SÉRGIO BROSSI BOTTA

**INFLUÊNCIA DA IRRADIAÇÃO COM LASER DE Er,Cr:YSGG
NA RESISTÊNCIA DE UNIÃO DE SISTEMAS ADESIVOS EM
ESMALTE E DENTINA**

São Paulo

2007

Sérgio Brossi Botta

**Influência da irradiação com laser de Er,Cr:YSGG
na resistência de união de sistemas adesivos em
esmalte e dentina**

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

Área de Concentração: Dentística

Orientadora: Profa. Dra. Adriana Bona Matos

São Paulo

2007

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

Botta, Sérgio Brossi

Influência da irradiação com laser de Er, Cr:YSGG na resistência de união de sistemas adesivos em esmalte e dentina / Sérgio Brossi Botta; orientador Adriana Bona Matos. -- São Paulo, 2007.

83 p.: fig., graf.; 30 cm.

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

1. Adesivos dentinários – Resistência de união   2. Resistência de União – Laser   3. Dentina

CDD 617.675
BLACK D2

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE E COMUNICADO AO AUTOR A REFERÊNCIA DA CITAÇÃO.

São Paulo, ____/____/____

Assinatura:

E-mail:

FOLHA DE APROVAÇÃO

BOTTA SB. Influência da irradiação com *laser* de Er,Cr:YSGG na resistência de união de sistemas adesivos em esmalte e dentina [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2007.

São Paulo, ____/____/2007.

Banca Examinadora

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

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

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

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

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

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

À minha mãe, Rosália e meu pai, Gilberto.

Sou eternamente grato a vocês que não mediram esforços para me encaminhar, incentivar e apoiar nos estudos, no trabalho ou, ainda, nos dias de hoje, me ajudar no quer que seja, para que eu pudesse ter serenidade para realizar meu trabalho. Sei que cada vitória minha completa a vida de vocês, pois cada passo que dou é a continuação do caminho iniciado por vocês. Por todo amor em todos os momentos. Amo muito vocês.

À minha irmã Rosângela, pelo carinho que sempre teve por mim.

À minha namorada Patrícia, com amor, admiração e gratidão por sua compreensão, carinho, constante presença e incansável apoio ao longo do período de elaboração deste Trabalho, e ao longo de nossa história juntos. Meus agradecimentos com amor e paixão.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Profa. Dra. Adriana Bona Matos, por estar me auxiliando desde o início de minha vida como pesquisador na Iniciação Científica em 2001, por sempre ter me guiado e apoiado em minhas investidas científicas e por ter sido sempre uma amiga para conversar e me orientar não somente em assuntos acadêmicos. Meu muito obrigado, de coração.

Ao Prof. Dr. Antônio Alberto de Cara, que me incentivou a dar os primeiros passos na Dentística e Implantodontia. Agradeço por todo seu apoio e amizade durante todos estes anos.

Ao Prof. Dr. José Carlos P. Imparato por todos estes anos de amizade e luta pela ética desde a fundação do Banco de Dentes da FOU SP.

À Profa. Dra. Márcia Martins Marques, pela confiança em mim depositada e pelos inestimáveis conselhos acadêmicos que mesmo estando muito ocupada sempre podia arrumar um tempo para me auxiliar.

Ao Prof. Dr. Antonio Carlos Bombana, pelo exemplo de perseverança, eficiência, honestidade, companheirismo e amizade.

Agradeço aos professores mais dedicados à pesquisa que eu conheço: Prof. Dr. Nemitala Added (IF-USP), Profa. Dra. Vera Lúcia Salvador (CLA-IPEN) e Prof. Dr. José Roberto Martinelli (CCTM-IPEN) pelos ensinamentos inestimáveis para a construção de meu perfil investigativo.

A todos os professores do Departamento de Dentística, por todo conhecimento compartilhado.

Aos meus amigos Fábio Tieri, Gabriel H. Franchim, Sandra A. Brasil por todos estes anos de grande amizade desde a graduação.

Aos meus amigos Cidão, Camilla, Samuel e Washington pelo companheirismo e ajuda nos momentos difíceis.

Aos meus colegas contemporâneos do curso de pós-graduação em Dentística: Ana Carolina Freitas, Angela Shimaoka, Camilla Regina G. Bengtson, Clarissa Bonifácio, Daiane Meneguzzo, Frederico Hori, Luciana Espejo, Simone Moretto, Valéria Soprano, Yuri Arakaki, Alessandra P. Andrade, Angela De Caroli, Arlene Tachibana, Bruno Silveira, Carina Delfino, Fábio Robles, Fernando Kawaguchi, João Paulo Ribeiro, José Ricardo Archilla, Maite André Camargo, Manoel Roberto Macedo, Marcela Esteves Oliveira, Sheila Braga, Thaís Thomé, Vinicius Martins, Wanessa Zaroni, Washington Steagall Junior, Marcio Vivan Cardoso, Kátia Rode e Patricia Lloret, pela convivência e momentos de alegria.

Aos meus amigos do Banco de Dentes Humanos da FOU SP: Igor, Cíntia, Patrícia, Priscila e Arletes.

Agradeço à Técnica Soninha que sempre pode me auxiliar nos momentos mais difíceis. Obrigado pela sua disponibilidade e carinho.

Aos funcionários do Departamento de Dentística: Aldo, Ana, Arnaldo, Davi, Leandro e Luizinho.

À Aguida, Luzia, Vânia, Solange, Rita e Fernando, funcionárias da biblioteca da FOU SP, pelo auxílio na busca bibliográfica, revisão e formatação do texto.

Às funcionárias Kátia e Alessandra, do serviço de Pós-Graduação da FOU SP, pela atenção, paciência e competência em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS INSTITUCIONAIS

À direção da Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, na pessoa do Diretor, Prof. Dr. Carlos de Paula Eduardo.

À Comissão de Pós Graduação da Faculdade de Odontologia, na pessoa do Presidente, Prof. Dr. Reinaldo Brito e Dias.

À Coordenadora do Curso de Pós-graduação em Dentística da Faculdade de Odontologia, na pessoa da Profa. Dra. Márcia Martins Marques.

À CNPq, pela concessão de bolsa de Mestrado.

“Na ciência, existem questões ingênuas, questões entediantes, questões apresentadas de modo inadequado. Mas cada questão é um grito para entender o mundo. Não existe pergunta estúpida.”

**Carl Edward Sagan
(1934 - 1996)**

Carl Edward Sagan não foi apenas um grande astrônomo, ele desempenhou papel influente no programa espacial da NASA desde o seu início, sendo seu consultor e conselheiro desde os anos 50. Foi um grande divulgador da ciência e seus métodos. Sempre combateu o misticismo, as superstições e a credice, sendo um grande incentivador do pensamento científico, racionalismo e ceticismo.

BOTTA SB. Influência da irradiação com *laser* de Er,Cr:YSGG na resistência de união de sistemas adesivos em esmalte e dentina [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2007.

RESUMO

Este trabalho teve o objetivo de avaliar a resistência adesiva de sistemas adesivos baseados no condicionamento prévio com ácido fosfórico (*etch-and-rinse*) e auto-condicionantes (de um e dois passos) ao substrato dental, submetido a diferentes condições de irradiação com *laser* de Er,Cr:YSGG. Amostras de esmalte e dentina foram obtidas do terço médio da face vestibular de 216 incisivos bovinos, divididos aleatoriamente em 18 grupos (n=12), de acordo com o substrato, (esmalte e dentina), sistema adesivo (*etch-and-rinse*, auto-condicionante de um passo e auto-condicionante de dois passos) e condições de irradiação (sem irradiação – controle, irradiado com refrigeração ar-água e irradiado sem refrigeração ar-água). Em seguida foi realizada inclusão e polimento, sob refrigeração, com lixas de carbetto de silício de granulação decrescente 180, 320, 400 e 600 (por um minuto para padronização da camada de esfregaço). Para os grupos irradiados com *laser* de Er,Cr:YSGG ($\lambda=2,79\ \mu\text{m}$, taxa de repetição de 20 Hz), com densidade de energia de $2,8\ \text{J}/\text{cm}^2$, 12,5 mJ por pulso, potência média de 0,25W, com a ponta S75 de diâmetro de 750 μm a 1 mm da superfície do substrato. A condição de refrigeração da irradiação foi realizada com 11 mL/min. Os corpos-de-prova foram confeccionados com a resina composta Filtek Z250, em forma de cone invertido para realização do teste de resistência adesiva. Após 24 h de armazenagem em água destilada a 37°C, fez-se o ensaio de tração a 0,5 mm/min. Os dados foram comparados estatisticamente pelo método de ANOVA com significância de 5%. Os resultados obtidos mostraram que para o tecido esmalte foi observada diferença

estatisticamente significativa para os fatores adesivo e condições de irradiação empregadas, sem significância para a interação entre os fatores. A resistência de união do sistema adesivo auto-condicionante de dois passos e do sistema adesivo *etch-and-rinse* apresentam desempenho semelhante, sendo superiores ao sistema adesivo auto-condicionante de passo único. Ainda para esmalte, o efeito das condições de irradiação mostrou que os grupos sem irradiação com *laser* de Er,Cr:YSGG apresentaram maior resistência adesiva do que os grupos irradiados com refrigeração e sem refrigeração. Para o substrato dentina, houve diferença estatisticamente significativa para os fatores de variação principais: sistemas adesivos, condição de irradiação com *laser* de Er,Cr:YSGG e para a interação adesivo X condição de irradiação. Quanto à comparação entre os sistemas adesivos testados na condição sem irradiação, os sistemas adesivos auto-condicionantes, de dois passos e o de um passo, não foram estatisticamente diferentes entre si, porém ambos forneceram resultados de resistência adesiva estatisticamente menores do que o sistema adesivo *etch-and-rinse*. Para as condições de irradiação com *laser* de Er,Cr:YSGG, com refrigeração e sem refrigeração, obteve-se valores de resistência adesiva maiores para o sistema auto-condicionante de dois passos do que para os demais sistemas. Deste modo, conclui-se que a irradiação com *laser* de Er,Cr:YSGG reduz a adesão ao esmalte independentemente do sistema adesivo utilizado e da condição de irradiação. Adicionalmente, observa-se que a irradiação de dentina com *laser* de Er,Cr:YSGG somente não altera a resistência adesiva do sistema auto-condicionante de dois passos, sendo deletéria aos demais adesivos testados.

Palavras chaves: *Laser* de Er,Cr: YSGG; Alteração morfológica; Tecidos duros dentais; Dentística; Sistemas adesivos.

BOTTA SB. Er,Cr:YSGG *laser* irradiation influence on enamel and dentin bond strength of adhesive systems [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2007.

ABSTRACT

The aim of this study was to assess the bond strength to dental substrate of adhesives based on previous etching with phosphoric acid (etch-and-rinse) and self-etching (one- and two-step) under different conditions of Er,Cr:YSGG laser irradiation. Enamel and dentin samples were obtained from the middle third of the buccal face of 216 bovine incisors, randomly divided in 18 groups (n=12), according to the substrate (enamel and dentin), adhesive system (etch-and-rinse, one-step self-etching and two-step self-etching) and irradiation condition (without irradiation – control, irradiated with cooling, and irradiated without cooling). Next, the samples were included and polished, under cooling, with silicone carbide abrasive papers of decreasing grit #180, 320, 400 and 600 (for one minute to standardize the smear layer). For the irradiated groups with Er,Cr:YSGG *laser*, an energy density of 2.8 J/cm^2 , 12.5 mJ per pulse, mean power of 0.25W was selected. During laser irradiation, cooling was performed with 11 mL/min. Inverted cone-shaped test specimens were built-up with resin composite Filtek Z250, for performing the bond strength test. After 24 h storage in distilled water at 37°C, the tensile test was performed at 0.5 mm/min. The results obtained show, for enamel, statistically significant difference for the factors adhesive and irradiation conditions used, without significance for the interaction among the factors. The bond strength of the 2-step self-etching and the etch-and-rinse adhesive system presented similar performance, being superior to that of one-step self-etching system. For enamel, the effect of the irradiation conditions showed that the groups without Er,Cr:YSGG *laser* irradiation

presented higher bond strength than the groups irradiated with and without cooling. For the dentin substrate there was statistically significant difference for the main variation factors: adhesive systems, condition of Er,Cr:YSGG *laser* irradiation and for the interaction adhesive X irradiation condition. As regards the comparison among the adhesive systems tested under the condition without irradiation, the one-step and two-step self-etching adhesive systems did not differ statistically between them, but both provided statistically lower bond strength results than the etch-and-rinse adhesive system. For the condition of Er,Cr:YSGG laser irradiation with and without cooling, higher bond strength values were obtained for the two-step self-etching system than for the other systems. Therefore, it was concluded that Er,Cr:YSGG laser irradiation reduces the bond strength to enamel irrespective of the adhesive system used and the irradiation condition. Furthermore, it was observed that dentin irradiated with Er,Cr:YSGG *laser* did not alter the bond strength of the two-step adhesive system only, and it was deleterious to the other adhesives tested.

Key words: Er,Cr:YSGG laser; Morphological changes; Hard dental tissues; Dentistry; Adhesive systems.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 Laser em Odontologia.....	16
2.2 Sistemas adesivos	23
3 PROPOSIÇÃO	32
4.1 Obtenção da amostra e limpeza dos elementos dentais	33
4.2 Confeção das amostras e divisão dos grupos	34
4.4. Parâmetros do <i>laser</i> de Er,Cr:YSGG	37
4.5 Aplicação do sistema adesivo	39
4.6 Construção do corpo de prova e avaliação da resistência de união por ensaio de tração.....	41
4.7 Análise do tipo de fratura	43
4.8 Análise estatística	44
5 RESULTADOS	45
7 CONCLUSÕES	62
REFERÊNCIAS	63
ANEXOS.....	78

1 INTRODUÇÃO

A Odontologia atual preconiza a realização de procedimentos minimamente invasivos, com preservação da estrutura dental sadia, sendo os preparos cavitários quase que inteiramente restritos à remoção do tecido cariado. Para tanto, métodos mecânicos alternativos têm surgido, entre eles, a microabrasão a ar (Van MEERBEEK et al., 2003) e a irradiação *laser* (BARKMEIER; GWINNETT; SHAFFER, 1985; BASARAN et al., 2007; CEBALLOS et al., 2001; CELIK et al., 2006; SUNG et al., 2005; USUMEZ; ORHAN; USUMEZ, 2002; VISURI et al., 1996). Estes métodos impulsionam as pesquisas de adesão, na intenção de investigar se o tecido instrumentado com estes equipamentos gera alterações estruturais que possam influenciar no desempenho dos sistemas adesivos.

O emprego de uma solução ácida para condicionar a superfície do esmalte e dentina é considerado um pré-requisito fundamental para o sucesso da união entre materiais à base de resina e o substrato dental, tratando-se de uma técnica bem estabelecida na literatura (GWINNETT; MATSUI, 1967; NAKABAYASHI; KOSIMA; MASUHARA, 1982). Após o condicionamento destes substratos ocorre a remoção da camada de esfregaço e a ampliação da área de superfície do tecido, propiciando a obtenção de superfícies micro-retentivas que favorecem o embricamento com o material restaurador.

A irradiação com os *lasers* de érbio (YAG e YSGG) tem sido proposta para o condicionamento dos tecidos dentais, utilizando parâmetros de menor densidade de energia do que os utilizados para preparo cavitário (CEBALLOS et al., 2002; USUMEZ; AYKENT, 2003; USUMEZ; ORHAN; USUMEZ, 2002). Embora ainda seja

pequena a quantidade de estudos que reportem a ação do *laser* de Er,Cr:YSGG sobre a força de adesão de sistemas adesivos (LEE et al., 2007; LIN et al., 1999; SHETH et al., 2004; STANINEC et al., 2003; SUNG et al., 2005) e os trabalhos encontrados na literatura são controversos, semelhantemente ao que se observa na literatura sobre *lasers* de Er:YAG (MARTINEZ-INSUA et al., 2000; ROBERTS-HARRY, 1992; VISURI et al., 1996). Adicionalmente, para o *laser* de Er,Cr:YSGG utilizado em dentina, os trabalhos presentes na literatura testam resistência adesiva à superfície irradiada com parâmetros para preparo cavitário e não para condicionamento.

