TAMILE ROCHA DA SILVA LOBO

**Influência do uso do digluconato de clorexidina como inibidor de
metaloproteinase na resistência adesiva e dureza da camada
híbrida e camada de adesivo**

São Paulo

2013

TAMILE ROCHA DA SILVA LOBO

**Influência do uso do digluconato de clorexidina como inibidor de
metaloproteinase na resistência adesiva e dureza da camada
híbrida e camada de adesivo**

Versão Corrigida

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

Área de Concentração: Dentística

Orientadora: Profa. Dra. Míriam Lacalle Turbino.

São Paulo

2013

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

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

Lobo, Tamile Rocha da Silva.

Influência do uso do digluconato de clorexidina como inibidor de metaloproteinase na resistência adesiva e dureza da camada híbrida e camada de adesivo / Tamile Rocha da Silva Lobo ; orientador Miriam Lacalle Turbino. -- São Paulo, 2013.

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

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

Versão corrigida.

1. Adesivos dentinários. 2. Clorexidina. 3. Resistência à tração. I. Turbino, Miriam Lacalle. II. Título.

Lobo TRS. Influência do uso do digluconato de clorexidina como inibidor de metaloproteinase na resistência adesiva e dureza da camada híbrida e camada de adesivo. Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em ou Odontologia.

Aprovado em: / /2013

Banca Examinadora

Prof(a). Dr(a)._____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a)._____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a)._____

Instituição: _____ Julgamento: _____

À **Deus**, pelas bênçãos amor e generosidade com que conduz minha vida;

Aos meus pais, **Mario e Celeste**, pelo amor, confiança, zelo, generosidade e exemplo. Obrigada por estarem sempre presentes como a força que me impulsiona a ser uma pessoa melhor, quero honrar e ser motivo de orgulho pra vocês sempre;

À minha irmã e melhor amiga. **Isabela**, você torna minha vida mais feliz, obrigada;

Aos meus amados tios, **Flávio e Aparecida**, que acompanham e participam de todas as etapas da minha vida me incentivando e apoiando;

À todos os familiares e amigos que vibram com as minhas vitórias;

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora **Prof^a. Dr^a. Miriam Lacalle** Turbino pela disponibilidade a mim sempre oferecida. Obrigada pela confiança e conhecimentos compartilhados. Além de competente profissional, a senhora também é humana e compreensiva fico feliz de ter trilhado essa jornada ao seu lado.

À faculdade de odontologia da Universidade de São Paulo, na pessoa de seu diretor **Prof.Dr. Rodney Garcia Rocha**.

À coordenação de pós-graduação pela oportunidade e apoio durante todo o programa.

Aos professores do Departamento de Dentística da Faculdade de odontologia da Universidade de São Paulo sempre dispostos á compartilhar seus conhecimentos.

A todos os colegas de pós-graduação pelos momentos divididos.

À minha turma de pós-graduação: **Adriano, Daniela, Thalita, Carlos, Milena, e Paula**. Dividir com vocês os momentos de angustia, vitórias e alegrias. Vocês são pessoas que mesmo que a vida nos afaste vou levar no coração e lembrar com carinho sempre.

Ao amigo Carlos pela ajuda na obtenção das imagens e por todos os momentos e risadas compartilhadas.

À minha amiga, **Paula Mendes Acatauassú Nunes** esses três anos de pós-graduação só fortaleceu nossa amizade. Nosso caminho profissional tem sido trilhado lado a lado, agradeço por você ser essa pessoa que se doa para os amigos

espero retribuir sua amizade como você merece, pode contar comigo sempre, obrigada por tudo.

A todos os funcionários do departamento de dentística, especialmente a Soninha pela ajuda no laboratório.

À **CAPES** pelo apoio financeiro para a concretização desse trabalho.

*“A educação é aquilo que sobrevive depois
que tudo o que aprendemos foi esquecido”*

B.F. Skinner

RESUMO

Lobo TRS. Influência do uso do digluconato de clorexidina como inibidor de metaloproteinase na resistência adesiva e dureza da camada híbrida e camada de adesivo [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2013. Versão Corrigida.

Este estudo avaliou a influência do uso do digluconato de clorexidina como inibidor de metaloproteinase na resistência adesiva e dureza da camada de adesivo e camada híbrida de uma resina composta à dentina humana, por meio de ensaio de microtração e nanoindentação. Os fatores de variação estudados foram dois sistemas adesivos com estratégias de aplicação distintas Adper Scotchbond Multi-Purpose (3M ESPE, St. Paul, MN, USA) e Clearfil SE Bond (Kuraray Co., Osaka, Japan), e ainda foram realizados tratamentos no substrato dentinário utilizando duas concentrações de digluconato de clorexidina sendo estas 2% e 0,2% e grupos controle sem tratamento com clorexidina. As unidades experimentais foram compostas por 48 molares humanos hígidos divididos aleatoriamente em 6 grupos (n=8). Nestes foram aplicados os procedimentos adesivos e realizados os tratamentos de superfície, com clorexidina, previamente aos procedimentos adesivos. Após esta etapa foram confeccionadas as restaurações com espessura de 5mm sobre as superfícies dentinárias. Após 24h de armazenamento em água destilada, os dentes restaurados foram cortados para a obtenção de corpos de prova em forma de palito, com secção transversal de aproximadamente 1mm². De cada grupo foram selecionados aleatoriamente 5 palitos para o ensaio de dureza. O restante dos palitos viáveis de cada dente foram submetidos ao teste de microtração a uma velocidade de 0,5mm/min até que ocorresse a fratura da interface adesiva. Para o teste de nanoindentação cada um dos 5 palitos referentes aos 6 grupos estudados receberam 10 endentações, sendo 5 na camada de adesivo e 5 na camada híbrida, com distância de 10µm entre si. Essas endentações foram realizadas com ultramicrodurometro (DUH-W211S, Shimadzu Co., Tokyo, Japan). Os dados referentes aos testes de microtração dos seis grupos foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey (p<0,05). As médias dos grupos foram: Grupo 1: Clearfil SE controle (28.50±0.47); Grupo 2: Adper Scotchbond controle

(43.90±7.26); Grupo3: Clearfil SE/ clorexidina 2% (30.43±6.59); Grupo 4: Adper Scotchbond/ clorexidina 2% (39.21±4.69); Grupo 5: Clearfil SE 0,2%(27.28±7.05); Grupo 6: Adper Scotchbond/ clorexidina 0,2% (35.70±6.43). Na comparação entre as médias dos grupos obteve-se que nenhum dos adesivos testados apresentou alteração na sua resistência de união com o uso do digluconato de clorexidina a 2% ou a 0,2% em análise imediata. Os grupos em que foi utilizado o adesivo Scotchbond apresentaram maiores valores de resistência de união que os grupos em que foi utilizado o sistema adesivo autocondicionante (Clearfil) independente da realização ou não do tratamento de superfície com digluconato clorexidina. Os valores de dureza da camada de adesivo não apresentaram diferenças estatisticamente significantes entre os grupos controle ou entre tratamentos, apenas o grupo com tratamento prévio Clearfil SE/Clorexidina 0,2% apresentou maior valores de dureza na camada de adesivo quando comparado ao grupo Scotchbond com a mesma concentração de clorexidina. Quanto aos valores de dureza da camada híbrida o grupo controle Clearfil SE quando comparado ao grupo Clearfil SE/Clorexidina 2% apresentou menor valor de dureza da camada híbrida. O Scotchbond controle apresentou menor valor de dureza na camada híbrida quando comparado ao grupo Scotchbond com clorexidina a 0,2%. O uso do digluconato de clorexidina nas concentrações 2% e 0,2% em dentina humana, apesar de ter apresentado discretas alterações na dureza da camada híbrida e camada de adesivo, não tiveram a capacidade de afetaram os valores de adesão à dentina dos diferentes adesivos testados.

Palavras-chave: Adesivos dentinários. Clorexidina. Resistência à tração. Dureza.

ABSTRACT

Lobo TRS. The influence of the use of chlorhexidine gluconate as an inhibitor of metalloproteinase bond strength and hardness of the hybrid layer and adhesive layer [dissertation]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2013. Versão Corrigida

This study evaluated the influence of the use of chlorhexidine gluconate as an inhibitor of metalloproteinase bond strength and hardness of the adhesive layer and hybrid layer of a composite resin to dentin, using microtensile test and nanoindentation. The variation factors studied were two adhesive systems with different implementation strategies Adper Scotchbond Multi-Purpose (3M ESPE, St. Paul, MN, USA) and Clearfil SE Bond (Kuraray Co., Osaka, Japan), and were still held treatments to dentin using two concentrations of chlorhexidine digluconate and these 2% and 0.2% untreated control groups with chlorhexidine. The experimental units were composed of 48 human molars were randomly divided into 6 groups ($n = 8$). These procedures were applied adhesives and surface treatments performed with chlorhexidine prior to bonding procedures. After this step the restorations were made with 5mm thickness on the dentin surfaces. After 24 hours storage in distilled water, the samples were cut to obtain specimens toothpick shaped cross-section of approximately 1mm². Each group were randomly selected 5 toothpicks for hardness testing. The remaining viable sticks of each tooth were subjected to microtensile testing at a crosshead speed of 0.5 mm / min until the fracture of the adhesive interface. To test nanohardness each of the five toothpicks referring to six groups received 5 indentations in the adhesive layer and 5 indentations in the hybrid layer with 10µm away from each other. These indentations were performed with the equipment DUH-W211S (Shimadzu Co., Tokyo, Japan). The data relating to microtensile test of the six groups were subjected to analysis of variance and Tukey test ($p < 0,05$). The means of the groups were: Group 1: Clearfil SE control (28.50 ± 0.47), Group 2: Adper Scotchbond control (43.90 ± 7.26); Group3: Clearfil SE / 2% chlorhexidine (30.43 ± 6.59), Group 4: Adper Scotchbond / 2% chlorhexidine (39.21 ± 4.69), Group 5: Clearfil SE 0.2% (27.28 ± 07.05), Group 6: Adper Scotchbond / chlorhexidine 0.2% (35.70 ± 6.43). Comparing the means of the groups it was found

that none of the adhesives tested showed a change in its bond strength with the use of chlorhexidine gluconate 2% or 0.2% in immediate analysis. The groups that used Scotchbond showed higher bond strength than the groups that used the adhesive system (Clearfil) regardless of performance or not the surface treatment with chlorhexidine digluconate. The hardness values of the adhesive layer did not show statistically significant differences between the control groups or between treatments, the group previously treated with Clearfil SE / Chlorhexidine 0.2% showed higher hardness values in the adhesive layer when compared to Scotchbond with the same concentration of chlorhexidine. As for the hardness of the hybrid layer control group Clearfil SE when compared to Clearfil SE / 2% Chlorhexidine showed lower hardness value of the hybrid layer. The Scotchbond control showed lower hardness value in the hybrid layer when compared to Scotchbond with 0.2% chlorhexidine. The use of chlorhexidine gluconate at concentrations 2% and 0.2% in human dentin, despite having discrete changes in the hardness of the hybrid layer and adhesive layer, did not have the ability to affect the values of adhesion to dentin of different adhesives tested.

Keywords: Dentin-Bonding agents. Chlorhexidine. Tensile Strength. Hardness.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 4.1 – Descrição dos grupos experimentais.....	33
Figura 4.1 – Esquema ilustrativo da sequência de aplicação dos materiais	34
Figura 4.2- Corpos de prova.....	35
Figura 4.3 - Matriz desmontável e palitos incluídos.....	36
Figura 4.4 - Equipamento DUHW211S	37
Figura 4.5- Corpo de prova posicionado na morsa sob o endentador.....	37
Figura 4.6- Esquema ilustrativo das endentações realizadas na interface adesiva (camada de adesivo e camada híbrida)	37
Quadro 5.1- ANOVA para variável resistência adesiva	41
Quadro 5.2- Comparação entre as médias dos grupos para valores de resistência adesiva.....	42
Gráfico 5.1- Valores de resultados de resistência adesiva com os 3 tratamentos nos dois sistemas adesivos testados.....	42
Quadro 5.3- ANOVA para dados independentes de valores de dureza da camada de adesivo	44
Quadro 5.4- Comparação entre as médias dos grupos para valores de dureza da camada de adesivo	45
Gráfico 5.2- Valores de dureza da camada de adesivo	45

Quadro 5.5- ANOVA para dados independentes dos valores de dureza da camada híbrida.....	47
Quadro 5.6- Comparação entre as médias dos grupos para valores de dureza da camada híbrida	48
Gráfico 5.3- Valores de dureza da camada híbrida	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 5.1-Valores de resistência adesiva.....	40
Tabela 5.2- Médias dos valores de resistência adesiva para cada grupo	41
Tabela 5.3-Valores de dureza da camada de adesivo	43
Tabela 5.4-Médias dos valores de dureza da camada de adesivo para cada grupo.	44
Tabela 5.5-Valores de dureza da camada híbrida.....	46
Tabela 5.6-Médias dos valores de dureza da camada híbrida para cada grupo	47

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DA LITERATURA	17
3 PROPOSIÇÃO	31
4 MATERIAL E MÉTODOS	32
5 RESULTADOS.....	39
6 DISCUSSÃO	49
7 CONCLUSÕES	55
REFERÊNCIAS.....	56
ANEXOS	65

1 INTRODUÇÃO

Estudos vêm sendo realizados a fim de contribuir para o desenvolvimento de materiais adesivos que apresentem comportamento clínico cada vez mais satisfatório. Nesse contexto, os sistemas adesivos têm demonstrado constantes avanços, apresentando atualmente maior qualidade de adesão ao esmalte e à dentina.

