FREDERICO SEIDI HORI

**Resistência de união e análise quantitativa da camada híbrida através de
espectroscopia micro-Raman de quatro sistemas adesivos**

São Paulo

2012

FREDERICO SEIDI HORI

Resistência de união e análise quantitativa da camada híbrida através de espectroscopia micro-Raman de quatro sistemas adesivos.

Versão original.

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

Área de Concentração: Dentística

Orientador: Prof. Dr. Rubens Côrte Real de Carvalho

São Paulo

2012

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

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

Hori, Frederico Seidi.

Resistência de união e análise quantitativa da camada híbrida através de espectroscopia micro-Raman de quatro sistemas adesivos / Frederico Seidi Hori ; orientador Rubens Corte Real de Carvalho. -- São Paulo, 2012.

88 p. : fig.: graf., tab.; 30 cm.

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

Versão original.

1. Adesivos dentinários. 2. Resistência de união - Odontologia. 3. Espectroscopia micro-Raman. Carvalho, Rubens Corte Real dell. Título.

Hori FS. Resistência de união e análise quantitativa da camada híbrida através de espectroscopia micro-Raman de quatro sistemas adesivos. Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Odontologia.

Aprovado em: / /2012

Banca Examinadora

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

Julgamento: _____ Assinatura: _____

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

Julgamento: _____ Assinatura: _____

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

Julgamento: _____ Assinatura: _____

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

Julgamento: _____ Assinatura: _____

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

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Dedico este trabalho ao meu pai, **Yoichi**, Cirurgião-Dentista, por ser ao mesmo tempo meu pai, professor, incentivador e orientador da minha vida profissional. A quem devo grande parte de todas as minhas conquistas. Pela sua sede de conhecimento e amor à profissão, mesmo após 5 décadas de atuação.

À minha mãe, **Anna**, por ser minha mãe, sempre fazendo de tudo por mim até hoje. Desde a infância sempre investindo na minha formação intelectual e pessoal. A cada dia que amadureço, percebo o quanto você fez por mim. A quem está por trás de todas as minhas conquistas.

À minha noiva **Yeska**, por todo amor e todos os momentos felizes que você me proporciona até hoje. E por todo apoio nos momentos difíceis que eu precisei.

AGRADECIMENTOS

Ao **Professor Titular Rubens Côrte Real de Carvalho**, pela orientação não só nesse trabalho, mas também pelos conselhos profissionais e pessoais dados ao longo desses anos. Por acreditar em mim, sempre estimulando a busca pelo melhor. Admiro a sua humildade, apesar de todo o seu enorme conhecimento e sabedoria. Serei para sempre muito grato a você.

Ao **Professor Titular Yoshio Kawano**, por sua paciência e generosidade. E por sua enorme ajuda, ao disponibilizar o Laboratório de Espectroscopia Molecular do Instituto de Química da USP, que foi necessário para a realização desse trabalho.

Ao amigo **Daniel C. Rodrigues**, por sua determinação, dedicação e seu empenho, que foram responsáveis pelos belos resultados obtidos nesse trabalho. Por sua paciência em transmitir seu grande conhecimento de maneira didática e fácil para um leigo.

À **Profa. Dra. Eliza Maria Agueda Russo**, por todas as oportunidades oferecidas e pelos ensinamentos na odontologia.

Ao **Prof. Dr. Sérgio Brossi Botta**, pela amizade e por sua participação na coleta dos dentes desse trabalho.

À minha amiga **Profa. Dra. Camila Regina Galvão Bengtson**, por toda a ajuda nesse trabalho e pela amizade.

Ao meu amigo **Prof. Fernando Seichim Hanashiro**, por toda a ajuda prestada nesses anos de pós-graduação e pela grande amizade.

À técnica do laboratório **Soninha**, por sua compreensão e pela grande ajuda no laboratório.

.

Hori FS. Resistência de união e análise quantitativa da camada híbrida através de espectroscopia micro-Raman de 4 sistemas adesivos [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2012. Versão original.

RESUMO

Adesivos de frasco único, tanto auto-condicionantes como condicione-e-lave, são misturas complexas de monômeros resinosos hidrofílicos e hidrofóbicos dissolvidos em combinações de água/solvente. Embora a inclusão de monômeros hidrofílicos tenha conseguido altas forças de adesão imediata, estudos têm mostrado que a interface resina-dentina tem se tornado muito mais fraca através do tempo. Nesse estudo através da microtração, avaliamos a resistência adesiva de 4 sistemas adesivos e através da espectroscopia micro-Raman analisamos quantitativamente a camada híbrida formada por esses adesivos. Para a microtração, os fatores de variação foram 2: o tipo de adesivo (AdperScotchbondMulti-Purpose, AdperSingle Bond 2, Adper SE Plus, AdperEasyOne), e o período de armazenamento, em 3 níveis (1 dia, 30 dias, 180 dias), totalizando 12 níveis de variação. As unidades experimentais foram confeccionadas sobre 120 superfícies de dentina de terceiros molares humanos hígidos e não irrompidos ($n=10$). Para análise estatística foi utilizado o teste paramétrico de análise de variância ANOVA e o teste de múltipla comparação de Games Howell. Para a espectroscopia micro-Raman foram utilizados 3 dentes para cada sistema adesivo, totalizando 12 dentes ($n=3$). Os espectros Raman dos espécimes foram registrados num espectrômetro Micro-Raman RENISHAW InVia com excitação em 785 nm (laser de diodo, RENISHAW) acoplado a um microscópio LEICA DM2500M, com estágio motorizado (x;y;z) RENISHAW MS 20 EncodedStage com resoluções lateral e axial de 100 nm e 1 μ m. Os adesivos condicione-e-lave ScotchbondMulti-Purpose e SingleBond desse estudo apresentaram os maiores valores de resistência adesiva, apresentando valores dentro de uma faixa de 44,36 a 50,66 MPa, enquanto que os adesivos AdperSE e Easy One apresentaram valores de 17,97 a 24,60 MPa. O adesivo que apresentou os maiores valores de resistência adesiva foi o ScotchbondMulti-Purpose e o que teve o pior desempenho foi o adesivo Easy One. Todos os adesivos apresentaram

queda significativa de resistência de união após 30 e 180 dias. Na análise micro-Raman, o adesivo ScotchbondMulti-Purpose mostrou-se mais homogêneo e com valores de penetração do adesivo semelhantes aos do Single Bond e do Easy One. O adesivo SE Plus apresentou a menor penetração do adesivo e a camada híbrida mais fina. Concluímos neste trabalho que avaliando 4 diferentes tipos de adesivos de uma mesma marca, existe uma relação negativa entre as estratégias de adesão (diminuição do número de passos e frascos) e a resistência de união e a qualidade da camada híbrida.

Palavras-chave: Adesão. Camada híbrida. Micro-Raman

Hori FS. Bond Strength and quantitative analysis of the hybrid layer by micro-Raman spectroscopy of four adhesive systems [thesis]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2012. Versão original.

ABSTRACT

One-bottle adhesives, both self-etching as etch-and-rinse, are complex mixtures of hydrophilic and hydrophobic monomers resin combinations dissolved in water / solvent. Although the inclusion of hydrophilic monomers has achieved high immediate adhesion forces, studies have shown that dentin-resin interface have become much weaker over time. In this study, bond strength of four adhesive systems was evaluated by microtensile test and quantitative analysis of the hybrid layer was obtained by micro-Raman spectroscopy. For microtensile test, the factors of variation were 2: the type of adhesive (Adper Scotchbond Multi-Purpose, Adper Single Bond 2, Adper SE Plus, Adper Easy One), and the period of storage at 3 levels (1 day, 30 days, 180 days), totaling 12 levels of variation. The experimental units were made on 120 dentin surfaces of intact human unerupted third molars ($n = 10$). The parametric analysis of variance ANOVA and multiple comparison Games Howell was used for statistical analysis. For micro-Raman spectroscopy were used three teeth for each adhesive system, with a total of 12 teeth ($n = 3$). Raman spectra of the samples were recorded on a Micro-Raman spectrometer RENISHAW in via with 785 nm excitation (laser diode, RENISHAW) coupled to a microscope LEICA DM2500M with motorized stage (x, y, z) RENISHAW MS 20 Encoded Stage with lateral and axial resolution of 100 nm and 1 microns. Etch-and-rinse adhesives Scotchbond Multi-Purpose and Single Bond of this study showed the highest bond strength values, with values within a range from 44.36 to 50.66 MPa, whereas the self-etch adhesives SE Plus and Easy One had values of 17.97 to 24.60 MPa. The adhesive that showed the highest bond strength was Scotchbond Multi-Purpose and the worst performance was from Easy One. All adhesives showed a significant decrease in bond strength after 30 and 180 days. In micro-Raman analysis, the Scotchbond Multi-Purpose was more homogeneous and had penetration values similar to those of the adhesive Single Bond and Easy One. The SE Plus had the

lowest penetration of the adhesive and the thinner hybrid layer. We conclude that evaluating 4 different types of adhesives of the same brand, there is a negative relationship between the strategies of adhesion (decreasing the number of steps and bottles) and bond strength and quality of the hybrid layer.

Keywords: Adhesion. Hybrid layer. Micro-Raman.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 4.1 - Sistemas adesivos utilizados, classificação e procedimentos de união....	26
Figura 4.1 - Preparo dos dentes: A) Terceiro molar hígido; B) Exposição eplanificação da superfície dentinária em politriz).....	27
Figura 4.2 - A) Inserção da resina composta; B) Fotoativação; C) Bloco de resina composta sobre a superfície dentinária hibridizada	28
Figura 4.3 - A) Corte dos dentes; B) Cortes paralelos e perpendiculares; C) Espécimes selecionados para o experimento	29
Figura 4.4 - A) Palitos selecionados; B) Interface perpendicular ao longo eixo do corpo de prova	29
Figura 4.5 - A) Palito colado ao Jig de Geraldeli; B) Espécimes prontos para o teste..	30
Figura 4.6 - A) Máquina de ensaios universal Instron 2367; B) Tracionamento dos espécimes	31
Figura 4.7 - Software utilizado para aplicação do ensaio de microtração. Observar o comportamento de cada corpo no gráfico	31
Figura 4.8 - Espectrômetro Micro-Raman com microscópio e estágio motorizado acoplado.....	33
Figura 4.9 - Software controlador do sistema	33
Figura 4.10 - Exemplo de mapeamento com passos de 0,3µm.....	34
Figura 4.11 - Espectrômetro Micro-Raman com microscópio e estágio motorizado acoplado.....	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 5.1 - Estatística descritiva e os parâmetros estatísticos dos dados. Variável dependente: MPa	36
Tabela 5.2 - Teste de normalidade para o fator Adesivos	37
Tabela 5.3 - Teste de normalidade para o fator Tempo	37
Tabela 5.4 - Teste de homogeneidade para o fator Adesivos	38
Tabela 5.5 - Teste de homogeneidade para o fator Tempo	38
Tabela 5.6 - Análise de variância	39
Tabela 5.7 - Teste complementar de múltipla comparação de Tukey para as médias do fator Adesivos.....	40
Tabela 5.8 - Teste de Tukey (HSD) para os grupos do fator Tempo.....	41
Tabela 5.9 - Teste de Games Howel (HSD) para os grupos da interação Adesivos x Tempo	42
Tabela 5.10 -Interação Adesivos x Tempo	42
Tabela 5.11 -Porcentagem do tipo de fratura	44

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 5.1 - Intervalos de confiança de 95% para os grupos do fator Adesivos	40
Gráfico 5.2 - Intervalos de confiança de 95% para os grupos do fator Tempo	41
Gráfico 5.3 - Intervalos de confiança de 95% para os grupos da interação Adesivos x Tempo	43
Gráfico 5.4 - Espectros Raman obtidos para dentina, adesivo Scotchbond e resina.....	45
Gráfico 5.5 - Espectros Raman obtidos em intervalos de 1 μ m através da interface dentina-resina do adesivo ScotchbondMulti-Purpose	46
Gráfico 5.6 - Penetração do adesivo ScotchbondMulti-Purpose em função do deslocamento	47
Gráfico 5.7 - Espectros Raman obtidos em intervalos de 1 μ m através da interface dentina-resina do adesivo ScotchbondMulti-Purpose	48
Gráfico 5.8 - Penetração do adesivo ScotchbondMulti-Purpose em função do deslocamento	49
Gráfico 5.9 - Espectros Raman obtidos em intervalos de 1 μ m através da interface dentina-resina do adesivo ScotchbondMulti-Purpose	50
Gráfico 5.10 - Penetração do adesivo ScotchbondMulti-Purpose em função do deslocamento	51
Gráfico 5.11 -Espectros Raman obtidos para dentina, adesivo Single Bond e resina...	52
Gráfico 5.12-Espectros Raman obtidos em intervalos de 1 μ m através da interface dentina-resina do adesivo Single Bond	53
Gráfico 5.13 -Penetração do adesivo Single Bond em função do Deslocamento	54
Gráfico 5.14 -Espectros Raman obtidos em intervalos de 1 μ m através da interface dentina-resina do adesivo Single Bond	55
Gráfico 5.15 - Penetração do adesivo Single Bond em função do deslocamento	56
Gráfico 5.16-Espectros Raman obtidos em intervalos de 1 μ m através da interface dentina-resina do adesivo Single Bond	57
Gráfico 5.17- Penetração do adesivo Single Bond em função do deslocamento	58