Os parâmetros propostos para condicionamento com *laser* são os mesmos utilizados para prevenção da cárie (ANA, 2007; FREITAS 2005), fato que torna este tipo de condicionamento tecidual altamente desejável, pois ao mesmo tempo em que pode aumentar a área de superfície dos tecidos disponível para adesão (CEBALLOS et al., 2002) pode também diminuir a susceptibilidade à cárie secundária (CEBALLOS et al., 2001).

Assim, de acordo com o observado na literatura, há a necessidade de se investigar a resistência adesiva dos sistemas adesivos (condicionamento prévio e auto-condicionantes), comparando os dados obtidos de substratos dentais tratados ou não com irradiação com *laser* de Er,Cr:YSGG no parâmetro de condicionamento.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Laser em Odontologia

Assim como muitas áreas do conhecimento tiveram um grande desenvolvimento a partir da segunda metade do século 20, a Odontologia também o teve. A criação do primeiro *laser* (*Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*) em 1967 por Theodore Maimann, usando o princípio da emissão estimulada postulada por Einstein em 1917 é um exemplo (MAIMAN, 1960).

A teoria de Einstein sobre a emissão estimulada de luz teve como base a teoria quântica, que analisou as relações entre a quantidade de energia liberada por processos atômicos. Assim, Einstein discorreu sobre a interação de átomos, íons e moléculas com a radiação eletromagnética.

O meio que gera os fótons pode ser um cristal sólido (*laser* de rubi sintético) ou um cristal heterogêneo com dopante (*lasers* de Nd:YAG, Er:YAG, Er,Cr:YSGG), um gás (CO₂, hélio/neônio, argônio) ou um líquido (*lasers* de corantes orgânicos dissolvidos em etanol e água, p.ex. rodamina B). Cada meio gera fótons com específico e único comprimento de onda e vários níveis de energia, podendo ter diversas aplicações (EVERSOLE; RIZOIU, 1995).

Nas décadas de 60 e 70 surgiram os primeiros estudos com laser de rubi analisando sua interação com os tecidos duros dentais (ADRIAN; BERNIER; SPRAGUE, 1971; GOLDMAN et al., 1964; STERN; SOGNAES, 1965). Foi

observado grande efeito térmico nos tecidos circundantes à área irradiada e na polpa dental, sendo estes resultados não satisfatórios.

Em 1989, o *laser* de Er:YAG foi descrito como capaz de remover tecidos duros sem causar efeitos térmicos prejudiciais ao dente, tais como trincas e derretimento (HIBST; KELLER, 1989; KELLER; HIBST, 1989), sendo considerado um possível substituto para as pontas diamantadas.

Atualmente, o *laser* pode ser considerado uma ferramenta coadjuvante para a maioria das intervenções odontológicas, promovendo tratamentos mais assépticos, menos invasivos, dolorosos e cruentos.

A interação da luz *laser* com os tecidos duros dentais depende de parâmetros, tais como: comprimento de onda, modo de emissão (contínuo ou pulsado), sistema de entrega do feixe, duração do pulso, energia por pulso, taxa de repetição, fluência (ou densidade de energia), diâmetro do feixe e características do feixe (ZEZELL; RIBEIRO; MALDONADO, 2005); assim como das propriedades ópticas do tecido, entre as quais se destacam: o índice de refração, o coeficiente de espalhamento (μ_s) e o coeficiente de absorção (μ_a) (FEATHERSTONE, 2000).

Dependendo das propriedades descritas acima, a irradiação *laser* poderá ser absorvida, espalhada, refletida ou mesmo transmitida para o interior do tecido irradiado (ZEZELL; RIBEIRO; MALDONADO, 2005).

O *laser* de Er,Cr:YSGG é composto por um cristal heterogêneo (óxido de gálio, escândio e ítrio dopado com cromo e érbio), emitindo num comprimento de onda na faixa do infravermelho de 2,79 μm . A maneira como o *laser* interage com os diferentes tecidos depende de seu coeficiente de absorção, sendo o *laser* de Er,Cr:YSGG bem absorvido pela água e hidroxiapatita (FRIED, 2000). A interação do *laser* de Er,Cr:YSGG que ocorre com a hidroxila presente tanto na molécula de

água como na molécula de hidroxiapatita (OH^- mineral), o torna elegível para ser empregado em diversas aplicações clínicas (ANA; BACHMANN; ZECELL, 2006). Ao observarmos a figura 2.1, notamos que os *lasers* de érbio e CO_2 são os que melhor interagem com os componentes estruturais do esmalte.

Figura 2.1 - Principais *lasers* utilizados em Odontologia e sua interação com os principais componentes dos tecidos biológicos, dentre eles a água e a hidroxiapatita (adaptado por ANA; BACHMANN; ZECELL, 2006)

O mecanismo de remoção de esmalte e dentina pelo *laser* de Er,Cr:YSGG é denominado de termo-mecânico, onde a emissão da irradiação *laser* é absorvida pela água presente na hidroxiapatita dos tecidos dentais duros (MEISTER et al., 2006). O rápido aquecimento da água, abaixo do ponto de derretimento (aproximadamente 1.200°C) (SEREBO et al., 1987), ocasiona o aumento da pressão a valores de centenas de atmosferas, causando micro-explosões no tecido, pois esta pressão excede a força de resistência do tecido duro (aproximadamente 40MPa),

ocasionando ejeção do tecido adjacente (SEKA et al., 1996). Em esmalte, seu mecanismo de ação deve-se à grande interação da irradiação deste *laser* com a camada de água presente nos espaços intercristalinos do esmalte. Já em dentina, a interação se dá pela água que está na dentina intertubular, sendo esta estrutura mais ablacionada que a dentina peritubular que possui pouco conteúdo de água (AOKI et al., 1998).

A irradiação com *laser* de Er,Cr:YSGG promove alterações estruturais e morfológicas nos tecidos duros dentais, a depender da fluência, frequência de pulso, tamanho da área do feixe e da presença de água durante a irradiação (ANA; BACHMANN; ZECELL, 2006). Além disso, a irradiação com este *laser* pode aumentar a resistência ácida do esmalte e da dentina, sendo este efeito diretamente proporcional à fluência (APEL; SCHAFER; GUTKNECHT, 2003).

O *laser* de Er,Cr:YSGG pode ser utilizado para: osteotomias (KIMURA et al., 2001; LOWE, 2006; WANG et al., 2002), pois realiza cortes precisos e com mínimo dano térmico às estruturas adjacentes (EVERSOLE; RIZOIU, 1995; WANG et al., 2002); cirurgias de tecidos moles (BAURMASH, 2006; BOJ et al., 2007; LEE, 2005; WALINSKI, 2004; WANG; ZHANG; MATSUMOTO, 2005; ZOLA; ROSENBERG; ANAKWA, 2006), nas quais ocorre pouca ou nenhuma hemorragia, resposta tecidual satisfatória e menor trauma comparado às cirurgias tradicionais (EVERSOLE; RIZOIU, 1995; WALINSKI, 2004); terapias endodônticas, com o preparo de canais radiculares (ALI et al., 2005; ALTUNDASAR et al., 2006; CHEN, 2003; ISHIZAKI et al., 2004; JAHAN et al., 2006; MASUDA et al., 2006; MATSUOKA; JAYAWARDENA; MATSUMOTO, 2005; YU et al., 2004), apicectomia (WINIK et al., 2006), desinfecção dos condutos (ELDENIZ et al., 2007; SCHOOP et al., 2006); remoção da camada de esfregaço (RADATTI; BAUMGARTNER; MARSHALL, 2006), sem causar

carbonização tecidual (CHEN, 2003; ISHIZAKI et al., 2004; YAMAZAKI et al., 2001); além de remover contaminantes de superfícies ásperas de implantes (MILLER, 2004; SCHWARZ et al., 2006).

Mais especificamente em Dentística, o *laser* de Er,Cr:YSGG pode ser utilizado para: preparos cavitários (GUTKNECHT et al., 2001; HOSSAIN et al., 2002b; HOSSAIN et al., 2003; KINOSHITA; KIMURA; MATSUMOTO, 2003; MATSUMOTO et al., 2002); remoção de tecido cariado (EVERSOLE; RIZOIU, 1995; EVERSOLE; RIZOIU; KIMMEL, 1997; HADLEY et al., 2000; HOSSAIN et al., 2002a; HOSSAIN et al., 2003; RIZOIU et al., 1998); descontaminação de cavidades (BELIKOV; MOROZ; SKRIPNIK, 1995; TURKUN et al., 2006); procedimentos de aumento da resistência ácida do esmalte e dentina (APEL, SCHAFER, GUTKNECHT, 2003; APEL et al., 2002b; APEL et al., 2004; DARLING et al., 2006; HOSSAIN et al., 2001); e condicionamento de superfície dental (BASARAN et al., 2007; USUMEZ; AYKENT, 2003; USUMEZ; ORHAN; USUMEZ, 2002).

Frentzen e Koort (1991) sugeriram que, em um futuro próximo, os *lasers* serão aplicados como complemento de procedimentos odontológicos convencionais sem, no entanto, substituí-los.

A técnica denominada de condicionamento com *laser* pode ser utilizada como uma complementação ao condicionamento ácido de esmalte e dentina, potencializando os efeitos dos sistemas adesivos (CELIK et al., 2006; MORITZ et al 1998; VISURI et al., 1996). A técnica de condicionamento do esmalte com a irradiação *laser* tem o benefício de não provocar dor, aquecimento pulpar ou vibração, tornando-o atrativo clinicamente (VISURI et al., 1996), principalmente em Odontopediatria (MONGHINI et al., 2004).

Os *lasers* de érbio - Er:YAG ($\lambda = 2,94 \mu\text{m}$) e Er,Cr:YSGG ($\lambda = 2,79 \mu\text{m}$) - são os mais empregados para o condicionamento dos tecidos duros dentais (BARKMEIER et al., 1985; BASARAN et al., 2007; CEBALLOS et al., 2001; CELIK et al., 2006; USUMEZ; ORHAN; USUMEZ, 2002; SETH et al., 2004; SUNG et al., 2005; VISURI et al., 1996), pois criam superfícies com maior rugosidade e com ausência de camada de esfregaço.

Em esmalte, as superfícies irradiadas podem apresentar derretimento, fusão e recristalização (NELSON et al., 1986; STERN; VAHL; SOGNAES, 1972). Em dentina, a literatura mostra que superfícies preparadas com *lasers* de Er:YAG e Er,Cr:YSGG apresentam micromorfologia similar (HARASHIMA et al., 2005), com túbulos dentinários abertos (KINOSHITA; KIMURA; MATSUMOTO, 2003) e protuberantes, pela remoção preferencial da dentina intertubular (LEE et al., 2007; VISURI et al., 1996) e, manutenção da dentina peritubular (CEBALLOS et al., 2001).

Tais aspectos morfológicos, associados à ausência de danos térmicos, podem favorecer a adesão nestes tecidos irradiados (MORITZ et al 1998; SETH et al., 2004; VISURI et al., 1996). Em contrapartida, estudos reportam que algumas micro-trincas decorrentes da irradiação *laser* podem dificultar a adesão nestas superfícies (MARTINEZ-INSUA et al., 2000).

Considerando a forte interação dos *lasers* de érbio com a água presente nos tecidos, constatou-se que a presença de uma pequena camada de água durante as irradiações pode potencializar seus efeitos, aumentando a profundidade de ablação (BURKES et al., 1992; HIBST; KELLER, 1989, MEISTER et al., 2006; STANINEC et al., 2003; VISURI et al., 1996).

Em estudo que avaliou as mudanças morfológicas de esmalte e dentina irradiados com *laser* de Er,Cr:YSGG (HOSSAIN et al., 1999) com e sem *spray* de

água foi concluído que a presença de irrigação aumenta a profundidade de ablação e a ausência de irrigação demonstrou carbonização e fusão dos tecidos. Em recente estudo da morfologia dentinária após irradiação com *laser* de Er,Cr:YSGG (ARANHA et al., 2007) utilizando fluência de $61,76 \text{ J/cm}^2$, sob refrigeração, foi observada produção de superfície mais irregular que a preparada com instrumentos rotatórios.

O aumento da interação dos *lasers* de érbio com os tecidos pode implicar em modificações na quantidade de cálcio e de fósforo (DA-GUANG et al., 2000; HOSSAIN et al., 2002), redução no conteúdo de água, carbonato e componentes orgânicos (FOWLER; KURODA, 1986; KELLER; HIBST, 1989), conduzindo à formação de componentes mais estáveis e mais ácido resistentes no esmalte que podem reduzir, assim, a susceptibilidade deste tecido ao desafio cariogênico (FRIED et al., 1996; HOSSAIN et al., 2001; MARTINEZ-INSUA et al., 2000).

A irradiação *laser* também pode alterar a permeabilidade da dentina e promover danos ao colágeno, o que pode eventualmente pode prejudicar a interação dos sistemas adesivos com este tecido (SETH et al., 2004). Desta forma, ainda não há na literatura uma definição exata da quantidade de refrigeração ideal que pode estar presente frente à irradiação do esmalte e da dentina com os *lasers* de érbio.

Adicionalmente, a qualidade da adesão obtida com a técnica de condicionamento com *laser* está sujeita também à densidade de energia empregada (BASARAN et al., 2007; WALSH; ABOOD; BROCKHURST, 1994). Densidades de energia insuficientes podem não modificar morfologicamente a superfície irradiada alterando a retenção de um compósito. Entretanto, sabe-se que a rugosidade da superfície aumenta linearmente com o aumento da fluência empregada (HIBST; KELLER, 1989; STANINEC et al., 2003). Com o *laser* de Er,Cr:YSGG, altas densidades de energia podem promover zonas de fusão superficial (DA-GUANG et

al., 2000), que representam o elo mais fraco da adesão dental (WALSH; ABOOD; BROCKHURST, 1994). Assim, a determinação de densidades de energia que gerem superfície dental com características próprias para adesão é fundamental.

2.2 Sistemas adesivos

Sabe-se que o condicionamento e a desmineralização da superfície dental depende do tipo, concentração e tempo de aplicação do ácido utilizado (SILVERSTONE, 1974; Van MEERBEEK et al., 1992), sendo que vários ácidos orgânicos e inorgânicos foram pesquisados para promover micro-retenções à estrutura dental, tais como soluções de EDTA (10%), ácido cítrico (50%), ácido poliacrílico (25%), ácido láctico (50%), ácido fosfórico (70%, 37%, 35% e 10%) e ácido maleico (10%) (De GOES et al., 1998; GOTTLIEB; RETIEF; JAMISON, 1982; MERYON; TOBIAS; JAKEMAN, 1987).

A efetividade de união à superfície do esmalte (GWINNETT; MATSUI, 1967) e da dentina (NAKABAYASHI; KOJIMA; MASUHARA, 1982) com o uso de condicionadores ácidos, promoveu profundas mudanças nos conceitos restauradores, sendo o mecanismo pelo qual os monômeros resinosos interagem com o substrato decorrente de uma seqüência de fenômenos interdependentes, característicos para cada sistema adesivo.

O mecanismo básico de se conseguir adesão aos tecidos duros dentais é essencialmente um processo de troca que envolve a substituição de minerais do

esmalte e dentina por monômeros resinosos nestes espaços (De MUNCK et al., 2005), originando, após a polimerização, prolongamentos resinosos responsáveis pela retenção micro-mecânica (RETIEF; GROSS; DENYS, 1986), que atualmente é considerado o mecanismo fundamental de retenção de restaurações de resina composta ao substrato dental (NAKABAYASHI; KOJIMA; MASUHARA, 1982; Van MEERBEEK et al., 1992).