A dentina quando comparada ao esmalte é composta por maior quantidade de componentes orgânicos, que atingem um volume em torno de 70%, seguido de 20% de compostos minerais e 10% de água, formando um tecido totalmente diferente do esmalte dental que é composto por 96% de componentes mineralizados¹.

Sabe-se que essa diferença morfológica entre os substratos exerce influência sobre a adesão em esmalte e dentina. A adesão ao esmalte, devido à sua composição inorgânica, faz com que o mesmo, após o condicionamento ácido, permita que ocorra uma penetração profunda dos monômeros do adesivo. Em dentina, de maneira geral, a adesão torna-se mais complexa, pois em sua composição há material orgânico com a presença de umidade nos túbulos dentinários². Devido à união dentina/resina ser mais crítica e menos duradoura do que a união esmalte/resina³, pesquisas tendo como objetivo encontrar meios de melhorar a união e aumentar a durabilidade dos procedimentos restauradores em dentina tem um papel importante no contexto da odontologia minimamente invasiva.

A união dentina/resina ocorre pelo uso de um sistema adesivo e pela formação de uma zona de interface chamada camada híbrida⁴. O processo de formação dessa camada se dá através da desmineralização da dentina e a exposição da rede de fibrilas colágenas, necessária para uma boa adesão. Porém, para que seja alcançada de maneira eficaz a formação desta camada, faz-se necessário que haja uma completa infiltração dos monômeros resinosos nas fibrilas colágenas desmineralizadas e expostas pelo condicionamento ácido⁵. Para isto, o controle da umidade se torna um fator crítico, sendo imprescindível para que ocorra a penetração dos monômeros do adesivo⁶. A estabilidade desta área de adesão é

determinada então pela formação imediata e manutenção desta camada ao longo do tempo, adensamento dos monômeros e a correta penetração dos mesmos na dentina. Além da presença exagerada de água ou a ausência da mesma, outros fatores também podem influenciar a correta penetração dos monômeros e levar à formação de uma zona de interface adesiva “frágil”. Por exemplo, a movimentação dos fluidos dentinários da polpa, pode dificultar a penetração adequada do adesivo⁷. Independente do motivo, estando desprotegidas, as fibrilas desnaturadas ficam suscetíveis aos desafios de degradação, seja por meio de hidrólise ou até mesmo pela ação de enzimas colagenolíticas endógenas e exógenas⁸.

Apesar dos constantes e visíveis avanços obtidos na odontologia restauradora com o lançamento de adesivos com alta tecnologia, quase sempre é observado que as ligações adesivas entre dentina e adesivo dentinário diminuem com o passar do tempo de forma substancial seja com uso de adesivos autocondicionantes ou do tipo condicione e lave⁵. Devido à preocupação com a durabilidade dos procedimentos restauradores, estudos nessa área demonstram que a utilização de substâncias com potencial de inibição de enzimas que degradam as fibrilas colágenas tem sido proposta como alternativa para a manutenção da adesão em longo prazo. Uma das substâncias utilizadas com o intuito de manter a estabilidade da camada híbrida é o uso do digluconato de clorexidina como agente inibidor de metaloproteinases. O uso dessa substância tem sido evidenciado em estudos como sendo efetivo na manutenção dos valores de adesão ao longo do tempo^{9,10,11}. O uso de materiais que possam influenciar negativamente na durabilidade dos procedimentos restauradores é uma preocupação atual. Algumas substâncias podem dificultar a correta penetração do sistema adesivo e/ou ainda provocar alterações na interação com os mesmos que venham a diminuir ou interferir na adesão a longo prazo ou de forma imediata, levando a uma menor durabilidade dos procedimentos restauradores. Para análise das propriedades adesivas testes de resistência de união assim como testes que analisem as características obtidas nas áreas adesivas devem ser realizados para um melhor entendimento sobre adesão no âmbito da odontologia restauradora.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Uma questão que tem causado discussões no exercício diário da prática clínica é a presença de grande variedade de sistemas adesivos no mercado que apresentam diferentes estratégias adesivas e indicações distintas, com o aparente intuito de suprir as necessidades e diminuir o risco de insucesso das restaurações adesivas. Amplas são as pesquisas que comparam o comportamento de adesivos autocondicionantes com adesivos do tipo condicione e lave. A diferente forma de aplicação, a diferença no fator crítico entre as técnicas e o modo que agem sobre a dentina e camada de esfregaço aparentemente exercem influência sobre a longevidade das ligações adesivas com a dentina.

Os sistemas adesivos classificados como autocondicionantes, surgiram no mercado com o objetivo de simplificar a técnica restauradora, pois não há a etapa de condicionamento prévio e lavagem da dentina, sendo recomendados para reduzir a sensibilidade operatória, adicionando eficiência clínica¹². São compostos de metacrilatos ácidos e hidrófilos¹³, e dispensam a utilização do ácido fosfórico para o condicionamento de esmalte e dentina. Comercialmente eles se apresentam em dois frascos (um com primer acidulado e o outro com o adesivo) ou em um único frasco que contém o primer e adesivo. Esses adesivos possuem em sua composição monômeros ácidos polimerizáveis e não laváveis, capazes de penetrar através da camada de esfregaço. Forma-se então um substrato contínuo através da modificação dessa camada e incorporação da mesma na camada híbrida devido ao simultâneo condicionamento em esmalte e dentina¹⁴. A utilização desse tipo de sistema adesivo tem como objetivo evitar que fibras colágenas permaneçam expostas. Isso pode se apresentar como uma vantagem, pois sabe-se que o colágeno desmineralizado e não envolvido pelos monômeros do adesivo pode gerar uma degradação que culmina no insucesso da adesão^{15,16}. Segundo Martins et al.¹² esse tipo de sistema, quando comparado aos adesivos que necessitam de condicionamento prévio (condicione e lave) apresenta menor sensibilidade da técnica, e maior controle da umidade, conferindo excelentes resultados em dentina.

Os sistemas adesivos do tipo condicione e lave, necessitam da utilização prévia do ácido fosfórico para que haja o condicionamento da dentina com a

remoção da camada de esfregaço e desmineralização de porção inorgânica da dentina intertubular e peritubular. Com a exposição da rede de fibras colágenas e o aumento da luz dos túbulos dentinários, torna-se possível a infiltração de um primer hidrofílico e a posterior penetração de adesivos hidrofóbicos. Esta manobra de aplicação do ácido é muitas vezes responsável por conferir a essa técnica uma maior dificuldade de manutenção da umidade do substrato dentinário. A remoção do ácido da superfície com água e a posterior remoção do excesso de água proveniente da lavagem podem levar a um encharcamento ou mais comumente a uma desidratação das fibrilas colágenas que podem colapsar e colabar, impedindo que ocorra a penetração do adesivo no substrato^{17, 18}.

Independente do tipo de sistema adesivo utilizado pode ocorrer uma inadequada infiltração dos monômeros adesivos durante o ato operatório e isso resulta na formação de uma interface de união adesivo/dentina fraca. Vários estudos relacionados à eficiência e a manutenção desta união vem sendo propostos com o objetivo de viabilizar e entender o funcionamento dos sistemas adesivos e a relação dos mesmos com o substrato dentinário, objetivando assim aumentar a longevidade dos tratamentos restauradores. Sabe-se que a degradação da camada híbrida está diretamente associada à sorção de água e também a presença de fatores facilitadores da degradação como, por exemplo, à presença de enzimas na dentina^{19,8}.

Nakabayashi et al.⁴ afirmaram que os sistemas adesivos do tipo condicione e lave, de três passos, podem produzir altas forças de adesão resina/dentina. Frente à utilização de sistemas adesivos do tipo condicione e lave, outros fatores como a presença de solvente residual do sistema adesivo e a remoção insuficiente ou excessiva da água superficial podem ocasionar problemas. A presença exagerada de água pode causar a degradação da interface adesiva devido à dissolução do adesivo pela mesma. A secagem excessiva da dentina durante a sequência clínica, leva ao colapso das fibras colágenas. Isso pode impedir a correta penetração do primer e do monômero mantendo as fibras colágenas desprotegidas e suscetíveis à hidrólise devido à redução dos espaços interfibrilares, ao alto peso molecular e à baixa hidrofília de alguns monômeros resinosos^{20,21}.

Observa-se assim que os sistemas adesivos apresentam diferenças tanto na composição química quanto na técnica de aplicação que podem alterar sua capacidade adesiva. Segundo Ito et al.²² e Yiu et al.²³ a necessidade de união com o substrato dentinário úmido levou à introdução de maior quantidade de componentes iônicos e hidrofílicos tanto nos adesivos autocondicionantes como nos adesivos do tipo condicione e lave. Com isso, ocorreu um aumento da permeabilidade dos adesivos, tornando-as mais passíveis de hidrólise e de sorpção ao longo do tempo. Além disso, as propriedades do tecido dentário como a atividade colagenolítica e gelatinolítica, que ocorre na matriz colágena parcialmente desmineralizada^{19,8}, provam indiretamente a existência de enzimas endógenas como as metaloproteinases (MMP'S). Essas enzimas também podem ser ativadas durante o procedimento adesivo e podem interferir na qualidade e durabilidade da adesão, tanto imediata como a longo prazo degradando as fibrilas colágenas.

Apesar do advento dos adesivos resinas hidrofílicos que são capazes de infiltrar e polimerizar com as fibras colágenas expostas, pela descalcificação por ácido formando a camada híbrida, sabe-se que a adesão diminui com o tempo pela possibilidade de hidrólise e posterior degradação da matriz por enzimas endógenas^{24, 25}.

Além das características próprias do material, a união com a dentina, é dificultada pelas suas características morfológicas. Estudos apontam que a desnaturação e degradação dos componentes da união dentina-adesivo ocorre devido à ação da água e de enzimas proteolíticas provenientes do próprio substrato dentinário como as metaloproteinases (MMPs), ou de fontes exógenas como bactérias e saliva^{26,8,9}. Mazzone et al.²⁷ concluíram que o uso de adesivos do tipo condicione e lave simplificados são capazes de ativar essas enzimas endógenas.

Alguns autores afirmam que os espaços interfibrilares produzidos após o condicionamento ácido da dentina além de água, contém proteoglicanas carregadas negativamente, altamente hidratadas que formam um hidrogel que, quando mantido hidratado nesses espaços interfibrilares, podem agir como barreiras moleculares para moléculas maiores como as do dimetil-metacrilato (BisGMA) permitindo apenas que moléculas menores como o HEMA cheguem à base da camada híbrida²⁸.

Para Breschi et al.²⁹ e Hashimoto et al.⁷ uma completa substituição das apatitas perdidas pela resina dentro dos espaços interfibrilares nunca foi observada, assim apatitas perdidas e fibrilas colágenas espaçadas tornam-se suscetíveis à degradação.

A dentina mineralizada contém metaloproteinases ligadas ao colágeno e também presentes na saliva, nos túbulos dentinários e presumivelmente no fluido dentinário^{30,31}.

Responsáveis pela quebra da matriz colágena e envolvidas no processo de patogênese da doença cárie²⁴ e da doença periodontal³², as metaloproteinases são caracterizadas como 23 endopeptidases zinco e cálcio dependentes. Essas enzimas são secretadas frente a alterações de pH e surgem como enzimas inativas que, frente a esta alteração de pH tem seu potencial ativado, apresentando capacidade de degradação de componentes da matriz extracelular³³.

Sulkala et al.³⁴ afirmam que estas enzimas secretadas por odontoblastos e incorporadas à matriz mineralizada da dentina, formam gelatinases (MMP-2 MMP-9) e collagenase (MMP-8), que são as enzimas mais presentes na dentina humana e responsáveis por contribuir para a degradação das fibrilas colágenas nas camadas híbridas³⁵.

A dentina mineralizada contém enzimas colagenolíticas e gelatinolíticas (MMP's) apreendidas na matriz colágena. A ativação dessas enzimas resulta em atividades colagenolíticas e gelatinolíticas possíveis de serem identificadas na dentina hibridizada^{36,37}.

Na dentina, já foram detectadas e estão sendo estudadas as seguintes metaloproteinases: MMP-2 (gelatinase-A), MMP-8 (colagenase-2), MMP-9 (gelatinase-B), MMP-14 e MMP-20 (enamelinase)^{24,36}. A aplicação de inibidores de colagenase na interface adesiva pode retardar a degradação da matriz colágena mantendo a integridade, estabilidade e durabilidade da fase orgânica da adesão³⁸.

Para Mazzoni et al.²⁷ e Nishitani et al.³⁹ os componentes ácidos incorporados tanto nos adesivos autocondicionantes como nos adesivos condicionadores e laves vem demonstrando aumentar a atividade colagenolítica e gelatinolítica nas completas ou parciais matrizes colágenas desmineralizadas.

