THAYSA MONTEIRO RAMOS

Avaliação *in vitro* da morfologia e da resistência de união de adesivos à dentina humana hígida ou submetida à ciclagem erosiva e irradiada com os *lasers* de Er:YAG e Er,Cr:YSGG

São Paulo

2012

THAYSA MONTEIRO RAMOS

Avaliação *in vitro* da morfologia e da resistência de união de adesivos à dentina humana hígida ou submetida à ciclagem erosiva e irradiada com os lasers de Er:YAG e Er,Cr:YSGG

Versão Corrigida

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

Área de Concentração: Dentística

Orientador: Prof. Dr. Carlos de Paula Eduardo

São Paulo

2012

Ramos TM. Avaliação *in vitro* da morfologia e da resistência de união de adesivos à dentina humana hígida ou submetida à ciclagem erosiva e irradiada com os lasers de Er:YAG e Er,Cr:YSGG. Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Aprovado em: / /2012

Banca Examinadora

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

Julgamento: _____ Assinatura: _____

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

Julgamento: _____ Assinatura: _____

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

Julgamento: _____ Assinatura: _____

*À minha mãe Flávia, pelas orações à distância, amor, carinho, apoio e proteção.
Exemplo de alegria e maior incentivadora do meu crescimento pessoal e
profissional. Mainha, você é minha energia, minha luz, minha vida! Te Amo!*

*Ao meu pai Gutemberg, que junto aos anjos, assiste a todos os meus passos.
Tenho certeza do orgulho que está sentindo de ver duas filhas alcançando mais
esta vitória juntas!*

*À minha irmã Caco (Tâmisa), meu cunhado Fábio e minha sobrinha Ana
Beatriz, serei eternamente grata pelo suporte diário e por me acolherem com tanto
zelo nesses dois anos em São Paulo. Vocês conseguiram amenizar a saudade que
sentia dos meus amores em Aracaju e acompanharam de perto esta conquista.
Obrigada por F-U-D-O!!*

*À minha irmã Thayanne, minha maior companhia na vida, na profissão, nas
decisões, nas alegrias e nas limitações. Obrigada pelas palavras de força e
estímulo! Ao meu cunhado George, por todo o carinho, assistência e incentivo.*

*Ao meu noivo Chico, pela compreensão, lindas mensagens de conforto nos
momentos mais difíceis e por acreditar que a distância não atrapalha o coração
de quem ama. Agradeço a cumplicidade, a paciência e a confiança.
Obrigada por fazer parte da minha vida e torná-la tão feliz!*

Dedico esta vitória a vocês!

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela minha fé, minha família e por iluminar meus caminhos. Obrigada por tantas experiências únicas que vivi nestes dois anos do curso de Mestrado!

Ao Prof. Dr. Carlos de Paula Eduardo, exemplo de amor e compromisso com a Odontologia. Foi um orgulho tê-lo como meu orientador. Agradeço com muito carinho os ensinamentos transmitidos, a confiança em mim depositada e as oportunidades proporcionadas;

À Profa. Dra. Patricia Moreira de Freitas, não tenho palavras para expressar a minha gratidão e grande admiração por você. Obrigada pelos conselhos, atenção, dedicação constante, paciência e ternura que me tranquilizaram diante de algumas dificuldades que enfrentei. Sua contribuição foi muito importante para o desenvolvimento deste trabalho;

À Profa. Dra. Alaíde Hermínia de Aguiar Oliveira, em quem me espelhei para chegar até aqui. Foi quem me educou para o ensino e encorajou-me a ingressar no curso de Pós-Graduação da FOU SP;

Às AMIGAS de turma do mestrado, guardarei para sempre cada uma de vocês: o carinho e a atenção de Cynthia, o carisma e a humildade de Anely, a autenticidade e a fineza de Bruna, as conversas, a alegria e as risadas de Mayra, Lívia e Tati e a simpatia de Ju e Carol. Vocês fizeram a minha permanência em São Paulo mais prazerosa e conseguiram tornar inesquecível cada momento que passamos juntas. Muito obrigada por me receberem tão bem e por serem tão especiais! Anely, Bruna, Cynthia, Mayra, Lívia e Tati: já estou com saudades...

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (Capes), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo auxílio de bolsa e recursos necessários para a viabilização deste estudo;

À Universidade Federal de Sergipe (UFS) e Associação Brasileira de Odontologia-Secção Sergipe (ABO-SE), agradeço a formação acadêmica e a oportunidade de crescimento, onde descobri meu amor à Dentística;

À Universidade de São Paulo, em nome do magnífico reitor, Prof. Dr. João Grandino Rodas;

À Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (FOUSP), em nome do diretor Prof. Dr. Rodney Garcia Rocha;

À ex-Coordenadora do Programa de Pós-graduação em Dentística, Profa. Dra Mirian Lacalle Turbino e à atual Coordenadora e chefe do Departamento de Dentística da FOUSP, Profa. Dra. Márcia Martins Marques;

A todos os professores do Departamento de Dentística da FOUSP, que engrandeceram meu aprendizado e contribuíram para a minha formação de mestre, em especial Profa. Dra. Ana Cecília Corrêa Aranha (Ciça) pela doçura de pessoa e excelente profissional;

Aos funcionários do Departamento de Dentística da FOUSP, pela agradável convivência, em especial, à querida Soninha, pelo carinho e sorriso cativante, sempre pronta para me ajudar;

À Secretaria de Pós-Graduação e aos funcionários da biblioteca da FOUSP, em especial Glauci e Cláudia;

Ao Prof. Dr. Victor Arana-Chavez, pelas valiosas lições sobre MEV desde a disciplina de “Bases para o desenvolvimento de projetos de pesquisa em Dentística” e que durante a fase experimental, realizou o *sputtering* das amostras;

À Profa. Dra. Marcella Esteves-Oliveira, pela receptividade em Aachen (Alemanha), onde estivemos juntas realizando parte desta pesquisa na Universidade RWTH. Agradeço a colaboração neste estudo;

Aos Professores Norbert Gutknecht e Cristian Apel e à técnica de laboratório Patricia Butler, da Universidade RWTH de Aachen, pelo auxílio na condução da fase experimental em Aachen;

Ao Departamento de Materiais Dentários, por disponibilizar a máquina de ensaio universal para o teste de microtração;

À Profa Márcia Wanderley, à Profa. Maria Gabriela Biazevic e ao Prof. Dalton Ramos, pela ajuda na organização de todos os documentos necessários para que este projeto fosse aceito a tempo pelo CEP e CONEP;

À Simone Moretto e a Niltinho, pelo importante suporte nas leituras das imagens em MEV. Mesmo atarefados com as atividades do doutorado, mostraram-se muito disponíveis em colaborar com esta pesquisa;

À Marilda (Fundecto), ao Douglas e Antônio (Departamento de Materiais Dentários da FOUSP), pela disposição em contribuir para o andamento dos experimentos, mostrando-se muito receptivos e aptos em suas funções;

Ao LELO e às secretárias, Lili, Gê, Elaine e Selma;

À Prefeitura Municipal de Nossa Senhora de Socorro-SE, pela concessão da licença que permitiu meu afastamento das atividades profissionais durante estes 2 anos;

Ao Washington Steagall Jr, que participou no estudo piloto desta pesquisa;

À Família Monteiro e à Família Araujo, pelo carinho e torcida!

Aos colegas da FOUSP, em especial Paula, Milena, Tamile, Stella, Fernando Hanashiro e Sérgio Botta;

Aos colegas de Aracaju: Isabella Porto, Antonio Alves, Derivaldo Moura, Júlio Leonardo, André Barreto, André Góis, Diego Noronha, Thiago de Santana e Cristian Torres;

A todos, que de alguma forma, contribuíram com esta pesquisa e torceram por mim! Muito obrigada!

“...Olhando o chão sob os meus pés, vejo a vida correr. E, assim, a cada passo que der, tentarei fazer o melhor que puder. Aprendi.... não tanto quanto quis, mas vi que conhecendo o universo ao meu redor, aprendo a me conhecer melhor. E assim escutarei o tempo que me ensinará a tomar a decisão certa a cada momento. E partirei... em busca de meus ideais. Sei que hoje se encontraram meu passado, presente e futuro. Hoje sinto em mim a emoção da despedida. Hoje é um ponto de chegada e, ao mesmo tempo, ponto de partida...”

Fernando Sabino

RESUMO

Ramos TM. Avaliação *in vitro* da morfologia e da resistência de união de adesivos à dentina humana hígida ou submetida à ciclagem erosiva e irradiada com os lasers de Er:YAG e Er,Cr:YSGG [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2012. Versão Corrigida.

A erosão dental provoca alterações histológicas complexas na dentina e, apesar do aumento da ocorrência desta patologia na última década, a literatura apresenta poucos estudos sobre a adesão na dentina erodida. Com o aprimoramento da tecnologia e o conhecimento de que os lasers de érbio apresentam grande afinidade pela água e hidroxiapatita, sua utilização tem sido considerada um método alternativo para tratamento da superfície dentinária antes dos procedimentos adesivos. Assim, o objetivo deste trabalho *in vitro* foi avaliar o efeito de diferentes tratamentos de superfície (ponta diamantada, laser de Er:YAG – 2,94 μm , 60 mJ, 2 Hz, 0,2 W, 19,3 J/cm² - e laser de Er,Cr:YSGG – 2,78 μm , 50 mJ, 30 Hz, 1,5 W, 4,5 J/cm²), prévios ao tratamento restaurador, tanto na dentina humana hígida quanto na dentina artificialmente erodida. Metade das amostras foi submetida à ciclagem erosiva, a qual foi realizada durante 5 dias por meio da imersão em solução de ácido cítrico 0,05 M (pH 2,3, 10 minutos, 6x/dia) e solução supersaturada (pH 7,0, 60 minutos entre os ataques ácidos). Na **fase experimental 1**, 32 fragmentos de dentina foram divididos aleatoriamente em 8 grupos (n = 4) e com o auxílio da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), realizou-se a análise da morfologia da superfície da dentina hígida e da submetida à ciclagem erosiva, após os diferentes tratamentos de superfície. Na **fase experimental 2**, 192 terceiros molares humanos foram divididos aleatoriamente em 2 grupos (dentina hígida e dentina submetida à ciclagem erosiva) e 8 subgrupos (n = 12) para avaliação da resistência de união entre as superfícies tratadas e 2 sistemas adesivos (01 autocondicionante e 01 com condicionamento ácido prévio), por meio do ensaio de microtração e da análise do padrão de fratura. Para o ensaio de microtração, blocos de resina composta microhíbrida foram confeccionados na superfície de dentina e, após armazenados em água destilada-deionizada por 24h (37°C), palitos foram obtidos para serem tracionados na máquina de ensaio universal (0,5mm/min). A análise do padrão de fratura realizada em microscópio ótico (40x) e as avaliações das eletromicrografias

foram feitas de forma descritiva. Os valores obtidos de resistência de união(MPa) foram submetidos aos testes de ANOVA (dois fatores) e de comparações múltiplas de Tukey ($p<0,05$). A análise morfológica de superfície mostrou alterações significativas da dentina hígida e da dentina artificialmente erodida, submetidas aos diferentes tratamentos de superfície. Quanto à resistência de união, na dentina hígida, o grupo controle, tanto do sistema autocondicionante ($54,69 \pm 7,80$ MPa) quanto do condicionamento ácido total ($47,36 \pm 9,35$ MPa), apresentou valores significativamente maiores que os outros grupos, sendo, porém, diferentes entre si. Na dentina erodida, a maior resistência de união foi alcançada com o grupo tratado com o laser de Er,Cr:YSGG associado ao adesivo autocondicionante ($28,26 \pm 9,22$ MPa), o qual foi significativamente diferente de todos demais grupos. Com base nos parâmetros de irradiação utilizados neste estudo, pode-se concluir que em dentina hígida, os tratamentos de superfície com os lasers de Er:YAG e Er,Cr:YSGG apresentaram resultados de adesão inferiores, mas satisfatórios, em relação ao grupo controle. Já em substrato dentinário erodido, a irradiação com laser de Er,Cr:YSGG, associada ao uso de sistema adesivo autocondicionante, promoveu efeito positivo para a adesão à resina composta.

Palavras-chave: Dentina. Erosão dentária. Laser de Er:YAG. Laser de Er,Cr:YSGG. Adesão. Resistência adesiva à microtração.

ABSTRACT

Ramos TM. *In vitro* evaluation of the morphology and the bond strength of adhesives to sound and artificially eroded human dentin irradiated with Er:YAG and Er,Cr:YSGG laser [dissertation]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2012. Versão Corrigida.

Dental erosion can cause complex histological changes in dentin and, despite the increase in its incidence during the last decade, limited information is available regarding adhesion to eroded dentin. With improvements in technology and due to the fact that the erbium lasers have high affinity to water and hydroxyapatite, the use of laser can consist on an alternative for the treatment of dentin surface before adhesive procedures. The aim of this *in vitro* study was to evaluate the effect of different surface treatments (diamond bur, Er:YAG laser – 2.94 μm , 60 mJ, 2 Hz, 0.2 W, 19.3 J/cm² - and Er,Cr:YSGG laser – 2.78 μm , 50 mJ, 30 Hz, 1.5 W, 4.5 J/cm²) prior to restorative treatment, in sound and artificially eroded human dentin. Half of the samples was submitted to the erosive cycling, which was performed by immersion in 0.05 M citric acid (pH 2.3, 10 min, 6x/day) and in supersaturated solution (pH 7.0, 1h, between acid attacks), during 5 days. In phase 1, 32 dentin fragments were randomly divided into 8 groups (n = 4). The analysis of surface morphology of both sound and eroded dentin was performed by Scanning Electron Microscopy (SEM), after the different surface treatments. In phase 2, 192 human third molars were randomly divided into 2 groups (sound and eroded dentin) and 8 subgroups (n=12) to evaluate the bond strength between the treated surfaces and composite resin, with two adhesive systems (self-etching and total-etching) by means of the microtensile bond strength (μTBS) test and fracture pattern analysis. For the microtensile bond strength test, blocks of composite resin were bonded to the samples and, after 24 h-storage in distilled/deionized water (37°C), stick-shaped samples were obtained and submitted to μTBS test in a universal testing machine (0.5 mm/min). The fracture pattern was performed with an optical microscopy (40x) and the evaluations of the electromicrographs were made under a descriptive mode. The bond strength values (MPa) were analyzed by two-way ANOVA and Tukey tests ($\alpha = 0.05$). In sound dentin, for the control group, both self-etching (54.69 $\pm$ 7.8 MPa)

and total-etching adhesive system (47.36 ± 9.3 MPa) showed significantly higher values than all other groups ($p < 0.05$), even though they differ from each other. However, in eroded dentin groups, the self-etching on the samples treated with the Er,Cr:YSGG laser presented the highest mean (28.3 ± 9.2 MPa), which was statistically significant higher than all the other treatments ($p < 0.05$). Based on the irradiation parameters considered for this study, it can be concluded that in healthy dentin, the surface treatment with Er:YAG and Er,Cr:YSGG irradiation showed bonding values lower than the control group, but they presented satisfactory results. However, in eroded dentin, the use of Er,Cr:YSGG laser, associated with the self-etching adhesive system, promoted positive effect on adhesion to composite resin.

Keywords: Dentin. Tooth Erosion. Er:YAG laser. Er,Cr:YSGG laser. Adhesion. Microtensile bond strength.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 - Ilustração traduzida e adaptada do diagrama de Lussi et al. (2011) com a interação de diferentes fatores que influenciam o desenvolvimento da erosão dental	27
Figura 4.1 – Fases experimentais do estudo.....	44
Figura 4.2 - Limpeza e polimento dos dentes com cureta periodontal (a), pedrapomes, água e escova de Robinson (b) e lavagem em ultrassom (c)....	45
Figura 4.3 – Corte do dente (a) para obtenção de disco de dentina, de aproximadamente 2 mm de espessura	46
Figura 4.4 – Vista aproximada da superfície de dentina artificialmente erodida	48
Figura 4.5 – Laser de Er:YAG (a) e superfície da dentina sendo irradiada (b).....	49
Figura 4.6 - Laser de Er,Cr:YSGG (a) e parâmetros de irradiação selecionados(b)..	50
Figura 4.7 - Medidor de potência (a) e Ponta de safira MC12 (b).....	51
Figura 4.8 – Vista oclusal da superfície de dentina hígida após tratamento com o laser de Er,Cr:YSGG	51
Figura 4.9 – Amostras de dentina fixadas em cera antes (a) e após (b) a delimitação da área de estudo no centro da face oclusal.....	53
Figura 4.10 – Sistema adesivo de condicionamento ácido prévio (a), sistema adesivo autocondicionante (b) e resina composta Filtek Z250 (c)	54
Figura 4.11 - Superfície da dentina delimitada (a) para a confecção do bloco de resina composta (b)	54

Figura 4.12 – Amostra da dentina com o bloco de resina composta, embutida em cera com auxílio de matriz cilíndrica em PVC (a) e conjunto posicionado na máquina de corte para obtenção dos palitos (b).....	56
Figura 4.13 – Mensuração da área transversal com auxílio do paquímetro digital (a); Palitos selecionados para serem submetidos ao teste de resistência de união (b)	57
Figura 4.14 – Máquina de ensaio universal (a) e Jig de Geraldeli em posição para o tracionamento (b)	58
Figura 4.15 – Desenho experimental do ensaio da resistência adesiva à microtração.....	58
Figura 4.16 – Desenho ilustrativo da classificação do modo de fratura dos palitos ..	59
Figura 5.1 – Eletromicrografias obtidas em MEV: Características morfológicas das superfícies da dentina hígida após os diferentes tratamentos de superfície: controle, ponta diamantada, laser de Er:YAG (60 mJ, 2 Hz, 0,12 W, 19,3 J/cm ²) e laser de Er,Cr:YSGG (50 mJ, 30 Hz, 1,5 W, 4,5 J/cm ²). Aumentos de 1000x e 3000x.....	63
Figura 5.2 – Eletromicrografias obtidas em MEV: Características morfológicas das superfícies da dentina artificialmente erodida após os diferentes tratamentos de superfície: controle, ponta diamantada, laser de Er:YAG (60 mJ, 2 Hz, 0,12 W, 19,3 J/cm ²) e laser de Er,Cr:YSGG (50 mJ, 30 Hz, 1,5 W, 4,5 J/cm ²). Aumentos de 1000x e 3000x	66
Figura 5.3 - Representação gráfica da predominância, em porcentagem, dos tipos de fratura em cada grupo experimental da dentina hígida	71
Figura 5.4 - Representação gráfica da predominância, em porcentagem, dos tipos de fratura em cada grupo experimental da dentina submetida à ciclagem erosiva	71
Figura 5.5 – Imagens dos palitos corados característicos da falha adesiva (a), falha coesiva em dentina (b), falha coesiva em resina (c) e falha mista (d) .	72

LISTA DE QUADROS

Quadro 4.1 - Delineamento experimental.....	44
Quadro 4.2 - Divisão das amostras na fase experimental 1	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1 - Distribuição das amostras para o ensaio de microtração na fase experimental 2.....	53
Tabela 4.2 - Composição química e modo de aplicação dos materiais adesivos utilizados neste estudo.....	55
Tabela 5.1 - Média e desvio-padrão da resistência de união à dentina hígida, de acordo com o tipo de tratamento de superfície e o sistema adesivo utilizado	68
Tabela 5.2 - Média e desvio-padrão da resistência de união à dentina artificialmente erodida, de acordo com o tipo de tratamento de superfície e o sistema adesivo utilizado.....	69

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Laser	Acrônimo de <i>Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation</i> (Amplificação de Luz por Emissão Estimulada de Radiação)
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
SiC	carbeto de silício
CaCl ₂	cloreto de cálcio
NaCl	cloreto de sódio
KH ₂ PO ₄	dihidrogenofosfato de potássio
Er:YAG	Érbio:Ítrio, Alumina, Granada
Er,Cr:YSGG	Érbio-Cromo:Ítrio-Escândio-Gálio-Granada
FOUSP	Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo
Hz	hertz
HMDS	hexadimetilsilazane
J/cm ²	joule(s) por centímetro quadrado
LELO	Laboratório Especial de Laser em Odontologia
MPa	megapascal
MEV	Microscópio Eletrônico de Varredura
µm	micrometro(s)
µs	microsegundo(s)
mA	miliampere(s)
mJ	milijoule(s)
mL	mililitro(s)
mL/min	mililitro(s) por minuto
mL/s	mililitro(s) por segundo
mm	milímetro(s)
mm/min	milímetro(s) por minuto
mm ²	milímetros quadrado
Mmol/L	milimol por litro
mW/cm ²	miliwatt(s) por centímetro quadrado
M	molar
nm	nanometro(s)
N	newton(s)