No esmalte, tecido mais mineralizado e cujo resultado de adesão é mais previsível (NAKABAYASHI; PASHLEY, 1998) o mecanismo se dá pela formação de prolongamentos resinosos que preenchem as microporosidades produzidas pelo condicionamento da superfície deste tecido (De MUNCK et al., 2005). O comprimento dos prolongamentos resinosos no esmalte pouco contribui para a resistência adesiva à tração, sendo o principal responsável pela resistência adesiva a capacidade de penetração dos monômeros resinosos entre os cristais e prismas de hidroxiapatita (SHINCHI; SOMA; NAKABAYASHI, 2000).

Em relação à dentina, que é um tecido menos mineralizado, a adesão é menos previsível devido à umidade dos túbulos, composição orgânica deste tecido (SWIFT; PERDIGÃO; HEYMANN, 1995), e presença de camada de esfregaço (PASHLEY, 1984), sendo que estas características restringem a capacidade de adesão dos sistemas adesivos a este substrato (EICK et al., 1997). Para que se obtenha alta força de adesão ao substrato dentinário, as camadas formadas sobre a dentina durante o preparo de cavidade devem ser removidas ou no mínimo modificadas (BOWEN; EICK; HENDERSON, 1984; NAKABAYASHI; SAIMI, 1986).

A camada de esfregaço é conceituada como uma camada composta por restos dentinários e bacterianos provenientes do preparo cavitário que permitem o vedamento dos túbulos dentinários bloqueando a passagem de substâncias para o

interior do complexo dentina-polpa (GWINNETT, 1984; PASHLEY, 1984). No entanto, os componentes dessa camada podem interferir na longevidade da restauração, pois contém fluidos salivares, sangüíneos, óleo lubrificante de turbinas, além de variadas espécies de microorganismos (SCHERMAN, 1990).

Desse modo, temos que o mecanismo de adesão à dentina se dá pela remoção total ou parcial da camada de esfregaço e pela desmineralização da dentina peritubular e intertubular, expondo as fibras colágenas (PASHLEY et al., 1993). Estas fibras posteriormente serão permeadas por monômeros resinosos criando uma união micro-mecânica entre monômeros hidrofóbicos, hidrofílicos e fibras colágenas, formando a denominada camada híbrida, que conceitualmente é uma interação entre resina e dentina (NAKABAYASHI; KOJIMA; MASUHARA, 1982).

De acordo com Van Meerbeek et al. (2001, 2003), os mecanismos de adesão à estrutura dental que estão atualmente em uso na Dentística moderna, são os sistemas *Etch-and-Rinse*, *Self-etch* e Cimentos de Ionômero de Vidro (CIV).

O sistema adesivo tipo *etch-and-rinse* representa a técnica mais comum e difundida para se conseguir adesão à superfície da estrutura dental, fazendo-se necessário o condicionamento prévio do esmalte e dentina com um ácido que os desmineralize seletivamente.

O condicionador mais utilizado é o ácido fosfórico com concentração entre 30 e 40%, que realiza desmineralização relativamente rápida dos tecidos dentais, sendo extremamente estável e de baixo custo, podendo ser armazenado por longos períodos de tempo sem perder a efetividade (DE GOES et al., 1998).

Após o passo de condicionamento tecidual, ocorre a remoção do ácido e seus subprodutos, através de abundante lavagem com água e secagem, para em seguida

ser aplicado o *primer* e depois o adesivo, resultando em um sistema de três passos. Porém, existem no mercado sistemas simplificados de dois passos, onde após o condicionamento, lavagem e secagem é aplicado uma combinação de *primer* e adesivo em frasco único.

No esmalte, o condicionamento tecidual promove aumento dos espaços inter e intra-prismáticos, causando aumento da área e da energia livre de superfície, elevando assim sua capacidade de molhamento (BUSSCHER; RETIEF; ARENDS, 1987), proporcionando uma superfície mais receptiva para a infiltração dos monômeros resinosos (SILVERSTONE et al., 1975). Isto contribui para a quebra da tensão superficial do líquido monomérico e a formação de um menor ângulo de contato com a superfície do esmalte, resultando em melhor umedecimento deste substrato (JENDRESEN et al., 1981), sendo os monômeros resinosos absorvidos por capilaridade.

Os prolongamentos resinosos representam uma combinação de monômeros de resina que penetraram nas microporosidades do esmalte desmineralizado e da pequena porção orgânica do esmalte (BUONOCORE, 1955; BUONOCORE; MATSUI; GWINNETT, 1968). Os cristais de hidroxiapatita do esmalte são envolvidos por estes monômeros (GWINNETT; MATSUI, 1967; SILVERSTONE et al., 1975) e, através de um processo de polimerização *in situ*, forma-se uma zona híbrida, que é denominada camada híbrida do esmalte (SHINCHI; SOMA; NAKABAYASHI, 2000).

As micro-retenções mecânicas formadas nesta camada representam a principal forma de união dos materiais restauradores resinosos ao substrato do esmalte (RETIEF, 1978).

Enquanto a união ao esmalte é entendida como um procedimento bem consolidado e clinicamente estável em relatos da literatura (KUGEL; FERRARI,

2000; NAKABAYASHI; PASHLEY, 1998), o mesmo não ocorre com a dentina, que é considerada um substrato complexo para a adesão em razão de sua composição química e estrutura heterogênea.

A técnica de *etch-and-rinse* combinada com os sistemas adesivos hidrofílicos, é considerada um método seguro e efetivo para se conseguir adesão à dentina (BERTOLOTTI, 1991; FUSAYAMA, 1992; KANCA, 1991). O condicionamento com ácido fosfórico remove totalmente a camada de esfarelamento e desmineraliza a porção inorgânica da dentina em aproximadamente 3-5 μm em profundidade, nas áreas de dentina intertubular e peritubular, expondo uma malha de fibras colágenas (PASHLEY et al., 1993; Van MEERBEEK et al., 1992). Durante o processo de união, os monômeros resinosos difundem em profundidade na dentina desmineralizada, sendo polimerizadas ao redor das fibras colágenas, formando uma nova estrutura denominada camada híbrida (INOKOSHI et al., 1990; TAY et al., 1994; Van MEERBEEK et al., 1993; WANG; NAKABAYASHI, 1994), descrita como técnica de hibridização (NAKABAYASHI et al., 1982).

Porém, a aplicação deste sistema (*etch-and-rinse*) deve ser realizada sobre substrato úmido, pois quando a dentina é excessivamente desidratada, as fibras colágenas sem suporte mineral se colapsam formando pontes de hidrogênio, e os espaços microscópicos retentivos entre elas são ocluídos (PASHLEY et al., 1993). Essa falência de função das fibras colágenas impede a penetração dos monômeros resinosos na matriz desmineralizada e, conseqüentemente, a formação da camada híbrida (NAKABAYASHI; PASHLEY, 1998). Esta é a razão pela qual se recomenda que a dentina seja mantida ligeiramente úmida após o tratamento ácido. Este procedimento é conhecido como técnica úmida de hibridização (TAY et al., 1994).

O condicionamento ácido da dentina é necessário para remover ou dissolver a camada de esfregaço, expor as fibras colágenas da matriz dentinária para difusão dos monômeros do adesivo e formar a camada híbrida, porém, existe uma defasagem entre a profundidade de desmineralização da dentina e a profundidade de difusão dos monômeros adesivos (PASHLEY et al., 2003; WANG; SPENCER, 2002) resultando em incompleta penetração dos monômeros resinosos na dentina desmineralizada resultando em zonas parcialmente infiltradas com fibras colágenas desnudas na base da camada híbrida (ARMSTRONG et al., 2001; HASHIMOTO et al., 2003), vulneráveis à degradação (BOUILLAGUET et al., 2001). Estas zonas correspondem a locais com diferentes modos de nano-infiltração na base da camada híbrida (TAY et al., 2002a, 2002b).

É sabido que a união entre resina e dentina criada pelos adesivos hidrofílicos contemporâneos deteriora-se com o tempo (ARMSTRONG; KELLER; BOYER, 2001; BURROW et al., 1996; De MUNCK et al., 2003; GWINNETT; YU, 1995), ocorrendo a hidrólise e degradação da interface de união entre o material restaurador e a dentina (BURROW et al., 1993; Van MEERBEEK et al., 1999), sendo as metaloproteinases da matriz (MMP) as enzimas principais que hidrolizam os componentes da matriz extracelular do colágeno (BRINCKERHOFF; MATRISIAN, 2002).

A presença da camada de monômeros hidrófilos não polimerizada ou o incompleto preenchimento da base desmineralizada da dentina, freqüentemente observados na técnica *etch-and-rinse*, são minimizados pela técnica *self-etch* em função do condicionamento e da infiltração ocorrerem simultaneamente (DE GOES; MONTES, 2004).

O sistema auto-condicionante representa uma alternativa à técnica de *etch-and-rinse* ao proporcionar adesão aos tecidos duros dentais através da ação de

monômeros ácidos que condicionam a superfície do substrato. Essa desmineralização não acontece indefinidamente. A ação do ácido é gradativamente reduzida pelos próprios subprodutos que se acumulam na solução conforme a reação prossegue.

A utilização de sistemas *self-etch* apresenta a vantagem de eliminar o passo de lavagem do condicionador e secagem do substrato exigido pela técnica *etch-and-rinse*, constituindo-se, desta forma, em economia de tempo clínico, sendo menos técnico-sensíveis (De MUNCK et al., 2005). Os produtos da desmineralização ou resíduos do condicionador ácido são incorporados e polimerizados juntamente com o agente de união (PERDIGAO et al., 1997).

No esmalte, os monômeros ácidos promovem irregularidades na superfície (SENAWONGSE et al., 2004). Uma vez tamponado, a penetração deste tipo de sistema adesivo no esmalte fica limitada às camadas mais superficiais, porém com capacidade adesiva significativa (YOSHIYAMA, et al., 1998).

Na dentina, o sistema que combina monômeros ácidos e *primer* em único frasco, dissolve parcialmente e incorpora a camada de esfregaço, desmineralizando a superfície do substrato expondo as fibras colágenas (Van MEERBEEK et al., 1998).

Estes sistemas reduzem a incompleta penetração da resina fluida na rede de colágeno e a possibilidade de degradação da camada híbrida em longo prazo, uma vez que desmineralizam a dentina e a impregnam com resina fluida, ao mesmo tempo (HALLER, 2000; YOSHIYAMA et al., 1998). No entanto, foi descrito que também ocorre infiltração incompleta dos monômeros resinosos na dentina desmineralizada, mesmo com sua habilidade de desmineralizar e infiltrar simultaneamente (SANO et al., 1995), podendo isto ser atribuído à incompleta

remoção de água que está associada aos monômeros resinosos hidrofílicos (PASHLEY et al., 2004), podendo, assim como com o sistema *etch-and-rinse* ocorrer ação das metaloproteinases da matriz (MMP) que hidrolizam os componentes do colágeno (BRINCKERHOFF; MATRISIAN, 2002).

Os sistemas auto-condicionantes utilizados atualmente podem ser classificados de acordo com o número de passos operatórios para sua aplicação, em sistemas autocondicionantes de dois passos ou de passo único (PASHLEY; TAY, 2001; TAY; PASHLEY, 2001). Podem ainda ser classificados de acordo com o potencial de condicionamento ácido, determinado pela presença de um ou mais grupos carboxílicos ou fosfato incorporados ao monômero ácido (Van MEERBEEK et al., 2001), sendo subdivididos em sistemas auto-condicionantes de agressividade alta ou moderada (Van MEERBEEK et al., 2003).

Os sistemas autocondicionantes de dois passos são compostos basicamente por monômeros ácidos ou derivados, monômeros hidrófilos e água, contidos em um frasco (*primer* ácido); enquanto que um segundo frasco apresenta concentrações balanceadas de monômeros hidrófilos e hidrófobos. O radical fosfato do monômero ácido é responsável pelo condicionamento das estruturas dentais, ao passo que o componente metacrilato da molécula disponibiliza-se para a co-polimerização com o agente de união e a resina restauradora (DE GOES, 2001). Estes sistemas possuem pH próximo a 2 e, por isso, são considerados sistemas de agressividade moderada (Van MEERBEEK et al., 2003). Este sistema dissolve a dentina superficial deixando alguns cristais de hidroxiapatita parcialmente desmineralizados (De MUNCK et al., 2005), onde os radicais fosfato e carboxil dos monômeros funcionais podem interagir quimicamente, sendo incorporados à camada híbrida (YOSHIDA et al., 2004). Desse

modo ocorre um mecanismo duplo de adesão (micro-mecânico e químico), que se acredita aumentam a resistência adesiva (De MUNCK et al., 2005).

Apesar dos sistemas autocondicionantes de dois passos já se apresentarem como sistemas de técnica simplificada, os fabricantes não abandonaram a tendência de torná-los ainda mais simples. Assim, entre os adesivos auto-condicionantes existem os sistemas com passo único para sua aplicação que unem o *primer* ácido e o adesivo (MIYAZAKI; IWASAKI; ONOSE, 2002). Esses sistemas são compostos por dois frascos em que os componentes resinosos hidrófilos e hidrófobos encontram-se separados. Isto faz com que os foto-iniciadores, sensíveis à acidez, sejam incorporados à solução ácida no momento da sua aplicação, evitando-se, assim, que estejam alterados antes do uso e para manter suas características, sendo misturados imediatamente antes da aplicação (TAY et al., 2002a). Devido ao pH desses sistemas ser aproximadamente 1, são considerados sistemas agressivos (Van MEERBEEK et al., 2003), promovendo a dissolução da hidroxiapatita e infiltração dos monômeros através de um único passo clínico. Após uma leve secagem, forma-se uma fina camada do adesivo na superfície do esmalte, que é capaz de promover retenção micromecânica do material restaurador (FREY, 2000).

3 PROPOSIÇÃO

Este estudo avaliou a influência da irradiação dos tecidos dentais (esmalte e dentina) com *laser* de Er,Cr:YSGG sob duas diferentes condições (com e sem refrigeração) na resistência adesiva de três diferentes sistemas adesivos (*etch-and-rinse*, auto-condicionante de um passo e auto-condicionante de dois passos).

4 MATERIAL E MÉTODOS

Fatores em estudo	1. Tecido	<u>2 Níveis</u>	Esmalte Dentina
	2. Condição de irradiação	<u>3 Níveis</u>	a. sem irradiação com <i>laser</i> b. irradiação <i>laser</i> a 0,25W com refrigeração ar-água c. irradiação <i>laser</i> a 0,25W sem refrigeração ar-água
	3. Sistemas adesivos	<u>3 Níveis</u>	<i>Etch-and-rinse</i> Auto-condicionante de um passo Auto-condicionante de dois passos
Unidades experimentais	Incisivos bovinos		
Variável resposta	Resistência adesiva		

Quado 4.1 – Delineamento experimental

4.1 Obtenção da amostra e limpeza dos elementos dentais

Para a realização deste estudo foram utilizados 218 incisivos bovinos hígidos de gado da raça Nelore, com idade média de 36 meses, abatidos em frigorífico para consumo. Após a extração, os dentes permaneceram armazenados em recipientes de vidro contendo água destilada e deionizada sob temperatura de +4°C, por no máximo 7 dias até o início do experimento. Este trabalho teve a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa – Subcomissão de Bioética de Animais da FOUSP (ANEXO A).

Os dentes foram lavados com água destilada e deionizada sob fricção e raspados com curetas periodontais (Hu-Friedy, Houston, EUA) para remoção de

indutos e resíduos orgânicos. Depois de limpos, os dentes passaram por uma seleção a olho nu e em lupa estereoscópica (Olympus SZ-PT, Tokyo, Japão), com aumento de 10X para verificação de ausência de trincas, fissuras e alterações estruturais na superfície da coroa dental, as amostras que apresentaram estes defeitos foram excluídas e substituídas por outras.