Gráfico 5.18- Espectros Raman obtidos para dentina, adesivo SE Plus e resina	59
Gráfico 5.19- Espectros Raman obtidos em intervalos de 1 μ m através da interface dentina-resina do adesivo SE Plus.....	60
Gráfico 5.20- Penetração do adesivo SE Plus em função do deslocamento.....	61
Gráfico 5.21 -Espectros Raman obtidos em intervalos de 1 μ m através da interface dentina-resina do adesivo SE Plus.....	62
Gráfico 5.22 - Penetração do adesivo SE Plus em função do deslocamento.....	63
Gráfico 5.23 -Espectros Raman obtidos em intervalos de 1 μ m através da interface dentina-resina do adesivo SE Plus.....	64
Gráfico 5.24- Penetração do adesivo SE Plus em função do deslocamento.....	65
Gráfico 5.25 -Espectros Raman obtidos para dentina, adesivo Easy One e resina ..	66
Gráfico 5.26-Espectros Raman obtidos em intervalos de 1 μ m através da interface dentina-resina do adesivo Easy One.....	67
Gráfico 5.27- Penetração do adesivo Easy One em função do deslocamento.....	68
Gráfico 5.28 -Espectros Raman obtidos em intervalos de 1 μ m através da interface dentina-resina do adesivo Easy One.....	69
Gráfico 5.29- Penetração do adesivo Easy One em função do deslocamento.....	70
Gráfico 5.30 -Espectros Raman obtidos em intervalos de 1 μ m através da interface dentina-resina do adesivo Easy One.....	71
Gráfico 5.31 - Penetração do adesivo Easy One em função do deslocamento.....	72

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Bis-GMA bisfenil A glicidil metacrilato

HEMA 2-hidroxietil metacrilato

MPa MegaPascal

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DA LITERATURA	18
3 PROPOSIÇÃO	25
4 MATERIAL E MÉTODOS	26
4.1 MICROTRAÇÃO.....	30
4.2 ESPECTROSCOPIA MICRO-RAMAN	32
5 RESULTADOS.....	36
5.1 TESTE DE MICROTRAÇÃO	36
5.1.1 Modelo experimental.....	36
5.1.2Teste de normalidade.....	37
5.1.3Teste de homogeneidade	38
5.1.4Análise de variância (ANOVA).....	39
5.1.5Análise das fraturas	44
5.2 ESPECTROSCOPIA MICRO-RAMAN	45
5.2.1 Adesivo AdperScotchbondMulti-Purpose.....	45
5.2.2 Adesivo AdperSingle Bond 2	52
5.2.3Adesivo Adper SE Plus.....	59
5.2.4AdesivoAdperEasyOne.....	66
6 DISCUSSÃO	73
7 CONCLUSÃO	79
REFERÊNCIAS.....	80
ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa.....	88

1 INTRODUÇÃO

A principal responsável pelo mecanismo de adesão à dentina é a camada híbrida, que é a estrutura formada pela desmineralização da dentina seguida pela infiltração de monômero e sua subsequente polimerização (Nakabayashiet al., 1982). Porém, devido à teoria do parâmetro de solubilidade que controla a infiltração do adesivo, e à presença de fibras colágenas, existe a probabilidade de uma penetração incompleta do adesivo ocorrer.

Sistemas adesivos podem ser classificados com base na sua interação com o substrato dental e o número de passos: condicione-e-lave (adesivos de dois ou três passos) e auto-condicionantes (adesivos de um ou dois passos)(Van Meerbeeket al., 2003). Diversos estudos têm mostrado diferenças entre a profundidade de desmineralização e a profundidade de penetração, tanto nos sistemas adesivos condicione-e-lave quanto nos sistemas adesivos auto-condicionantes.

A existência de uma camada de colágeno não infiltrada por adesivo pode enfraquecer a união dentina-resina. Mesmo se a total infiltração do adesivo na dentina descalcificada ocorrer, o grau de conversão do adesivo na camada híbrida é desconhecido, uma vez que na presença de água e solventes como o etanol e acetona a polimerização de componentes resinosos pode ser comprometida. A polimerização inadequada dos monômeros adesivos pode atrair água, levando à degradação hidrolítica e à diminuição das propriedades mecânicas do sistema adesivo, o que conseqüentemente levará à diminuição da durabilidade da união dentina-resina.

Sendo assim, testar a resistência de união imediatamente e após um período de tempo é necessário para avaliação de um sistema adesivo uma vez que a literatura demonstra que a resistência adesiva tende a cair com o tempo. Além disso, verificar o desempenho de um sistema adesivo no tecido dental é uma ferramenta útil para prever seu comportamento clínico.

Mas juntamente com a resistência adesiva, sempre houve a necessidade de analisar a morfologia da camada híbrida para entender melhor o comportamento de um sistema adesivo. Isso se deu através de várias técnicas como, microscopia eletrônica de varredura, microscopia eletrônica de transmissão, técnicas de coloração ou a combinação delas. Todas requerem longo processo químico durante

a preparação da amostra que pode levar a uma variedade de artefatos. Além disso, todas essas técnicas promovem uma análise indireta e limitada da camada híbrida.

A espectroscopia micro-Raman é uma técnica analítica não-destrutiva muito útil para estudar a composição e a estrutura da camada híbrida. Uma vez que os espectros são atribuídos às moléculas e não aos elementos químicos e o laser pode ser focado num ponto muito pequeno, uma alta resolução espacial da superfície da amostra pode ser conseguida. Preparação mínima das amostras e a análise feita na presença de água também são grandes vantagens. Tentar correlacionar a resistência de união com a profundidade de penetração de diferentes tipos de sistemas adesivos e a espessura da camada híbrida pode ser de grande utilidade para compreender melhor o comportamento dos sistemas adesivos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Desde que foi descoberta, a retenção micromecânica é assumida como principal mecanismo de adesão no esmalte e na dentina. Isso é conseguido por um processo de troca aonde material dental inorgânico é substituído por monômeros resinosos que permanecem interligados nas retenções depois de polimerizados. Microscopicamente esse processo é chamado de “hibridização” (Nakabayashi et al., 1982). Porém, a adesão em dentina sempre foi mais desafiante do que a adesão em esmalte, principalmente devido à complexa estrutura hidratada da dentina, e também pelo fato de a água poder difundir da dentina hidratada através de caminhos de água na camada híbrida para alcançar a interface adesivo-compósito (Hiraishiet al., 2007).

Vários estudos têm mostrado que embora ocorra uma alta força de adesão imediata, a técnica de adesão molhada produz uma camada híbrida porosa. Tal porosidade pode ser causada tanto pela difusão restrita de monômeros resinosos dentro de uma matriz de colágeno contraída por condições de sobressecação ou devido à água residual aprisionada dentro das fibras em superfícies sobremolhadas. Independente da causa, camadas híbridas porosas provavelmente contribuem para a deterioração a longo prazo da interface dentina-resina. Infelizmente, a inclusão de monômeros altamente hidrofílicos nos sistemas adesivos está transformando-os em membranas permeáveis que são altamente susceptíveis aos efeitos de degradação da água (Reiset al., 2004).

Nas últimas décadas, os adesivos têm recebido diversas classificações, geralmente baseadas nas modificações de suas composições. Uma das maneiras mais simples de se classificar o adesivo é baseada na sua interação com o substrato e o número de passos: condicione-e-lave (dois ou três passos) e auto-condicionantes (um ou dois passos) (Van Meerbeeket al., 2003).

Introduzida em 1955, a técnica condicione-e-lave foi caracterizada por promover uma morfologia de superfície ideal (Swift et al., 1995). O condicionamento com ácido fosfórico a 37% desmineraliza completamente a superfície com uma profundidade de 5-8µm da matriz dentinária intertubular criando porosidades nanométricas, o que permite a infiltração de monômeros dissolvidos por dentro e

ao redor das fibras colágenas gerando retenção mecânica(Vaidyanathan et al., 2009).

Já a técnica auto-condicionante, condiciona esmalte e dentina simultaneamente sem lavagem com água. A acidez média desses adesivos é responsável por sua incapacidade de remover a camada de esfregaço e seus plugs durante o condicionamento. Esses materiais têm a habilidade de dissolver a hidroxiapatita parcialmente, tanto dentro da camada de esfregaço quanto na superfície dentinária, resultando na zona infiltrada por resina com minerais aprisionados (Van Meerbeeket al., 1998).Nos adesivos auto-condicionantes, os monômeros ácidos são capazes de condicionar e polimerizar simultaneamente através de um mecanismo único que combina duplas ligações insaturadas com grupos ácidos fosfóricos ou carboxílicos em uma mesma molécula. No entanto, isso pode fazer com que a polimerização seja afetada pelo processo de condicionamento, uma vez que os reagentes polimerizáveis ou iniciadores são especialmente sensíveis às alterações do meio como o pH(Moszneret al., 2005).

Tradicionalmente, adesivos contém monômeros resinosos acrílicos, solventes orgânicos, iniciadores e inibidores, e algumas vezes partículas de preenchimento. Para garantir uma boa ligação covalente entre o adesivo e o compósito, adesivos contém monômeros que são similares aos dos materiais restauradores. Similar aos compósitos, a resina polimerizada no adesivo, também chamada de matriz, funciona como corpo promovendo continuidade estrutural e propriedades físico-mecânicas como resistência. Assim, monômeros deveriam ser considerados como o componente principal dos adesivos(Van Landuytet al., 2007).

Em adesivos condicione-e-lave de frasco-único ou adesivosauto-condicionantes, monômeros hidrofílicos e hidrofóbicos são misturados juntos com um alto conteúdo de solventes para mantê-los na solução. Adesivos de frasco único, tanto auto-condicionantes como condicione-e-lave, são misturas complexas de monômeros resinosos hidrofílicos e hidrofóbicos dissolvidos em combinações de água/solvente(Monticelliet al., 2007).

Essas associações podem causar desordens químicas durante a aplicação clínica. A presença de fibras colágenas não protegidas pode ser explicada pela presença de água residual que pode impedir a infiltração completa do monômero na zona desmineralizada, comprometendo a infiltração ideal do adesivo e sua polimerização (Manso et al., 2008). A zona que é pobremente infiltrada por adesivo é

considerada a região mais fraca, uma vez que deixa fibras colágenas expostas que são altamente suscetíveis à hidrólise ao longo do tempo (Hashimoto et al., 2010).

A degradação da camada adesiva pode ser dividida em duas fases principais: a degradação hidrolítica da matriz colágena; e a degradação hidrolítica do adesivo na camada híbrida. Hidrólise dos componentes poliméricos ocorrem nas camadas híbridas tanto dos adesivos condicione-e-lave como dos adesivos auto-condicionantes. Recentemente, diversos estudos mostraram degradação típica de adesivos auto-condicionantes frasco-único (Hashimoto et al., 2009).

Tanto a sorção de água como a nanoinfiltração em camadas adesivas são proporcionais às características hidrofílicas dos sistemas adesivos. A habilidade auto-condicionante de adesivos frasco-único é comumente conseguida pela incorporação de água em monômeros resinosos que permitem a ionização de monômeros ácidos. Além da água na composição, as partes ionizáveis dos monômeros ácidos também são hidrofílicas. A presença de uma camada hidrofílica pode induzir a sorção de água, comprometendo a estabilidade do polímero. Separação de fase ou formação de bolhas osmóticas é um aspecto morfológico típico dos sistemas adesivos hidrofílicos (Hashimoto, 2009).

Foi reportado que adesivos condicione-e-lave de frasco único simplificados são similares aos adesivos auto-condicionantes passo-único em dois aspectos. O primeiro é a espessura total da camada adesiva reduzida, devido à eliminação de uma camada adicional de adesivo. O outro é que grupos iônicos (carboxil e fosfato) e hidrofílicos (hidroxil) que estão originalmente presentes em monômeros adesivos são retidos dentro de micro-espacos da camada adesiva, agindo como sólidos hidrofílicos que continuam a puxar água da dentina vitalizada após a polimerização levando a degradação a longo prazo (Tay et al., 2004a).

Embora a inclusão de monômeros hidrofílicos tenha conseguido altas forças de adesão imediata, estudos têm mostrado que a interface resina-dentina têm se tornado muito mais fraca através do tempo (De Munck et al., 2003; Carrilho et al., 2005). A instabilidade da ligação resina-dentina é atribuída à natureza porosa da camada híbrida que se comporta como uma estrutura permeável sendo suscetível à hidrólise lenta. Teoricamente, a hidrólise envolve a degradação de componentes da dentina hibridizada, resina e fibras colágenas (Malacarne et al., 2006).

Ignorando o fato de que adesivos são sensíveis à fadiga mecânica, o fator principal responsável por afetar a durabilidade *in vivo* é a hidrólise dos componentes

da interface, como o colágeno e a resina, e consequentemente a diluição dos produtos hidrolisados. O método mais válido para se avaliar esse processo de degradação *in vitro* é a armazenagem dos micro-espécimes em água. Dentro de aproximadamente 3 meses, todos adesivos exibem evidências mecânicas e morfológicas de degradação que remetem ao envelhecimento *in vivo* (De Muncket al., 2005).

Todas as diferentes formas de infiltração marginal, nano-infiltração, ou o ingresso de fluídos orais através de canais nanométricos ao longo das fibras colágenas dentro da camada híbrida, são prejudiciais à integridade do adesivo. O armazenamento por longos períodos em água faz a resistência adesiva cair e a porcentagem de falhas adesivas aumentar significativamente (De Munck et al., 2003). Tanto testes *in vitro* como testes *in vivo*, fazem a camada híbrida sofrer degradação a partir de 6 meses a até 3 a 5 anos (Armstrong et al., 2004). Isso é manifestado pela perda de ligações cruzadas das fibras colágenas e pelo grande aumento de sorção de água (Carrilho et al., 2007).

Na presença de água, a separação de fase de componentes hidrofóbicos e hidrofílicos não polimerizados pode ocorrer facilmente. A presença de separação de fase de monômero e água afeta a taxa de polimerização e o grau de conversão, e induz uma estrutura não homogênea do adesivo polimerizado, o que pode ser um mecanismo potencial para a degradação (Guo et al., 2007).

