SIMONE GONÇALVES MORETTO

**ANÁLISE MORFOLÓGICA E DA RESISTÊNCIA DE UNIÃO
DA SUPERFÍCIE DENTINÁRIA IRRADIADA COM OS
LASERS DE Er:YAG E Er,Cr:YSGG**

São Paulo

2009

Simone Gonçalves Moretto

**Análise morfológica e da resistência de união da
superfície dentinária irradiada com os lasers de Er:YAG e
Er,Cr:YSGG**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, para obter o título de Mestre, pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia.

Área de Concentração: Dentística

Orientadora: Profa. Dra. Patricia
Moreira de Freitas

São Paulo

2009

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

Moretto, Simone Gonçalves

Análise morfológica e da resistência de união da superfície dentinária irradiada com os lasers de Er:YAG e Er, Cr:YSGG / Simone Gonçalves Moretto; orientador Patricia Moreira de Freitas. -- São Paulo, 2009.

112p. : tab., fig.; 30 cm.

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

1. Dentina – Laser – Análise morfológica 2. Dentina – Laser – Resistência de União 3. Laser - Dentística

CDD 617.675
BLACK D2

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 E COMUNICADA AO AUTOR A REFERÊNCIA DA CITAÇÃO.

São Paulo, ____/____/____

Assinatura:

E-mail:

FOLHA DE APROVAÇÃO

Moretto SG. Análise morfológica e da resistência de união da superfície dentinária irradiada com os lasers de Er:YAG e Er,Cr:YSGG [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2009.

São Paulo, / /2009

Banca Examinadora

1)Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

2) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

3)Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

À minha Grande Família, porto seguro para afugentar minhas dúvidas e incertezas, força que me alimenta incessantemente para que eu possa sempre acreditar em mim mesma. Fonte de luz que me guiou a chegar até aqui sempre tornando o caminho da minha vida mais suave.

A todos os meus amigos, pessoas tão preciosas que sempre estiveram por perto fazendo de minha vida uma Graça, enchendo de flores os meus caminhos e de cores os meus dias. Àqueles que vejo diariamente e àqueles que mesmo distantes me mantêm presente em suas vidas e vice versa.

A todos aqueles que acreditaram que eu seria capaz e torceram por mim, mandando suas energias positivas e suas orações. Cada um teve um papel fundamental nesta longa jornada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha orientadora Profa Dra. Patricia Moreira de Freitas, exemplo de competência e dedicação, por todo incentivo e oportunidades a mim oferecidas. Obrigada por estar sempre presente, pela dedicação a este trabalho e por ter me aceitado como sua primeira orientada. Aprendi e cresci muito nestes anos que trabalhamos juntas.

A toda minha Família, especialmente minha mãe e minha irmã, exemplos de força, persistência e sucesso. Saibam que quando eu crescer quero ser igual a vocês!!! Este trabalho só foi possível com o suporte e a torcida incondicional que recebi o tempo todo de vocês.

À Deus pela ajuda certa nos momentos certos. Confio sempre em Ti!

A todos os meus queridos **Amigos** que viveram comigo todas as dificuldades e alegrias desta empreitada, torcendo e me ajudando, cada um à sua maneira e em sua área de conhecimento, seja através de suporte online, telefone, ou ao vivo emprestando seus ombros, seus ouvidos e suas palavras me fazendo se sentir cada dia melhor: Ayda, Chrissssss, Debby Marley, Andréia Mussi, Dione, Diego, Eli, Kelinha, Laís, Lilian, Lu Paloschi, Luana, Marinão, Masao, Patty Silva, Prix, Teka, Van e todos aqueles que mesmo menos presentes, fazem parte da minha vida.

Ao querido amigo Vivan que esteve sempre presente me apoiando e ajudando no desenvolvimento do trabalho, como se nunca tivesse se mudado daqui.

Aos meus colegas de turma: Angela De Caroli, Clarissa, Fred e Lu Espejo, pela força que recebi especialmente de cada um de vocês nas diversas surpresas e desafios diários da Pós-Graduação. Aos colegas de Pós-Graduação que conheci quando cheguei e todos aqueles que na turma posterior à minha vieram. Cada um com sua habilidade e experiência me ensinou um pouco do que sei hoje. Meu muito obrigado por poder contar com o conhecimento e apoio de cada um de vocês.

Ao Washington pela ajuda com a análise estatística do trabalho, pelo carinho e atenção.

A toda a equipe do LELO: Lili, Gê, Patty, Haroldo, Jô, Íris, Ciça e Prof. Carlos que estiveram SEMPRE comigo me socorrendo nas situações de dúvida e nas de desespero, sempre prontos a ajudar. Além da equipe de estagiários e colaboradores: Aline Gós, Alyne Simões, Andressa, Anninha, Carol Dantas, Carol Freitas, Carol Fukuda, Carol Mota, Carol Vanazzi, Carol Vivan, Karen Fukushima, Karen Ramalho, Fe Nadal, Felipe, Felipe Gallego, Ju Marotti, Mari, Ric, Tchelo e especialmente ao Niltinho, por toda orientação em MEV, toda paciência e por resistir firmemente até o final.

Ao Prof. Dr. Victor Elias Arana Chavez, à Fernanda Barrence e toda a equipe do Laboratório de Biologia dos Tecidos Mineralizados (LBTM) do ICB por todo o auxílio durante o preparo e observação das amostras para Microscopia Eletrônica de Transmissão.

Ao Prof. Dr. André Figueiredo Reis (UNG) por todos os conhecimentos a mim transmitidos e apoio durante a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Marcelo Giannini pela ajuda na obtenção das imagens de MET.

À técnica Soninha, querida companheira nos eternos dias de trabalho no laboratório, que com sua ajuda de coração, aliviou dia a dia meus momentos de cansaço em meio às tantas dificuldades.

À amiga, Profa. Dra. Eliza Maria Agueda Russo que muito fez por mim desde que nos conhecemos. Obrigada por acreditar em mim e me mostrar as primeiras direções quando eu estava apenas começando.

À Profa. Dra. MIRIAM LACALLE TURBINO e MARCIA MARTINS MARQUES, Coordenadora e ex-coordenadora respectivamente, do Programa de Pós-Graduação em Dentística, pelo trabalho desenvolvido nesses últimos anos e pela atenção para com os alunos.

Ao Prof. Dr. ANTÔNIO CARLOS BOMBANA, Chefe do Departamento de Dentística da FOU SP e a todos os docentes, pela competência, dedicação e por todos os ensinamentos recebidos.

A todos os funcionários do Departamento de Dentística, do Serviço de Documentação Odontológica e da Secretaria da Pós-Graduação por toda atenção e suporte desde o início do curso.

Ao Prof. Dr. REINALDO BRITO E DIAS, Coordenador Geral da Pós-Graduação da FOU SP.

À Faculdade de Odontologia de São Paulo – FOU SP, representada por seu Diretor, Prof. Dr. CARLOS DE PAULA EDUARDO.

À Universidade de São Paulo, representada pela Magnífica Reitora Profa. Dra. SUELY VILELA.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudo durante o curso de mestrado, me dando a oportunidade de enriquecer o meu conhecimento através da pesquisa científica.

"A força não provém de uma capacidade física, mas de uma vontade indomável."

Gandhi

"O acúmulo de esforços diários é o majestoso caminho da vitória."

Daisaku Ikeda

Moretto SG. Análise morfológica e da resistência de união da superfície dentinária irradiada com os lasers de Er:YAG e Er,Cr:YSGG [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2009.

RESUMO

Avanços na tecnologia introduziram o laser como um grande aliado na remoção seletiva do tecido cariado. Entretanto, o efeito dos lasers e seus diferentes parâmetros nos tecidos duros dentais e fibrilas colágenas não foi completamente estudado. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da irradiação com os lasers de Er:YAG e Er,Cr:YSGG na morfologia e na resistência de união da dentina irradiada à resina composta. Sessenta e quatro hemi-discos de dentina obtidos de terceiros molares humanos foram aleatoriamente divididos em 9 grupos (n=7): **G1** – Controle (não irradiado); **G2** – Laser de Er:YAG 250 mJ, 4 Hz; **G3** – Laser de Er:YAG 200 mJ, 4 Hz; **G4** – Laser de Er:YAG 180 mJ, 10 Hz; **G5** – Laser de Er:YAG 160 mJ, 10 Hz; **G6** – Laser de Er,Cr:YSGG 2W, 20 Hz; **G7** – Laser de Er,Cr:YSGG 2,5W, 20 Hz; **G8** – Laser de Er,Cr:YSGG 3W, 20 Hz; **G9** – Laser de Er,Cr:YSGG 4W, 20 Hz. Destes, vinte e sete amostras (n=3) foram processadas e destinadas à avaliação em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) para análise morfológica de superfície e em corte transversal da dentina irradiada. Nove fragmentos (n=1) foram submetidos à Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) e vinte e sete (n=3) foram restaurados para análise da interface adesiva. Para o teste

de resistência de união, 45 superfícies dentinárias planificadas foram restauradas e, após 24 horas de armazenamento em água, foram submetidas ao teste de microtração. O teste de ANOVA ($\alpha=5\%$) foi realizado e verificou-se que o G1 apresentou os maiores valores de resistência de união quando comparado aos demais grupos experimentais. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos irradiados, e a análise morfológica revelou para estes grupos uma superfície irregular, com aparência escamosa, sem *smear layer* e com os túbulos dentinários abertos. Nos cortes transversais foi possível observar que esses efeitos se estendem à subsuperfície dentinária e resultam na formação de um padrão modificado dos *tags* durante o processo de hibridização. Os resultados deste estudo *in vitro* sugerem que a irradiação com os lasers de Er:YAG e Er,Cr:YSGG promovem um padrão morfológico específico da superfície dentinária, os quais podem interferir negativamente nos valores de resistência de união à resina composta.

Palavras-Chave: Dentina; Laser de Er:YAG; Laser de Er,Cr:YSGG; Microscopia Eletrônica de Varredura; Microscopia Eletrônica de Transmissão; Resistência de união; Microtração.

Moretto SG. Morphological analysis and micro-tensile bond strength of dentin surface irradiated with Er:YAG and Er,Cr:YSGG lasers [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2009.

ABSTRACT

Improvements on technology have introduced the laser as a great ally in the selected removal of dental caries. However, the different laser parameters and their effects on dental hard tissues and collagen fibrils have not yet been completely studied. The aim of the present study was to evaluate the effect of Er:YAG and Er,Cr:YSGG laser irradiation on dentin morphology and on microtensile bond strength of resin composite to the irradiated dentin. Sixty-four dentin hemi-disks obtained from sound human third molars were randomly divided into 9 groups (n=7): **G1** – Control, **G2** – Er:YAG Laser 250 mJ, 4 Hz; **G3** – Er:YAG Laser 200 mJ, 4 Hz; **G4** – Er:YAG Laser 180 mJ, 10 Hz; **G5** – Er:YAG Laser 160 mJ, 10 Hz; **G6** – Er,Cr:YSGG Laser 2W, 20 Hz; **G7** – Er,Cr:YSGG Laser 2,5W, 20 Hz; **G8** – Er,Cr:YSGG Laser 3W, 20 Hz; **G9** – Er,Cr:YSGG Laser 4W, 20 Hz. Twenty seven specimens (n=3) were processed for Scanning Electron Microscopy (SEM) for surface and cross-sectional morphological analysis. Nine specimens (n=1) were processed for Transmission Electron Microscopy (TEM) and twenty seven (n=3) were restored to evaluate the adhesive interface. For the microtensile bond strength (μ TBS) test, 45 flat occlusal dentin surfaces were restored and after storage in water for 24h, were submitted to μ TBS test. ANOVA ($\alpha=5\%$) showed that G1 (control

group) presented the highest μ TBS values when compared with the irradiated groups, which did not differ from each other. SEM analysis showed an irregular scaly surface, free of smear layer and with open dentinal tubules. The cross-sectional dentin micrographs showed that the effects of laser extended to the dentin subsurface resulting in a pattern of *tags* modified in the hybridization process. The findings of this *in vitro* study showed that both Er:YAG and Er,Cr:YSGG laser irradiation resulted in a specific morphological pattern of dentin that negatively affects the bond strength to resin composite to such dentin.

Key-words: Dentin, Er:YAG Laser; Er,Cr:YSGG Laser, Scanning Electron Microscopy; Transmission Electron Microscopy; Bond strength.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 4.1-	Delineamento do teste de microtração.....	53
Figura 5.1-	Fotomicrografias obtidas em MEV: Características morfológicas das superfícies dentinárias não irradiadas (G1 – controle) e preparadas com diferentes parâmetros de irradiação do laser de Er:YAG – aumento de 4.000X.....	56
Figura 5.2-	Fotomicrografias obtidas em MEV: Características morfológicas das superfícies dentinárias preparadas com diferentes parâmetros de irradiação do laser de Er,Cr:YSGG – aumento de 4.000X	57
Figura 5.3 -	Fotomicrografias obtidas em MEV: Características morfológicas das superfícies dentinárias não irradiadas (G1 – controle) e preparadas com diferentes parâmetros de irradiação do laser de Er:YAG – aumento de 10.000X.....	58
Figura 5.4 -	Fotomicrografias obtidas em MEV: Características morfológicas das superfícies dentinárias preparadas com diferentes parâmetros de irradiação do laser de Er,Cr:YSGG – aumento de 10.000X.....	59
Figura 5.5 -	Fotomicrografias obtidas em MEV: Secções transversais das amostras de dentina, que ilustram o padrão topográfico dos diferentes tratamentos. (a) Controle (1.500X); (b) Er:YAG 250 mJ, 4Hz (500X); (c) Er,Cr:YSGG 2,0 W, 20Hz (250X).....	60
Figura 5.6 -	Fotomicrografias obtidas em MEV: Secções transversais da dentina não irradiada (G1 – controle) e preparada com diferentes parâmetros de irradiação do laser de Er:YAG – aumento de 7.000X.....	62
Figura 5.7-	Fotomicrografias obtidas em MEV: Secções transversais da dentina preparada com diferentes parâmetros de irradiação do laser de Er,Cr:YSGG – aumento de 7.000X.....	63
Figura 5.8 -	Fotomicrografias obtidas em MEV ilustrando a diferença do padrão morfológico após a irradiação e sem tratamento (Controle). Secções transversais das amostras de dentina em 15.000X. (a) Controle; (b) Er,Cr:YSGG 2,0 W 20Hz.....	64

Figura 5.9 –	Fotomicrografias obtidas em MEV: Secções transversais da interface adesiva das amostras não irradiadas (G1 – controle) e preparadas com diferentes parâmetros do laser de Er:YAG – aumento de 3.500X.....	66
Figura 5.10 –	Fotomicrografias obtidas em MEV: Secções transversais da interface adesiva das amostras preparadas com diferentes parâmetros de irradiação do laser de Er,Cr:YSGG – aumento de 3.500X.....	67
Figura 5.11 –	Fotomicrografias obtidas em MEV ilustrando a diferença do padrão dos <i>tags</i> de resina após o tratamento controle (G1) e irradiação (G9): Secções transversais da interface adesiva em aumento de 7.000X. (a) Controle; (b) Er,Cr:YSGG 4,0 W 20Hz.....	68
Figura 5.12 –	Fotomicrografias obtidas em MET: Secções transversais da superfície dentinária não irradiada (G1 – controle) e preparada com diferentes parâmetros do laser de Er:YAG – aumento de 6.000X.....	70
Figura 5.13 –	Fotomicrografias obtidas em MET: Secções transversais da dentina preparada com diferentes parâmetros de irradiação do laser de Er,Cr:YSGG – aumento de 6.000X.....	71
Figura 5.14 –	Fotomicrografias obtidas em MET: Secções transversais da superfície dentinária não irradiada (G1 – controle) e preparada com diferentes parâmetros do laser de Er:YAG – aumento de 25.000X.....	72
Figura 5.15 –	Fotomicrografias obtidas em MET: Secções transversais da dentina preparada com diferentes parâmetros de irradiação do laser de Er,Cr:YSGG – aumento de 25.000X.....	73
Figura 5.16 –	Fotomicrografia obtida em MEV: Falha classificada como mista em amostra não irradiada; Lado do compósito. D: Dentina; A: Adesivo – aumento de 150X	77
Figura 5.17 –	Fotomicrografias obtidas em MEV: Falha classificada como adesiva em amostra preparada com o laser de Er:YAG: 200 mJ, 6Hz. (a) Lado da dentina – aumento de 150X; (b) Lado da dentina - aumento de 1.000X. (c) Lado do compósito – 150X; (d) Lado do compósito - aumento de 1.000X. Setas: <i>Tags</i> de resina.....	78