Em seguida, os dentes foram seccionados 2 mm abaixo da junção amelo-cementária com o auxílio de um disco diamantado (Isomet Buehler Ltd., Lake Bluf, IL., EUA) acoplado a uma cortadeira de precisão (Isomet 1000/Buehler- Processo Fapesp 05/04701-7). Com o auxílio de curetas de pequeno diâmetro (Duflex - SS White, Rio de Janeiro, RJ), e limas endodônticas n° 80 tipo Kerr de 31 mm (Maillefer, Ballaigues, Suíça) a polpa coronária foi removida e as faces internas novamente lavadas com água destilada e deionizada.

4.2 Confeção das amostras e divisão dos grupos

Para o procedimento de inclusão, as amostras foram colocadas no interior de um molde plástico desmontável composto por uma base adaptada a um tubo cilíndrico (Extex, Enfield, CT, EUA), fixadas nesta base com o uso de cera utilidade, ficando a face vestibular voltada para baixo (Figura 4.1). A seguir, o cilindro do dispositivo foi encaixado, e a resina acrílica auto-polimerizável incolor (Acrílico Autopolimerizante JET – Clássico Indústria Brasileira, SP, Brasil) foi vertida cuidadosamente em seu interior para confecção do bloco com cerca de metade da

altura do cilindro. Após a presa da resina as amostras foram desincluídas e a cera retirada com auxílio de curetas dentinárias.

Figura 4.1 - dente posicionado para inclusão

A superfície do bloco de resina voltada para a base do cilindro foi então desgastada, para exposição da superfície dental incluída com o auxílio de uma Politriz Metalográfica (Ecomet 6/Automet, Buehler Ltd, Lake Bluff, IL, EUA – Processo Fapesp 03/12182-4) com sistema de polimento simultâneo capaz de realizar o polimento automático de seis corpos de prova, permitindo o paralelismo entre as superfícies polidas e a base de acrílico.

Para a planificação foi utilizado lixa de carbeto de silício de granulação decrescente 180, 320 e 400 (SiC, Carbimet, Paper Discs, Buehler Ltd, Lake Bluff, IL, EUA), com refrigeração à água. Para tanto, a politriz com carrossel múltiplo de 6 corpos-de-prova (Figura 4.2) foi acionada em baixa velocidade, com peso padrão de 1 libra, o que representa uma carga de 443 g, ou seja, 74 g por corpo-de-prova, até se alcançar a área desejada de 5 mm de diâmetro em esmalte ou dentina.

Figura 4.2 – Carrossel montado para polimento em politriz automatizada

Para impedir que os grãos das primeiras lixas interferissem na qualidade do polimento das seguintes, entre cada etapa de polimento, os corpos-de-prova foram levados a um aparelho de ultra-som, com água destilada e deionizada, com imersão limitada a 30 s por vez, pois períodos maiores de imersão poderiam alterar a resposta plástico-elástica da superfície do dente (HABELITZ et al., 2001).

Após o desgaste com o disco de lixa de granulação #400 e banho em cuba ultra-sônica, a superfície de esmalte e dentina foi desgastada com um disco de lixa de granulação #600 por um minuto para a criação de uma camada de esfregaço padronizada (TAO; PASHLEY; BOYD, 1988).

Os dentes foram levemente secos com jato de ar a uma distância de 30 cm para em seguida ser posicionado numa matriz circular de papel Canson de 5 mm de diâmetro preso a um fio dental por uma gota de cola à base de cianocrilato (Super Bonder Gel, Henkel Loctite, SP, Brasil). Com esta matriz em posição foi aplicada uma camada de esmalte cosmético de cor contrastante sobre todo corpo-de-prova. Após secagem do esmalte, a matriz era retirada puxando-se o fio dental.

Os dentes foram divididos aleatoriamente em 18 grupos (n=12) de acordo com o Quadro 4.2.

Condição de irradiação	Sistemas adesivos					
	Adper Single Bond (SB)		Clearfil SE Bond (SE)		One Up Bond F (OU)	
	Esmalte (E)	Dentina (D)	Esmalte (E)	Dentina (D)	Esmalte (E)	Dentina (D)
Sem <i>laser</i> – controle (a)	ESBa	DSBa	ESEa	DSEa	EOUa	DOUa
<i>Laser</i> com irrigação (b)	ESBb	DSBb	ESEb	DSEb	EOUb	DOUb
<i>Laser</i> sem irrigação (c)	ESBc	DSBc	ESEc	DSEc	EOUc	DOUc

Quadro 4.2 – Divisão dos grupos experimentais

4.3 Parâmetros do *laser* de Er,Cr:YSGG

As irradiações das amostras foram realizadas utilizando-se *laser* de Er,Cr:YSGG (Millenium, Biolase, San Clemente, EUA) (Figura 4.3A) do Laboratório de Biofotônica do IPEN/CNEN-SP (Projeto CEPID-FAPESP 98/14270-8), de comprimento de onda de 2,79 μm , largura de pulso entre 140 e 200 μs , taxa de repetição de 20 Hz, com potência média ajustável entre 0 a 6 W e energia por pulso de até 300 mJ. A irradiação *laser* foi, neste trabalho, entregue por um sistema de fibra óptica com ponta de safira (tipo S 75) (Figura 4.3B), de diâmetro de 750 μm e comprimento de 6 mm, originando um diâmetro de feixe de 600 μm quando posicionado a 1 mm de distância entre a ponta da safira e a superfície dental. Há uma luz guia vermelha, a qual indica a focalização do *laser*. A irradiação foi realizada manualmente em linhas paralelas na área delimitada, durante 50 s.

Figura 4. 3 - A - equipamento *laser* utilizado no presente trabalho; B – detalhe da ponta de safira empregada na irradiação das amostras

Considerando-se que o emprego do *laser* de Er,Cr:YSGG para condicionamento dental não deva promover alterações morfológicas prejudiciais ao esmalte/dentina irradiados, foi selecionada, para o presente estudo, uma fluência, ou densidade de energia, considerada sub-ablativa, ajustável no equipamento utilizado, a saber: $2,8 \text{ J/cm}^2$, 12,5 mJ por pulso, potência média de 0,25 W.

No momento das irradiações, a energia emitida foi verificada por um medidor de potência (Coherent FieldMaster GS + Detetor LM45; Coherent, CA, EUA) a cada três amostras irradiadas.

Nos grupos irradiados sem *spray* ar-água, o equipamento foi ajustado para saída de 0 % de água e 0 % de ar, já para os grupos irradiados com refrigeração, o equipamento foi ajustado para saída de 50 % de ar e 20 % de água, resultando em um fluxo de água de 11mL/min.

4.4 Aplicação do sistema adesivo

Após a realização dos procedimentos citados anteriormente para cada grupo, a superfície de esmalte ou dentina foi tratada com o sistema adesivo apropriado, seguindo-se as recomendações do fabricante. A composição e pH dos sistemas adesivos encontram-se descritos no Quadro 4.3.

Sistema Adesivo	Número de lote	Composição	pH
Adper Single Bond	4KC	condicionador: ácido fosforico 35% Adesivo: Bis-GMA; HEMA; UDMA; dimetacrilatos; copolímero do ácido polialcenóico e poliitacônico; água; etanol; fotoiniciador (canforoquinona)	< 0,6 ± 5.0
Clearfil SE Bond	00330A 00422A	Primer: MDP; HEMA; dimetacrilatos hidrofílicos; fotoiniciador (canforoquinona); água; N,N-dietanol-p-toluidina Bond: MDP; HEMA; Bis-GMA; dimetracrilatos hidrófobos; canforoquinona; N,N-dietanol-p-toluidina; sílica coloidal silanizada	1.9
One-Up Bond F	1068M 594M	Frasco A: MAC-10; MMA; metil metacrilato; água; Corante coumarim; monômero metacrilato multifuncional; ácido fosfato metacriloiloxialquil; fotoiniciador (aril borato) Frasco B: HEMA, MMA, água, silicato flúor alumínio de vidro, fotoiniciador (aril borato)	1.3

Quadro 4.3 – Marca comercial, composição, lote e pH dos sistemas adesivos utilizados neste estudo.

O sistema *etch-and-rinse* (Adper Single Bond - 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA), foi aplicado nos grupos em esmalte (ESBa, ESBb, ESBc) e dentina (DSBa, DSBb, DSBc). Aplicou-se ácido fosfórico a 35 % (3M-ESPE) na área exposta do substrato durante 15 s, sendo posteriormente lavado por 30 s. A secagem da cavidade foi feita com papel absorvente (Papel Melita, Melita Celupa, Brasil), com intuito de remover apenas o excesso de água. Em seguida, foi feita uma aplicação do sistema adesivo Adper Single Bond com auxílio de pincel de aplicação do tipo Microbrush (Vigodent, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) sendo, posteriormente, levemente seca por 3 s, com jato de ar livre de óleo e água, aguardando-se a evaporação do solvente por 30 s e fotopolimerizada por 10 s.

O sistema auto-condicionante de dois passos (Clearfil SE Bond - Kuraray Co., Osaka, Japão) foi utilizado para os grupos em esmalte (ESEa, ESEb, ESEc) e dentina (DSEa, DSEb, DSEc). A aplicação do *primer* auto-condicionante sobre a superfície de esmalte/dentina foi realizada em uma única camada, com o auxílio de aplicador descartável Microbrush (Vigodent, RJ, Brasil) que cobriu toda a superfície e foi mantido por 20 s, após o qual se realizou uma breve secagem por 3 s, com leve jato de ar livre de óleo e água. Após a secagem desta primeira camada, foi aplicado o adesivo com o auxílio de um novo aplicador, seguido de mais um leve jato de ar livre de água e óleo, a 5 cm da superfície do dente por 3 s, para remoção de excessos, seguido de fotopolimerização por 10 s.

O sistema auto-condicionante de passo único (One Up Bond F - Tokuyama, Kyoto, Japão) foi utilizado nos grupos em esmalte (EOUa, EOUb, EOUc) e dentina (DOUa, DOUb, DOUc). Misturou-se o agente adesivo do frasco A com o do frasco B. A mistura resultante muda da cor amarela para rosa, depois de misturados os conteúdos dos dois frascos, sendo então aplicado sobre o substrato

(esmalte/dentina) sem esfregar, aguardou-se 20 s, e em seguida foi fotopolimerizado por 20 segundos, tendo sua cor rosa desaparecido após a polimerização. Para todos os procedimentos foi utilizado o aparelho de fotopolimerização Astralis 3 (Ivoclar Vivadent, Amherst, NY, EUA), a uma potência média de 540 mW/cm².

4.5 Construção do corpo de prova e avaliação da resistência de união por ensaio de tração

Com a aplicação do sistema adesivo correspondente a cada grupo, o corpo-de-prova foi ajustado e fixado a uma mesa metálica especialmente desenvolvida para esse fim (Houston Biomaterials Research Center) (Figura 4.4A), conjuntamente com uma matriz cilíndrica de polipropileno branca, bipartida e com 3 mm de altura. A matriz, com as suas duas partes justapostas, formavam uma cavidade central de forma tronco-cônica, com o vértice voltado para o substrato dental (Figura 4.4B) (BARAKAT; POWERS, 1986).

Prosseguiu-se à construção do corpo-de-prova com resina composta microhíbrida Z250 (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA) na cor A2, que foi inserida na matriz com espátula anti-aderente (Thompson, Dental MFG Co., EUA), em 2 incrementos horizontais, sendo cada incremento fotopolimerizado por 20 s. Após a confecção do corpo-de-prova (Figura 4.5), a amostra foi armazenada em água em estufa (Orion 502 – Fanem, SP, Brasil - FAPESP 99/12518-5), a 37°C por 24 h.

Figura 4.4 - **A** - mesa metálica aberta; **B** - matriz cilíndrica de polipropileno bipartida; **C** – mesa metálica com matriz e corpo de prova posicionados – vista superior; **D** – mesa metálica com matriz e corpo de prova posicionados – vista lateral

Figura 4.5 - amostra com corpo de prova confeccionado

Passado esse período, os corpos-de-prova foram submetidos ao ensaio de tração através da máquina universal de tração Mini-Instron – Modelo 4442 (Instron

Corporation, Norwood, MA, EUA), numa velocidade de deslocamento de 0,5 mm/min (Figura 4.6). A leitura dos valores da força de ruptura foi obtida em Newton (N), e estes foram convertidos em Mega Pascal (MPa), levando-se em consideração a área de adesão.

Figura 4. 6 - ensaio de resistência adesiva por tração

4.6 Análise do tipo de fratura

Após o ensaio de resistência adesiva por tração cada corpo-de-prova foi analisado em lupa estereoscópica com aumento de 40 X, para verificação do tipo de fratura obtido. Essas fraturas foram classificadas em três tipos: A – fratura adesiva, quando havia destacamento total do cone de resina; M – fratura mista (adesiva/coesiva), quando parte da resina era destacada, porém permaneciam

partes da resina aderida ao substrato e C – fratura coesiva, quando havia fratura do corpo da resina que ficava aderida ao substrato.

4.7 Análise estatística

Os valores individuais obtidos no ensaio de tração foram submetidos ao programa de testes estatísticos Minitab 13.1 (Minitab Inc., Pennsylvania, EUA), onde foi realizado o diagnóstico da amostra ou análise dos resíduos. A distribuição dos valores foi testada, tendo sido observada normalidade, independência e homocedasticidade, atendendo os pressupostos necessários à utilização de teste estatístico paramétrico de Análise de Variância (BOX; HUNTER; HUNTER, 1989), cujos gráficos comprobatórios encontram-se no Anexo B.

Após este diagnóstico, utilizou-se o teste estatístico paramétrico de Análise de Variância (ANOVA) para determinar diferenças entre os grupos com nível de significância de 5% e ao teste de Tukey para comparação entre as médias.

Optou-se por realizar análises estatísticas separadas de cada um dos tecidos dentais testados, respeitando as particularidades inerentes aos substratos em questão.

5 RESULTADOS

Os dados de resistência adesiva frente aos fatores de variação tecido dental, sistema adesivo e condição de irradiação com *laser* de Er,Cr,:YSGG foram obtidos em MPa e analisados estatisticamente com o software Minitab 13.1. Optou-se por realizar análises estatísticas separadas de cada um dos tecidos dentais testados, respeitando as particularidades inerentes aos substratos em questão.

Os dados obtidos no estudo corresponderam a 216 valores de resistência de união, pelo ensaio de tração: 108 foram obtidos nas amostras de esmalte e 108 nas amostras de dentina, perfazendo um total de 18 grupos ($n=12$).

Primeiramente realizou-se o diagnóstico da amostra ou análise dos resíduos. A distribuição dos valores foi testada, tendo sido observada normalidade, independência e homocedasticidade, atendendo os pressupostos necessários à utilização de teste estatístico paramétrico de Análise de Variância (BOX; HUNTER; HUNTER, 1989), cujos gráficos comprobatórios encontram-se no Anexo B (esmalte) e no Anexo C (dentina).

A Tabela 5.1, mostra a média e o desvio-padrão de resistência adesiva dos 18 grupos experimentais.

A Análise de Variância (ANOVA) foi utilizada para detectar diferenças entre os fatores de variação principais (sistema adesivo e tratamento de superfície), bem como suas interações para o substrato esmalte (Tabela 5.2).