PVC	policloreto de vinilo
pH	potencial hidrogeniônico
RWTH	<i>Rheinisch Westfälische Technische Hochschule</i> (Universidade RWTH de Aachen, Alemanha)
rpm	rotação por minuto
s	segundo(s)
W	watt(s)

LISTA DE SÍMBOLOS

$\approx$	aproximadamente
$^{\circ}\text{C}$	grau(s) Celsius
λ	lambda (comprimento de onda)
%	porcentagem

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	21
2 REVISÃO DA LITERATURA	25
2.1 ASPECTOS RELACIONADOS À EROÇÃO DENTAL	26
2.2 ADESÃO À DENTINA HÍGIDA	30
2.3 ADESÃO À DENTINA IRRADIADA COM O LASER DE Er:YAG E O LASER DE Er,Cr:YSGG	33
3 PROPOSIÇÃO	40
4 MATERIAL E MÉTODOS	42
4.1 APROVAÇÕES ÉTICAS PARA O DESENVOLVIMENTO DA PESQUISA	43
4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	43
4.3 FASE EXPERIMENTAL 1	45
4.3.1 Preparo das amostras	45
4.3.2 Ciclagem erosiva	47
4.3.3 Tratamentos de Superfície	48
4.3.4 Análise da morfologia de superfície da dentina em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	51
4.4 FASE EXPERIMENTAL 2	52
4.4.1 Procedimentos adesivos	54
4.4.2 Ensaio de microtração	56
4.4.3 Análise do padrão de fratura	58
4.4.4 Análise estatística	59
5 RESULTADOS	60
5.1 ANÁLISE DA MORFOLOGIA DE SUPERFÍCIE DA DENTINA EM MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)	61
5.1.1 Dentina hígida	61
5.1.1.1 Controle	61
5.1.1.2 Ponta diamantada	61
5.1.1.3 Laser de Er:YAG	62
5.1.1.4 Laser de Er,Cr:YSGG	62

5.1.2 Dentina submetida à ciclagem erosiva	64
5.1.2.1 Controle	64
5.1.2.2 Ponta diamantada	64
5.1.2.3 Laser de Er:YAG	64
5.1.2.4 Laser de Er,Cr:YSGG	65
5.2 ANÁLISE DA RESISTÊNCIA DE UNIÃO POR MEIO DO ENSAIO DE MICROTRAÇÃO	67
5.2.1 Dentina hígida	67
5.2.2 Dentina submetida à ciclagem erosiva	69
5.3 ANÁLISE DO PADRÃO DE FRATURA	70
6 DISCUSSÃO	73
7 CONCLUSÕES	82
REFERÊNCIAS	84
APÊNDICES	100
ANEXOS	106

Introdução

1 INTRODUÇÃO

Na última década, a melhora da qualidade de vida em relação à saúde, da longevidade das pessoas e a consequente manutenção dos dentes na cavidade bucal por mais tempo elevou significativamente a prevalência e a severidade do desgaste dentário na população. Somado a isto, a associação de fatores, como o maior consumo de alimentos ácidos, maior estresse frente às necessidades do mercado de trabalho e a presença de distúrbios alimentares psicossomáticos e gastro-esofágicos, transformaram a erosão dental em uma desordem de grande preocupação para os cirurgiões-dentistas (Garone Filho; Abreu e Silva, 2008) e em uma linha de pesquisa que atualmente vem recebendo grande atenção dos pesquisadores (Huysmans et al., 2011).

Definida como a perda localizada, crônica, patológica e irreversível do tecido duro dental decorrente de mecanismos químicos que dissolvem a porção mineralizada do dente, a erosão dental não envolve ácidos oriundos de bactérias da microflora oral, como a doença cárie, e sim, substâncias quelantes e ácidos provenientes da dieta, de medicações, de fontes intrínsecas e ocupacionais (ten Cate; Imfeld, 1996; Barbour et al., 2011; Lussi et al., 2011). Possui assim, uma etiologia complexa e multifatorial, que envolve fatores químicos, biológicos e comportamentais (Lussi et al., 2006; Lussi et al., 2009; Lussi et al., 2011).

Quando o desgaste desta lesão não-cariosa encontra-se em um nível avançado, com comprometimento da dentina, da integridade estrutural do dente e da estética, é necessária a realização de tratamento restaurador (Jaeggi et al., 2006; Lussi et al., 2011) para reduzir possível sensibilidade térmica, impedir envolvimento pulpar, abrasão por dentífrícios, maior erosão ácida, impacção alimentar, desconforto da língua e bochechas e, principalmente, devolver a estética e aumentar a resistência do dente (Lambrechts et al., 1996; Wang; Lussi, 2010).

Com a evolução dos sistemas adesivos e dentro dos conceitos da Odontologia Minimamente Invasiva (Staehle, 1999), as restaurações diretas com resinas compostas são procedimentos conservadores, que podem reabilitar o elemento dental afetado pela erosão (Jaeggi et al., 2006) e devem apresentar resistência de união ao dente suficiente para suportar as forças incidentes no meio bucal.

Com o avanço tecnológico, o uso dos lasers em alta intensidade na Odontologia foi introduzido como uma nova alternativa para a realização de preparos cavitários conservadores e tratamento da superfície dental. Dentre os tipos de laser comercialmente disponíveis, que apresentam alta afinidade pelos tecidos duros dentais, os lasers de érbio (Er:YAG e Er,Cr:YSGG) têm sido considerados os mais promissores. Ambos apresentam grande absorção pela água, embora o Er,Cr:YSGG ($\lambda = 2,78 \mu\text{m}$) seja melhor absorvido pela hidroxiapatita que o Er:YAG ($\lambda = 2,98 \mu\text{m}$) (Eduardo et al., 2010).

Estudos avaliaram a ação dos lasers de érbio na morfologia superficial da dentina e reportaram uma dentina irregular, sem a presença de *smear layer*, com túbulos dentinários abertos e dentina peritubular proeminente, com um padrão microrretentivo possivelmente favorável aos procedimentos adesivos (Visuri et al., 1996b; Aranha et al., 2007; Esteves-Oliveira et al., 2007; Malkoc et al., 2011).

No entanto, resultados contraditórios sobre a efetividade da adesão no substrato previamente irradiado têm sido relatados na literatura científica. Dependendo da densidade de energia utilizada, os efeitos termomecânicos do laser podem ocasionar microfendas (Martinez-Insua et al., 2000; De Munck et al., 2002) e desnaturação das fibrilas colágenas na dentina subsuperficial (Ceballos et al., 2002; Moretto et al., 2011), levar à formação de uma superfície ácido-resistente com estruturas granulares, carbonizada ou com derretimento (*melting*), prejudicando a infiltração do sistema adesivo, a formação da camada híbrida e a resistência adesiva (Lee et al., 2007; Ferreira et al., 2010; Moretto et al., 2011).

Apesar de já existirem estudos com a utilização de lasers para tratamento da dentina prévio aos procedimentos restauradores adesivos, até a presente data não há pesquisas sobre a adesão em substrato erodido e submetido ao pré-tratamento da superfície dentinária com lasers de alta potência.

Na Odontologia Restauradora, a efetividade dos sistemas adesivos depende basicamente das características da superfície do substrato dental preparado (Ergücü et al., 2009; Cardoso et al., 2011). E como diferentes tratamentos de superfície criam substratos distintos para serem restaurados, é de grande relevância clínica o estudo da resistência de união e da morfologia da superfície da dentina hígida e da submetida à ciclagem erosiva, irradiadas com laser de Er:YAG ($\lambda = 2,94 \mu\text{m}$) e de Er,Cr:YSGG ($\lambda = 2,78 \mu\text{m}$) antes do procedimento restaurador, visto que pode

indicar o sistema adesivo e o tratamento de superfície mais adequado para a dentina afetada pela erosão.

Revisão da Literatura

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 ASPECTOS RELACIONADOS À EROÇÃO DENTAL

A erosão dental é definida como a perda localizada, crônica, patológica e irreversível do tecido duro dental, decorrente da ação química de substâncias quelantes e ácidos de origem não-bacteriana, que dissolvem a porção mineralizada do dente. Possui uma etiologia complexa e multifatorial, ocorrendo em sítios livres de placa (Levitch et al., 1994; Nunn, 1996; ten Cate; Imfeld, 1996; Lussi et al., 2006), uma vez que a película adquirida age como uma barreira de difusão que previne o contato direto entre os ácidos e a superfície dentária, reduzindo consequentemente a dissolução dos tecidos duros dentais (Wang; Lussi, 2010).

Os ácidos de origem extrínseca associados com o desenvolvimento clínico da erosão são dependentes de fatores relacionados ao meio-ambiente (exposição ocupacional de aerossóis ácidos em ambientes de trabalho e em água de piscina incorretamente tratada com baixo pH), à dieta (consumo excessivo de bebidas e alimentos ácidos, frutas e sucos cítricos, vegetais, refrigerantes, bebidas energéticas, vinhos, vinagre), a medicações (uso crônico de vitamina C efervescente - ácido ascórbico - e aspirina mastigável - ácido acetilsalicílico) e fatores ligados ao estilo de vida (tipo de alimento, frequência e tempo de consumo, práticas de higiene bucal). A combinação do consumo frequente de bebidas e alimentos ácidos e a escovação imediata, por exemplo, é um fator de alto risco para o desenvolvimento da erosão (Imfeld, 1996; ten Cate; Imfeld, 1996; Zero, 1996; Barbour et al., 2011; Lussi et al., 2011).

A erosão dental de causa intrínseca é resultado do contato frequente, por um longo período, de ácidos gástricos (ácido clorídrico) que alcançam os dentes, por meio de vômitos crônicos, regurgitação, refluxo gastroesofágico persistente ou ruminação. Isto acontece em pacientes alcoólatras ou que apresentam efeitos colaterais de medicamentos, desordens neurológicas, metabólicas e endócrinas e desordens psicossomáticas, como anorexia e bulimia nervosa (Imfeld, 1996; Scheutzel, 1996; ten Cate; Imfeld, 1996; Wang; Lussi, 2010; Lussi et al., 2011).

A severidade e a manifestação clínica da erosão dependem de uma interação de fatores químicos, biológicos e comportamentais (Figura 2.1) (Lussi et al., 2004; Lussi et al., 2011), o que justifica as diferentes respostas dos indivíduos, mesmo quando estão frente ao mesmo desafio ácido (Lussi; Jaeggi, 2008; Lussi et al., 2009). A maneira como o líquido é ingerido, a duração de contato dos alimentos com o dente, o fluxo salivar, a película adquirida, a capacidade tampão, o pH e a concentração de cálcio e fosfato da saliva e as propriedades físicas e químicas do tecido dental são exemplos de fatores que modificam o processo erosivo (Scheutzel, 1996; ten Cate; Imfeld, 1996; Zero, 1996; Hall et al., 1999; Lussi et al., 2004; Lussi et al., 2009; Wang; Lussi, 2010; Lussi et al., 2011).

Lussi et al., 2011.

Figura 2.1 – Ilustração traduzida e adaptada do diagrama de Lussi et al. (2011) com a interação de diferentes fatores que influenciam o desenvolvimento da erosão dental (Extraído de Lussi et al., 2011, p.4)

Um estudo *in vitro* (West et al., 2000) realizado em esmalte e dentina humanos concluíram que a concentração e o tipo do ácido, o pH, a temperatura e o tempo de exposição são fatores importantes que influenciam a erosão dental. No entanto, o controle preciso existente nas pesquisas *in vitro* não está presente *in vivo* e existem muitos outros fatores importantes nas condições em ambiente bucal que

também influenciam o potencial erosivo do ácido, como a presença de película salivar, taxa de fluxo salivar e capacidade tampão da saliva.

O Ministério da Saúde divulgou dados evidenciando o alto consumo de refrigerantes e sucos artificiais pela população brasileira (Brasil, 2010). O consumo regular, quase diário, aumentou 13,4% em um ano. Entre os mais jovens, de 18 a 24 anos, o índice foi ainda maior: 42,1% bebem refrigerantes quase todos os dias.

Mangueira et al. (2009) avaliaram a associação entre fatores socioeconômicos e erosão em crianças brasileiras entre 6 e 12 anos de idade. Foi encontrada maior ocorrência do desgaste em dentes decíduos e prevalência de 19,9% neste grupo, principalmente nas crianças pertencentes às famílias com maior nível educacional. No entanto, Vargas-Ferreira et al. (2011) examinaram 944 crianças brasileiras entre 11 e 14 anos de idade e encontraram uma prevalência baixa da erosão dental (7,2%) sem associação com fatores socioeconômicos.

Murakami et al. (2011) realizaram um estudo clínico para avaliar a prevalência e os indicadores de risco para o desgaste erosivo de 967 crianças brasileiras, entre 3 e 4 anos de idade, e constataram que o desgaste esteve presente em 51,6% das crianças e foi significativamente associado com alto consumo diário de refrigerantes e com refluxo gastroesofágico.

Diferentes metodologias, diferentes grupos populacionais, falta de padronização dos índices e os aspectos multifatoriais da erosão dificultam a comparação entre os estudos epidemiológicos.

El Aidi et al. (2011) fizeram uma análise multifatorial dos fatores associados com a incidência e a progressão do desgaste erosivo, por meio de um estudo longitudinal de três anos com 656 adolescentes holandeses, com idade média de 11,9 anos. Os autores constataram que 24,2% desenvolveram desgaste erosivo e 68,3% apresentaram progressão da lesão em relação ao início do estudo. Concluíram que a etiologia do desgaste por erosão é complexa e que possíveis fatores etiológicos envolvem mais do que a ação de bebidas ácidas, mas também hábitos como o ranger de dentes.

Quanto aos aspectos químicos, Featherstone e Lussi (2006) afirmaram que as soluções ácidas entram em contato com o dente e reagem com seu conteúdo mineral. Agentes com fortes propriedades quelantes, como o ácido cítrico e EDTA, sofrem dissociação em água, liberam íons hidrogênio (H^+) que atacam diretamente os cristais, causam dissolução do mineral e se unem aos íons carbonato e fosfato da

estrutura dental. Além disso, os ânions retiram o cálcio da apatita para o meio bucal e formam complexos com o cálcio da estrutura dental. A combinação destes fatores resulta na erosão da superfície dental.

A erosão dental envolve alterações histológicas complexas na dentina e, através da microscopia eletrônica de varredura, é possível observar que a dissolução ácida proveniente da erosão na dentina varia de acordo com a área (Meurman et al., 1991). Primeiro, o ácido ataca a interface entre a dentina peritubular e a dentina intertubular, levando em seguida à total dissolução da dentina peritubular e aumento da entrada dos túbulos e, por último, ocorre a desmineralização da dentina intertubular com exposição da matriz orgânica, resultando em uma superfície porosa e com rugosidades (Meurman et al., 1991; Meurman; ten Cate, 1996; Ganss et al., 2009b).

A ação do ácido durante a desmineralização resulta na exposição de uma superfície externa com a matriz orgânica completamente desmineralizada, seguida por uma zona estreita parcialmente desmineralizada até que uma camada interna, sadia e não afetada pelo ácido, seja alcançada (Kinney et al., 1995; Ganss et al., 2007; Ganss et al., 2009a; Lussi et al., 2011). A degradação enzimática do colágeno ocorre após a dissolução do mineral, ou seja, primeiro a matriz orgânica é desmineralizada e em seguida, degradada (Klont; ten Cate, 1991).

Resultados de alguns estudos (Klont; ten Cate, 1991; Kleter et al., 1994; Ganss et al., 2001; Ganss et al., 2004a; Ganss et al., 2004b; Hara et al., 2005; Ganss et al., 2007; Ganss et al., 2009a; Ganss et al., 2009b; Shellis et al., 2010; Barbour et al., 2011; Lussi et al., 2011) sugerem que a desmineralização erosiva da dentina vai reduzindo na medida em que a quantidade de colágeno desmineralizado aumenta. Pressupõe-se que esta matriz orgânica exposta age como uma membrana protetora com capacidade tampão suficiente para reduzir a desmineralização e retardar a perda de minerais e a difusão de íons H^+ para regiões mais profundas da dentina. Estas características histológicas indicam que o conteúdo orgânico da dentina pode exercer um papel importante na progressão da erosão, uma vez que após a ação do ácido, ocorre uma perda de volume na dentina mais lenta, quando comparada com a porção inorgânica da estrutura dental.

A perda de superfície pode acontecer quando, em estágios mais avançados, a matriz orgânica desmineralizada é exposta à ação contínua dos ácidos e aos

desafios químicos (degradação enzimática) e mecânicos (abrasão por escovação) (Hara et al., 2005; Schlueter et al., 2011).

Os cirurgiões-dentistas devem diagnosticar os fatores de risco e os sinais precoces da manifestação clínica da erosão dental para intervir com medidas preventivas (Bartlett, 2007; Lussi; Jaeggi, 2008; Serra et al., 2009; Wang; Lussi, 2010). Sua evolução pode comprometer a integridade de toda a dentição (Huysmans et al., 2011) levando à sensibilidade, risco de exposição pulpar, comprometimento estético, grande perda de estrutura dental e à necessidade de tratamento restaurador ou reabilitação oral para restabelecimento da dimensão vertical de oclusão em casos mais severos (Nunn, 1996; Bartlett, 2007; Rios et al., 2008; Lussi et al., 2009; Wang; Lussi, 2010).

Para o reparo funcional e estético da dentição afetada pela erosão, deve-se primeiro determinar a etiologia das lesões, para em seguida, eliminar a causa. Cada decisão clínica, em relação ao plano de tratamento, vai depender dos fatores etiológicos da erosão e das necessidades, grau de desgaste e situação dos dentes e dos tecidos de sustentação do paciente. Quando a restauração for inevitável, em todas as situações, os preparos devem seguir os princípios do tratamento minimamente invasivo (Levitch et al., 1994; ten Cate; Imfeld, 1996; Jaeggi et al., 2006; Bartlett, 2007; Lussi; Jaeggi, 2008; Lussi et al., 2009; Vila Verde et al., 2009; Wang; Lussi, 2010).

2.2 ADESÃO À DENTINA HÍGIDA

A natureza heterogênea, orgânica e úmida da dentina e suas variações morfológicas torna este substrato complexo para o alcance de uma boa adesão (Garberoglio; Brännström, 1976; Pashley et al., 1987; Dai et al., 1991; Pashley, 1991; Swift Jr et al., 1995; Perdigão, 2010).

Depois do preparo mecânico da cavidade com instrumentos rotatórios ou manuais, uma camada amorfa de esfregaço constituída de debris orgânico e material inorgânico, conhecida como *smear layer*, é formada na superfície da dentina. Esta *smear layer* oblitera os túbulos dentinários e pode impedir a infiltração dos monômeros resinosos. Assim, o tratamento da superfície da dentina antes da

inserção da resina composta é necessário para remover ou tratar esta camada e produzir microporosidades retentivas que fisicamente aumentarão a adesão do material restaurador à superfície dental. Para isso, existem alguns métodos, como condicionamento ácido, preparo cavitário cinético com partículas de óxido de alumínio ou irradiação com lasers de alta potência (Tagami et al., 1991; Moritz et al., 1998; Van Meerbeek et al., 2006).

Tradicionalmente, o mecanismo fundamental de adesão na dentina hígida está baseado na retenção micromecânica, um processo de dissolução superficial de minerais do tecido dental e infiltração dos monômeros resinosos nos túbulos dentinários que, após a polimerização, ficam micromecanicamente interligados nas porosidades criadas e na trama de colágeno formando os tags e a camada híbrida (Swift Jr et al., 1995; Van Meerbeek et al., 2003; Perdigão, 2010; Salz; Bock, 2010).

Existe uma variedade de sistemas adesivos disponíveis no mercado. Atualmente, de forma simplificada, pode-se dizer que a interação do adesivo com o substrato dental está baseada em duas diferentes estratégias, comumente descritas na literatura como sistemas de condicionamento ácido prévio e sistemas autocondicionantes (Cardoso et al., 2011).

O sistema de condicionamento ácido prévio (também conhecido como *total-etching* ou *etch-and-rinse*) é o mais utilizado e consiste na aplicação simultânea do ácido fosfórico a 37% tanto no esmalte quanto na dentina. O condicionamento da dentina remove a *smear layer* e os *smear plugs*, aumenta a permeabilidade dentinária, desmineraliza a superfície da dentina, abre os túbulos dentinários, aumenta a microporosidade intertubular e expõe as fibras de colágeno, tornando-a extremamente receptiva para a retenção micromecânica. Após remoção superficial da matriz inorgânica da dentina inter e peritubular, aplica-se o primer hidrofílico que aumentará o molhamento e facilitará a infiltração do adesivo hidrofóbico (Swift Jr et al., 1995; Lambrechts et al., 1996; De Munck et al., 2005; Perdigão, 2010; Pashley et al., 2011).