Mazzoni et al.⁴⁰ testando adesivos do tipo condicione e lave e autocondicionantes : Adper Scotchbond 1XT (3M ESPE), PQ1 (Ultradent), Pico da LC (Ultradent), Optibond Solo Plus (Kerr), Prime & Bond NT (Dentsply) (2-passocondicione e lave) e Adper bond (3M ESPE), Tri-S (Kuraray) e Xeno-V (Dentsply) (1-passo autocondicionantes) com objetivo de quantificar a atividade específica de enzimas endógenas na dentina por meio de zimografia observaram que os adesivos simplificados de dois passos do tipo condicione e lave e os adesivos autocondicionantes de um passo foram capazes de ativar MMP-2 e MMP-9 na dentina humana justificando a degradação das camadas híbridas com a utilização desses tipos de adesivo.

Lehmann et al.⁴¹ avaliaram fatias de dente em cultura por meio de zimografia e análise imuno-histoquímica. Foi observado um aumento da pro MMP-9 e MMP-2 em dentina frente à utilização de adesivos autocondicionantes, sugerindo que estes seriam capazes de ativar as MMPs, mais precisamente por odontoblastos, sugerindo a participação destes na degradação das camadas híbridas através da liberação de enzimas endógenas MMP-9 e MMP-2 demonstrando a degradação das ligações adesivas nesse tipo de adesivo.

A ação das metaloproteinases de forma negativa sobre a resistência adesiva vem sendo estudada e diversos tipos de materiais e substâncias desde então, tem sido empregadas com o objetivo de neutralizar a ação das mesmas

Devido à capacidade de dissolução das estruturas da membrana celular por esses componentes do substrato, estudos na área de materiais dentários e dentística têm sido realizados a fim de buscar meios de inibir e/ou inativar o potencial dessas enzimas. São estudados diversos protocolos clínicos que viabilizem o uso de substâncias que atuem como inibidoras do potencial deletério das metaloproteinases tornando assim possível a manutenção de ligações adesivas tanto imediatamente como em longo prazo, melhorando dessa forma a durabilidade e desempenho clínico das restaurações. Devido ao potencial de degradação das fibras colágenas, não infiltradas pelo adesivo, a aplicação de inibidores de proteases tem sido apresentada como uma abordagem racional para manutenção das ligações adesivas²¹.

Dentre as soluções estudadas com esse fim, o digluconato de clorexidina tem demonstrado resultados favoráveis. Gendron et al.⁴² observaram a capacidade inibidora da atividade das MMP-2 e MMP-9, mesmo frente à utilização de pequenas concentrações de clorexidina. Estudos como o de Carrilho et al.¹⁰ demonstram que a utilização de clorexidina a 2% mantém a adesão com maior qualidade após 6 meses.

Resultado semelhante apontando a eficiência do uso da clorexidina foi demonstrado em estudo de Loguercio et al.³, em que os corpos de prova foram reidratados com clorexidina a 2% por 60 segundos após o condicionamento ácido. Também foi utilizado um condicionamento ácido com clorexidina em sua formulação para comparação. Em ambos os grupos houve uma preservação da resistência de união frente a testes de microtração à dentina. Foi demonstrado um menor padrão de penetração de nitrato de prata quando comparados aos grupos controles nos quais a CHX não foi aplicada.

Breschi et al.⁴³ observaram que a clorexidina foi capaz de inibir o efeito da MMP-2 sobre pó de dentina quando utilizada com o objetivo de inibir do potencial proteolítico previamente ativado por um adesivo do tipo condicione e lave .

Brackett et al.⁴⁴, utilizando 2% de clorexidina após o condicionamento ácido, observaram não haver degradação no grupo controle e no grupo da clorexidina no período de 2 meses. Porém, após 6 meses, o grupo experimental (com aplicação de clorexidina) se apresentou sem evidência de degradação enquanto o controle manifestou áreas localizadas de degradação na camada híbrida.

Leitune et al.⁴⁵ utilizando dentes decíduos, observaram que seus grupos experimentais com a utilização de clorexidina a 2% por 30 segundos apresentaram melhores resultados de resistência de adesão do que os grupos controle (sem tratamento de substrato). Outros estudos, porém como o de Herenio et al.⁴⁶ não apresentaram como resultado diferenças significativas com o uso de clorexidina entre o grupo controle e teste nem em 24 horas nem após 6 meses.

Em outro estudo os autores observaram que a clorexidina foi efetiva na inibição de collagenase atuando diretamente na atividade da MMP-2, MMP-8 e MMP-

9. A inibição da MMP-8 se deu por quelação e foi possível observá-la mesmo frente à utilização de clorexidina em concentrações baixas como 0,02%⁴².

Emi et al.⁴⁷ observaram que a utilização de clorexidina não influenciou os valores de resistência de união em três dos quatro sistemas adesivos em estudo (Scotchbond MP, Single Bond 2 e Clearfil SE Bond) quando em dentina hígida ou afetada por cárie. Porém, segundo os mesmos autores, os valores de resistência de união produzidos pelo sistema adesivo simplificado Prompt LPop em dentina afetada foram positivamente afetados com a aplicação de clorexidina.

Muitos protocolos diferentes têm sido testados para a utilização do digluconato de clorexidina como tratamento de superfície. Loguercio et al.³ em estudo com concentrações de clorexidina que variavam de 0,02% à 4%, utilizando diferentes tempos de aplicação, observaram uma manutenção da estabilidade adesiva no período de 6 meses independente da concentração utilizada ou do tempo de aplicação. Foi observado ainda que o uso de 0,02% de clorexidina por 15s parecem ser suficiente para preservar a interface adesiva em um período de 6 meses.

Zhou et al.⁴⁸ usando “primers” com adição de clorexidina com tempos de aplicação diferentes observaram uma significativa diminuição da atividade colagenolítica quando utilizado o primer SE Bond com adição de clorexidina por 20 segundos na dentina. Quando foi aplicado clorexidina por 2 minutos utilizando primer SE Bond contendo 0,5% ou 1% de clorexidina, a atividade colagenolítica foi similar à atividade encontrada nos grupos tratados com SE Bond sem a adição de clorexidina. Concluíram ainda, que a incorporação de clorexidina em primers adesivos autocondicionantes de dois passos (clearfil se bond primer), pode inibir parcialmente a ação das MMP's.

Outros estudos como o de Campos et al.⁴⁹ observaram não haver influência do uso de clorexidina na adesão imediata com o uso de adesivos condicione e lave. Porém, segundo os mesmos autores a concentração pode influenciar na resistência adesiva, sendo que a aplicação de concentrações superiores a 2% foi deletéria para os adesivos autocondicionantes recomendando que este tipo de protocolo seja evitado principalmente quando se utilizar este tipo de adesivo.

Breschi et al.⁴³, em estudo *in vitro* prospectivo, observaram que depois de um ano de armazenamento em saliva artificial o uso de clorexidina tanto a 0,2% quanto a 2% foram igualmente efetivos sugerindo assim a utilização de baixas concentrações de digluconato de clorexidina.

A clorexidina empregada para desinfecção de preparos cavitários tem sido utilizada com sucesso para inibir a atividade das MMP-2, MMP-8 MMP-9⁴². Quando utilizada diretamente ou incorporada ao condicionador ácido tem demonstrado efetividade na manutenção das ligações adesivas ao longo do tempo⁴³.

de Castro et al.⁵⁰ avaliaram o efeito da clorerexidina 2% na resistência de união de 3 sistemas adesivos (Prime & BondNT, Single Bond e ClearfilSE bond), com aplicação antes ou após o condicionamento ácido. Os dentes foram ciclados e armazenados por 24h. O teste de resistência adesiva demonstrou não haver diferença estatisticamente significativa entre os grupos, constatando que a clorexidina não foi capaz de modificar os valores de adesão frente ao teste de microtração realizado.

Pashley et al.⁸ em estudo longitudinal, observaram a degradação colágena em matrizes colágenas parcialmente desmineralizadas e armazenadas em saliva artificial e em soluções contendo inibidores de atividade proteolítica, ou óleo mineral no período de 24 horas 90 e 250 dias. Como resultado ocorreu quase uma completa destruição da matriz colágena no período de 250 dias dos espécimes armazenados em saliva artificial, o que não ocorreu com nos incubados em inibidores de proteases e óleo mineral. Foi observado também que a utilização de clorexidina 0,2% como inibidor de protease gerou uma diminuição da atividade collagenolítica.

Yiu et al.⁵¹ avaliaram o efeito da incorporação de clorexidina em três adesivos dentinários experimentais etanol solvatados com diferentes graus de hidrofílicas frente a testes de resistência de união, realizados 24h e 12 meses após o armazenamento em saliva artificial. Aos grupos experimentais foram acrescentadas clorexidina a 2% aos adesivos etanol-solvatados. As superfícies de dentina foram condicionadas com ácido fosfórico a 37% por 15seg seguida da aplicação dos adesivos. Foram detectadas diferenças estatisticamente significantes para os três fatores: hidrofília dos adesivos ($p=0,001$), incorporação de clorexidina ($p<0,001$) , tempo de armazenamento ($p<0,001$) e para a interação entre os fatores ($p<0,001$). A

clorexidina não apresentou efeito imediato sobre a força de adesão dos três adesivos testados. Após o armazenamento em saliva artificial foi possível observar uma significativa diminuição na resistência de união em todos os grupos de adesivos exceto no grupo clorexidina e adesivo I ($p < 0.001$). O grupo do adesivo III com adição de clorexidina apresentou superior valor de resistência quando comparado ao grupo controle, sem clorexidina. Para os autores, a incorporação de clorexidina aos adesivos hidrofílicos pode diminuir a degradação da união dentina-resina.

Lenzi et al.⁵² avaliaram o efeito do digluconato de clorexidina na resistência imediata de um adesivo do tipo condicione e lave em dentes decíduos, permanentes e decíduos cariados em dentina. Os dentes receberam aplicação de clorexidina posteriormente à utilização do ácido fosfórico. Como resultado os autores descreveram que os valores de resistência de união não foram influenciados de forma imediata com o uso da clorexidina quando comparados aos grupos sem pré-tratamento, independente do tipo de dente.

Manfro et al.⁵³ avaliaram o efeito de diferentes concentrações de digluconato de clorexidina na resistência de união à dentina do dente decíduo imediatamente e após 12 meses. Vinte e um molares decíduos foram divididos em 3 grupos. O grupo controle (A) foi re-hidratado com água após o condicionamento ácido, os grupos (B) e (C) foram re-hidratados, respectivamente, com 0,5% e 2% de clorexidina, durante 30 segundos. A resistência à tração foi testada imediatamente (IM) ou após o armazenamento em saliva artificial por 12 meses. Como resultado observaram que não houve redução significativa nos valores de resistência de união quando a clorexidina foi utilizada em concentrações de 0,5% (IM = 49.3/2.6 e 12M = 32.3/7.9) e 2% (IM = 44.0/8.7 e 12M = 34.6/5.1). Além disso, foi observada uma redução na resistência de união no grupo controle (IM = 50.8/12.8 e 12M = 20.4/3.7).

Nishitani et al.⁵⁴ realizaram estudo comparando o grau de conversão e a resistência adesiva de um adesivo autocondicionante de um único passo contendo em sua composição diversas concentrações de clorexidina 0,5, 1, 2 e 5%. Como resultado não obtiveram diferenças estatisticamente significantes para o grupo controle e os grupos de adesivo experimental com clorexidina a 1%. Nos grupos

com adição de clorexidina a 2 e 5% observaram uma significativa diminuição de conversão e de resistência adesiva.

Deng et al.⁵⁵ realizaram estudo com o objetivo de avaliar a influência do uso da clorexidina na durabilidade de um adesivo autocondicionante (G-Bond) e um condicione e lave (Single-Bond) após a realização de testes de envelhecimento. A resistência adesiva e a nano infiltração foram avaliadas após a termociclagem e como resultado os autores obtiveram menor infiltração de prata nos espécimes armazenados em clorexidina. A clorexidina foi capaz de preservar a estabilidade da adesão no adesivo condicione e lave ($p < 0.001$), porém não apresentou efeitos significantes no adesivo autocondicionante.

Simões et al.⁵⁶ realizaram estudo com o objetivo de avaliar o efeito da clorexidina em um adesivo hidrofóbico de um sistema do tipo condicione e lave após envelhecimento *in vitro* e após envelhecimento cariogênico *in situ*. Para isso, 36 superfícies dentinárias de molares humanos hígidos, receberam os tratamentos com etanol, clorexidina e clorexidina mais etanol. Após os tratamentos os dentes foram restaurados, divididos em 3 grupos e armazenados em água durante 24h ou 6 meses. Os dentes utilizados envelhecidos *in situ* foram submetidos ao desafio cariogênico por 14 dias. Após realização de testes de resistência adesiva para cada grupo a análise de variância ANOVA e o teste de Tukey demonstrou que os tipos de tratamento não afetaram a resistência adesiva. Os autores ainda relataram que para os valores de resistência adesiva *in vitro* as amostras armazenadas por 6 meses obtiveram valores de resistência adesiva menores do que as do grupo armazenado por 24h. Observaram também, que os valores de resistência para o grupo *in situ* com o uso da clorexidina e do etanol seguiu o mesmo padrão decrescente de união adesiva do modelo *in vitro* no tempo de 6 meses. A força de adesão em 24h nos dois modelos apresentou-se semelhante.