Figura 5.18 -	Fotomicrografias obtidas em MEV: Falha classificada com mista em amostra preparada com o laser de Er,Cr:YSGG: 2,5W 20Hz. (a) Lado da dentina – aumento de 150X; (b) Lado da dentina - aumento de 1.000X. (c) Lado do compósito – 150X; (d) Lado da resina - aumento de 1.000X. C: Compósito; D: Dentina; Ad: Falha adesiva; Cd: Falha coesiva em dentina; Setas: <i>Tags</i> de resina.....	79
Gráfico 5.1 –	Médias (MPa) do teste de resistência de união da dentina à resina composta avaliados no teste de microtração.....	75
Gráfico 5.2 –	Análise do padrão de fratura das amostras após teste de microtração.....	75

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1 - Grupos experimentais.....	43
Tabela 5.1 - Médias (MPa) e desvio padrão (DP) dos valores de resistência de união obtidos no teste de microtração.....	74

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
cm ²	centímetro(s) quadrado(s)
DP	Desvio Padrão
Er:YAG	érbio:ítrio-alumínio-granada
Er,Cr:YSGG	érbio-cromo:ítrio-escândio-gálio-granada
gl	graus de liberdade
HMDS	Hexadimetilsilazane
Hz	Hertz
J/cm ²	joule(s) por centímetro quadrado
Li	Limite inferior
Ls	Limite superior
µm	micrômetro(s)
µs	microsegundo(s)
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MET	Microscopia Eletrônica de Transmissão
mJ	Milijoules
mL/min	mililitro(s) por minuto
mm	milímetro(s)
mm ²	milímetro(s) quadrado(s)
mm/min	milímetro(s) por minuto
MQ	Média dos Quadrados

mW/cm ²	miliwatt(s) por centímetro quadrado
OH ⁻	Íon hidroxila
OMI	Odontologia Minimanente Invasiva
nm	nanômetro(s)
rpm	rotações por minuto
SiC	Carbeto de silício
SQ	Soma dos Quadrados

LISTA DE SÍMBOLOS

W	watt(s)
n	Número de espécimes
°C	grau(s) celsius
°	grau(s)
h	hora(s)
M	Molar
N	Newton
MPa	Mega Pascal

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	22
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	25
2.1 LASER NA ODONTOLOGIA	25
2.2 MORFOLOGIA DA DENTINA IRRADIADA	29
2.3 ADESÃO À DENTINA IRRADIADA	35
3 PROPOSIÇÃO.....	41
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	42
4.1 ANÁLISE MORFOLÓGICA: MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) E MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO (MET)	42
4.1.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	45
4.1.1.1 <i>análise morfológica transversal e de superfície</i>	45
4.1.1.2 <i>análise da interface de união</i>	47
4.1.2 Análise em Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)	48
4.2 TESTE DA RESISTÊNCIA DE UNIÃO	50
4.2.1 Análise do padrão de fratura em MEV	53
5 RESULTADOS.....	55

5.1 ANÁLISE MORFOLÓGICA EM MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)	55
5.2 ANÁLISE MORFOLÓGICA EM MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO (MET)	69
5.2 AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA DE UNIÃO	74
6 DISCUSSÃO	80
7 CONCLUSÃO	90
REFERÊNCIAS	91
APÊNDICES	101
ANEXOS	111

1 INTRODUÇÃO

Durante os últimos anos, a demanda por restaurações estéticas vem aumentando significativamente. Os atuais conceitos de adesão têm preconizado a realização de procedimentos minimamente invasivos e conservadores na restauração de dentes que tiveram parte de sua estrutura dental perdida devido a lesões de cárie ou trauma (TYAS et al., 2000).

Desde a realização dos primeiros estudos sobre os efeitos da utilização do laser na estrutura dental, em 1965 (GOLDMAN et al., 1965), avanços nessa tecnologia têm introduzido novos equipamentos com diferentes comprimentos de onda, possibilitando seu uso em diversas especialidades da Odontologia, para, entre outras aplicações, a realização de preparos cavitários e remoção seletiva de tecido cariado (BADER; KREJCI, 2006; HIBST; KELLER, 1989; KINOSHITA; KIMURA; MATSUMOTO, 2003; MATSUMOTO et al., 2002; PELAGALLI et al., 1997).

De acordo com o parâmetro utilizado, o laser pode promover o condicionamento da superfície dental ou mesmo remover o tecido irradiado (processo de ablação) (DELME; DE MOOR, 2007; LI; CODE; VAN DE MERWE, 1992). Com parâmetros utilizados para a realização de preparos cavitários, o laser provoca micro explosões na estrutura irradiada removendo precisamente o tecido desejado (ARMENGOL et al.,

1999a; HIBST, 1992; HOSSAIN et al., 1999a; RIZOIU et al., 1998). Análises microscópicas de superfícies dentinárias irradiadas mostram um substrato rugoso, sem a presença de *smear layer*, com os túbulos dentinários abertos e dentina peritubular proeminente, devido à maior ação da irradiação na dentina intertubular por apresentar maior conteúdo orgânico (AOKI et al., 1998; FREITAS et al., 2007; HARASHIMA et al., 2005; HOSSAIN et al., 1999a).

Os lasers de Er:YAG (2,94 μm) e Er,Cr:YSGG (2,78 μm) têm sido bastante estudados devido ao interesse de suas utilizações em tecidos duros dentais. O efeito desses comprimentos de onda sobre uma estrutura mineralizada varia de acordo com a composição e quantidade de água presente no substrato (esmalte, dentina, osso). Cada parâmetro de irradiação permite uma ação específica sobre um tipo de substrato, tornando-a precisa, segura e minimamente invasiva (BADER; KREJCI, 2006; HIBST; KELLER, 1989; KELLER; HIBST, 1989; LI; CODE; VAN DE MERWE, 1992).

Entretanto, o efeito dos lasers de Er:YAG e Er,Cr:YSGG na ultraestrutura dentinária ainda não foi completamente descrito na literatura. Ainda que a utilização de refrigeração com água durante a aplicação do laser seja fundamental para reduzir os efeitos termomecânicos deste sobre os componentes da dentina, alguns autores sugerem que esses efeitos podem se estender à dentina subsuperficial denaturando as fibrilas de colágeno e prejudicando a retenção

micromecânica promovida pela infiltração do sistema adesivo nessa rede de fibrilas expostas (BACHMANN; GOMES; ZECELL, 2005; CEBALLO et al., 2002; OLIVEIRA et al., 2007).

Desta forma, torna-se importante avaliar o efeito de diferentes parâmetros de irradiação dos lasers de Er,Cr:YSGG e Er:YAG na ultraestrutura da subsuperfície dentinária irradiada.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 LASER NA ODONTOLOGIA

Estudando a interação da luz com a matéria, Einstein, em 1917, descreveu através de equações matemáticas, os princípios da emissão estimulada da radiação. Este fenômeno foi, pela primeira vez, utilizado em 1958, por Schawlow e Townes, para amplificar a intensidade de um feixe de micro-ondas, mediante uma cavidade refletora em ressonância, que ele denominou MASER (Microwave Amplificated by Stimulated Emission of Radiation - amplificação de microondas por emissão estimulada de radiação) (SCHAWLOW; TOWNES, 1958).

Em 1960, o MASER passou a ser chamado LASER, (acrônimo de *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation* - que significa amplificação da luz por emissão estimulada de radiação), quando Theodore Maiman, a partir da estimulação de um cristal de rubi por uma luz externa muito intensa, desenvolveu o primeiro estudo de emissão estimulada da luz no espectro visível (MAIMAN, 1960).

Os resultados da utilização *in vitro* do laser de rubi em Odontologia foram primeiramente descritos por Goldman et al. (1964), Goldman et al (1965), Stern e Sognnaes (1964) e Gordon (1966) que irradiaram o

esmalte dental e observaram sua vaporização pelo laser com a formação de áreas de fusão e vitrificação, bem como de cavidades e uma maior absorção do laser pelo tecido cariado.

Taylor, Shklar e Roeber (1965) demonstraram que o laser sem refrigeração promoveu alterações degenerativas nas polpas de incisivos de hamsters. Com o intuito de verificar os efeitos do aumento de temperatura na polpa dental e estruturas adjacentes, Zach e Cohen (1965) avaliaram *in vivo*, em dentes de macacos *Rhesus*, o grau de elevação da temperatura pulpar e as respostas histológicas da polpa frente a estímulos térmicos já conhecidos. Neste estudo foi observado que elevações da temperatura pulpar superiores a 5,5°C deveriam ser evitadas sob o risco de danos irreversíveis à vitalidade do tecido pulpar.

Após a realização de testes em animais, Goldman et al. (1965) realizaram, o primeiro teste da aplicação do laser de rubi *in vivo* em um paciente que tinha seu segundo molar superior indicado para extração. Além da formação de uma pequena cavidade no esmalte irradiado, o paciente não relatou nenhuma sensibilidade dolorosa ou térmica durante a irradiação.

Estudos com o objetivo de encontrar um comprimento de onda seguro e passível de utilização clínica em Odontologia seguiram até que, em 1989, Hibst e Keller (1989) demonstraram a utilização do laser de Er:YAG (érbio: ítrio, alumínio, granada) em tecidos duros. Este laser possui um comprimento de onda de 2,94 μm que coincide com o pico

máximo de absorção da água e dos radicais hidroxila (OH^-) presentes na hidroxiapatita dos tecidos mineralizados dentais, possibilitando a remoção destes tecidos através do processo denominado ablação. Durante o processo de ablação, a radiação incidente é absorvida pelas moléculas de água presentes no tecido alvo, causando o aquecimento e evaporação. A pressão de vaporização resultante leva à ocorrência de sucessivas micro-explosões, com a conseqüente ejeção do tecido irradiado. Análises morfológicas realizadas em complemento a este estudo (KELLER; HIBST, 1989) demonstram que o tecido mineralizado é removido por meio de uma explosão, de acordo com o processo descrito acima.

Devido à diferença na composição dos tecidos mineralizados dentais, o limiar de ablação para a dentina é menor do que para o esmalte, visto que a dentina possui um maior conteúdo orgânico (LI; CODE; VAN DE MERWE, 1992). Desta forma, os parâmetros de irradiação devem ser estabelecidos de acordo com a composição dos diferentes tecidos e sua afinidade pelo laser utilizado (MISERANDINO; LEVY, 1995).

Com características semelhantes ao laser de Er:YAG, foi recentemente introduzido na Odontologia o laser de Er,Cr:YSGG (érbio, cromo: ítrio, escândio, gálio, granada), que possui um comprimento de onda de 2,78 μm . É absorvido pela água e pelos radicais hidroxila (OH^-) presentes na hidroxiapatita (EVERSOLE; RIZOIU, 1995).

De acordo com informações do fabricante do equipamento de laser de Er,Cr:YSGG atualmente comercializado para a Odontologia (Waterlase

Millenium, Biolase), seu diferencial é o mecanismo de ablação pelo processo hidrocínético (*hydrokinetic system*), no qual as partículas atomizadas e altamente energizadas de água tem ação de corte tecidual, potencializando o seu efeito sobre a remoção do tecido mineralizado. Acredita-se que o laser de Er,Cr:YSGG seja absorvido pelas moléculas de água do *spray* e a película sobre o tecido alvo, ativando o radical hidroxila das micropartículas de água, levando a uma rápida microexplosão, gerada por forças mecânicas na superfície do tecido irradiado, havendo grande concentração de energia e poder de corte entre a ponta da fibra (cristal de safira ou quartzo) e a superfície dental, gerado pela ação hidrocínética das partículas de água atomizadas (EVERSOLE; RIZOIU, 1995).

Estudos iniciais realizados com o laser de Er,Cr:YSGG demonstraram *in vitro* (RIZOIU et al., 1998) e *in vivo* (COZEAN et al., 1997; HADLEY et al., 2000) a segurança na utilização deste laser com mínimas injúrias à polpa e aos tecidos adjacentes, bem como sua eficiência na remoção de lesões de cárie e tecidos mineralizados dentais (ARMENGOL et al., 1999a; HOSSAIN et al., 1999a; LIN et al., 1999).

A utilização dos lasers de Er:YAG e Er,Cr:YSGG para realização de preparos cavitários teve sua aprovação em 1997 e 1998 respectivamente, pela Food and Drug Administration (FDA), nos Estados Unidos (COZEAN et al., 1997; GUTKNECHT; EDUARDO C DE, 2004).

Os estudos clínicos com os lasers de érbio mostram sua eficiência, comparando-os com a remoção do tecido cariado e o preparo de

cavidades com alta ou baixa rotação e avaliando a aceitação deste novo método pelos pacientes (HADLEY et al., 2000; KELLER et al., 1998; MATSUMOTO et al., 2002; PELAGALLI et al., 1997). De acordo com esses estudos, a remoção de esmalte e dentina com o laser pode ser considerado como uma técnica eficiente e viável na prática diária, sem prejuízo para os tecidos pulpaes e com grande aceitação por parte dos pacientes devido à reduzida sensibilidade dolorosa. Além da remoção seletiva do tecido cariado, os lasers de érbio, assim como outros lasers de alta potência, são capazes de promover, em determinados parâmetros de irradiação, uma redução microbiana no tecido irradiado (BLAY, 2001; GORDON et al., 2007; GOUW-SOARES et al., 2000).

Considerando a evolução da Odontologia e dos adesivos dentinários, as novas técnicas de preparos cavitários devem não apenas seguir os princípios da Odontologia Minimamente Invasiva (TYAS et al., 2000), mas também ser capazes de preparar adequadamente as paredes da cavidade que receberão o sistema adesivo e subsequente restauração adesiva (SETIEN et al., 2001).

2.2 MORFOLOGIA DA DENTINA IRRADIADA

O esmalte é composto principalmente por hidroxiapatita inorgânica (92%), enquanto a dentina possui apenas 45% de conteúdo mineral,

sendo o restante, 18% de matéria orgânica e 12% de água (KATCHBURIAN, 2004).

A efetividade do laser em preparos cavitários e remoção de tecido cariado dependem da interação do laser com o tecido irradiado. Utilizando-se parâmetros adequados, os lasers de érbio promovem uma efetiva remoção do tecido cariado através do processo de ablação e realização de preparos cavitários para restauração com materiais restauradores adesivos (LI; CODE; VAN DE MERWE, 1992).

Durante o processo de ablação termomecânica, a maior parte da energia é consumida pelo processo e uma pequena fração desta energia resulta em aquecimento dos tecidos remanescentes (AOKI et al., 1998; FRIED; RAGADIO; CHAMPION, 2001; KELLER; HIBST, 1989). O resfriamento com água é importante para evitar o aquecimento excessivo do dente prejudicando os tecidos pulpares (GERALDO-MARTINS et al., 2005), bem como para auxiliar no processo de ablação.

Apesar de os lasers de érbio possuírem comprimentos de onda muito próximos, cada comprimento possui uma interação específica com os diferentes cromóforos presentes nos tecidos biológicos. Assim, a utilização de água no resfriamento dos tecidos irradiados pode levar a resultados diferentes, dependentes dos comprimentos de onda utilizados (COLUCCI et al., 2008; MISERANDINO; LEVY, 1995).

Durante a utilização do laser de Er:YAG, o fluxo do *spray* de água pode levar a um maior ou menor poder de ablação dos tecidos

mineralizados dentais (BURKES et al., 1992; KIM; JEOUNG; KIM, 2003; MEISTER et al., 2006; VISURI; WALSH JR; WIGDOR, 1996). A película de água que se forma na superfície é o mediador da ablação (HOSSAIN et al., 1999a; VISURI; WALSH JR; WIGDOR, 1996); entretanto, um fluxo de água muito alto pode levar a uma diminuição do potencial de ablação (MEISTER et al., 2006) devido a uma grande absorção da energia do laser pela água do *spray*, presente na superfície (KIM; JEOUNG; KIM, 2003).

O laser de Er,Cr:YSGG, por sua vez, é absorvido principalmente pelo grupo hidroxila presente na hidroxiapatita, mas também tem interação com água. A utilização do *spray* de água aumenta seu poder de ablação (HOSSAIN et al., 1999a). O potencial de ablação do laser de Er,Cr:YSGG parece não ser influenciado por uma variação no fluxo de água do *spray*, ao contrário do laser de Er:YAG (MEISTER et al., 2006).

Hossain et al (1999a) verificaram que o laser de Er,Cr:YSGG é capaz de produzir cavidades na presença ou ausência de água; entretanto, superfícies irradiadas sem água podem apresentar sinais de carbonização e *melting* (HOSSAIN et al., 1999b; LEE et al., 2004). Se utilizados os parâmetros adequados, as superfícies irradiadas com laser de érbio apresentam-se sem sinais de danos causados por acúmulo de calor (HOSSAIN et al., 1999a; HOSSAIN et al., 1999b; KELLER; HIBST, 1989; LEE et al., 2004).