Devido à alta concentração de monômeros ácidos e hidrofílicos, baixa espessura do adesivo, e a falta de mais resinas hidrofóbicas, adesivos auto-condicionantes de passo-único têm sido reportados por se comportar como membranas permeáveis após a polimerização. Embora a discussão desse fenômeno seja relativamente novo em dentística, a formação osmótica de bolhas é a maior causa de perda de adesão quando o substrato coberto por resina é exposto a altas umidades relativas, assim como as bolhas são os locais iniciais de falha adesiva. A água não aprisionada que não foi completamente removida pode existir como árvores de água, promovendo canais para rápida movimentação de água dentro do adesivo polimerizado (Tay et al., 2004b).

Estudos de durabilidade adesiva têm sido feitos através de exposição direta à água da interface resina-dentina, e foi achado que a força de união à dentina tanto de sistemas condicione-e-lave como de auto-condicionantes decaem com o tempo. Testes comparativos entre adesivos contendo ou não HEMA também têm sido

continuamente executados. Neste trabalho, com adesivos a base de HEMA ou não, verificou-se que após 1 ano de armazenamento, a resistência à microtração foi significativamente menor se comparada com 1 dia, 3 meses e 6 meses (Torkabadiet al., 2008).

Em 1994, (Sano et al., 1994) propôs o teste de microtração como um novo método para se avaliar a resistência adesiva. Esse teste ofereceu a versatilidade que não pôde ser conseguida utilizando-se métodos convencionais de cisalhamento e tração. O teste de microtração permite medições de resistência adesiva em áreas muito pequenas ($\sim 1\text{mm}^2$), o que traz como vantagem a pesquisa de diferenças regionais dentro da dentina e a possibilidade de se produzir muitos espécimes a partir de um mesmo dente extraído (Scherrer et al., 2010). Além disso, como vantagens traz ainda: maior número de falhas adesivas e menor número de falhas coesivas, medição de resistências adesivas mais altas, médias e variâncias podem ser calculadas em um único dente e permite testar superfícies irregulares e áreas bem pequenas (Armstrong et al., 2010).

Em 1999, o teste de microtração foi avaliado positivamente, destacando sua utilização versátil que promove uma nova introspecção no estudo da resistência adesiva de materiais restauradores, e elegendo este teste como um meio para se avaliar a durabilidade a longo prazo de uniões resina-dentina. Desde então, o teste de microtração tem sido o teste mais utilizado para se avaliar a resistência adesiva (Pashley et al., 1999).

Considerando que a resistência adesiva na dentina é determinada principalmente pela camada híbrida, estudar sua morfologia tem grande importância. Propriedades mecânicas do adesivo na camada híbrida influenciam diretamente na criação de uma união duradoura. Devido à teoria do parâmetro de solubilidade que controla a infiltração de resina, e a presença de fibras colágenas, existe uma probabilidade de que penetração incompleta de resina pode acontecer. A existência de uma camada de colágeno descalcificada não impregnada por resina na base da camada híbrida pode enfraquecer união dentina-resina. Mesmo se a penetração completa do adesivo ocorrer, o grau de conversão de duplas ligações na camada híbrida não é conhecido. A presença de água intrínseca na dentina e solventes como etanol e acetona no agente de união afeta a polimerização de componentes resinosos na camada híbrida. Polimerização inadequada de monômeros resinosos

ou pequenos oligômeros podem atrair água, levando à sua lenta extração e diminuição das propriedades adesivas (Miyazaki et al., 2003).

Um adesivo parcialmente polimerizado é mais permeável a movimentação de fluídos, sofrendo maior absorção de água e comprometendo a integridade a longo prazo da ligação compósito adesivo. Além do mais, a entrada de água ou solventes incompletamente removidos dentro da resina resultam em degradação hidrolítica subsequente da camada híbrida (Cadenaro et al., 2005).

Várias metodologias e técnicas têm sido utilizadas para se estudar a camada híbrida, como a microscopia eletrônica de varredura (MEV), a microscopia eletrônica de transmissão (TEM) e as técnicas de coloração ou a combinação delas. Todas essas técnicas morfológicas promovem conhecimento limitado e indireto da camada híbrida e nenhuma ou informação parcial da química da interface. Na MEV, ácidos fortes utilizados na preparação dissolvem tanto o mineral que está na camada híbrida e não está protegido pela resina como a dentina não desmineralizada. O componente orgânico é afetado pelo potencial organolítico do NaOCl. Todas essas características fazem com que qualquer informação na estrutura dental à qual o adesivo estava ligado seja perdida. Na TEM, a inclusão do espécime em resina epóxica pode causar movimentos bi-direcionais das moléculas de monômero não reagidos. Resina epóxica contém bisfenol A, que vai infiltrar nas porosidades do espécime, tanto nas originalmente presentes como quanto nas criadas durante a descalcificação por EDTA. Corantes ácidos têm sido utilizados para colorir e identificar colágeno tipo I na camada híbrida e não é conhecido se esses corantes e ácidos acéticos utilizados na preparação causam desmineralização da dentina e exposição das fibras colágenas. O álcool, utilizado como desidratante nas preparações de coloração pode facilitar monômeros não polimerizados a se dissolver ou solubilizar de redes de polímeros fracas resultando em artefatos de coloração. As desvantagens desses três métodos limitam a observação exata do substrato de dentina hibridizado (Santini; Miletic, 2008).

Ao longo do tempo, diferentes técnicas também foram utilizadas para medir a profundidade de polimerização de um sistema adesivo. Microdureza, microscopia óptica e técnicas de espalhamento são algumas delas. Porém, com o surgimento de técnicas vibracionais como espectroscopia infravermelha (FTIR) e espectroscopia Raman houve uma abordagem direta para determinar a profundidade de polimerização. O estudo da polimerização dos compósitos resinosos

fotopolimerizáveis com a técnica vibracional é feita em uma base relativa comparando o módulo de alongamento da ligação vinílica C=C em 1640cm^{-1} com uma banda de referência (usualmente uma banda aromática em 1610cm^{-1}) antes e depois da fotopolimerização(Pianelliet al., 1999).

A espectroscopia Raman é uma técnica analítica útil para estudar a estrutura adesiva das amostras e determinar a sua composição. Utilizando essa técnica, os problemas associados com a análise morfológica da interface dentina-resina com a espectroscopia infravermelha (FTIR) podem ser resolvidos. Em contraste com a FTIR, a água é um espalhamento Raman fraco, sendo possível adquirir espectros Raman de espécimes de dentina úmidos. Não necessitando de desidratação dos espécimes, as medições podem ser feitas sob condições ambiente. Diferenças na extensão da penetração dos monômeros resinosos entre sistemas adesivos têm sido amplamente caracterizados com o uso da microscopia Raman (Sato e Miyazaki, 2005).

A espectroscopia Raman reflete a transição rotacional e vibracional das moléculas. Essa técnica é baseada no espalhamento da luz, ao invés da absorção ou transmissão e têm várias vantagens distintas para o estudo da união dentina-resina: é não-invasiva, não-destrutiva e insensível à água. Além disso, o Raman tem uma resolução espacial excelente (menor que $1\mu\text{m}$), fazendo com que seja uma das melhores técnicas para adquirir informação química na camada híbrida(Zouet al., 2010).

A espectroscopia micro-Raman pode ser potencialmente utilizada para obter uma visão longitudinal da camada de dentina desmineralizada em condições úmidas. Em contraste com outras técnicas microscópicas ela pode ser utilizada para detectar e quantificar a química molecular dos espécimes. Ela é uma ferramenta excepcional para investigação da química das interfaces ou perfis de superfícies, uma vez que não depende da homogeneização e cada estrutura é analisada *in situ*. A microscopia Raman está sendo utilizada para determinar a conversão dos sistemas poliméricos e detectar a infiltração do adesivo na camada híbrida(Wang; Yao, 2010).

3 PROPOSIÇÃO

Este estudo tem como objetivo avaliar a força de união à dentina humana com 4 diferentes tipos de adesivo, após 1, 30 e 180 dias, assim como analisar quantitativamente a camada híbrida através de espectroscopia micro-Raman.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

A realização dessa pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (CEP-FOUSP), parecer de aprovação nº 89/11 (Anexo A). Nesse estudo a variável resistência adesiva foi avaliada quantitativamente por meio de ensaio mecânico de microtração. Os fatores de variação foram 2: o tipo de adesivo utilizado, em 4 níveis (AdperScotchbondMulti-Purpose, AdperSingle Bond 2, Adper SE Plus, AdperEasyOne) e o período de armazenamento, em 3 níveis (1 dia, 30 dias, 180 dias), totalizando 12 níveis de variação. Os sistemas adesivos foram classificados de acordo com o número de passos e sua forma de condicionamento da superfície dentinária (Quadro 4.1).

Sistemas Adesivos	Classificação	Procedimentos de união
AdperScotchbondMultiuso (3M ESPE, St. Paul, MN, USA)	Três passos com condicionamento ácido	Condicionamento – aplicar ácido fosfórico 37% por 15s, lavar 10s, manter úmido. Primer – aplicar e esperar 20s, jato de ar. Adesivo – aplicar 2 camadas, jato de ar 2-5s, fotoativar 10s
Adper Single Bond 2 (3M ESPE, St. Paul, MN, USA)	Dois passos com condicionamento ácido	Condicionamento – aplicar ácido fosfórico 37% por 15s, lavar 10s, manter úmido. Adesivo – aplicar 2 camadas, jato de ar 2-5s, fotoativar 10s
Adper SE Plus (3M ESPE, St. Paul, MN, USA)	Dois passos autocondicionante	Líquido A – aplicar e esperar 20s, jato de ar. Líquido B – aplicar, jato de ar, fotoativar 10s
AdperEasy One (3M ESPE, St. Paul, MN, USA)	Passo único autocondicionante	Adesivo – aplicar por 20s, jato de ar por 5s, fotoativar por 10s

Quadro 4.1 – Sistemas adesivos utilizados, classificação e procedimentos de união

As unidades experimentais foram confeccionadas sobre 120 superfícies de dentina de terceiros molares humanos hígidos e não irrompidos, (n= 10), devido à

menor probabilidade de apresentarem trincas(Hayashi, 1994), fornecidos pelo Banco de Dentes da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, de acordo com o disposto na Resolução n° 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, que versa sobre pesquisas envolvendo seres humanos (Anexo A). Segundo o Banco de Dentes, após a exodontia, os dentes foram secos e observados em microscópio óptico com 25x de aumento para confirmar a ausência de defeitos e trincas pré-existent, sendo em seguida armazenados, por no máximo três meses, em água destilada a 37° C.

Cada dente teve a sua superfície oclusallixada com auxílio de lixas d'água de carboneto de silício (BuehlerLtd., Lake Bluff, IL, USA) de granulação decrescente, sob refrigeração, adaptadas a uma politriz (Ecomet 3, BuehlerLtd., Lake Bluff, IL, USA), a fim de que houvesse a exposição de uma superfície dentinária plana, média e livre de esmalte, Foram utilizadas lixas de granulação 120 e 240 para expor a dentina. Em seguida, foi usada lixa 400 por 10 segundos e lixa 600 por 60 segundos para padronização da superfície(Figura 4.1).

Figura 4.1 – Preparo dos dentes: A) Terceiro molar hígido; B) Exposição e planificação da superfície dentinária em politriz

Após a obtenção das superfícies desejadas, os dentes foram lavados em água corrente, sendo imersos em água destilada sob refrigeração até o momento do uso. Nas superfícies dentinárias previamente lixadas foram aplicados os sistemas adesivos dos grupos correspondentes seguindo as recomendações do fabricante. Após a aplicação dos sistemas adesivos, um bloco de resina composta Z-350(3M ESPE, St. Paul, MN, USA) foi construído na superfície dentinária por meio

da técnica incremental, sendo cada camada, de aproximadamente 1mm, fotoativada por 20 segundos. O aparelho fotoativador utilizado foi o Jetlite 4000 (J. Morita USA Inc., Irvine, CA, USA com intensidade de 1400mW/cm^2 , medida pelo aparelho radiômetro CuringRadiometer P/N 10503-Model 100 (DemetromResearchCorp., Danbury, CT, USA), ao início de cada grupo (Figura 4.2).

Figura 4.2 – A) Inserção da resina composta; B) Fotoativação; C) Bloco de resina composta sobre a superfície dentinária hibridizada

Após 24 horas de armazenamento em água destilada, os dentes foram embutidos em tubos de PVC (Tigre, Joinville, SC, Brasil) com resina acrílica JET autopolimerizante (Artigos Odontológicos Clássico, São Paulo, SP, Brasil), na proporção 1:1, cuidando para que o limite amelodentinário ficasse 3mm acima da resina de inclusão. Cada bloco dente/adesivo/resina foi seccionado sob refrigeração constante com um disco de corte diamantado acoplado à máquina de corte (Isomet 1000, Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, USA) em planos paralelos, seguindo o longo eixo do dente. Posteriormente, cortes sequenciais, perpendiculares aos primeiros foram feitos, obtendo-se corpos de prova em forma de palito, com área de secção transversal de aproximadamente 1mm^2 . Para que o seccionamento dos corpos de prova fosse feito, os tubos de PVC com os dentes eram fixados a um dispositivo em L adaptado ao suporte da máquina de corte, de maneira que o dente ficasse paralelo ao disco de corte (Figura 4.3).

Figura 4.3 – A) Corte dos dentes; B) Cortes paralelos e perpendiculares; C) Espécimes selecionados para o experimento

Cada corpo de prova foi observado em lupa estereoscópica com 40x de aumento (SZ40, Olympus Corporation, Tokyo, Japan) para verificar se a interface adesiva estava perpendicular ao longo eixo do corpo de prova, já que essa é a condição necessária para que apenas forças de tração sejam aplicadas, evitando componentes de torção indesejáveis. Todos os corpos de prova que apresentaram interface adesiva inclinada em relação ao longo eixo do corpo de prova foram descartados (Figura 4.4).