Tabela 5.1 - Média $\pm$ desvio-padrão de resistência adesiva (MPa) observados nos diferentes grupos experimentais

Condição de irradiação	Sistemas adesivos					
	Adper Single Bond (SB)		Clearfil SE Bond (SE)		One Up Bond F (OU)	
	Esmalte (E)	Dentina (D)	Esmalte (E)	Dentina (D)	Esmalte (E)	Dentina (D)
Sem <i>laser</i> – controle (a)	ESBa 24,38 ($\pm 5,90$)	DSBa 20,99 ($\pm 4,64$)	ESEa 18,68 ($\pm 5,90$)	DSEa 16,08 ($\pm 4,52$)	EOUa 15,24 ($\pm 2,48$)	DOUa 14,55 ($\pm 2,43$)
<i>Laser</i> com irrigação (b)	ESBb 17,34 ($\pm 6,35$)	DSBb 11,90 ($\pm 3,13$)	ESEb 19,03 ($\pm 5,01$)	DSEb 16,28 ($\pm 2,93$)	EOUb 12,31 ($\pm 3,76$)	DOUb 11,80 ($\pm 3,27$)
<i>Laser</i> sem irrigação (c)	ESBc 18,60 ($\pm 4,87$)	DSBc 5,59 ($\pm 1,42$)	ESEc 13,10 ($\pm 5,20$)	DSEc 14,55 ($\pm 2,43$)	EOUc 10,95 ($\pm 2,79$)	DOUc 8,52 ($\pm 1,99$)

Tabela 5.2 - Análise de variância dos valores da resistência adesiva (MPa) obtidos entre os grupos experimentais em esmalte

Fonte de variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrados médios	F	P
Adesivo	2	957,34	478,67	20,14	<0,000
Condição de irradiação	2	499,24	249,62	10,50	<0,000
Adesivo X Condição de irradiação	4	220,68	55,17	2,32	0,062
Resíduo	99	2352,60	23,76	-----	-----
Total	107	4029,86	-----	-----	-----

Observou-se diferença estatisticamente significativa para os fatores de variação principais: sistemas adesivos (SB=SE>OU) ($p<0,000$) e condição de

irradiação com *laser* de Er,Cr:YSGG ($a>b=c$) ($p<0,000$) (Figura 5.1 e Tabela 5.2). Entretanto, de acordo com a Tabela 5.2 e as Figura 5.2, não há diferença estatisticamente significativa para a interação entre os fatores de variação adesivo x condição de irradiação ($p=0,062$) no substrato esmalte.

Figura 5.1 - Representação gráfica dos resultados estatísticos referentes aos fatores principais adesivo e condição de irradiação com *laser* de Er,Cr:YSGG para o substrato esmalte

Avaliando em esmalte o efeito das condições de irradiação com o *laser* de Er,Cr:YSGG observa-se que os grupos controle sem irradiação com *laser* de Er,Cr:YSGG, apresentaram maior resistência adesiva quando comparados aos grupos irradiados com refrigeração e sem refrigeração (Figura 5.1).

Ao analisar os fatores de variação principais observa-se que os sistemas adesivos SB e SE não apresentam diferença significativa entre seus valores médios

de adesão. No entanto, ambos os sistemas apresentam valores médios de resistência adesiva superiores ao sistema OU (Figura 5.1).

Figura 5.2 - Representação gráfica dos resultados estatísticos referentes à interação dos fatores de variação principais (adesivo e condição de irradiação com *laser* de Er,Cr:YSGG) para o substrato esmalte

A análise estatística ANOVA, aceitando-se 5% como nível de significância, realizada para os resultados de resistência de união em dentina está apresentada na Tabela 5.3.

Observa-se diferença estatisticamente significativa para os fatores de variação principais: sistemas adesivos (SB=OU<SE) ($p<0,000$) e condição de irradiação com *laser* de Er,Cr:YSGG ($a>b>c$) ($p<0,000$) representados na Tabela 5.3 e na Figura

5.3, e para a interação adesivo X condição de irradiação ($p < 0,000$) (Tabela 5.3 e Figura 5.4)

Tabela 5.3 - Análise de variância dos valores da resistência adesiva (MPa) obtidos entre os grupos experimentais em dentina

Fonte de variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrados médios	F	P
Adesivo	2	305,14	152,57	15,47	<0,000
Condição de irradiação	2	1054,62	527,31	53,45	<0,000
Adesivo X Condição de irradiação	4	625,13	156,28	15,84	<0,000
Resíduo	99	976,69	9,87	-----	-----
Total	107	2961,58	-----	-----	-----

Avaliando as condições de irradiação da dentina com o *laser* de Er,Cr:YSGG observa-se que a condição sem irradiação com *laser* de Er,Cr:YSGG apresenta maior resistência adesiva quando comparada aos grupos irradiados com refrigeração e sem refrigeração (Figura 5.3). Ademais as condições b e c também foram consideradas estatisticamente diferentes entre si, com maior valor de resistência adesiva para a condição de irradiação com *laser* de Er,Cr:YSGG com refrigeração (b) do que na condição de irradiação sem refrigeração (c) (Figura 5.3).

Figura 5.3 - Representação gráfica dos resultados estatísticos referentes aos fatores principais adesivo e condição de irradiação com *laser* de Er,Cr:YSGG para o substrato dentina

Figura 5.4 - Representação gráfica dos resultados estatísticos referentes a interação dos fatores de variação principais (adesivo e condição de irradiação com *laser* de Er,Cr:YSGG) para o substrato dentina

Ao analisar o comportamento dos sistemas adesivos em dentina observa-se que os sistemas SB e OU não apresentam diferença significativa entre seus valores médios de adesão, porém apresentaram resistência adesiva inferior ao sistema SE.

De acordo com a Tabela 5.3 e Figura 5.4, existe diferença estatisticamente significativa para a interação entre os fatores de variação adesivo e condição de irradiação no substrato dentina. Em relação à comparação entre os sistemas adesivos nas condições de irradiação (a, b, c), temos que para os controles (a), os sistemas adesivos auto-condicionantes SE e OU não foram estatisticamente diferentes entre si, porém ambos apresentaram valores de resistência de união estatisticamente inferiores ao do sistema adesivo SB (Figura 5.5).

Para as condições de irradiação com *laser* de Er,Cr:YSGG, com (b) e sem refrigeração (c), obteve-se maiores valores de resistência adesiva para o sistema auto-condicionante Clearfil SE Bond (SE) do que para os sistemas SB e OU, que não apresentaram diferença estatística quando comparados entre si (Figura 5.5).

Figura 5.5 - Representação gráfica das médias (MPa) de resistência adesiva referentes à interação dos fatores de variação principais (adesivo e condição de irradiação com *laser* de Er,Cr:YSGG) para o tecido dentina (letras iguais representam semelhança estatística)

Após os testes de resistência adesiva, todos os espécimes foram recolhidos para análise do padrão de fratura, o qual foi dividido em três categorias: A – fratura adesiva; M – fratura mista e C – fratura coesiva. Os resultados da frequência de cada tipo de fratura, por grupo, estão descritos na Tabela 5.4.

Tabela 5.4 - Modos de falha da interface adesiva para os 18 grupos experimentais

Condição de irradiação	Sistemas adesivos					
	Adper Single Bond (SB)		Clearfil SE Bond (SE)		One Up Bond F (OU)	
	Esmalte (E)	Dentina (D)	Esmalte (E)	Dentina (D)	Esmalte (E)	Dentina (D)
Sem <i>laser</i> – controle (a)	9/3/0	11/1/0	8/4/0	9/2/1	12/0/0	10/2/0
<i>Laser</i> com irrigação (b)	11/1/0	8/3/1	3/9/0	8/3/1	10/2/0	8/4/0
<i>Laser</i> sem irrigação (c)	8/4/0	10/2/0	5/7/0	7/5/0	9/3/0	9/2/1

nota: modo de fratura (A/M/C)

Analisando a Tabela 5.4, sobre as fraturas dos corpos de prova após o teste de tração, podemos considerar alguns aspectos, tais como: para os sistemas *etch-and-rinse* e auto-condicionante de passo único, sempre ocorreu maioria de fraturas adesivas, tanto em esmalte quanto em dentina, independentemente da condição de irradiação; para o sistema auto-condicionante de dois passos, tivemos maioria de fraturas adesivas em todas as condições de irradiação somente para o substrato dentinário. Quanto ao substrato esmalte, tivemos maior frequência de fraturas adesivas para a condição sem irradiação *laser* e maioria de fraturas mistas para as condições com irradiação com e sem refrigeração.

6 DISCUSSÃO

A habilidade do *laser* de Er,Cr:YSGG em efetivamente interagir com o substrato proporcionando ablação da estrutura dental é alcançada pela interação termo-mecânica da irradiação do *laser* de Er,Cr:YSGG (comprimento de onda de 2,79 μm) com os picos de absorção da banda dos radicais OH^- presentes na água (3,00 μm), e na hidroxiapatita (2,9 μm) (FRIED et al., 2002), gerando micro-explosões que consomem a energia da irradiação *laser*.

Na literatura não se observa um consenso quanto aos valores de limiar de ablação para o *laser* de Er,Cr:YSGG, sendo reportado os valores de 4 J/cm^2 (BELIKOV et al., 1993), 18 J/cm^2 (FRIED et al., 1996), 10 a 14 J/cm^2 (APEL et al., 2002a). De acordo com as instruções constantes no manual do fabricante do equipamento comercial do *laser* de Er,Cr:YSGG, sugere-se que as potências médias de 2,5 W, o que origina densidade de energia de 16 J/cm^2 , seriam as ideais para condicionamento. Entretanto, áreas de ablação foram reveladas em estudo que empregou densidades de energia de 2,8 J/cm^2 , mesmo com ausência de refrigeração (ANA, 2007).

Estudos empregando baixas densidades de energia associados a um sistema auto-condicionante têm sido realizados apresentando resultados discrepantes, pois enquanto Oliveira et al. (2004) observaram diminuição significativa da força adesiva tanto em esmalte quanto em dentina, com o parâmetro 16 J/cm^2 , Basaran et al. (2007) demonstraram que a irradiação prévia do esmalte com potências médias de 1W e 2W não altera significativamente a força de cisalhamento de bráquetes ortodônticos.

Neste trabalho observou-se que quando o esmalte foi irradiado com *laser* de Er,Cr:YSGG, com (b) e sem (c) refrigeração, a resistência adesiva de todos os sistemas avaliados foi semelhante para ambas as condições de irradiação, porém menor quando comparado ao grupo sem irradiação. Assim, sugere-se que a refrigeração durante a irradiação do esmalte dental com $2,8\text{J}/\text{cm}^2$ com *laser* de Er,Cr:YSGG não é suficiente para evitar o aumento de energia no tecido que leva a uma maior resistência à desmineralização por ácidos, dificultando a ação dos sistemas adesivos.

Sabe-se que o esmalte é constituído de 95 a 97%, em massa de material inorgânico, 1% de material orgânico e 2 a 4% de água em massa (GWINNETT, 1992), que funciona como meio de hidratação circundando os cristalitos (GWINNETT, 1992), sendo o carbonato o principal substituinte da hidroxiapatita, que representa de 3 a 5%, em massa (peso seco) (CURZON, FEATHERSTONE, 1983). Deste modo, o esmalte é composto por hidroxiapatita carbonatada, e os efeitos da irradiação *laser* na superfície do esmalte estão relacionados à absorção de energia por este tecido que ao ser absorvida, aquece o tecido.

O rápido aquecimento e a rápida dissipação de calor causam estresse mecânico no esmalte que pode resultar em trincas (FOWLER; KURODA, 1986). Algumas alterações químicas podem ocorrer, incluindo a perda de carbonato, fusão e recristalização (KURODA; FOWLER, 1984), sendo o ponto de fusão do esmalte entre 800 e 1200 °C (ZUERLEIN; FRIED; FEATHERSTONE, 1999).

Foi relatado que a ablação do esmalte com o *laser* de Er,Cr:YSGG tem início a temperaturas abaixo do ponto de derretimento e vaporização da hidroxiapatita carbonatada, a uma temperatura de 800°C, com energias que podem variar: $18\text{J}/\text{cm}^2$

(FRIED et al., 1996), 2,8 J/cm², 4 J/cm² (BELIKOV et al., 1993) ou 10 J/cm² (APEL et al., 2002a).

A perda de água e de carbonato, componente que propicia o aumento da solubilidade do esmalte, se inicia em temperaturas ao redor de 100°C (FOWLER; KURODA, 1986; OHO; MORIOKA, 1990). A hidroxiapatita carbonatada, ao ser aquecido a uma temperatura entre 400 e 600°C, perde cerca de 30% do seu conteúdo de carbonato (HOLCOMB; YOUNG, 1980). A destruição da matriz orgânica do esmalte, responsável por comprometer a difusão iônica durante a desmineralização, ocorre em temperaturas em torno de 400° C (HSU et al., 2000). Sabendo-se que quanto menor o conteúdo de carbonato, mais ácido resistente será a hidroxiapatita (FEATHERSTONE, 2000), pode-se inferir que a irradiação com *laser* de Er,Cr:YSGG com fluência de 2,8J/cm² pode promover um aumento da resistência do esmalte à desmineralização.

Em microscopia eletrônica de varredura, padrões morfológicos típicos de ablação, com exposição de prismas, projeções e depressões do esmalte foram descritos por Usumez et al. (2002), empregarem fluências de 2,7 J/cm² e 5,6 J/cm². Como as alterações morfológicas e químicas são dependentes da temperatura alcançada pela superfície do esmalte irradiado, é lícito supor que estas alterações possam interferir na resistência adesiva.

Avaliando o grupo controle (sem irradiação com *laser* de Er,Cr:YSGG) em esmalte (a) observa-se que este apresentou resistência adesiva superior aos grupos irradiados com *laser* (b e c), pois não teve sua morfologia de superfície, nem química alteradas pela irradiação *laser*, recaiando a discussão do resultado obtido apenas sobre o comportamento dos sistemas adesivos testados. Neste trabalho observou-se que em esmalte o sistema *etch-and-rinse* (SB) apresentou resistência adesiva

semelhante ao auto-condicionante de dois passos (SE), ambos apresentando resistência adesiva superior quando comparado com o sistema auto-condicionante de passo único (OU).

Quando o esmalte é condicionado com ácido fosfórico, ocorre um padrão de condicionamento inter-prismático que cria espaços para infiltração do adesivo, criando *tags* resinosos de 1µm. Quando da utilização de sistema auto-condicionante, os *tags* resinosos são mais curtos (de 0,6 – 0,7µm de comprimento) (HASHIMOTO et al., 2003), contudo, mesmo com esta delgada camada híbrida há boa resistência adesiva ao esmalte, apresentando resistência adesiva clinicamente aceitável (ARMSTRONG et al., 2003).

Apesar dos relatos de alguns autores que o sistema auto-condicionante apresenta um padrão de condicionamento deficiente (TORII et al., 2002), o sistema de dois passos Clearfil SE Bond possui o monômero MDP que proporciona adesão química com os íons cálcio da hidroxiapatita (KUBO et al., 2001). Este detalhe pode explicar seu desempenho semelhante ao sistema *etch-and-rinse*, sendo o primer ácido capaz de formar irregularidades na superfície do esmalte (SENAWONGSE et al., 2004), promovendo adesão eficiente (YOSHIYAMA, et al., 1998). Autores (HASHIMOTO et al., 2003; SENAWONGSE et al., 2004; SHIMADA; KIKUSHIMA; TAGAMI, 2002; SHIMADA et al., 2002; TORII et al., 2002) concordam com estes achados, quando relatam resistência adesiva similar do sistema auto-condicionante de dois passos e o sistema *etch-and-rinse*.

No sistema auto-condicionante de um passo (One Up Bond F), a combinação de monômeros ácidos, hidrofílicos e hidrofóbicos em uma mesma solução pode vir a comprometer a função de cada um dos componentes (TOLEDANO et al., 2003), sendo que a resistência adesiva ao esmalte depende da composição do sistema

auto-condicionante (LOPES et al., 2004). Nossos resultados estão de acordo com os da literatura (INOUE et al., 2003; PARADELLA; FAVA, 2007; PERDIGAO; GERALDELI, 2003; SENAWONGSE et al., 2004) quando observamos menor RA para o sistema auto-condicionante de passo único.