Em geral, as superfícies dentinárias irradiadas com ambos os lasers de érbio apresentam-se bastante semelhantes, com irregularidades na

morfologia superficial, livres de *smear layer* e com os túbulos dentinários abertos. A dentina peritubular apresenta-se mais preservada (protruída) dando o aspecto de um vulcão ao redor da entrada dos túbulos (AOKI et al., 1998; ARMENGOL et al., 1999a; BERTRAND et al., 2004; CARDOSO et al., 2008b; CARDOSO et al., 2008a; CARVALHO et al., 2005; DE MUNCK et al., 2002; DELME; DE MOOR, 2007; DUNN; DAVIS; BUSH, 2005; EKWORAPOJ; SIDHU; MCCABE, 2007; FREITAS et al., 2007; HOSSAIN et al., 2001; KATAUMI et al., 1998; LEE et al., 2007; MONGHINI et al., 2004; TRAJTENBERG; PEREIRA; POWERS, 2004; VAN MEERBEEK et al., 2003; VISURI et al., 1996). Alguns autores observaram discretas diferenças na morfologia da dentina irradiada com os lasers de Er:YAG e Er,Cr:YSGG, sendo que as superfícies irradiadas com o laser de Er,Cr:YSGG apresentam-se levemente mais rugosas e com uma menor quantidade de túbulos dentinários abertos (ESTEVES-OLIVEIRA et al., 2007; HARASHIMA et al., 2005).

Estudos têm mostrado que o tratamento da dentina com parâmetros ablativos pode promover trincas e fissuras que se propagam na camada superficial (AOKI et al., 1998; CARDOSO et al., 2008a; DE MUNCK et al., 2002; MONGHINI et al., 2004; SETIEN et al., 2001; VAN MEERBEEK et al., 2003), podendo se estender à subsuperfície dentinária.

Microscopias Eletrônicas de Varredura (MEV) da interface adesiva dentina/resina composta mostram na dentina, imediatamente abaixo da superfície irradiada, a presença de fissuras e de uma área irregular

alterada pela irradiação (CARDOSO et al., 2008b; KATAUMI et al., 1998; MARTINEZ-INSUA et al., 2000). Em um corte transversal é possível a observação destas trincas obliquamente ou paralelas ao fundo da cavidade (GIACHETTI et al., 2004). Além disso, microfragmentos podem ser visualizados levemente aderidos a esta superfície (AOKI et al., 1998; MARTINEZ-INSUA et al., 2000).

Tanto para o esmalte quanto para a dentina, o laser promove superfícies mais rugosas quando comparadas com aquelas obtidas com o condicionamento com ácido fosfórico (HOSSAIN et al., 2001). O condicionamento ácido da superfície dentinária irradiada remove a camada mais superficial tornando-a menos irregular e aumentando discretamente a entrada dos túbulos dando uma conformação cônica aos *tags* (ARANHA et al., 2007; BERTRAND et al., 2004; KATAUMI et al., 1998).

As interfaces de união das superfícies dentinárias tratadas convencionalmente com broca e condicionamento com ácido, apresentam uma camada híbrida homogênea, consistente, bem definida e contínua ao longo da interface adesiva. Os *tags* de resina normalmente apresentam uma forma cônica com sua base voltada para a entrada dos túbulos (BERTRAND et al., 2004; RAMOS et al., 2004; SASSI et al., 2004; SCHEIN et al., 2003). Já a camada híbrida das superfícies irradiadas com laser e condicionadas com ácido pode apresentar-se irregular, indefinida e interrompida em várias porções ao longo da interface adesiva. Os *tags* apresentam-se cônicos e com uma textura rugosa (ARANHA et al., 2007;

BERTRAND et al., 2004; RAMOS et al., 2004). Alguns autores relatam a ausência de formação da camada híbrida nas superfícies irradiadas com laser com *tags* em formato cilíndrico (RAMOS et al., 2004; SASSI et al., 2004; SCHEIN et al., 2003; TRAJTENBERG; PEREIRA; POWERS, 2004). Entretanto, sem o condicionamento ácido da superfície irradiada, não se observa a formação de uma camada híbrida. Os *tags*, apesar de em grande número, apresentam-se cilíndricos e mais finos (BERTRAND et al., 2004). Os padrões morfológicos observados em cortes transversais das interfaces adesivas são muito variados e dependem do adesivo utilizado, dos parâmetros de irradiação e da técnica de processamento para microscopia (BADER; KREJCI, 2006).

A retenção micro mecânica dos materiais resinosos nas porosidades criadas pelo condicionamento ácido dos tecidos mineralizados é atualmente o método mais promissor de se alcançar valores satisfatórios de resistência adesiva (NAKABAYASHI; KOJIMA; MASUHARA, 1982; NAKABAYASHI; NAKAMURA; YASUDA, 1991; PASHLEY; CARVALHO, 1997; PASHLEY et al., 1993). Apesar de a irradiação com laser levar a uma maior rugosidade da superfície, com a presença de túbulos dentinários abertos, alguns autores sugerem que não há desmineralização e exposição das fibrilas de colágeno para a penetração adequada dos monômeros resinosos (CEBALLOS et al., 2001), mesmo após o condicionamento ácido da superfície irradiada (SCHEIN et al., 2003).

Assim, maiores estudos sobre os efeitos térmicos e mecânicos dos lasers de érbio na estrutura de colágeno e na subsuperfície dentinária se fazem necessários para um melhor entendimento da interação desta tecnologia com os tecidos mineralizados dentais e com os sistemas adesivos, possibilitando o aproveitamento máximo de todos os benefícios que esta tecnologia tem a oferecer.

2.3 ADESÃO À DENTINA IRRADIADA

O modo de preparo dos substratos dentais pode interferir na qualidade de união e na efetividade dos adesivos dentinários (VAN MEERBEEK et al., 2003).

Os vários sistemas adesivos interagem de maneira específica com cada substrato dentinário levando a diferentes valores de resistência de união (CARDOSO et al., 2008b; CELIK et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2005; OLIVEIRA et al., 2003; RAMOS et al., 2002; RAMOS et al., 2004). Da mesma maneira, a interação dos sistemas adesivos pode variar de acordo com as diferentes profundidades do tecido dentinário (CEBALLO et al., 2002; GONCALVES et al., 2008; ROSALES-LEAL et al., 2001).

Os tecidos duros dentais preparados com os lasers de érbio apresentam uma morfologia peculiar. Dependendo da energia utilizada, estes lasers podem ablacionar o tecido dental ou apenas promover um

condicionamento da superfície. Estudos na literatura têm mostrado resultados não conclusivos em relação à interação destes substratos com os sistemas adesivos (VAN AS, 2004).

As características morfológicas e topográficas da superfície dentinária obtidas após a remoção do tecido cariado ou preparo dental com o uso dos lasers de érbio foram considerados por alguns autores como um bom substrato para receber os procedimentos restauradores adesivos (CEBALLOS et al., 2001; HOSSAIN et al., 2001; LI; CODE; VAN DE MERWE, 1992; TRAJTENBERG; PEREIRA; POWERS, 2004; VISURI et al., 1996).

O condicionamento com laser das superfícies dentais, com parâmetros subablasivos, promove importantes alterações morfológicas na superfície irradiada (DELME; DE MOOR, 2007), como descrito anteriormente. Em termos de resistência de união, estudos demonstram que esta técnica pode ser mais, ou tão eficiente quanto, à técnica de condicionamento com ácido fosfórico (HOSSAIN et al., 2001; KELLER; HIBST, 1993; NAVARRO, 2001), principalmente quando o condicionamento com laser é sucedido pelo condicionamento ácido (WANDERLEY et al., 2005). Por outro lado, existem trabalhos que observaram menores valores de resistência adesiva quando o condicionamento da superfície foi realizado apenas com o laser de Er:YAG (ARMENGOL et al., 1999b; DE MUNCK et al., 2002; EDUARDO et al., 1996; MARTINEZ-INSUA et al., 2000; MORITZ et al., 1996).

A extensão e a intensidade dos efeitos estão relacionadas com os parâmetros utilizados. Diferenças nas metodologias, como na densidade de energia, taxa de repetição, fluência, distância focal, bem como na calibração dos aparelhos podem levar a resultados divergentes, dificultando comparações (AIZAWA et al., 2006; CHIMELLO-SOUSA et al., 2006; CORONA et al., 2005; FRIED; RAGADIO; CHAMPION, 2001; GONCALVES et al., 2005).

Alguns estudos demonstraram que a dentina irradiada com parâmetros para preparo cavitário é capaz de reproduzir valores de resistência de união, com ou sem condicionamento ácido, semelhantes ou até maiores àqueles obtidos pelo preparo convencional da dentina com broca, indicando que os tecidos dentais irradiados com laser não necessitariam de condicionamento ácido previamente à realização da restauração adesiva, simplificando a técnica (BERTRAND et al., 2006; KATAUMI et al., 1998; LIN et al., 1999; MORITZ et al., 1996; VISURI et al., 1996).

Tão importante quanto a resistência de união, é a microinfiltração marginal. Cavidades condicionadas com laser podem apresentar valores de infiltração semelhantes àqueles obtidos com o preparo convencional da dentina com broca e condicionamento com ácido (CEBALLOS et al., 2001), principalmente quando a superfície tratada com laser é condicionada com ácido (BERTRAND et al., 2006).

Situação semelhante foi observada em trabalhos de resistência adesiva, nos quais os autores observaram que o laser pode diminuir os valores de resistência de união, mas que o condicionamento ácido da superfície, é capaz de restabelecer esses valores tornam-os compatíveis com aqueles obtidos pelo preparo com broca e condicionamento com ácido fosfórico (BURNETT et al., 2001; LEE et al., 2007; RAMOS et al., 2008; TRAJTENBERG; PEREIRA; POWERS, 2004). Entretanto, Dunn, Davis e Bush (2005) observaram áreas sem a penetração do adesivo e um desprendimento da camada híbrida da dentina irradiada, com ou sem a realização do condicionamento ácido, sugerindo ser esta a razão dos menores valores de resistência adesiva obtidos em seu estudo.

Assim, nem sempre o condicionamento ácido da superfície irradiada pode elevar os valores de resistência adesiva de modo a equipará-los com aqueles obtidos pela dentina preparada convencionalmente (CARDOSO et al., 2008b; CEBALLO et al., 2002; DE MUNCK et al., 2002; DO AMARAL et al., 2008; DUNN; DAVIS; BUSH, 2005; GONCALVES et al., 2008; KAMEYAMA et al., 2002; RAMOS et al., 2004; VAN MEERBEEK et al., 2003).

Uma análise da ultraestrutura dentinária em Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) mostra uma faixa de material granular, desprendidos da malha de colágeno, formada de proteína, denaturada pela ação do laser na superfície. O condicionamento com ácido fosfórico possibilita a remoção destes grânulos superficiais e a visualização de uma

“linha” que determina a área de fibrilas colapsadas. Maiores densidades de energia podem promover efeitos em maior profundidade nas fibras colágenas (RAMOS et al., 2008).

O calor residual gerado durante a irradiação tem sido relacionado à denaturação das fibrilas colágenas (CEBALLO et al., 2002). Uma elevação na temperatura até 175°C é capaz de denaturar parcialmente estas fibrilas presentes na dentina, porém é um efeito reversível (BACHMANN; GOMES; ZECELL, 2005). Entretanto, quando esta temperatura ultrapassa os 225°C os danos são irreversíveis, já que a 310°C inicia-se a temperatura de combustão da parte orgânica da dentina (SAKAE et al., 1995).

Após a irradiação da dentina é possível a observação de uma rede de fibrilas colágenas denaturadas e colapsadas formando uma camada amorfa (CEBALLO et al., 2002). Mesmo após o condicionamento ácido da superfície ainda é possível verificar uma rede de fibrilas parcialmente denaturadas pelo calor gerado durante a irradiação. Este remanescente de fibrilas colágenas fusionadas impede a penetração do adesivo na camada mais inferior da dentina intertubular, podendo levar a menores valores de resistência adesiva (CEBALLO et al., 2002).

A literatura apresenta resultados bastante controversos no que diz respeito aos estudos com os lasers de érbio e seus efeitos na resistência de união aos tecidos irradiados, assim, estudos mais completos que avaliem as estruturas orgânicas e inorgânicas através de diferentes

metodologias e técnicas microscópicas, se fazem necessários para um melhor entendimento do substrato e o estabelecimento de protocolos de irradiação.

3 PROPOSIÇÃO

Os objetivos deste estudo foram:

- Avaliar as características morfológicas da dentina superficial e subsuperficial irradiada com os lasers de Er:YAG e Er,Cr:YSGG através de uma análise em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e de Transmissão (MET), bem como os efeitos da irradiação na formação dos *tags* de resina e camada híbrida.

- Avaliar a resistência de união da resina composta às superfícies irradiadas com diferentes parâmetros dos lasers de Er:YAG e Er,Cr:YSGG.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ANÁLISE MORFOLÓGICA: MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) E MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO (MET)

Para esta etapa, foram utilizados 32 terceiros molares humanos cedidos pelo Banco de Dentes Humanos da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (FOUSP) e com a concordância do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da mesma Instituição (Anexo A).

Os dentes extraídos permaneceram armazenados em água destilada sob refrigeração até sua utilização. Foram utilizados dentes recém-extraídos ou armazenados por um período máximo de três meses após a data de extração (HUMEL et al., 2007). Para remoção dos debris orgânicos, os dentes foram submetidos à raspagem manual com cureta periodontal (Duflex, SS White, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) seguidos de polimento com pedra pomes (SS White, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e água com o auxílio de escovas tipo Robinson (KG Sorensen, Barueri, SP, Brasil) em baixa rotação.

Após a limpeza, os dentes foram fixos com cera pegajosa em uma placa de acrílico com a junção amelo-dentinária perpendicular à placa, para a obtenção de discos de dentina com aproximadamente 4 mm de espessura, com o auxílio de um disco diamantado de baixa concentração (11-4254, Buehler Ltd., Lake Buff, IL, EUA) acoplado a uma cortadeira de

alta precisão (Isomet 1000, Buehler Ltd, Lake Buff, IL, EUA). Após o corte e remoção da raiz, um segundo corte foi realizado para expor uma superfície dentinária planificada de profundidade média. As superfícies dentinárias foram desgastadas com lixa de carbeto de silício (SiC) #400 (Buehler Ltd., Lake Buff, IL, EUA) montadas em politriz (Ecomet 3 machine, Buehler Ltd., Lake Bluff, EUA) sob constante irrigação até a remoção completa de qualquer remanescente de esmalte.

Cada disco de dentina foi seccionado no sentido vestibulo-lingual obtendo-se 2 metades semelhantes, num total de 64 amostras. As superfícies oclusais de cada amostra foram padronizadas com lixas de SiC #600, montadas em politriz, durante 1 minuto. Em seguida, estas foram aleatoriamente divididas em 9 grupos experimentais (n=7) e as superfícies dentinárias tratadas de acordo com os grupos descritos na tabela 4.1.

Tabela 4.1 - Grupos experimentais

		Er:YAG (2,94 μm)				Er,Cr:YSGG (2,78 μm)			
		G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8
Energia/Potência	-	250 mJ	200 mJ	180 mJ	160 mJ	2,0 W	2,5 W	3,0 W	4,0W
TX Repetição (Hz)	-	4	4	10	10	20	20	20	20
Densidade de Energia (J/cm²)	-	83	67	60	53	90	113	136	181

No grupo controle (G1), as superfícies oclusais foram padronizadas através da planificação com lixas de SiC #600, montadas em politriz, sob constante irrigação durante 30 segundos, obtendo-se uma *smear layer* padronizada.

Nos grupos experimentais (G2-G9), as superfícies foram irradiadas com os lasers Er:YAG e Er,Cr:YSGG como descrito abaixo:

- Laser de Er:YAG

Para o preparo da superfície dentinária dos grupos 2-5, foi utilizado o laser de Er:YAG Kavo Key Laser 2 (KAVO Dental, Biberach, Alemanha)¹ com comprimento de onda de 2,94 μm e largura de pulso de 250 μs . A peça de mão utilizada foi a #2065 posicionada perpendicularmente à superfície da dentina (90°) a uma distância de 12 mm da superfície da amostra no modo focado. A área focal foi de 0,31 mm² e os parâmetros utilizados estão descritos na tabela 4.1. A irradiação foi realizada sob constante refrigeração com água (5 mL/min) (OLIVEIRA et al., 2007), no modo de varredura, percorrendo toda a superfície da amostra.

- Laser de Er,Cr:YSGG

Para o preparo da superfície dentinária dos grupos 6-9, foi utilizado o laser de Er,Cr:YSGG (Waterlase Millenium, Biolase Technology, San Clemente, CA, EUA)² com comprimento de onda de 2,78 μm , largura de pulso de 140-200 μs e taxa de repetição fixa de 20 Hz. A peça de mão

¹ Equipamento obtido através de recursos concedidos no Auxílio à Pesquisa FAPESP número: 97/10823-0, pertencente ao Laboratório Especial de Laser em Odontologia da FOU SP.