Figura 4.4 – A) Palitos selecionados; B) Interface perpendicular ao longo eixo do corpo de prova

4.1 TESTE DE MICROTRAÇÃO

Previamente ao teste de microtração, cada corpo de prova teve a sua largura e espessura medidas com auxílio de um paquímetro digital com precisão de 0,01mm (Paquímetro Eletrônico Digital Mitsutoyo Sul Americana, Suzano, SP, Brasil). As extremidades dos corpos de prova foram coladas com cola gel de cianocrilato (Loctite 454, Henkel Ltda, Itapevi, SP, Brasil) no dispositivo de microtração Jig de Geraldeli de forma a posicionar a área adesiva perpendicularmente ao longo eixo da força de tração (Perdigão et al., 2002) (Figura 4.5).

Figura 4.5 – A) Palitos colado ao Jig de Geraldeli; B) Espécimes prontos para o teste

O conjunto foi fixado em máquina de ensaios universal Instron 2367 (Instron Co., Canton, MA, USA) e tracionado a uma velocidade de 0,5mm/min., até que ocorra a fratura (Figura 4.6).

Figura 4.6 – A) Máquina de ensaios universal Instron 2367; B) Tractionamento dos espécimes

Figura 4.7 – Software utilizado para aplicação do ensaio de microtração. Observar o comportamento de cada corpo no gráfico

Após a fratura, o valor da carga de ruptura em Newtons (N) será registrado (Figura 4.7) e o corpo de prova observado em lupa estereoscópica com 40x de aumento (SZ40, Olympus Corporation, Tokyo, Japan), para verificar o tipo de fratura, classificada como fratura na interface (falhas entre substrato e adesivo), coesiva em dentina, coesiva em resina (falhas na resina composta ou na camada de adesivo) e mistas (mais de um dos tipos citados). Apenas os espécimes que apresentaram fratura adesiva/mista (interface) foram usados no cálculo da resistência de união (Carrilho et al., 2002). Para tal, a carga de ruptura de cada corpo de prova foi dividida por sua área de união.

Para análise estatística dos dados os resultados obtidos foram convertidos para Mega Pascal (MPa) e cada dente foi considerado como uma unidade amostral e, assim, todos os corpos de prova de um mesmo dente deram origem a um único valor de resistência adesiva.

A análise dos dados desse trabalho experimental foi realizada pelo software SPSS Statistics 17.0. Para a variável resistência adesiva foram realizados de início testes de normalidade e homogeneidade separadamente para os fatores tempo e sistema adesivo. Em seguida foi utilizado o teste paramétrico de análise de variância ANOVA e o teste de múltipla comparação de Games Howell.

4.2 ESPECTROSCOPIA MICRO-RAMAN

Para a microscopia Raman foram utilizados 3 dentes para cada sistema adesivo, totalizando 12 dentes ($n=3$). Para obtenção dos espécimes foi utilizada a mesma técnica de corte da microtração, porém com dimensões diferentes. Cada espécime foi padronizado com dimensões de 1,5mm de espessura x 2mm de largura x 6mm de comprimento. As análises foram realizadas após 24 horas do preparo dos espécimes. Os espectros Raman dos espécimes foram registrados num espectrômetro Micro-Raman RENISHAW InVia com excitação em 785nm (laser de diodo, RENISHAW) acoplado a um microscópio LEICA DM2500M, com estágio motorizado (x;y;z) RENISHAW MS 20 EncodedStage com resoluções lateral e axial de 100nm e 1 μ m, respectivamente (Figura 4.8).

Figura 4.8 – Espectrômetro Micro-Raman com microscópio e estágio motorizado acoplado

O sistema é controlado via *software* (WiRE 3.0 RENISHAW) (Figura 4.9).

Figura 4.9 – Software controlador do sistema

Os mapeamentos foram realizados com dimensões variadas, no sentido dentina-resina, perpendicularmente à camada adesiva, com passo de $0,3\mu\text{m}$. Foi escolhido um passo menor que a área iluminada pelo laser para que a transição entre os diferentes domínios fosse descrita suavemente. A Figura 4.10 mostra exemplo de mapeamento para uma linha mapeada de $10\mu\text{m}$ a passos de $0,3\mu\text{m}$.

Figura 4.10 – Exemplo de mapeamento com passos de 0,3µm

Os espectros foram obtidos com excitação em 785nm fornecida por um laser de diodo RENISHAW com potência de saída de 300mW. Uma lente objetiva OLYMPUS com abertura numérica de 0,85 e magnificação de 100× foi utilizada para incidir e capturar a radiação espalhada em uma área iluminada de $\approx 1\text{-}2\mu\text{m}^2$ (Figura 4.11).

Figura 4.11 – Espectrômetro Micro-Raman com microscópio e estágio motorizado acoplado

Para os adesivos ScotchbondMulti-Purpose, Single Bond2 e EasyOne os espectros foram registrados com uma potência incidente na amostra de 15 mW, 25s de exposição e 1 acumulação espectral. Para o adesivo SEPlus os espectros foram

registrados com potência incidente na amostra de 75 mW, 10 s de exposição e 1 acumulação espectral. Em todos os espectros a radiação espalhada foi dispersa com uma rede de difração de 600 l.mm^{-1} e coletada num CCD (*Charge-Coupled Device*) refrigerado a ar e a janela espectral cobriu $800\text{-}2000 \text{ cm}^{-1}$. O equipamento foi calibrado com base na banda em $519,8 \text{ cm}^{-1}$ do Si. Todos os espectros tiveram seu sinal de fundo subtraído utilizando-se a implementação COBRA (Chris' Oarsum Background Removal Application) num ambiente MATLAB R2009a.

5 RESULTADOS

5.1 TESTE DE MICROTRAÇÃO

Este trabalho possui uma variável independente, que é a força de adesão, cuja unidade é MegaPascal (MPa). Os fatores de variação são dois: o tipo de adesivo e o tempo de armazenamento. A tabela 5.1 mostra a estatística descritiva e os parâmetros estatísticos dos dados.

Tabela 5.1 - Estatística descritiva e os parâmetros estatísticos dos dados. Variável dependente: MPa

Adesivo	Tempo	N	Média	D.P.	Erro	Min.	Max.
Scotchbond	1 dia	8	59,1888	2,86288	1,01218	56,03	63,28
	30 dias	8	49,7925	2,15670	,76251	46,77	53,21
	180 dias	8	43,0063	2,44983	,86614	39,30	45,75
Single Bond	1 dia	8	48,5038	1,06429	,37628	47,14	50,46
	30 dias	8	43,7950	1,79578	,63490	40,83	46,58
	180 dias	8	40,7738	1,93596	,68447	38,20	43,44
SE Plus	1 dia	8	27,2325	2,64122	,93381	23,61	31,64
	30 dias	8	26,2725	3,26352	1,15383	20,62	31,15
	180 dias	8	21,5275	1,63267	,57724	18,57	24,43
EasyOne	1 dia	8	21,0788	2,92546	1,03431	16,70	24,98
	30 dias	8	18,0213	1,24065	,43864	16,39	20,08
	180 dias	8	14,7963	,53316	,18850	14,24	15,70
Total		96	34,4991	14,26589	1,45601	14,24	63,28

5.1.1 Modelo experimental

O modelo estatístico escolhido para a análise dos dados deste estudo experimental foi o teste paramétrico de Análise de Variância (ANOVA) de dois fatores independentes, sendo a variável dependente, resistência adesiva (unidade = MPa) e os fatores de variação, Tipo de adesivo em 4 níveis (AdperScotchbondMulti-

Purpose; AdperSingle Bond 2; SE PlusPlus; AdperEasyOne) e Tempo de Armazenagem em 3 níveis (1 dia; 30 dias; 180 dias).

5.1.2 Teste de normalidade

Tabela 5.2 – Teste de normalidade para o fator Adesivos

	Adesivo	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
RA	Scotchbond	,107	24	,200 [*]	,957	24	,378
	Single Bond	,122	24	,200 [*]	,954	24	,326
	SE Plus	,109	24	,200 [*]	,967	24	,602
	EasyOne	,120	24	,200 [*]	,919	24	,055

O teste de homogeneidade de Kolmogorov-Smirnov (Tabela 5.2) apontou que para o fator adesivos, todos os adesivos estão normalmente distribuídos, com valores de $p > 0.05$.

Tabela 5.3 – Teste de normalidade para o fator Tempo

	Tempo	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
RA	1 dia	,196	32	,003	,876	32	,002
	30 dias	,205	32	,002	,867	32	,001
	180 dias	,245	32	,000	,817	32	,000

Para o fator Tempo temos desvios da condição de normalidade com valores de $p < 0.05$ (Tabela 5.3). Apesar de nem todas as amostras estarem distribuídas de maneira normal, o teste F da ANOVA é conhecidamente robusto à falta de normalidade.

5.1.3 Teste de homogeneidade

Tabela 5.4 – Teste de homogeneidade para o fator Adesivos

		LeveneStatistic	df1	df2	Sig.
RA	BasedonMean	9,905	3	92	,000
	BasedonMedian	8,343	3	92	,000
	Based on Median and with adjusted df	8,343	3	59,020	,000
	Basedontrimmedmean	9,777	3	92	,000

Para o fator adesivos o teste de homogeneidade de Levene(Tabela 5.4) apontou que $p < 0.05$, significativa, sendo então os dados não homogêneos.

Tabela 5.5 – Teste de homogeneidade para o fatorTempo

		LeveneStatistic	df1	df2	Sig.
RA	BasedonMean	4,707	2	93	,011
	BasedonMedian	4,354	2	93	,016
	Based on Median and with adjusted df	4,354	2	84,696	,016
	Basedontrimmedmean	4,706	2	93	,011

Para o fator tempo o teste de homogeneidade de Levene(Tabela 5.5) apontou que $p < 0.05$, significativa, sendo então os dados também não são homogêneos. Sendo assim, o teste complementar a ser realizado será o Games-Howell pelo fato dos dados não serem homogêneos.

5.1.4 Análise de Variância (ANOVA)

Tabela 5.6 – Análise de variância

Variável dependente RA					
Fonte de variação	Soma dos quadrados	gl	Média dos quadrados	F	Sig.
Adesivo	17512,777	3	5837,592	1006,047	,000
Tempo	1378,430	2	689,215	118,779	,000
Adesivo * Tempo	304,351	6	50,725	8,742	,000
Error	487,410	84	5,803		

O resultado do teste de ANOVA (Tabela 5.6) aponta que tanto o fator Tempos com $p < 0.01$, quanto o fator Adesivos com $p < 0.01$ são significantes, assim como a interação, que também é significativa com $p < 0.01$.

A tabela 5.7 traz o teste complementar de múltipla comparação de Tukey para as médias do fator Adesivos.

Tabela 5.7 - Teste complementar de múltipla comparação de Tukey para as médias do fator Adesivos

TukeyHSD ^a					
Adesivo	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
EasyOne	24	17,9654			
SE Plus	24		24,6029		
Single Bond	24			44,3575	
Scotchbond	24				50,6625
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

O gráfico 5.1 mostra os intervalos de confiança para os grupos do fator Adesivos.

Gráfico 5.1 - Intervalos de confiança de 95% para os grupos do fator Adesivos

De maneira geral pode-se observar que para o fator Adesivos, o adesivo Scotchbond apresenta os maiores valores de adesão seguido pelo Single Bond. Além disso, o Scotchbond também apresentou os valores com maior amplitude, como podemos ver no gráfico 5.1. Os adesivos SE Plus e EasyOne apresentaram valores de resistência adesiva bem inferior aos outros, como podemos observar na tabela 5.7, aonde os valores médios para os adesivos Scotchbond e SingleBond estão dentro de uma faixa de 44,36 a 50,66 MPa, enquanto que para os adesivos SE Plus e EasyOne estão numa faixa de 17,97 a 24,60 MPa. Porém, é importante ressaltar que todos os adesivos são estatisticamente diferentes entre si em relação à resistência adesiva.

A tabela 5.8 traz o teste complementar de múltipla comparação de Tukey para as médias do fator Tempo. Podemos observar que para 180 dias e 30 dias não há diferença significativa, assim como para 30 dias e 1 dia. Mas notamos que a resistência adesiva diminuiu ao longo do tempo. O gráfico 5.2 dos intervalos de

confiança ilustra este comportamento, mostrando uma tendência linear de diminuição dos valores de resistência adesiva.

Tabela 5.8 – Teste de Tukey (HSD) para os grupos do fator Tempo

TukeyHSD ^a			
Tempo	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
180 dias	32	29,7200	
30 dias	32	34,4703	34,4703
1 dia	32		39,0009
Sig.		,369	,403

O gráfico 5.2 mostra os intervalos de confiança para os grupos do fator tempo.

Gráfico 5.2 - Intervalos de confiança de 95% para os grupos do fator Tempo

As tabelas 5.9 e 5.10 trazem o teste complementar de Games Howell para as médias da Interação entre Adesivos e Tempo.

Tabela 5.9 - Teste de Games Howel (HSD) para os grupos da interação Adesivos x Tempo

Grupos	N	Games Howel						
		a	b	c	d	e	f	g
Easy 180 dias ^a	8	14,796 ± 0,53						
Easy 30 dias ^b	8		18,021 ± 1,24					
Easy 1 dia ^{b, c}	8		21,079 ± 2,93	21,079 ± 2,93				
SE 180 dias ^c	8			21,528 ± 1,63				
SE 30 dias ^{c, d}	8			26,273 ± 3,26	26,273 ± 3,26			
SE 1 dia ^d	8				27,233 ± 2,64			
Single 180 dias ^e	8					40,774 ± 1,94		
Scotch 180 dias ^e	8					43,006 ± 2,45		
Single 30 dias ^e	8					43,795 ± 1,80		
Single 1 dia ^f	8						48,504 ± 1,06	
Scotch 30 dias ^f	8						49,793 ± 2,16	
Scotch 1 dia ^g	8							59,189 ± 2,86

Tabela 5.10 - Interação Adesivos x Tempo

	Scotchbond	Single Bond	SE Plus	EasyOne
1 dia	59,189 ± 2,86	48,504 ± 1,06	27,233 ± 2,64	21,079 ± 2,93
30 dias	49,793 ± 2,16	43,795 ± 1,80	26,273 ± 3,26	18,021 ± 1,24
180 dias	43,006 ± 2,45	40,774 ± 1,94	21,528 ± 1,63	14,796 ± 0,53

O gráfico 5.3 mostra os intervalos de confiança para os grupos da interação adesivo x tempo.

