Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto

Daniel Galafassi

Efeito da clorexidina na reidratação da dentina irradiada
com laser de Er:YAG após envelhecimento

Orientadora: **Profa. Dra. Silmara Aparecida Milori Corona**

Ribeirão Preto
2011

Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto

Efeito da clorexidina na reidratação da dentina irradiada com laser de Er:YAG após
envelhecimento

*Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão
Preto da Universidade de São Paulo, para a obtenção do título
de Doutor em Odontologia Restauradora.*

Área de concentração: Dentística.

Orientadora: Profa. Dra. Silmara Aparecida Milori Corona

Ribeirão Preto

2011

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.

FICHA CATALOGRÁFICA

Galafassi, Daniel

Efeito da clorexidina na reidratação da dentina irradiada com laser de Er:YAG após envelhecimento. Ribeirão Preto, 2011.

85 p. : il. ; 30 cm

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo. Departamento de Odontologia Restauradora. Área de concentração: Dentística.

Orientador: Corona, Silmara Aparecida Milori Corona.

1. Resistência dos materiais. 2. Adesivo dentinário. 3. Laser. 4. Dentina. 5. Clorexidina.

Folha de Aprovação

Nome: GALAFASSI, Daniel

Título: Efeito da clorexidina na reidratação da dentina irradiada com laser de Er:YAG após envelhecimento.

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de
Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para
a obtenção do título de Doutor em Odontologia
Restauradora

Aprovado em: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof.(a) Dr(a). _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof.(a) Dr(a). _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof.(a) Dr(a). _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof.(a) Dr(a). _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof.(a) Dr(a). _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

**Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Pesquisa de Dentística do
Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão
Preto da Universidade de São Paulo.**

No amount of experimentation can ever prove me right;
a single experiment can prove me wrong.

*A*bert *E*instein

Dedicatória

À **Deus**, que sempre iluminou e guiou meu caminho na direção certa. Deu-me força e determinação para lutar pelos meus sonhos.

Aos meus pais **Itacir Antônio Galafassi** e **Maria Inês Poloni Galafassi** pela formação moral recebida, pela ajuda e incentivo aos meus projetos de vida, quero demonstrar minha gratidão e reconhecimento.

À minha noiva **Camila Scatena**, que apareceu em meu caminho no momento certo e, de lá para cá, tem me feito ver a vida de outra maneira. Enche-me de esperança, carinho e amor. Em tão pouco tempo juntos, já passamos por vários desafios, nos ajudando sempre, e quando paro para pensar no tempo, parece que estamos juntos há décadas. Poderia escrever muito sobre o quanto você me inspira e me faz te amar cada dia mais, mas acho que esse trecho da música do Roberto Carlos fala por mim: “Eu tenho tanto para te falar, mas com palavras não sei dizer como é grande o meu amor por você. E não há nada pra comparar, para poder lhe explicar como é grande o meu amor por você. Nem mesmo o céu, nem as estrelas, nem mesmo o mar e o infinito não é maior que o meu amor nem mais bonito”. Te amo!

Ao meu irmão **Douglas Tiago Galafassi**, pelo seu grande conhecimento em informática, me auxiliou na padronização das figuras da tese, fica aqui meu agradecimento. Obrigado pelo amor e carinho desses anos todos.

Ao meu irmão **Diego Galafassi**, pelo amor, incentivo e carinho demonstrado nesses anos todos.

Agradecimentos Especiais

À minha orientadora **Profa. Dra. Silmara Aparecida Milori Corona**, primeiramente pela oportunidade de realização do doutorado e pela confiança em mim depositada desde o tempo do mestrado. Pela orientação, amizade, compreensão e incentivo. Agradeço também pelos conhecimentos comigo compartilhados, gerando grande crescimento pessoal e científico. Meu carinho e admiração serão eternos.

À amiga **Vivian Colucci**, de competência inquestionável, obrigado pela contribuição que deste a esse trabalho e aos outros que iniciamos juntos.

Ao **Prof. Dr. Bruno Carlini Júnior**, exemplo de profissional, pessoa na qual procuro sempre me espelhar, me ensinou a arte da Odontologia, serei sempre grato aos seus ensinamentos.