² Equipamenro obtido com recursos concedidos no projeto CEPID/CEPOF FAPESP número: 98/14270-8, pertencente ao Laboratório Especial de Laser em Odontologia da FOU SP.

utilizada foi a MPV com a ponta de safira G4 (diâmetro de 378 μm), posicionada perpendicularmente à superfície da dentina (90°), a uma distância de 1 mm da superfície da amostra no modo focado. A área focal foi de 0,11 mm^2 e os parâmetros utilizados estão descritos na tabela 4.1. A irradiação foi realizada no modo de varredura, sob constante refrigeração com ar (65%) e água (55%) (CARDOSO et al., 2008a).

Antes de iniciar o procedimento de irradiação das amostras, a potência dos lasers foi aferida com o auxílio de um medidor de potência³ (Laser Energy Detector 818E, Newport Co., Irvine, Ca, EUA), para aferir a energia de saída do feixe de laser (*output*). Foi verificada uma perda de energia, apenas para o laser de Er:YAG, de aproximadamente 30%.

4.1.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

4.1.1.1 análise morfológica transversal e de superfície

Para esta etapa foram utilizadas 27 amostras ($n=3$). Foi realizado uma ranhura de 2 mm de profundidade na parte inferior destas, no sentido mesio-distal, para auxiliar na clivagem das amostras no momento do preparo para a observação no microscópio.

³ Equipamento adquirido através de recursos concedidos no Auxílio à Pesquisa FAPESP número: 04/12314-0

Após o tratamento das superfícies dentinárias de acordo com a tabela 4.1, estas foram lavadas com água por 15 segundos, depois em ultrassom por 10 minutos e clivadas no sentido mésio-distal com o auxílio da ranhura realizada previamente na parte inferior, de modo a possibilitar uma análise transversal da superfície dentinária. Imediatamente depois, as amostras foram imersas em solução de glutaraldeído 2,5%, durante 24 h e, em seguida, lavadas consecutivamente através de 3 banhos de 10 minutos cada, com solução tampão fosfato 0,1 M. As amostras foram, então, pós-fixadas em tetróxido de ósmio a 1% por 1 h e novamente lavadas, consecutivamente, em 3 banhos de 10 minutos cada, em solução tampão fosfato 0,1 M. Iniciou-se o processo desidratação em concentrações crescentes de etanol (30 a 100 %) com 2 banhos de 5 minutos em cada concentração e 4 banhos de 5 minutos para a concentração de 100%.

Terminado o processo de desidratação, as amostras foram secas quimicamente em HMDS por 12 minutos e secas sobre papel absorvente na capela por 2 h. Em seguida, as 2 metades de cada amostra foram montadas em *stubs*; uma metade foi utilizada para a análise de superfície e a outra para análise transversal, seguidas de recobrimento com ouro por 120 segundos no Sputtering Device (07-120, Balzers Union, BAL-TEC, Furstentum, Liechtenstein).

Para análise morfológica da superfície dentinária, eletromicrografias com magnificação da ordem de 4.000 e 10.000X foram obtidas das regiões mais representativas do padrão de tratamento realizado. Para a

análise transversal, foram realizadas eletromicrografias com magnificação da ordem de 7.000X das regiões mais representativas de cada amostra.

4.1.1.2 análise da interface de união

Para esta etapa foram utilizadas 27 amostras (n=3). Após o tratamento das superfícies dentinárias, de acordo com a tabela 4.1, estas foram restauradas com o sistema adesivo (Adper Single Bond, 3M ESPE, Sant Louis, Minnessota, Estados Unidos) como descrito a seguir: Condicionamento com ácido fosfórico 35% (3M ESPE, Sant Paul, Minnessota, Estados Unidos) por 15 segundos, lavagem por 15 segundos, secagem com papel absorvente deixando a dentina levemente úmida e aplicação de 2 camadas subseqüentes de adesivo. Após 30 segundos, aplicação de um jato de ar por 3 segundos e fotopolimerização por 10 segundos com fototivador (XL 3000, 3M ESPE, Sant Paul, Minnessota, Estados Unidos) com intensidade de luz de aproximadamente 650 mW/cm². Em seguida, foi confeccionado um bloco de resina com 1 incremento de aproximadamente 1 mm de altura sobre a superfície dentinária hibridizada utilizando-se a resina (Z100, 3M ESPE, Sant Paul, Minnessota, Estados Unidos), fotoativada por 40 segundos.

Após armazenamento em ambiente úmido por 24 h, as amostras foram fixadas em placa de acrílico com cera pegajosa na sua porção

cortada, para a realização de um corte na porção central da restauração de resina no sentido mésio-distal.

As metades foram incluídas em resina acrílica para auxiliar no processo de polimento da interface. O polimento foi realizado com lixas de SiC # 240, 320, 400, 600, 1.200, 4.000 com irrigação constante por 30 segundos e com feltro e solução diamantada de 3 µm e 1µm (Buehler Ltd., Lake Buff, IL, EUA) montadas em politriz.

Após lavagem com água destilada, as amostras foram imersas em solução aquosa de ácido clorídrico 5 M por 20 segundos, lavadas cuidadosamente com água destilada e colocadas em hipoclorito de sódio a 1% por 30 minutos. Ao final deste processo, as amostras foram lavadas novamente com água destilada, fixadas em glutaraldeído por 24 h, desidratadas e cobertas com ouro como descrito anteriormente (tópico 4.1.1.1 - análise morfológica longitudinal e de superfície).

Eletromicrografias com magnificação da ordem de 3.500X foram obtidas das regiões mais representativas das amostras.

4.1.2 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

Para esta etapa foram utilizadas 9 amostras (n=1). Após o tratamento das superfícies dentinárias de acordo com a tabela 4.1, as amostras foram totalmente descalcificadas em solução de EDTA a 4,13%

por 60 dias, trocada a cada 2 dias. Ao final deste período, cada amostra foi cortada em 3 secções de aproximadamente 1 mm com o auxílio de uma lâmina de barbear. Os espécimes receberam 6 banhos de 10 minutos de tampão cacodilato 0,1 M foram fixados em solução de glutaraldeído 2,5% em tampão cacodilato 0,1 M e pH 7 por 24 horas, pós-fixados em solução de tetróxido de ósmio a 1% por 1 h e desidratados em concentrações crescentes de etanol (30 a 100%) com 1 banho de 5 minutos em cada concentração e 2 banhos de 10 minutos para a concentração de 100%. Em seguida, 2 banhos de 10 minutos com acetona e infiltração da resina (Dr Spurr, Electron Microscopy Sciences, Hatfield, PA, USA) por 12 h em agitador. Foi realizada a inclusão dos espécimes na resina e polimerização em estufa seca a 37°C por 72 h.

Cada amostra permitiu a obtenção de 3 blocos. Um bloco de cada grupo foi escolhido aleatoriamente para o corte das secções ultrafinas de 70 nm de espessura com o auxílio de uma navalha de diamante (ultra 45°, Diatome AG, Biel, Suíça) montada em um ultramicrotomo HM 360 (Microm International GmbH., Walldorf, Alemanha). As secções foram contrastadas com acetato de uranila e citrato de chumbo e examinadas em um Microscópio Eletrônico de Transmissão (JEM 1010, JEOL Ltd., Tóquio, Japão). Eletromicrografias com magnificação da ordem de 6.000X e 25.000X foram obtidas da superfície irradiada e da região imediatamente inferior.

4.2 TESTE DA RESISTÊNCIA DE UNIÃO

Para esta etapa foram utilizados 45 dentes terceiros molares humanos cedidos pelo Banco de Dentes Humanos da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (FOUSP) e com a concordância do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da mesma Instituição (Anexo B).

Os dentes extraídos permaneceram armazenados em água destilada sob refrigeração até sua utilização. Foram utilizados dentes recém-extraídos ou armazenados por um período máximo de três meses após a data de extração (HUMEL et al., 2007). Para remoção dos debris orgânicos, os dentes foram submetidos à raspagem manual com cureta periodontal (Duflex, SS White, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) seguidos de polimento com pedra pomes (SS White, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e água com o auxílio de escovas tipo Robinson (KG Sorensen, Barueri, SP, Brasil) em baixa rotação.

Após a limpeza, os dentes foram fixos com cera pegajosa em uma placa de acrílico, com a junção amelo-dentinária perpendicular à placa, para a remoção das superfícies oclusais com um disco diamantado de baixa concentração (11-4254, Buehler Ltd., Lake Buff, IL, EUA) acoplado a uma cortadeira de alta precisão (Isomet 1000, Buehler Ltd, Lake Buff, IL, EUA). O corte foi realizado na direção do sulco principal obtendo-se uma superfície dentinária planificada de profundidade média. Estas superfícies oclusais foram desgastadas com lixa de SiC #400 (Buehler Ltd., Lake Buff,

IL, EUA), montadas em politriz (Ecomet 3 machine, Buehler Ltd., Lake Bluff, EUA) sob constante irrigação até a remoção completa de qualquer remanescente de esmalte. Em seguida, as superfícies oclusais foram padronizadas com lixas de SiC #600, montadas em politriz durante 1 minuto.

Os dentes foram, então, aleatoriamente divididos entre os grupos experimentais (n=5) e as superfícies dentinárias preparadas de acordo com cada grupo experimental (Tabela 4.1).

Para a realização do ensaio de microtração foi utilizado um sistema adesivo com condicionamento ácido prévio (Adper Single Bond, 3M ESPE, Sant Paul, Minnessota, Estados Unidos), aplicado de acordo com as instruções do fabricante. Em seguida, a resina composta (Z100, 3M ESPE, Sant Paul, Minnessota, Estados Unidos) foi aplicada em incrementos de cerca de 2 mm, fotopolimerizados por 40 segundos a 650 mW/cm^2 até que um bloco de aproximadamente 5x5x5 mm fosse construído sobre a dentina hibridizada.

Após um período de 24 h de armazenamento em água destilada a 37°C, as amostras foram levadas à máquina de corte (Isomet 1000, Buehler Ltd, Lake Buff, IL, EUA) para cortes seriados no sentido mésio-distal e vestibulo-lingual perpendiculares à interface adesiva, com disco diamantado a uma rotação de $\pm 100 \text{ rpm}$, sob refrigeração com água, de modo a se obter corpos-de-prova em forma de palito com dimensões de 1 X 1 mm, aproximadamente (Figura 4.1).

A área de secção transversal dos corpos-de-prova foi precisamente medida com o auxílio de um paquímetro digital (Mitutoyo Sul Americana Ltda, Suzano, São Paulo, Brasil)⁴.

Os palitos fraturados/perdidos durante o corte foram desprezados e não considerados no estudo. Todos os palitos obtidos após o corte foram observados em lupa estereoscópica (Olympus, Tóquio, Japão) em aumento de 40X para a verificação de possíveis falhas ou remanescente de esmalte. Dentre os corpos de prova classificados como viáveis, foram selecionados aleatoriamente 7 palitos a serem submetidos ao teste de microtração para cada dente.

Os corpos de prova foram colados individualmente com cianocrilato (Super Bonder; Loctite, São Paulo, Brazil) e seu acelerador (Loctite 7452) na garra Geraldeli. Os espécimes colados na garra foram testados em uma máquina de ensaio universal (Instron 4442, Canton, MA, EUA) com velocidade de 1,0 mm/min.

Nenhum palito foi perdido durante o manuseio das amostras para o teste de microtração. Os valores obtidos durante o teste foram gerados em Newton (N) e transformados em MPa, dividindo-se a força atingida no momento da fratura (N) pela área da interface adesiva (mm²).

Para o cálculo da média de cada grupo foram utilizadas as médias dos palitos de cada dente.

⁴ Equipamento obtido através de auxílio da Pró-Reitoria de Pesquisa (Programa de Incentivo à Pesquisa – Pro IP) número: 06.1123336.01.0

Figura 4.1 – Delineamento do teste de microtração

Após o teste de microtração, os espécimes foram observados em lupa estereoscópica 40X para análise do padrão de fratura e classificados como: Adesivas (rompimento apenas na interface adesivo/dentina); Coesivas em dentina (rompimento da estrutura dentinária); Coesivas em resina composta (rompimento na resina composta) e Mista (presença de falha adesiva e falha coesiva em dentina/adesivo e/ou resina composta).

4.2.1 Análise do Padrão de Fratura em MEV

Além do padrão de fratura de todos os espécimes ter sido analisado em lupa estereoscópica, 2 amostras representativas de cada grupo foram processadas para MEV, tanto para o lado em resina, como para o lado em dentina, a fim de ilustrar os tipos de fraturas em cada grupo e facilitar o

entendimento dos modos de falhas ocorridos. Para isso, os palitos foram montados em *stubs* e armazenados em estufa a 37° C por 24 horas. Após o recobrimento das amostras com ouro, fotomicrografias da ordem de 150 e 1000X foram obtidas das regiões mais representativas.

5 RESULTADOS

5.1 ANÁLISE MORFOLÓGICA EM MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

Os parâmetros de irradiação utilizados neste trabalho resultaram em padrões morfológicos dentinários semelhantes para os 2 tipos de lasers. As figuras 5.1 a 5.4 mostram os padrões das superfícies, obtidos após os tratamentos propostos nos grupos G1-G9.

O grupo 1 (controle) apresentou uma superfície uniforme, completamente coberta por uma camada de esfregaço, obliterando a entrada dos túbulos dentinários (Figuras 5.1a e 5.3a). Nos demais grupos (G2-G9), submetidos ao tratamento com laser, as superfícies apresentaram aspectos morfológicos semelhantes, com túbulos dentinários abertos e dentina peritubular levemente protruída, independente do laser utilizado. Todas as superfícies irradiadas apresentaram-se bastante rugosas e irregulares com uma aparência escamosa e sem nenhuma camada de esfregaço (Figuras 5.1b-5.1e, 5.2, 5.3b-5.3e e 5.4). As superfícies irradiadas com o laser de Er,Cr:YSGG se apresentaram levemente mais escamosas que aquelas irradiadas com os laser de Er:YAG (Figuras 5.2 e 5.4).

Figura 5.1 - Fotomicrografias obtidas em MEV: Características morfológicas das superfícies dentinárias não irradiadas (G1 – controle) e preparadas com diferentes parâmetros de irradiação do laser de Er:YAG – aumento de 4.000X

Figura 5.2 - Fotomicrografias obtidas em MEV: Características morfológicas das superfícies dentinárias preparadas com diferentes parâmetros de irradiação do laser de Er,Cr:YSGG – aumento de 4.000X

Figura 5.3 - Fotomicrografias obtidas em MEV: Características morfológicas das superfícies dentinárias não irradiadas (G1 – controle) e preparadas com diferentes parâmetros de irradiação do laser de Er:YAG – aumento de 10.000X

Figura 5.4 - Fotomicrografias obtidas em MEV: Características morfológicas das superfícies dentinárias preparadas com diferentes parâmetros de irradiação do laser de Er,Cr:YSGG – aumento de 10.000X

A figura 5.5 revela a topografia irregular da superfície dentinária irradiada, na qual podemos observar um padrão mais irregular para os grupos tratados com o laser de Er,Cr:YSGG (Figura 5.5c).

Figura 5.5 - Fotomicrografias obtidas em MEV: Secções transversais das amostras de dentina, que ilustram o padrão topográfico dos diferentes tratamentos. (a) Controle (1.500X); (b) Er:YAG 250 mJ, 4Hz (500X); (c) Er,Cr:YSGG 2,0 W, 20Hz (250X)

Uma observação dos cortes transversais de dentina para os grupos irradiados (Figuras 5.6b a 5.6e e 5.7) mostra a presença de trincas horizontais na dentina peritubular, característica esta mais evidente em determinados grupos de tratamento. Fotomicrografias obtidas em maior aumento revelam na entrada dos túbulos dentinários, que estas trincas se iniciam na superfície e diminuem gradativamente ao longo da subsuperfície (Figura 5.8b), diferentemente do padrão encontrado para o grupo controle, no qual os túbulos se apresentam homogêneos e sem sinais de alteração (Figura 5.8a).

Figura 5.6 - Fotomicrografias obtidas em MEV: Secções transversais da dentina não irradiada (G1 – controle) e preparada com diferentes parâmetros de irradiação do laser de Er:YAG – aumento de 7.000X

Figura 5.7 - Fotomicrografias obtidas em MEV: Secções transversais da dentina preparada com diferentes parâmetros de irradiação do laser de Er,Cr:YSGG – aumento de 7.000X

Figura 5.8 - Fotomicrografias obtidas em MEV ilustrando a diferença do padrão morfológico após a irradiação e sem tratamento (Controle). Secções transversais das amostras de dentina em 15.000X. (a) Controle; (b) Er,Cr:YSGG 2,0 W 20Hz

A hibridização das superfícies irradiadas pode ser observada nas figuras 5.9 e 5.10. *Tags* de resina com aspecto cônico, sendo sua base voltada para a camada híbrida, são observados em todos os grupos experimentais (G1-G9). No grupo controle, a dentina apresenta-se sem alterações; a camada híbrida e os *tags* se apresentam uniformes e é possível a observação de prolongamentos provenientes da penetração do adesivo nos canais intertubulares (Figuras 5.9a e 5.11a).