Sabatini et al.⁵⁷ estudaram a capacidade de melhora na estabilidade de união com a utilização de um sistema adesivo novo contendo 0,2% de digluconato de clorexidina (CHX). Os autores compararam este adesivo teste com o uso de CHX a 2% como um iniciador terapêutico por 24h e 6 meses. Foram realizadas avaliações por meio de zimografia, da capacidade inibidora de metaloproteinases da clorexidina nessas duas concentrações (0,2% e 2,0%). Além disso, foi realizado teste de

resistência ao cisalhamento (SBS). Como resultados os autores observaram não haver diferença na adesão entre os grupos controle e os diferentes tratamentos adesivos e tempos de armazenamento. Quando realizada zimografia foi possível observar bandas de atividade enzimática para o grupo desmineralizado com ácido fosfórico e também a inibição completa da actividade gelatinolítica para os grupos tratados com 0,2% e 2,0% de CHX. Isso demonstrou o potencial inibitório da clorexidina nos grupos experimentais na qual a CHX foi incorporada ao adesivo ou utilizada como abordagem terapeutica, indicando não haver alteração na atividade proteolítica nos grupos.

Dutra–Correa et al.⁵⁸ testaram a hipótese de a clorexidina não ser capaz de afetar o desempenho clínico de dois diferentes adesivos dentinarios XP Bond (XPB) e XENO V (XEN) em 18 meses in vivo. As restaurações referentes aos 4 grupos experimentais sendo estes com utilização prévia de clorexidina e apenas a aplicação do adesivo em questão foram avaliadas às cegas em 6 e 18 meses por dois avaliadores. Após a análise estatística por meio do teste de Mann Whitney e testes não paramétricos de MCNemar ($p < 0,05$) concluíram que a sensibilidade ao jato de ar diminuiu significativamente para os grupos XPB, XEN e clorexidina + XEN no período de uma semana, 6 e 18 meses após a realização das restaurações. O grupo clorexidina + XPB apresentou diferença estatisticamente significativa apenas uma semana após o procedimento adesivo. Em suma, os autores concluíram que o uso da clorexidina não apresentou influência sobre o desempenho clínico das restaurações em 6 ou 18 meses.

De-Melo et al.⁵⁹ avaliaram o efeito de um desinfetante à base de clorexidina a 2% na resistência de união de um sistema adesivo autocondicionante à dentina. As superfícies de dentina foram desmineralizadas por 2, 4 e 8 dias com ciclagem de pH confirmada por dureza transversal. As superfícies de dentina foram divididas em duas metades e tratadas com água deionizada e clorexidina por 5 minutos. Após o tratamento as superfícies foram restauradas com adesivo autocondicionante e os espécimes foram seccionados e submetidos ao teste de microtração. Os dentes tratados com clorexidina apresentaram valores médios de resistência adesiva semelhantes aos do grupo controle. Os resultados porém foram significativos para o grau de desmineralização, sugerindo sua influência direta nos resultados de adesão.

É importante observar que devido às características altamente citotóxicas da clorexidina o uso de baixas concentrações é sempre preferível^{60,61}. Essas concentrações tem se mostrado eficientes para a inibição da atividade enzimática⁶².

Usualmente a maioria destes estudos utiliza como variável a resistência adesiva obtida através de testes de microtração^{3,63,46}, porém outras variáveis como a dureza podem ser observadas para que seja possível uma análise indireta do material e sua interação com o tecido dentinário. O teste de nanoindentação com a utilização de um equipamento denominado ultramicrodurômetro consiste na aplicação de carga a um sólido. Esse teste possibilita, além das informações visuais, um ciclo de carregamento e descarregamento controlado por um computador que resulta em um valor dinâmico no monitor, sendo possível medir assim, além da dureza, o módulo de elasticidade do sólido em escalas nanométricas⁶⁴ baseadas e calculadas por meio da curva de deslocamento com precisão de indentação e baixa carga empregada em mili-newton (mN). Segundo Van Meerbeek et al.⁶⁵ este tipo de metodologia apresenta como vantagem a possibilidade do estudo de áreas estreitas de forma controlada como por exemplo a área da camada híbrida e da camada de adesivo.

Bengston⁶⁶, estudando as propriedades mecânicas de sistemas adesivos (resistência adesiva, módulo de elasticidade do sistema adesivo e da camada híbrida, nanodureza do sistema adesivo e da camada híbrida) observou que tais propriedades são passíveis de alteração em função do tipo de sistema adesivo utilizado e do tempo de armazenamento prévio à realização destes testes. Poucos são os estudos na literatura que avaliam a interação das substâncias inibidoras de metaloproteinases com a dureza da área de adesão.

Higashi et al.⁶⁷ realizaram estudo usando testes de nanoindentação para avaliar dureza e módulo de elasticidade de dois adesivos do tipo condicione e lave (Adper Single Bond Plus e one step plus) sob diferentes condições de umidade do substrato. Os resultados de dureza demonstraram que a umidade dentinária associada a um sistema adesivo do tipo condicione e lave de dois passos e sua vigorosa aplicação aumenta os valores de dureza e módulo de elasticidade da camada híbrida.

Dos Santos et al.⁶⁸ em estudo longitudinal avaliaram as propriedades mecânicas de uma dentina tratada com duas substâncias com capacidade biomodificadora, e que tem como objetivo promover estabilidade da camada híbrida ao longo do tempo. Para isso, foi avaliada, por meio de nanoindentação a dureza na zona de interface adesiva, ou seja, camada híbrida e camada de adesivo, e dentina no período de 24h, 3 e 6 meses. As superfícies desmineralizadas de dentina foram tratadas com 5% de glutaraldeído e 6.5% extrato de semente de uva, antes do procedimento adesivo. Como resultado foi observado um aumento da dureza da interface adesiva e do módulo de elasticidade após 3 e 6 meses quando comparado ao grupo controle. De forma geral as propriedades mecânicas tiveram diminuição com o passar do tempo para todos os grupos.

Islam et al.⁶⁹ realizaram estudo com o objetivo de investigar o efeito da incorporação ao primer de adesivos autocondicionantes de agentes capazes de realizar ligações cruzadas com a dentina. Estes agentes foram: 0,5% de clorexidina, 0,5% extrato de semente de uva e 0,5% de hesperidin. O adesivo utilizado foi o Clearfil SE (Kuraray Medical, Inc.) dando origem a primers experimentais. Após a aplicação dos primers experimentais os dentes foram restaurados e armazenados em água por 24h a 37 °C. Os testes de microtração, dureza e de módulo de elasticidade foram realizados para examinar as propriedades mecânicas da interface adesiva usando testes de nanoindentação. O resultado da análise estatística demonstrou diferença entre os grupos controle e os tratados com os primers experimentais. A incorporação do Hesperidin provocou um aumento nos valores de microtração dureza e módulo de elasticidade dos grupos tratados quando comparados com os outros grupos. O extrato de uva extraído apresentou uma diminuição da resistência à tração, dureza e módulo de elasticidade enquanto que o uso da clorexidina não mostrou diferenças estatisticamente significantes em relação ao grupo controle.

Dos Santos et al.⁷⁰ realizaram estudo utilizando substâncias que visam impedir a ativação das MMP's que degradam colágeno. Os autores utilizaram molares tratados com glutaraldeído 5% e semente de uva extraída 6,5%. Os tratamentos com glutaraldeído e semente de uva eram realizados 1h antes do procedimento adesivo com adesivo condicione e lave. Após 24h os espécimes foram seccionados e mantidos em água destilada ou expostos ao tratamento com

colagenase. Nanoendentações foram realizadas na camada híbrida. Os resultados demonstraram que os tratamentos com esses agentes foram capazes de aumentar a dureza e o módulo de elasticidade quando comparado aos grupos controle.

Takahashi et al.⁷¹ realizaram estudo com objetivo de avaliar a relação entre testes de microtração e propriedades mecânicas de adesivos dentinários. As superfícies dentinárias foram tratadas com adesivos autocondicionantes (Clearfil SE Bond; UniFil Bond; Tokuso Mac-Bond II; e Impreva Fluoro Bond). Após 24 horas foram submetidos a teste de microtração para mensuração das propriedades adesivas, também foram submetidos a teste de nanoendentação. O teste de resistência adesiva não apresentou diferenças estatisticamente significantes entre os sistemas adesivos. Entretanto os valores de dureza dos adesivos Clearfil SE Bond e Impreva Fuoro Bond apresentaram-se superiores aos outros dois adesivos testados. Os autores relataram também que não encontraram relação direta entre os valores obtidos nos testes de resistência adesiva e nanodureza e módulo de elasticidade dos adesivos estudados.

3 PROPOSIÇÃO

Objetivos desse trabalho são:

Avaliar a dureza da interface adesiva (camada híbrida e camada de adesivo) e a resistência de união de diferentes sistemas adesivos (autocondicionante e condicione e lave) à dentina humana imediatamente após o uso dos tratamentos de superfície com clorexidina a 0,2% e 2% utilizando para estas mensurações os testes de nanoendentação e microtração.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Após a aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (CEP-FOUSP) foi conduzido esse estudo (com parecer de aprovação nº 280.008) (ANEXO A).

Foram selecionados 48 terceiros molares humanos hígidos cedidos pelo banco de dentes da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (ANEXO B).

Os dentes então foram limpos com curetas para remoção de matéria orgânica, pedra pomes, escova de Robinson e foram armazenados em água destilada até o início do experimento.

Dos dentes utilizados no experimento, foram desgastadas as oclusais com auxílio de lixas d'água de carboneto de silício (Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, USA) de granulação decrescente, sob refrigeração, adaptadas a uma politriz (Ecomet 3, Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, USA), (lixas número 120 e 240), até que fosse possível a remoção do esmalte e a visualização da superfície dentinária de maneira plana. Após a exposição da superfície dentinária foram usadas lixas com granulação 400 por 10 segundos e lixa 600 por 60 segundos a uma velocidade de 100rpm, para padronização de uma camada de esfregaço e aplanamento da superfície. Entre as lixas era realizada lavagem em cuba ultrassônica por 480 segundos. Após a obtenção da superfície foi aplicado o tratamento correspondente ao grupo pertencente.

Os dentes foram divididos aleatoriamente em seis grupos (n=8).

Nos grupos controles 1 e 2 foram aplicados apenas os sistema adesivos referidos sem tratamento de superfície com clorexidina (Quadro 4.1).

Grupo 1	Clearfil SE Bond sem tratamento prévio (controle); *CL
Grupo 2	Adper Scotchbond Multi-Purpose sem tratamento prévio (controle); *SB
Grupo 3	Clearfil SE Bond/ Digluconato de clorexidina a 2%/ *CL 2%
Grupo 4	Adper Scotchbond Multi-Purpose/ Digluconato de clorexidina 2%/ *CL 2%
Grupo 5	Clearfil SE Bond/ Digluconato de clorexidina a 0,2%; *CL 0,2%
Grupo 6	Adper Scotchbond Multi-Purpose/ Digluconato de clorexidina 0,2%; *SB 0,2%

*Abreviação dos grupos experimentais

Quadro 4.1- Descrição dos grupos experimentais

As soluções de clorexidina foram aplicadas previamente aos procedimentos adesivos nos grupos, 3, 4, 5 e 6 da seguinte forma: com auxílio de um microbrush, foi aplicado o digluconato de clorexidina a 0,2% (solução manipulada em farmácia de manipulação contendo como agente para deluição água destilada) ou digluconato de clorexidina 2% (Clorhexidina S, FGM Dentscare LTDA). Após 60 segundos o excesso de solução de clorexidina na superfície era removido com auxílio de papel absorvente^{10,3}.

Nos grupos 3 e 5 nos quais foi aplicado o adesivo autocondicionante Clearfil SE Bond (Kuraray Co., Osaka, Japan), o tratamento de superfície com digluconato de clorexidina foi realizado previamente à aplicação do primer ácido. Nos grupos 4 e 6, nos quais foi utilizado o adesivo condicione e lave Adper Scotchbond Multi-Purpose (3M ESPE, St. Paul, MN, USA), o tratamento com clorexidina foi realizado após o condicionamento ácido e antes da aplicação do sistema adesivo⁴⁵ (Figura 4.1).

Figura 4.1- Esquema ilustrativo da sequência de aplicação dos materiais

Os sistemas adesivos foram aplicados de acordo com as especificações do fabricante.

Para o Adper Scotchbond Multiuso, adesivo composto de três passos, foi realizado o condicionamento prévio da dentina com ácido fosfórico 35% (3M ESPE, St. Paul, MN, USA) por 10s, lavado por 15s, e seco com papel absorvente. Após esta etapa foi aplicado o primer seguido de secagem com jato de ar por 5 segundos e aplicação do adesivo, na superfície tratada pelo primer, e fotoativação por 10s. Para o adesivo Clearfil SE Bond constituído de dois passos, foi aplicado o primer ácido por 20 segundos um leve jato de ar e em seguida aplicado bond que foi e fotoativado por 10 segundos.

Após a aplicação dos sistemas adesivos, foi confeccionado sobre essas superfícies de dentina tratada um bloco de resina composta Z-350 (3M ESPE, St. Paul, MN, USA) com auxílio de uma espátula de inserção nº 1 (Duflex) de 5mm de altura por meio da técnica incremental. A resina composta foi inserida em duas camadas de 2mm e uma última de 1mm. Seguindo as especificações do fabricante cada incremento descrito foi fotoativado por 20 segundos, com aparelho LED Elipar Freelight 2 (3M ESPE St. Paul, MN, USA) com intensidade de 1000mW/cm² medido pelo radiômetro LED radiometer (SDI Bayswater, Victoria, Australia).