Gráfico 5.3 - Intervalos de confiança de 95% para os grupos da interação Adesivos x Tempo

As múltiplas comparações da interação entre os fatores Adesivos e Tempo estão dispostas nas tabelas 5.9 e 5.10. Pode-se observar que a interação ocorre devido a diferença de comportamento dos diferentes adesivos em função do tempo. O adesivo ScotchbondMulti-Purpose após 1 dia apresentou o maior valor de resistência adesiva. Após 30 dias apresentou valores semelhantes ao Single Bond após 1 dia, e após 180 dias apresentou valores semelhantes ao Single Bond após 30 dias e após 180 dias. Já o SE Plus apresentou valores semelhantes após 1 dia e após 30 dias. O adesivo EasyOne após 1 dia apresentou valores semelhantes ao SE Plus após 30 dias e após 180 dias. O adesivo EasyOne após 180 dias apresentou os menores valores de resistência adesiva, não sendo semelhante a nenhum outro

adesivo. Podemos observar ainda que os adesivos ScotchbondMulti-Purpose e Single Bond mesmo após 180 dias, apresentam valores de resistência adesiva maiores que os adesivos SE Plus e EasyOne após 1 dia de armazenamento.

5.1.5 Análise das fraturas

Tabela 5.11 – Porcentagem do tipo de fratura

Tempo	Tipo de fratura	Scotchbond MP	Single Bond	SE Plus	EasyOne
1 dia	Adesiva	42%	51%	37%	36%
	Mista	51%	42%	60%	50%
	Coesiva em dentina	5%	5%	3%	6%
	Coesiva em resina	2%	2%	0%	8%
30 dias	Adesiva	30%	40%	35%	43%
	Mista	40%	51%	51%	45%
	Coesiva em dentina	16%	2%	10%	4%
	Coesiva em resina	4%	7%	4%	8%
180 dias	Adesiva	28%	42%	37%	29%
	Mista	57%	50%	52%	44%
	Coesiva em dentina	3%	2%	9%	1%
	Coesiva em resina	12%	6%	2%	26%

Observamos que todos os adesivos independente do tempo de armazenamento apresentaram uma predominância de fraturas mistas seguida pelas fraturas do tipo adesiva, com exceção do adesivo Single Bond, que no período de armazenamento de 1 dia apresentou uma predominância de fraturas adesivas. As fraturas mistas corresponderam em média à metade do tipo de fraturas ocorridas em todos os adesivos e tempos. As fraturas coesivas, tanto em dentina como em resina foram as que tiveram menor incidência em todas as amostras.

5.2 ESPECTROSCOPIA MICRO-RAMAN

5.2.1 Adesivo Adper Scotchbond Multi-Purpose

Os espectros de referência obtidos relativos à dentina, ao adesivo Scotchbond Multi-Purpose e à resina são mostrados no gráfico 5.4.

Gráfico 5.4 - Espectros Raman obtidos para dentina, adesivo Scotchbond e resina

A banda em 961cm^{-1} é atribuída ao modo de estiramento totalmente simétrico do grupo $(\text{PO}_4)^{3-}$, que é o componente mineral da apatita da dentina. Já a banda em 1457cm^{-1} está associada ao grupo alquila CH_2 presente no HEMA e no Bis-GMA do sistema adesivo. O adesivo teve sua distribuição espacial mapeada com base na banda centrada em $\approx 1455\text{cm}^{-1}$, atribuída à deformação angular no plano do grupo CH_2 (metileno). Já o pico de intensidade em 1522cm^{-1} está associado com a resina composta.

Gráfico 5.5 - Espectros Raman obtidos em intervalos de 1µm através da interface dentina-resina do adesivo ScotchbondMulti-Purpose

O gráfico 5.5 ilustra os 141 espectros obtidos no mapeamento da primeira amostra do ScotchbondMulti-Purpose, aonde podemos observar através de um deslocamento de 30µm no sentido dentina-resina as diferentes bandas correspondentes à dentina, ao adesivo ScotchbondMulti-Purpose e à resina. Cada espectro foi obtido no intervalo de 0,3µm, que é a precisão do estágio X-Y utilizado. Podemos observar a intensidade das bandas da dentina diminuindo conforme caminha-se para a resina ao mesmo tempo que ocorre o aumento da intensidade das bandas do adesivo e da resina.

Gráfico 5.6 - Penetração do adesivo ScotchbondMulti-Purpose em função do deslocamento

No gráfico 5.6 podemos observar a intensidade das bandas através do deslocamento em μm . A partir do ponto em $13,8\mu\text{m}$ observamos a queda gradual do sinal da dentina até o ponto em $18,9\mu\text{m}$, abrangendo uma faixa de $5,1\mu\text{m}$ que corresponde à camada híbrida, aonde ocorreu uma desmineralização da dentina e a infiltração do sistema adesivo. Percebe-se o início do aumento da intensidade do adesivo $4,8\mu\text{m}$ antes da queda da intensidade da dentina, provavelmente caracterizando um túbulo dentinário. As linhas vermelhas correspondem à regressão sigmoidal utilizada para determinar a faixa desmineralização da dentina assim como a penetração do adesivo. Para a desmineralização da dentina foi considerado o início a partir de uma queda de 10% da intensidade da banda referente à dentina. Assim como para o adesivo foi considerado a penetração a partir de 10% do aumento da intensidade da banda referente ao adesivo.

Gráfico 5.7 - Espectros Raman obtidos em intervalos de 1µm através da interface dentina-resina do adesivo ScotchbondMulti-Purpose

O gráfico 5.7 ilustra os 147 espectros obtidos no mapeamento dessa segunda amostra do ScotchbondMulti-Purpose, aonde podemos observar através de um deslocamento de 30µm no sentido dentina-resina as diferentes bandas correspondentes à dentina, ao adesivo ScotchbondMulti-Purpose e à resina. Cada espectro foi obtido no intervalo de 0,3µm, que é a precisão do estágio X-Y utilizado. Podemos observar a intensidade das bandas da dentina diminuindo conforme caminha-se para a resina ao mesmo tempo que ocorre o aumento da intensidade das bandas do adesivo e da resina.

Gráfico 5.8 - Penetração do adesivo ScotchbondMulti-Purpose em função do deslocamento

No gráfico 5.8 observamos a queda gradual do sinal da dentina a partir do ponto em 8,7 μm até o ponto em 13,5 μm abrangendo uma faixa de 4,8 μm , correspondente à região de desmineralização da dentina com a infiltração do adesivo ScotchbondMulti-Purpose. Novamente nota-se que a intensidade da banda do adesivo começa 5,2 μm antes do início da queda do sinal do adesivo, provavelmente caracterizando um túbulo dentinário. As linhas vermelhas correspondem à regressão sigmoidal utilizada para determinar a faixa desmineralização da dentina assim como a penetração do adesivo. Para a desmineralização da dentina foi considerado o início a partir de uma queda de 10% da intensidade da banda referente à dentina. Assim como para o adesivo foi considerado a penetração a partir de 10% do aumento da intensidade da banda referente ao adesivo.

Gráfico 5.9 - Espectros Raman obtidos em intervalos de 1 μ m através da interface dentina-resina do adesivo ScotchbondMulti-Purpose

O gráfico 5.9 ilustra os 141 espectros obtidos no mapeamento dessa terceira amostra do ScotchbondMulti-Purpose, aonde podemos observar através de um deslocamento de 30 μ m no sentido dentina-resina as diferentes bandas correspondentes à dentina, ao adesivo ScotchbondMulti-Purpose e à resina. Cada espectro foi obtido no intervalo de 0,3 μ m, que é a precisão do estágio X-Y utilizado. Podemos observar a intensidade das bandas da dentina diminuindo conforme caminha-se para a resina ao mesmo tempo que ocorre o aumento da intensidade das bandas do adesivo e da resina.

Gráfico 5.10 - Penetração do adesivo ScotchbondMulti-Purpose em função do deslocamento

No gráfico 5.10 observamos a queda gradual do sinal da dentina a partir do ponto em $15,9\mu\text{m}$ até o ponto em $20,5\mu\text{m}$ formando uma região de extensão de $4,6\mu\text{m}$, aonde ocorreu uma desmineralização da dentina e a infiltração do adesivo. A região com extensão de $6,4\mu\text{m}$ provavelmente caracteriza um túbulo dentinário, aonde observa-se a penetração do sistema adesivo sem queda do sinal da dentina. As linhas vermelhas correspondem à regressão sigmoidal utilizada para determinar a faixa desmineralização da dentina assim como a penetração do adesivo. Para a desmineralização da dentina foi considerado o início a partir de uma queda de 10% da intensidade da banda referente à dentina. Assim como para o adesivo foi considerado a penetração a partir de 10% do aumento intensidade da banda referente ao adesivo.

5.2.2 Adesivo Adper Single Bond 2

Os espectros de referência obtidos relativos à dentina, ao adesivo Single Bond e à resina são mostrados no gráfico 5.11.

Gráfico 5.11 - Espectros Raman obtidos para dentina, adesivo Single Bond e resina

A banda em 961 cm^{-1} é atribuída ao modo de estiramento totalmente simétrico do grupo $(\text{PO}_4)^{3-}$, que é o componente mineral da apatita da dentina. Já a banda em 1456 cm^{-1} está associada ao grupo alquila CH_2 presente no HEMA e no Bis-GMA. O adesivo teve sua distribuição espacial mapeada com base na banda centrada em $\approx 1455\text{ cm}^{-1}$, atribuída à deformação angular no plano do grupo CH_2 (metileno). Já o pico de intensidade em 1522 cm^{-1} está associado com a resina composta.

Gráfico 5.12 - Espectros Raman obtidos em intervalos de 1 μ m através da interface dentina-resina do adesivo Single Bond

O gráfico 5.12 ilustra os 184 espectros obtidos no mapeamento dessa primeira amostra do Single Bond, aonde podemos observar através de um deslocamento de 30 μ m no sentido dentina-resina as diferentes bandas correspondentes à dentina, ao adesivo Single Bond e à resina. Cada espectro foi obtido no intervalo de 0,3 μ m, que é a precisão do estágio X-Y utilizado. Podemos observar a intensidade das bandas da dentina diminuindo conforme caminha-se para a resina ao mesmo tempo que ocorre o aumento da intensidade das bandas do adesivo e da resina.

Gráfico 5.13 - Penetração do adesivo Single Bond em função do deslocamento

No gráfico 5.13 observamos a queda gradual do sinal da dentina a partir do ponto em 15,9 μm que se estende até o ponto em 20,8 μm caracterizando uma região com extensão de 4,9 μm , aonde ocorreu uma desmineralização da dentina e a infiltração do adesivo. A região com extensão de 4,6 μm caracteriza-se pela ausência de desmineralização, porém com a presença do adesivo, o que sugere ser um túbulo dentinário preenchido por resina. As linhas vermelhas correspondem à regressão sigmoidal utilizada para determinar a faixa desmineralização da dentina assim como a penetração do adesivo. Para a desmineralização da dentina foi considerado o início a partir de uma queda de 10% da intensidade da banda referente à dentina. Assim como para o adesivo foi considerado a penetração a partir de 10% do aumento da intensidade da banda referente ao adesivo.

Gráfico 5.14 - Espectros Raman obtidos em intervalos de 1μm através da interface dentina-resina do adesivo Single Bond

O gráfico 5.14 ilustra os 161 espectros obtidos no mapeamento dessa segunda amostra do Single Bond, aonde podemos observar através de um deslocamento de 30μm no sentido dentina-resina as diferentes bandas correspondentes à dentina, ao adesivo Single Bond e à resina. Cada espectro foi obtido no intervalo de 0,3μm, que é a precisão do estágio X-Y utilizado. Podemos observar a intensidade das bandas da dentina diminuindo conforme caminha-se para a resina ao mesmo tempo que ocorre o aumento da intensidade das bandas do adesivo e da resina.

Gráfico 5.15 - Penetração do adesivo Single Bond em função do deslocamento

No gráfico 5.15 observamos a queda gradual do sinal da dentina a partir do ponto em 18,6 μm que se estende até o ponto em 23,0 μm caracterizando uma região com extensão de 4,4 μm , aonde ocorreu uma desmineralização da dentina e a infiltração do adesivo. Nessa amostra observamos uma extensa região de 12,4 μm na qual ocorre a penetração do sistema adesivo sem queda do sinal da dentina, o que provavelmente caracteriza um túbulo dentinário preenchido por adesivo. As linhas vermelhas correspondem à regressão sigmoidal utilizada para determinar a faixa desmineralização da dentina assim como a penetração do adesivo. Para a desmineralização da dentina foi considerado o início a partir de uma queda de 10% da intensidade da banda referente à dentina. Assim como para o adesivo foi considerado a penetração a partir de 10% do aumento da intensidade da banda referente ao adesivo.

Gráfico 5.16 - Espectros Raman obtidos em intervalos de 1μm através da interface dentina-resina do adesivo Single Bond

O gráfico 5.16 ilustra os 167 espectros obtidos no mapeamento dessa terceira amostra do Single Bond, aonde podemos observar através de um deslocamento de 30μm no sentido dentina-resina as diferentes bandas correspondentes à dentina, ao adesivo Single Bond e à resina. Cada espectro foi obtido no intervalo de 0,3μm, que é a precisão do estágio X-Y utilizado. Podemos observar a intensidade das bandas da dentina diminuindo conforme caminha-se para a resina ao mesmo tempo que ocorre o aumento da intensidade das bandas do adesivo e da resina.