O mecanismo de adesão dos adesivos autocondicionantes (ou *self-etching*) consiste na aplicação inicial de um primer com monômeros acídicos fracos, os quais têm a capacidade de desmineralizar tanto o esmalte quanto a dentina, ao mesmo tempo, permitindo a infiltração do primer. Esta abordagem dissolve a *smear layer* incorporando-a na interface adesiva e desmineraliza a camada subsequente da dentina. Tem como vantagem a eliminação dos passos de lavagem do ácido e

secagem da superfície, reduzindo a sensibilidade técnica e prevenindo colapso das fibras colágenas e falhas na sequência clínica de aplicação (De Munck et al., 2005; Perdigão, 2010; Cardoso et al., 2011).

A formação da camada híbrida, a qual é dependente das características morfológicas do substrato, representa o principal mecanismo de união dos sistemas adesivos odontológicos. Um estudo realizado por Arrais e Giannini (2002) avaliou a micromorfologia e a espessura da camada híbrida formada por adesivos dentinários e foi verificado que adesivo convencional de três passos (Scotchbond MP Plus) seguido do adesivo de dois passos (Single Bond) mostraram a formação das camadas híbridas com maior espessura, enquanto os adesivos autocondicionantes formaram as mais delgadas.

A resina composta adere ao dente principalmente através de retenções micromecânicas. Qualquer alteração morfológica no substrato dentinário pode interferir na penetração do sistema adesivo, na hibridização, na resistência de união e, conseqüentemente, na longevidade das restaurações na cavidade bucal (Kwong et al., 2002; Karan et al., 2009; Cardoso et al., 2011).

Pashley e Carvalho (1997) sugeriram que a resistência de união está muita mais relacionada à penetração uniforme do sistema adesivo do que à profundidade de penetração na superfície de dentina desmineralizada. De acordo com os autores, os sistemas *self-etching* geram uma infiltração fina, mas uniforme na dentina, sendo responsáveis por altos valores de resistência adesiva. Camada híbrida espessa não necessariamente resulta em valores maiores. Na dentina superficial, devido à menor concentração de túbulos, o principal mecanismo de adesão é a formação da camada híbrida. Na dentina profunda, devido à menor quantidade de dentina intertubular e maior número de túbulos, são os tags resinosos que mais contribuem para a adesão nesta região.

Kwong et al. (2000) observaram a inabilidade do ácido fosfórico em dissolver depósitos de minerais ácido-resistentes presentes nos túbulos, sendo considerado um dos fatores responsáveis pela falta de tags resinosos na dentina esclerosada e pela redução na resistência adesiva entre a resina e o substrato dentinário alterado de aproximadamente 26%.

Estudo de Van Meerbeek et al. (2003) concluiu que o modo de preparo da superfície dental antes dos procedimentos adesivos influenciam significativamente na efetividade dos sistemas *total-etching* e *self-etching*. O laser de Er:YAG (80 mJ,

10 Hz, 250 μ s), por exemplo, foi o tratamento que mostrou os menores valores de resistência à microtração com o adesivo Clearfil SE Bond.

Franco et al. (2006) realizaram avaliação clínica de restaurações de resina composta (sistema adesivo Excite) e cimento de ionômero de vidro (Vitremer) em lesões cervicais não-cariosas. Após 5 anos, a taxa de retenção caiu para 51,5% e 96,4%, respectivamente. Isto confirma que mesmo com os sistemas adesivos modernos, a adesão à dentina ainda está longe do ideal.

Burrow e Tyas (2007) compararam clinicamente durante três anos a retenção, a cor e o manchamento marginal de restaurações de lesões cervicais não cariosas com o adesivo *self-etching* (Clearfil SE Bond), o adesivo *total-etching* (Single Bond) e com o cimento de ionômero de vidro modificado por resina (Fuji II LC). Apesar de não terem diagnosticado o tipo de lesão, os autores verificaram que o cimento de ionômero de vidro modificado por resina apresentou o melhor comportamento e que, quando há envolvimento estético, restaurações com adesivo *self-etching* são a melhor opção.

Zimmerli et al. (2011) estudaram a influência de diferentes tratamentos de superfície (pedra-pomes, abrasão a ar, polimento com ponta de silicone, proxo-shape em baixa rotação e ponta diamantada em alta rotação) na longevidade da união do OptiBond FL (*etch-and-rinse* de três passos) e do Clearfil SE Bond (*self-etch* de dois passos) em dentina erodida. Foi observado que o modo de preparo da superfície da dentina erodida influenciou claramente a efetividade de união dos dois sistemas adesivos. A erosão reduziu a resistência de união em todos os grupos, sendo este fato menos evidente na dentina que foi preparada com ponta diamantada. Além disso, o Clearfil SE apresentou um desempenho melhor que o OptiBond FL na dentina erodida.

2.3 ADESÃO À DENTINA IRRADIADA COM O LASER DE Er:YAG E O LASER DE Er,Cr:YSGG

A introdução da tecnologia laser na Odontologia oferece uma nova alternativa para os preparos convencionais com instrumentos rotatórios em alta e baixa velocidade. Ao contrário do método comumente utilizado, a irradiação com

laser envolve perda mínima de tecido dental, sem vibração e calor, diminuindo a necessidade de anestesia local e aumentando o conforto do paciente, tornando-o mais atrativo (Visuri et al., 1996b; Keller et al., 1998; Hadley et al., 2000; Eduardo et al., 2009; Zhang et al., 2012).

A eficiência da ação do laser depende basicamente da absorção, pelo tecido alvo, do comprimento de onda utilizado (Eduardo, 2007). A interação entre o laser e o tecido está relacionada com as características da radiação incidente e com as propriedades ópticas, coeficiente de absorção e composição do tecido irradiado. Assim, a quantidade de energia absorvida depende do coeficiente de absorção de cada molécula do tecido (Armengol et al., 1999; Yamada et al., 2004; Gutknecht; Esteves-Oliveira, 2007; Colucci et al., 2009).

Dentre os lasers de alta potência que podem ser utilizados nos tecidos duros dentais, os lasers de érbio são os mais conhecidos e estudados devido à grande absorção pela água e pela hidroxiapatita. O laser de Er:YAG opera no comprimento de onda de 2,94 μm , o qual coincide com a banda de absorção dos radicais hidroxila ($\text{OH}^\cdot$) da água. Parâmetros específicos podem remover tecido duro dental através do processo de ablação em preparos conservadores e podem promover a remoção seletiva de dentina cariada, redução microbiana e condicionamento da superfície dental (Cozean et al., 1997; Armengol et al., 1999; Eduardo, 2007).

O laser de Er,Cr:YSGG opera no comprimento de onda de 2,78 μm , é bem absorvido pelos radicais hidroxila ($\text{OH}^\cdot$) da hidroxiapatita e tem a capacidade de ablacinar o tecido duro dental com o auxílio de um sistema hidrocínético, que opera com um feixe pulsado e uma ponta de safira, acionada com spray de ar e água (Eduardo; Gutknecht, 2004).

O mecanismo pelo qual o laser age no tecido mineralizado é chamado de fotoablação ou ablação fotomecânica ou termomecânica, ou seja, a luz do laser é absorvida pelo tecido dental e convertida em calor. As moléculas de água entre os cristais de hidroxiapatita absorvem esta energia, são aquecidas e sofrem excitação e expansão. Ocorre em seguida a vaporização da água e de outros compostos orgânicos hidratados do tecido. Isto resulta em aumento da pressão interna, microexplosões da substância inorgânica e, conseqüentemente, ejeção do substrato irradiado em forma de partículas microscópicas, resultando em irregularidades micro e macroscópicas (Ceballos et al., 2001; Yamada et al., 2004; Eduardo, 2007).

Os lasers de érbio podem ser considerados uma tecnologia alternativa para o tratamento da superfície dentinária antes dos procedimentos adesivos (Moritz et al., 1998; Hossain et al., 2001; Carrieri et al. 2007; de Carvalho et al., 2008). A dentina irradiada apresenta alterações microestruturais, com uma superfície rugosa, irregular, com aspecto de escamas, túbulos dentinários abertos, sem *smear layer* e sem desmineralização. Como a dentina peritubular tem mais conteúdo mineral e menos conteúdo de água, ela é menos ablacionada e tem-se a aparência de estar levemente protruída em relação à dentina intertubular circundante. Isto indica que quando utilizados com os parâmetros corretos, estes lasers podem promover alterações morfológicas na superfície dental que parecem ser favoráveis à adesão micromecânica de compósitos ao substrato dentinário (Visuri et al., 1996b; Yamada et al., 2004; Harashima et al., 2005; Esteves-Oliveira et al., 2007; Lee et al., 2007; de Carvalho et al., 2008; Eduardo et al., 2009; Malkoc et al., 2011; Beer et al., 2012).

Diferentes parâmetros do laser de Er:YAG mostram ser efetivos na ablação dos tecidos duros, formando uma superfície com padrão morfológico microrretentivo sem danos térmicos ou sinais de aquecimento e derretimento (Freitas et al., 2007).

O efeito bactericida é um dos benefícios mais relevantes, quando comparados ao preparo mecânico convencional. A energia absorvida pelo tecido é convertida em calor, promovendo o aumento da temperatura e a consequente ablação do tecido-alvo e das bactérias (Gutknecht; Esteves-Oliveira, 2007).

A irrigação constante com água é de grande importância para aumentar a eficiência da ablação, reduzir a temperatura e prevenir efeitos térmicos na polpa durante a irradiação (Burkes et al., 1992; Armengol et al. 1999; Geraldo-Martins et al., 2005; Colucci et al., 2009). Vários estudos (Visuri et al., 1996a; Hadley et al., 2000; Hossain et al., 2002; Botta et al., 2009; Promklay et al., 2010) mostram que a irradiação com os lasers de érbio (Er:YAG e Er,Cr:YSGG), com adequada refrigeração e com os parâmetros indicados para o tratamento dos tecidos duros, não provocam aquecimento, carbonização, desidratação e nem respostas inflamatórias na polpa dental, sendo seguros para uso clínico.

Diferentes métodos de preparo da superfície de dentina podem influenciar na efetividade dos sistemas adesivos (Oliveira et al., 2007) e a seleção do tipo de instrumento torna-se de grande importância para o sucesso do tratamento restaurador (Manhães et al., 2005). Além disso, diferentes parâmetros de irradiação com laser de Er:YAG criam diferentes padrões de camada híbrida, independente do

tipo de sistema adesivo, com regiões não-uniformes de camada híbrida, devido à ausência de *smear layer* e à rugosidade criada pela incidência dos pulsos na dentina irradiada (Oliveira et al., 2010).

Pelo fato de apresentarem comprimentos de onda muito próximos um do outro, os efeitos morfológicos dos lasers de Er:YAG e Er,Cr:YSGG são bastante semelhantes. Uma diferença foi relatada por Harashima et al. (2005) e Moretto et al. (2011). Enquanto o laser de Er,Cr:YSGG inicia a ablação do tecido duro em uma temperatura próxima a 800°C e tem maior afinidade pelo íon hidroxila (OH⁻) da hidroxiapatita, o laser de Er:YAG, inicia o mesmo fenômeno a 300°C e seu comprimento de onda tem maior absorção pelo íon hidroxila da água.

Algumas pesquisas mostraram que a superfície torna-se ácido-resistente porque a irradiação com laser no tecido duro dental aumenta a quantidade de cálcio e fósforo, reduz a proporção carbonato-fosfato e leva à formação de compostos mais estáveis e menos solúveis aos ácidos, reduzindo a susceptibilidade do ataque ácido e da cárie dental (Oho; Morioka, 1990; Hossain et al., 2003). Estas alterações na composição química podem afetar as características de permeabilidade e solubilidade da dentina e a adesão dos materiais nos tecidos dentais (Secilmis et al., 2008). No entanto, Malkoc et al. (2011) avaliaram o conteúdo mineral da dentina preparada com quatro parâmetros diferentes do laser de Er,Cr:YSGG (1,5 W e 75 mJ, 2,25 W e 112,5 mJ, 3,0 W e 150 mJ, 3,5 W e 175 mJ) e constataram que não houve diferenças significativas entre os grupos e que o laser não afetou os níveis de cálcio, fosfato e sódio e nem a proporção cálcio-fósforo.

Ramos et al. (2010) e Akin et al. (2012) estudaram o efeito do laser de Er:YAG na resistência de união e foi constatado que os níveis de adesão à dentina foram comparáveis aos obtidos pelos métodos convencionais, quando adesivos de condicionamento ácido total e autocondicionantes foram utilizados. Os valores de resistência de união foram estatisticamente semelhantes, mas a retenção micromecânica foi levemente melhorada pela irradiação a laser, especialmente pela interação entre os monômeros de resina e as fibrilas de colágeno ao longo dos túbulos dentinários.

Avaliação microscópica da interface adesiva entre dentina irradiada com lasers de érbio e diferentes sistemas adesivos (Aranha et al., 2007) revelou ausência de camada híbrida na dentina tratada com laser de Er,Cr:YSGG e Clearfil SE Bond. A morfologia dos tags e da camada híbrida mostrou diferenças entre os adesivos

Single Bond e os sistemas autocondicionantes e a formação de *gaps* entre a resina e a dentina irradiada sugeriu alteração no colágeno.

Esteves-Oliveira et al. (2007) avaliaram a resistência à tração do sistema adesivo *self-etching* Clearfil SE Bond no esmalte e na dentina tratados com os lasers Er:YAG (300 mJ, 6 Hz, 17 J/cm²) e Er,Cr:YSGG (125 mJ, 20 Hz, 16 J/cm²). Apesar de o grupo controle tratado com ponta diamantada ter apresentado valores significativamente maiores (15,12 ± 3,95 MPa), a resistência de união foi maior para a superfície tratada com o Er:YAG (11,56 ± 5,78 MPa) do que com o Er,Cr:YSGG (7,78 ± 2,61 MPa) .

Botta et al. (2009) verificaram que, ao contrário do Single Bond que foi o adesivo que proporcionou maior resistência de união na dentina não-irradiada, o Clearfil SE Bond foi o melhor sistema adesivo para ser utilizado em dentina irradiada com o laser de Er,Cr:YSGG (0,25 W, 20 Hz, 2,8 J/cm², 12,5 mJ).

Ergücü et al. (2009) estudaram o efeito da irradiação com o laser de Er,Cr:YSGG na resistência à microtração de um sistema adesivo *etch-and-rinse* (Scotchbond Multipurpose, 3M ESPE) e de um *self-etching* (AdheSE, Ivoclar Vivadent) na dentina hígida (4 W, 25 Hz, 70% de ar e 30% de água) e na dentina afetada pela cárie (2 W, 25 Hz, 65% de ar e 55% de água). O laser não influenciou negativamente no desempenho clínico dos sistemas adesivos e o *self-etching* apresentou menores valores de resistência de união que o sistema *etch-and-rinse*. Isto indicou que o ácido fosfórico ou o primer ácido pode ter sido capaz de remover a superfície modificada pelo laser, pois os valores obtidos não exibiram diferenças estatisticamente significantes entre o tratamento convencional com instrumentos rotatórios e o laser de Er,Cr:YSGG.

O pré-tratamento da superfície de dentina com laser Er,Cr:YSGG (20 Hz, 0,75 W, 15% de água e 15% de ar) com o objetivo de desinfecção da cavidade foi efetivo em aumentar valores de resistência à microtração tanto com o adesivo *etch-and-rinse* (Single Bond) quanto com o adesivo *self-etch* (Clearfil SE Bond) (Çelik et al., 2010).

Por isso, o laser de Er,Cr:YSGG é eficaz na ablação dos tecidos dentais e pode ser considerado um sistema eficiente para o condicionamento das superfícies dentais para a adesão (Usumez; Aykent, 2003) e uma técnica aceitável para os preparos minimamente invasivos para resina composta. Yazici et al. (2010) fizeram

um acompanhamento clínico de dois anos de restaurações e encontraram uma taxa de retenção de 100% para as cavidades preparadas com laser.

Devido às diferentes metodologias empregadas, os resultados de outras pesquisas são ainda bastante controversos. Avaliações microscópicas mostram que o tratamento com laser afeta a subsuperfície de dentina (3-4 μm) onde as fibrilas colágenas parecem estar fusionadas e parcialmente desnaturadas (Ceballos et al., 2002). A interdifusão prejudicada do adesivo pelo espaço interfibrilar e a formação de uma camada híbrida fina e irregular, com tags menos pronunciados (Schein et al., 2003; Aranha et al., 2007) levam a alterações morfológicas na interface adesiva que influenciam negativamente a durabilidade de união (Amaral et al., 2008) e a adesão na dentina, promovendo baixos valores de resistência de união (Ramos et al., 2002; de Souza et al., 2004; Lee et al., 2007; Cardoso et al., 2008; Firat et al., 2012) e falhas coesivas na região da dentina abaixo da área adesiva (De Moor; Delmé, 2010).

A ocorrência de microfendas também pode indicar algum tipo de dano na subsuperfície irradiada com laser, que pode ser desfavorável para a adesão (Moretto et al., 2011). Durante a ablação, parte do tecido dental é ejetado da superfície dentinária, mas permanece um substrato não afetado pelo laser mas com fissura que se estendem por toda a espessura da camada híbrida, deixando um substrato enfraquecido sem reforço de sistema adesivo. Este fato justifica a baixa efetividade do condicionamento com laser em relação ao condicionamento ácido e os baixos valores de resistência de união com os adesivos *total-etch* e *self-etch*, tanto no esmalte quanto na dentina (Martinez-Insua et al., 2000; De Munck et al., 2002).

Como o fenômeno da ablação ocorre por meio da remoção de água do tecido, após a irradiação com laser, a superfície pode ficar desidratada, dificultando a penetração e o espalhamento uniforme do agente adesivo hidrofílico. Daí a importância do condicionamento ácido após a irradiação (De Moor; Delmé, 2010) para que o ácido possa desmineralizar a porção inorgânica da dentina inter e peritubular, aumentar os orifícios dos túbulos dentinários, expor fibras colágenas, facilitar a infiltração do sistema adesivo e produzir um meio favorável para a união molecular dos polímeros com as fibrilas colágenas e a consequente formação da camada híbrida (Lee et al., 2007; Cardoso et al., 2008). Além disso, pode favorecer a redução da microinfiltração de restaurações classe V (Marotti et al., 2010).

No estudo de Gonçalves et al., (2008), a irradiação com laser de Er:YAG (80 mJ) com diferentes taxas de repetição (1 Hz, 2 Hz, 3 Hz e 4 Hz) seguida da aplicação de ácido fosfórico não aumentou a resistência à tração do adesivo Single Bond. O grupo controle só com condicionamento ácido apresentou os melhores resultados.

Para Eduardo (2007), os lasers de alta e baixa potência podem ser empregados em associação aos procedimentos odontológicos convencionais para oferecer benefícios ao tratamento, desde que utilizados por profissionais com amplo conhecimento desta nova tecnologia, com parâmetros seguros e protocolos específicos que não causem danos térmicos e consequências indesejáveis.

Proposição

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo deste trabalho *in vitro* foi avaliar o efeito de diferentes tratamentos de superfície (ponta diamantada, irradiação com laser de Er:YAG e laser de Er,Cr:YSGG), prévios ao procedimento restaurador, na morfologia de superfície e resistência de união de adesivos à dentina humana hígida e à submetida à ciclagem erosiva.

Materiais e Métodos

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 APROVAÇÕES ÉTICAS PARA O DESENVOLVIMENTO DA PESQUISA

Antes do início do estudo¹, o projeto de pesquisa foi avaliado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (FOUSP), sendo considerado aprovado (processo 41/11 C.A.A.E 0040.0.017.000-11 - ANEXO A). Dando continuidade ao Intercâmbio Científico de Pesquisa entre a Universidade RWTH de Aachen (Alemanha) e a FOUSP, o qual teve início oficial no ano de 2004, uma parte deste estudo foi também realizada na Alemanha (ANEXO B) após aprovação do Comitê Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), pelo Parecer no. 452/2011, referente ao Protocolo de Pesquisa Registro CONEP no. 16.521, processo no. 25000.097665/2011-10 (ANEXO C).