4.1 OBTENÇÃO DOS CORPOS DE PROVA

Após 24 horas de armazenamento em água destilada, os dentes tiveram suas raízes incluídas em resina acrílica JET autopolimerizável (Artigos Odontológicos Classico, São Paulo, SP, Brasil), a fim de viabilizar o corte de cada dente com um disco diamantado acoplado, à máquina de corte (Isomet 1000, Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, USA) sob-refrigeração. Posicionado sempre de forma paralela em relação ao disco, foram feitos inicialmente os cortes em planos paralelos, seguindo o longo eixo do dente. Depois foram feitos cortes perpendiculares aos primeiros. Obteve-se assim corpos de prova em forma de palito, com área de secção transversal de aproximadamente 1mm² (Figura 4.2).

Figura 4.2 – Corpos de prova

Dos corpos de prova obtidos, 5 palitos de cada grupo foram selecionados de forma aleatória e foram utilizados para mensuração da dureza da camada híbrida e camada de adesivo enquanto o restante de palitos foi utilizado para mensuração da resistência de união por meio de testes de microtração⁶⁶.

Os 5 palitos de cada grupo selecionados para o teste de nanoindentação foram posicionados em uma matriz com o auxílio de uma fita dupla face para que fosse possível a inclusão dos mesmos em resina acrílica JET, evitando o contato da superfície a ser analisada com a mesma durante a inclusão (Figura 4.3).

4.3 – Matriz desmontável e palitos incluídos

Após a inclusão foi realizado o polimento das amostras com lixa d'água de carboneto de silício de granulação decrescente (800, 1000, 1200 e 4000) (Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, USA), sob refrigeração, adaptadas à politriz. Após a realização do polimento com as lixas foi utilizado um disco de feltro (Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, USA) com pasta diamantada de 3 μ m de granulação, sem refrigeração. Entre uma lixa e outra era realizada lavagem em cuba ultrassônica por 480 segundos. Os corpos de prova então foram levados à máquina de nanoindentação para leitura (DUH-W211S, Shimadzu Co., Tokyo, Japan) de dureza. Foram realizadas 5 endentações na camada híbrida de cada corpo de prova (palito) e 5 endentações na camada de adesivo, com distância entre as medições de 10 μ m. O ciclo aplicado foi de 1mN e a taxa de aplicação de força foi de 0,01mN/msec²¹(Figuras 4.4 a 4.6).

Figura 4.4 – Equipamento DUH-W211S

Figura 4.5 – Corpo de prova posicionado na morsa e sob o endentador

Figura 4.6 - Esquema ilustrativo das endentações realizadas na interface (camada de adesivo e camada híbrida)

Os demais palitos viáveis de cada dente foram utilizados para medição da resistência de união por meio de teste de microtração. Para isso, tais palitos foram previamente observados em lupa estereoscópica com 40x de aumento (SZ40, Olympus Corporation, Tokyo, Japan) para averiguar se a área de adesão encontrava-se perpendicular ao longo eixo do corpo de prova, caso contrário o palito era descartado, já que esta condição é primordial para que as forças de tração sejam aplicadas adequadamente. Os palitos viáveis então foram posicionados em jigs de Geraldeli de forma que a área de união resina/dentina ficasse posicionada o mais centralizada possível. Os corpos de prova foram fixados com cola gel de cianocrilato (Loctite 454, Henkel Ltda., Itapevi, SP, Brasil). Este conjunto foi levado à máquina de ensaio universal Instron 5942 (Instron Co, Canton, MA, USA) para a realização dos testes de microtração com tracionamento a uma velocidade de 0,5mm/min, até que ocorresse a fratura, registrando assim um determinado valor em Newton (N). Após esta etapa, os corpos de prova foram observados em lupa estereoscópica com 40X de aumento (SZ40, Olympus Corporation, Tokyo, Japan), para que fosse feita a classificação quanto ao tipo de fratura. Esta etapa é importante, pois apenas os valores referentes a fraturas adesivas ou mistas foram considerados para a análise estatística.

Antes da realização do ensaio os corpos de prova foram medidos de forma individual em largura e espessura com um paquímetro digital preciso em 0,01mm (Paquímetro Eletrônico Digital, Mitutoyo Sul Americana, Suzano, SP, Brasil) para o posterior cálculo da carga de ruptura por área. Os corpos de prova utilizados no experimento foram tracionados após 24h da confecção das restaurações em resina composta.

5 RESULTADOS

Os resultados originais consistiram de 308 valores de resistência adesiva, e 300 valores de dureza da camada de adesivo e da camada híbrida.

Para a análise estatística, cada variável resposta foi avaliada separadamente sendo consideradas significâncias ao nível de 1%.

5.1 RESISTÊNCIA ADESIVA

Para a análise estatística, foram calculadas as médias de cada dente a partir dos valores de todos os palitos viáveis, resultando então em 48 valores de resistência de adesiva referentes aos 6 grupos estudados ($n=8$) (Tabela 5.1).

Tabela 5.1- Valores de resistência adesiva

	Clearfil SE	Scotchbond
Controle	32,20	56,29
	15,46	51,88
	27,83	48,25
	35,54	39,30
	16,12	37,25
	43,96	40,68
	29,24	40,16
	27,63	37,32
Tratamento com clorexidina 2%	35,38	42,15
	19,24	34,09
	26,57	46,73
	35,67	38,82
	33,41	36,74
	39,28	36,04
	27,56	44,36
	26,33	34,74
Tratamento com clorexidina 0,2%	29,14	34,37
	39,81	29,59
	22,47	34,94
	33,35	41,63
	19,07	46,41
	22,25	38,49
	22,08	26,27
	30,04	33,94

Para a comparação entre os grupos estudados foi calculada a análise de variância para dados independentes (Quadro 5.1).

Fonte de variação	SQ	GL	QM	F	p
Grupos	17.3e+02	5	345.498	6.9358	0.0002 *
Resíduo	20.9e+02	42	49.814		

Quadro 5.1 - ANOVA para variável resistência adesiva

Os resultados da ANOVA demonstraram haver diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($F=6.9358$ e $p<0,0002$). Para a comparação entre as médias dos grupos foi utilizado o teste de Tukey que demonstrou haver diferença estatística entre os sistemas adesivos apenas nos grupos controle, sendo que o adesivo Adper Scotchbond Multi-Purpose apresentou maiores valores de resistência adesiva que o adesivo Clearfil SE Bond. Com o uso da clorexidina tanto a 2% quanto a 0,2% não houve diferença entre os adesivos. Em ambos os sistemas adesivos não houve diferença na resistência adesiva entre o grupo controle e as duas concentrações de clorexidina (Tabela 5.2, Quadro 5.2 e Gráfico 5.1).

Tabela 5.2 – Médias dos valores de resistência adesiva para cada grupo

Adesivos	Controle	Clorexidina 2%	Clorexidina 0,2%
CL	28,5 ^{Ba}	30,43 ^{Ca}	27,28 ^{Da}
SB	43,9 ^{Ab}	39,21 ^{Cb}	35,7 ^{Db}

Letras iguais indicam semelhança estatística ($p<0,01$). Análise entre colunas (minúsculas) e entre linhas (maiúsculas)

	CL (Controle)	SB (Controle)	CL 2%	SB 2%	CL 0,2%	SB 0,2%
CL (Controle)	-	*	n.s	*	n.s	n.s
SB (Controle)	-	-	*	n.s	*	n.s
CL 2%	-	-	-	n.s	n.s	n.s
SB2%	-	-	-	-	*	n.s
CL 0,2%	-	-	-	-	-	n.s
SB 0,2%						

Quadro 5.2 - Comparação entre as médias dos grupos para valores de resistência adesiva

Gráfico 5.1 – Valores de resultado de resistência adesiva com os 3 tratamentos nos dois sistemas adesivos testados

5.2 DUREZA DA CAMADA DE ADESIVO

Os valores de dureza da camada de adesivo consistiram de 150 valores referentes aos 6 grupos, 5 repetições e 5 endentações em cada espécime. Para a análise estatística foram calculadas as médias entre as 5 endentações, resultando em 30 valores de dureza (Tabela 5.3).

Tabela 5.3 - Valores de dureza da camada de adesivo

	Clearfil SE	Scotchbond
Controle	20,15	18,24
	19,31	16,75
	19,59	17,56
	19,17	17,89
	18,70	18,60
Tratamento com clorexidina 0,2%	18,77	15,13
	19,32	8,68
	19,11	8,69
	17,93	10,17
	18,55	21,75
Tratamento com clorexidina 0,2%	26,05	12,96
	19,97	13,73
	24,87	14,24
	22,79	15,05
	13,08	18,22

Esses valores foram submetidos à análise de variância para dados independentes (Quadro 5.3).

Fonte de variação	SQ	GL	QM	F	p
Grupos	241.965	5	48.393	4.5718	0.0048*
Resíduo	254.042	24	10.585		

Quadro 5.3 - ANOVA para dados independentes de valores de dureza da camada de adesivo

A ANOVA demonstrou haver diferença estatisticamente significativa ($F=4.5718$ e $P=0.0048$) entre os grupos. Na comparação entre as médias por meio do teste de Tukey, em cada adesivo, não foi detectada diferenças entre os grupos controle e clorexidina 2% e clorexidina 0,2%. A única diferença encontrada foi na comparação entre os dois adesivos com adição de clorexidina a 0,2% onde o Clearfil SE Bond apresentou maior dureza na camada de adesivo do que o grupo do adesivo Adper Scotchbond multi-Purpose (Tabela 5.4, Quadro 5.4 e Gráfico 5.2).

Tabela 5.4 – Médias dos valores de dureza da camada de adesivo para cada grupo

Adesivos	Controle	Clorexidina 2%	Clorexidina 0,2%
CL	18,38 ^{Aa}	18,43 ^{Ba}	21,35 ^{Ca}
SB	18,73 ^{Ab}	12,88 ^{Bb}	14,84 ^{Db}

Letras iguais indicam semelhança estatística ($p<0,01$). Análise entre colunas (minúsculas) e entre linhas (maiúsculas)

	CL (Controle)	SB (Controle)	CL 2%	SB 2%	CL 0,2%	SB 0,2%
CL (Controle)	-	n.s	n.s	*	n.s	n.s
SB (Controle)	-	-	n.s	n.s	n.s	n.s
CL 2%	-	-	-	n.s	n.s	n.s
SB 2%	-	-	-	-	*	n.s
CL 0,2%	-	-	-	-	-	*
SB 0,2%	-	-	-	-	-	-

Quadro 5.4 - Comparação entre as médias dos grupos para valores de dureza da camada de adesivo

Gráfico 5.2 - Valores de dureza da camada de adesivo

5.3 DUREZA DA CAMADA HÍBRIDA

Os valores de dureza da camada híbrida consistiram de 150 valores referentes aos 6 grupos, 5 repetições e 5 endentações em cada espécime. Para a análise estatística foram calculadas as médias entre as 5 endentações, resultando em 30 valores de dureza (Tabela 5.5).

Tabela 5.5 - Valores de dureza da camada híbrida

	Clearfil SE	Scotchbond
Controle	25,98	9,25
	27,22	13,89
	27,28	11,33
	26,97	9,88
	26,93	10,04
Tratamento com clorexidina 2%	15,95	10,18
	11,07	41,20
	12,35	40,85
	12,00	10,17
	13,07	11,61
Tratamento com clorexidina 0,2%	24,01	29,88
	22,96	30,08
	21,53	28,49
	22,35	30,38
	16,69	25,48

A ANOVA demonstrou haver diferença estatística entre os grupos ($F=5.4144$ e $p=0.0021$) e na comparação entre as médias pelo teste de Tukey verifica-se que nos grupos controle o adesivo Adper Scotchbond Multi-Purpose, apresentou menor dureza na camada híbrida que o adesivo Clearfil SE Bond, porém, nos grupos da clorexidina a 2% e 0,2% não foi detectada diferença entre os adesivos (Quadro 5.5).

Fonte de variação	SQ	GL	QM	F	p
Grupos	13.4e+02	5	267.424	5.4144	0.0021
Resíduo	11.9e+02	24	49.391		

Quadro 5.5 - ANOVA para dados independentes dos valores de dureza da camada híbrida

No grupo do adesivo Clearfil SE Bond, a clorexidina a 2% reduziu a dureza da camada híbrida em relação ao grupo controle.

No grupo do adesivo Adper Scotchbond Multi-Purpose, a clorexidina a 0,2% aumentou a dureza em relação ao grupo controle (Tabela 5.6, Quadro 5.6 e Gráfico 5.3).

