

Opdam NJ, Van de Sande FH, Bronkhorst E, Cenci MS, Bottenberg P, Pallesen U,

Gaengler P, Lindberg A, Huysmans MC, Van Dijken JW. Longevity of posterior composite restorations: a systematic review and meta-analysis. *J Dent Res*. 2014;93(10):943-9.

Ozer F, Blatz MB. Self-etch and etch-and-rinse adhesive systems in clinical dentistry. *Compend Contin Educ Dent*. 2013;34(1):12-4, 16, 18; quiz 20, 30.

Pacheco LF, Banzi E, Rodrigues E, Soares LE, Pascon FM, Correr-Sobrinho L, Puppim-Rontani RM. Molecular and structural evaluation of dentin caries-like lesions produced by different artificial models. *Braz Dent J*. 2013;24(6):610-8.

Paddick JS, Brailsford SR, Kidd EA, Beighton D. Phenotypic and genotypic selection of microbiota surviving under dental restorations. *Appl Environ Microbiol*. 2005;71(5):2467-72.

Pashley DH, Carvalho RM, Sano H, Nakajima M, Yoshiyama M, Shono Y, Fernandes CA, Tay F. The microtensile bond test: a review. *J Adhes Dent*. 1999;1(4):299-309.

Pashley DH¹, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho RM, Ito S. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *J Dent Res*. 2004;83(3):216-21.

Pecharki GD, Cury JA, Paes Leme AF, Tabchoury CP, Del Bel Cury AA, Rosalen PL, Bowen WH. Effect of sucrose containing iron (II) on dental biofilm and enamel demineralization in situ. *Caries Res*. 2005;39(2):123-9.

Perdigão J. Dentin bonding-variables related to the clinical situation and the substrate treatment. *Dent Mater*. 2010;26(2):e24-37.

Pereira PN, Sano H, Ogata M, Zheng L, Nakajima M, Tagami J, et al. Effect of region and dentin perfusion on bond strength of resin-modified glass ionomer cements. *J Dent*. 2000; 28(5):347-54.

Phrukkanon S, Burrow MF, Tyas MJ. Effect of cross-sectional surface area on bond strengths between resin and dentin. *Dent Mater*. 1998;14(2):120-8.

Peutzfeldt A. Compomers and glass ionomers: bond strength to dentin and mechanical properties. *Am J Dent*. 1996;9(6):259-63.

Raggio DP, Sônego FGF, Camargo LB, Marquezan M, Imparato JCP. Efficiency of different polyacrylic acid concentrations on the *smear layer*, after ART technique, by Scanning Electron Microscopy (SEM). Eur Arch of Paediatr Dent (Print). 2010;11:232-5.

Raggio DP, Hesse D, Lenzi TL, A B Guglielmi C, Braga MM. Is Atraumatic restorative treatment an option for restoring occlusoproximal caries lesions in primary teeth? A systematic review and meta-analysis. Int J Paediatr Dent. 2013;23(6):435-43.

Reinke SM, Lawder JA, Divardin S, Raggio D, Reis A, Loguercio AD. Degradation of the resin-dentin bonds after simulated and inhibited cariogenic challenge in an in situ model. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2012;100(6):1466-71.

Reis A, Loguercio AD, Azevedo CL, de Carvalho RM, da Julio Singer M, Grande RH. Moisture spectrum of demineralized dentin for adhesive systems with different solvent bases. J Adhes Dent. 2003;5(3):183-92.

Reis AF, Giannini M, Pereira PN. Influence of water-storage time on the sorption and solubility behavior of current adhesives and primer/adhesive mixtures. Oper Dent. 2007;32(1):53-9.

Ribeiro CC, Baratieri LN, Perdigão J, Baratieri NM, Ritter AV. A clinical, radiographic, and scanning electron microscopic evaluation of adhesive restorations on carious dentin in primary teeth. Quintessence Int. 1999;30(9):591-9.

Ribeiro CC, Tabchoury CP, Del Bel Cury AA, Tenuta LM, Rosalen PL, Cury JA. Effect of starch on the cariogenic potential of sucrose. Br J Nutr. 2005;94(1):44-50.