4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

A execução da pesquisa foi dividida em duas fases experimentais. Na fase 1, realizou-se, por meio da Microscopia Eletrônica de Varredura, a análise da morfologia da superfície da dentina hígida e da submetida à ciclagem erosiva, após os diferentes tratamentos de superfície. Já na fase 2, foi feita a avaliação da resistência de união entre as superfícies tratadas e dois sistemas adesivos, por meio do ensaio de microtração e da análise do padrão de fratura (Figura 4.1).

¹ Viabilidade para a realização deste projeto de pesquisa: Capes, Fapesp (Processo n. 2011/02925-6) e CNPq (Processo n. 305574/2008-6). Instituições promotoras: FOUSP - LELO (Brasil) e Instituição co-participante: Universidade RWTH de Aachen (Alemanha).

Figura 4.1 – Fases experimentais do estudo

O delineamento experimental foi organizado como descrito no Quadro 4.1.

Unidades experimentais	112 amostras de Dentina hígida e 112 amostras de Dentina submetida à ciclagem erosiva		
Variável de resposta	1. Quantitativa: Resistência de união à microtração (n=12) 2. Qualitativa: MEV da superfície (n=4)		
Fatores de variação	1. Tipo do sistema adesivo	02 níveis de variação	a) Condicionamento ácido total b) Autocondicionante
	2. Tratamentos de superfície	04 níveis de variação	a) Sem tratamento b) Ponta diamantada c) Laser de Er:YAG d) Laser de Er,Cr:YSGG

Quadro 4.1 – Delineamento experimental

4.3 FASE EXPERIMENTAL 1

4.3.1 Preparo das Amostras

Para a fase experimental 1, foram utilizados 16 dentes terceiros molares humanos recém-extraídos cedidos pelo Banco de Dentes Humanos (BDH) (ANEXO D) da FOUSP e com a concordância do CEP da mesma instituição.

Os dentes permaneceram armazenados em solução de cloramina T a 0,5 %, sob refrigeração (4°C) (Mobarak et al., 2010), por um período máximo de três meses após a data de extração. Foram realizados a limpeza dos dentes, com a utilização de curetas periodontais (Duflex, SS White, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), e o polimento com pedra pomes (SS White, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e água com o auxílio de escovas tipo Robson (KG Sorensen, Barueri, SP, Brasil) em baixa rotação, seguidas de lavagem em ultrassom (Kondortech, São Carlos, SP, Brasil) com água destilada (Figura 4.2).

Figura 4.2 – Limpeza e polimento dos dentes com cureta periodontal (a), pedra-pomes, água e escova de Robinson (b) e lavagem em ultrassom (c)

Após a limpeza, os espécimes foram fixos com cera pegajosa (Asfer Indústria Química Ltda, São Paulo, Brasil) em uma placa de acrílico, com a junção amelo-dentinária perpendicular à placa, para a remoção (sentido méso-distal) do esmalte da região coronária e da porção radicular. Foram obtidos, então, discos de dentina (terço médio da porção coronária) de aproximadamente 2 mm de espessura (Figura 4.3), utilizando-se um disco diamantado dupla face (n° 11-4244 série 15 HC Buehler

UK Ltd, Lake Bluff, IL, USA), em baixa rotação, acoplado a uma máquina de corte de alta precisão (Isomet 1000, Buehler Ltd, Lake Buff, IL, EUA) sob refrigeração à água. Em seguida, os espécimes foram polidos manualmente em máquina Politriz (Ecomet 3 - Buehler Ltd, Lake Buff, IL, EUA) acionada em baixa velocidade (100 rpm) com discos de lixa de carbetto de silício de granulações decrescentes # 120, 240, 400 e 600 (1 minuto em cada), sob irrigação constante, para padronizar a camada de *smear layer*, planificar a superfície e remover remanescentes de esmalte dental. Entre cada troca do disco de lixa de polimento, foi feita a lavagem em ultrassom com água destilada-deionizada (sistema Milli-Q, Millipore) por 5 minutos, para a remoção de quaisquer debris que pudessem interferir nas etapas seguintes de preparo das amostras.

Figura 4.3 – Corte do dente (a) para obtenção de disco de dentina, de aproximadamente 2 mm de espessura (b)

Os diferentes tratamentos realizados nas amostras de dentina foram feitos em uma área previamente delimitada, de aproximadamente 5 mm x 5 mm. Para esta delimitação da área de estudo, as amostras foram fixadas em lâmina de cera utilidade (Epoxiglass, São Paulo, Brasil). No centro da face oclusal, foi colado um pedaço de fita adesiva (Scotch 3M, 3M ESPE, Americana, SP, Brasil) com tamanho de 5 mm x 5 mm e o restante da superfície das amostras foi revestida com verniz ácido-resistente. Após a secagem do verniz, a fita adesiva foi removida com o auxílio de uma lâmina de bisturi, o que evidenciou a área a ser tratada. Em seguida, as superfícies foram limpas com algodão embebido em água destilada-deionizada para remover possíveis resíduos do adesivo. O objetivo desta demarcação foi padronizar a área de estudo na qual seriam realizados os tratamentos de superfície, a ciclagem erosiva e os procedimentos adesivos.

Para a análise da superfície no Microscópio Eletrônico de Varredura, 16 discos de dentina foram seccionados ao meio e os 32 hemi-discos obtidos foram distribuídos aleatoriamente entre os grupos descritos no Quadro 4.2.

	<i>Superfície hígida (n)</i>	<i>Superfície submetida à ciclagem erosiva (n)</i>
Controle (sem tratamento)	04	04
Ponta diamantada	04	04
Laser de Er:YAG	04	04
Laser de Er,Cr:YSGG	04	04

Quadro 4.2 – Divisão das amostras na fase experimental 1

4.3.2 Ciclagem erosiva

Para simular o fenômeno cíclico de desmineralização e remineralização que acontece na cavidade bucal, foi utilizado o modelo *in vitro* de ciclagem erosiva proposto por Ganss et al. (2001). Os espécimes, com a área de 5 x 5 mm previamente delimitada, foram fixados lado a lado em cera utilidade (Epoxiglass, São Paulo, Brasil) e por meio de uma alça confeccionada em fio ortodôntico, o conjunto foi imerso em 500 mL de solução contida em recipientes plásticos, assegurando a padronização do tempo de imersão de todas as amostras. A desmineralização foi feita através da imersão simultânea dos espécimes em solução de ácido cítrico a 0,05 M (1%) (E. Merck, D-6100 Darmstadt, F.R., Alemanha), pH 2,3. Foram realizadas 6 imersões por dia de 10 minutos cada, durante 5 dias, sob temperatura ambiente controlada (25°C) e leve agitação (30 rpm) (Polymax 1040, Incubator 1000, Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, Schwabach, Alemanha). Entre cada ciclo de desmineralização, foi utilizado um intervalo de 1 hora e durante o tempo remanescente, os espécimes ficaram armazenados em 500 mL de solução supersaturada, constituída de 1,5 mmol/L CaCl_2 , 1,0 mmol/L KH_2PO_4 e 50 mmol/L NaCl, com pH 7,0 (Zero et al., 1990), também sob leve agitação (30 rpm). Após cada imersão, as amostras foram cuidadosamente lavadas com água destilada por 01 minuto e secas com papel absorvente para, em seguida, serem colocadas no

recipiente da solução seguinte. O *shaker* automático foi utilizado para agitar as soluções, manter a temperatura de 25°C e prevenir o aumento da concentração de íons cálcio e fosfato dissolvidos na superfície da amostra durante a ciclagem erosiva. As soluções foram renovadas no início de cada dia do experimento e o valor do pH das soluções foi controlado no início e no final de cada dia experimental. Após o último desafio, as amostras ficaram imersas durante 24 horas em solução supersaturada, para em seguida, serem armazenadas em ambiente úmido com água destilada-deionizada, até a realização dos tratamentos de superfície e dos procedimentos adesivos. A Figura 4.4 mostra o aspecto macroscópico da superfície dentinária submetida à ciclagem erosiva, na qual pode-se notar uma área opaca resultante da ação do ácido no centro da superfície dentinária.

Figura 4.4 - Vista aproximada da superfície de dentina artificialmente erodida

4.3.3 Tratamentos de Superfície

As amostras do grupo controle não foram submetidas a nenhum tipo de tratamento adicional. Já as amostras dos grupos experimentais receberam tratamentos de superfície de acordo com os seguintes protocolos:

- Tratamento com ponta diamantada cilíndrica (nº 2135 FF – granulação 15 µm, KG Sorensen, Barueri, São Paulo), em alta rotação (Kavo do Brasil, Joinville, Brasil), refrigeração abundante e leve pressão manual, para remoção da camada superficial (asperização) da dentina hígida e da dentina modificada pela ciclagem

erosiva. A ponta ativa foi posicionada paralelamente à superfície e acionada por 5 segundos. Devido ao desgaste inerente das pontas diamantadas e sua pequena durabilidade, realizou-se a troca da ponta diamantada a cada desgaste de quatro amostras (Esteves-Oliveira et al., 2007).

- Tratamento com laser de Er:YAG (Key Laser II, Kavo, Alemanha)*. Este equipamento apresenta comprimento de onda de 2,94 μm e duração do pulso entre 150-250 μs . A peça de mão 2058 (*spot size* de 0,63 mm) foi posicionada perpendicularmente à superfície dentinária, com distância de trabalho de 12 mm (modo focado) e fluxo de água de aproximadamente 5 mL/min. A irradiação foi realizada manualmente durante 3 minutos, divididos entre a varredura horizontal e a varredura vertical, com os seguintes parâmetros (Robles, 2003; Esteves-Oliveira et al., 2008): energia por pulso de 60 mJ, taxa de repetição de 2 Hz, 2 pulsos por segundo, potência de 0,12 W e densidade de energia 19,3 J/cm² (Figura 4.5). Antes e durante as irradiações das amostras, a energia de saída do feixe do laser (*output*) foi mensurada com um medidor de potência (Nova Display Assy, Ophir Optronics Ltd., Jerusalém, Israel), não sendo constatada perda de energia. As irradiações foram realizadas no Laboratório Especial de Laser em Odontologia (LELO-FOUSP).

Figura 4.5 – Laser de Er:YAG (a) e superfície da dentina sendo irradiada (b)

* Pertencente ao Laboratório Especial de Laser em Odontologia (LELO) da FOUSP e obtido através de recursos concedidos no Auxílio à Pesquisa Fapesp número: 97/10823-0.

- Tratamento com laser de Er,Cr:YSGG (Waterlase MD, Biolase Technology Inc., San Clemente, CA, EUA)[♦]. Este equipamento opera no comprimento de onda 2,78 μm , apresenta duração de pulso fixa para tecidos duros de 140 μs , a energia por pulso varia de 0 – 300 mJ, a taxa de repetição varia de 10 – 50 Hz e a potência, de 0,1 a 8 W. A energia laser é entregue por meio de um sistema de fibra óptica e neste estudo foi utilizada a ponta de safira MC12 (9 mm de altura e 1,2 mm de diâmetro). A ponta foi posicionada perpendicularmente à superfície dentinária, com distância de trabalho de 2 mm (modo focado) e fluxo de água de aproximadamente 14,5 mL/min. A irradiação foi realizada manualmente durante 5 minutos, divididos entre a varredura horizontal e a varredura vertical. Antes e durante as irradiações das amostras, a energia de saída do feixe do laser (*output*) foi mensurada com um medidor de potência (FieldMaster™ GS Power/Energy Analyser, Coherent, Inc., Alemanha), sendo constatada perda média de 25% (Figuras 4.6 e 4.7). Foram utilizados os seguintes parâmetros: energia por pulso de 50 mJ, potência output de 1,5 W, taxa de repetição de 30 Hz, 30 pulsos por segundo, densidade de energia de 4,5 J/cm², refrigeração constante com 70% de spray de água e 65% de spray de ar. As irradiações com o laser de Er,Cr:YSGG foram realizadas na Universidade RWTH de Aachen, na Alemanha. A Figura 4.8 mostra o aspecto da superfície da dentina hígida após o tratamento com o laser de Er,Cr:YSGG.

Figura 4.6 – Laser de Er,Cr:YSGG (a) e Parâmetros de irradiação selecionados (b)

[♦] Pertencente ao Departamento de Dentística, Periodontia e Odontologia Preventiva da Faculdade de Medicina da Universidade RWTH de Aachen, Alemanha.

Figura 4.7 - Medidor de potência (a) e Ponta de safira MC12 (b)

Figura 4.8 – Vista oclusal da superfície de dentina hígida após tratamento com o laser de Er,Cr:YSGG

4.3.4 Análise da morfologia de superfície da dentina em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Após a realização dos tratamentos das superfícies dentinárias, 04 amostras de cada grupo experimental foram preparadas para análise morfológica superficial. Primeiro foi feita a imersão da amostra em solução de glutaraldeído a 2,5% com tampão fosfato 0,1 M por 24 horas, à temperatura ambiente, para fixação das estruturas. Após a lavagem com 03 banhos consecutivos (5 minutos cada) com solução tampão fosfato 0,1 M para remoção do fixador, foi realizada a sequência para desidratação química através da imersão em soluções crescentes de etanol 30%, 50%, 70%, 90%, 95% (2 banhos de 5 min cada) e álcool absoluto (4 banhos de

5 min). Posteriormente, foi feita a secagem química em solução de HMDS a 100% por 45 min e depois as amostras foram mantidas sobre papel absorvente, em capela, por mais 3 horas. Após a evaporação total do HMDS, foi realizada a fixação das amostras com adesivo à base de cianocrilato em *stubs* de alumínio. Em seguida, as amostras foram mantidas em estufa seca (37°C) por mais 24h para o recobrimento com ouro (MED 010, Balzers, BAL-TEC, Furstentum, Liechtenstein) a 39 mA por 150 segundos, com espessura de cobertura entre 25-30 nm. A análise da superfície foi realizada através de eletromicrografias obtidas em MEV (LEO 435 VP, LEO Electron Microscopy Ltd., Cambridge, Inglaterra), com aumentos de 1000x e 3000x.

4.4 Fase Experimental 2

Nesta fase, foi realizado o ensaio de microtração. Para isso, foram utilizados 192 terceiros molares humanos recém-extraídos. Todos os procedimentos de armazenamento, limpeza e polimento dos dentes foram semelhantes aos descritos no item 4.3.1. Os dentes foram fixos com cera pegajosa (Asfer Indústria Química Ltda, São Paulo, Brasil) em uma placa de acrílico com a junção amelo-dentinária perpendicular à placa. Com um disco diamantado dupla face (nº 11-4244 série 15 HC Buehler UK Ltd, Lake Bluff, IL, EUA), em baixa rotação, acoplado a uma máquina de corte de alta precisão (Isomet 1000, Buehler Ltd, Lake Buff, IL, EUA) e sob refrigeração à água, o esmalte da região coronária foi removido no sentido méso-distal para obtenção de uma superfície plana de dentina no terço médio. Em seguida, os espécimes foram polidos manualmente em máquina Politriz (Ecomet 3 - Buehler Ltd, Lake Buff, IL, EUA) acionada em baixa velocidade (100 rpm) com discos de lixa de carbetto de silício de granulações decrescentes # 120, 240, 400 e 600 (1 minuto em cada), sob irrigação constante, para padronizar a camada de *smear layer*, planificar a superfície e remover remanescentes de esmalte. Entre cada troca do disco de lixa de polimento, foi feita a lavagem em ultrassom com água destilada-deionizada por 5 minutos.

A delimitação da área de estudo foi realizada conforme descrito no item 4.3.1 e ilustrado na Figura 4.9.

Figura 4.9 – Amostras de dentina fixadas em cera antes (a) e após (b) a delimitação da área de estudo no centro da face oclusal

A distribuição das amostras dos grupos experimentais da fase 2 foi realizada de acordo com os tipos de substrato dentinário, de tratamento de superfície e de sistema adesivo (Tabela 4.1).

Tabela 4.1 - Distribuição das amostras para o ensaio de microtração na fase experimental 2

Tipo de substrato	Tratamento de superfície	Adesivo com condicionamento ácido prévio	Adesivo Autocondicionante
Dentina hígida	Controle	12	12
	Ponta diamantada	12	12
	Laser de Er:YAG	12	12
	Laser de Er,Cr:YSGG	12	12
Dentina submetida à ciclagem erosiva	Controle	12	12
	Ponta diamantada	12	12
	Laser de Er:YAG	12	12
	Laser de Er,Cr:YSGG	12	12
Total de amostras (dentes)		192	

4.4.1 Procedimentos adesivos

Após os diferentes tratamentos das superfícies da dentina hígida e da artificialmente erodida, como descrito anteriormente no item 4.3.3, 96 amostras receberam o sistema adesivo com condicionamento ácido prévio (Adper™ Single Bond 2, 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA) e 96 receberam o sistema adesivo autocondicionante (Clearfil SE Bond, Kuraray Medical Inc., Osaka, Japão), ambos utilizados de acordo com as instruções do fabricante (Figura 4.10 e Tabela 4.2). Em seguida, foram confeccionados blocos de resina composta fotopolimerizável, na cor A3 (Filtek Z250, 3M ESPE, Dental Products, St. Paul, MN, EUA), sobre as superfícies de dentina previamente delimitadas nas dimensões de 5 X 5 X 5 mm (Figura 4.11). Cada incremento de ≈ 1 mm de espessura foi fotoativado por 20 segundos com auxílio de luz halógena (modelo Degulux Soft-Start, Degussa Dental GmbH & Co. KG, Hanau, Alemanha). A intensidade de luz do aparelho fotopolimerizador foi monitorada por meio de radiômetro (Curing Light Meter 105, Demetron Research Corporation, EUA), permanecendo no intervalo entre 450 e 500 mW/cm².

Figura 4.10 - Sistema adesivo de condicionamento ácido prévio (a), sistema adesivo autocondicionante (b) e resina composta Filtek Z250 (c)

Figura 4.11 – Superfície da dentina delimitada (a) para a confecção do bloco de resina composta (b)

Tabela 4.2 – Composição química e modo de aplicação dos materiais adesivos utilizados neste estudo

Nome do produto	Fabricante	Composição	Lote	Aplicação
Adper™ Single Bond 2	3M ESPE, St. Paul, MN, EUA.	Bis-GMA, HEMA, dimetacrilatos, copolímero de metacrilato de ácidos poliacrílico e polialcenóico, sílica coloidal silanizada de 5 nm, etanol, água, fotoiniciador.	1033500154	Condicionamento com ácido fosfórico a 37%* em esmalte e dentina por 15s; lavar e remover excesso de água com papel absorvente; aplicar duas camadas de adesivo agitando-o por 15s; secar levemente para evaporar o solvente e fotopolimerizar por 10s.
Clearfil SE Bond	Kuraray Medical Inc., Osaka, Japão.	Primer – MDP, HEMA, dimetacrilato hidrofílico, canforoquinona, N,N-dietanol-p-toluidina, água. Adesivo - MDP, HEMA, bis-GMA, dimetacrilato hidrofóbico, fotoiniciador, N-dietanol-p-toluidina, micropartículas de sílica coloidal silanizada.	Primer: 00954A Bond: 01416A	Aplicar o primer, esperar 20s; não lavar; secar com suave jato de ar; aplicar o Bond; remover excessos e fotopolimerizar por 10s.
Filtek™ Z250	3M ESPE, St. Paul, MN, EUA.	Bis-GMA, UDMA, bis-EMA e partículas de zircônia sílica com tamanho médio de 0,6 mm.	1130000220	Aplicar incrementos de resina de no máximo 2,5 mm de espessura e fotopolimerizar 20s, cada.

Composição fornecida pelo fabricante: bis-GMA, bisfenol-glicidil metacrilato; HEMA, hidroxietilmetacrilato; MDP, 10-fosfato-diidrogênio-metacriloxidecil; UDMA: uretano dimetacrilato; bis-EMA: bisfenol-A-polietileno-glicol-dieter-dimetacrilato.