Tabela 5.6 - Médias dos valores de dureza da camada híbrida para cada grupo

Adesivos	Controle	Clorexidina 2%	Clorexidina 0,2%
CL	27,00 ^{Aa}	13,00 ^{Cb}	21,00 ^{Da}
SB	11,00 ^{Bb}	23,00 ^{Cab}	29,00 ^{Da}

Letras iguais indicam semelhança estatística ($p < 0,01$). Análise entre colunas (minúsculas) e entre linhas (maiúsculas)

	CL (Controle)	SB (Controle)	CL 2%	SB 2%	CL 0,2%	SB 0,2%
CL (Controle)	-	*	*	n.s	n.s	n.s
SB (Controle)	-	-	n.s	n.s	n.s	*
CL 2%	-	-	-	n.s	n.s	*
SB2%	-	-	-	-	n.s	n.s
CL 0,2%	-	-	-	-	-	n.s
SB 0,2%	-	-	-	-	-	-

Quadro 5.6 - Comparação entre as médias dos grupos para valores de dureza da camada híbrida

Gráfico 5.3 - Valores de dureza da camada híbrida

6 DISCUSSÃO

Os avanços na odontologia restauradora e a busca por resultados que sejam efetivos leva ao desenvolvimento de materiais adesivos que incorporem em suas formulações componentes capazes de estabelecer ligações duradouras com o tecido dentinário. Desde o aparecimento das resinas restauradoras e consequentemente dos adesivos dentinários, a dificuldade de união com o tecido misto morfológicamente e com uma grande quantidade de água tem se tornado um desafio. O funcionamento normal de um sistema adesivo se baseia na evaporação da água para a posterior infiltração e formação de entrelaçamento entre os polímeros e as fibrilas colágenas⁶⁷. Entretanto essa necessidade de infiltração do polímero na camada de fibrilas colágenas desmineralizadas fez com que uma grande quantidade de componentes hidrofílicos como o metilmetacrilato-HEMA, em detrimento de componentes hidrofóbicos como os polímeros de BIS-GMA, fosse incorporado aos sistemas adesivos. Os componentes hidrofílicos são os responsáveis pela penetração na matriz desmineralizada tendo função de remover por pressão a água presente para que seja possível que os monômeros adesivos ocupem esses espaços deixados pela água⁷². Porém, a presença desses componentes hidrofílicos leva à formação de camadas híbridas permeáveis e sensíveis à hidrólise, pois a água atravessa esses componentes dissolvendo-os e degradando as fibras colágenas desnaturadas e não protegidas por esses monômeros⁷³. Dessa forma, a hidrofília dos adesivos sejam estes adesivos do tipo autocondicionante ou do tipo condicione e lave aumentam a polaridade dos polímeros⁷⁴. Como a remoção da água por esses adesivos não é total ocorre a formação de áreas instáveis. Segundo Tay et al.⁷⁵ (2006) em torno de 50% das fibrilas colágenas desmineralizadas acabam não sendo envolvidas por adesivos em seus espaços interfibrilares. Elas permanecem desnaturadas pelo ácido, apresentando-se instáveis e passíveis à hidrólise e à ação de enzimas proteolíticas. A presença dessas enzimas proteolíticas na matriz desmineralizada da dentina já tem sua comprovação como responsáveis pela desnaturação das fibrilas colágenas^{34,41,40}.

Neste estudo foram escolhidos dois tipos de adesivos dentinários com estratégias de aplicação distintas sendo estes um sistema adesivo autocondicionante (Clearfil SE Bond) e um sistema adesivo do tipo condicione e lave de três passos (Adper Scotchbond Multi-Purpose).

O adesivo Schotchbond Multi- Purpose foi escolhido por ser considerado padrão ouro dentre os adesivos condicione e lave. A utilização desse tipo de adesivo se baseia na prévia desmineralização da dentina para a aplicação de um primer que contém monômeros hidrofílicos diluídos em solventes orgânicos. Estes monômeros preparam o tecido dentinário para a etapa seguinte que consiste na aplicação do adesivo hidrofóbico que penetrará nos espaços interfibrilares formando a camada híbrida devido ao seu embricamento micromecânico com as fibrilas colágenas desmineralizadas⁶⁵. Clinicamente, adesivos de três passos tem apresentado excelentes resultados em dentina quando comparados a adesivos condicione e lave simplificados (primer e bond em um único frasco)^{76,77}. A possível explicação para esse melhor desempenho clínico estaria no fato de adesivos condicione e lave simplificados apresentarem uma redução na sua capacidade de infiltrar no tecido dentinário desmineralizado. Isso acaba formando camada híbrida com qualidade inferior e com maior propensão à sorção de água devido à natureza hidrofílica conferida a esses adesivos. A presença de solventes difíceis de serem evaporados nesse tipo de adesivo sendo apreendidos no interior do adesivo após a polimerização^{78,79}.

O adesivo de dois passos Clearfil SE foi escolhido para esse estudo devido ao fato de ser considerado padrão ouro dentre os adesivos autocondicionantes. Autores afirmam que a utilização deste tipo de adesivo é capaz de produzir maiores forças de adesão em dentina devido à presença de monômeros ácidos polimerizáveis e não laváveis diminuindo assim a probabilidade de erro na técnica operatória, que levaria a um maior controle da umidade que é um fator crítico para a adesão em dentina^{17,18}. Além disso, este adesivo de dois passos apresenta em sua composição o monômero MDP-10 que é efetivo e mais estável frente a superfícies aquosas. Conferindo assim resultados de adesão mais confiáveis e duradouros quando comparado a outros tipos de adesivos autocondicionantes

O presente estudo demonstrou, como resultado do teste que mediu a resistência adesiva por meio do teste de microtração, que o grupo controle no qual foi utilizado o adesivo autocondicionante Clearfil SE Bond, apresentaram menores valores de adesão, quando comparado ao grupo em que foi utilizado o adesivo do tipo condicione e lave Adper Scotchbond Multi-Purpose.

A utilização de substâncias com potencial inibidor das enzimas como as metaloproteinases que degradam as estruturas colágenas serviu como direcionamento para este estudo, através dos tratamentos realizados previamente aos procedimentos adesivos. O potencial de inibição da atividade proteolítica serviu como hipótese para este estudo. Após o tratamento das superfícies de dentina com digluconato de clorexidina para ambos os adesivos foi possível observar que não foram detectadas diferenças estatisticamente significantes nos valores de resistência de adesão. Os mesmos não foram influenciados imediatamente pelo uso da substância clorexidina nos grupos tratados com a solução a 2 ou 0,2% quando comparados entre si e em relação ao controle. Estes resultados corroboram com vários estudos ^{3, 47, 43, 48, 69} nos quais não foram observadas diferenças na influência do uso da clorexidina na adesão imediata de sistemas adesivos à dentina.

Estudos longitudinais apontam que o uso da clorexidina posteriormente à aplicação do ácido para os adesivos do tipo condicione e lave e previamente aos procedimentos adesivos em adesivos autocondicionantes tem o potencial de inibir a ação das metaloproteinases melhorando-a e mantendo estáveis as fibras colágenas ao longo do tempo^{53, 55}.

A aplicação da clorexidina previamente à utilização de um sistema adesivo do tipo autocondicionante como em estudo de De-Melo⁵⁹ e Mobaraket⁸⁰ não afetou negativamente os valores de adesão imediatos. Estes dados, porém não corroboram com pesquisas como a de Campos⁴⁹ e Nishitani et al.³⁹. Campos et al.⁴⁹ obtiveram como resultado que a aplicação de clorexidina em concentrações maiores do que 0,12% devem ser evitadas previamente à realização de procedimentos adesivos autocondicionantes devido à diminuição das forças de adesão. Nishitani et al.³⁹ observou redução na conversão e na resistência adesiva de um adesivo autocondicionante quando adicionado clorexidina 2 e 5%.

Outro ponto importante a ser abordado é a questão da concentração das clorexidinas utilizadas. Neste estudo não foi possível observar diferenças estatisticamente significantes nos valores de resistência de união imediata com o uso de diferentes concentrações 2 e 0,2%. Como, o uso da clorexidina a 0,2% foi capaz de apresentar valores de adesão compatíveis à clorexidina utilizada em maior concentração, pode-se inferir que o uso de substâncias com menores concentrações deve ser preferível devido apresentarem menor potencial tóxico. Em estudos longitudinais nos quais foram utilizadas as mesmas concentrações do que neste estudo, os resultados reafirmam a escolha de substâncias baixas concentrações. Loguercio et al.³ (2009) utilizando vários protocolos com diferentes concentrações de clorexidina observou que o uso de uma concentração de 0,002% por 15s foi suficiente para manter as ligações adesivas e a estabilidade da camada híbrida ao longo do tempo corroborando com Breschi et al.⁵ que em estudo longitudinal observou que as concentrações de 0,2 e 2% foram igualmente efetivas para a manutenção dos valores de adesão no intervalo de um ano.

Baseado nessas afirmações e nos resultados deste estudo no ponto de vista da resistência adesiva verifica-se que o uso da clorexidina não afeta negativamente a adesão. Como estudos demonstram sua efetividade na inibição de enzimas proteolíticas, pode-se propor que seu uso em situações clínicas tem indicação confiável.

A dureza dos materiais restauradores tem sido estudada como propriedade relevante ao comportamento desses materiais. No presente estudo foi avaliada a dureza da interface adesiva por meio de nanoindentação na camada de adesivo e na camada híbrida. Nesse tipo de teste uma carga é aplicada num ciclo de carregamento e descarregamento e é possível a leitura de pequenas áreas com baixas cargas.

Analisando os resultados dos testes de nanoindentação na camada de adesivo, os dois sistemas apresentaram comportamento semelhante, exceto com o uso da clorexidina a 0,2% em que o adesivo Clearfil SE Bond apresentou maior valor de dureza em relação ao Adper Scotchbond Multi-Prupose. Além disso, cada um dos sistemas adesivos não teve sua dureza alterada com o uso da clorexidina em qualquer uma das concentrações. Segundo Pasheley et al.⁸¹ a umidade da dentina

durante o procedimento adesivo é necessária, porém a água exerce um papel antagonista na ligação dos monômeros hidrofóbicos presente nos adesivos do tipo condicione e lave. Isto pode explicar o menor valor de dureza do adesivo Scotchbond, pois a clorexidina 0,2% utilizada neste estudo tem sua base diluída em água e pode ter sido responsável por esta redução da dureza na camada de adesivo, o que é diferente da clorexidina a 2%. Para Tay et al.⁸² a utilização de adesivos do tipo condicione e lave em superfícies muito umedecidas podem causar a separação da fase hidrofílica e hidrofóbica dos adesivos formando espaços na área de adesão. Para alguns autores, em substratos excessivamente úmidos ocorre uma menor conversão dos monômeros resinosos o que diminui as propriedades mecânicas das camadas de adesivo^{83, 84}.

Os valores de dureza da camada híbrida sem o uso da clorexidina neste estudo apresentaram-se superiores para o adesivo autocondicionante Clearfil SE Bond quando comparados aos valores de dureza obtidos pelo adesivo do tipo condicione e lave Scotchbond. Os adesivos autocondicionantes são capazes de modificar a camada de esfregaço através da infiltração de um primer com a incorporação de ácidos fracos na mesma. O adesivo autocondicionante usado neste estudo é classificado como moderado por apresentar um $\text{pH} \geq 2$ e formar uma camada híbrida em torno de $1\mu\text{m}$ quase sem formação de tags no interior dos túbulos. Esse tipo de adesivo desmineraliza a dentina apenas parcialmente deixando uma quantidade de cristais de hidroxiapatita ao redor das fibras colágenas⁸⁵.

Yoshida et al.⁸⁶ observaram que a presença da molécula 10-MDP possibilita, além do embricamento mecânico, uma adesão química aos minerais remanescentes na dentina parcialmente desmineralizada. A adesão química conseguida pela presença do 10-MDP nesse tipo de adesivo melhora a efetividade das ligações da camada híbrida e também é estável em ambientes mais aquosos^{87,86}.

A maioria dos estudos que analisam a ação de substâncias inibidoras de metaloproteinases previamente aos procedimentos adesivos utiliza como teste a resistência adesiva. Entretanto, testes de dureza são capazes também de analisar as características de um material. Os resultados de dureza da camada híbrida nesse estudo também apontaram que o grupo controle Clearfil (controle) apresentou maior dureza quando comparado ao grupo em que foi utilizado o mesmo adesivo após o

tratamento com clorexidina 2% demonstrando uma redução nos valores deste grupo. Quando comparados os grupos controle Scotchbond com o grupo Scotchbond + clorexidina 0,2% observou-se menores valores de dureza da camada híbrida no grupo controle com isso, entende-se assim que o uso da clorexidina não afetou negativamente os valores de dureza para este grupo.

A escassez de trabalhos que relacionem a presença da clorexidina no substrato e a relação das mesmas com os sistemas adesivos frente à dureza dificulta comparações. O estudo de Islam et al.⁶⁹, com adição de 0,55 de clorexidina, mostrou frente a testes de nanodureza que a propriedade de dureza da interface adesiva de um adesivo autocondicionante com adição de clorexidina, não apresentou diferenças estatisticamente significantes nos testes realizados 24h após os procedimentos adesivos. Estudos como os de Dos Santos et al.^{68,70} demonstram a capacidade do aumento de dureza na interface adesiva de substância com potencial inibidor de metaloproteinases o que pode estar relacionada indiretamente a uma melhora na manutenção das ligações adesivas, Takahashi et al.⁷¹, porém, observaram nem sempre possível estabelecer uma relação entre os testes de microtração e de dureza.