Uma análise da interface adesiva dos grupos irradiados revela uma camada híbrida irregular com uma maior deposição do adesivo nas regiões de vales, correspondentes ao fundo do pulso, enquanto que os picos, cobertos com uma camada mais fina de adesivo (Figuras 5.9b a 5.9e e 5.10). A dentina subsuperficial apresenta um aspecto de “massa folhada” e um padrão específico de *tags* em sua porção mais próxima à camada híbrida, com a presença de anéis ao seu redor (Figura 5.11b), os quais diminuem gradativamente em profundidade até a observação de *tags* com uma aparência lisa e homogênea.

Figura 5.9 - Fotomicrografias obtidas em MEV: Secções transversais da interface adesiva das amostras não irradiadas (G1 – controle) e preparadas com diferentes parâmetros do laser de Er:YAG – aumento de 3.500X

Figura 5.10 - Fotomicrografias obtidas em MEV: Secções transversais da interface adesiva das amostras preparadas com diferentes parâmetros de irradiação do laser de Er,Cr:YSGG – aumento de 3.500X

Figura 5.11 - Fotomicrografias obtidas em MEV ilustrando a diferença do padrão dos *tags* de resina após o tratamento controle (G1) e irradiação (G9): Secções transversais da interface adesiva em aumento de 7.000X. (a) Controle; (b) Er,Cr:YSGG 4,0 W 20Hz

5.1 ANÁLISE MORFOLÓGICA EM MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO (MET)

A MET consiste em uma técnica microscópica importante para a avaliação da ultraestrutura das superfícies irradiadas com os lasers de Er:YAG e Er,Cr:YSGG, especialmente para a observação das fibrilas colágenas, as quais estão diretamente relacionadas com a infiltração do adesivo durante a formação da camada híbrida.

As micrografias obtidas revelaram, para os grupos irradiados (G2-G9) uma camada superficial difusa, com aspecto granular, na qual as fibrilas colágenas se apresentam denaturadas. Essa alteração se transforma gradativamente em uma zona de transição onde as fibrilas apresentam-se levemente mais organizadas até atingir uma região inalterada, que pode ser visualizada imediatamente abaixo (Figuras 5.12 a 5.15). Nesta região (subsuperfície) é possível a observação das bandas colágenas denotando uma organização das fibrilas e ausência de alteração proveniente da irradiação com o laser.

Figura 5.12 - Fotomicrografias obtidas em MET: Secções transversais da superfície dentinária não irradiada (G1 - controle) e preparada com diferentes parâmetros do laser de Er:YAG - aumento de 6.000X

Figura 5.13 - Fotomicrografias obtidas em MET: Secções transversais da dentina preparada com diferentes parâmetros de irradiação do laser de Er,Cr:YSGG – aumento de 6.000X

Figura 5.14 - Fotomicrografias obtidas em MET: Secções transversais da superfície dentinária não irradiada (G1 - controle) e preparada com diferentes parâmetros do laser de Er:YAG - aumento de 25.000X

Figura 5.15 - Fotomicrografias obtidas em MET: Secções transversais da dentina preparada com diferentes parâmetros de irradiação do laser de Er,Cr:YSGG – aumento de 25.000X

5.2 AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA DE UNIÃO

Considerando-se a independência das amostras, a distribuição normal dos erros em torno da média e a homogeneidade das variâncias, verificada através do teste estatístico de Cochran, aplicaram-se aos dados obtidos o teste paramétrico de análise de variância (ANOVA) com fator único (Apêndice A). A tabela 5.1 mostra a análise descritiva dos dados expressos em valores de média e desvio padrão (DP) e o gráfico 5.1, os valores das médias e os valores mínimos e máximos observados em cada grupo.

A análise de variância mostrou que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos de tratamento com laser ($\alpha = 5\%$), porém todos os grupos experimentais diferiram estatisticamente do grupo controle (G1).

Tabela 5.1 – Médias (MPa) e desvio padrão (DP) dos valores de resistência de união obtidos no teste de microtração

Grupo	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8	G9
Média (MPa)	39,92 ^a	17,33 ^b	15,26 ^b	15,12 ^b	14,97 ^b	17,56 ^b	17,54 ^b	14,97 ^b	16,16 ^b
n	5	5	5	5	5	5	5	5	5
DP	4,14	1,64	2,65	2,12	3,18	2,07	3,01	2,86	4,96

Gráfico 5.1 – Médias (MPa) do teste de resistência de união da dentina à resina composta avaliados no teste de microtração

Nenhuma falha pré-teste ocorreu para os 9 grupos testados. Os resultados da análise do padrão de fratura das amostras em cada grupo estão representados no gráfico 5.2.

Gráfico 5.2 - Análise do padrão de fratura das amostras após teste de microtração

O grupo controle apresentou em sua maioria, falhas adesivas. A análise do padrão de fratura dos palitos, dos grupos irradiados com laser, revelou uma grande incidência de fraturas mistas (falha adesiva e coesiva em dentina simultaneamente), entretanto, microscopicamente diferente do padrão de fraturas mistas observadas no grupo controle (Figura 5.16).

A figura 5.17 ilustra o padrão de fratura adesiva observada nos grupos em que a dentina foi irradiada (G2-G9) e a figura 5.18 ilustra o padrão de fratura mista para os mesmos grupos. Para esta última, pode-se visualizar a delimitação de uma área correspondente ao local de incidência do pulso do laser e, em maior aumento, as características morfológicas da superfície irradiada. Na figura 5.18d é possível observar porções da estrutura dentinária destacadas durante o teste de microtração e que ficaram aderidas à porção do compósito, bem como a presença de *tags* destacados da dentina (setas).

A figura 5.16 ilustra o padrão de fratura mista observado nas amostras do grupo controle.

Figura 5.16 - Fotomicrografia obtida em MEV: Falha classificada como mista em amostra não irradiada; Lado do compósito. D: Dentina; A: Adesivo – aumento de 150X

Figura 5.17 - Fotomicrografias obtidas em MEV: Falha classificada como adesiva em amostra preparada com o laser de Er:YAG: 200 mJ, 6Hz. (a) Lado da dentina – aumento de 150X; (b) Lado da dentina - aumento de 1.000X. (c) Lado do compósito – 150X; (d) Lado do compósito- aumento de 1000X. Setas: *Tags* de resina

Figura 5.18 - Fotomicrografias obtidas em MEV: Falha classificada como mista em amostra preparada com o laser de Er,Cr:YSGG: 2,5W 20Hz. (a) Lado da dentina – aumento de 150X; (b) Lado da dentina - aumento de 1.000X. (c) Lado do compósito – 150X; (d) Lado da resina - aumento de 1.000X. C: Compósito; D: Dentina; Ad: Falha adesiva; Cd: Falha coesiva em dentina; Setas: Tags de resina

6 DISCUSSÃO

A evolução dos materiais restauradores adesivos e o desenvolvimento de técnicas e equipamentos visando a máxima preservação dos tecidos dentais têm contribuído de maneira significativa para a prática da Odontologia Minimamente Invasiva (OMI) (PETERS; MCLEAN, 2001). Devido à alta afinidade dos lasers de érbio pela água é possível se conseguir uma remoção seletiva do tecido cariado, devido à maior quantidade de água presente neste tipo de substrato, preservando a estrutura dental sadia.

No presente estudo, as micrografias das superfícies irradiadas com laser de érbio, obtidas em MEV, mostraram que a interação do laser de alta potência com a dentina resulta em um padrão morfológico específico com os túbulos dentinários abertos e ausência de *smear layer*, removida durante o processo de ablação, corroborando com os resultados de estudos morfológicos anteriores (AOKI et al., 1998; CARDOSO et al., 2008b; DELME; DE MOOR, 2007; FREITAS et al., 2007).

A análise das superfícies irradiadas revelou a dentina peritubular protruída indicando uma maior remoção da dentina intertubular, que ocorreu provavelmente, devido ao fato desta última possuir maior quantidade de água em seu interior, como descrito anteriormente por outros autores (AOKI et al., 1998; CARVALHO et al., 2005; DELME; DE

MOOR, 2007; EKWORAPOJ; SIDHU; MCCABE, 2007; FREITAS et al., 2007; TRAJTENBERG; PEREIRA; POWERS, 2004).

A superfície irradiada apresentou-se escamosa e irregular, com uma maior remoção do tecido dental na região central da irradiação, correspondendo à região de maior concentração de energia do pulso emitido pelo laser. O ângulo de incidência do feixe está diretamente relacionado com a densidade de energia que chega até o tecido irradiado (CARVALHO et al., 2005). Um ângulo de incidência de 90° implica em uma maior densidade de energia recebida pelo tecido e, conseqüentemente, em um maior potencial de ablação.

Algumas amostras apresentaram trincas na superfície, mas não existem evidências que elas tenham sido causadas pelo laser, pois foram observadas somente em regiões bem restritas, indicando que tal processo possa ter ocorrido durante a desidratação das amostras para o processamento para MEV ou quando submetidas ao vácuo para observação no microscópio.

Todos os grupos que receberam o tratamento com laser apresentaram um padrão morfológico bastante semelhante; entretanto, os grupos irradiados com o laser de Er,Cr:YSGG, que possuíam as maiores densidades de energia por pulso e uma taxa de repetição fixa maior do que a estabelecida para o laser de Er:YAG, apresentaram uma superfície discretamente mais escamosa (HARASHIMA et al., 2005). Tal fato também pode estar relacionado com os comprimentos de onda de cada

laser, que apesar de muito parecidos, diferem discretamente. O laser de Er,Cr:YSGG (2,78 μm) tem uma maior afinidade pelo grupo hidroxila presente na hidroxiapatita do que o laser de Er:YAG (2,94 μm), que tem seu comprimento de onda mais próximo do pico de absorção da água, o que pode influenciar na pequena diferença de interação destes lasers com a dentina.

Essa diferença no padrão morfológico de superfície, irradiada pelos dois lasers, pode ser melhor observada nas micrografias das secções transversais, que mostram a topografia irregular da superfície produzida pela irradiação com os lasers de érbio (EKWORAPOJ; SIDHU; MCCABE, 2007) (Figura 5.5), com uma topografia mais acentuada para as superfícies irradiadas com o laser de Er,Cr:YSGG.

Analisando as imagens das secções transversais foi possível verificar, para os grupos irradiados, a presença de micro-trincas horizontais que se propagam na dentina peritubular, diferentemente do padrão verificado para o grupo controle, que apresenta os túbulos lisos e sem alterações (Figura 5.6). Todas as amostras dos grupos irradiados apresentaram o mesmo padrão de trincas ao longo de toda a superfície da amostra, iniciando-se sempre na superfície e diminuindo gradativamente em profundidade. De acordo com a física do processo de ablação, promovido pela irradiação com o laser de alta potência, podemos considerar que tais trincas podem ser uma consequência do aumento da pressão na subsuperfície gerado durante este processo. Durante a

ablação, o laser vaporiza a água e estruturas orgânicas presentes no interior do tecido, promovendo um aumento súbito de pressão na subsuperfície, ejetando o material inorgânico sob a forma de microfragmentos (AOKI et al., 1998; HIBST; KELLER, 1989; LI; CODE; VAN DE MERWE, 1992).

As micrografias dos grupos tratados com o laser de Er,Cr:YSGG apresentaram trincas mais evidentes, que podem estar relacionadas com as maiores densidades de energia empregadas para os grupos irradiados com este comprimento de onda. Além disso, o laser de Er,Cr:YSGG possui uma maior taxa de repetição, fixa em 20 Hz, que pode levar a um maior estress do tecido durante a irradiação e aumento do calor residual, promovendo maiores alterações no tecido quando comparado com o laser de Er:YAG (AIZAWA et al., 2006; FRIED; RAGADIO; CHAMPION, 2001; GERALDO-MARTINS et al., 2005).

Todos os grupos irradiados apresentaram sinais leves de carbonização na superfície, mesmo sob irrigação constante com água, mas sem *melting*, diferentemente do que fora observado por alguns autores (VISURI et al., 1996).

A irrigação com água é de fundamental importância para a redução da temperatura e prevenção de danos térmicos causados durante a irradiação (FRIED; RAGADIO; CHAMPION, 2001; GERALDO-MARTINS et al., 2005). Visuri et al (1996)(VISURI; WALSH JR; WIGDOR, 1996) observaram que um fluxo de água de 4,5 mL/min, durante a irradiação

com o laser de Er:YAG, limitou o aumento da temperatura no interior da câmara pulpar em menos de 3°C, o que estava dentro dos parâmetros considerados seguros para a preservação dos tecidos pulpares estabelecidos em 5,5°C por Zach e Cohen, em 1965. Além disso, a película de água que se forma na superfície é o mediador do processo de ablação (MEISTER et al., 2006). Esse fenômeno ocorre pela absorção da energia de irradiação pela água e componentes orgânicos, presentes no interior do tecido dental que aquecem, se expandem e evaporam.

As micro-trincas que se formam na camada mais superficial da dentina, imediatamente abaixo da superfície irradiada, conferem um aspecto à dentina de “massa folhada”. Durante o processo de hibridização destas superfícies, o adesivo penetra nos túbulos dentinários, infiltrando-se nas trincas e dando origem a um padrão característico para os *tags* dos grupos irradiados com a formação de anéis ao redor de sua base; diferentemente daqueles prolongamentos visualizados no grupo controle resultantes da penetração do adesivo nos canais laterais (Figura 5.13).

Diversos trabalhos na literatura observaram a presença deste tipo de *tags* para grupos irradiados, entretanto sem descrevê-los (ARANHA et al., 2007; BERTRAND et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2007; RAMOS et al., 2004; TRAJTENBERG; PEREIRA; POWERS, 2004); alguns autores tentaram relacioná-los à maiores valores de resistência de união (KATAUMI et al., 1998; SASSI et al., 2004); porém, os resultados obtidos no presente trabalho não confirmam essa hipótese.

Durante a hibridização das superfícies irradiadas, ocorre a formação de uma camada híbrida irregular devido ao escoamento e acúmulo do adesivo nas regiões de vales, correspondentes à região de maior concentração de energia do pulso emitido pelo feixe de laser; por outro lado, nas regiões dos picos, é possível verificar que permanecem cobertos com uma camada mais fina de adesivo (Figuras 5.8 a 5.11) podendo levar à formação de um defeito na camada híbrida (CARDOSO et al., 2008b). Entretanto, muito cuidado deve ser tomado em se afirmar que as trincas, algumas vezes observadas na camada híbrida (ARANHA et al., 2007; DUNN; DAVIS; BUSH, 2005; GIACHETTI et al., 2004), são devidas à falha na adesão aos tecidos irradiados, pois o polimento das amostras, condicionamento com ácido e o vácuo do microscópio durante a observação no MEV podem danificar a interface adesiva levando ao rompimento da união (VAN MEERBEEK et al., 2000). Assim, a técnica de Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET), que promove uma maior preservação do tecido, é uma opção viável para uma análise mais detalhada da superfície irradiada.

A vantagem da MET quando comparada com a MEV é que a inclusão do material em resina epóxica ou tipo Spurr promove o suporte para o tecido durante o corte ultrafino preservando ao máximo suas características (VAN MEERBEEK et al., 2000), possibilitando a análise da estrutura orgânica da dentina irradiada.

Estudos têm relacionado a irradiação com lasers de alta potência com a degradação dos componentes orgânicos da dentina (CAMERLINGO et al., 2004; ISHIZAKA et al., 2002; RAMOS et al., 2008), com as fibrilas colágenas fusionadas, dificultando a difusão do adesivo (CEBALLO et al., 2002).

Neste estudo pudemos observar, através da análise em MET, uma alteração na camada superficial das fibrilas colágenas em toda as amostras irradiadas, como relatado na literatura (RAMOS et al., 2008); diferentemente do padrão observado para o grupo controle, no qual as fibrilas colágenas se apresentaram organizadas desde a região mais superficial, podendo-se observar as bandas colágenas com ausência de alteração. O condicionamento com ácido fosfórico da superfície alterada é capaz de remover esta camada mais superior, que se apresenta difusa e com aspecto granular. Entretanto, mesmo após o condicionamento ácido, ainda é possível observar um remanescente de fibrilas parcialmente denaturadas (CEBALLO et al., 2002; RAMOS et al., 2008). Tal alteração na superfície pode estar relacionada com o calor residual acumulado no tecido irradiado, devido à duração do pulso destes lasers, ou mesmo a outros parâmetros inerentes a cada equipamento, como a taxa de repetição. Segundo um estudo realizado por Fried, Ragadio e Champion (2001), quanto maior a largura de pulso utilizada, maior o calor residual no tecido; assim, estudos para se determinar a menor quantidade de calor residual durante a irradiação com os lasers de érbio, podem ser importantes na determinação dos melhores parâmetros para a irradiação

dos tecidos mineralizados dentais e preservação das estruturas orgânicas, aperfeiçoando o processo de adesão.