* Cond Ac 37® (FGM, Joinville, SC, Brasil)

4.4.2 Ensaio de microtração

Após a realização dos procedimentos adesivos e confecção dos blocos de resina composta, as amostras ficaram armazenadas em água destilada-deionizada a 37°C em estufa, por um período de 24 horas, para, em seguida, serem seccionados para a obtenção de palitos. Elas foram embutidas em cera (Asfer Indústria Química Ltda, São Paulo, Brasil) com auxílio de uma matriz cilíndrica de PVC e o conjunto foi fixado em um suporte específico na máquina de corte (Isomet 1000, Buehler Ltd., Lake Bluff, Illinois, EUA), o mais perpendicular possível ao disco diamantado de dupla face (Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, EUA) (Figura 4.12). Cada amostra foi seccionada no sentido vestibulo-lingual e no sentido mésio-distal perpendicularmente à interface de união dentina-compósito, com uma rotação de ≈ 100 rpm, sob refrigeração com água, obtendo-se corpos-de-prova em forma de palito com dimensões aproximadas de 1,0 X 1,0 mm (Pashley et al., 1999). Os palitos obtidos das extremidades do bloco de resina foram eliminados. Após serem examinados em lupa estereoscópica (Olympus, Tóquio, Japão) em aumento de 30 x com o objetivo de excluir os que apresentavam falhas na interface adesiva, bolhas, trincas ou remanescente de esmalte, aproximadamente 06 palitos, por amostra, foram selecionados e armazenados por mais 24 horas em estufa (37°C) para serem submetidos ao ensaio de microtração.

Figura 4.12 – Amostra da dentina com o bloco de resina composta, embutida em cera com auxílio de matriz cilíndrica de PVC (a). Conjunto posicionado na máquina de corte para obtenção dos palitos (b)

A área de secção transversal dos corpos-de-prova próxima à região da interface adesiva foi medida com o auxílio de um paquímetro digital (Mitutoyo Sul Americana Ltda, Suzano, São Paulo, Brasil) (Figura 4.13). Em seguida, os palitos foram fixados paralelamente ao longo eixo, com adesivo à base de cianocrilato (Super Bonder; Loctite, São Paulo, Brasil) e acelerador (Loctite 7452), em dispositivos de metal denominados jig de Geraldeli.

Figura 4.13 – Mensuração da área transversal com auxílio do paquímetro digital (a); Palitos selecionados para serem submetidos ao teste de resistência de união (b)

O dispositivo contendo a amostra em forma de palito foi acoplado à máquina universal de ensaios (Kratos equipamentos, Modelo IKCL3-USB, São Paulo, Brasil, pertencente ao Laboratório do Departamento de Materiais Dentários da FOUSP) e tracionado com carga de 50 N e velocidade de carga de 0,5 mm/min até a fratura da amostra (Figura 4.14). A resistência à microtração foi registrada em Newton (N) e os valores foram calculados e expressos em MPa, através da fórmula: Resistência de união (MPa) = Força (N) / Área de secção transversal da amostra (mm²). O estudo da resistência de união foi realizado com base na metodologia de microtração descrita por Sano et al. (1994) e modificado por Shono et al. (1999) (Figura 4.15)

Figura 4.14 – Máquina de ensaio universal (a) e Jig de Geraldini em posição para o tracionamento (b)

Figura 4.15 – Desenho experimental do ensaio da resistência adesiva à microtração (Extraído de Moretto, 2009, p.53)

4.4.3 Análise do padrão de fratura

Após o rompimento da união adesiva de cada palito ocorrido no ensaio de microtração, todas as amostras foram coradas através da imersão no corante Ponceau S a 2%, por 5 minutos (Manhães et al., 2005), para a observação do tipo de fratura ocorrido entre as restaurações de resina e a dentina com os diferentes tratamentos de superfície. Este corante apresenta um composto, o 3-Hidroxi-4-[2-sulfo-4-(4-sulfofenilazol)2,7-nafitalenisulfônico], responsável pela capacidade de

corar proteínas; logo, a região referente à dentina apresentará coloração rosa escuro e a região referente à resina não apresentará coloração, facilitando a visualização do padrão de fratura. Os espécimes foram lavados em água corrente por 10 minutos e secos à temperatura ambiente, para em seguida serem analisados em microscópio ótico (Miview Digital Microscope, Cosview Technologies Co.,Ltd., Bantian, Longgang Dist., China), com aumento de 40x, para análise descritiva do padrão de fratura. O número de fraturas encontrado para cada tipo foi expresso em porcentagem, na forma de gráficos. O tipo de fratura foi classificado como: adesiva (rompimento da união na interface dentina/resina); mista (rompimento da união envolvendo regiões da interface, da dentina e da resina), coesiva em dentina (rompimento da união na área da dentina) e coesiva em resina composta (rompimento da união na área da resina composta) (Figura 4.16).

Figura 4.16 – Desenho ilustrativo da classificação do modo de fratura dos palitos

4.4.4 Análise estatística

Como cada dente foi considerado uma unidade amostral, todos os palitos de um único dente originaram uma média de valor de resistência de união. Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística, pelos testes de ANOVA (dois fatores) e de comparações múltiplas de Tukey, com o auxílio do *software* estatístico Minitab versão 16.0, considerando o nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

Resultados

5 RESULTADOS

5.1 ANÁLISE DA MORFOLOGIA DE SUPERFÍCIE DA DENTINA EM MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

5.1.1 Dentina hígida

5.1.1.1 Controle

No grupo controle, a superfície da dentina foi submetida apenas ao acabamento e polimento com a sequência decrescente de granulação dos discos de carbeto de silício (SiC #120, 240, 400, 600), sob constante refrigeração. Nesse sentido, pela análise em MEV, foi possível observar em todas as amostras avaliadas, as ranhuras provocadas pela abrasão, com a presença de *smear layer* recobrindo a dentina intertubular e ocluindo a entrada dos túbulos dentinários (Figuras 5.1a e 5.1b).

5.1.1.2 Ponta Diamantada

Nas amostras tratadas com ponta diamantada, foi possível verificar a presença de uma camada aparentemente uniforme e espessa de *smear layer* recobrindo toda a superfície dentinária e obliterando a entrada dos túbulos dentinários. Além disso, foram visualizados riscos provenientes da ação mecânica das partículas da ponta diamantada sobre a superfície dentinária (Figuras 5.1c e 5.1d).

5.1.1.3 Laser de Er:YAG

Os parâmetros de irradiação selecionados neste estudo permitiram a observação de um padrão morfológico esperado para a irradiação com o laser de Er:YAG (60 mJ/ 2 Hz). A superfície da dentina apresentou-se irregular, com aparência escamosa, sem *smear layer*, com túbulos dentinários abertos, mas sem alargamento, e maior remoção da dentina intertubular, favorecendo a visualização do aspecto de dentina peritubular levemente protruída. Não foram evidenciados sinais de derretimento (*melting*) e microtrincas (Figuras 5.1e e 5.1f).

5.1.1.4 Laser de Er,Cr:YSGG

As características morfológicas superficiais da dentina nos grupos irradiados com o laser de Er,Cr:YSGG (1,5 W, 30 Hz) apresentaram-se semelhantes à irradiação com o laser de Er:YAG, no entanto, com aparência escamosa um pouco mais evidente. Foi constatada a presença de uma superfície irregular e rugosa, sem *smear layer*, com túbulos dentinários abertos e dentina peritubular levemente protruída. Além disso, foi possível identificar as regiões em que o feixe de laser incidiu na superfície dentinária, provocando maior alteração do substrato. Não houve evidência de danos térmicos, estando ausentes áreas de derretimento (*melting*) e microtrincas (Figuras 5.1g e 5.1h).

Figura 5.1 – Eletromicrografias obtidas em MEV: Características morfológicas das superfícies da dentina hígida após os diferentes tratamentos de superfície: controle, ponta diamantada, laser de Er:YAG (60 mJ, 2 Hz, 0,12 W, 19,3 J/cm²) e laser de Er,Cr:YSGG (50 mJ, 30 Hz, 1,5 W, 4,5 J/cm²). Aumento de 1000x (a, c, e, g) e 3000x (b, d, f, h)

5.1.2 Dentina submetida à ciclagem erosiva

5.1.2.1 Controle

A ação da ciclagem erosiva permitiu a observação, em MEV, de uma superfície homogênea, com matriz orgânica desmineralizada, sem *smear layer* e com túbulos dentinários abertos. Como o ácido remove a estrutura inorgânica da superfície dentinária, a dentina peritubular apresentou-se completamente desmineralizada e a dentina intertubular exibiu um aspecto poroso, com rugosidades e exposição da rede de fibrilas colágenas (Figuras 5.2a e 5.2b).

5.1.2.2 Ponta Diamantada

Nas amostras que foram submetidas à ciclagem erosiva e ao tratamento de superfície com ponta diamantada, foi possível observar uma superfície de *smear layer*, com túbulos dentinários obliterados e riscos provenientes da ação mecânica das partículas da ponta diamantada sobre a superfície dentinária (Figuras 5.2c e 5.2d).

5.1.2.3 Laser de Er:YAG

A dentina submetida à ciclagem erosiva e tratada com o laser de Er:YAG (60 mJ/ 2 Hz) apresentou uma superfície sem *smear layer*, com desorganização do tecido dentinário e das fibrilas colágenas desmineralizadas. Em algumas áreas, como ilustrado na figura 5.2e, foi possível observar o aspecto irregular da dentina, sugerindo a desorganização da superfície amolecida pela possível ação mecânica

do spray de ar/água. Outras áreas, porém, apresentaram características de ablação, com os túbulos dentinários abertos e dentina peritubular com aspecto proeminente (Figura 5.2f),

5.1.2.4 Laser de Er,Cr:YSGG

As amostras de dentina que foram submetidas à ciclagem erosiva e ao tratamento de superfície com o laser de Er,Cr:YSGG (1,5 W, 30 Hz) apresentaram uma superfície irregular e rugosa, com túbulos abertos, dentina peritubular proeminente e sem *smear layer* (Figuras 5.2g e 5.2h).

Figura 5.2 – Eletromicrografias obtidas em MEV: Características morfológicas das superfícies da dentina artificialmente erodida após os diferentes tratamentos de superfície: controle, ponta diamantada, laser de Er:YAG (60 mJ, 2 Hz, 0,12 W, 19,3 J/cm²) e laser de Er,Cr:YSGG (50 mJ, 30 Hz, 1,5 W, 4,5 J/cm²). Aumento de 1000x (a, c, e, g) e 3000x (b, d, f, h)

5.2 ANÁLISE DA RESISTÊNCIA DE UNIÃO POR MEIO DO ENSAIO DE MICROTRAÇÃO

Os valores obtidos de cada tipo de substrato (dentina hígida e dentina submetida à ciclagem erosiva) foram analisados separadamente devido às suas diferentes características morfológicas. Inicialmente os dados foram testados quanto à distribuição normal, através do teste de Kolmogorov-Smirnov. Como a distribuição das médias dos resultados da dentina hígida e da dentina artificialmente erodida, em separado, foi normal e homogênea, foi feita a análise estatística por meio do teste paramétrico de Análise de Variância (ANOVA) de dois fatores para verificar as diferenças dos valores obtidos no teste de resistência de união, de acordo com as duas fontes de variação (tipo de tratamento de superfície e tipo de sistema adesivo). Quando houve significância estatística ($p < 0,05$), o teste de comparações múltiplas de Tukey foi realizado para a combinação dos fatores que apresentaram interação.

De acordo com os resultados do teste ANOVA, pôde-se observar que tanto na dentina hígida (Tratamento*Adesivo: $p < 0,001$) (Apêndice A) quanto na dentina artificialmente erodida (Tratamento*Adesivo: $p = 0,002$) (Apêndice D), existiu um efeito de interação entre o tipo de tratamento de superfície e o tipo de sistema adesivo. Essa interação indicou que a comparação entre os tipos de tratamento deve ser feita de forma separada para cada tipo de adesivo.

5.2.1 Dentina hígida

Foram utilizadas 12 amostras por grupo, totalizando 96 dentes (12 dentes para cada combinação de tratamento e sistema adesivo).

A tabela 5.1 mostra os valores médios e os desvios-padrão (MPa) obtidos no teste de resistência de união com cada tipo de tratamento de superfície, para cada um dos sistemas adesivos utilizados, na dentina hígida (Apêndices B e C).

Tabela 5.1 - Média e desvio-padrão da resistência de união à dentina hígida, de acordo com o tipo de tratamento de superfície e o sistema adesivo utilizado

Tratamento de superfície	Sistema Adesivo	Média ± DP (MPa)
Controle	Clearfil SE Bond	54,7 ± 7.8 ^A
Controle	Single Bond	47,4 ± 9.3 ^B
Ponta diamantada	Clearfil SE Bond	47,9 ± 16.5 ^B
Ponta diamantada	Single Bond	41,0 ± 10.7 ^C
Er:YAG	Clearfil SE Bond	47,2 ± 6.8 ^B
Er:YAG	Single Bond	25,8 ± 8.5 ^E
Er,Cr:YSGG	Clearfil SE Bond	38,7 ± 16.5 ^{CD}
Er,Cr:YSGG	Single Bond	33,4 ± 6.1 ^D

*Médias seguidas por letras distintas diferem estatisticamente entre si (p<0,05)

A combinação entre tipo de tratamento de superfície e sistema adesivo que resultou na maior resistência de união na dentina hígida, significativamente diferente de todos os outros grupos, foi com a utilização do adesivo Clearfil SE Bond nos dentes do grupo controle (54,7 ± 7,8 MPa), os quais receberam apenas o acabamento da superfície com discos de lixa.

Para o sistema adesivo Single Bond, todos os tratamentos de superfície utilizados apresentaram diferenças significativas entre si, com o grupo controle (sem tratamento) apresentando os maiores valores de resistência de união (47,4 ± 9,3 MPa). O grupo controle, tanto com o Clearfil SE Bond quanto com o Single Bond, apresentou valores de resistência de união significativamente maiores que os outros grupos, sendo, porém, diferentes entre si.

Em relação ao adesivo Clearfil SE Bond, não houve diferenças significativas entre os tratamentos com a ponta diamantada (47,9 ± 16,5 MPa) e o laser de Er:YAG (47,2 ± 6,8 MPa). A adesão menos favorável alcançada com este adesivo foi encontrada para o tratamento de superfície com laser de Er,Cr:YSGG (38,7 ± 16.5 MPa).

Para todos os tipos de tratamento houve diferença significativa entre os sistemas adesivos, com o Clearfil SE Bond apresentando resistência de união maior

que o Single Bond, exceção somente para o laser de Er,Cr:YSGG, onde não foi observada diferença significativa entre os sistemas adesivos.

É possível notar que alguns grupos apresentaram desvios-padrão elevados, provavelmente devido à variabilidade do número de palitos dos grupos experimentais e à complexidade existente na composição do substrato dentinário. No entanto, tudo isso foi considerado na análise estatística e não influenciou negativamente os resultados.

5.2.2 Dentina submetida à ciclagem erosiva

Nestes grupos, ocorreram fraturas prematuras durante o procedimento de corte para obtenção dos palitos. Assim, 74 dentes foram considerados adequados para serem ensaiados. A tabela 5.2 mostra os valores médios e os desvios-padrão obtidos no teste de resistência de união com cada tipo de tratamento de superfície, para cada um dos sistemas adesivos utilizados, na dentina artificialmente erodida (Apêndices E e F).

Tabela 5.2 - Média e desvio-padrão da resistência de união à dentina submetida à ciclagem erosiva, de acordo com o tipo de tratamento de superfície e o sistema adesivo utilizado

Tratamento de superfície	Sistema Adesivo	Média $\pm$ DP (MPa)
Er,Cr:YSGG	Clearfil SE Bond	28,3 $\pm$ 9.2 ^A
Er,Cr:YSGG	Single Bond	15,4 $\pm$ 7.9 ^{BCD}
Ponta diamantada	Clearfil SE Bond	21,0 $\pm$ 9.7 ^B
Ponta diamantada	Single Bond	9,9 $\pm$ 5.8 ^D
Er:YAG	Clearfil SE Bond	19,7 $\pm$ 5.6 ^B
Er:YAG	Single Bond	16,0 $\pm$ 5.6 ^{BC}
Controle	Clearfil SE Bond	17,0 $\pm$ 7.3 ^{BC}
Controle	Single Bond	11,2 $\pm$ 5.8 ^{CD}

*Médias seguidas por letras distintas diferem estatisticamente entre si (p<0,05)

A combinação entre tipo de tratamento de superfície e sistema adesivo que resultou na maior resistência de união, significativamente diferente de todas as demais, foi conseguida com a utilização do adesivo Clearfil SE Bond nas amostras tratadas com o laser de Er,Cr:YSGG ($28,3 \pm 9,2$ MPa).

Para o sistema adesivo Clearfil SE Bond, não houve diferença significativa entre os tratamentos de superfície dos grupos controle ($17,0 \pm 7,3$ MPa), ponta diamantada ($21,0 \pm 9,7$ MPa) e laser de Er:YAG ($19,7 \pm 5,6$ MPa).

Quanto ao sistema adesivo Single Bond, a única diferença observada foi entre os tratamentos com o laser de Er:YAG ($16,0 \pm 5,6$ MPa) e a ponta diamantada ($9,9 \pm 5,8$ MPa). Ainda assim os lasers de érbio, os quais não apresentaram diferenças significativas entre si, foram estatisticamente melhores que o tratamento controle e ponta diamantada.

A diferença entre os sistemas adesivos ocorreu somente quando foi utilizado o laser de Er,Cr:YSGG e a ponta diamantada, ambos com resistência de união maior alcançada com o sistema autocondicionante Clearfil SE Bond. Nos tratamentos com o laser de Er:YAG e no grupo controle, não foram observadas diferenças significativas entre o Clearfil SE Bond e o Single Bond.

5.3 ANÁLISE DO PADRÃO DE FRATURA

Na dentina hígida, o modo de fratura predominante em todos os grupos, de ambos os sistemas adesivos, foi a falha adesiva. No entanto, para as amostras preparadas com o Clearfil SE Bond, houve ocorrência de falhas coesivas (Figura 5.3, Apêndice G).

Na dentina submetida à ciclagem erosiva, a falha adesiva também foi predominante em todos os grupos, seguida da falha mista, da falha coesiva em resina e, por último, da falha coesiva em dentina (Figura 5.4, Apêndice H).

Figura 5.3 – Representação gráfica da predominância, em porcentagem, dos tipos de fratura em cada grupo experimental da dentina hígida

Figura 5.4 – Representação gráfica da predominância, em porcentagem, dos tipos de fratura em cada grupo experimental da dentina submetida à ciclagem erosiva

A figura 5.5 ilustra a imagem característica de cada modo de fratura dos palitos após ensaio de microtração e imersão no corante Ponceau S a 2%.

Figura 5.5 – Imagens dos palitos corados característicos da falha adesiva (a), falha coesiva em dentina (b), falha coesiva em resina (c) e falha mista (d).

Discussão

6 DISCUSSÃO

A adesão aos tecidos dentais reveste-se de grande importância na Odontologia Restauradora por conseguir restabelecer estética e função, dentro dos conceitos de máxima preservação da estrutura dental. O aumento da ocorrência de lesões de erosão, as quais alteram histologicamente a dentina, somado à falta de pesquisas sobre adesão na superfície alterada e os possíveis benefícios do tratamento com lasers de érbio, levaram à decisão para a realização deste primeiro estudo laboratorial.

Apesar de fatores do meio bucal - como presença da película salivar, taxa de fluxo salivar e capacidade tampão da saliva - afetarem o potencial erosivo e não serem passíveis de fiel reprodução nas condições dos estudos *in vitro* (West et al., 2000; West et al., 2011), o desenvolvimento de novas modalidades de tratamento é proveniente de uma série de investigações laboratoriais, seguidas por estudos *in situ* e, por último, estudos *in vivo* (Laurance-Young et al., 2011).

A ciclagem erosiva *in vitro* consegue refletir o que acontece no meio bucal quando são realizados os desafios erosivos, alternados com a exposição do substrato dental à solução remineralizadora, capaz de simular o possível processo de reparo que acontece na cavidade bucal (Shellis et al., 2011). Para Meurman e ten Cate (1996), qualquer solução com pH menor que 5,5 causará erosão dos tecidos dentais, principalmente se o tempo de exposição for longo e/ou frequente.

Neste trabalho, o protocolo da ciclagem erosiva com solução de ácido cítrico (pH 2,3), proposto por Ganss et al. (2001), simulou um desafio agressivo e teve o objetivo de expressar a situação clínica de pacientes com alto risco à erosão dental, expostos a ácidos de origem extrínseca. O ácido cítrico tem alto potencial erosivo devido a sua natureza acídica e à capacidade de quelar cálcio. Estudo de Ganss et al. (2004), com protocolo semelhante, encontrou perda de tecido mineral na dentina de $45,9 \pm 14,3 \mu\text{m}$.