Ao meu amigo **Diogo Rodrigues Cruvinel**. Poucas pessoas podemos chamar de amigo e você é uma dessas, obrigado pelos momentos compartilhados em toda a pós-graduação, pelos ensinamentos na área de informática e pela parceria de domingo nos nossos churrascos.

A minha **Família** por entenderem a minha ausência nos momentos de confraternização.

Agradecimento

À Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, na pessoa do **Prof. Dr Osvaldo Luiz Bezzon**, pela acolhida e preparo nesta fase importante do aprendizado da docência.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (**FAPESP**), pela bolsa de doutorado concedida, processo nº 2008/09042-0 e pela concessão de auxílio à pesquisa para a aquisição da máquina de corte, processo nº 2009/11225-8.

Ao Chefe do Departamento de Odontologia Restauradora **Prof. Dr. Ricardo Gariba Silva**.

Ao **Prof. Dr. Antônio Luiz Rodrigues Júnior**, pela colaboração na análise estatística deste experimento. Fica aqui meu agradecimento.

À **Profa. Dra. Fernanda de Carvalho Panzeri Pires de Souza**, por ter aberto as portas de outro departamento para que pudéssemos compartilhar experiências e conhecimentos.

Às professoras da Dentística Restauradora, **Profa. Dra. Mônica Campos Serra** e **Profa. Dra. Regina Guenka Palma Dibb**, por estarem junto a mim nessa caminhada, mostrando um novo rumo a ser tomado.

À **Profa. Dra. Maria Cristina Borsatto**, pessoa inspiradora, sempre disposta a ajudar, com humildade e muita paciência. Você é um exemplo de profissional e uma grande pesquisadora.

À **Profa. Dra. Izabel Cristina Fröner**, pelos seus ensinamentos, carinho e amizade.

Aos Professores **Fernando Mandarin**, **Luiz Henrique Camargo Tomé** e **Tomio Nonaka** excelentes profissionais, agradeço pelos ensinamentos, amizade e força que me deram. Vocês também são o espelho para a minha vida profissional.

Ao **Prof. Dr. Luciano Bachmann**, seu vasto conhecimento de laser contribui muito com nosso grupo de pesquisas. Obrigado pela transmissão do seu conhecimento e pela disposição em sempre ajudar.

Ao **Prof. Dr. Marco Antonio Moreira Rodrigues da Silva, Prof. Dr. Marcelo Oliveira Mazzetto e Prof. Dr. César Bataglion**, professores da disciplina de Oclusão, ao qual tenho um grande respeito, amizade e admiração, seus ensinamentos foram de grande valia para a minha profissão, obrigado.

À **Silvia Bonassi e Liliana Scatena**, agradeço pelo apoio e pelo carinho depositados.

Ao primo **Mike**, que auxiliou na revisão do artigo formulado com os resultados desta tese.

Aos amigos (irmãos) da UPF **Aloísio, Luciano Gonçalves, Doglas, Dieison e Bernardo**, essa conquista também é de vocês. Obrigado pela amizade e por sempre torcerem por mim, acreditando no meu potencial.

Aos colegas de doutorado, **Francisco, César, Walter e Cristiane**, pelos momentos de cumplicidade, frustrações e alegrias.

Aos colegas de Pós-Graduação, **Taísa, Renata, Sandra, Ana Bárbara, Júlia e Juliana**, pela amizade, ajuda e apoio.

Aos colegas da Pediatria, **Danielle, Késsia, Martinha, Cíntia e Alessandra** que dividiram o laboratório trocando experiências.

Ao colega **Rodrigo Galo**, que contribuiu com a análise estatística de alguns trabalhos, fica aqui meu agradecimento.

Aos alunos de iniciação científica que muito colaboraram com os trabalhos desenvolvidos na FORP USP. Muito obrigado.

Aos colegas que dividiram apartamento nesse período, **Mundim, Diogo, Átila, Botelho, e Rodrigo**, obrigado pela acolhida de vocês e por compartilharem o churrasco de domingo. Obrigado pelo carinho.