Gráfico 5.17 - Penetração do adesivo Single Bond em função do deslocamento

No gráfico 5.17 observamos a queda gradual do sinal da dentina a partir do ponto em 9 μm que se estende até o ponto em 13,9 μm caracterizando uma região com extensão de 4,9 μm , aonde ocorreu uma desmineralização da dentina e a infiltração do adesivo. A região com extensão de 8,1 μm provavelmente caracteriza um túbulo dentinário preenchido por adesivo, aonde observa-se a penetração do sistema adesivo sem queda do sinal da dentina. As linhas vermelhas correspondem à regressão sigmoidal utilizada para determinar a faixa desmineralização da dentina assim como a penetração do adesivo. Para a desmineralização da dentina foi considerado o início a partir de uma queda de 10% da intensidade da banda referente à dentina. Assim como para o adesivo foi considerado a penetração a partir de 10% do aumento da intensidade da banda referente ao adesivo.

5.2.3 Adesivo Adper SE Plus

Os espectros de referência obtidos relativos à dentina, ao adesivo SE Plus e à resina são mostrados no gráfico 5.18.

Gráfico 5.18 - Espectros Raman obtidos para dentina, adesivo SE Plus e resina

A banda em 961 cm^{-1} é atribuída ao modo de estiramento totalmente simétrico do grupo $(\text{PO}_4)^{3-}$, que é o componente mineral da apatita da dentina. Já a banda em 1453 cm^{-1} está associada ao grupo alquila CH_2 presente no HEMA e no Bis-GMA. O adesivo teve sua distribuição espacial mapeada com base na banda centrada em $\approx 1455 \text{ cm}^{-1}$, atribuída à deformação angular no plano do grupo CH_2 (metileno). Já o pico de intensidade em 1522 cm^{-1} está associado com a resina composta.

Gráfico 5.19 - Espectros Raman obtidos em intervalos de 1 μ m através da interface dentina-resina do adesivo SE Plus

O gráfico 5.19 ilustra os 236 espectros obtidos no mapeamento dessa primeira amostra do SE Plus, aonde podemos observar através de um deslocamento de 30 μ m no sentido dentina-resina as diferentes bandas correspondentes à dentina, ao adesivo SE Plus e à resina. Cada espectro foi obtido no intervalo de 0,3 μ m, que é a precisão do estágio X-Y utilizado. Podemos observar a intensidade das bandas da dentina diminuindo conforme caminha-se para a resina ao mesmo tempo que ocorre o aumento da intensidade das bandas do adesivo e da resina.

Gráfico 5.20 - Penetração do adesivo SE Plus em função do deslocamento

No gráfico 5.20 observamos a queda gradual porém mais brusca do sinal da dentina a partir do ponto em 10μm que se estende até o ponto em 18,6μm caracterizando uma região com extensão de 8,6μm, aonde ocorreu uma desmineralização da dentina. Do ponto em 10μm até o ponto em 12,9μm não ocorreu penetração do adesivo, sugerindo que houve uma desmineralização da dentina, porém sem infiltração do adesivo polimerizado. A camada híbrida compreende um tamanho de 5,7μm. As linhas vermelhas correspondem à regressão sigmoidal utilizada para determinar a faixa desmineralização da dentina assim como a penetração do adesivo. Para a desmineralização da dentina foi considerado o início a partir de uma queda de 10% da intensidade da banda referente à dentina. Assim como para o adesivo foi considerado a penetração a partir de 10% do aumento da intensidade da banda referente ao adesivo.

Gráfico 5.21 - Espectros Raman obtidos em intervalos de 1 μ m através da interface dentina-resina do adesivo SE Plus

O gráfico 5.21 ilustra os 224 espectros obtidos no mapeamento dessa segunda amostra do SE Plus, aonde podemos observar através de um deslocamento de 30 μ m no sentido dentina-resina as diferentes bandas correspondentes à dentina, ao adesivo SE Plus e à resina. Cada espectro foi obtido no intervalo de 0,3 μ m, que é a precisão do estágio X-Y utilizado. Podemos observar a intensidade das bandas da dentina diminuindo conforme caminha-se para a resina ao mesmo tempo que ocorre o aumento da intensidade das bandas do adesivo e da resina.

Gráfico 5.22 - Penetração do adesivo SE Plus em função do deslocamento

No gráfico 5.22 observamos uma queda brusca do sinal da dentina a partir do ponto em $5,1\mu\text{m}$ que se estende até o ponto em $10,3\mu\text{m}$ caracterizando uma região com extensão de $5,2\mu\text{m}$, aonde ocorreu uma desmineralização da dentina, porém sem a total infiltração do adesivo polimerizado. Do ponto em $5,1\mu\text{m}$ até o ponto em $6,6\mu\text{m}$ não ocorreu penetração do adesivo, o que caracteriza uma camada híbrida de $1,5\mu\text{m}$ de espessura. As linhas vermelhas correspondem à regressão sigmoidal utilizada para determinar a faixa desmineralização da dentina assim como a penetração do adesivo. Para a desmineralização da dentina foi considerado o início a partir de uma queda de 10% da intensidade da banda referente à dentina. Assim como para o adesivo foi considerado a penetração a partir de 10% do aumento da intensidade da banda referente ao adesivo.

Gráfico 5.23 - Espectros Raman obtidos em intervalos de 1 μ m através da interface dentina-resina do adesivo SE Plus

O gráfico 5.23 ilustra os 218 espectros obtidos no mapeamento dessa terceira amostra do SE Plus, aonde podemos observar através de um deslocamento de 30 μ m no sentido dentina-resina as diferentes bandas correspondentes à dentina, ao adesivo SE Plus e à resina. Cada espectro foi obtido no intervalo de 0,3 μ m, que é a precisão do estágio X-Y utilizado. Podemos observar a intensidade das bandas da dentina diminuindo conforme caminha-se para a resina ao mesmo tempo que ocorre o aumento da intensidade das bandas do adesivo e da resina.

Gráfico 5.24 - Penetração do adesivo SE Plus em função do deslocamento

No gráfico 5.22 observamos a queda gradual do sinal da dentina a partir do ponto em $9\mu\text{m}$ que se estende até o ponto em $15,2\mu\text{m}$ caracterizando uma região com extensão de $2,9\mu\text{m}$, aonde ocorreu uma desmineralização da dentina. Do ponto em $9\mu\text{m}$ até o ponto em $12,3\mu\text{m}$ não ocorreu penetração do adesivo, sugerindo que houve uma desmineralização da dentina, porém sem infiltração do adesivo polimerizado. A camada híbrida tem uma espessura de $2,9\mu\text{m}$. As linhas vermelhas correspondem à regressão sigmoidal utilizada para determinar a faixa desmineralização da dentina assim como a penetração do adesivo. Para a desmineralização da dentina foi considerado o início a partir de uma queda de 10% da intensidade da banda referente à dentina. Assim como para o adesivo foi considerado a penetração a partir de 10% do aumento da intensidade da banda referente ao adesivo.

5.2.4 Adesivo Adper EasyOne

Os espectros de referência obtidos relativos à dentina, ao adesivo EasyOne e à resina são mostrados no gráfico 5.25.

Gráfico 5.25 - Espectros Raman obtidos para dentina, adesivo Easy One e resina

A banda em 961 cm^{-1} é atribuída ao modo de estiramento totalmente simétrico do grupo $(\text{PO}_4)^{3-}$, que é o componente mineral da apatita da dentina. Já a banda em 1457 cm^{-1} está associada ao grupo alquila CH_2 presente no HEMA e no Bis-GMA. O adesivo teve sua distribuição espacial mapeada com base na banda centrada em $\simeq 1455\text{ cm}^{-1}$, atribuída à deformação angular no plano do grupo CH_2 (metileno). Já o pico de intensidade em 1522 cm^{-1} está associado com a resina composta.

Gráfico 5.26 - Espectros Raman obtidos em intervalos de 1μm através da interface dentina-resina do adesivo Easy One

O gráfico 5.26 ilustra os 191 espectros obtidos no mapeamento dessa primeira amostra do EasyOne, aonde podemos observar através de um deslocamento de 30μm no sentido dentina-resina as diferentes bandas correspondentes à dentina, ao adesivo EasyOne e à resina. Cada espectro foi obtido no intervalo de 0,3μm, que é a precisão do estágio X-Y utilizado. Podemos observar a intensidade das bandas da dentina diminuindo conforme caminha-se para a resina ao mesmo tempo que ocorre o aumento da intensidade das bandas do adesivo e da resina.

Gráfico 5.27 - Penetração do adesivo Easy One em função do deslocamento

No gráfico 5.27 observamos a queda gradual do sinal da dentina a partir do ponto em 14 μm que se estende até o ponto em 18,9 μm caracterizando uma região com extensão de 4,9 μm , aonde ocorreu uma desmineralização da dentina e a infiltração do adesivo. A região com extensão de 6 μm provavelmente caracteriza um túbulo dentinário, aonde observa-se a penetração do sistema adesivo sem queda do sinal da dentina. As linhas vermelhas correspondem à regressão sigmoideal utilizada para determinar a faixa desmineralização da dentina assim como a penetração do adesivo. Para a desmineralização da dentina foi considerado o início a partir de uma queda de 10% da intensidade da banda referente à dentina. Assim como para o adesivo foi considerado a penetração a partir de 10% do aumento da intensidade da banda referente ao adesivo.

Gráfico 5.28 - Espectros Raman obtidos em intervalos de 1 μ m através da interface dentina-resina do adesivo Easy One

O gráfico 5.28 ilustra os 194 espectros obtidos no mapeamento dessa segunda amostra do EasyOne, aonde podemos observar através de um deslocamento de 30 μ m no sentido dentina-resina as diferentes bandas correspondentes à dentina, ao adesivo EasyOne e à resina. Cada espectro foi obtido no intervalo de 0,3 μ m, que é a precisão do estágio X-Y utilizado. Podemos observar a intensidade das bandas da dentina diminuindo conforme caminha-se para a resina ao mesmo tempo que ocorre o aumento da intensidade das bandas do adesivo e da resina.

Gráfico 5.29 - Penetração do adesivo Easy One em função do deslocamento

No gráfico 5.29 observamos a queda gradual do sinal da dentina a partir do ponto em 13,5 μm que se estende até o ponto em 19,1 μm caracterizando uma região com extensão de 5,6 μm , aonde ocorreu uma desmineralização da dentina e a infiltração do adesivo. A região com extensão de 9,9 μm provavelmente caracteriza um túbulo dentinário, aonde se observa a penetração do sistema adesivo sem queda do sinal da dentina. As linhas vermelhas correspondem à regressão sigmoidal utilizada para determinar a faixa desmineralização da dentina assim como a penetração do adesivo. Para a desmineralização da dentina foi considerado o início a partir de uma queda de 10% da intensidade da banda referente à dentina. Assim como para o adesivo foi considerado a penetração a partir de 10% do aumento da intensidade da banda referente ao adesivo.

Gráfico 5.30 - Espectros Raman obtidos em intervalos de 1 μ m através da interface dentina-resina do adesivo Easy One

O gráfico 5.30 ilustra os 184 espectros obtidos no mapeamento dessa terceira amostra do EasyOne, aonde podemos observar através de um deslocamento de 30 μ m no sentido dentina-resina as diferentes bandas correspondentes à dentina, ao adesivo EasyOne e à resina. Cada espectro foi obtido no intervalo de 0,3 μ m, que é a precisão do estágio X-Y utilizado. Podemos observar a intensidade das bandas da dentina diminuindo conforme caminha-se para a resina ao mesmo tempo que ocorre o aumento da intensidade das bandas do adesivo e da resina.

Gráfico 5.31 - Penetração do adesivo Easy One em função do deslocamento

No gráfico 5.31 observamos a queda gradual do sinal da dentina a partir do ponto em 11,4 μm que se estende até o ponto em 16,2 μm caracterizando uma região com extensão de 4,8 μm , aonde ocorreu uma desmineralização da dentina e a infiltração do adesivo. A região com extensão de 3,2 μm provavelmente caracteriza um túbulo dentinário, aonde se observa a penetração do sistema adesivo sem queda do sinal da dentina. As linhas vermelhas correspondem à regressão sigmoidal utilizada para determinar a faixa desmineralização da dentina assim como a penetração do adesivo. Para a desmineralização da dentina foi considerado o início a partir de uma queda de 10% da intensidade da banda referente à dentina. Assim como para o adesivo foi considerado a penetração a partir de 10% do aumento da intensidade da banda referente ao adesivo.

6 DISCUSSÃO

Procedimentos adesivos à dentina sofreram mudanças revolucionárias nas últimas duas ou três décadas. O avanço mais significativo foi o reconhecimento de que uma boa adesão entre dente e material restaurador é de extrema importância para assegurar sua durabilidade (Vaidyanathan; Vaidyanathan, 2009). Revisões recentes sobre a durabilidade da ligação resina-dentina e seus respectivos resultados clínicos formaram uma riqueza de informações que refletem o avançado estado de conhecimento dos sistemas adesivos e como melhoras podem ser feitas. Testar a resistência adesiva em combinação com a análise estrutural da interface tem sido utilizado para se medir a efetividade dos adesivos e as estratégias para se melhorar a durabilidade da ligação dentina-resina (Carvalho et al., 2011).

Sabendo que a alta força de adesão não é um critério único para uma adesão bem sucedida, é de extrema importância observar a qualidade da camada híbrida, uma vez que ela determina sua durabilidade através do tempo (Prati et al., 1999). Para avaliar a resistência de união, utilizamos o teste de microtração, que desde a sua introdução permitiu medir a resistência adesiva em superfícies bem pequenas e tem como vantagem a produção de vários espécimes a partir do mesmo dente extraído. Além disso, espécimes que apresentaram falhas coesivas em dentina ou resina foram descartados por não serem representativos da resistência adesiva (Scherrer et al., 2010).