Quando o desgaste dentário proveniente da erosão encontra-se em estágios avançados, existe a necessidade de realizar procedimentos restauradores para diminuir a sensibilidade, restabelecer a estética e, em alguns casos, a função. Diferentes tratamentos da superfície dentinária podem influenciar na efetividade dos sistemas adesivos (Montes et al., 2005; Oliveira et al., 2007). No presente estudo, as

pontas diamantadas foram consideradas como um dos tratamentos de superfície por serem os instrumentos rotatórios mais comuns e utilizados na cavidade bucal. Recentemente introduzidos na Odontologia para a finalidade de remoção de tecido mineralizado, os lasers de Er:YAG e Er,Cr:YSGG também foram estudados, visto que pouco se sabe sobre seus efeitos em superfície dentinária erodida. Os parâmetros de irradiação propostos, diferentemente de estudos anteriores que realizaram o preparo de cavidades em dentina (Esteves-Oliveira et al., 2007; Lee et al., 2007; Cardoso et al., 2008; Ferreira et al., 2010; Marotti et al., 2010; Yazici et al., 2010; Bahrami et al., 2011; Moretto et al., 2011; Beer et al., 2012), foram menores, com o propósito de modificar ou remover a superfície dentinária artificialmente erodida.

Quanto aos sistemas adesivos utilizados, os mesmos diferem no modo de condicionamento da superfície. Enquanto o Single Bond exige a aplicação prévia do ácido fosfórico a 37%, o Clearfil SE Bond possui um primer ácido que promove a desmineralização e a infiltração simultânea do monômero hidrofílico na dentina desmineralizada, evitando a formação de camada de colágeno desprotegida, como pode acontecer quando a dentina é condicionada com o ácido fosfórico (De Munck et al., 2005; Perdigão, 2010; Cardoso et al., 2011).

Assim como encontrado por Zhang et al. (2012), as imagens das eletromicrografias (MEV) do nosso estudo mostraram que as características morfológicas da superfície de dentina preparada convencionalmente, com ponta diamantada, diferem das apresentadas pela dentina tratada com os lasers de érbio. Enquanto na primeira é evidente uma camada espessa de esfregaço obliterando a entrada dos túbulos dentinários, na dentina irradiada, a superfície apresenta-se irregular, sem *smear layer*, com túbulos dentinários abertos e dentina peritubular proeminente em relação à dentina intertubular, sugerindo um padrão morfológico microrretentivo favorável aos procedimentos adesivos (Visuri et al., 1996b; Manhães et al., 2005; Esteves-Oliveira et al., 2007; Lee et al., 2007; Malkoc et al., 2011; Beer et al., 2012).

A resistência de união entre o substrato dental e os sistemas adesivos é um dos fatores mais importantes a serem considerados para o sucesso do tratamento restaurador. Esse parâmetro foi mensurado utilizando o ensaio de microtração, por ser a técnica cientificamente mais aceita e mais frequentemente utilizada para

avaliar a adesão na dentina (De Munck et al., 2005; Salz; Bock, 2010; De Munck et al., 2012).

Nas condições deste estudo, os resultados para resistência de união em dentina hígida mostraram que o melhor valor de adesão foi obtido pelo grupo controle, o qual não recebeu tratamento de superfície, associado ao uso do sistema adesivo autocondicionante. Para todos os demais tratamentos de superfície, exceto para o laser de Er,Cr:YSGG, o sistema autocondicionante também apresentou-se mais efetivo que o sistema de condicionamento ácido total. Isto sugere que o mecanismo de ação do Clearfil SE Bond é realmente mais favorável (Burrow; Tyas, 2007; Cardoso et al., 2011; Zimmerli et al., 2011), possivelmente devido à união micromecânica, à uniformidade da camada híbrida formada e à presença do monômero 10-MDP que tem a capacidade de promover uma união química entre os componentes do adesivo e os íons cálcio da hidroxiapatita residual. Como seu primer ácido é fraco, alguns cristais de hidroxiapatita ficam ligados às fibras colágenas e ficam disponíveis para interagir com o monômero que se infiltra nesta região (Yoshida et al., 2004). Os melhores resultados deste adesivo autocondicionante na dentina irradiada, também foram encontrados por Oliveira et al. (2005), Gutknecht e Esteves-Oliveira (2007); Esteves-Oliveira et al. (2007), Botta et al. (2009) e Carvalho et al. (2011).

Para Yoshiyama et al. (1996), o entrelaçamento do sistema adesivo nas fibras de colágeno é o fator mais importante na obtenção de valores de alta resistência de união. No entanto, alterações no colágeno na dentina irradiada podem justificar os resultados encontrados no presente estudo em relação à menor resistência de união do adesivo Single Bond. Além de não apresentarem a interação química, o espaço interfibrilar reduzido e a dificuldade de penetração do adesivo dificultam a formação da camada híbrida.

Dentre os tratamentos realizados previamente à aplicação do Clearfil SE Bond, o laser de Er,Cr:YSGG foi o que exibiu a menor resistência de união. Sugere-se que a taxa de repetição utilizada (30 Hz), maior do que a reportada pela maioria dos trabalhos da literatura (20 Hz), pode ter interferido negativamente nas características morfológicas do substrato dentinário e, conseqüentemente, na adesão da resina composta a esta superfície. Apesar da densidade de energia de $4,5 \text{ J/cm}^2$ ser menor do que a normalmente relatada na literatura, este sistema pode

ocasionar efeitos indesejáveis do laser sobre o tecido, como maior formação de trincas e consequente fragilidade da interface de união (Moretto et al., 2011).

Curiosamente, o tratamento de superfície com o laser de Er:YAG com o parâmetro selecionado, associado ao uso do sistema adesivo de condicionamento total, revelou os menores valores de resistência de união quando comparado aos demais grupos da dentina hígida. No entanto, os resultados continuam sendo favoráveis dentro do padrão aceitável para um tratamento restaurador adesivo, descrito na literatura como valores mínimos de 20 MPa (Anusavice, 2003; Craig et al., 2004).

Ao contrário dos nossos resultados, Ergücü et al. (2009) encontraram resultados semelhantes da resistência adesiva à microtração na dentina hígida irradiada com laser de Er,Cr:YSGG e submetida ao tratamento convencional com instrumento rotatório *carbide*, independente do sistema adesivo. Já Ceballos et al. (2003) mostraram valores maiores de resistência de união para os sistemas adesivos de condicionamento total na dentina hígida.

É importante ressaltar que a ação do laser na estrutura dos túbulos dentinários é diferente da ação do ácido. Quando o ácido é aplicado, a dentina peritubular é mais atacada, resultando na abertura dos túbulos em forma de funil. Devido à contração de polimerização, esta estrutura pode favorecer o rompimento dos tags das paredes (Meurman et al., 1991; Marshall et al., 1997). Além disso, o ácido exerce sua função desmineralizando a dentina, o que pode favorecer a ocorrência de fibras colágenas expostas e desprotegidas (Visuri et al., 1996b). O laser não provoca desmineralização da superfície dentinária, os túbulos dentinários permanecem abertos sem alargamento e não há exposição da trama de colágeno necessária para a formação da camada híbrida (Ceballos et al., 2001).

Resultados contraditórios sobre a efetividade da adesão no substrato previamente irradiado têm sido também relatados na literatura científica, provavelmente devido à falta de padronização dos estudos e à diversidade de parâmetros, metodologias, substratos e sistemas adesivos. Alguns mostram redução na resistência adesiva, uma vez que dependendo da densidade de energia utilizada, os efeitos termomecânicos do laser podem ocasionar a desnaturação das fibrilas colágenas na dentina subsuperficial (Ceballos et al., 2002; Moretto et al., 2011), levar à formação de microfendas (Martinez-Insua et al., 2000; De Munck et al., 2002; Aranha et al., 2007) e de uma superfície ácido-resistente com estruturas granulares,

carbonizada ou com *melting*, prejudicando a infiltração do sistema adesivo, a formação da camada híbrida e a resistência adesiva (Lee et al., 2007, Cardoso et al., 2008; Ferreira et al., 2010; Moretto et al., 2011).

Na dentina hígida, mesmo que os lasers de érbio não tenham apresentado valores de resistência de união similar ao do grupo controle, os valores encontrados podem ser considerados suficientes para superar as forças incidentes na cavidade bucal e aceitável diante da importante capacidade que estes lasers têm de proporcionar remoção de *smear layer* e consequente redução bacteriana e prevenção de cárie secundária (Gutknecht; Esteves-Oliveira, 2007).

Clinicamente, passando-se uma sonda exploradora de ponta romba com leve pressão, as lesões de dentina erodida têm uma consistência relativamente rígida justificada pelo mecanismo de defesa do complexo dentino-pulpar contra injúrias externas, constantes e progressivas, que responde através da esclerose dentinária (Van Meerbeek et al., 1994). Ao contrário do que foi encontrado após a ciclagem erosiva, as amostras experimentais apresentaram superfície amolecida, o que também foi encontrado por Lussi et al. (2011). Isto pode explicar a grande ocorrência de fraturas prematuras durante o procedimento de corte para obtenção dos palitos das amostras que foram artificialmente erodidas.

Ainda que não tenha sido realizada uma análise estatística comparando os resultados de resistência de união entre a dentina hígida e a dentina submetida à ciclagem erosiva, os valores numéricos encontrados mostram que a erosão afetou negativamente a resistência de união de todos os grupos. Isto pode ser justificado pela presença de colágeno desnaturado que torna a adesão desfavorável (Perdigão, et al., 2010). Achados semelhantes foram relatados por Zimmerli et al. (2011). O adesivo Clearfil SE mostrou claramente o efeito da erosão na superfície da dentina. Enquanto, geralmente, é formada uma camada híbrida de aproximadamente 1 µm, a zona da dentina desmineralizada aumentou para quase 15 µm. O sistema adesivo não foi capaz de penetrar nesta camada espessa de colágeno exposto e pode ter ocorrido um colapso das fibrilas colágenas desmineralizadas. Para o adesivo autocondicionante, alguns remanescentes dos cristais de hidroxiapatita foram encontrados em volta dos túbulos dentinários e podem ter estabilizado melhor a camada híbrida e prevenido o colapso das fibras colágenas.

Neste estudo, as imagens da morfologia superficial da dentina submetida à ciclagem erosiva mostraram uma superfície desorganizada com matriz orgânica

exposta e desmineralizada, sem *smear layer* e com túbulos dentinários abertos. Estes achados foram semelhantes aos estudos de Meurman et al. (1991); Ganss et al. (2009b) e Lussi et al. (2011).

Diferentemente do que foi observado para o tratamento da dentina hígida, dentre os tratamentos propostos para a dentina erodida, o laser de Er,Cr:YSGG com os parâmetros estudados foi o que apresentou os melhores resultados de resistência de união. Baseados nos valores de resistência de união e nas imagens de MEV, pode-se deduzir que possivelmente, a energia depositada na superfície conseguiu remover ou modificar a camada de dentina alterada pela erosão e expor uma superfície de dentina mais favorável para a adesão sem, contudo, comprometer o substrato de forma negativa. Não foi possível fazer comparações com os grupos tratados com o laser de Er:YAG e Er,Cr:YSGG devido à falta de estudos semelhantes na literatura.

Na dentina submetida à ciclagem erosiva, o adesivo autocondicionante apresentou resultados de resistência de união melhores que o sistema adesivo de condicionamento total, porém, foi encontrada semelhança estatística entre os dois sistemas adesivos, tanto no grupo controle, quanto no grupo irradiado com o laser de Er:YAG. Presume-se que a aplicação do ácido fosfórico na dentina erodida resulte em uma zona externa completamente desmineralizada e gradualmente mais mineralizada até alcançar uma dentina normal na sua porção mais interna (Zimmerli et al., 2011) e talvez não haja uma homogênea infiltração do sistema adesivo de condicionamento total.

Todos os demais tratamentos da superfície erodida não apresentaram, de forma geral, diferenças quando comparados ao grupo controle, o que sugere que nenhum deles foi capaz de alterar de forma efetiva a superfície da dentina erodida.

Convencionalmente, indica-se o uso de pontas diamantadas para um preparo que possa apenas remover a camada mais superficial do substrato amolecido e provocar mínimas rugosidades (Zimmerli et al., 2011). Pela análise das imagens de MEV e pelos piores valores de resistência de união encontrados quando utilizado o Single Bond, o tratamento com ponta diamantada, nas condições propostas neste estudo, não favoreceu a remoção da camada histologicamente alterada da dentina erodida, permanecendo uma camada superficial de dentina com fibrilas colágenas desorganizadas e colabadas, coberta por uma camada de esfregaço.

A ciclagem erosiva utilizada conseguiu remover substrato dentinário e formar uma lesão visível em nível macroscópico. Como a ponta diamantada utilizada foi de formato tronco-cônico, esta pode não ter sido capaz de entrar em contato com a superfície erodida que estava em um plano inferior ao das margens da amostra e, conseqüentemente, não removeu a camada alterada. O uso de pontas diamantadas em formato de pera seria, talvez, mais indicado dentro desta metodologia, garantindo uma alteração mais efetiva da superfície.

Quanto ao tratamento com o laser de Er:YAG, as alterações morfológicas observadas em MEV, somadas aos baixos valores de resistência de união, sugerem que o parâmetro utilizado não foi eficaz na remoção do tecido erodido. Parece ter havido uma desorganização das fibrilas colágenas desmineralizadas da superfície amolecida da dentina, pela ação mecânica do spray de ar/água do laser de Er:YAG e pela sua pressão sobre a superfície, sem, contudo, remover esta superfície alterada. Isso certamente contribuiu para um resultado negativo na adesão, similar ao grupo em que não houve nenhum tratamento.

Neste estudo houve predominância de falhas adesivas em todos os grupos, no entanto, grupos irradiados com laser apresentaram também fraturas mistas, assim como encontrado por Moretto et al. (2011) e fraturas coesivas em dentina, sugerindo a existência de microfendas e fissuras na subsuperfície, que não são completamente infiltradas pelos monômeros resinosos e criam uma zona fraca abaixo da interface, o que já foi encontrado em estudos de Martinez-Insua et al. (2000); De Munck et al. (2002); Van Meerbeek et al. (2003); Oliveira et al. (2007) e Kameyama et al. (2009). Futuros trabalhos devem ser realizados para encontrar outros parâmetros de irradiação com o laser de Er:YAG que possam remover de maneira mais efetiva a camada de dentina amolecida pela erosão, expondo um substrato dentinário mais favorável para a adesão, semelhantemente ao que parece ter ocorrido para o grupo de tratamento com o laser de Er,Cr:YSGG.

De forma geral, os resultados deste trabalho em dentina hígida corroboram com os resultados na literatura e estão dentro do esperado. Já os resultados encontrados para a dentina erodida são inovadores, considerando que não existe, até a presente data, nenhum relato na literatura a respeito do tratamento com laser de alta potência – Er:YAG e Er,Cr:YSGG - em superfícies erodidas.

Apesar de o tratamento convencional já existir e se mostrar efetivo, o tratamento com laser em superfícies erodidas parece promissor. O laser, como uma

nova tecnologia, tem sido cada vez mais introduzido nas diversas especialidades e nas diversas áreas da saúde, com perspectivas de ampliação do seu uso na prática clínica. Além disso, pelo exposto na revisão bibliográfica, é um tratamento que tem vantagens importantes para as lesões de erosão: remoção seletiva do tecido desmineralizado; como existe pouca propagação da energia para o interior do tecido, o laser de alta potência tem a possibilidade de atuar como laser de baixa potência em tecidos abaixo da superfície irradiada (Bradley, 1994); maior aceitabilidade e colaboração por parte dos pacientes; e, finalmente, como encontrado nos resultados deste estudo, o laser de Er,Cr:YSGG demonstrou ser mais efetivo para o tratamento da superfície erodida do que o tratamento convencional utilizando a ponta diamantada. Os valores de resistência de união obtidos com o adesivo Clearfil SE Bond e o uso da ponta diamantada ficou próximo a 20 MPa, enquanto os outros tratamentos apresentaram valores menores e insatisfatórios. Já o laser de Er,Cr:YSGG associado ao adesivo autocondicionante apresentou valores de resistência de união próximos a 30 MPa.

Não existe um laser universal que possa ser utilizado em todas as situações clínicas. A seleção de um comprimento de onda apropriado, seguro e efetivo e o conhecimento das alterações químicas e morfológicas provocadas pela interação dos lasers com os tecidos biológicos são fundamentais para a obtenção dos resultados desejados. Parâmetros e técnicas de irradiação inadequados para os procedimentos clínicos podem ocasionar danos irreversíveis aos tecidos alvo e adjacentes (Eduardo, 2007).

Além disso, pode-se notar também que, neste trabalho, apenas um parâmetro de irradiação foi utilizado para cada tipo de laser. Assim, é importante a realização de outras pesquisas laboratoriais e estudos clínicos, longitudinais e multicêntricos, tanto na dentina hígida quanto na dentina erodida, que avaliem novos parâmetros do laser de Er:YAG e do laser de Er,Cr:YSGG, tempo de condicionamento ácido, longevidade da união adesiva e tipo de sistema adesivo para ser aplicado nesta superfície com características morfológicas diferenciadas.

Conclusões

7 CONCLUSÕES

Com base nos resultados apresentados e nas condições do presente estudo, pode-se concluir que:

- Em substrato dentinário hígido, os tratamentos de superfície com os lasers de Er,Cr:YSGG e Er:YAG apresentaram resultados de adesão inferiores ao grupo controle, porém apresentaram resultados satisfatórios de adesão à resina composta, superiores a 20 MPa.

- Em substrato dentinário erodido, o tratamento de superfície com o laser de Er,Cr:YSGG, associado ao uso do sistema adesivo autocondicionante, promoveu efeito positivo para a adesão à resina composta.

Referências

REFERÊNCIAS²

Akin GE, Herguner-Siso S, Ozcan M, Ozel-Bektas O, Akin H. Bond strengths of one-step self-etch adhesives to laser-irradiated and bur-cut dentin after water storage and thermocycling. *Photomed Laser Surg.* 2012 Apr;30(4):214-21.

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

Anusavice KJ. *Phillips' Science of Dental Materials*. 11a ed. St. Louis, MI: Elsevier Science; 2003. p. 394.

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

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

Arrais CA, Giannini M. Morphology and thickness of the diffusion of resin through demineralized or unconditioned dentinal matrix. *Pesqui Odontol Bras.* 2002 Apr-Jun;16(2):115-20.

Bahrami B, Askari N, Tieleman M, Heysselaer D, Lamard L, Peremans A, Nyssen-Behets C, Nammour S. Effect of low fluency dentin conditioning on tensile bond strength of composite bonded to Er:YAG laser-prepared dentin: a preliminary study. *Lasers Med Sci.* 2011 Mar;26(2):187-91.

² De acordo com Estilo Vancouver.

Barbour ME, Lussi A, Shellis RP. Screening and prediction of erosive potential. *Caries Res.* 2011;45 Suppl 1:24-32

Bartlett D. A new look at erosive tooth wear in elderly people. *J Am Dent Assoc.* 2007 Sep;138 Suppl:21S-25S.

Beer F, Buchmair A, Körpert W, Marvastian L, Wernisch J, Moritz A. Morphology of resin-dentin interfaces after Er,Cr:YSGG laser and acid etching preparation and application of different bonding systems. *Lasers Med Sci.* 2012 Jul; 27(4):835-41.

Botta SB, da Ana PA, Zezell DM, Powers JM, Matos AB. Adhesion after erbium, chromium:yttrium-scandium-gallium-garnet laser application at three different irradiation conditions. *Lasers Med Sci.* 2009 Jan;24(1):67-73.

Bradley PF. The interface between high intensity laser treatment (HILT) and low intensity laser therapy (LILT) in the orofacial region, in *Proceedings of the 4th International Congress on Laser in Dentistry*. Singapore, August 6-10, 1994. p. 3-8.

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

Burrow MF, Tyas MJ. Clinical evaluation of three adhesive systems for the restoration of non-carious cervical lesions. *Oper Dent.* 2007 Jan-Feb;32(1):11-5.

Cardoso MV, Coutinho E, Ermis RB, Poitevin A, Van Landuyt K, De Munck J, Carvalho RC, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Influence of Er,Cr:YSGG laser treatment on the microtensile bond strength of adhesives to dentin. *J Adhes Dent.* 2008 Feb;10(1):25-33.

Cardoso MV, de Almeida Neves A, Mine A, Coutinho E, Van Landuyt K, De Munck J, Van Meerbeek B. Current aspects on bonding effectiveness and stability in adhesive dentistry. *Aust Dent J.* 2011 Jun;56 Suppl 1:31-44.

Carrieri TC, de Freitas PM, Navarro RS, Eduardo C de P, Mori M. Adhesion of composite luting cement to Er:YAG-laser-treated dentin. *Lasers Med Sci.* 2007 Sep;22(3):165-70.