Ricci HA, Scheffel DL, Mariusso MR, Spolidorio DM, de Souza Costa CA, Hebling J. Exposed collagen in resin bonds to caries-affected dentin after dentin treatment with aqueous and alcoholic chlorhexidine solutions. J Adhes Dent. 2014;16(1):21-8.

Ricketts D, Lamont T, Innes NP, Kidd E, Clarkson JE. Operative caries management in adults and children. Cochrane Database Syst Rev. 2013 Mar 28;3:CD003808. doi: 10.1002/14651858.CD003808.pub3.

Roeder L, Pereira PN, Yamamoto T, Ilie N, Armstrong S, Ferracane J. Spotlight on bond strength testing--unraveling the complexities. Dent Mater. 2011;27(12):1197-203.

Sanabe ME, Costa CA, Hebling J. Exposed collagen in aged resin-dentin bonds produced on sound and caries-affected dentin in the presence of chlorhexidine. *J Adhes Dent*. 2011;13(2):117-24.

Sano H, Shono T, Sonoda H, Takatsu T, Ciucchi B, Carvalho R, Pashley DH. Relationship between surface area for adhesion and tensile bond strength--evaluation of a micro-tensile bond test. *Dent Mater*. 1994;10(4):236-40.

Schwendicke F, Dörfer CE, Paris S. Incomplete caries removal: a systematic review and meta-analysis. *J Dent Res*. 2013;92(4):306-14.

Scherrer SS, Cesar PF, Swain MV. Direct comparison of the bond strength results of the different test methods: a critical literature review. *Dent Mater*. 2010;26(2):e78-93.

Shimada Y, Kikushima D, Tagami J. Micro-shear bond strength of resin-bonding systems to cervical enamel. *Am J Dent* 2002;15(6):373-7

Sidhu SK. Glass-ionomer cement restorative materials: a sticky subject? *Aust Dent J*. 2011;56 Suppl 1:23-30.

Sirisha K, Rambabu T, Ravishankar Y, Ravikumar P. Validity of bond strength tests: A critical review-Part II. *J Conserv Dent*. 2014;17(5):420-6.

Skovron L, Kogeo D, Gordillo LA, Meier MM, Gomes OM, Reis A, Loguercio AD. Effects of immersion time and frequency of water exchange on durability of etch-and-rinse adhesive. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2010;95(2):339-46.

Spencer P, Wang Y, Katz JL, Misra A. Physicochemical interactions at the dentin/adhesive interface using FTIR chemical imaging. *J Biomed Opt*. 2005;10(3):031104.

Spencer P, Ye Q, Park J, Topp EM, Misra A, Marangos O, Wang Y, Bohaty BS, Singh V, Sene F, Eslick J, Camarda K, Katz JL. Adhesive/Dentin interface: the weak link in the composite restoration. *Ann Biomed Eng*. 2010;38(6):1989-2003.

Sulkala M, Wahlgren J, Larmas M, Sorsa T, Teronen O, Salo T, Tjäderhane L. The effects of MMP inhibitors on human salivary MMP activity and caries progression in rats. *J Dent Res*. 2001;80(6):1545-9.

ten Cate JM, Duijsters PP. Alternating demineralization and remineralization of artificial enamel lesions. *Caries Res.* 1982;16(3):201-10.

Tjäderhane L. Dentin Bonding: Can We Make it Last? *Oper Dent.* 2015;40(1):4-18.
Torkabadi S, Nakajima M, Ikeda M, Foxton RM, Tagami J. Influence of bonded enamel margins on dentin bonding stability of one-step self-etching adhesives. *J Adhes Dent.* 2009;11(5):347-53.

Vale GC, Tabchoury CP, Del Bel Cury AA, Tenuta LM, ten Cate JM, Cury JA. APF and dentifrice effect on root dentin demineralization and biofilm. *J Dent Res.* 2011;90(1):77-81.

Van de Sande FH, Azevedo MS, Lund RG, Huysmans MC, Cenci MS. An *in vitro* biofilm model for enamel demineralization and antimicrobial dose-response studies. *Biofouling.* 2011;27(9):1057-63.

Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, Van Landuyt K, Lambrechts P, Vanherle G. Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent.* 2003;28(3):215-35.