Ao secretário do curso de Pós-Graduação **Carlos Feitosa dos Santos**, está sempre com um sorriso estampado no rosto e disposto a ajudar a todos. Pessoa pela qual tenho muito carinho e admiração. Obrigado por tudo.

À técnica **Patrícia Marchi**, pessoa incrível, sempre disposta a ajudar, obrigado pela ajuda na parte experimental do estudo.

Aos Técnicos do laboratório de Microscopia **Claudinha e Rodrigo**, que não mediram esforços para me ajudar na realização da microscopia desenvolvida neste trabalho.

Aos técnicos **Edson** e **Ricardo** do laboratório LIPEN que muito ajudaram na realização deste trabalho

À **Rosangela** e **Dona Luiza**, funcionárias do Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto.

À **Amália** e **Maria Isabel**, secretárias do Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto.

Ao **Seu Zé**, **Verinha**, **Aracy** e **Silvinha**, funcionários das clínicas que sempre se dispunham a nos ajudar. Obrigado pelo carinho de vocês.

Às funcionárias da Seção de pós-graduação da FORP-USP, **Regiane Moi Saciolotto** e **Isabel Cristina Sola**.

A todos os **Professores**, **Familiares**, **Funcionários** e **Amigos** que de alguma forma colaboraram para que eu chegasse ao final de mais uma etapa. Obrigado a TODOS.

Resumo

RESUMO

Esse estudo *in vitro* avaliou a resistência adesiva da dentina preparada com laser de Er:YAG ou broca, reidratada com clorexidina ou água deionizada, após armazenamento em saliva artificial e termociclagem. Cento e vinte terceiros molares humanos hígidos foram seccionados no terço médio da coroa, expondo a superfície dentinária (n=10). Os espécimes foram divididos aleatoriamente de acordo com o tratamento [laser de Er:YAG + reidratação com água deionizada (LW), laser de Er:YAG + reidratação com clorexidina a 2% (LC), turbina de alta-rotação com broca #245 + reidratação com água deionizada (TW) e turbina de alta-rotação com broca #245 + reidratação com clorexidina a 2% (TC)]. Após o preparo da dentina, os espécimes foram condicionados com ácido fosfórico 35%, lavados e secos com ar. A reidratação da dentina foi realizada através da aplicação de 1.5µL de água deionizada ou clorexidina 2%. Um sistema adesivo *etch and rinse* foi aplicado seguido da restauração com resina composta. Em cada grupo os espécimes foram sub-divididos de acordo com o envelhecimento [24 horas de armazenamento em saliva artificial / sem termociclagem (NA); 6 meses de armazenamento em saliva artificial / 12.000 ciclos térmicos (6A); 12 meses de armazenamento em saliva artificial / 24.000 ciclos térmicos(12A)]. Após cada período de envelhecimento, os dentes foram seccionados a fim de se obter 4 palitos com área de $\pm 1.0 \text{ mm}^2$, que foram submetidos ao teste de microtração usando uma máquina universal de testes com velocidade de 0.5 mm/min. Para a análise da interface adesiva em MEV foram utilizados 36 terceiros molares hígidos (n = 3) que foram restaurados e envelhecidos como descrito no protocolo empregado para o teste adesivo. ANOVA a dois critérios mostrou que não houve diferença significativa para a interação entre os fatores e para o fator envelhecimento. O teste de Tukey 5% mostrou que o grupo LC apresentou os menores valores de resistência adesiva. A análise da interface adesiva através da MEV demonstrou que para os grupos irradiados houve formação de camada híbrida irregular com presença de fendas e o envelhecimento não interferiu na morfologia da interface adesiva. A reidratação com clorexidina influenciou negativamente a resistência adesiva do prepare com laser de Er:YAG. O envelhecimento em saliva artificial e termociclagem não interferiram na resistência adesiva da dentina.

Palavras chave: Resistência dos materiais, adesivo dentinário, laser, dentina, clorexidina.