Para complementar o teste de microtração foi realizado a espectroscopia micro-Raman, com o objetivo de analisar a estruturada interface adesiva dos sistemas adesivos testados. Devido à espessura muito pequena da camada híbrida, é necessária uma alta resolução para analisar a estrutura dessa camada. Por isso a espectroscopia micro-Raman é uma técnica analítica muito útil para se estudar a composição e a estrutura de uma amostra e, uma vez que os espectros são atribuídos às moléculas e o laser tem um ponto focal pequeno (0,6 - 0,8 μm), uma alta resolução da amostra pode ser adquirida (Miyazaki et al., 2002). Além disso, não foi necessária a desidratação ou qualquer preparo das amostras, e a obtenção dos espectros puderam ser realizadas em condições ambiente, que também são outras vantagens da espectroscopia micro-Raman (Spencer et al., 2000).

Todos os adesivos apresentaram uma queda na resistência de união através do tempo (Gráfico 5.2, Tabela 5.10), reforçando que a durabilidade da união resina-dentina não parece ser dependente do adesivo, indiferente da estratégia utilizada (Osorio et al., 2008). A deterioração da efetividade de união é supostamente causada tanto pela degradação dos componentes da interface pela hidrólise como pela diminuição das propriedades mecânicas da matriz polimérica (Ferracane et al., 1998).

Tanto nos sistemas adesivos condicione-e-lave como nos sistemas adesivos auto-condicionantes testados nesse estudo, os adesivos simplificados de frasco-único apresentaram um desempenho pior em relação aos seus similares de dois-frascos em relação à resistência adesiva (Gráfico 5.1). Uma das hipóteses é que adesivos simplificados são conhecidos por serem mais suscetíveis à separação de fase, e que na presença de água a separação de entre componentes hidrofóbicos e hidrofílicos não polimerizados pode ocorrer facilmente sendo incerto como a hidrofobicidade dos componentes fotoiniciadores afetarão a polimerização dos adesivos. A canforquinona utilizada nos adesivos testados é relativamente hidrofóbica e por isso quando ocorre a separação de fase, ela tende a permanecer na fase hidrofóbica, prejudicando a polimerização do HEMA que penetra na matriz de colágeno (Guo et al., 2007). Diferenças como grau de polimerização e grau de conversão dos adesivos não foram avaliados e influem diretamente na camada adesiva, tornando-a com maior ou menor resistência e impermeabilidade (De Munck et al., 2007).

Além disso, adesivos de frasco-único são caracterizados por ter uma degradação hidrolítica específica se comparados aos adesivos de dois-frascos. Isso acontece pela viscosidade maior dos adesivos frasco-único que afetam o grau de conversão perto da superfície. O aumento da viscosidade dos adesivos frasco-único permite que ocorra uma difusão maior de oxigênio e de água da dentina para a superfície da camada inibida de oxigênio transformando a camada adesiva em uma membrana semipermeável e prejudicando a polimerização da interface adesivo-resina. O aumento da viscosidade também faz com que a espessura da camada inibida de oxigênio dos adesivos frasco-único também seja maior do que em adesivos de dois-frascos.

Consequentemente, adesivos frasco-único tendem a ter um desempenho pior que adesivos de dois-frascos (Hashimoto et al., 2009), sendo exatamente o resultado

obtido nesse estudo (Gráfico 5.3). Nos adesivos condicione-e-lave avaliados, apesar de terem espessura de camada híbrida semelhantes, o ScotchbondMulti-Purpose apresentou valores de resistência adesiva maiores se comparados aos do SingleBond. O adesivo ScotchbondMulti-Purpose apresentou os maiores valores de resistência adesiva para todos os tempos (Tabela 5.9), com valores compatíveis com os encontrados em outros estudos (Kenshima et al., 2005; De Menezes et al., 2006; Cekic-Nagas et al., 2008), seguido pelo adesivo Single Bond também com valores de resistência adesiva compatíveis com a literatura (Carrilho et al., 2005; Proença et al., 2007; Waidyasekera et al., 2007; De Goe et al., 2008). Uma das explicações para esses resultados é que a maioria dos adesivos condicione-e-lave de dois frascos, inclusive o ScotchbondMulti-Purpose, utilizam “bond” sem solvente. Esse “bond” é aplicado sobre o “primer” rico em solvente, cobrindo-o com uma camada densa e hidrofóbica que sela a dentina condicionada (Brackett et al., 2005; King et al., 2005). Isso faz com que o adesivo tenha uma maior resistência adesiva e reduza a nanoinfiltração (Reis et al., 2008).

Analisando os resultados da espectroscopia micro-Raman, pudemos perceber que em todos os adesivos, com exceção do SE Plus, ocorreu uma penetração do adesivo em uma região não desmineralizada da dentina, abaixo da camada híbrida, o que provavelmente caracteriza a penetração de adesivo nos túbulos dentinários e sua polimerização, formando os chamados “tags” de resina. O adesivo ScotchbondMulti-Purpose apresentou uma homogeneidade maior das amostras, principalmente no tamanho dos “tags” de resina (Gráficos 5.6, 5.8 e 5.10). O SingleBond apresentou uma variação maior no tamanho dos “tags” e também “tags” maiores (Gráficos 5.13, 5.15 e 5.17), mas pode ser tanto por uma penetração maior dentro do túbulo devido à uma maior hidrofiliabilidade desse adesivo, como pode ser apenas por uma diferença na disposição do túbulo das amostras. Esse último fator parece ser menos provável, uma vez que cada amostra foi feita a partir de um dente diferente. De qualquer maneira, adesivos condicione-e-lave de dois-frascos formam camadas adesivas mais duráveis que os adesivos de frasco-único (De Munck et al., 2005).

O sistema adesivo SE Plus apresentou uma camada híbrida muito fina em duas amostras (Gráficos 5.22 e 5.24). Já o adesivo AdperEasyOne apresentou camadas híbridas mais espessas e formação de “tags” de resina, ao contrário do adesivo SE Plus que apresentou a ausência deles (Gráficos 5.27, 5.29 e 5.31).

Sabemos que adesivos auto-condicionantes de frasco único possuem menor viscosidade e maior acidez ($\text{pH} \leq 1$) que o “*primer*” de adesivos auto-condicionantes de dois frascos ($\text{pH} 1,9 - 2,4$), o que facilitaria a desmineralização da dentina e consequentemente uma otimização na penetração do adesivo (Tay; Pashley, 2003; Van Landuyt et al., 2005). Além disso, a literatura mostra que “*tags*” de resina típicos são formados somente com adesivos auto-condicionantes de acidez forte (Van Meerbeek et al., 2010), o que explica a formação de “*tags*” nas amostras do adesivo EasyOne e a ausência de “*tags*” no SE Plus. Para acrescentar, adesivos auto-condicionantes frasco-único tendem a ser mais hidrofílicos e consequentemente a ter um parâmetro de solubilidade Hoy mais próximo ao da dentina, o que levará a uma melhor penetração do adesivo (Nishitani et al., 2006). Um fato interessante é que as amostras do adesivo SE Plus apresentaram uma camada com desmineralização da dentina sem a penetração do sistema adesivo ou a polimerização dele (Gráficos 5.27, 5.29 e 5.31). O “Líquido A” do SE Plus é uma solução de água-HEMA sem capacidade de condicionamento, e o “Líquido B” é composto por monômeros ácidos hidrofílicos e monômeros hidrofóbicos. O que pode ter ocorrido é uma separação de fase e a penetração de monômeros ácidos hidrofílicos ter condicionado a dentina, mas sem ocorrer a sua polimerização nessa camada e sem a penetração de monômeros hidrofóbicos.

Apesar do adesivo EasyOne apresentar uma profundidade de penetração maior que o adesivo SE Plus, ele obteve uma resistência adesiva menor (Tabela 5.10). É reportado na literatura uma relação negativa entre redução de número de passos e força de adesão, sendo encontrado baixos valores de adesão à dentina para adesivos auto-condicionantes de passo-único, como foi encontrado nesse estudo (Perdigão et al., 2006; Yazici et al., 2007; Sarret et al., 2010). Vários fatores comprometem a resistência adesiva dos adesivos auto-condicionantes de frasco-único. Para começar, o processo de condicionamento através de sua acidez forte, faz com que desestabilize o colágeno, levando a uma queda na resistência (Toledano et al., 2007). Por conterem uma grande concentração de monômeros hidrofílicos, faz com que sejam hidroliticamente menos estáveis (Yiu et al., 2006), comportando-se como membranas semi-permeáveis mesmo após a polimerização. Consequentemente as camadas adesivas criadas contêm porosidades e bolhas devido à osmose ou à separação de fase (Van Landuyt et al., 2007), com canais de água e espaços hidrofílicos que permitem a penetração da água através da interface

resina-dentina (Chersoniet al., 2004). Além do mais, a alta concentração de monômeros hidrofílicos e a presença de água residual e solventes podem fazer com que haja um menor grau de conversão e polimerização, o que enfraquece a interface adesiva (Cadenaro et al., 2005; Ikeda et al., 2008). Todos esses fatores podem justificar o pior desempenho do EasyOne em relação à todos adesivos desse estudo.

Para complementar, vários estudos mostram que adesivos auto-condicionantes frasco-único tem uma resistência de união mais baixa em relação aos adesivos de múltiplos passos, tanto imediatamente como após qualquer tipo de envelhecimento (Sadek et al., 2005; Suppa et al., 2005; Van Landuyt et al., 2009). O SE Plus é similar ao adesivo de frasco-único, porém com componentes como a água e os monômeros ácidos em frascos separados. Aplicar água e monômeros ácidos em soluções separadas pode ajudar a formar uma interface adesiva mais estável e aumentar a vida do produto (Breschi et al., 2008; Mine et al., 2009). Além disso, o “Líquido B” do adesivo SE Plus é livre de solvente, formando uma última camada hidrofóbica e mais resistente. Todos esses fatores também podem ter sido responsáveis pelo melhor desempenho do SE Plus em relação ao EasyOne, quando avaliada a resistência adesiva.

Apesar de apresentar uma estrutura de camada híbrida similar aos adesivos condicione-e-lave desse estudo, o adesivo EasyOne apresentou os menores valores de adesão, ao contrário dos adesivos Scotchbond Multi-Purpose e Single Bond que apresentaram os maiores valores (Gráfico 5.3). A explicação para essa diferença na resistência adesiva é que a ultra-estrutura interfacial formada pelos adesivos auto-condicionantes de acidez forte se assemelha à formada pelos sistemas condicione-e-lave, inclusive com a formação de “tags”, mas diferem pelo fato de que o fosfato de cálcio dissolvido não é lavado e removido. Esse fosfato de cálcio incorporado é muito instável no ambiente aquoso, podendo enfraquecer seriamente a integridade interfacial. Tanto testes clínicos como laboratoriais mostram que adesivos auto-condicionantes de acidez forte têm uma performance ruim na dentina, principalmente em relação à resistência adesiva e à durabilidade da interface (Shirai et al., 2005; De Munck et al., 2006). Além disso, esses adesivos simplificados de acidez forte ($\text{pH} \leq 1$) quando aplicados, dissolvem os “plugs” de esfregaço e abrem os túbulos, provocando a transudação de fluido e resultando em diluição e separação de fase do adesivo (Osorio et al., 2008), o que também explica

a baixa resistência adesiva apesar de uma estrutura semelhante à dos adesivos condicione-e-lave.

Todos os fatores expostos anteriormente justificam os resultados desse trabalho. Na espectroscopia micro-Raman os adesivos ScotchbondMulti-Purpose, Single Bond e EasyOne apresentaram espectros semelhantes, com formação de camada híbrida de espessuras semelhantes e “*tags*” de resina. O adesivo SE Plus apresentou camadas híbridas muito finas e sem formação de “*tags*” de resina.

Todos os sistemas adesivos apresentaram queda significativa de resistência adesiva através do tempo. Os adesivos condicione-e-lave tiveram valores de adesão muito maiores que os adesivos auto-condicionantes desse estudo. A maior resistência adesiva foi obtida pelo adesivo condicione-e-lave de dois-frascos ScotchbondMulti-Purpose. Já o EasyOne foi responsável pelos menores valores de adesão, reforçando que adesivos auto-condicionantes de frasco-único ainda apresentam inúmeros problemas a serem solucionados, e com certeza ainda estão longe de ser a primeira escolha de um sistema adesivo.

7 CONCLUSÃO

Concluimos neste trabalho que avaliando 4 diferentes tipos de adesivos de uma mesma marca, existe uma relação negativa entre as estratégias de adesão (diminuição do número de passos e frascos) e a resistência de união e a estrutura da camada híbrida.

REFERÊNCIAS¹

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

Armstrong SR, Vargas MA, Chung I, Pashley DH, Campbell JA, Laffoon JE, et al. Resin-dentin interfacial ultrastructure and microtensile dentin bond strength after five-year water storage. *Oper Dent.* 2004 Nov-Dec;29(6):705-12.

Brackett W W, Ito S, Tay FR, Haisch LD e Pashley DH. Microtensile dentin bond strength of self-etching resins: effect of a hydrophobic layer. *Oper Dent.* 2005 Nov-Dec;30(6):733-8.

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

Cadenaro M, Antonioli F, Sauro S, Tay FR, Di Lenarda R, Prati C, et al. Degree of conversion and permeability of dental adhesives. *Eur J Oral Sci.* 2005 Dec;113(6):525-30.

Carrilho MR, Carvalho RM, Tay FR, Yiu C, Pashley DH. Durability of resin-dentin bonds related to water and oil storage. *Am J Dent.* 2005 Dec;18(6):315-9.

Carrilho MR, Geraldeli S, Tay F, De Goes MF, Carvalho RM, Tjaderhane L, et al. In vivo preservation of the hybrid layer by chlorhexidine. *J Dent Res.* 2007 Jun;86(6):529-33.

Carrilho MR, Reis A, Loguercio AD e Rodrigues Filho LE. [Bond strength of four adhesive systems to dentin]. *Pesqui Odontol Bras.* 2002 Jul-Sep;16(3):251-6.

Carrilho MR, Tay FR, Pashley DH, Tjaderhane L, Carvalho RM. Mechanical stability of resin-dentin bond components. *Dent Mater.* 2005 Mar;21(3):232-41.