A dentina é um substrato formado por uma matriz colágena altamente preenchida por cristais nanométricos de apatita, que, durante o processo de hibridização, são solubilizados e removidos pelo condicionamento ácido e substituídos pela infiltração resinosa entre as fibrilas colágenas e no interior dos túbulos dentinários, promovendo um adequado mecanismo de adesão (PASHLEY; CARVALHO, 1997). Estudos na literatura têm mostrado resultados bastante contraditórios com relação à interação destes substratos com os sistemas adesivos (VAN AS, 2004).

A morfologia da dentina desempenha um papel importante na realização dos procedimentos restauradores adesivos (VAN MEERBEEK et al., 1992). A permeabilidade dentinária aos adesivos é de crucial importância para a obtenção de uma adesão eficiente e o tipo de tratamento superficial pode influenciar na infiltração do adesivo, contribuindo para uma maior ou menor resistência de união (PASHLEY; CARVALHO, 1997).

O padrão microretentivo resultante da irradiação com os lasers de érbio para os parâmetros testados neste estudo, apesar de sugeridos por alguns autores como favoráveis para os procedimentos adesivos, não aumentou os valores de resistência de união (HOSSAIN et al., 2001; LI; CODE; VAN DE MERWE, 1992; TRAJTENBERG; PEREIRA; POWERS, 2004; VISURI et al., 1996). A análise do padrão de fraturas mostrou um grande

número de fraturas mistas (coesiva em dentina e adesiva simultaneamente) para os grupos irradiados com laser, nos quais uma observação da superfície testada revelou regiões com áreas características de fratura adesiva, entremeada por áreas de fratura coesiva da dentina. As áreas características de fratura coesiva foram aquelas correspondentes à região de incidência do pulso, indicando ser esta região o ponto mais frágil da interface adesiva. Diversos trabalhos na literatura relatam este padrão de fratura para as superfícies irradiadas (CARDOSO et al., 2008b; DE MUNCK et al., 2002) e os correlacionam com menores valores de resistência de união, indicando que as alterações se estendem além da camada híbrida e gerando uma área de união mais frágil.

As imagens obtidas em MEV e MET nos mostram que os padrões morfológicos das estruturas minerais e orgânicas após a irradiação e hibridização são diferentes daqueles obtidos quando utilizada a técnica convencional de preparo cavitário. Assim, precedimentos adesivos apropriados devem ser estabelecidos para a restauração das superfícies irradiadas. Além disso, os sistemas adesivos disponíveis atualmente foram desenvolvidos para utilização em um substrato completamente diferente daquele produzido após a irradiação com os lasers de érbio, tornando importante o desenvolvimento de novos sistemas adesivos para atender a este diferenciado padrão de morfologia de superfície.

Diversos trabalhos na literatura mostram a capacidade de selamento marginal de cavidades irradiadas ou condicionadas com os lasers de érbio

(STIESCH-SCHOLZ; HANNIG, 2000), que, apesar de não impedir a microinfiltração, promoveu valores similares àqueles obtidos através dos métodos convencionais de preparo cavitário (BERTRAND et al., 2006; CEBALLOS et al., 2001; MAROTTI et al., 2008). Além disso, a aceitabilidade por parte dos pacientes para o tratamento com laser, associado ao seu poder de redução microbiana e preservação das estruturas dentais sadias, são as grandes vantagens da utilização desta tecnologia na clínica diária.

É importante que as estruturas dentais remanescentes, além de adequadamente preservadas, sejam receptivas aos materiais restauradores. Assim, é imprescindível o completo entendimento da interação e efeitos da irradiação laser com os componentes orgânicos e inorgânicos dos tecidos dentais, de modo a se obter um protocolo adequado de tratamento, permitindo o desenvolvimento de materiais restauradores adequados para este novo padrão.

7 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo *in vitro* nos permitiram concluir que:

- Os diferentes parâmetros dos lasers de érbio alteram a morfologia da dentina irradiada promovendo um padrão topográfico diferenciado. Estas alterações estendem-se à subsuperfície, tanto para as estruturas minerais quanto para as orgânicas (fibrilas colágenas), modificando o padrão da interface de união.
- A hibridização das superfícies irradiadas resulta na formação de uma camada híbrida irregular e *tags* de resina com estrutura em forma de anéis ao seu redor.
- Os parâmetros de irradiação dos lasers de érbio avaliados neste estudo promoveram menores valores de resistência de união da dentina a resina composta quando comparados aos valores obtidos com a técnica convencional de preparo cavitário.

REFERÊNCIAS

Aizawa K, Kameyama A, Kato J, Amagai T, Takase Y, Kawada E, et al. Res91in bonding to dentin irradiated by high repetition rate Er:YAG laser. Photomed Laser Surg 2006;24(3):397-401.

Aoki A, Ishikawa I, Yamada T, Otsuki M, Watanabe H, Tagami J, et al. Comparison between Er : YAG laser and conventional technique for root caries treatment in vitro. J Dent Res 1998;77(6):1404-14.

Aranha AC, De Paula Eduardo C, Gutknecht N, Marques MM, Ramalho KM, Apel C. Analysis of the interfacial micromorphology of adhesive systems in cavities prepared with Er,Cr:YSGG, Er:YAG laser and bur. Microsc Res Tech 2007;70(8):745-51.

Armengol V, Jean A, Rohanizadeh R, Hamel H. Scanning electron microscopic analysis of diseased and healthy dental hard tissues after Er:YAG laser irradiation: in vitro study. J Endod 1999a;25(8):543-6.

Armengol V, Jean A, Weiss P, Hamel H. Comparative in vitro study of the bond strength of composite to enamel and dentine obtained with laser irradiation or acid-etch. Lasers Med Sci 1999b;14(3):207-15.

Bachmann L, Gomes AS, Zezell DM. Collagen absorption bands in heated and rehydrated dentine. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc 2005;62(4-5):1045-9.

Bader C, Krejci I. Indications and limitations of Er:YAG laser applications in dentistry. Am J Dent 2006;19(3):178-86.

Bertrand MF, Hessleyer D, Muller-Bolla M, Nammour S, Rocca JP. Scanning electron microscopic evaluation of resin-dentin interface after Er:YAG laser preparation. Lasers Surg Med 2004;35(1):51-7.

Bertrand MF, Semez G, Leforestier E, Muller-Bolla M, Nammour S, Rocca JP. Er:YAG laser cavity preparation and composite resin bonding with a single-component adhesive system: relationship between shear bond strength and microleakage. Lasers Surg Med 2006;38(6):615-23.

Blay CC. Análise comparativa da redução bacteriana com irradiação do laser de Er:YAG ou ponta montada em alta rotação após remoção de tecido cariado em dentina: estudo in anima nobile [Mestrado Profissionalizante]. São Paulo: Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares/Universidade de São Paulo; 2001.

- Burkes EJJ, Hoke J, Gomes E, Wolbarsht M. Wet versus dry enamel ablation by Er:YAG laser. *J Prosthet Dent* 1992;67(6):847-51.
- Burnett LHJ, Conceicao EN, Pelinos JE, Eduardo CD. Comparative study of influence on tensile bond strength of a composite to dentin using Er:YAG laser, air abrasion, or air turbine for preparation of cavities. *J Clin Laser Med Surg* 2001;19(4):199-202.
- Camerlingo C, Lepore M, Gaeta GM, Riccio R, Riccio C, De Rosa A, et al. Er:YAG laser treatments on dentine surface: micro-Raman spectroscopy and SEM analysis. *J Dent* 2004;32(5):399-405.
- Cardoso MV, Coutinho E, Ermis RB, Poitevin A, Van Landuyt K, De Munck J, et al. Influence of dentin cavity surface finishing on micro-tensile bond strength of adhesives. *Dent Mater* 2008a;24(4):492-501.
- Cardoso MV, Coutinho E, Ermis RB, Poitevin A, Van Landuyt K, De Munck J, et al. Influence of Er,Cr:YSGG laser treatment on the microtensile bond strength of adhesives to dentin. *J Adhes Dent* 2008b;10(1):25-33.
- Carvalho RCR, Freitas PM, Otsuki M, Eduardo C de P, Tagami J. Influence of Er:YAG laser beam angle, working distance, and energy density on dentin morphology: An SEM investigation. *J Oral Laser Appl* 2005;5(4):237-43.
- Ceballo L, Toledano M, Osorio R, Tay FR, Marshall GW. Bonding to Er-YAG-laser-treated dentin. *J Dent Res* 2002;81(2):119-22.
- Ceballos L, Osorio R, Toledano M, Marshall GW. Microleakage of composite restorations after acid or Er-YAG laser cavity treatments. *Dent Mater* 2001;17(4):340-6.
- Celik EU, Ergucu Z, Turkun LS, Turkun M. Shear bond strength of different adhesives to Er:YAG laser-prepared dentin. *J Adhes Dent* 2006;8(5):319-25.
- Chimello-Sousa DT, de Souza AE, Chinelatti MA, Pecora JD, Palma-Dibb RG, Milori Corona SA. Influence of Er:YAG laser irradiation distance on the bond strength of a restorative system to enamel. *J Dent* 2006;34(3):245-51.
- Colucci V, Lucisano Botelho do Amaral F, Pecora JD, Palma-Dibb RG, Milori Corona SA. Water flow on erbium:yttrium-aluminum-garnet laser irradiation: effects on dental tissues. *Lasers Med Sci* 2008 Apr 19. [Epub ahead of print]

Corona SA, Atoui JA, Chimello DT, Borsatto MC, Pecora JD, Dibb RG. Composite resin's adhesive resistance to dentin: influence of Er:YAG laser focal distance variation. *Photomed Laser Surg* 2005;23(2):229-32.

Cozean C, Arcoria CJ, Pelagalli J, Powell GL. Dentistry for the 21st century? Erbium:YAG laser for teeth. *J Am Dent Assoc* 1997;128(8):1080-7.

De Munck J, Van Meerbeek B, Yudhira R, Lambrechts P, Vanherle G. Micro-tensile bond strength of two adhesives to Erbium:YAG-lased vs. bur-cut enamel and dentin. *Eur J Oral Sci* 2002;110(4):322-9.

Delme KI, De Moor RJ. Scanning electron microscopic evaluation of enamel and dentin surfaces after Er:YAG laser preparation and laser conditioning. *Photomed Laser Surg* 2007;25(5):393-401.

do Amaral FL, Colucci V, de Souza-Gabriel AE, Chinelatti MA, Palma-Dibb RG, Corona SA. Adhesion to Er:YAG laser-prepared dentin after long-term water storage and thermocycling. *Oper Dent* 2008;33(1):51-8.

Dunn WJ, Davis JT, Bush AC. Shear bond strength and SEM evaluation of composite bonded to Er:YAG laser-prepared dentin and enamel. *Dent Mater* 2005;21(7):616-24.

Eduardo CP, Myaki SI, Oliveira WT, AranaChavez VE, Tanji EY. Micromorphological evaluation of enamel surface and the shear bond strength of composite resin after Er:YAG laser irradiation. An "in vitro" study. 5th Congress of the International Society for Lasers in Dentistry 1996:41-4.

Ekworapoj P, Sidhu SK, McCabe JF. Effect of different power parameters of Er,Cr:YSGG laser on human dentine. *Lasers Med Sci* 2007;22(3):175-82.

Esteves-Oliveira M, Zezell DM, Apel C, Turbino ML, Aranha AC, Eduardo C de P, et al. Bond strength of self-etching primer to bur cut, Er,Cr:YSGG, and Er:YAG lased dental surfaces. *Photomed Laser Surg* 2007;25(5):373-80.

Eversole LR, Rizoiu IM. Preliminary investigations on the utility of an erbium, chromium YSGG laser. *J Calif Dent Assoc* 1995;23(12):41-7.

Freitas PM, Navarro RS, Barros JA, de Paula Eduardo C. The use of Er:YAG laser for cavity preparation: an SEM evaluation. *Microsc Res Tech* 2007;70(9):803-8.

Fried D, Ragadio J, Champion A. Residual heat deposition in dental enamel during IR laser ablation at 2.79, 2.94, 9.6, and 10.6 microm. *Lasers Surg Med* 2001;29(3):221-9.

Geraldo-Martins VR, Tanji EY, Wetter NU, Nogueira RD, Eduardo CP. Intrapulpal temperature during preparation with the Er:YAG laser: an in vitro study. *Photomed Laser Surg* 2005;23(2):182-6.

Giachetti L, Scaminaci Russo D, Scarpelli F, Vitale M. SEM analysis of dentin treated with the Er:YAG laser: a pilot study of the consequences resulting from laser use on adhesion mechanisms. *J Clin Laser Med Surg* 2004;22(1):35-41.

Goldman L, Hornby P, Meyer R, Goldman B. Impact of the laser on dental caries. *Nature* 1964;203:417.

Goldman L, Gray JA, Goldman J, Goldman B, Meyer R. Effect of laser beam impacts on teeth. *J Am Dent Assoc* 1965;70:601-6.

Goncalves M, Corona SA, Palma-Dibb RG, Pecora JD. Influence of pulse repetition rate of Er:YAG laser and dentin depth on tensile bond strength of dentin-resin interface. *J Biomed Mater Res A* 2008;86(2):477-82.

Goncalves M, Corona SA, Borsatto MC, Pecora JD, Dibb RG. Influence of pulse frequency Er:YAG laser on the tensile bond strength of a composite to dentin. *Am J Dent* 2005;18(3):165-7.

Gordon TE. Some effects of laser impacts on extracted teeth. *J Dent Res* 1966;45(2):372-5.

Gordon W, Atabakhsh VA, Meza F, Doms A, Nissan R, Rizioiu I, et al. The antimicrobial efficacy of the erbium, chromium:yttrium-scandium-gallium-garnet laser with radial emitting tips on root canal dentin walls infected with *Enterococcus faecalis*. *J Am Dent Assoc* 2007;138(7):992-1002.

Gouw-Soares S, Gutknecht N, Conrads G, Lampert F, Matson E, Eduardo CP. The bactericidal effect of Ho:YAG laser irradiation within contaminated root dentinal samples. *J Clin Laser Med Surg* 2000;18(2):81-7.

Gutknecht N, Eduardo C de P. A odontologia e o laser: atuação do laser na especialidade odontológica Buckup HT. São Paulo: Quintessence; 2004.

Hadley J, Young DA, Eversole LR, Gornbein JA. A laser-powered hydrokinetic system for caries removal and cavity preparation. *J Am Dent Assoc* 2000;131(6):777-85.

Harashima T, Kinoshita J, Kimura Y, Brugnera A, Zanin F, Pecora JD, et al. Morphological comparative study on ablation of dental hard tissues at cavity preparation by Er:YAG and Er,Cr:YSGG lasers. *Photomed Laser Surg* 2005;23(1):52-5.

Hibst R. Mechanical effects of erbium:YAG laser bone ablation. *Lasers Surg Med* 1992;12(2):125-30.

Hibst R, Keller U. Experimental studies of the application of the Er:YAG laser on dental hard substances: I. Measurement of the ablation rate. *Lasers Surg Med* 1989;9(4):338-44.

Hossain M, Nakamura Y, Yamada Y, Kimura Y, Matsumoto N, Matsumoto K. Effects of Er,Cr:YSGG laser irradiation in human enamel and dentin: ablation and morphological studies. *J Clin Laser Med Surg* 1999a;17(4):155-9.

Hossain M, Nakamura Y, Yamada Y, Kimura Y, Nakamura G, Matsumoto K. Ablation depths and morphological changes in human enamel and dentin after Er:YAG laser irradiation with or without water mist. *J Clin Laser Med Surg* 1999b;17(3):105-9.

Hossain M, Nakamura Y, Yamada Y, Suzuki N, Murakami Y, Matsumoto K. Analysis of surface roughness of enamel and dentin after Er,Cr:YSGG laser irradiation. *J Clin Laser Med Surg* 2001;19(6):297-303.

Humel MMC, Oliveira MT, Cavalli V, Giannini M. Effect of storage and disinfection methods of extracted bovine teeth on bond strength to dentin. *Braz J Oral Sci* 2007;6(22):1402-6.

Ishizaka Y, Eguro T, Maeda T, Tanaka H. Effects of Er:YAG laser irradiation on human dentin: polarizing microscopic, light microscopic and microradiographic observations, and FT-IR analysis. *Lasers Surg Med* 2002;31(3):171-6.

Kameyama A, Kawada E, Amagai T, Takizawa M, Oda Y, Hirai Y. Effect of HEMA on bonding of Er:YAG laser-irradiated bovine dentine and 4-META/MMA-TBB resin. *J Oral Rehabil* 2002;29(8):749-55.

Kataumi M, Nakajima M, Yamada T, Tagami J. Tensile bond strength and SEM evaluation of Er:YAG laser irradiated dentin using dentin adhesive. *Dent Mater J* 1998;17(2):125-38.

Katchburian E. *Histologia e embriologia oral: texto-atlas-correlações clínicas*. 2a ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 2004.

Keller U, Hibst R. Experimental studies of the application of the Er:YAG laser on dental hard substances: II. Light microscopic and SEM investigations. *Lasers Surg Med* 1989;9(4):345-51.