Abstract

ABSTRACT

This *in vitro* study evaluated the bond strength of dentin prepared with Er: YAG laser or turbine, rehydrated with chlorhexidine or deionized water after artificial saliva storage and thermocycling. One hundred twenty human third molars were sectioned in order to expose the dentin surface (n=10). The specimens were equally and randomly divided according to treatment [Er:YAG laser + deionized water rehydration (LW), Er:YAG laser + chlorhexidine 2% rehydration (LC), bur on high-speed turbine + deionized water rehydration (BW) and bur on high-speed turbine + chlorhexidine 2% rehydration (BC)]. After dentin preparation, the specimens were etched with 35% phosphoric acid, washed and dried with air. The dentin rehydration method was performed with deionized water or chlorhexidine 2% by applying 1.5µL of each solution. An *etch and rinse* adhesive system was then applied and the samples were restored with a composite. In each group, the specimens were sub-divided in accordance with the aging method [24 hours artificial saliva storage, no thermocycling (NA); 6 months of artificial saliva storage, 12.000 thermocycling (6A); 12 months of artificial saliva storage, 24.000 thermocycling (12 A)]. After each aging period, each tooth was sectioned in order to obtain 4 sticks with a cross-sectional area of 1.0 mm², which were submitted to microtensile test using the Universal Test Machine (0.5 mm/min). For the adhesive interface analysis by SEM, 36 healthy third molars (n=3) were restored and aged as the protocol used for the adhesive test. The two-way ANOVA showed no significant differences for the interaction between the factors and for the aging factor. Tukey test 5% showed that the LC group had the lowest bond strength values. The adhesive interface analysis by SEM showed that the irradiated groups presented irregular hybrid layer and cracks and the aging did not affect the adhesive interface morphology. The rehydration with chlorhexidine negatively influenced the bond strength of the preparation with the Er:YAG laser. The artificial saliva aging and thermocycling did not interfere with dentin bond strength.

Key Words: Materials strength, dentin adhesive, laser, dentin, chlorhexidine.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Descrição dos blocos experimentais	41
Tabela 2 -	Média da resistência a microtração (DP) da dentina preparada com laser de Er:YAG ou turbina de alta rotação, reidratada com água deionizada ou clorexidina após o envelhecimento (Mpa).	55
Tabela 3 -	Médias da resistência a microtração e desvios padrão para o fator Tratamento.	56
Tabela 4 -	Médias da resistência a microtração e desvios padrão para o fator Envelhecimento.	56

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Fluxograma da análise da resistência adesiva	43
Figura 2 -	Fluxograma da análise morfológica da interface adesiva em MEV	49
Figura 3 -	Imagens de microscopia eletrônica de varredura das interfaces adesivas com aumento de 1500X	57
Figura 4 -	Imagens da interface adesiva através de microscopia eletrônica de Varredura com aumento de 3000X	59
Figura 5 -	Análise em MEV do padrão de fratura mais frequente para cada espécime estudado	61

LISTA DE GRÁFICO

Gráfico 1 - Porcentagem do padrão de fratura para os espécimes estudados

61

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

Er:YAG	Laser de Erbium dopado com Yttrium Aluminium Garnet
µm	Micrometro
OH ⁻	Íons hidroxila
MMP	Metaloproteinase da matriz
Mpa	Megapascal
PVC	Cloreto de polivinila
mm	Milímetro
W	Watt
Hz	Hertz
mJ	Milijoule
mL	Mililitro
Min	Minuto
µL	Microlitro
°C	Graus Celsius
M	Mol
pH	Potencial Hidrogeniônico
EDTA	Ácido Etilenodiamino tetra-acético
HMDS	Hexametildisiloxano
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura

Sumário

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	29
PROPOSIÇÃO	35
MATERIAIS E MÉTODOS	39
Delineamento Experimental	41
Seleção dos dentes e aspectos éticos.....	45
Preparo da superfície dentinária.....	45
Procedimento adesivo e restauração dos corpos de prova.....	45
Envelhecimento da interface adesiva.....	46
Teste de microtração.....	46
Análise do padrão de fratura em MEV.....	47
Análise da interface adesiva em MEV.....	47
RESULTADOS	53
Análise da interface adesiva em MEV.....	56
Análise do padrão de fratura.....	59
DISCUSSÃO	63
CONCLUSÃO	69
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73
ANEXO.....	83