A utilização do digluconato de clorexidina demonstrou não prejudicar as propriedades de adesão apesar de terem promovido algumas alterações de dureza tanto na camada híbrida quanto na camada de adesivo, quando analisados imediatamente após os procedimentos adesivos. Além disso, como descrito na literatura, a possibilidade da utilização de substâncias com efeitos inibitórios de enzimas proteolíticas tem se apresentado como alternativa, quando utilizada previamente aos procedimentos adesivos para a manutenção das camadas adesivas (camada híbrida e camada de adesivo) ao longo do tempo. O baixo custo, a fácil aplicação e os bons resultados obtidos poderiam servir como diretriz para a realização deste protocolo durante a prática clínica.

7 CONCLUSÕES

O uso do digluconato de clorexidina nas concentrações 2% e 0,2% em dentina humana, apesar de ter apresentado discretas alterações na dureza da camada híbrida e camada de adesivo, não tiveram a capacidade de afetaram os valores de resistência de união imediata à dentina dos diferentes adesivos testados.

REFERÊNCIAS¹

- 1 Tem Cate AR. Dentinogenesis. In: tem cate AR. Oral histology development, structure, and function. Mosby, 2ND edition.1985; 129-45

- 2 Al-Ehaideb A, Mohammed H. Shear bond strength of “one bottle” dentin adhesives. J Prosthet Dent.. 2000; 84(4): 408-12.

- 3 Loguercio AD, Stanislawczuk R, Polli LG, Costa JA, Michel MD, Reis A. Influence of chlorhexidine digluconate concentration and application time on resin–dentin bond strength durability. Eur J Oral Sci. 2009;117:587–96.

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

- 5 Breschi L, Cammelli F, Visintini E, Mazzoni A, Vita F, Carrilho M, et al. Influence of chlorhexidine concentration on the durability of etch-and-rinse dentin bonds: a 12-month in vitro study. J Adhes Dent. 2009;11:191–8.

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

- 7 Hashimoto M .A review—micromorphological evidence of degradation in resin-dentin bonds and potential preventional solutions. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2010;92:268-80.

- 8 Pashley DH, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho RM, et al. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. J Dent Res. 2004;83:216–21.

- 9 Hebling S, Pashley DH, Tjaderhane L, Tay FR. Clorehexidine arrests subclinical breakdown of dentin hybrid layers in vivo. J Dent Res. 2005;84:741-6.

¹ De acordo com Estilo Vancouver.

- 10 Carrilho MOR, Carvalho R M, de Goes MF, di Hipólito V, Geraldeli S, Tay FR, Pashley DH, and Tjäderhane L. Chlorhexidine Preserves Dentin Bond in vitro J Dent Res. 2007; 86(1):90–4.
- 11 Scaffa PM, Vidal CM, Barros N, Gesteira TF, Carmona AK, Breschi L, Pashley DH, Tjäderhane L, Tersariol IL, Nascimento FD, Carrilho MR. Chlorhexidine inhibits the activity of dental cysteine cathepsins. J Dent Res. 2012;91(4):420-5.
- 12 Martins GC, Franco AP, Godoy EP, Maluf DR, Gomes JC, Gomes OMM. Adesivos dentinários. RGO. 2008; 56(4): 429-36.
- 13 Watanabe I, Nakabayashi N, Pashley DH. Bonding to ground dentin by Phenil-P Self etching primer. J Dent Res. 1994;73(6):1212-20.
- 14 Macedo DR, Dorini AL, Mendonça JS Influência de sistemas adesivos autocondicionantes na resistência de união da resina composta à dentina Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde. 2010; 12(1):47-51
- 15 Wakabayashi Y, Kondou Y, Suzuki K, Yatani H, Yamashita A. Effect of dissolution of collagen on adhesion to dentin. Int J Prosthodont. 1994;7(4):302-6.
- 16 Vargas MA, Cobb DS, Armstrong SR. Resin-dentin shear bond strength and interfacial ultrastructure with and without a hybrid layer. Oper Dent. 1997;22(4):159-66.
- 17 Pashley DH, Carvalho RM. Dentine permeability and dentine adhesion. J Dent. 1997;25(5):355-72.
- 18 Van Meerbeek B, Yoshida Y, Lambrechts P, Vanherle G, Duke ES, Eick JD, Robinson SJ. A TEM study of two water-based adhesive systems bonded to dry and wet dentin. J Dent Res. 1998;77(1):50-9.
- 19 Hashimoto M, Ohno H, Sano H, Kaga M, Oguchi H. In vitro degradation of resin–dentin bonds analyzed by microtensile bond test, scanning and transmission electron microscopy. Biomaterials. 2003;24:3795–803.
- 20 De Munck J, Van Meerbeek B, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Suzuki K, et al. Four-year water degradation of total-etch adhesives bonded to dentin. J Dent Res. 2003; 82:136-40.

- 21 Oliveira SS, Marshall SJ, Habelitz S, Gansky SA, Wilson RS, Marshall GW, Jr. The effect of a self-etching primer on the continuous demineralization of dentin. *Eur J Oral Sci.* 2004;112:376-83.
- 22 Ito S, Hashimoto M, Wadgaonkar B, Svizero N, Carvalho RM, Yiu C, et al. Effects of resin hydrophilicity on water sorption and changes in modulus of elasticity. *Biomaterials.* 2005;26:6449–59.
- 23 Yiu CK, King NM, Carrilho MR, Sauro S, Rueggeberg FA, Prati C, et al. Effect of resin hydrophilicity and temperature on water sorption of dental adhesive resins. *Biomaterials.* 2006;27:1695–703.
- 24 Tjaderhane L, Larjava H, Sorsa T, Uitto VJ, Larmas M, Salo T. The activation and function of host matrix metalloproteinases in dentin matrix breakdown in caries lesions. *J Dent Res.* 1998;77:1622–9.
- 25 Chaussain-Miller C, Fioretti F, Goldberg M & Menashi S. The role of matrix metalloproteinases (MMPs) in human caries *J Dent Research.* 2006; 85(1) 22-32.
- 26 Wang Y, Spencer P. Quantifying adhesive penetretaiion in adhesive/ dentin interface using confocal Raman microspectroscopy. *J Biomed Mater Res.* 2002;59:46-55.
- 27 Mazzoni A, Pashley DH, Nishitani Y, Breschi L, Mannello F, Tjäderhane L, Toledano M, Pashley EL., Tay FR et al. Reactivation of inactivated endogenous proteolytic activities in phosphoric acid-etched dentine by etch-and-rinse adhesives. *Biomaterials.* 2006;27(25):4470-6.
- 28 Scott JE, Thomlinson AM. The structure of interfibrillar proteoglycan bridges ('shape modules') in extracellular matrix of fibrous connective tissues and their stability in various chemical environments. *J Anat* 1998.192: 391-405.
- 29 Breschi L, Mazzoni A, Ruggeri A, Cadenaro M, Di Lerdana R, De Stefano DE. Dental adhesion review: aging and stability of the bonded interface . *Dental Mater.* 2008;24:90-101.
- 30 Sulkala M, Wahlgren J, Larmas M, Sorsa T, Teronen O, Salo T, Tjäderhane L. The effects of MMP inhibitors on human salivary MMP activity and caries progression in rats. *J Dent Res.* 2001;80(6):1545-9.

- 31 Boushell LW, Kaku M, Mochida Y, Bagnell R, Yamauchi M. Immunohistochemical localization of matrixmetalloproteinase-2 in human coronal dentin. *Arch Oral Biol.* 2008;53(2):109-16.
- 32 Lee W, Aitken S, Sodek J, Mcculloch CA. Evidence of a direct relationship between neutrophil collagenase activity and periodontal tissue destruction in vivo: role of active enzyme in human periodontitis. *J Periodont Res.* 1995;30:23–33.
- 33 Brinckerhoff CE, Matrisian LM. Matrix metalloproteinases: a tail of a frog that became a prince. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2002; 3(3):207-14.
- 34 Sulkala M, Tervahartiala T, Sorsa T, Larmas M, Salo T, Tjäderhane L. Matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) is the major collagenase in human dentin. *Arch Oral Biol.* 2007;52(2):121-7.
- 35 Zhang SC, Kern M. The role of host-derived dentinal matrix metalloproteinases in reducing dentin bonding of resin adhesives. *Int J Oral Sci.* 2009 Dec;1(4):163-76.
- 36 Martin-De Las Heras S, Valenzuela A, Overall CM. The matrix metalloproteinase gelatinase A in human dentine. *Arch Oral Biol.* 2000;45:757-65.
- 37 Mazzoni A, Mannello F, Tay FR, Tonti GA, Papa S, Mazzotti G, Di Lenarda R, Pashley DH, Breschi L. Zymographic analysis and characterization of MMP-2 and -9 forms in human sound dentin. *J Dent Res.* 2007;86:436– 40.
- 38 Zheng X, Hu J, Chen Y, Zhu Y, Chen H. AFM study of the effects of collagenase and its inhibitors on Dentine collagen fibrils. *J Dent.* 2012;40:163 –7 1.
- 39 Nishitani Y, Yoshiyama M, Wadgaonkar B, Breschi L, Mannello F, Mazzoni A, Carvalho RM, Tjäderhane L, Tay FR, Pashley DH. Activation of gelatinolytic/collagenolytic activity in dentin by self-etching adhesives. *Eur J Oral Sci.* 2006;114(2):160-6.
- 40 Mazzoni A, Scaffa P, Carrilho M, Tjäderhane L, Di Lenarda R, Polimeni A, Tezvergil-Mutluay A, Tay FR, Pashley DH, Breschi L. Effects of etch-and-rinse and self-etch adhesives on dentin MMP-2 and MMP-9. *J Dent Res.* 2013;92(1):82-6.
- 41 Lehmann N, Debret R, Roméas A, Magloire H, Degrange M, Bleicher F, et al. Self-etching increases matrix metalloproteinase expression in the dentin-pulp complex. *J Dent Res.* 2009;88:77-82.

42 Gerdon R, Grenier D, Sorsa T, Mayrand D. Inhibition of the activities of matrix metalloproteinases 2,8 and 9 by chlorhexidine. Clinical and diagnostic laboratory immunology. 1999;6:437-9.

43 Breschi L, Mazzoni A, Nato F, Carrilho M, Visintini E, Tjäderhane L, Ruggeri Jr A, Tay FR, De Stefano Dorigo E, Pashley DH. Chlorhexidine stabilizes the adhesive interface: A 2-year in vitro study dental materials. 2010;26:320–5.

44 Brackett WW, Tay FR, Brackett MG A Dib , RJ Sword , DH Pashley The Effect of Chlorhexidine on Dentin Hybrid Layers In Vivo. Oper Dent. 2007;32(2):107-11.

45 Leitune VCB, Portella FF, Bohn PV, Collares FM, Samuel SMW. Influence of chlorhexidine application on longitudinal adhesive bond strength in deciduous teeth. Braz Oral Res. 2011;25(5):388-92.

46 Herênio SS, de Carvalho NMP, Lima DM. Influence of chlorhexidine digluconate on bond strength durability of a self-etching adhesive system. RSBO 2011; 8(4):417-24 – 42.

47 Emi SM; de Souza CA, Hebling J. Exposed Collagen in Aged Resin-Dentin Bonds Produced on Sound and Caries-affected Dentin in the Presence of Chlorhexidine. J Adhes Dent. 2011;13(2):117-24.

48 Zhou J, Tanb J, Yang X, Xud X, Lie D, Chena L. MMP-Inhibitory Effect of Chlorhexidine Applied in a Self-etching Adhesive. J Adhes Dent. 2011;13(2).111-5

49 Campos EA, Correr GM, Leonardi DP, Pizzatto E, Morais EC .Influence of chlorhexidine concentration on microtensile bond strength of contemporary adhesive systems. Braz Oral Res. 2009;23(3):340-5.

50 De Castro FL, de Andrade MF, Duarte Júnior SL, Vaz LG, Ahid FJ. Effect of 2% chlorhexidine on microtensile bond strength of composite to dentin. J Adhes Dent. 2003;5(2):129-38.

51 Yiu CK, Hiraishi N, Tay FR, King NM..Effect of chlorhexidine incorporation into dental adhesive resin on durability of resin-dentin bond. J Adhes Dent. 2012;14(4):355-62

52 Lenzi TL, Tedesco TK, Soares FZ, Loguercio AD, Rocha Rde O. Chlorhexidine does not increase immediate bond strength of etch-and-rinse adhesive to caries-affected dentin of primary and permanent teeth. *Braz Dent J* 2012;23(4):438-42

53 Manfro AR, Reis A, Loguercio AD, Imparato JC, Raggio DP. Effect of different concentrations of chlorhexidine on bond strength of primary dentin. *Pediatr Dent*. 2012;34(2):11-5

54 Nishitani Y, Hosaka K, Hoshika T, Yoshiyama M, Pashley DH. Effects of chlorhexidine in self-etching adhesive: 24 hours results. *Dent Mater J*. 2013;32(3):420-4.

55 Deng D, Huang X, Huang C, Yang T, Du X, Wang Y, Ouyang X, Pei D. Effects of chlorhexidine on bonding durability of different adhesive systems using a novel thermocycling method. *Aust Dent J*. 2013;58(2):148-55.