Keller U, Hibst R. Effects of Er-Yag laser on enamel bonding of composite-materials. *Proc Lasers Orthop Dent Vet Med* 1993;1880:163-8.

Keller U, Hibst R, Geurtsen W, Schilke R, Heidemann D, Klaiber B, et al. Erbium:YAG laser application in caries therapy. Evaluation of patient perception and acceptance. *J Dent* 1998;26(8):649-56.

Kim ME, Jeoung DJ, Kim KS. Effects of water flow on dental hard tissue ablation using Er:YAG laser. *J Clin Laser Med Surg* 2003;21(3):139-44.

Kinoshita J, Kimura Y, Matsumoto K. Comparative study of carious dentin removal by Er,Cr:YSGG laser and Carisolv. *J Clin Laser Med Surg* 2003;21(5):307-15.

Lee BS, Lin CP, Hung YL, Lan WH. Structural changes of Er:YAG laser-irradiated human dentin. *Photomed Laser Surg* 2004;22(4):330-4.

Lee BS, Lin PY, Chen MH, Hsieh TT, Lin CP, Lai JY, et al. Tensile bond strength of Er,Cr:YSGG laser-irradiated human dentin and analysis of dentin-resin interface. *Dent Mater* 2007;23(5):570-8.

Li ZZ, Code JE, Van De Merwe WP. Er:YAG laser ablation of enamel and dentin of human teeth: determination of ablation rates at various fluences and pulse repetition rates. *Lasers Surg Med* 1992;12(6):625-30.

Lin S, Caputo AA, Eversole LR, Rizoiu I. Topographical characteristics and shear bond strength of tooth surfaces cut with a laser-powered hydrokinetic system. *J Prosthet Dent* 1999;82(4):451-5.

Maiman TH. Optical and microwave-optical experiments in ruby. *Phys Rev Letters* 1960;4(11):564.

Marotti J, Geraldo-Martins VR, Bello-Silva MS, de Paula Eduardo C, Apel C, Gutknecht N. Influence of etching with erbium, chromium:yttrium-scandium-gallium-garnet laser on microleakage of class V restoration. *Lasers Med Sci* 2008 Nov 15. [Epub ahead of print]

Martinez-Insua A, Da Silva Dominguez L, Rivera FG, Santana-Penin UA. Differences in bonding to acid-etched or Er:YAG-laser-treated enamel and dentin surfaces. *J Prosthet Dent* 2000;84(3):280-8.

Matsumoto K, Hossain M, Hossain MM, Kawano H, Kimura Y. Clinical assessment of Er,Cr:YSGG laser application for cavity preparation. *J Clin Laser Med Surg* 2002;20(1):17-21.

Meister J, Franzen R, Forner K, Grebe H, Stanzel S, Lampert F, et al. Influence of the water content in dental enamel and dentin on ablation with erbium YAG and erbium YSGG lasers. *J Biomed Opt* 2006;11(3):34030-7.

Miserandino LJ, Levy G. Laser interaction with biological tissues. In: Miserandino LJ, Pick RM. Lasers in dentistry. Chicago: Quintessence Publishing Co.; 1995. p. 21-2.

Monghini EM, Wanderley RL, Pecora JD, Palma Dibb RG, Corona SA, Borsatto MC. Bond strength to dentin of primary teeth irradiated with varying Er:YAG laser energies and SEM examination of the surface morphology. *Lasers Surg Med* 2004;34(3):254-9.

Moritz A, Gutknecht N, Schoop U, Goharkhay K, Wernisch J, Sperr W. Alternatives in enamel conditioning: a comparison of conventional and innovative methods. *J Clin Laser Med Surg* 1996;14(3):133-6.

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.

Nakabayashi N, Nakamura M, Yasuda N. Hybrid layer as a dentin-bonding mechanism. *J Esthet Dent* 1991;3(4):133-8.

Navarro RS. Resistência à tração da resina composta sobre esmalte e dentina condicionadas com laser de Er:YAG e um sistema adesivo auto-condicionante. Análise das superfícies pela microscopia eletrônica de varredura [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2001.

Oliveira DC, Manhaes LA, Marques MM, Matos AB. Microtensile bond strength analysis of different adhesive systems and dentin prepared with high-speed and Er:YAG laser: a comparative study. *Photomed Laser Surg* 2005;23(2):219-24.

Oliveira MT, Freitas PM, Eduardo C de P, Ambrosano GMB, Giannini M. Influence of diamond sono-abrasion, air-abrasion and Er:YAG laser irradiation on bonding of different adhesive systems to dentin. *Eur J Dent* 2007;1(3):158-66.

Oliveira SS, Pugach MK, Hilton JF, Watanabe LG, Marshall SJ, Marshall GW, Jr. The influence of the dentin smear layer on adhesion: a self-etching primer vs. a total-etch system. *Dent Mater* 2003;19(8):758-67.

Pashley DH, Carvalho RM. Dentine permeability and dentine adhesion. *J Dent* 1997;25(5):355-72.

Pashley DH, Ciucchi B, Sano H, Horner JA. Permeability of dentin to adhesive agents. *Quintessence Int* 1993;24(9):618-31.

Pelagalli J, Gimbel CB, Hansen RT, Swett A, Winn DW, 2nd. Investigational study of the use of Er:YAG laser versus dental drill for caries removal and cavity preparation--phase I. *J Clin Laser Med Surg* 1997;15(3):109-15.

Peters MC, McLean ME. Minimally invasive operative care. II. Contemporary techniques and materials: an overview. *J Adhes Dent* 2001;3(1):17-31.

Ramos AC, Esteves-Oliveira M, Arana-Chavez VE, de Paula Eduardo C. Adhesives bonded to erbium:yttrium-aluminum-garnet laser-irradiated dentin: transmission electron microscopy, scanning electron microscopy and tensile bond strength analyses. *Lasers Med Sci* 2008 Aug 21. [Epub ahead of print]

Ramos RP, Chimello DT, Chinelatti MA, Nonaka T, Pecora JD, Palma Dibb RG. Effect of Er:YAG laser on bond strength to dentin of a self-etching primer and two single-bottle adhesive systems. *Lasers Surg Med* 2002;31(3):164-70.

Ramos RP, Chinelatti MA, Chimello DT, Borsatto MC, Pecora JD, Palma-Dibb RG. Bonding of self-etching and total-etch systems to Er:YAG laser-irradiated dentin. Tensile bond strength and scanning electron microscopy. *Braz Dent J* 2004;15 (spec no):SI9-20.

Rizoiu I, Kohanghadosh F, Kimmel AI, Eversole LR. Pulpal thermal responses to an erbium,chromium: YSGG pulsed laser hydrokinetic system. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998;86(2):220-3.

Rosales-Leal JI, Osorio R, Holgado-Terriza JA, Cabrerizo-Vilchez MA, Toledano M. Dentin wetting by four adhesive systems. *Dent Mater* 2001;17(6):526-32.

Sakae T, Mishima H, Kozawa Y, LeGeros RZ. Thermal stability of mineralized and demineralized dentin: a differential scanning calorimetric study. *Connect Tissue Res* 1995;33(1-3):193-6.

Sassi JF, Chimello DT, Borsatto MC, Corona SA, Pecora JD, Palma-Dibb RG. Comparative study of the dentin/adhesive systems interface after treatment with Er:YAG laser and acid etching using scanning electron microscope. *Lasers Surg Med* 2004;34(5):385-90.

Schawlow AL, Townes CH. Infrared and optical masers. *Phys Rev* 1958;112(6):1940-9.

Schein MT, Bocangel JS, Nogueira GE, Schein PA. SEM evaluation of the interaction pattern between dentin and resin after cavity preparation using ER:YAG laser. *J Dent* 2003;31(2):127-35.

Setien VJ, Cobb DS, Denehy GE, Vargas MA. Cavity preparation devices: effect on microleakage of Class V resin-based composite restorations. *Am J Dent* 2001;14(3):157-62.

Stern RH, Sognnaes RF. Laser beam effect on dental hard tissues. *J Dent Res* 1964;43(5sp):873.

Stiesch-Scholz M, Hannig M. In vitro study of enamel and dentin marginal integrity of composite and compomer restorations placed in primary teeth after diamond or Er:YAG laser cavity preparation. *J Adhes Dent* 2000;2(3):213-22.

Taylor R, Shklar G, Roeber F. The effects of laser radiation on teeth, dental pulp, and oral mucosa of experimental animals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1965;19:786-95.

Trajtenberg CP, Pereira PN, Powers JM. Resin bond strength and micromorphology of human teeth prepared with an Erbium:YAG laser. *Am J Dent* 2004;17(5):331-6.

Tyas MJ, Anusavice KJ, Frencken JE, Mount GJ. Minimal intervention dentistry--a review. FDI Commission Project 1-97. *Int Dent J* 2000;50(1):1-12.

van As G. Erbium lasers in dentistry. *Dent Clin North Am* 2004;48(4):1017-59, viii.

Van Meerbeek B, Inokoshi S, Braem M, Lambrechts P, Vanherle G. Morphological aspects of the resin-dentin interdiffusion zone with different dentin adhesive systems. *J Dent Res* 1992;71(8):1530-40.

Van Meerbeek B, De Munck J, Mattar D, Van Landuyt K, Lambrechts P. Microtensile bond strengths of an etch&rinse and self-etch adhesive to enamel and dentin as a function of surface treatment. *Oper Dent* 2003;28(5):647-60.

Van Meerbeek B, Vargas M, Inoue S, Yoshida Y, Perdigao J, Lambrechts P, et al. Microscopy investigations. Techniques, results, limitations. *Am J Dent* 2000;13(spec no):3D-18D.

Visuri SR, Walsh Jr JT, Wigdor HA. Erbium laser ablation of dental hard tissue: effect of water cooling. *Lasers Surg Med* 1996;18(3):294-300.

Visuri SR, Gilbert JL, Wright DD, Wigdor HA, Walsh Jr JT. Shear strength of composite bonded to Er:YAG laser-prepared dentin. *J Dent Res* 1996;75(1):599-605.

Wanderley RL, Monghini EM, Pecora JD, Palma-Dibb RG, Borsatto MC. Shear bond strength to enamel of primary teeth irradiated with varying Er:YAG laser energies and SEM examination of the surface morphology: an in vitro study. *Photomed Laser Surg* 2005;23(3):260-7.

Zach L, Cohen G. Pulp response to externally applied heat. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1965;19:515-30.

APÊNDICE A – Dados obtidos do teste de microtração

G1 (1)					G1 (2)				
Lado 1	Lado 2	Área	N	Mpa	Lado 1	Lado 2	Área	N	Mpa
1,12	1,11	1,24	48,59	39,08	1,06	1,05	1,11	34,90	31,36
1,10	1,18	1,30	65,85	50,73	1,10	1,05	1,16	63,81	55,25
1,13	1,18	1,33	37,38	28,03	1,07	1,06	1,13	52,64	46,41
1,20	1,06	1,27	49,61	39,00	1,06	1,09	1,16	33,58	29,06
1,07	1,11	1,19	41,61	35,03	1,04	1,09	1,13	65,96	58,19
1,10	1,05	1,16	55,36	47,93	1,05	1,05	1,10	43,23	39,21
1,06	1,17	1,24	32,90	26,53	1,09	1,08	1,18	35,88	30,48
			média	38,05				média	41,42
			DV	9,15				DV	12,08

G1 (3)					G1 (4)				
Lado 1	Lado 2	Área	N	Mpa	Lado 1	Lado 2	Área	N	Mpa
1,07	1,13	1,21	60,21	49,80	1,19	1,05	1,25	67,06	53,67
1,16	1,08	1,25	48,86	39,00	1,01	1,14	1,15	47,65	41,38
1,11	1,06	1,18	24,20	20,57	1,00	1,16	1,16	39,73	34,25
1,05	1,18	1,24	42,98	34,69	1,15	1,18	1,36	85,91	63,31
1,13	1,05	1,19	72,38	61,00	1,04	1,08	1,12	35,80	31,87
1,12	1,03	1,15	91,14	79,00	1,18	1,07	1,26	38,47	30,47
1,13	1,17	1,32	47,30	35,78	1,15	1,08	1,24	31,07	25,02
			média	45,69				média	40,00
			DV	19,39				DV	13,82

G1 (5)				
Lado 1	Lado 2	Área	N	Mpa
1,05	1,08	1,13	61,66	54,37
1,00	1,14	1,14	42,99	37,71
1,14	0,99	1,13	52,21	46,26
1,09	1,00	1,09	26,48	24,29
1,13	1,13	1,28	16,25	12,73
1,09	1,06	1,16	59,06	51,12
1,08	1,07	1,16	17,19	14,88
			média	34,48
			DV	17,24

G2 (1)				
Lado 1	Lado 2	Área	N	Mpa
1,13	1,11	1,25	15,23	12,14
1,09	1,09	1,19	10,55	8,88
1,12	1,07	1,20	20,46	17,07
1,11	1,09	1,21	33,25	27,48
1,12	1,00	1,12	21,81	19,47
1,17	1,15	1,35	27,28	20,27
1,17	1,04	1,22	21,53	17,69
			média	17,57
			DV	5,98

G2 (2)				
Lado 1	Lado 2	Área	N	Mpa
1,18	1,01	1,19	17,56	14,73
1,12	1,11	1,24	26,43	21,26
1,12	1,11	1,24	14,08	11,33
1,20	1,10	1,32	22,82	17,29
1,00	1,19	1,19	20,72	17,41
1,11	0,99	1,10	35,81	32,59
1,13	1,01	1,14	20,28	17,77
			média	18,91
			DV	6,75

G2 (3)				
Lado 1	Lado 2	Área	N	Mpa
1,10	1,15	1,27	22,83	18,05
1,13	1,02	1,15	25,23	21,89
1,09	1,04	1,13	15,89	14,02
1,14	1,14	1,30	16,25	12,50
1,12	1,06	1,19	49,93	42,06
1,11	1,08	1,20	7,88	6,57
1,14	1,14	1,30	10,86	8,36
			média	17,63
			DV	11,99

G2 (4)				
Lado 1	Lado 2	Área	N	Mpa
1,14	1,03	1,17	24,42	20,80
1,14	1,09	1,24	16,59	13,35
1,11	1,05	1,17	6,57	5,64
1,14	1,04	1,19	4,10	3,46
1,10	1,04	1,14	19,56	17,10
1,13	1,04	1,18	23,15	19,70
1,12	1,03	1,15	25,17	21,82
			média	14,55
			DV	7,40

G2 (5)				
Lado 1	Lado 2	Área	N	Mpa
1,02	0,99	1,01	16,83	16,67
1,09	1,11	1,21	31,62	26,13
1,07	1,07	1,14	14,67	12,81
1,08	0,95	1,03	24,27	23,65
1,09	1,00	1,09	19,44	17,83
1,09	1,09	1,19	17,93	15,09
1,07	1,05	1,12	15,42	13,72
			média	17,99
			DV	5,06

G3 (1)				
Lado 1	Lado 2	Área	N	Mpa
1,14	1,05	1,20	5,05	4,22
1,15	1,05	1,21	27,17	22,50
1,13	1,03	1,16	25,19	21,64
1,14	1,05	1,20	32,21	26,91
1,17	1,04	1,22	17,40	14,30
1,16	1,12	1,30	6,62	5,10
1,14	1,05	1,20	20,93	17,49
			média	16,02
			DV	8,72

G3 (2)				
Lado 1	Lado 2	Área	N	Mpa
1,04	1,09	1,13	10,05	8,87
1,11	1,13	1,25	12,38	9,87
1,07	1,10	1,18	20,21	17,17
1,09	1,13	1,23	12,91	10,48
1,09	0,99	1,08	8,48	7,86
1,09	1,13	1,23	12,82	10,41
1,10	1,10	1,21	12,01	9,93
			média	10,65
			DV	3,02

G3 (3)				
Lado 1	Lado 2	Área	N	Mpa
1,14	1,02	1,16	25,46	21,90
1,14	1,02	1,16	26,66	22,93
1,14	1,03	1,17	15,89	13,53
1,13	1,06	1,20	20,98	17,52
1,15	1,13	1,30	25,14	19,35
1,13	1,04	1,18	17,14	14,58
1,12	1,01	1,13	12,28	10,86
			média	17,24
			DV	4,47

G3 (4)				
Lado 1	Lado 2	Área	N	Mpa
1,16	1,12	1,30	26,13	20,11
1,18	1,18	1,39	20,83	14,96
1,18	1,12	1,32	14,07	10,65
1,15	1,04	1,20	25,65	21,45
1,18	1,12	1,32	18,51	14,01
1,20	1,14	1,37	24,23	17,71
1,17	1,14	1,33	14,08	10,56
			média	15,63
			DV	4,32