Introdução

INTRODUÇÃO

A irradiação com laser de Er:YAG tem sido proposta como técnica alternativa para a remoção de tecido cariado (AOKI *et al.*, 1998; COZEAN *et al.*, 1997; SATTABANASUK *et al.*, 2006) e preparo de micro-cavidades (ARMENGOL *et al.*, 1999; DE MUNCK *et al.*, 2002; VAN MEERBEEK *et al.*, 2003), uma vez que apresenta vantagens em relação aos métodos convencionais, como a possibilidade de uma remoção tecidual conservadora, redução da sensibilidade, ruídos e vibrações (DE MOOR & DELMÉ, 2010; HIBST *et al.*, 2002), proporcionando maior conforto ao paciente, uma vez que, elimina a necessidade de anestesia local na maioria dos casos (KELLER *et al.*, 1998; PELAGALLI *et al.*, 1997).

O laser de Er:YAG tem se demonstrado efetivo na ablação de tecidos duros (CORONA *et al.*, 2007; CORONA *et al.*, 2008; FREITAS *et al.*, 2007), uma vez que emite um comprimento de onda de 2,94 μ m, coincidente com o pico máximo de absorção de água e radicais OH⁻ presentes nos tecidos dentais (HIBST & KELLER, 1989; RAMOS *et al.*, 2002). Tal fato ocasiona a vaporização da água e dos componentes hidratados dos tecidos, causando um rápido aquecimento, seguido por microexplosões resultantes do aumento da pressão interna das moléculas, que, por sua vez, levam a ejeção do substrato em forma de fragmentos microscópicos (AOKI *et al.*, 1998; HIBST & KELLER, 1989; HOSSAIN *et al.*, 1999; MATSUMOTO *et al.*, 1996) de modo seguro e eficaz desde que empregado sob parâmetros adequados.

Apesar da efetividade na ablação de tecidos duros dentais, observa-se que, com relação ao processo de adesão, a interação dos sistemas adesivos com a dentina irradiada, bem como o impacto do laser de Er:YAG sobre as fibras colágenas não apresentam-se totalmente esclarecidos. Autores verificam a ocorrência de alterações microestruturais como microrrupturas e desnaturação das fibras colágenas (ARANHA *et al.*, 2007; CEBALLOS *et al.*, 2002; MARTINEZ-INSUA *et al.*, 2000; RAMOS *et al.*, 2002), o que pode interferir na adesão de materiais resinosos devido ao fato da adesão à superfície dental depender diretamente do engajamento do monômero resinoso com as fibras colágenas expostas (SCHEIN *et al.*, 2003).

Um aspecto bastante importante a ser apontado é que a grande maioria dos testes de adesão entre sistemas adesivos e a dentina irradiada com laser de Er:YAG são realizados após curtos períodos decorrentes da confecção das restaurações (DE MUNCK *et al.*, 2002; GURGAN *et al.*, 2007; RAMOS *et al.*, 2002; TRAJTENBERG *et al.*, 2004; VAN MEERBEEK *et al.*, 2003), o que dificulta a predição da durabilidade destas.

Logo após a confecção das restaurações e após curtos períodos de degradação, observa-se comportamento semelhante na adesão de superfícies preparadas com brocas ou laser de Er:YAG (AMARAL *et al.*, 2008). Porém, quando os testes de adesão são realizados após longos períodos de armazenagem em água e termociclagem, observa-se uma maior influência na degradação da camada híbrida nos espécimes preparados com laser de Er:YAG do que naqueles preparados com brocas (AMARAL *et al.*, 2008).

Uma maneira habitualmente utilizada para simular *in vitro* o envelhecimento de restaurações que ocorre na cavidade bucal é o armazenamento em água destilada ou saliva artificial associado à termociclagem das amostras (AMARAL *et al.*, 2007; AMARAL *et al.*, 2008; AMARAL *et al.*, 2008b; HUANG *et al.*, 2004; QUO *et al.*, 2002; WAHAB *et al.*, 2003).