Carvalho AO, Reis AF, de Oliveira MT, de Freitas PC, Aranha AC, Eduardo C de P, Giannini M. Bond strength of adhesive systems to Er,Cr:YSGG laser-irradiated dentin. *Photomed Laser Surg.* 2011 Nov;29(11):747-52

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

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

Ceballos L, Camejo DG, Victoria Fuentes M, Osorio R, Toledano M, Carvalho RM, Pashley DH. Microtensile bond strength of total-etch and self-etching adhesives to caries-affected dentine. *J Dent.* 2003 Sep;31(7):469-77.

Celik C, Ozel Y, Bağış B, Erkut S. Effect of laser irradiation and cavity disinfectant application on the microtensile bond strength of different adhesive systems. *Photomed Laser Surg.* 2010 Apr;28(2):267-72.

Colucci V, do Amaral FL, Pécora JD, Palma-Dibb RG, Corona AS. Water flow on erbium:yttrium-aluminum-garnet laser irradiation: effects on dental tissues. *Lasers Med Sci.* 2009 Sep;24(5):811-8.

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

Craig RG, Powers JM, Wataha JC. *Dental Materials – Properties and Manipulation.* 8th ed. St. Louis: Mosby, 2004.

Dai XF, Ten Cate AR, Limeback H. The extent and distribution of intratubular collagen fibrils in human dentine. *Arch Oral Biol.* 1991;36(10):775-8.

de Carvalho RC, de Freitas PM, Otsuki M, de Eduardo CP, Tagami J. Micro-shear bond strength of Er:YAG-laser-treated dentin. *Lasers Med Sci.* 2008 Apr;23(2):117-24.

De Moor RJ, Delmé KI. Laser-assisted cavity preparation and adhesion to erbium-lased tooth structure: part 2. present-day adhesion to erbium-lased tooth structure in permanent teeth. *J Adhes Dent.* 2010 Apr;12(2):91-102.

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

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

De Munck J, Mine A, Poitevin A, Van Ende A, Cardoso MV, Van Landuyt KL, Peumans M, Van Meerbeek B. Meta-analytical review of parameters involved in dentin bonding. *J Dent Res.* 2012 Abr;91(4):351-357.

de Souza AE, Corona SA, Dibb RG, Borsatto MC, Pécora JD. Influence of Er:YAG laser on tensile bond strength of a self-etching system and a flowable resin in different dentin depths. *J Dent.* 2004 May;32(4):269-75.

Eduardo CP, Gutknecht N. *A Odontologia e o laser.* 1ª ed. São Paulo: Editora Quintessence; 2004.

Eduardo CP: Lasers in Prosthodontics and Esthetics, in Gutknecht N et al. *Proceedings of the 1st International Workshop of Evidence Based Dentistry on Lasers in Dentistry.* Quintessence Publishing, Surrey, UK; 2007. p. 183-196

Eduardo CP, Lopes RMG, Ramalho KM. Utilização do laser de alta potência (Er:YAG) no tratamento de lesão cervical não-cariosa. *Rev Assoc Paul Cir Dent.* 2009 Jan/Fev;63(1):27-31.

Eduardo CP, Tangi EY, Bello-Silva MS, Aranha, ACC, Silveira BL, De Freitas PM. *Laser em Dentística.* In: *Fundamentos de Odontologia – Lasers em Odontologia.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010

El Aidi H, Bronkhorst EM, Huysmans MC, Truin GJ. Multifactorial analysis of factors associated with the incidence and progression of erosive tooth wear. *Caries Res.* 2011;45(3):303-12.

Ergücü Z, Celik EU, Unlü N, Türkün M, Ozer F. Effect of Er,Cr:YSGG laser on the microtensile bond strength of two different adhesives to the sound and caries-affected dentin. *Oper Dent.* 2009 Jul-Aug;34(4):460-6.

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

Esteves-Oliveira M, Carvalho WL, Eduardo CP, Zezell DM. Influence of the additional Er:YAG laser conditioning step on the microleakage of class V restorations. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2008 Nov;87(2):538-43.

Featherstone JD, Lussi A. Understanding the chemistry of dental erosion. *Monogr Oral Sci.* 2006;20:66-76.

Ferreira LS, Apel C, Francci C, Simoes A, Eduardo CP, Gutknecht N. Influence of etching time on bond strength in dentin irradiated with erbium lasers. *Lasers Med Sci.* 2010 Nov;25(6):849-54.

Firat E, Gurgan S, Gutknecht N. Microtensile bond strength of an etch-and-rinse adhesive to enamel and dentin after Er:YAG laser pretreatment with different pulse durations. *Lasers Med Sci.* 2012 Jan;27(1):15-21.

Franco EB, Benetti AR, Ishikiriama SK, Santiago SL, Lauris JR, Jorge MF, Navarro MF. 5-year clinical performance of resin composite versus resin modified glass ionomer restorative system in non-carious cervical lesions. *Oper Dent.* 2006 Jul-Aug;31(4):403-8.

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

Ganss C, Klimek J, Schäffer U, Spall T. Effectiveness of two fluoridation measures on erosion progression in human enamel and dentine in vitro. *Caries Res.* 2001 Sep-Oct;35(5):325-30.

Ganss C, Klimek J, Starck C. Quantitative analysis of the impact of the organic matrix on the fluoride effect on erosion progression in human dentine using longitudinal microradiography. *Arch Oral Biol.* 2004a Nov;49(11):931-5.

Ganss C, Klimek J, Brune V, Schürmann A. Effects of two fluoridation measures on erosion progression in human enamel and dentine in situ. *Caries Res.* 2004b Nov-Dec;38(6):561-6.

Ganss C, Schlueter N, Hardt M, von Hinckeldey J, Klimek J. Effects of toothbrushing on eroded dentine. *Eur J Oral Sci.* 2007 Oct;115(5):390-6.

Ganss C, Lussi A, Scharmann I, Weigelt T, Hardt M, Klimek J, Schlueter N. Comparison of calcium analysis, longitudinal microradiography and profilometry for the quantitative assessment of erosion in dentine. *Caries Res.* 2009a;43(6):422-9.

Ganss C, Hardt M, Blazek D, Klimek J, Schlueter N. Effects of toothbrushing force on the mineral content and demineralized organic matrix of eroded dentine. *Eur J Oral Sci.* 2009b Jun;117(3):255-60.

Garberoglio R, Brännström M. Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules. *Arch Oral Biol.* 1976;21(6):355-62.

Garone Filho W, Abreu e Silva V. *Lesões Não Cariosas – O Novo Desafio da Odontologia.* São Paulo: Editora Santos, 2008. 274p

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

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

Gutknecht N, Esteves-Oliveira M: Lasers for hard tissues, cavity preparation and caries removal, in Gutknecht N et al. *Proceedings of the 1st International Workshop of Evidence Based Dentistry on Lasers in Dentistry.* Quintessence Publishing, Surrey, UK; 2007.

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

Hall AF, Buchanan CA, Millett DT, Creanor SL, Strang R, Foye RH. The effect of saliva on enamel and dentine erosion. *J Dent.* 1999 Jul;27(5):333-9.

Hara AT, Ando M, Cury JA, Serra MC, González-Cabezas C, Zero DT Influence of the organic matrix on root dentine erosion by citric acid. *Caries Res.* 2005 Mar-Apr;39(2):134-8.

Harashima T, Kinoshita J, Kimura Y, Brugnera A, 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 Feb;23(1):52-5.

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

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 Pediatr Dent.* 2002 Summer;26(4):377-82.

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 May;30(5):515-21.

Huysmans MC, Chew HP, Ellwood RP Clinical studies of dental erosion and erosive wear. *Caries Res.* 2011;45 Suppl 1:60-8.

Imfeld T. Dental erosion. Definition, classification and links. *Eur J Oral Sci.* 1996 Apr;104(2 (Pt 2)):151-5.

Jaeggi T, Grüninger A, Lussi A. Restorative therapy of erosion. *Monogr Oral Sci.* 2006;20:200-14

Kameyama A, Aizawa K, Kato J, Hirai Y. Tensile bond strength of single-step self-etch adhesives to Er:YAG laser-irradiated dentin. *Photomed Laser Surg.* 2009 Feb;27(1):3-10.

Karan K, Yao X, Xu C, Wang Y. Chemical profile of the dentin substrate in non-carious cervical lesions. *Dent Mater.* 2009 Oct;25(10):1205-12.

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

Kinney JH, Balooch M, Haupt DL Jr, Marshall SJ, Marshall GW Jr. Mineral distribution and dimensional changes in human dentin during demineralization. *J Dent Res.* 1995 May;74(5):1179-84.

Kleter GA, Damen JJ, Everts V, Niehof J, Ten Cate JM. The influence of the organic matrix on demineralization of bovine root dentin in vitro. *J Dent Res.* 1994 Sep;73(9):1523-9.

Klont B, ten Cate JM. Remineralization of bovine incisor root lesions in vitro: the role of the collagenous matrix. *Caries Res.* 1991;25(1):39-45.

Kwong SM, Tay FR, Yip HK, Kei LH, Pashley DH. An ultrastructural study of the application of dentine adhesives to acid-conditioned sclerotic dentine. *J Dent.* 2000 Sep;28(7):515-28.

Kwong SM, Cheung GS, Kei LH, Itthagarun A, Smales RJ, Tay FR, Pashley DH. Micro-tensile bond strengths to sclerotic dentin using a self-etching and a total-etching technique. *Dent Mater.* 2002 Jul;18(5):359-69.

Lambrechts P, Van Meerbeek B, Perdigão J, Gladys S, Braem M, Vanherle G. Restorative therapy for erosive lesions. *Eur J Oral Sci.* 1996 Apr;104(2 (Pt 2)):229-40.

Laurance-Young P, Bozec L, Gracia L, Rees G, Lippert F, Lynch RJ, Knowles JC. A review of the structure of human and bovine dental hard tissues and their physicochemical behaviour in relation to erosive challenge and remineralisation. *J Dent.* 2011 Apr;39(4):266-72.

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

Levitch LC, Bader JD, Shugars DA, Heymann HO. Non-carious cervical lesions. *J Dent.* 1994 Aug;22(4):195-207.

Lussi A, Jaeggi T, Zero D. The role of diet in the aetiology of dental erosion. *Caries Res.* 2004;38 Suppl 1:34-44.

Lussi A, Jaeggi T. Erosion--diagnosis and risk factors. *Clin Oral Investig.* 2008 Mar;12 Suppl 1:S5-13.

Lussi A, Hellwig E, Ganss C, Jaeggi T. Buonocore Memorial Lecture. Dental erosion. *Oper Dent*. 2009 May-Jun;34(3):251-62.

Lussi A, Schlueter N, Rakhmatullina E, Ganss C. Dental erosion-an overview with emphasis on chemical and histopathological aspects. *Caries Res*. 2011;45 Suppl 1:2-12.

Malkoc MA, Taşdemir ST, Ozturk AN, Ozturk B, Berk G. Effects of laser and acid etching and air abrasion on mineral content of dentin. *Lasers Med Sci*. 2011 Jan;26(1):21-7.

Mangueira DF, Sampaio FC, Oliveira AF. Association between socioeconomic factors and dental erosion in Brazilian schoolchildren. *J Public Health Dent*. 2009 Fall;69(4):254-9.

Manhães LA, Oliveira DC, Marques MM, Matos AB. Influence of Er:YAG laser surface treatment and primer application methods on microtensile bond strength self-etching systems. *Photomed Laser Surg*. 2005;23(3):304-12.

Marotti J, Geraldo-Martins VR, Bello-Silva MS, de Paula Eduardo C, Apel C, Gutknecht N. Influence of etching with erbium, chromium:yttrium-scandium-gallium-garnet laser on microleakage of class V restoration. *Lasers Med Sci*. 2010 May;25(3):325-9.

Marshall GW Jr, Marshall SJ, Kinney JH, Balooch M. The dentin substrate: structure and properties related to bonding. *J Dent*. 1997 Nov;25(6):441-58.

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

Meurman JH, Drysdale T, Frank RM. Experimental erosion of dentin. *Scand J Dent Res*. 1991 Dec;99(6):457-62.

Meurman JH, ten Cate JM. Pathogenesis and modifying factors of dental erosion. *Eur J Oral Sci*. 1996 Apr;104(2 (Pt 2)):199-206.

Brasil. Ministério da Saúde do Brasil. Menos de 20% dos brasileiros consomem frutas e hortaliças e praticam exercícios. 2010. [acesso em 6 abr 2012].

Disponível em:

http://portal.saude.gov.br/portal/aplicacoes/noticias/default.cfm?pg=dspDetalheNoticia&id_area=124&CO_NOTICIA=11227

Montes MA, de Goes MF, Sinhoreti MA. The in vitro morphological effects of some current pre-treatments on dentin surface: a SEM evaluation. *Oper Dent*. 2005 Mar-Apr;30(2):201-12.

Moretto, Simone Gonçalves. Análise morfológica e da resistência de união da superfície dentinária irradiada com os lasers de Er: YAG e Er,Cr:YSGG [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2009

Moretto SG, Azambuja N Jr, Arana-Chavez VE, Reis AF, Giannini M, Eduardo C de P, De Freitas PM. Effects of ultramorphological changes on adhesion to lased dentin- Scanning electron microscopy and transmission electron microscopy analysis. *Microsc Res Tech*. 2011 Aug;74(8):720-6.

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

Murakami C, Oliveira LB, Sheiham A, Nahás Pires Corrêa MS, Haddad AE, Bönecker M. Risk indicators for erosive tooth wear in Brazilian preschool children. *Caries Res*. 2011;45(2):121-9.

Nunn JH. Prevalence of dental erosion and the implications for oral health. *Eur J Oral Sci*. 1996 Apr;104(2 (Pt 2)):156-61.

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

Oliveira MT, de Freitas PM, de Paula Eduardo C, Ambrosano GM, Giannini M. Influence of Diamond Sono-Abrasion, Air-Abrasion and Er:YAG Laser Irradiation on Bonding of Different Adhesive Systems to Dentin. *Eur J Dent*. 2007 Jul;1(3):158-66.

Oliveira MT, Arrais CA, Aranha AC, de Paula Eduardo C, Miyake K, Rueggeberg FA, Giannini M. Micromorphology of resin-dentin interfaces using one-bottle etch&rinse and self-etching adhesive systems on laser-treated dentin surfaces: a confocal laser scanning microscope analysis. *Lasers Surg Med.* 2010 Sep;42(7):662-70.

Pashley DH, Andringa HJ, Derkson GD, Derkson ME, Kalathoor SR. Regional variability in the permeability of human dentine. *Arch Oral Biol.* 1987;32(7):519-23.

Pashley DH. Clinical correlations of dentin structure and function. *J Prosthet Dent.* 1991 Dec;66(6):777-81.

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

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

Pashley DH, Tay FR, Breschi L, Tjäderhane L, Carvalho RM, Carrilho M, Tezvergil-Mutluay A. State of the art etch-and-rinse adhesives. *Dent Mater.* 2011 Jan;27(1):1-16.

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

Promklay A, Fuangtharnthip P, Surarit R, Atsawasuwana P. Response of dental pulp cells to Er:YAG irradiation. *Photomed Laser Surg.* 2010 Dec;28(6):793-9.

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

Ramos AC, Esteves-Oliveira M, Arana-Chavez VE, Eduardo CP. Adhesives bonded to erbium:yttrium-aluminum-garnet laser-irradiated dentin: transmission electron microscopy, scanning electron microscopy and tensile bond strength analyses. *Lasers Med Sci.* 2010 Mar;25(2):181-9.

Rios D, Honório HM, Francisconi LF, Magalhães AC, de Andrade Moreira Machado MA, Buzalaf MA. In situ effect of an erosive challenge on different restorative materials and on enamel adjacent to these materials. *J Dent*. 2008 Feb;36(2):152-7.

Robles, Fábio Renato Pereira. Avaliação da resistência à tração da dentina bovina irradiada com laser de Er: YAG combinada a diferentes tratamentos. Análise das superfícies pela microscopia eletrônica de varredura [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2003 [citado 31 maio 2012]. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/23/23134/tde-01042009-172347/>.

Salz U, Bock T. Testing adhesion of direct restoratives to dental hard tissue - a review. *J Adhes Dent*. 2010 Oct;12(5):343-71.

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

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

Scheutzel P. Etiology of dental erosion--intrinsic factors. *Eur J Oral Sci*. 1996 Apr;104(2 (Pt 2)):178-90.

Schlueter N, Hara A, Shellis RP, Ganss C. Methods for the measurement and characterization of erosion in enamel and dentine. *Caries Res*. 2011;45 Suppl 1:13-23

Secilmis A, Altintas S, Usumez A, Berk G. Evaluation of mineral content of dentin prepared by erbium, chromium:yttrium scandium gallium garnet laser. *Lasers Med Sci*. 2008 Oct;23(4):421-5.

Shellis RP, Barbour ME, Jones SB, Addy M. Effects of pH and acid concentration on erosive dissolution of enamel, dentine and compressed hydroxyapatite. *Eur J Oral Sci*. 2010 Oct;118(5):475-82.

Shellis RP, Ganss C, Ren Y, Zero DT, Lussi A. Methodology and models in erosion research: discussion and conclusions. *Caries Res*. 2011;45 Suppl 1:69-77.

Shono Y, Ogawa T, Terashita M, Carvalho RM, Pashley EL, Pashley DH. Regional measurement of resin-dentin bonding as an array. *J Dent Res.* 1999 Feb;78(2):699-705.

Serra MC, Messias DCF, Turssi CP. Control of erosive tooth wear: possibilities and rationale. *Braz Oral Res.* 2009;23(Spec Iss 1):49-55.

Staehle HJ. Minimally invasive restorative treatment. *J Adhes Dent.* 1999 Autumn;1(3):267-84.

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

Tagami J, Tao L, Pashley DH, Hosoda H, Sano H. Effects of high-speed cutting on dentin permeability and bonding. *Dent Mater.* 1991 Oct;7(4):234-9.

ten Cate JM, Imfeld T. Dental erosion, summary. *Eur J Oral Sci.* 1996 Apr;104(2 (Pt 2)):241-4.

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 Jul;90(1):24-30.

Van Meerbeek B, Braem M, Lambrechts P, Vanherle G. Morphological characterization of the interface between resin and sclerotic dentine. *J Dent.* 1994 Jun;22(3):141-6.

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

Van Meerbeek B, Van Landuyt K, De Munck J, Inoue S, Yoshida Y, Perdigão J, Peumans M. Bonding to enamel and dentin In: Summitt BJ, Robbins JW, Hilton TJ, Schwartz RS (eds). *Fundamentals of Operative Dentistry*. Chicago: A Contemporary Approach Quintessence; 2006. 220p.

Vargas-Ferreira F, Praetzel JR, Ardenghi TM. Prevalence of tooth erosion and associated factors in 11-14-year-old Brazilian schoolchildren. *J Public Health Dent.* 2011 Winter;71(1):6-12.

Vila Verde A, Ramos MM, Stoneham AM. Benefits in cost and reduced discomfort of new techniques of minimally invasive cavity treatment. *J Dent Res.* 2009 Apr;88(4):297-9.

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

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

Wang X, Lussi A. Assessment and management of dental erosion. *Dent Clin North Am.* 2010 Jul;54(3):565-78.

West NX, Hughes JA, Addy M. Erosion of dentine and enamel in vitro by dietary acids: the effect of temperature, acid character, concentration and exposure time. *J Oral Rehabil.* 2000 Oct;27(10):875-80.

West NX, Davies M, Amaechi BT. In vitro and in situ erosion models for evaluating tooth substance loss. *Caries Res.* 2011;45 Suppl 1:43-52.

Yamada MK, Uo M, Ohkawa S, Akasaka T, Watari F. Three-dimensional topographic scanning electron microscope and Raman spectroscopic analyses of the irradiation effect on teeth by Nd:YAG, Er: YAG, and CO₂ lasers. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2004 Oct 15;71(1):7-15.

Yazici AR, Baseren M, Gorucu J. Clinical comparison of bur- and laser-prepared minimally invasive occlusal resin composite restorations: two-year follow-up. *Oper Dent.* 2010 Sep-Oct;35(5):500-7.

Yoshida Y, Nagakane K, Fukuda R, Nakayama Y, Okazaki M, Shintani H, Inoue S, Tagawa Y, Suzuki K, De Munck J, Van Meerbeek B. Comparative study on adhesive performance of functional monomers. *J Dent Res.* 2004 Jun;83(6):454-8.

Yoshiyama M, Carvalho RM, Sano H, Horner JA, Brewer PD, Pashley DH. Regional bond strengths of resins to human root dentine. *J Dent.* 1996 Nov;24(6):435-42.