Vashisth P, Mittal M, Goswami M, Chaudhary S, Dwivedi S. Bond strength and interfacial morphology of different dentin adhesives in primary teeth. *J Dent (Tehran).* 2014;11(2):179-87.

Wei S, Sadr A, Shimada Y, Tagami J. Effect of caries-affected dentin hardness on the shear bond strength of current adhesives. *J Adhes Dent.* 2008;10(6):431-40.

Wilson AD, Kent BE. A new translucent cement for dentistry. The glass ionomer cement. *Br Dent J.* 1972;132(4):133-5.

Wilson AD, Prosser HJ, Powis DM. Mechanism of adhesion of polyelectrolyte cements to hydroxyapatite. *J Dent Res.* 1983;62(5):590-2.

Yengopal V, Harneker SY, Patel N, Siegfried N. Dental fillings for the treatment of caries in the primary dentition. *Cochrane Database Syst Rev.* 2009 Apr 15;(2):CD004483. doi: 10.1002/14651858.CD004483.pub2.

Yourtee DM, Smith RE, Russo KA, Burmaster S, Cannon JM, Eick JD, Kostoryz EL. The stability of methacrylate biomaterials when enzyme challenged: kinetic and systematic evaluations. *J Biomed Mater Res.* 2001;57(4):522-31.

Yoshida Y, Van Meerbeek B, Nakayama Y, Snauwaert J, Hellemans L, Lambrechts P, Vanherle G, Wakasa K. Evidence of chemical bonding at biomaterial-hard tissue interfaces. J Dent Res. 2000;79(2):709-14.

Zero DT. *In situ* caries models. Adv Dent Res. 1995;9(3):214-30; discussion 231-4.

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: Efeito de diferentes modelos de envelhecimento na resistência de união em dentina decidua hígida e cariada.

Pesquisador: Daniela Prócida Raggio

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 15922113.1.0000.0075

Instituição Proponente: Universidade de São Paulo

Patrocinador Principal: FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 350.875

Data da Relatoria: 02/08/2013

Apresentação do Projeto:

Hoje com o conceito de odontologia minimamente invasiva procura-se preservar ao máximo a estrutura dentária, realizando a remoção parcial do tecido cariado, esse trabalho tem apresentado resultados bastante favoráveis, diminuindo o desconforto do paciente e também tem reduzido o risco de exposição pulpar. A boa adesão do material restaurador ao substrato modificado é muito importante para se obter sucesso no tratamento. A literatura ainda apresenta controvérsias em relação a adesão das restaurações realizadas com Cimento de Ionômero de Vidro em substrato afetado (dentina cariada), e principalmente em relação a longevidade desta união. A partir de noventa segundos molares deciduos submetidos a envelhecimento in Vitro, após seis meses esses dentes serão divididos em dois grupos de 45 blocos dentais e em grupos de 15 blocos de dentes com dentina hígida e com dentina cariada, quando será avaliada a resistência de união de três materiais restauradores. Para cada grupo de 45 blocos dentais em dentina hígida serão aplicados os materiais restauradores, sendo utilizados da mesma maneira para os 45 blocos dentais com lesão de carie induzida artificialmente. Para avaliar o envelhecimento do material restaurador in Situ, 15 voluntários alunos da pós graduação da FOU SP, usarão um dispositivo intra-oral palatino por 14 dias, onde serão fixados três blocos de dentina hígida e três blocos de dentina cariada e, oito

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 05.508-900

UF: SP

Município: SÃO PAULO

Telefone: (11)3091-7960

Fax: (11)3091-7814

E-mail: cepfo@usp.br

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO

Continuação do Parecer: 350.875

vezes por dia conforme orientação dos

pesquisadores, eles realizarão gotejamento de sacarose. Após 14 dias os blocos serão coletados e submetidos ao teste de microcisalhamento, assim como todo o material anterior, os 90 blocos, para avaliação da resistência de união.