Carvalho R M, Manso AP, Geraldeli S, Tay FR e Pashley DH. Durability of bonds and clinical success of adhesive restorations. *Dent Mater*. 2011 Jan;28(1):72-86.

Cekic-Nagas I, Ergun G, Nagas E, Tezvergil A, Vallittu PK, Lassila LV. Comparison between regional micropush-out and microtensile bond strength of resin composite to dentin. *Acta Odontol Scand*. 2008 Apr;66(2):73-81.

Chersoni S, Suppa P, Grandini S, Goracci C, Monticelli F, Yiu C, et al. In vivo and in vitro permeability of one-step self-etch adhesives. *J Dent Res*. 2004 Jun;83(6):459-64.

De Goes MF, Giannini M, Di Hipolito V, Carrilho MR, Daronch M, Rueggeberg F A. Microtensile bond strength of adhesive systems to dentin with or without application of an intermediate flowable resin layer. *Braz Dent J*. 2008 19(1):51-6.

De Menezes MJ, Arrais CA, Giannini M. Influence of light-activated and auto- and dual-polymerizing adhesive systems on bond strength of indirect composite resin to dentin. *J Prosthet Dent*. 2006 Aug;96(2):115-21.

De Munck J, Ermis RB, Koshiro K, Inoue S, Ikeda T, Sano H, et al. NaOCl degradation of a HEMA-free all-in-one adhesive bonded to enamel and dentin following two air-blowing techniques. *J Dent*. 2007 Jan;35(1):74-83.

De Munck J, Shirai K, Yoshida Y, Inoue S, Van Landuyt K, Lambrechts P, et al. Effect of water storage on the bonding effectiveness of 6 adhesives to Class I cavity dentin. *Oper Dent*. 2006 Jul-Aug;31(4):456-65.

De Munck J, Van Landuyt K, Peumans M, Poitevin A, Lambrechts P, Braem M, et al. A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results. *J Dent Res*. 2005 Feb;84(2):118-32.

De Munck J, Van Meerbeek B, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Suzuki K, et al. Four-year water degradation of total-etch adhesives bonded to dentin. *J Dent Res*. 2003 Feb;82(2):136-40.

Ferracane JL, Berge HX e Condon JR. In vitro aging of dental composites in water--effect of degree of conversion, filler volume, and filler/matrix coupling. *J Biomed Mater Res*. 1998 Dec 5;42(3):465-72.

Guo X, Wang Y, Spencer P, Ye Q, Yao X. Effects of water content and initiator composition on photopolymerization of a model BisGMA/HEMA resin. *Dent Mater*. 2007 Nov 26.

Hashimoto M. A review--micromorphological evidence of degradation in resin-dentin bonds and potential preventional solutions. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2009;92(1):268-80.

Hashimoto M, Fujita S, Endo K e Ohno H. In vitro degradation of resin-dentin bonds with one-bottle self-etching adhesives. *Eur J Oral Sci*. 2009 Oct;117(5):611-7.

Hashimoto M, Fujita S, Nagano F, Ohno H e Endo K. Ten-years degradation of resin-dentin bonds. *Eur J Oral Sci*. 2010 Aug;118(4):404-10.

Hayashi Y. High resolution electron microscopy of a small crack at the superficial layer of enamel. *J Electron Microsc* (Tokyo). 1994 Dec;43(6):398-401.

Hiraishi N, Breschi L, Prati C, Ferrari M, Tagami J, King NM. Technique sensitivity associated with air-drying of HEMA-free, single-bottle, one-step self-etch adhesives. *Dent Mater*. 2007 Apr;23(4):498-505.

Ikeda T, De Munck J, Shirai K, Hikita K, Inoue S, Sano H, et al. Effect of air-drying and solvent evaporation on the strength of HEMA-rich versus HEMA-free one-step adhesives. *Dent Mater*. 2008 Oct;24(10):1316-23.

Kenshima S, Reis A, Uceda-Gomez N, Tancredo Lde L, Filho LE, Nogueira FN, et al. Effect of smear layer thickness and pH of self-etching adhesive systems on the bond strength and gap formation to dentin. *J Adhes Dent*. 2005 Summer;7(2):117-26.

King NM, Tay FR, Pashley DH, Hashimoto M, Ito S, Brackett WW, et al. Conversion of one-step to two-step self-etch adhesives for improved efficacy and extended application. *Am J Dent*. 2005 Apr;18(2):126-34.

Malacarne J, Carvalho RM, De Goes MF, Svizero N, Pashley DH, Tay FR, et al. Water sorption/solubility of dental adhesive resins. *Dent Mater*. 2006 Oct;22(10):973-80.

Manso AP, Marquezini L, Jr., Silva SM, Pashley DH, Tay FR, Carvalho RM. Stability of wet versus dry bonding with different solvent-based adhesives. *Dent Mater*. 2008 Apr;24(4):476-82.

Mine A, De Munck J, Cardoso MV, Van Landuyt KL, Poitevin A, Kuboki T, et al. Bonding effectiveness of two contemporary self-etch adhesives to enamel and dentin. *J Dent*. 2009 Nov;37(11):872-83.

Miyazaki M, Onose H, Iida N, Kazama H. Determination of residual double bonds in resin-dentin interface by Raman spectroscopy. *Dent Mater*. 2003 May;19(3):245-51.

Miyazaki M, Onose H, Moore B K. Analysis of the dentin-resin interface by use of laser Raman spectroscopy. *Dent Mater*. 2002 Dec;18(8):576-80.

Monticelli F, Osorio R, Pisani-Proenca J, Toledano M. Resistance to degradation of resin-dentin bonds using a one-step HEMA-free adhesive. *J Dent*. 2007 Feb;35(2):181-6.

Moszner N, Salz U, Zimmermann J. Chemical aspects of self-etching enamel-dentin adhesives: a systematic review. *Dent Mater*. 2005 Oct;21(10):895-910.

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

Nishitani Y, Yoshiyama M, Donnelly AM, Agee KA, Sword J, Tay FR, et al. Effects of resin hydrophilicity on dentin bond strength. *J Dent Res*. 2006 Nov;85(11):1016-21.

Osorio R, Pisani-Proenca J, Erhardt MC, Osorio E, Aguilera FS, Tay FR, et al. Resistance of ten contemporary adhesives to resin-dentine bond degradation. *J Dent*. 2008 Feb;36(2):163-9.

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

Perdigao J, Gomes G, Gondo R, Fundingsland JW. In vitro bonding performance of all-in-one adhesives. Part I--microtensile bond strengths. *J Adhes Dent*. 2006 Dec;8(6):367-73.

Pianelli C, Devaux J, Bebelman S, Leloup G. The micro-Raman spectroscopy, a useful tool to determine the degree of conversion of light-activated composite resins. *J Biomed Mater Res*. 1999 48(5):675-81.

Prati C, Chersoni S, Pashley DH. Effect of removal of surface collagen fibrils on resin-dentin bonding. *Dent Mater*. 1999 Sep;15(5):323-31.

Proenca JP, Polido M, Osorio E, Erhardt MC, Aguilera FS, Garcia-Godoy F, et al. Dentin regional bond strength of self-etch and total-etch adhesive systems. *Dent Mater*. 2007 Dec;23(12):1542-8.

Reis A, Albuquerque M, Pegoraro M, Mattei G, Bauer JR, Grande RH, et al. Can the durability of one-step self-etch adhesives be improved by double application or by an extra layer of hydrophobic resin? *J Dent*. 2008 May;36(5):309-15.

Reis A, Loguercio AD, Carvalho RM e Grande RH. Durability of resin dentin interfaces: effects of surface moisture and adhesive solvent component. *Dent Mater*. 2004 Sep;20(7):669-76.

Sadek FT, Goracci C, Cardoso PE, Tay FR, Ferrari M. Microtensile bond strength of current dentin adhesives measured immediately and 24 hours after application. *J Adhes Dent*. 2005 Winter;7(4):297-302.

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

Santini A, Miletic V. Comparison of the hybrid layer formed by Silorane adhesive, one-step self-etch and etch and rinse systems using confocal micro-Raman spectroscopy and SEM. *J Dent*. 2008 Sep;36(9):683-91.

Sarr M, Kane AW, Vreven J, Mine A, Van Landuyt KL, Peumans M, et al. Microtensile bond strength and interfacial characterization of 11 contemporary adhesives bonded to bur-cut dentin. *Oper Dent*. 2010 Jan-Feb;35(1):94-104.

Sato M, Miyazaki M. Comparison of depth of dentin etching and resin infiltration with single-step adhesive systems. *J Dent*. 2005 Jul;33(6):475-84.

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

Shirai K, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Lambrechts P, Suzuki K, et al. Effect of cavity configuration and aging on the bonding effectiveness of six adhesives to dentin. *Dent Mater*. 2005 Feb;21(2):110-24.

Spencer P, Wang Y, Walker MP, Wieliczka D M, Swafford JR. Interfacial chemistry of the dentin/adhesive bond. *J Dent Res*. 2000 Jul;79(7):1458-63.

Suppa P, Breschi L, Ruggeri A, Mazzotti G, Prati C, Chersoni S, et al. Nanoleakage within the hybrid layer: a correlative FEISEM/TEM investigation. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2005 Apr;73(1):7-14.

Swift EJ, Jr., Perdigao J, Heymann HO. Bonding to enamel and dentin: a brief history and state of the art, 1995. *Quintessence Int*. 1995 Feb;26(2):95-110.

Tay FR, Frankenberger R, Krejci I, Bouillaguet S, Pashley DH, Carvalho RM, et al. Single-bottle adhesives behave as permeable membranes after polymerization. I. In vivo evidence. *J Dent*. 2004a Nov;32(8):611-21.

Tay FR, Lai CN, Chersoni S, Pashley DH, Mak YF, Suppa P, et al. Osmotic blistering in enamel bonded with one-step self-etch adhesives. *J Dent Res*. 2004b Apr;83(4):290-5.

Tay FR, Pashley DH. Have Dentin Adhesives Become Too Hydrophilic? *J Can Dent Assoc*. 2003 69(11):726-31.

Toledano M, Osorio R, Osorio E, Aguilera FS, Yamauti M, Pashley DH, et al. Durability of resin-dentin bonds: effects of direct/indirect exposure and storage media. *Dent Mater*. 2007 Jul;23(7):885-92.

Torkabadi S, Nakajima M, Ikeda M, Foxton RM, Tagami J. Bonding durability of HEMA-free and HEMA-containing one-step adhesives to dentine surrounded by bonded enamel. *J Dent*. 2008 Jan;36(1):80-6.

Vaidyanathan M, Sheehy EC, Gilbert SC, Beighton D. Antimicrobial properties of dentine bonding agents determined using in vitro and ex vivo methods. *J Dent*. 2009 Jul;37(7):514-21.

Vaidyanathan TK, Vaidyanathan J. Recent advances in the theory and mechanism of adhesive resin bonding to dentin: a critical review. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2009 Feb;88(2):558-78.

Van Landuyt KL, De Munck J, Snauwaert J, Coutinho E, Poitevin A, Yoshida Y, et al. Monomer-solvent phase separation in one-step self-etch adhesives. *J Dent Res*. 2005 Feb;84(2):183-8.

Van Landuyt KL, Mine A, De Munck J, Jaecques S, Peumans M, Lambrechts P, et al. Are one-step adhesives easier to use and better performing? Multifactorial assessment of contemporary one-step self-etching adhesives. *J Adhes Dent*. 2009 Jun;11(3):175-90.

Van Landuyt KL, Snauwaert J, De Munck J, Coutinho E, Poitevin A, Yoshida Y, et al. Origin of interfacial droplets with one-step adhesives. *J Dent Res*. 2007 Aug;86(8):739-44.

Van Landuyt KL, Snauwaert J, De Munck J, Peumans M, Yoshida Y, Poitevin A, et al. Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. *Biomaterials*. 2007 Sep;28(26):3757-85.

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

Van Meerbeek B, Perdigao J, Lambrechts P, Vanherle G. The clinical performance of adhesives. *J Dent*. 1998 Jan;26(1):1-20.

Van Meerbeek B, Yoshihara K, Yoshida Y, Mine A, De Munck J, Van Landuyt K L. State of the art of self-etch adhesives. *Dent Mater*. 2010 Jan;27(1):17-28.

Waidyasekera PG, Nikaido T, Weerasinghe DD, Tagami J. Bonding of acid-etch and self-etch adhesives to human fluorosed dentine. *J Dent*. 2007 Dec;35(12):915-22.

Wang Y, Yao X. Morphological/chemical imaging of demineralized dentin layer in its natural, wet state. *Dent Mater*. 2010 May;26(5):433-42.

Yazici AR, Celik C, Ozgunaltay G, Dayangac B. Bond strength of different adhesive systems to dental hard tissues. *Oper Dent*. 2007 Mar-Apr;32(2):166-72.

Yiu CK, King NM, Carrilho MR, Sauro S, Rueggeberg FA, Prati C, et al. Effect of resin hydrophilicity and temperature on water sorption of dental adhesive resins. *Biomaterials*. 2006 Mar;27(9):1695-703.

Zou Y, Armstrong SR e Jessop JL. Quantitative analysis of adhesive resin in the hybrid layer using Raman spectroscopy. *J Biomed Mater Res A*. 2010 Jul;94(1):288-97.

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

PARECER DE APROVAÇÃO
Protocolo 89/11
CAAE 0100.0.017.000-11

O grupo de trabalho indicado pelo Comitê de Ética em Pesquisa **APROVOU** o protocolo de pesquisa "**Relação entre grau de conversão e resistência de união: teste de microtração após 1, 90 e 180 dias**", de responsabilidade do(a) Pesquisador(a) Frederico Seidi Hori, sob orientação do Professor Doutor Rubens Corte Real de Carvalho.

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, 28 de setembro de 2011.

Prof. Dra. Marcia Turola Wanderley
Coordenadora do CEP-FOUSP