Para que um sistema adesivo possa desenvolver uma eficiente adesão ao substrato dentinário, é fundamental que o seu mecanismo de adesão seja minimamente influenciado pelas alterações provenientes da condição de irradiação com *laser* de Er,Cr:YSGG.

Comparando as condições de irradiação com *laser* de Er,Cr:YSGG observou-se maior resistência adesiva quando esta irradiação não foi realizada (a), seguida da irradiação com refrigeração (b), sendo os menores valores de resistência adesiva obtidos quando a irradiação foi realizada sem (c) refrigeração.

Para dentina sem irradiação com *laser* de Er,Cr:YSGG (a), o sistema *etch-and-rinse* (Adper Single Bond), obteve valores superiores de resistência adesiva em relação aos sistemas auto-condicionantes empregados (Clearfil SE Bond e One Up Bond F), que não apresentaram diferenças estatisticamente significantes quando comparados entre si. Este resultado está de acordo com a literatura (BESNAULT et al., 2004; BORGES et al., 2006).

A profundidade de desmineralização dentinária, a espessura da camada híbrida e a formação dos *tags* resinosos dependem do pH dos condicionadores de superfície presentes em cada sistema. O ácido fosfórico presente no sistema *etch-and-rinse* possui pH=0,6 (OGATA et al., 2001), enquanto que o do monômero MDP, presente no sistema Clearfil SE Bond é aproximadamente 2,0 (OGATA et al., 2001; OLIVEIRA et al., 2002;), e do monômero Mac-10, presente no sistema One Up Bond F é de aproximadamente 1,3 (PROENÇA et al., 2007).

Para o sistema *etch-and-rinse*, a aplicação prévia de ácido fosfórico sobre a dentina, promove desmineralização das dentinas peritubular e intertubular, alargamento da entrada dos túbulos dentinários, com dissolução dos cristais de hidroxiapatita, expondo a rede de fibrilas colágenas, a uma profundidade em torno de 3 a 5µm (PERDIGAO et al., 1996) e 7µm (Van MEERBEEK et al., 1992). Por ser composto por uma mistura de solventes de etanol e água, que são capazes de permear a dentina desmineralizada e manter a rede de fibras colágenas expandida, após a evaporação dos solventes ocorre a infiltração dos monômeros adesivos, facilitando a formação de camada híbrida espessa (BURKE; McCAUGHEY, 1995), e a formação de *tags* resinosos com forma inicialmente cônica, terminando de forma cilíndrica, que é o princípio de adesão à dentina condicionada com ácido (NAKABAYASHI; KOJIMA; MASUHARA, 1982; Van MEERBEEK et al., 1992). Esta morfologia da camada híbrida pode ser a responsável pelos altos valores de resistência adesiva apresentados pelo sistema *etch-and-rinse* no grupo de dentina não irradiado.

Em contrapartida, nos sistemas auto-condicionantes o maior pH leva a uma desmineralização menos pronunciada da dentina, bem como a ocorrência da neutralização dos monômeros ácidos pelos íons cálcio e fosfato que permanecem na solução, limitando assim a profundidade de penetração destes sistemas (HANNIG; REINHARDT; BOTT, 1999; OLIVEIRA et al., 2002). Assim, as camadas híbridas formadas são mais delgadas e *tags* resinosos mais curtos e finos, quando comparados com o sistema *etch-and-rinse* (HANNIG; REINHARDT; BOTT, 1999; IMAZATO et al., 1997; PHRUKKANON; BURROW; TYAS, 1999).

O sistema adesivo de dois passos (Clearfil SE Bond), composto pelos monômeros MDP e HEMA, com pH aproximadamente de 2,0, causa dissolução da

camada de esfregaço e mínima remoção dos *smear plugs*, é facilmente infiltrado na dentina desmineralizada e faz adesão química com os íons cálcio da hidroxiapatita (KUBO et al., 2001), formando camada híbrida (INOUE et al., 2000; OSORIO et al., 2003; TOLEDANO et al., 2003). Entretanto, o sistema adesivo One Up Bond F com monômeros MAC-10 e HEMA, apresenta pH de 1,4 que é baixo o suficiente para remover a camada de esfregaço e os *smear plugs* (CHAN et al., 2003; SANO et al., 1995; TAY; PASHLEY, 2001; TAY; PASHLEY, 2003), sendo capaz de formar camada híbrida (HALLER, 2000; OSORIO et al., 2003; TOLEDANO et al., 2003).

Ambos os sistemas possuem como solvente a água e ambos possuem monômeros metacrilatos e carga inorgânica. Dessa maneira, percebe-se que os sistemas possuem semelhanças de composição, formam camadas híbridas parecidas e, provavelmente, estes fatores implicam na semelhança do comportamento dos mesmos frente ao teste de tração em dentina, quando sem irradiação com *laser* de Er,Cr:YSGG.

Neste estudo, a interação Condição de irradiação X sistemas adesivos foi estatisticamente significativa em dentina. Para as condições de irradiação com (b) e sem refrigeração ar-água (c) obtivemos maior resistência adesiva para o sistema adesivo auto-condicionante de dois passos (Clearfil SE Bond) em relação ao sistema *etch-and-rinse* (SB) e o sistema auto-condicionante de passo único (OU), que, por sua vez, não apresentaram comportamento adesivo diferente quando comparados entre si.

A irradiação *laser* provoca alterações micro-estruturais e micro-rupturas das fibras colágenas (RAMOS et al., 2002). Sabe-se que caso a estrutura da rede de fibras colágenas esteja comprometida, a difusão dos monômeros adesivos entre as fibras colágenas será incompleta comprometendo assim a formação da camada

híbrida (NAKABAYASHI; KOJIMA; MASUHARA, 1982; PASHLEY et al., 1993), pois esta para ser resistente não precisa ser espessa, e sim, apresentar uma completa infiltração dos monômeros adesivos na rede de colágeno (TAY et al., 2000).

Adicionalmente, a irradiação *laser* com fluência de $2,8\text{J}/\text{cm}^2$ ablacionou a dentina, alcançando temperaturas superiores a 800°C , e deste modo causou perda de água da estrutura dental circundante aos pontos de ablação, que clinicamente era observada como áreas levemente esbranquiçadas na superfície da dentina. Esta dentina desidratada pode influenciar na hibridização, pois os adesivos que utilizam solventes à base de água (One Up Bond F) ou etanol/água (Adper Single Bond) necessitam de uma superfície dentinária úmida para uma ótima condição de formação de camada híbrida (Van MEERBEEK et al., 2001). Deste modo, a desidratação da dentina irradiada, associada com alterações na micro-estrutura da rede de fibras colágenas, podem ter influenciado negativamente na eficiência do sistema adesivo *etch-and-rinse* (Adper Single Bond) e do sistema adesivo auto-condicionante de passo único (One UP Bond F).

Quando observamos que a adesão do sistema auto-condicionante de dois passos Clearfil SE Bond, não foi influenciada pela irradiação com *laser* de Er,Cr:YSGG, com ou sem refrigeração, reforçamos nossas suposições, uma vez que o fabricante indica que este adesivo pode ser utilizado em dentina seca.

Sabe-se que a irradiação da dentina com *laser* de Er,Cr:YSGG, sem refrigeração ar-água, com potência de 0,25W, favorece aumento da resistência da dentina à ação dos ácidos (ANA, 2007), podendo promover maiores obstáculos para a formação da camada híbrida. A morfologia peculiar da superfície irradiada sem refrigeração ar-água, pode adicionar efeitos adversos tanto na fase mineral e na estrutura de colágeno. Deste modo, pode dificultar o condicionamento ácido, não

expondo adequadamente as fibras colágenas, dificultando a difusão dos monômeros adesivos na dentina, formando camada híbrida irregular, reduzindo assim sua resistência adesiva quando comparada com o substrato não irradiado.

Para o sistema *etch-and-rinse* (Adper Single Bond) e para o sistema auto-condicionante de um passo (One Up Bond F) as alterações supra citadas, tanto de morfologia, como de aumento de resistência à ação dos ácidos, dificultou a adequada difusão dos adesivos.

O primer ácido do sistema auto-condicionante de dois passos Clearfil SE Bond foi desenvolvido para atravessar a camada de esfregaço e *smear plugs*, e aderir à dentina subjacente, não somente através de micro-retenções, mas também com uma adesão química entre o monômero MDP e os íons Cálcio presentes no substrato (YOSHIDA et al., 2004). Quando a dentina é irradiada com *laser* de Er,Cr:YSGG sem refrigeração, supõe-se que a maior área de superfície, devido aos derretimentos e recristalizações superficiais da dentina, está presente com cálcio fixado, favorecendo a adesão química do sistema.

Dos 18 grupos experimentais, 16 apresentaram maior frequência de fraturas adesivas (Tabela 5.4). Entretanto, nos dois grupos de esmalte irradiados quando foi aplicado o sistema adesivo auto-condicionante de dois passos a frequência maior de fratura foi do tipo mista. Este resultado pode ser dependente de uma maior adesão química deste sistema com o substrato, devido à presença do monômero adesivo MDP associado a uma maior fragilidade da camada fusionada de dentina sobre o substrato dentinário (WALSH; ABOOD; BROCKHURST, 1994), além de menor infiltração dos monômeros adesivos.

7 CONCLUSÕES

De acordo com a metodologia empregada, os resultados obtidos permitem-nos concluir que:

7.1 A irradiação com *laser* de Er,Cr:YSGG reduz a adesão ao esmalte independente do sistema adesivo utilizado e da condição de irradiação.

7.2 Para esmalte não irradiado, a resistência de união dos sistemas adesivos auto-condicionante de dois passos e *etch-and-rinse*, apresentam desempenho semelhante, sendo superior ao sistema adesivo auto-condicionante de passo único.

7.3 A irradiação de dentina com *laser* de Er,Cr:YSGG não altera a resistência adesiva do sistema auto-condicionante de dois passos independente da condição de irradiação.

7.4 Em dentina não irradiada com *laser* de Er,Cr:YSGG, a resistência de união do sistema adesivo *etch-and-rinse* é superior à dos sistemas auto-condicionantes, que apresentam desempenho semelhante entre si.

REFERÊNCIAS¹

Adrian JC, Bernier JL, Sprague WG. Laser and the dental pulp. *J Am Dent Assoc* 1971;83(1):113-7.

Ali MN, Hossain M, Nakamura Y, Matsuoka E, Kinoshita J, Matsumoto K. Efficacy of root canal preparation by Er,Cr:YSGG laser irradiation with crown-down technique in vitro. *Photomed Laser Surg* 2005;23(2):196-201.

Altundasar E, Ozcelik B, Cehreli ZC, Matsumoto K. Ultramorphological and histochemical changes after ER,Cr:YSGG laser irradiation and two different irrigation regimes. *J Endod* 2006;32(5):465-8.

Ana PA. Estudo in vitro da resistência à desmineralização e da retenção de flúor em esmalte dental irradiado com laser de Er,Cr:YSGG [Tese de Doutorado]. São Paulo: IPEN/USP; 2007.

Ana PA, Bachmann L, Zezell DM. Laser effects on enamel for caries prevention. *Laser Phys* 2006;16(5):865-75.

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

Apel C, Schafer C, Gutknecht N. Demineralization of Er:YAG and Er,Cr:YSGG laser-prepared enamel cavities in vitro. *Caries Res* 2003;37(1):34-7.

Apel C, Meister J, Ioana RS, Gutknecht N. The ablation threshold of Er:YAG and Er:YSGG laser irradiation in dental enamel. *Lasers Med Sci* 2002a;17(4):246-52.

Apel C, Birker L, Meister J, Weiss C, Gutknecht N. The caries-preventive potential of subablative Er:YAG and Er:YSGG laser radiation in an intraoral model: a pilot study. *Photomed Laser Surg* 2004;22(4):312-7.

Apel C, Meister J, Schmitt N, Graber HG, Gutknecht N. Calcium solubility of dental enamel following sub-ablative Er:YAG and Er:YSGG laser irradiation in vitro. *Lasers Surg Med* 2002b;30(5):337-41.

Aranha AC, Eduardo CD, Gutknecht N, Marques MM, Ramalho KM, Apel C. Analysis of the interfacial micromorphology of adhesive systems in cavities prepared with Er,Cr:YSGG, Er:YAG laser and bur. *Microsc Res Tech* 2007. No prelo.

Armstrong SR, Keller JC, Boyer DB. The influence of water storage and C- factor on the dentin-resin composite microtensile bond strength and debond pathway utilizing a filled and unfilled adhesive resin. *Dent Mater* 2001;17(3):268-76.

---

¹ De acordo com o Estilo Vancouver. Abreviatura de periódicos segundo base de dados MEDLINE.

Armstrong SR, Vargas MA, Fang Q, Laffoon JE. Microtensile bond strength of a total-etch 3-step, total-etch 2-step, self etch 2-step, and a self-etch 1-step dentin bonding system through 15-month water storage. *J Adhes Dent* 2003;5(1):47–56.

Barakat MM, Powers JM. In vitro bond strength of cements to treated teeth. *Aust Dent J* 1986;31(6):415-9.

Barkmeier WW, Gwinnett AJ, Shaffer SE. Effects of enamel etching time on bond strength and morphology. *J Clin Orthod* 1985;19(1):36-8.

Basaran G, Ozer T, Berk N, Hamamci O. Etching enamel for orthodontics with an erbium, chromium:yttrium-scandium-gallium-garnet laser system. *Angle Orthod* 2007;77(1):117-23.

Baurmash H. Treatment of an oral ranula using the Er,Cr:YSGG laser. *J Oral Maxillofac Surg* 2006;64(9):1459.

Belikov AV, Moroz BT, Skripnik AV. Bacterial activity in the products of laser destruction of human dental enamel and dentin. *Stomatologiya (Mosk)* 1995;74(6):32-4.

Belikov AV, Erofeev AV, Shumilin VV, Tkachuk AM. Comparative study of the 3 μ m laser action on different tooth tissue samples using free running Er-doped YAG, YSGG, YAP and YLF lasers. *Proc SPIE* 1993;2080:60-7.

Bertolotti RL. Total etch-the rational dentin bonding protocol. *J Esthet Dent* 1991;3(1):1-6.

Besnault C, Attal JP, Ruse D, Degrange M. Self-etching adhesives improve the shear bond strength of a resin-modified glass-ionomer cement to dentin. *J Adhes Dent* 2004;6(1):55-9.

Boj JR, Hernandez M, Espasa E, Poirier C. Laser treatment of an oral papilloma in the pediatric dental office: a case report. *Quintessence Int* 2007;38(4):307-12.

Borges GA, Spohr, AM, Oliveira WJ, Correr-Sobrinho L, Correr AB, Borges LH. Effect of refrigeration on bond strength of self-etching adhesive systems. *Braz Dent J* 2006;17(3):186-90.

Bouillaguet S, Gysia P, Watahab JC, Ciucchi B, Cattani M, Godin Ch et al. Bond strength of composite to dentin using conventional, one-step, and self-etching adhesive systems. *J Dent* 2001;29(1):55-61.

Bowen RL, Eick JD, Henderson DA. Smear layer: removal and bonding considerations. *Oper Dent* 1984;3(Suppl):30-4.

Box GEP, Hunter WG, Hunter JS. *Estatística para investigadores*. España: Reverte; 1989.

Brinckerhoff CE, Matrisian LM. Matrix metalloproteinases: a tail of a frog that became a prince. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002;3(3):207-14.

Buonocore MG. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces, *J Dent Res* 1955;34(6):849-53.

Buonocore MG, Matsui A, Gwinnett AJ. Penetration of resin dental materials into enamel surfaces with reference to bonding. *Arch Oral Biol* 1968;13(1):61-70.