Zero DT, Rahbek I, Fu J, Proskin HM, Featherstone JD. Comparison of the iodide permeability test, the surface microhardness test and mineral dissolution of bovine enamel following acid challenge. *Caries Res.* 1990; 24(3):181-8.

Zero DT. Etiology of dental erosion--extrinsic factors. *Eur J Oral Sci.* 1996 Apr;104(2 (Pt 2)):162-77.

Zhang S, Chen T, Ge LH. Scanning electron microscopy study of cavity preparation in deciduous teeth using the Er:YAG laser with different powers. *Lasers Med Sci.* 2012 Jan;27(1):141-4.

Zimmerli B, De Munck J, Lussi A, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Long-term bonding to eroded dentin requires superficial bur preparation. *Clin Oral Investig.* 2011 Dec 8. [Epub ahead of print]

Ponta diamantada	12	40,98 ^C	10,67	23,27	40,01	54,48
Er:YAG	12	25,80 ^E	8,52	8,57	26,02	37,49
Er,Cr:YSGG	12	33,44 ^D	6,12	27,54	31,51	44,61

APÊNDICE C - Gráfico da resistência de união média da dentina hígida

APÊNDICE D - Resultado do teste ANOVA para testar o efeito dos tratamentos de superfície e dos sistemas adesivos, quanto à resistência de união à dentina submetida à ciclagem erosiva

General Linear Model: Força (Mpa) versus Tratamento; Adesivo; Dente

Factor	Type	Levels	Values
Tratamento	fixed	4	controle; Er,Cr:YSGG; Er:YAG; ponta diamantada
Adesivo	fixed	2	Clearfil SE; Single Bond
Dente (Grupo Adesivo)	fixed	74	2; 5; 8; 9; 10; 11; 12; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 9; 10; 11; 12; 1; 3; 4; 5; 9; 10; 2; 3; 4; 6; 7; 8; 11; 12; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 12; 1; 3; 4; 5; 6; 7; 9; 10; 11; 12; 1; 2; 3; 4; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12

Analysis of Variance for Força (Mpa), using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Tratamento	3	2920,23	1635,50	545,17	9,12	0,000
Adesivo	1	5095,24	3951,79	3951,79	66,10	0,000
Tratamento*Adesivo	3	1533,73	929,13	309,71	5,18	0,002
Dente (Grupo Adesivo)	66	13407,57	13407,57	203,15	3,40	0,000
Error	269	16081,97	16081,97	59,78		
Total	342	39038,74				

S = 7,73203 R-Sq = 58,81% R-Sq(adj) = 47,63%

APÊNDICE E – Tabela estatística descritiva dos valores de resistência de união (MPa) à dentina submetida à ciclagem erosiva, de acordo com o tipo de tratamento de superfície e o sistema adesivo utilizado

Dentina com erosão						
Sistema Adesivo	Nº de dentes	Média	Desvio padrão	Mínimo	Mediana	Máximo
Clearfil SE						
Controle	7	17,01 ^{B,C}	7,31	8,34	17,19	29,72
Ponta diamantada	10	21,02 ^B	9,72	3,98	20,38	35,91
Er:YAG	11	19,67 ^B	5,62	9,27	18,00	27,71
Er,Cr:YSGG	6	28,26 ^A	9,22	12,95	29,91	37,98
Single Bond						
Controle	10	11,21 ^{C,D}	5,84	3,44	9,97	22,26
Ponta diamantada	11	9,93 ^D	5,85	2,81	10,70	18,74
Er:YAG	11	16,00 ^{B,C}	5,63	7,27	14,66	26,32
Er,Cr:YSGG	8	15,39 ^{B,C,D}	7,91	4,19	14,86	30,17

APÊNDICE F – Gráfico da resistência de união média à dentina submetida à ciclagem erosiva

APÊNDICE G – Tabela da predominância, em porcentagem, dos tipos de fratura em cada grupo experimental da dentina hígida

Grupos	Nº de palitos	Falha adesiva n (%)	Falha coesiva em dentina n (%)	Falha coesiva em resina n (%)	Falha mista n (%)
Single Bond + Controle	73	57 (78%)	8 (11%)	3 (4%)	5 (7%)
Single Bond + Ponta diamantada	77	65 (84%)	2 (3%)	2 (3%)	8 (10%)
Single Bond + Er:YAG	79	75 (95%)	2 (2,5%)	-	2 (2,5%)
Single Bond + Er,Cr:YSGG	64	59 (92%)	1(1,5%)	1 (1,5%)	3 (5%)
Clearfil SE Bond + Controle	87	39 (45%)	34 (40%)	13 (14%)	1 (1%)
Clearfil SE Bond + Ponta diamantada	77	41 (54%)	17 (22%)	7 (9%)	12 (15%)
Clearfil SE Bond + Er:YAG	84	37 (44%)	18 (22%)	12 (14%)	17 (20%)
Clearfil SE Bond + Er,Cr:YSGG	53	35 (66%)	3 (6%)	9 (17%)	6 (11%)

APÊNDICE H – Tabela da predominância, em porcentagem, dos tipos de fratura em cada grupo experimental da dentina submetida à ciclagem erosiva

Grupos	Nº de palitos	Falha adesiva n (%)	Falha coesiva em dentina n (%)	Falha coesiva em resina n (%)	Falha mista n (%)
Single Bond + Controle	34	30 (88%)	-	-	4 (12%)
Single Bond + Ponta diamantada	47	33 (70%)	-	-	14 (30%)
Single Bond + Er:YAG	62	57 (92%)	-	-	5 (8%)
Single Bond + Er,Cr:YSGG	36	27 (75%)	1 (3%)	-	8 (22%)
Clearfil SE Bond + Controle	24	19 (79%)	-	-	5 (21%)
Clearfil SE Bond + Ponta diamantada	45	33 (73%)	-	2 (4%)	10 (23%)
Clearfil SE Bond + Er:YAG	60	48 (80%)	1 (2%)	-	11 (18%)
Clearfil SE Bond + Er,Cr:YSGG	35	21 (60%)	1 (3%)	7 (20%)	6 (17%)

Anexos

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP)

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

APROVAÇÃO
Protocolo 41/11
CAAE 0040.0.017.000-11
REGISTRO CONEP 16.521

O Comitê de Ética em Pesquisa da FOU SP comunica que a CONEP/CNS/MS **APROVOU** o protocolo de pesquisa com cooperação estrangeira "**Estudo in vitro da morfologia e da resistência adesiva da resina à dentina humana irradiada com laser de alta potência e submetida ao desafio erosivo**", de responsabilidade da Pesquisadora Thaysa Monteiro Ramos, sob orientação dos Professores Doutores Carlos de Paula Eduardo, Patricia Moreira de Freitas e Marcela Esteves Oliveira, conforme cópia do parecer em anexo.

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

São Paulo, 24 de agosto de 2011.

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

Av. Prof. Lineu Prestes, 2227 - Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira".
São Paulo - SP - CEP 05508-900 - Tel. (0XX11) 3091-7960

ANEXO B – Declaração da Instituição Coparticipante

UNIVERSITÄTSKLINIKUM
AACHEN

Klinik für Zahnerhaltung, Parodontologie und Präventive Zahnheilkunde
Universitätsklinikum der RWTH - Pauwelsstraße 30 - D-52074 Aachen

Para
Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da
Universidade de São Paulo
Av Prof. Lineu Prestes, 2227
05508-000 São Paulo-SP
Brasil

**Klinik für Zahnerhaltung,
Parodontologie
und Präventive Zahnheilkunde**

Komm. Direktor:
Univ.-Prof. Dr. med. dent. Stefan Wolfart

MEDIZINISCHE FAKULTÄT
RWTH AACHEN

D-52074 AACHEN
Pauwelsstraße 30

Telefon: (0241) 80 88 241
Telefax: (0241) 80 82 410
E-mail: swolfart@ukaachen.de

Ihr Zeichen

Ihr Schreiben vom

Unser Zeichen

Datum: **01. 03. 2010**

DECLARAÇÃO DA INSTITUIÇÃO COPARTICIPANTE

“Esta instituição está ciente de suas co-responsabilidades como instituição co-participante do projeto de pesquisa intitulado *“Estudo in vitro da morfologia e da resistência adesiva da resina à dentina humana irradiada com laser de Er:YAG e submetida ao desafio erosivo”* de autoria da pesquisadora Thaysa Monteiro Ramos, aluna regularmente matriculada no Programa de Pós-Graduação em Odontologia, área de concentração em Dentística, da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (USP), sob orientação do Prof. Dr. Carlos de Paula Eduardo, Professor Titular do Departamento de Dentística da Faculdade de Odontologia da USP, Brasil e supervisão da Profa. Dra. Marcella Esteves-Oliveira, Professora do Departamento de Dentística, Periodontia e Odontologia Preventiva da Universidade RWTH de Aachen, Alemanha. Declaro conhecer e cumprir as Resoluções Éticas Brasileiras, em especial a Resolução CNS 196/96.

Dr. med. dent. Marcella Esteves Oliveira

Klinik für Zahnerhaltung, Parodontologie und
Präventive Zahnheilkunde
Universitätsklinikum - RWTH Aachen
Pauwelsstr. 30, 52074 Aachen
Deutschland

ANEXO C – Parecer do Comitê Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)

MINISTÉRIO DA SAÚDE
Conselho Nacional de Saúde

SIPAR - Ministério da Saúde
Registro Número:
15000. 137315/2011-01
10/08/2011
[assinatura]

Ofício nº. 2284/2011/CONEP/CNS/MS

Brasília, 8 de agosto de 2011.

A(o) Senhor(a):
Marcia Turolla Wanderley
Coordenador (a) do Comitê de Ética em Pesquisa
Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo
Av Prof Lineu Prestes 2227 - Cidade Universitária
05.508-900 - São Paulo-SP

Assunto: **Encaminhamento de Parecer.**

Senhor (a) Coordenador (a),

1. Encaminhamos, em anexo, o (s) Parecer (es) nº **452/2011**, referente ao **Protocolo de Pesquisa Registro CONEP nº 16.521** da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP, referente(s) a (os) projeto(s) de pesquisa acompanhada(s) por este Comitê.

Atenciosamente,

ROZÂNGELA FERNANDES CAMAPUM
SECRETÁRIA-EXECUTIVA DO
CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE

Esplanada dos Ministérios, Bloco "G" – Edifício Anexo, Ala "B" – 1º andar, Sala 104 – 70058-900 – Brasília, DF
Telefones: (061) 3226-8803 / 3225-6672 – Fax: (061) 3315-2414 / 3315-2472 – e-mail: cns@saude.gov.br
jp/rb

**CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE
COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA**

PARECER Nº. 452/2011

Registro CONEP 16521 (Este nº deve ser citado nas correspondências referentes a este projeto)

Folha de Rosto – 416732

Processo nº 25000.097665/2011-10

Projeto de Pesquisa: *“Estudo in vitro da morfologia e da resistência adesiva da resina à dentina humana irradiada com lasers de alta potência e submetida ao desafio erosivo”.*

Pesquisador Responsável: Thaysa Monteiro Ramos

Instituição: Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo - FOUSP
(CENTRO ÚNICO)

CEP de origem: Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo - FOUSP

Área Temática Especial: Pesquisa com cooperação estrangeira

Patrocinador: CAPES e recursos da pesquisadora responsável

Sumário geral do protocolo

Introdução: O aumento da qualidade de vida, da longevidade das pessoas e a conseqüente manutenção dos dentes na boca por mais tempo vem aumentando a prevalência do desgaste dentário na população. Somado a isto, a associação de fatores como maior consumo de alimentos ácidos, maior stress frente às necessidades do mercado de trabalho e a presença de distúrbios alimentares psicossomáticos e gastro-esofágicos transformaram a erosão dental em uma desordem de grande preocupação para os cirurgiões-dentistas e um novo desafio para a Odontologia no século XXI.

Definida como a perda localizada, crônica, patológica e irreversível do tecido duro dental decorrente de mecanismos químicos que dissolvem a porção mineralizada do dente, a erosão dental não envolve ácidos oriundos de bactérias da microflora oral, como a cárie dental, e sim, substâncias quelantes e ácidos provenientes da dieta, de medicações e fontes intrínsecas e ocupacionais. Possui assim, uma etiologia complexa e multifatorial, que envolve fatores químicos, biológicos e comportamentais.

Quando o desgaste desta lesão não-cariosa encontra-se em um nível avançado, com comprometimento da dentina, da integridade estrutural do dente e da estética, é necessária a realização de tratamento restaurador para reduzir sensibilidade térmica, impedir envolvimento pulpar, abrasão por dentífricos, maior erosão ácida, impacção alimentar, desconforto da língua e bochechas e, principalmente, devolver a estética e aumentar a resistência do dente.

Dentro dos conceitos da Odontologia Minimamente Invasiva, as restaurações diretas com resinas compostas fotopolimerizáveis são procedimentos mais conservadores, os quais devem apresentar resistência de união ao dente suficiente para suportar as forças incidentes no meio bucal. E com o aprimoramento da tecnologia, o uso dos lasers em alta intensidade na Odontologia foi introduzido como uma nova alternativa para a realização de preparos cavitários.

A interação entre o laser e o tecido é dependente das características da radiação incidente e das propriedades ópticas e composição do tecido irradiado. Como o comprimento de onda do laser de Er:YAG ($\lambda = 2.94 \mu\text{m}$) coincide com a banda de absorção da água e da hidroxiapatita, parâmetros específicos podem remover tecido duro

Cont. Parecer CONEP nº. 452/2011

dental (processo de ablação) para preparos conservadores e promover a remoção seletiva de dentina cariada, redução microbiana e condicionamento da superfície dental⁸.

Estudos avaliando ação dos lasers na dentina por meio de análises em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) mostram uma dentina irregular, sem a presença de smear layer, com túbulos dentinários abertos e dentina peritubular proeminente, com um padrão morfológico microrretentivo favorável aos procedimentos adesivos. No entanto, outros relatam que, dependendo da densidade de energia utilizada, os efeitos termomecânicos do laser podem ocasionar a desnaturação das fibrilas colágenas na dentina subsuperficial, levar à formação de uma superfície ácido-resistente com estruturas granulares¹³, carbonizada ou com *melting*, prejudicando a infiltração do sistema adesivo, a formação da camada híbrida e a resistência adesiva.

Apesar de já existirem estudos com a utilização de lasers para condicionamento de dentina, até então, não há pesquisas utilizando lasers de alta potência na superfície dentinária alterada pelos agentes desmineralizantes que causam a erosão. Muitos questionamentos surgem quanto aos seus efeitos na superfície, aos melhores parâmetros para condicionamento da dentina erodida, qual tipo de adesivo resultaria em maior resistência adesiva e quais seriam as características morfológicas da interface adesiva.

Deste modo, o estudo da resistência adesiva e da morfologia da superfície da dentina hígida e da submetida ao desafio erosivo, irradiadas com laser de Er:YAG ($\lambda = 2,94 \mu\text{m}$) e de CO₂ ($\lambda = 10,6 \mu\text{m}$) antes do procedimento restaurador, é de grande relevância clínica visto que pode indicar o sistema adesivo e o tratamento prévio mais adequado para as lesões de erosão atingindo dentina, preservando ao máximo a estrutura dental.

Objetivos: Avaliar os efeitos de diferentes tratamentos de superfície prévios ao tratamento restaurador (uso de ponta diamantada, irradiação com laser de Er:YAG e laser de CO₂), utilizando um sistema adesivo autocondicionante e um com condicionamento ácido prévio, na dentina hígida e na dentina submetida ao desafio erosivo, através da análise da morfologia de superfície, qualidade da interface de união e resistência adesiva destes substratos à resina composta.

Desenho do estudo: O estudo será dividido em 2 fases. Na fase 1, será realizada a análise da morfologia das superfícies de dentina hígida e da submetida ao desafio erosivo, com os diferentes tratamentos de superfície. Na fase 2, será feita a análise da qualidade de união entre as superfícies tratadas e a resina composta, por meio do ensaio de microtração e da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

Métodos: Serão coletados 240 terceiros molares humanos recém-extraídos para serem utilizados exclusivamente para o desenvolvimento desta pesquisa. Estes dentes serão cedidos pelo Banco de Dentes Humanos da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (FOUSP) com a concordância do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da mesma instituição. 56 dentes serão preparados para o estudo piloto e 184 servirão para a execução do projeto propriamente dito. Ao final da pesquisa, os dentes serão repatriados e ficarão armazenados em estufa até a publicação dos resultados, caso seja necessário avaliar a amostra para esclarecimento de dúvidas. Depois disso, como o material fica alterado e não pode ser reutilizado em outras pesquisas, será feita a destruição e o descarte, segundo normas da Resolução RDC nº. 306/2004.

Oito dentes permanecerão armazenados em solução de cloramina T a 0,5 % sob refrigeração (4°C) por um período máximo de três meses após a data de extração. Serão realizados a limpeza dos dentes com a utilização de curetas periodontais (Duflex, SS White, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e o polimento com pedra pomes (SS White, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e água com o auxílio de escovas tipo Robinson (KG Sorensen, Barueri, SP, Brasil) em baixa rotação, seguidas de lavagem com água destilada.

Cont. Parecer CONEP nº. 452/2011

Na fase 1 será avaliada, por meio da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), a morfologia da superfície dentinária hígida e da submetida ao desafio erosivo, antes e após os tratamentos de superfície (sem tratamento, ponta diamantada, laser de Er:YAG e laser de CO₂). Serão utilizados 16 fragmentos de dentina, divididos aleatoriamente em 8 grupos (n=2).

Na fase 2, serão preparadas 192 amostras, nas quais serão avaliadas a qualidade da interface de união (n=2) e a resistência adesiva (n=10) entre a resina composta e as dentinas hígida e erodida, submetidas a diferentes tratamentos de superfície, com 2 sistemas adesivos (01 autocondicionante e 01 com condicionamento ácido prévio). Para o ensaio de microtração, serão obtidos palitos de 1,0 X 1,0 mm e a análise do padrão de fratura será realizada em lupa estereoscópica. Os dados de resistência de união serão avaliados por testes estatísticos paramétricos ($\alpha = 5\%$) e as avaliações das microscopias serão feitas de forma descritiva.

Local de realização

Trata-se de um projeto nacional e unicêntrico, com cooperação estrangeira. Além do Brasil, a Alemanha participará do estudo.

Nenhum sujeito será recrutado, serão utilizados somente dentes terceiros molares humanos extraídos, obtidos do Banco de Dentes Humanos da Universidade de São Paulo.

Apresentação do protocolo

Os seguintes documentos foram apresentados no CD-ROM do protocolo em tela: 01. Ofício impresso de encaminhamento pelo CEP de origem; 02. Folha de Rosto; 03. Parecer Consubstanciado; 04. Currículo do Pesquisador; 05. Justificativa para isenção do TCLE; 06. Cronograma de Execução da Pesquisa; 07. Orçamento Financeiro; 08. Lista dos países participantes; 09. Declaração de instituição coparticipante; 10. País de origem do projeto; 11. CAAE; 12. Projeto de Pesquisa.

Comentários/Considerações

1. Tendo em vista que a Resolução CNS 441/2011, recentemente homologada, institui um conjunto de normas para a constituição de biobancos e estabelece o prazo de um ano para a adequação dos bancos de amostras biológicas já constituídos, recomenda-se que o CEP acompanhe a adequação do banco de dentes referido no projeto frente às normas instituídas pela Resolução CNS 441/2011.

Diante do exposto, a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 196/96, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto, devendo o CEP verificar o cumprimento das questões acima, antes do início do estudo.

Situação: **Protocolo aprovado com recomendação.**

Brasília, 28 de julho de 2011.

Gysélle Saddi Tannous
Coordenadora da CONEP/CNS/MS

ANEXO D – Declaração do Banco de Dentes Humanos da FOUSP

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Odontologia
Banco de Dentes Humanos

São Paulo, 26 de março de 2011

Ao Comitê de Ética em Pesquisa da FOUSP:

O Banco de Dentes Humanos da FOUSP declara que fornecerá 240 (duzentos e quarenta) dentes permanentes terceiros molares hígidos necessários ao projeto de pesquisa intitulado “Estudo *in vitro* da morfologia e da resistência adesiva da resina à dentina humana irradiada com *lasers* de alta potência e submetida ao desafio erosivo”.

Pesquisadora responsável: Thaysa Monteiro Ramos

Orientador: Prof. Dr. Carlos de Paula Eduardo

Obs.: Os dentes só serão liberados após vossa aprovação.

Prof. Dr. José Carlos P. Imparato
Coordenador Geral