A degradação apresenta elevada influência no desempenho clínico e, conseqüentemente, na durabilidade das restaurações (AMARAL *et al.*, 2007). Consideráveis evidências têm sido acumuladas ao longo da última década, baseadas em estudos *in vitro* e *in vivo* (HEBLING *et al.*, 2005), de que as ligações adesivas criadas entre a dentina e adesivos resinosos podem não ser tão duráveis como se pensava anteriormente (DE MUNCK *et al.*, 2005; FRANKENBERGER *et al.*, 2005). Apesar das estratégias de se incorporar componentes resinosos iônicos e hidrofílicos aos sistemas adesivos em decorrência da necessidade de se obter uma adesão adequada em um substrato intrinsecamente úmido (HEBLING *et al.*, 2005) criou-se uma matriz resinosa potencialmente instável que se degrada lentamente devido a sorção de água (YIU *et al.*, 2004).

Associado a solubilização de componentes dos sistemas adesivos, observa-se também a degradação das fibras colágenas que tem sido atribuída não só ao estoque dos espécimes em água durante o período de envelhecimento das restaurações, mas também à quebra da matriz de colágeno por atividade enzimática endógena, como as metaloproteinases (MMPs) (ZHANG *et al.*, 2009). A dentina apresenta as MMPs, que são uma classe de collagenases zinco e cálcio-dependentes que tem como função regular o metabolismo de tecidos que contém colágeno (CHAUSSAIN-MILLER *et al.*, 2006; SULKALA *et al.*, 2002; ZHANG *et al.*, 2009) e que, conseqüentemente também são capazes de degradar a matriz orgânica de dentina após a desmineralização (PASHLEY *et al.*, 2004), seja ela causada por processo carioso ou por ação de ácidos envolvidos no protocolo restaurador.

Vários estudos recentes *in vitro* (CARRILHO *et al.*, 2007; PASHLEY *et al.*, 2004) e *in vivo* (BRACKET *et al.*, 2007; CARRILHO *et al.*, 2007; HEBLING *et al.*, 2005) têm demonstrado que, em preparos cavitários realizados com broca, o uso de inibidores de proteases, capazes de preservar a integridade estrutural das fibras colágenas, poderiam

minimizar a degradação da camada híbrida e, conseqüentemente, favorecer a longevidade das restaurações. Nestes estudos (CARRILHO *et al.*, 2007; CARRILHO *et al.*, 2007b; HEBLING *et al.*, 2005; PASHLEY *et al.*, 2004;) observa-se como principal método empregado na tentativa de se inibir a degradação da camada híbrida, mais precisamente preservar a matriz de colágeno parcialmente desmineralizada, o uso de clorexidina para reidratar a dentina após a realização do condicionamento ácido. Foi observado *in vitro* e *in vivo* que a clorexidina é capaz de preservar a camada híbrida quando os espécimes são submetidos à degradação (CARRILHO *et al.*, 2007; CARRILHO *et al.*, 2007b; HEBLING *et al.*, 2005; PASHLEY *et al.*, 2004) sem que haja interferência na resistência adesiva inicial (CARRILHO *et al.*, 2007; CARRILHO *et al.*, 2007b).

Desta forma, frente à maior instabilidade na adesão de sistemas adesivos à dentina irradiada com laser de Er:YAG e a inexistência de estudos que avaliem o efeito da clorexidina na estabilização da degradação da camada híbrida, o presente estudo avaliou a influência da reidratação com clorexidina na dentina irradiada com laser de Er:YAG por meio de análise da resistência adesiva ao longo do tempo.

Proposição

PROPOSIÇÃO

Os objetivos do presente trabalho foram:

- Avaliar *in vitro* o efeito da reidratação com clorexidina ou água da dentina preparada com laser de Er:YAG ou turbina de alta-rotação após envelhecimento em saliva artificial e termociclagem, por meio da análise da resistência adesiva.
- Analisar qualitativamente a morfologia da interface adesiva após envelhecimento em saliva artificial e termociclagem, por meio da microscopia eletrônica de varredura.