G3 (5)				
Lado 1	Lado 2	Área	N	Mpa
1,09	1,01	1,10	25,92	23,54
1,19	1,04	1,24	20,04	16,19
1,13	1,03	1,16	23,23	19,96
1,13	1,09	1,23	16,42	13,33
1,15	1,03	1,18	16,56	13,98
1,07	1,01	1,08	19,95	18,46
1,13	1,11	1,25	14,83	11,82
			média	16,76
			DV	4,15

G4 (1)				
Lado 1	Lado 2	Área	N	Mpa
1,12	0,99	1,11	16,95	15,29
1,11	1,01	1,12	23,28	20,77
1,10	1,01	1,11	11,06	9,95
1,12	1,12	1,25	23,13	18,44
1,10	1,10	1,21	10,44	8,63
1,14	1,09	1,24	24,09	19,39
1,11	1,09	1,21	12,79	10,57
			média	14,72
			DV	4,99

G4 (2)				
Lado 1	Lado 2	Área	N	Mpa
1,03	0,96	0,99	25,70	25,99
1,13	1,02	1,15	16,67	14,46
1,11	1,03	1,14	20,94	18,32
1,10	1,04	1,14	27,52	24,06
1,13	0,97	1,10	15,25	13,91
1,15	1,06	1,22	18,55	15,22
1,15	1,10	1,27	24,03	19,00
			média	18,71
			DV	4,74

G4 (3)				
Lado 1	Lado 2	Área	N	Mpa
1,17	1,03	1,21	23,91	19,84
1,15	1,05	1,21	10,43	8,64
1,15	1,12	1,29	7,47	5,80
1,10	1,03	1,13	18,75	16,55
1,17	1,01	1,18	25,96	21,97
1,14	1,04	1,19	20,32	17,14
1,19	1,05	1,25	18,38	14,71
			média	14,95
			DV	5,83

G4 (4)				
Lado 1	Lado 2	Área	N	Mpa
1,19	1,05	1,25	18,92	15,14
1,20	1,05	1,26	15,41	12,23
1,11	1,06	1,18	9,90	8,41
1,14	1,00	1,14	20,46	17,95
1,12	1,03	1,15	20,33	17,62
1,12	1,08	1,21	19,77	16,34
1,10	1,05	1,16	12,34	10,68
			média	14,05
			DV	3,67

G4 (5)				
Lado 1	Lado 2	Área	N	Mpa
1,12	1,11	1,24	19,07	15,34
1,01	1,06	1,07	19,69	18,39
1,01	1,10	1,11	25,10	22,59
1,02	1,01	1,03	10,87	10,55
1,08	1,02	1,10	6,58	5,97
1,12	1,03	1,15	16,67	14,45
1,03	1,01	1,04	12,89	12,39
			média	13,19
			DV	6,12

G5 (1)				
Lado 1	Lado 2	Área	N	Mpa
1,09	1,02	1,11	13,95	12,55
1,01	1,11	1,12	22,91	20,44
1,15	1,13	1,30	6,69	5,15
1,06	1,00	1,06	16,17	15,25
1,10	1,02	1,12	12,94	11,53
1,10	1,04	1,14	13,95	12,19
1,06	1,00	1,06	13,29	12,54
			média	12,81
			DV	4,56

G5 (2)				
Lado 1	Lado 2	Área	N	Mpa
1,07	1,03	1,10	7,64	6,93
1,13	1,03	1,16	15,95	13,70
1,11	1,06	1,18	21,10	17,93
1,15	1,03	1,18	19,14	16,16
1,18	1,06	1,25	12,44	9,95
1,19	1,11	1,32	12,84	9,72
1,17	1,15	1,35	10,47	7,78
			média	11,74
			DV	4,24

G5 (3)				
Lado 1	Lado 2	Área	N	Mpa
1,16	1,14	1,32	14,72	11,13
1,16	1,12	1,30	11,37	8,75
1,15	1,08	1,24	25,52	20,55
1,17	1,10	1,29	19,87	15,44
1,18	1,10	1,30	21,80	16,80
1,18	1,04	1,23	17,30	14,10
1,18	1,05	1,24	23,21	18,73
			média	15,07
			DV	4,14

G5 (4)				
Lado 1	Lado 2	Área	N	Mpa
1,09	1,03	1,12	19,14	17,05
1,08	1,00	1,08	23,10	21,39
1,13	1,00	1,13	20,17	17,85
1,10	1,03	1,13	19,28	17,02
1,15	1,09	1,25	12,23	9,76
1,07	1,05	1,12	18,63	16,58
1,10	1,03	1,13	8,29	7,32
			média	15,28
			DV	4,93

G5 (5)				
Lado 1	Lado 2	Área	N	Mpa
1,13	1,14	1,29	19,95	15,49
1,12	1,06	1,19	25,10	21,14
1,03	1,14	1,17	20,36	17,34
1,13	1,12	1,27	22,09	17,45
1,11	1,04	1,15	24,90	21,57
1,13	1,07	1,21	28,71	23,74
1,04	1,12	1,16	27,03	23,21
			média	19,99
			DV	3,21

G6 (1)				
Lado 1	Lado 2	Área	N	Mpa
1,16	1,07	1,24	23,11	18,62
1,17	1,16	1,36	34,77	25,62
1,12	1,14	1,28	21,64	16,95
1,11	1,11	1,23	32,19	26,13
1,07	1,15	1,23	28,21	22,93
1,16	1,06	1,23	14,71	11,96
1,06	1,12	1,19	28,77	24,23
			média	20,92
			DV	5,25

G6 (2)				
Lado 1	Lado 2	Área	N	Mpa
1,23	1,12	1,38	23,72	17,22
1,16	1,06	1,23	31,17	25,35
1,06	1,12	1,19	12,21	10,28
1,12	1,08	1,21	18,30	15,13
1,15	1,06	1,22	14,28	11,71
0,99	1,14	1,13	26,05	23,08
1,12	1,01	1,13	22,24	19,66
			média	17,49
			DV	5,61

G6 (3)				
Lado 1	Lado 2	Área	N	Mpa
1,09	0,98	1,07	21,46	20,09
1,10	1,09	1,20	28,31	23,61
1,07	1,10	1,18	20,01	17,00
1,03	0,97	1,00	12,91	12,92
1,08	1,02	1,10	15,83	14,37
1,08	1,09	1,18	19,41	16,49
1,07	0,96	1,03	16,93	16,48
			média	17,28
			DV	3,58

G6 (4)				
Lado 1	Lado 2	Área	N	Mpa
1,14	1,04	1,19	10,79	9,10
1,13	1,02	1,15	25,85	22,43
1,10	1,05	1,16	16,30	14,11
1,18	1,03	1,22	17,77	14,62
1,17	1,08	1,26	27,66	21,89
1,09	1,03	1,12	19,25	17,15
1,16	1,04	1,21	22,58	18,72
			média	16,86
			DV	4,70

G6 (5)				
Lado 1	Lado 2	Área	N	Mpa
1,14	1,04	1,19	8,40	7,09
1,10	1,07	1,18	23,73	20,16
1,09	1,02	1,11	20,48	18,42
1,11	1,12	1,24	14,66	11,79
1,09	1,07	1,17	19,92	17,08
1,09	1,02	1,11	14,19	12,76
1,10	1,01	1,11	21,72	19,55
			média	15,26
			DV	4,84

G7 (1)				
Lado 1	Lado 2	Área	N	Mpa
1,14	1,24	1,41	35,37	25,02
1,14	1,09	1,24	22,17	17,84
1,24	1,08	1,34	10,63	7,94
1,12	1,18	1,32	30,75	23,27
1,06	1,16	1,23	18,60	15,13
1,13	1,15	1,30	22,31	17,17
1,25	1,10	1,38	15,77	11,47
			média	16,83
			DV	6,06

G7 (2)				
Lado 1	Lado 2	Área	N	Mpa
1,09	1,14	1,24	23,37	18,81
1,15	1,08	1,24	22,86	18,41
1,15	1,05	1,21	23,13	19,16
1,07	1,15	1,23	18,70	15,20
1,10	1,07	1,18	10,81	9,18
1,05	1,08	1,13	22,74	20,05
1,04	1,07	1,11	18,25	16,40
			média	16,74
			DV	3,73

G7 (3)				
Lado 1	Lado 2	Área	N	Mpa
1,13	1,05	1,19	16,78	14,14
1,08	1,03	1,11	16,23	14,59
1,04	1,05	1,09	10,36	9,49
1,03	1,11	1,14	19,42	16,99
1,08	1,11	1,20	10,95	9,13
1,02	1,02	1,04	16,48	15,84
1,05	1,08	1,13	14,77	13,02
			média	13,31
			DV	3,01

G7 (4)				
Lado 1	Lado 2	Área	N	Mpa
1,12	1,00	1,12	19,52	17,43
1,03	1,02	1,05	26,35	25,08
0,98	1,07	1,05	18,00	17,17
1,04	0,99	1,03	20,67	20,08
1,11	1,03	1,14	18,30	16,01
0,98	1,09	1,07	25,17	23,56
1,03	1,09	1,12	30,87	27,50
			média	20,97
			DV	4,45

G7 (5)				
Lado 1	Lado 2	Área	N	Mpa
1,17	1,03	1,21	28,81	23,91
1,15	1,03	1,18	31,07	26,23
1,09	1,04	1,13	20,07	17,70
1,14	1,00	1,14	23,03	20,20
1,11	0,98	1,09	22,16	20,37
1,11	1,10	1,22	26,35	21,58
1,12	1,07	1,20	10,95	9,14
			média	19,88
			DV	5,48

G8 (1)				
Lado 1	Lado 2	Área	N	Mpa
1,15	1,18	1,36	23,42	17,26
1,16	1,08	1,25	21,15	16,88
1,05	1,15	1,21	17,77	14,72
1,05	1,16	1,22	25,40	20,85
1,08	1,17	1,26	26,97	21,34
1,07	1,15	1,23	13,10	10,65
1,17	1,18	1,38	17,09	12,38
			média	16,30
			DV	4,03

G8 (2)				
Lado 1	Lado 2	Área	N	Mpa
1,01	1,19	1,20	19,33	16,08
1,12	1,03	1,15	13,66	11,84
1,14	1,03	1,17	32,62	27,78
1,18	1,07	1,26	14,67	11,62
1,12	1,17	1,31	5,32	4,06
1,18	1,16	1,37	10,52	7,69
1,10	1,02	1,12	14,36	12,80
			média	13,12
			DV	7,52

G8 (3)				
Lado 1	Lado 2	Área	N	Mpa
1,08	1,05	1,13	19,68	17,35
1,10	1,08	1,19	9,88	8,32
1,10	1,10	1,21	16,70	13,80
1,09	1,02	1,11	9,72	8,74
1,00	1,09	1,09	9,64	8,84
1,10	1,09	1,20	23,14	19,30
1,07	1,00	1,07	12,85	12,01
			média	12,62
			DV	4,41

G8 (4)				
Lado 1	Lado 2	Área	N	Mpa
1,00	1,12	1,12	26,64	23,79
1,09	1,03	1,12	18,67	16,63
1,09	1,02	1,11	23,46	21,10
1,13	1,00	1,13	25,74	22,78
1,00	1,00	1,00	14,11	14,11
1,09	1,02	1,11	20,05	18,03
1,01	1,04	1,05	20,44	19,46
			média	19,41
			DV	3,44

G8 (5)				
Lado 1	Lado 2	Área	N	Mpa
1,07	1,13	1,21	15,91	13,16
1,18	0,98	1,16	21,52	18,61
1,11	1,00	1,11	7,92	7,14
1,13	0,98	1,11	12,93	11,68
1,07	1,18	1,26	20,09	15,91
1,20	0,99	1,19	15,72	13,23
1,17	1,00	1,17	16,71	14,28
			média	13,43
			DV	3,57

G9 (1)				
Lado 1	Lado 2	Área	N	Mpa
1,06	1,09	1,16	22,25	19,26
1,14	1,07	1,22	13,17	10,80
1,10	1,13	1,24	4,79	3,85
1,04	1,06	1,10	28,55	25,90
1,07	1,10	1,18	23,14	19,66
1,08	1,13	1,22	13,32	10,91
1,03	1,08	1,11	23,88	21,47
			média	15,98
			DV	7,66

G9 (2)				
Lado 1	Lado 2	Área	N	Mpa
1,06	1,14	1,21	48,32	39,99
1,05	1,13	1,19	11,83	9,97
1,13	1,05	1,19	26,78	22,57
1,15	1,05	1,21	32,00	26,50
1,16	1,06	1,23	22,63	18,40
1,16	1,05	1,22	23,77	19,52
1,06	1,14	1,21	32,81	27,15
			média	23,44
			DV	9,31

G9 (3)				
Lado 1	Lado 2	Área	N	Mpa
1,02	1,10	1,12	12,21	10,88
1,01	1,14	1,15	7,99	6,94
1,15	0,98	1,13	8,73	7,75
1,01	1,10	1,11	12,23	11,01
1,13	1,10	1,24	4,55	3,66
1,07	1,14	1,22	16,81	13,78
1,11	1,08	1,20	19,73	16,46
			média	10,07
			DV	4,33

G9 (4)				
Lado 1	Lado 2	Área	N	Mpa
1,00	1,11	1,11	21,19	19,09
1,05	1,11	1,17	21,65	18,58
1,06	1,11	1,18	16,03	13,62
1,11	1,03	1,14	19,15	16,75
1,11	1,02	1,13	19,15	16,91
0,99	1,09	1,08	25,19	23,34
1,05	1,09	1,14	17,25	15,07
			média	17,62
			DV	3,15

G9 (5)				
Lado 1	Lado 2	Área	N	Mpa
0,96	1,07	1,03	3,54	3,45
1,12	1,02	1,14	23,25	20,35
1,12	1,03	1,15	8,83	7,65
1,12	1,11	1,24	15,66	12,60
1,11	1,10	1,22	8,06	6,60
1,06	0,83	0,88	23,73	26,97
1,13	0,97	1,10	20,17	18,40
			média	13,72
			DV	8,52

APÊNDICE B- Análise de Variância dos resultados do teste de resistência adesiva à microtração

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	2.569,0694	8	321,1337	32,99457	2,47199E⁻¹⁴	2,208518
Dentro dos grupos	350,38525	36	9,732924			
Total	2.919,4546	44				

APÊNDICE C - Análise de Variância dos resultados do teste de resistência adesiva à microtração

<i>Grupo</i>	<i>n</i>	<i>Soma</i>	<i>Média</i>	<i>Variância</i>	<i>DP</i>	<i>Erro</i>	<i>Valor t</i>	<i>Intervalo(95%)</i>	<i>gl</i>	<i>Ls</i>	<i>Li</i>
G1	5	199,64	39,93	17,17	4,14	1,85	2,78	5,14	4	45,07	34,78
G2	5	86,66	17,33	2,70	1,64	0,74	2,78	2,04	4	19,37	15,29
G3	5	76,30	15,26	7,02	2,65	1,18	2,78	3,29	4	18,55	11,97
G4	5	75,62	15,12	4,48	2,12	0,95	2,78	2,63	4	17,75	12,50
G5	5	74,89	14,98	10,11	3,18	1,42	2,78	3,95	4	18,93	11,03
G6	5	87,81	17,56	4,28	2,07	0,93	2,78	2,57	4	20,13	14,99
G7	5	87,74	17,55	9,07	3,01	1,35	2,78	3,74	4	21,29	13,81
G8	5	74,89	14,98	8,20	2,86	1,28	2,78	3,56	4	18,53	11,42
G9	5	80,83	16,17	24,57	4,96	2,22	2,78	6,16	4	22,32	10,01

Anexo A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa (1)

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA**PARECER DE APROVAÇÃO**
Protocolo 176/06

O Grupo de Trabalho indicado pelo Comitê de Ética em Pesquisa APROVOU o protocolo de pesquisa **“Análise ultramorfológica da superfície dentinária irradiada com lasers de Er: YAG e Er, Cr:YSGG”**, de responsabilidade da Pesquisadora **Simone Gonçalves Moretto**, sob orientação da Professora Doutora **Márcia Martins Marques**.

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

São Paulo, 09 de novembro de 2006

Prof. Dr. Rogério Nogueira de Oliveira
Coordenador do CEP-FOUSP

Anexo B – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa (2)

Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia
Comitê de Ética em Pesquisa

DECLARAÇÃO
Protocolo 176/06

Declaramos que o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo recebeu e aceitou o adendo referente a alteração de acréscimo de teste de resistência de união e do título do projeto "Análise ultramorfológica da superfície dentinária irradiada com lasers de Er: YAG e Er, Cr:YSGG" para "Análise ultramorfológica e da resistência de união da dentinária irradiada com diferentes parâmetros dos lasers de Er: YAG e Er, Cr:YSGG", de responsabilidade do (a) Pesquisador(a) Simone Gonçalves Moretto, sob orientação do(a) Professor(a) Doutor(a) Patrícia Moreira de Freitas.

São Paulo, 23 de agosto de 2008.

Prof. Dr. João Gualberto de Cerqueira Luz
Coordenador