Burke FJ, McCaughey AD. The four generation of dentin bonding. *Am J Dent* 1995;8(2):88-92.

Burkes EJ Jr, Hoke J, Gomes E, Wolbarsht M. Wet versus dry enamel ablation by Er: YAG laser. *J Prosthet Dent* 1992;67(6):847-51.

Burrow MF, Sano H, Nakajima M, Harada N, Tagami J. Bond strength to crown and root dentin. *Am J Dent* 1996;9(5):223-9.

Burrow MF, Hayashida M, Negishi T, Nikaido T, Tagami J, Takatsu T, et al. Tensile bond strength and curing gap formation of a dentin bonding resin. *Dent Mater J* 1993;12(2):97-105.

Busscher HJ, Retief DH, Arends J. Relationship between surface-free energies of dental resins and bond strengths to etched enamel. *Dent Mater* 1987;3(2):60-3.

Ceballos L, Osorio R, Toledano M, Marshall GW. Microleakage of composite restorations after acid or Er:YAG laser cavity treatments. *Dent Mater* 2001;17(4):340-6.

Ceballos L, Toledano M, Osorio R, Tay FR, Marshall GW. Bonding to Er-YAG-laser-treated dentin. *J Dent Res* 2002;81(2):119-22.

Celik EU, Ergucu Z, Turkun LS, Turkun M. Shear bond strength of different adhesives to Er:YAG laser-prepared dentin. *J Adhes Dent* 2006;8(5):319-25.

Chan KM, Tay FR, King NM, Imazato S, Pashley DH. Bonding of mild self-etching primers/adhesives to dentin with thick smear layer. *Am J Dent* 2003;16(5):340-6.

Chen WH. Laser root canal therapy. *J Indiana Dent Assoc* 2003; 81(4):20-3.

Chuang SF, Chang LT, Chang CH, Yaman P, Liu JK. Influence of enamel wetness on composite restorations using various dentine bonding agents: part II-effects on shear bond strength. *J Dent* 2006;34(5):352-61.

Cooper LF, Myers ML, Nelson DG, Mowery AS. Shear strength of composite bonded to laser-pretreated dentin. *J Prostht Dent* 1988;60(1):45-9.

Curzon MEJ, Featherstone JDB. Chemical composition of enamel. In: Lazzan EP, ed. *Chemical composition of enamel*. Boca Raton, FL: CRC Press; 1983. p. 123-35.

Da-Guang Y, Kimura Y, Kinoshita JI, Matsumoto K. Morphological and atomic analytical studies on enamel and dentin irradiated by an erbium, chromium:YSGG laser. *J Clin Laser Med Surg* 2000;18(3):139-43.

Darling LA, Ettinger RL, Wefel JS, Cooper SH, Qian F. Prevention of demineralization by CO₂ and Er,Cr:YSGG laser irradiation of overdenture abutments. *Am J Dent* 2006;19(4):227-30.

De Goes MF. Materiais e técnicas restauradoras. Como escolher e aplicar os materiais dentários. In: Cardoso RJA, Gonçalves EAN. *Dentística Laser*. São Paulo: Artes Médicas; 2001, cap. 6, p. 115-31.

De Goes MF, Montes MAJR. Evaluation of silver methenamine method for nanoleakage. *J Dent* 2004;32(5):391-8.

De Goes MF, Sinhoreti MAC, Consani S, Silva MAP. Morphological effect of the type, concentration and etching time of solutions on enamel and dentin surfaces. *Braz Dent J* 1998;9(1):3-10.

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;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;82(2):136-40.

Eick JD, Gwinnett AJ, Pashley DH, Robinson SJ. Current concepts on adhesion to dentin. *Crit Rev Oral Biol Med* 1997;8(3):306-35.

Ekworapoj P, Sidhu SK, McCabe JF. Effect of different power parameters of Er,Cr:YSGG laser on human dentine. *Lasers Med Sci* 2007. No prelo.

Eldeniz AU, Ozer F, Hadimli HH, Erganis O. Bactericidal efficacy of Er,Cr:YSGG laser irradiation against *Enterococcus faecalis* compared with NaOCl irrigation: an ex vivo pilot study. *Int Endod J* 2007;40(2):112-9.

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

Eversole LR, Rizoiu BS, Kimmel BS. Pulpal response to cavity preparation by an erbium, chromium: YSGG laser- powered hydrokinetic system. *J Am Dent Assoc* 1997;128(8):1099-106.

Featherstone JD. Caries detection and prevention with laser energy. *Dent Clin North Am* 2000;44(4):955-69.

Fowler BO, Kuroda S. Changes in heated and in laser-irradiated human tooth enamel and their probable effects on solubility. *Calcif Tissue Int* 1986;38(4):197-208.

Freitas PM. Estudo in vitro do efeito da irradiação com o laser de Er,Cr:YSGG na inibição do processo de desmineralização do esmalte dental [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2005.

Frentzen M, Koort HJ. Laser technology in dentistry. *Dtsch Zahnarztl Z* 1991;46(7):443-52.

Frey O. Creating a reliable bond. An all-in-one system. *Am J Dent* 2000;13(Spec Issue):85-7.

Fried D. IR laser ablation of dental enamel. *Proc SPIE* 2000;3910:136-48.

Fried D, Ashouri N, Breunig T, Shori R. Mechanism of water augmentation during IR laser ablation of dental enamel. *Lasers Surg Med* 2002;31(3):186-93.

Fried D, Featherstone JDB, Visuri SR, Seka WW, Walsh JT. The caries inhibition potential of Er:YAG and Er,Cr:YSGG laser irradiation. In: Wigdor HA, Featherstone JDB, White JM, Neev J. *Lasers in Dentistry II*. Bellingham, WA. *Proc SPIE* 1996; 2672:73-7.

Fusayama T. Total-etch technique and cavity isolation. *J Esthet Dent* 1992;4(4):105-9.

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

Gottlieb EW, Retief DH, Jamison HC: An optimal concentration of phosphoric acid as an etching agent. Part I: Tensile bond strength studies. *J Prosthet Dent* 1982;48(1):48-51.

Gutknecht N, Apel C, Schafer C, Lampert F. Microleakage of composite fillings in Er,Cr:YSGG laser-prepared class II cavities. *Lasers Surg Med* 2001;28(4):371-4.

Gwinnett AJ. Smear layer: morphological considerations. *Oper Dent* 1984;10(3):2-12.

Gwinnett AJ. Structure and composition of enamel. *Oper Dent* 1992;5(Suppl):10-7.

Gwinnett AJ, Yu S. Effect of long-term water storage on dentin bonding. *Am J Dent* 1995;8(2):109-11.

Gwinnett AJ, Matsui A. A study of enamel adhesives. The physical relationship between enamel and adhesive. *Arc Oral Biol* 1967;12(12):1615-20.

Habelitz S, Marshall SJ, Marshall GW Jr, Balooch M. Mechanical properties of human dental enamel on the nanometre scale. *Arch Oral Biol* 2001;46(2):173-83.

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

Haller B. Recent developments in dentin bonding. *Amer J Dent* 2000;13(1):44-50.

Hannig M, Reinhardt KJ, Bott B. Self-etching primer vs phosphoric acid: an alternative concept for composite-to-enamel bonding. *Oper Dent* 1999;24(3):172-80.

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

Hashimoto M, Ohno H, Yoshida E, Hori M, Sano H, Kaga M, et al. Resin-enamel bonds made with self-etching primers on ground enamel. *Eur J Oral Sci* 2003;111(5):447-53.

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

Holcomb DW, Young RA. Thermal decomposition of human tooth enamel. *Calcif Tissue Int* 1980;31(3):189-201.

Hossain M, Nakamura Y, Yamada Y, Murakami Y, Matsumoto K. Compositional and structural changes of human dentin following caries removal by Er,Cr:YSGG laser irradiation in primary teeth. *J Clin Pediatric Dent* 2002a;26(4):377-82.

Hossain M, Nakamura Y, Yamada Y, Murakami Y, Matsumoto K. Microleakage of composite resin restoration in cavities prepared by Er,Cr:YSGG laser irradiation and etched bur cavities in primary teeth. *J Clin Pediatr Dent* 2002b;26(3):263-8.

Hossain M, Kimura Y, Nakamura Y, Yamada Y, Kinoshita J, Matsumoto K. A study on acquired acid resistance of enamel and dentin irradiated by Er, Cr: YSGG laser. *J Clin Laser Med Surg* 2001;19(3):159-63.

Hossain M, Nakamura Y, Tamaki Y, Yamada Y, Murakami Y, Matsumoto K. Atomic analysis and knoop hardness measurement of the cavity floor prepared by Er,Cr:YSGG laser irradiation in vitro. *J Oral Rehabil* 2003;30(5):515-21.

Hsu CYS, Jordan TH, Dederich DN, Wefel JS. Effects of low-energy CO2 laser irradiation and the organic matrix on inhibition of enamel demineralization. *J Dent Res* 2000;79(9):1725-30.

Imazato S, Kinomoto Y, Tarumi H, Torii M, Russell RR, McCabe JF. Incorporation of antibacterial monomer MDPB into dentin primer. *J Dent Res* 1997;76(3):768-72.

Inokoshi S, Hosoda H, Harniratissai C, Shimida Y, Tatsumi T. A study on the resin impregnated layer of dentin: Part I. A comparative study on the decalcified and undecalcified sections and the application of argon ion beam etching to disclose the resin impregnated layer of dentin. *Jpn J Conserv Dent* 1990;33(3):427-42.

- Inoue S, Van Meerbeek B, Vargas M, Yoshida Y, Lambrechts P, Vanherle G. Adhesion mechanism of self-etching adhesives. In: Advanced adhesive dentistry. In: Proceedings of the 3rd International Kuraray Symposium, Dec. 3-4, 1999, Granada; 2000.
- Inoue S, Vargas MA, Abe Y, Yoshida Y, Lambrechts P, Vanherle G, et al. Microtensile bond strength of eleven contemporary adhesives to enamel. *Am J Dent* 2003;16(5):329-34.
- Ishizaki NT, Matsumoto K, Kimura Y, Wang X, Kinoshita J, Okano SM, et al. Thermographical and morphological studies of Er,Cr:YSGG laser irradiation on root canal walls. *Photomed Laser Surg* 2004;22(4):291-7.
- Jacobsen T, Söderholm KJ. Effect of primer solvent, primer agitation, and dentin dryness on shear bond strength to dentin. *J Dent* 1998;11(5):225-8.
- Jahan KM, Hossain M, Nakamura Y, Yoshishige Y, Kinoshita J, Matsumoto K. An assessment following root canal preparation by Er,Cr: YSGG laser irradiation in straight and curved roots, in vitro. *Lasers Med Sci* 2006;21(4):229-34.
- Jendresen MD, Glantz PO, Baier RE, Eick JD. Microtopography and clinical adhesiveness of an acid etched tooth surface. An in-vivo study. *Acta Odontol Scand* 1981;39(1):47-53.
- Kanca J 3rd. A method for bonding to tooth structure using phosphoric acid as a dentin-enamel conditioner. *Quintessence Int* 1991;22(4):285-90.
- Keller U, Hibst R. Experimental studies of the application of the Er:YAG laser on dental hard substances: II. Light microscopic and SEM investigations. *Lasers Surg Med* 1989;9(4):345-51.
- Kimura Y, Yu DG, Fujita A, Yamashita A, Murakami Y, Matsumoto K. Effects of erbium,chromium:YSGG laser irradiation on canine mandibular bone. *J Periodontol* 2001;72(9):1178-82.
- Kinoshita J, Kimura Y, Matsumoto K. Comparative study of carious dentin removal by Er,Cr:YSGG laser and Carisolv. *J Clin Laser Med Surg* 2003;21(5):307-15.
- Kubo S, Yokota H, Sata Y, Hayashi Y. The effect of flexural load cycling on the microleakage of cervical resin composites. *Oper Dent* 2001;26(5):451-9.
- Kugel G, Ferrari M. The science of bonding: from first to sixth generation. *J Am Dent Assoc* 2000;131(Suppl):20-5.
- Lee CY. Procurement of autogenous bone from ramus with simultaneous the mandibular third-molar removal for bone grafting using the Cr:YSGG laser: a preliminary report. *J Oral Implantol* 2005;31(1):32-8.

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

Li H, Burrow MF, Tyas MJ. Nanoleakage patterns of four dentin bonding systems. *Dent Mater* 2000;16(1):48–56.

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

Lopes GC, Marson FC, Vieira LC, de Caldeira AM, Baratieri LN. Composite bond strength to enamel with self-etching primers. *Oper Dent* 2004;29(4):424-9.

Lowe RA. Clinical use of the Er,Cr: YSGG laser for osseous crown lengthening: redefining the standard of care. *Pract Proced Aesthet Dent* 2006;18(4):2-9

Maiman TH. Stimulated optical radiation in ruby. *Nature* 1960;187:493-4.

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

Masuda YM, Hossain M, Wang X, Matsuoka E, Okano T, Matsumoto K. Effect of Er,Cr:YSGG laser irradiation on eruption of rat mandibular incisor after disturbance of the enamel organ in the pulp. *Lasers Med Sci* 2006;21(3):165-9.

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

Matsuoka E, Jayawardena JA, Matsumoto K. Morphological study of the Er,Cr:YSGG laser for root canal preparation in mandibular incisors with curved root canals. *Photomed Laser Surg* 2005;23(5):480-4.

Meister J, Franzen R, Forner K, Grebe H. Influence of the water content in dental enamel and dentin on ablation with erbium YAG and erbium YSGG lasers. *J Biomed* 2006;11(3):34030–6.

Meryon SD, Tobias RS, Jakeman KJ. Smear removal agents: a quantitative study in vivo and in vitro. *J Prosthet Dent* 1987;57(3):174-9.

Miller RJ. Treatment of the contaminated implant surface using the Er,Cr:YSGG laser. *Implant Dent* 2004;13(2):165-70.

Miyazaki M, Iwasaki K, Onose H. Adhesion of single application bonding systems to bovine enamel and dentin. *Oper Dent* 2002;27(1):88-94.

Monghini EM, Wanderley RL, Pecora JD, Palma Dibb RG, Corona SA, Borsatto MC. Bond strength to dentin of primary teeth irradiated with varying Er:YAG laser

energies and SEM examination of the surface morphology. *Lasers Surg Med* 2004;34(3):254-9

Moritz A, Schoop U, Goharkhay K, Szakacs S, Sperr W, Schweidler E, et al. Procedures for enamel and dentin conditioning: a comparison of conventional and innovative methods. *J Esthet Dent* 1998;10(2):84-93.

Nakabayashi N, Pashley DH. Hybridization of dental hard tissue. Tokyo: Quintessence; 1998.

Nakabayashi N, Saimi Y. Bonding to intact dentin. *J Dent Res* 1986;75(9):1706-15.

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

Nelson DG, Shariati M, Glena R, Shields CP, Featherstone JD. Effect of pulsed low energy infrared laser irradiation on artificial caries-like lesion formation. *Caries Res* 1986;20(4):289-99.

Ogata M, Okuda M, Nakajima M, Pereira PN, Sano H, Tagami J. Influence of the direction of tubules on bond strength to dentin. *Oper Dent* 2001;26(1):27-35.

Oho T, Morioka T. A possible mechanism of acquired acid resistance of human dental enamel by laser irradiation. *Caries Res* 1990;24(2):86-92.

Oliveira ME, Gutknecht N, Zezell DM, Apel C, Turbino ML, Blay A, et al. Influência da irradiação com Er,Cr:YSGG em esmalte e dentina na resistência adesiva de um sistema auto-condicionante (Resumo Pc208). *Pesq Odontol Bras* 2004;18(Supl):228.

Oliveira SS, Marshall SJ, Hilton JF, Marshall GW. Etching kinetics of a self-etching primer. *Biomaterials* 2002;23(20):4105-12.