Materiais e Métodos

MATERIAIS E MÉTODOS

Delineamento Experimental

Os fatores em estudo foram o **tratamento da dentina** em quatro níveis [laser Er:YAG + reidratação com água deionizada (LW), laser Er:YAG + reidratação com clorexidina (LC), turbina de alta rotação + reidratação com água (TW) e turbina de alta rotação + reidratação com clorexidina (TC)], e o **envelhecimento** em três níveis: 24 horas de armazenamento em saliva artificial / nenhum ciclo (NA); 6 meses de armazenamento em saliva artificial / 12.000 ciclos (6A) e 12 meses de armazenamento em saliva artificial / 24.000 ciclos (12A) (Figura 1). A amostra do experimento foi delineada em blocos completos casualizados, compostos por 120 fragmentos de dentina divididos aleatoriamente em 10 blocos (Tabela 1). A variável de resposta quantitativa foi a resistência adesiva (MPa), obtida através teste de microtração. Para a análise qualitativa da interface adesiva por meio de MEV, 36 terceiros molares foram empregados (n=3).

Tabela 1: Descrição dos blocos experimentais

Tratamento da dentina	Envelhecimento
Laser Er:YAG + reidratação com água (LW)	24 horas / nenhum ciclo (NA)
Laser Er:YAG + reidratação com água (LW)	6 meses / 12.000 ciclos (6A)
Laser Er:YAG + reidratação com água (LW)	12 meses / 24.000 ciclos (12A)
Laser Er:YAG + reidratação com clorexidina (LC)	24 horas / nenhum ciclo (NA)
Laser Er:YAG + reidratação com clorexidina (LC)	6 meses / 12.000 ciclos (6A)
Laser Er:YAG + reidratação com clorexidina (LC)	12 meses / 24.000 ciclos (12A)
Turbina de alta rotação + reidratação com água (TW)	24 horas / nenhum ciclo (NA)
Turbina de alta rotação + reidratação com água (TW)	6 meses / 12.000 ciclos (6A)
Turbina de alta rotação + reidratação com água (TW)	12 meses / 24.000 ciclos (12A)
Turbina de alta rotação + reidratação com clorexidina (TC)	24 horas / nenhum ciclo (NA)
Turbina de alta rotação + reidratação com clorexidina (TC)	6 meses / 12.000 ciclos (6A)
Turbina de alta rotação + reidratação com clorexidina (TC)	12 meses / 24.000 ciclos (12A)

Figura 1: Fluxograma da análise da resistência adesiva: A) Inclusão dos dentes em resina; B) Corte da coroa no terço médio; C) Planificação com lixa #600; D1) Preparo com Laser de Er:YAG; D2) Preparo com turbina de alta-rotação; E) Condicionamento com ácido fosfórico; F) Lavagem com água; G) Secagem com jato de ar; H1) Reidratação com clorexidina; H2) Reidratação com água deionizada; I) Aplicação do sistema adesivo; J) Confeção de um platô de resina; K1) Armazenamento em saliva artificial; K2) Armazenamento em saliva artificial 6 meses e 12.000 ciclos térmicos; K3) Armazenamento em saliva artificial por 12 meses e 24.000 ciclos térmicos; L) Corte em palitos; M) Teste de microtração; N) Análise do padrão de fratura em lupa; O) Análise representativa em MEV.

Seleção dos dentes e aspectos éticos

Após a submissão e aprovação do projeto pelo comitê de ética em pesquisa inscrito no processo número 2009.1.165.58.1 (anexo), cento e cinquenta e seis terceiros molares humanos hígidos, recentemente extraídos foram selecionados do banco de dentes da Faculdade de Odontologia da Universidade de Ribeirão Preto (FORP-USP). Os dentes foram estocados em solução de timol a 0,2%, mantidos a uma temperatura de 4°C por um período de 48 horas para a desinfecção.

Preparo da superfície dentinária

A porção radicular dos dentes foi incluída em resina de poliéster, através de um cilindro de PVC (Tigre, Rio Claro, SP, Brasil) (1,7 X 1,5mm). Em seguida, a superfície oclusal foi removida com um disco diamantado montado em cortadeira metalográfica (Isomet 1000 Buehler Ltd. Lake Bluff, IL, EUA), de modo a expor a dentina coronária superficial. Os dentes foram lixados em uma politriz (Beta, Buehler Ltd, Lake Bluff, IL, EUA) com lixa d'água de granulação #600 (Lixa carbeto de Silício T277, Norton Indústria e Comércio Ltda, Guarulhos, SP, Brasil). Após, todos os dentes permaneceram em água deionizada por 24 horas.