Objetivo da Pesquisa:

Os pesquisadores realizarão um estudo in Vitro e in Situ, com o intuito de avaliar a longevidade de adesão, a resistência de união de três materiais restauradores, a base de Cimento de Ionômero de Vidro, à dentina sadia e a dentina cariada artificialmente após degradação hidrolítica por meio de teste de microcisalhamento.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos são mínimos, os voluntários poderão apresentar algum desconforto inerente a moldagem, discreta halitose durante o período experimental, que é minimizado com a adequada higiene bucal. O dispositivo intra oral pode causar leve desconforto na primeira semana de uso, semelhante ao causado por aparelho ortodôntico móvel. Mesmo não havendo vantagem direta, os participantes voluntários, alunos da pós graduação, poderão adquirir conhecimento sobre adesividade de materiais em dentina hígida e cariada.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa esta bem fundamentada e eticamente adequada.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos foram corretamente apresentados.

Recomendações:

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados ao CEP-FOUSP relatórios parciais semestrais referentes ao andamento da pesquisa e relatório final ao término do trabalho. Qualquer modificação do projeto original deve ser apresentada a este CEP, de forma objetiva e com justificativas, para nova apreciação.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há pendências.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227
 Bairro: Cidade Universitária CEP: 05.508-900
 UF: SP Município: SÃO PAULO
 Telefone: (11)3091-7980 Fax: (11)3091-7814 E-mail: cepfo@usp.br

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO

Continuação do Parecer: 350.875

Considerações Finais a critério do CEP:

SAO PAULO, 06 de Agosto de 2013

Assinador por:
Maria Gabriela Haye Biazevic
(Coordenador)

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 05.508-900
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3091-7960 **Fax:** (11)3091-7814 **E-mail:** cepfo@usp.br

ANEXO B – Declaração Banco de dentes

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Odontologia
Banco de Dentes Humanos

DECLARAÇÃO AO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Para fins de avaliação pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) dessa instituição, o Banco de Dentes Humanos da FOUPE (DIVISÃO DENTES DECÍDUOS) compromete-se, mais uma vez, em auxiliar pesquisadores na realização de seus projetos.

Sendo assim, após a aprovação do CEP, nossa contribuição consistirá no oferecimento de 90 molares decíduos para a execução do trabalho de pesquisa intitulado: "Efeito de diferentes modelos de envelhecimento na resistência de união em dentina decídua hígida e cariada", a ser realizado pelas pesquisadora Ana Flávia Bissoto Calvo e orientada pelo Prof. Dr. Daniela Prócida Raggio.

São Paulo, 19 de março de 2013.

José Carlos Petrossi Imparato
Coordenador Geral BDH

ANEXO C – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título da Pesquisa: " Efeito de diferentes modelos de envelhecimento na resistência de união em dentina decidua hígida e cariada"

Esta pesquisa será realizada na Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (FOUSP), tem como responsável a Profa. Dra. Daniela P. Raggio e aluna de doutorado Ana Flávia B. Calvo que fará o convite a alunos de pós graduação para participação na pesquisa, a apresentação do TCLE e a obtenção do consentimento pelo voluntário.

Justificativa para a realização da pesquisa

Com o conceito atual de odontologia minimamente invasiva e a manutenção da dentina afetada, se faz necessário estudos que avaliem o comportamento dos materiais odontológicos nesse substrato. Uma das propriedades a ser estudada é a adesão. A literatura mostram que a adesão imediata dos materiais em geral é satisfatória, porém ressalta a importância de ser reavaliada após um período de degradação. Para isso, o protocolo comumente utilizado é o armazenamento em água por determinado tempo que pode variar de 6 meses até anos. Uma metodologia para intensificar a degradação, simular maior parte das características da cavidade bucal e obter resultados em menor período de tempo seria a realização de um estudo *in situ*. Há na literatura um trabalho que utilizou essa metodologia, porém avaliou a adesão de resina em dentes permanentes e não comparou com o método tradicional. Assim torna-se necessário realizar um estudo para se avaliar o comportamento do Cimento de Ionômero de Vidro com esse protocolo e que se possa determinar a validade dessa metodologia.

Objetivos

Avaliar modelos de envelhecimento *in vitro* e *in situ* mensurando a resistência de união por meio de teste microdissalimento, de três materiais restauradores: CIV convencional (Fuji IX – 3M Corporation), CIV modificado por resina (Vitremer® - 3M/ESPE, Alemanha) e resina composta (Z250™ - 3M/ESPE).