Osorio R, Toledano M, De Leonardi G, Tay F. Microleakage and interfacial morphology of selfetching adhesives in class V resin composite restorations. *J Biomed Mat Res Part B: Appl Biomat* 2003;66(1):399-409.

Paradella TC, Fava M. Bond strength of adhesive systems to human tooth enamel. *Pesqui Odontol Bras* 2007;21(1):4-9.

Pashley DH. Smear layer: physiological considerations. *Oper Dent* 1984;3(Suppl):13-29.

Pashley DH, Tay FR. Aggressiveness of contemporary self-etching adhesives. Part II: etching effects on unground enamel. *Dent Mater* 2001;17(5):430-40.

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

Pashley DH, Sano H, Ciucchi B, Yoshiyama M, Carvalho RM. Adhesion testing of dentin bonding agents: a review. *Dent Mater* 1995;11(2):117-25.

Pashley DH, Sano H, Yoshiyama M, Ciucchi B, Carvalho RM. Dentin, a dynamic bonding substrate: the effects of dentin variables on resin adhesion. In: Shimono M, Maeda T, Suda H, Takahashi K, Editors, Proceedings of the International Conference on Dentin/Pulp Complex 1995 and the International Meeting on Clinical Topics of Dentin/Pulp Complex. Osaka: Quintessence; 1996.

Pashley DH, Agee KA, Carvalho RM, Lee KW, Tay FR, Callison TE. Effects of water and water-free polar solvents on the tensile properties of demineralized dentin. *Dent Mater* 2003;19(5):347-52.

Pashley DH, Zhang Y, Agee KA, Rouse CJ, Carvalho RM, Russell CM. Permeability of demineralized dentin to HEMA. *Dent Mater* 2000;16(1):7-14.

Pashley DH, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho RM et al. Collagen Degradation by Host-derived Enzymes during Aging. *J Dent Res* 2004;83(3):216-21.

Perdigão J, Geraldeli S. Bonding characteristics of self-etching adhesives to intact versus prepared enamel. *J Esthet Restor Dent* 2003;15(1):32-41.

Perdigão 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;8(6):367-73.

Perdigão J, Lambrechts P, Van Meerbeek B, Tome AR, Vanherle G, Lopes AB. Morphological field emission SEM study of the effect of six phosphoric acid etching agents on human dentin. *Dent Mater* 1996;12(4):262-71.

Perdigão J, Lopes L, Lambrechts P, Leitao J, Van Meerbeek B, Vanherle G. Effects of a self-etching primer on enamel shear bond strengths and SEM morphology. *Am J Dent* 1997;10(3):141-6.

Phrukkanon S, Burrow MF, Tyas MJ. The effect of dentine location and tubule orientation on the bond strengths between resin and dentine. *J Dent* 1999;27(4):265-74.

Proença 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. No prelo.

Radatti DA, Baumgartner JC, Marshall JG. A comparison of the efficacy of Er,Cr:YSGG laser and rotary instrumentation in root canal debridement. *J Am Dent Assoc* 2006;137(9):1261-6.

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

Retief DH. The mechanical bond. *Int Dent J* 1978;28(1):18-27.

Retief DH, Gross JD, Denys FR. Tensile bond strengths of dentin-bonding agents to dentin. *Dent Mater* 1986;2(2):72-7.

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

Roberts-Harry DP. Laser etching of teeth for orthodontic bracket placement: a preliminary clinical study. *Lasers Surg Med* 1992;12(5):467-70.

Sano H, Yoshiyama M, Ebisu S, Burrow MF, Takatsu T, Ciucchi B et al. Comparative SEM and TEM observations of nanoleakage within the hybrid layer. *Oper Dent* 1995;20(4):160-7.

Sano H, Yoshikawa T, Pereira PN, Kanemura N, Morigami M, Tagami J et al. Long-term durability of dentin bonds made with a self-etching primer, in vivo. *J Dent Res* 1999;78(4):906-11.

Scherman L. Le pont sur la smear layer. *Rev Odonto Stomatol* 1990;20(2):109-19.

Schoop U, Kluger W, Dervisbegovic S, Goharkhay K, Wernisch J, Georgopoulos A, et al. Innovative wavelengths in endodontic treatment. *Lasers Surg Med* 2006;38(6):624-30.

Schwarz F, Nuesry E, Bieling K, Hertel M, Becker J. Influence of an erbium, chromium-doped yttrium, scandium, gallium, and garnet (Er,Cr:YSGG) laser on the reestablishment of the biocompatibility of contaminated titanium implant surfaces. *J Periodontol* 2006;77(11):1820-7.

Seka W, Featherstone JDB, Fried D, Visuri SR, Walsh JT. Laser ablation of dental hard tissue: from explosive ablation to plasma-mediated ablation. *Proc SPIE* 1996; 2672:144-58.

Senawongse P, Sattabanasuk V, Shimada Y, Otsuki M, Tagami J. Bond strengths of current systems on intact and ground enamel. *J Esthet Rest Dent* 2004;16(2):107-16.

Serebo L, Segal T, Nordenberg D, Gorfil C, Bar-Lev M. Examination of tooth pulp following laser beam irradiation. *Lasers Surg Med* 1987;7(3):236-9.

Sheth KK, Staninec M, Sarma AV, Fried D. Selective targeting of protein, water, and mineral in dentin using UV and IR pulse lasers: the effect on the bond strength to composite restorative materials. *Lasers Surg Med* 2004;35(4):245-53.

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

Shimada Y, Senawongse P, Harnirattisai C, Burrow MF, Nakaoki Y, Tagami J. Bond strength of two adhesive systems to primary and permanent enamel. *Oper Dent* 2002;27(4):403-9.

Shinchi MJ, Soma K, Nakabayashi N. The effect of phosphoric acid concentration on resin tag length and bond strength of a photo-cured resin to acid-etched enamel. *Dent Mater* 2000;16(5):324-9.

Sievers M, Koort HJ, Altshuler G, Erfeev A, Frentzen M. The ablation of dental hard tissues by Er:YSGG laser. In: *Proceedings. International Society for Lasers in Dentistry*. Salt Lake; 1992.

Silverstone LM: Fissure sealants: Laboratory studies. *Caries Res* 1974;8(1):2-26.

Silverstone LM, Saxton CA, Dogon IL, Fejerskov O. Variation in the pattern of acid etching of human dental enamel examined by scanning electron microscopy. *Caries Res* 1975; 9(5):373-87.

Staninec M, Xie J, Le CQ, Fried D. Influence of an optically thick water layer on the bond-strength of composite resin to dental enamel after IR laser ablation. *Lasers Surg Med* 2003;33(4):264-9.

Stern RH, Sognnaes RF. Laser effect on dental hard tissues: a preliminary report. *J South Calif Dent Assoc* 1965;33:17-9.

Stern RH, Vahl J, Sognnaes RF. Lased enamel: ultrastructural observations of pulsed carbon dioxide laser effects. *J Dent Res* 1972;51(2):455-60.

Stock K, Hibst R, Keller U. Comparison of Er:YAG and Er:YSGG ablation of dental hard tissues. *Proc SPIE* 1997;3192:88-95.

Sulewski JG. Historical survey of laser dentistry. *Dent Clin North Am* 2000;44(4):717-52.

Sung EC, Chenard T, Caputo AA, Amodeo M, Chung EM, Rizoiu IM. Composite resin bond strength to primary dentin prepared with Er, Cr:YSSG laser. *J Clin Pediatr Dent* 2005;30(1):45-9.

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

Tao L, Pashley DH, Boyd L. Effect of different types of smear layer on dentin and enamel shear bond strengths. *Dent Mater* 1988;4(4):208-16.

Tay FR, Pashley DH. Aggressiveness of contemporary self-etching systems. I: Depth of penetration beyond dentin smear layers. *Dent Mater* 2001;17(4):296-308.

Tay FR, Pashley DH. Water treeing - a potential mechanism for degradation of dentin adhesives. *Am J Dent* 2003;16(1):6-12.

Tay FR, Pashley DH, Yoshiyama M. Two modes of nanoleakage expression in single-step adhesives. *J Dent Res* 2002b;81(7):472-6.

Tay FR, Gwinnett AJ, Pang KM, Wei SHY. Structural Evidence of a Sealed Tissue Interface with a total-etch Wet-bonding Technique In vivo. *J Dent Res* 1994;73(3):629-36.

Tay FR, Pashley DH, Suh BI, Carvalho RM, Itthagarun A. Single steps adhesives are permeable membranes. *J Dent* 2002a;30(7-8):371-82.

Tay FR, Sano H, Carvalho R, Pashley E, Pashley DH. Ultrastructural study of the influence of acidity of selfetching primers and smear layer thickness on bonding to intact dentin. *J Adhes Dent* 2000;2(2):83–98.

Toledano M, Osorio R, Ceballos L, Fuentes MV, Fernandes CAO, Tay FR, et al. Microtensile bond strength of several different adhesive systems to different dentin depths. *Am J Dent* 2003;16(5):292-8.

Torii Y, Itou K, Hikasa R, Iwata S, Nishitani Y. Enamel tensile bond strength and morphology of resin–enamel interface created by acid etching system with or without moisture and self-etching priming system. *J Oral Rehabil* 2002;29(6):528-33.

Turkun M, Turkun LS, Celik EU, Ates M. Bactericidal effect of Er,Cr:YSGG laser on *Streptococcus mutans*. *Dent Mater J* 2006;25(1):81-6.

Uno S, Finger WJ. Function of the hybrid zone as a stress-absorbing layer in resin-dentin bonding. *Quint Inter* 1995;26(10):733-8.

Usumez A, Aykent F. Bond strengths of porcelain laminate veneers to tooth surfaces prepared with acid and Er,Cr:YSGG laser etching. *J Prosthet Dent* 2003;90(1):24-30.

Usumez S, Orhan M, Usumez A. Laser etching of enamel for direct bonding with an Er,Cr:YSGG hydrokinetic laser system. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2002;122(6):649-56.

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

Van Meerbeek B, Lambrechts P, Inokoshi S, Braem M, Vanherle G. Factors affecting adhesion to mineralized tissues. *Oper Dent* 1992;5(Suppl):111-24.

Van Meerbeek B, Dhém A, Goret-Nicaise M, Braem M, Lambrechts P, Vanherle G. Comparative SEM and TEM examination of the ultrastructure of the resin-dentin interdiffusion zone. *J Dent Res* 1993;72(2):495-501.

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;28(3):215-35.

Van Meerbeek B, Vargas S, Inoue S, Yoshida Y, Peumans M, Lambrechts P, et al. Adhesives and cements to promote preservation dentistry. *Oper Dent* 2001;26(6):119-44.

- Van Meerbeek B, Yoshida Y, Snauwaert J, Hellemans L, Lambrechts P, Vanherle G et al. Hybridization effectiveness of a two-step versus a three-step smear layer removing adhesive system examined correlatively by TEM and AFM. *J Adhes Dent* 1999;1(1):7-23.
- Visuri SR, Gilbert JL, Wright DD, Wigdor HA, Walsh JT. Shear strength of composite bonded to Er:YAG laser prepared dentin. *J Dent Res* 1996;75(1):599-605.
- Walinski CJ. Irritation fibroma removal: a comparison of two laser wavelengths. *Gen Dent* 2004;52(3):236-8.
- Walsh LJ, Abood D, Brockhurst PJ. Bonding of resin composite to carbon dioxide laser-modified human enamel. *Dent Mater* 1994;10(3):162-6.
- Wang X, Ishizaki NT, Suzuki N, Kimura Y, Matsumoto K. Morphological changes of bovine mandibular bone irradiated by Er,Cr:YSGG laser: an in vitro study. *J Clin Laser Med Surg* 2002;20(5):245-50.
- Wang X, Zhang C, Matsumoto K. In vivo study of the healing processes that occur in the jaws of rabbits following perforation by an Er,Cr:YSGG laser. *Lasers Med Sci* 2005;20(1):21-7.
- Wang Y, Spencer P. Quantifying adhesive penetration in adhesive/dentin interface using confocal Raman microspectroscopy. *J Biomed Mater Res* 2002;59(1):46-55.
- Watanabe I, Nakabayashi N. Measurement methods for adhesion to dentine: the current status in Japan. *J Dent* 1994;22(2):67-72.
- Winik R, Araki AT, Negrao JA, Bello-Silva MS, Lage-Marques JL. Sealer penetration and marginal permeability after apicoectomy varying retrocavity preparation and retrofilling material. *Braz Dent J* 2006;17(4):323-7.
- Yamazaki R, Goya C, Yu DG, Kimura Y, Matsumoto K. Effects of erbium, chromium:YSGG laser irradiation on root canal walls: a scanning electron microscopic and thermographic study. *J Endod* 2001;27(1):9-12.
- Yoshida Y, Nagakane K, Fukuda R, Nakayama Y, Okazaki M, Shintani H et al. Comparative study on adhesive performance of functional monomers. *J Dent Res* 2004;83(6):454-8.
- Yoshiyama M, Matsuo T, Ebisu S, Pashley D. Regional bond strengths of self-etching/self-priming adhesives systems. *J Dent* 1998;26(7):609-16.
- Youssef JA, Turbino ML, Youssef MN, Matson E. Bond strength of resin composites to dentin associated to filled and unfilled adhesive systems. *Pesqui Odontol Bras* 2001;15(2):157-60.
- Yu JT, Wang XD, Bao MR, Yan L. Research on the effect of root canal seal achieved by irradiation of Er, Cr:YSGG laser. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue* 2004;13(1):27-9.

Zezell DM, Ribeiro MS, Maldonado EP. Apostila Interação da luz laser com tecidos biológicos: aplicações [Curso Mestrado Profissionalizante "Lasers em Odontologia"]. São Paulo: IPEN; 2005.

Zola M, Rosenberg D, Anakwa K. Treatment of a ranula using an Er,Cr:YSGG laser. J Oral Maxillofac Surg 2006;64(5):823-7.

Zuerlein MJ, Fried D, Featherstone JD. Modeling the modification depth of carbon dioxide laser-treated dental enamel. Lasers Surg Med 1999;25(4):335-47.

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA****PARECER DE APROVAÇÃO****PROTOCOLO nº 04/07**

Com base em parecer de relator, o Comitê de Ética em Pesquisa – Subcomissão de Bioética de Animais da FOU SP, **APROVOU** o protocolo de pesquisa **"Influência da irradiação laser com Er,Cr:YSGG na resistência adesiva de sistemas adesivos em esmalte e dentina bovinas"**, de responsabilidade do(a) pesquisador(a) Sérgio Brossi Botta, sob orientação da Professor(a) Doutor(a) Adriana Bona Matos.

Cabe ao responsável enviar relatórios referentes ao andamento da pesquisa após 06 (seis) meses e 01(um) ano desta data, bem como cópia do trabalho em "cd" ou "disquete" ao finalizá-lo, conforme legislação vigente.

São Paulo, 21 de março de 2007

Prof. Dr. **CELSON LUIZ CALDEIRA**

PRESIDENTE DA SUBCOMISSÃO DE BIOÉTICA DE ANIMAIS DA FOU SP

ANEXO B – Representações gráficas do teste de diagnostico da amostra para o substrato esmalte

Figura An B1 – representação gráfica da distribuição normal dos resíduos (MPa)

Figura An B2 – representação gráfica dos resíduos dos dados (MPa)

Figura An B3 – representação gráfica do histograma dos resíduos (MPa)

Figura An B4 – representação gráfica do resíduo dos valores (MPa)

ANEXO C – Representações gráficas do teste de diagnostico da amostra para o substrato dentina

Figura An C1 – representação gráfica da distribuição normal dos resíduos (MPa)

Figura An C2 – representação gráfica dos resíduos dos dados (MPa)

Figura An C3 – representação gráfica do histograma dos resíduos (MPa)

Figura An C4 – representação gráfica do resíduo dos valores (MPa)