56 Simões D, Basting R, Amaral F, Turssi C, França F. Influence of Chlorhexidine and/or Ethanol Treatment on Bond Strength of an Etch-and-rinse Adhesive to Dentin: An In Vitro and In Situ Study. *Oper Dent*. 2013. [Epub ahead of print]

57 Sabatini C. Effect of a Chlorhexidine-containing Adhesive on Dentin Bond Strength Stability. *Oper Dent*. 2013 [Epub ahead of print]

58 Dutra-Correa M, Saraceni CH, Ciaramicoli MT, Kiyan VH, Queiroz CS. Effect of Chlorhexidine on the 18-month Clinical Performance of Two Adhesives. *J Adhes Dent*. 2013;15(3):287-92.

59 De-Melo MA, Goes DD, de-Moraes MD, Santiago SL, Rodrigues LK. Effect of chlorhexidine on the bond strength of a self-etch adhesive system to sound and demineralized dentin. *Braz Oral Res*. 2013;27(3).

60 Chang YC, Huang FM, Tai KW, Chou MY. The effect of sodium hypochlorite and chlorhexidine on cultured human periodontal ligament cells. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2001;92:446–50.

61 Souza LB, De Aquino SG, De Souza PP, Hebling J, Costa CA. Cytotoxic effects of different concentrations of chlorhexidine. *Am J Dent*. 2007;20:400–4.

62 Stanislawczuk R, Amaral RC, Zander-Grande C, Gagler D, Reis A, Loguercio AD. Chlorhexidine-containing acid conditioner preserves longevity of resin-dentin bonds. *OperDent*. 2009;34:483–92.

63 Breschi L, Martin P, Mazzoni A, Nato F, Marcela Carrilho M, Tjäderhane L, Visintini E, Milena Cadenaro, Franklin R. Tay, Elettra De Stefano Dorigo Pashley DH. Use of a specific MMP-inhibitor (galardin) for preservation of hybrid layer. *Dental materials*. 2010; 26:571–578

64 Willems G, Celis JP, Lambrechts P, Braem M, Vanherle G. Hardness and Young's modulus determined by nanoindentation technique of filler particles of dental restorative materials compared with human enamel. *J Biomed Mater Res*. 1993; 27(6):747-55.

65 Van Meerbeek B, Willems G, Celis JP, Roos JR, Braem M, Lambrechts P, et al. Assessment by nano-indentation of the hardness and elasticity of the resin-dentin bonding area. *J Dent Res*. 1993;72(10):1434-42.

66 Bengtson CRG. Estudo in vitro da influência da dureza e módulo de elasticidade de sistemas adesivos na resistência de união à dentina humana. tese. São Paulo:Universidade de São Paulo,Faculdade de odontologia;2010.

67 Higashi C, Michel MD, Reis A, Loguercio AD, Gomes OM, Gomes JC. Impact of adhesive application and moisture on the mechanical properties of the adhesive interface determined by the nano-indentation technique. *Oper Dent*. 2009;34(1):51-7.

68 Dos Santos PH, Karol S, Bedran-Russo AK . Long-term nano-mechanical properties of biomodified dentin-resin interface components. *J Biomech* 2011;44(9):1691-4.

69 Islam S, Hiraishi N, Nassar M, Yiu C, Otsuki M, Tagami J. Effect of natural cross-linkers incorporation in a self-etching primer on dentine bond strength. *J Dent*. 2012;40(12):1052-9.

70 Dos Santos PH, Karol S, Bedran-Russo AK. Nanomechanical properties of biochemically modified dentin bonded interfaces. *J Oral Rehabil*. 2011;38(7):541-6.

71 Takahashi A, Sato Y, Uno S, Pereira PNR, Sano H. Effects of mechanical properties of adhesive resins on bond strength to dentin. *Dental Mater*. 2002;18:263-68.

72 Kanca J 3rd. Improving bond strength through acid etching of dentin and bonding to wet dentin surfaces. *J Am Dent Assoc.* 1992;123(9):35-43.

73 Yiu CK, King NM, Pashley DH, Suh BI, Carvalho RM, Carrilho MR, Tay FR. Effect of resin hydrophilicity and water storage on resin strength. *Biomaterials.* 2004;25(26):5789-96.

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

75 Tay FR, Pashley DH, Loushine RJ, Weller RN, Monticelli F, Osorio R. Self-etching adhesives increase collagenolytic activity in radicular dentin. *J Endod.* 2006;32(9):862-8.

76 Ritter AV, Swift EJ Jr, Heymann HO, Sturdevant JR, Wilder AD Jr. An eight-year clinical evaluation of filled and unfilled one-bottle dental adhesives. *J Am Dent Assoc.* 2009;140(1):28-37.

77 Van Meerbeek B, Peumans M, Poitevin A, Mine A, Van Ende A, Neves A, De Munck J. Relationship between bond-strength tests and clinical outcomes. *Dent Mater* 2010;26(2):100-21.

78 Finger WJ, Balkenhol M. Practitioner variability effects on dentin bonding with an acetone-based one-bottle adhesive. *J Adhes Dent.* 1999;1(4):311-4.

79 Van Meerbeek B, Van Landuyt K, De Munck J, Hashimoto M, Peumans M, Lambrechts P, Yoshida Y, Inoue S, Suzuki K. Technique-sensitivity of contemporary adhesives. *Dent Mater J.* 2005;24(1):1-13.

80 Mobarak EH. Effect of chlorhexidine pretreatment on bond strength durability of caries-affected dentin over 2-year aging in artificial saliva and under simulated intrapulpal pressure. *Oper Dent.* 2011;36(6):649-60

81 Pashley DH, Ciucchi B, Sano H, Carvalho RM, Russell CM. Bond strength versus dentine structure: a modelling approach. *Arch Oral Biol.* 1995;40(12):1109-18.

82 Tay FR, Gwinnett JA, Wei SH. Micromorphological spectrum from overdrying to overwetting acid-conditioned dentin in water-free acetone-based, single-bottle primer/adhesives. *Dent Mater.* 1996;12(4):236-44.

83 Paul SJ, Leach M, Rueggeberg FA, Pashley DH. Effect of water content on the physical properties of model dentine primer and bonding resins J Dent. 1999;27(3):209-14.

84 Spencer P & Wang Y. Adhesive phase separation at the dentin interface under wet bonding conditions. Journal of Biomedical Materials Research. 2002; 62(3): 447-56.

85 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.

86 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.

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

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Influência do uso do digluconato de clorexidina como inibidor de metaloproteinase na resistência adesiva, módulo de elasticidade e dureza da camada híbrida e camada de adesivo.

Pesquisador: Míriam Lacalle Turbino

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 11443313.2.0000.0075

Instituição Proponente: Universidade de São Paulo

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 280.008

Data da Relatoria: 23/04/2013

Apresentação do Projeto:

Estudos vêm sendo realizados a fim de contribuir para o desenvolvimento de materiais adesivos que apresentem performances clínicas mais satisfatórias. Nesse contexto, os sistemas adesivos têm demonstrado constantes avanços, apresentando atualmente maior qualidade de adesão ao esmalte e à dentina. Este estudo avaliará a resistência adesiva, dureza e módulo de elasticidade da área adesiva (sistema adesivo e camada híbrida), por meio de teste de microtração e nanoindentação. Para isso dois fatores de variação serão analisados (sistema adesivo e tratamento de superfície com clorexidina a 0,2% e 2%) e ainda um grupo controle, sem tratamento. Para isso serão utilizados 60 dentes terceiros molares humanos hígidos que serão limpos, cortados e preparados, e divididos em seis grupos com n=10 da seguinte forma: Grupo 1: Digluconato de clorexidina 0.2%/Adper Scotchbond Multiuso; Grupo 2: Digluconato de Clorexidina a 0.2%/Clearfil; Grupo 3: Digluconato de clorexidina 2%/Adper Scotchbond Multiuso; Grupo 4: Digluconato de clorexidina a 2%/Clearfil; e os grupos controles 5 e 6 onde será aplicado apenas os sistema adesivos referidos sem tratamento de superfície prévio, Grupo 5: Adper Scotchbond Multiuso sem tratamento prévio; Grupo 6: Clearfil sem tratamento prévio. As soluções de clorexidina serão aplicadas previamente aos procedimentos adesivos em todos os grupos da seguinte forma. Com auxílio de um microbrush será aplicado 1,5 uL de digluconato de clorexidina

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 05.508-900

UF: SP

Município: SÃO PAULO

Telefone: (11)3091-7960

Fax: (11)3091-7814

E-mail: cepfo@usp.br

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Continuação do Parecer: 280.008

a 0,2% ou 2%, dependendo do grupo, e após 60 segundos o excesso da superfície será removido com auxílio de papel absorvente. Nos grupos 2 e 4, nos quais serão aplicados adesivo autocondicionante, o tratamento de superfície com digluconato de clorexidina será realizado previamente à aplicação do primer ácido. Nos grupos 1 e 3 nos quais serão utilizados um adesivo que necessita de aplicação de ácido fosfórico previamente a aplicação do primer (condicione-lave), o tratamento com clorexidina será realizado após esta etapa e antes da aplicação do sistema adesivo. Os sistemas adesivos serão aplicados de acordo com as especificações do fabricante. Serão confeccionados então sobre estas superfícies tratadas um bloco de resina composta Z-350 de 5mm através da técnica incremental sendo cada incremento fotoativado por 40 segundos. Após este preparo,

cada dente de cada grupo será seccionado com auxílio de uma máquina de corte, obtendo-se, assim, corpos de prova em forma de palito, com área de secção transversal de aproximadamente 1 mm². Dos corpos de prova obtidos, um (palito) de cada dente será utilizado para mensuração do módulo de elasticidade e dureza da camada híbrida e camada de adesivo enquanto o restante de palitos será utilizado para mensuração da resistência de união por meio de testes de mitração. Nos palito de cada dente submetido ao teste de nanoindentação serão feitas cinco marcações na camada de adesivo e cinco marcações na camada híbrida. Após a realização dos dois testes nos diferentes grupos os resultados serão analisados estatisticamente de forma separada para cada variável (Dureza, Módulo de elasticidade, Resistência adesiva) por meio de análise de variância ANOVA e teste de Tukey. Os valores de resistência à tração obtidos em Newton serão transformados para Megapascal (MPa). Para correlação entre as variáveis será utilizado o teste de Person correlacionando duas a duas.

Objetivo da Pesquisa:

Os objetivos desse trabalho são avaliar a dureza e o módulo de elasticidade da região de adesão (camada híbrida e camada de adesivo) e a resistência de união de diferentes adesivos (sistema adesivo autocondicionante e convencional) à dentina humana imediatamente após o uso dos tratamentos de superfície com clorexidina a 0,2% e 2% utilizando para estas mensurações os testes de nanoindentação e microtração.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

A presente pesquisa não apresenta riscos eminentes, já que se trata de um estudo laboratorial com a utilização de dentes humano pertencentes ao Banco de Dentes Humanos da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo. Quanto aos benefícios, os pesquisadores descrevem que baseia-se em colaborar com os estudos presentes na literatura sobre o benefício do uso de

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 05.508-900

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3091-7960

Fax: (11)3091-7814

E-mail: cepfo@usp.br

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO

Continuação do Parecer: 280.008

substâncias como a clorexidina, que podem vir a melhorar as propriedades de adesão do material restaurador ao substrato dentinário caminhando, assim, para evolução dos procedimentos clínicos restauradores; favorecer os mesmos a longo prazo; melhorar a qualidade de tais procedimentos quando realizados em pacientes durante a prática clínica odontológica.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto descreve com clareza e embasamento científico o assunto que será estudado e justifica a necessidade de sua realização para contribuição na área de pesquisa. O cronograma proposto está adequado e viável de realização no prazo proposto.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados como documentos: projetos de pesquisa (formulário CEP e formato original), documento de Folha de Rosto e Carta do Banco de Dentes Humanos da FOU SP.

Recomendações:

Tudo OK.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Tudo em ordem, conforme pedidos anteriores.

O projeto descreve com clareza e embasamento científico o assunto que será estudado e justifica a necessidade de sua realização para contribuição na área de pesquisa. Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados ao CEP-FOUSP relatórios parciais anuais referentes ao andamento da pesquisa e relatório final ao término do trabalho. Qualquer modificação do projeto original deve ser apresentada a este CEP, de forma objetiva e com justificativas, para nova apreciação.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 05.508-900

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3091-7960

Fax: (11)3091-7814

E-mail: cepfo@usp.br

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO

Continuação do Parecer: 280.008

SAO PAULO, 22 de Maio de 2013

Assinador por:
Maria Gabriela Haye Biazevic
(Coordenador)

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

ANEXO B – Parecer do Banco de Dentes da FOUSP

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Odontologia
Banco de Dentes Humanos

DECLARAÇÃO AO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

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

Sendo assim, após a aprovação do CEP, nossa contribuição consistirá no oferecimento de 60 dentes humanos (terceiros molares hígidos) para a execução do trabalho de pesquisa intitulado: “Influência do uso do digluconato de clorexidina como inibidor de metaloproteinase na resistência adesiva, módulo de elasticidade e dureza da camada híbrida e camada de adesivo”, a ser realizado pela pesquisadora Tamile Rocha da Silva Lobo e orientada pela Profª Drª Miriam Lacalle Turbino.

São Paulo, 1º de novembro de 2012.

José Carlos Pettorossi Imparato
Coordenador Geral BDH

Av. Prof. Lineu Prestes, 2227 – Cidade Universitária “Armando de Salles Oliveira” – CEP 05508-900-
São Paulo – SP – Contato: (0xx11) 3091-7905 – e-mail: bdh@usp.br