Procedimentos

Será realizado um estudo *in situ*, boca-dividida, com 1 fase experimental, de 7 dias. O voluntário terá 3 encontros com o pesquisador (moldagem, entrega do dispositivo para início do experimento; e devolução do dispositivo), agendados em dias de atividades de regular da pós-graduação. O arco superior de voluntário com boa saúde bucal, será moldado para a confecção do dispositivo intra-oral. Os voluntários utilizarão o dispositivo intra-oral contendo blocos de dente deciduo previamente esterilizados e material restaurador, sendo 3 blocos de dente hígidos de um lado e 3 de dente com lesão de cárie induzida do lado oposto. Os voluntários serão orientados a utilizar o dispositivo diariamente, inclusive para dormir e solução de sacarose será gotejada extra oralmente sobre todos os blocos 4 x/dia. Ao final do período experimental, será feita a coleta dos blocos de dente - restauração. Para avaliação da resistência adesiva serão realizados testes de microdissalimento e posteriormente avaliados o padrão de fratura. Durante o experimento os voluntários não terão restrição em sua alimentação e farão a higiene oral com escova e dentífrico fluoretado fornecidos pelo pesquisador.

Descrição crítica dos desconfortos e riscos previsíveis

Os voluntários poderão apresentar algum desconforto inerente a moldagem, que é minimizado pela utilização de material de moldagem de presa rápida na única moldagem. Discreta halitose durante o período experimental, o que poderá ser atenuado com adequada higiene bucal bem como limpeza do dispositivo. Será gotejado apenas sobre os blocos do dispositivo solução de sacarose, não implicando em qualquer risco para os voluntários. O dispositivo intra-oral pode causar um leve desconforto nos primeiros dias de uso, que é, entretanto, semelhante ao desconforto causado por um aparelho ortodôntico móvel (placa de Hawley).

Descrição dos benefícios e vantagens diretas ao voluntário

Não há benefício e vantagem direta, entretanto o voluntário contribuirá para a realização deste projeto e irá adquirir conhecimento sobre adesividade de materiais em dentina hígida e cariada.

Forma de acompanhamento e assistência ao sujeito

Os pesquisadores envolvidos na pesquisa estarão à disposição do voluntário para esclarecer quaisquer dúvidas durante todo o experimento e ajustes no dispositivo.

Forma de contato com os pesquisadores e com o CEP

A qualquer momento os voluntários poderão entrar em contato com os pesquisadores, para esclarecimentos, através do telefone xxxxxxxx.

Se houver dúvidas sobre a ética da pesquisa entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da USP: Av. Lineu Prestes 2227, 05508-000 São Paulo, telefone xxxxxxxx ou pelo e-mail cepfoi@usp.br.

Uso de materiais biológicos

Após o término do estudo, as partes do material biológico utilizado será descartado em lixo contaminado.

Garantia de esclarecimento

O voluntário tem garantia de que receberá resposta ou esclarecimento de qualquer dúvida quanto aos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados à pesquisa ainda que isso possa afetar a vontade do indivíduo em continuar participando. Qualquer dúvida ou problema, por favor, comunicar-nos o mais breve possível.

Garantia de recusa à participação ou de saída do estudo

A decisão de fazer parte desta pesquisa é voluntária. O voluntário pode escolher se quer ou não participar, assim como poderá desistir de participar a qualquer momento, sem qualquer prejuízo ou punição.

Garantia de sigilo

Os pesquisadores asseguram a sua privacidade quanto aos dados confidenciais envolvidos na pesquisa.

Garantia de indenização e/ou reparação de danos

Não há danos previsíveis decorrentes desta pesquisa, e desta forma não há previsão de indenização.

Garantia de entrega da cópia

O voluntário receberá uma cópia deste documento.

Após ter sido informado e ter tido minhas dúvidas suficientemente esclarecidas pelo pesquisador, concordo em participar de forma voluntária desta pesquisa.

São Paulo, __ de _____ de 2014.

Nome do voluntário/ RG

Assinatura do voluntário

Ana Flávia B. Calvo

Daniela P. Raggio