Para a superfície dentinária irradiada, foi aplicado o Laser de Er:YAG (Twin Ligth Fotona Medical Lasers, Ljubljana, Slovenia) com potência de 260mJ e frequência de 4Hz, resultando em densidade de energia de 47 J/cm² e potência de 1W, que foi mensurada através de um medidor de potência (FieldMax II – TOP, Coherent Inc., Santa Clara, USA), fazendo uma varredura por toda a superfície da dentina exposta no sentido transversal e no sentido horizontal empregando-se um dispositivo que promove a fixação da caneta do laser. O feixe laser foi aplicado no modo não-contato, focado, a uma distância de 12mm do substrato (AMARAL *et al.*, 2008), com *spray* de água de 1,5mL/min (COLUCCI *et al.*, 2008; AMARAL *et al.*, 2008). Para superfície dentinária não irradiada, foi realizado o preparo cavitário com broca carbide #245 (Broca #245, Jota AG Rotatory Instruments, Rüthi, Switzerland) em turbina de alta-rotação (605 C, Kavo do Brasil Ind. Com. LTDA., Joinville, SC, Brasil), sob refrigeração constante. Foram realizados os mesmos movimentos de varredura empregados no grupo laser (no sentido transversal e horizontal).

Procedimento adesivo e restauração dos corpos de prova

Ao final do preparo da superfície dentinária, os espécimes foram condicionados com ácido fosfórico 35% (Etching gel, 3M Dental Products, St. Paul, MN, USA) por 15 segundos, lavados por 30 segundos e secos com jato de ar por 30 segundos (CARRILHO *et al.*, 2007). Após a secagem da superfície dentinária, os espécimes LC (NA, 6A, 12A) e BC (NA, 6A, 12A) foram reidratados com 1,5µL de clorexidina a 2% (Clorhexidina S, Dentscare LTDA, Joinville, SC, Brasil) com auxílio de uma micropipeta (Labmate Soft, PZ HTL S.A., Warsaw, Poland), pelo tempo de 60 segundos, sendo o excesso removido com papel absorvente. (CARRILHO *et al.*, 2007) e nos espécimes dos grupos LW (NA, 6A, 12A) e BW (NA, 6A, 12A) foi realizada a reidratação da dentina com água deionizada da mesma maneira dos anteriores. Em seguida, foi aplicado o sistema adesivo Single Bond 2 (3M Dental Products, Irvine, CA, USA), conforme instruções do fabricante: aplicação de uma camada, aguardar 20 segundos, breve jato de ar, aplicação da segunda camada conforme a primeira, seguido da polimerização com luz halógena (XL-3000, 3M Dental products, Grafenau, Germany) por 10 segundos. A seguir, foi confeccionado sobre a superfície de dentina de cada dente, um platô de resina composta filtek Z350 cor A3 (3M Dental products, St. Paul, MN, USA), pela técnica incremental em 4 camadas contendo cada uma 1mm de espessura, totalizando 4mm. Cada uma das camadas foi fotopolimerizada por 20 segundos.

Envelhecimento da interface adesiva

Após a confecção do platô de resina, os corpos de prova foram envelhecidos na sequencia determinada pelo sorteio em blocos completos casualizados: 24 horas de estocagem em saliva artificial / nenhum ciclo térmico; 6 meses de estocagem em saliva artificial / 12.000 ciclos térmicos e 12 meses de estocagem em saliva artificial / 24.000 ciclos térmicos. O envelhecimento foi composto de 500 ciclos de termociclagem (Ética Equipamentos Científicos S.A., São Paulo, SP, Brasil) (5°C e 55°C) semanais, até que se completem 12.000 e 24.000 ciclos. Nos intervalos semanais, os espécimes permaneceram imersos em 100 mL de saliva artificial (AMAECHI, HIGHAM, EDGAR, 1999) em estufa (ECB 1.3, Odontobras, Ribeirão Preto, SP, Brasil) a uma temperatura de 37°C substituída semanalmente.

Teste de microtração

Após 24 horas de estocagem em saliva artificial os corpos de prova LW, LC, BW e BC, foram posicionados na cortadora metalográfica e seccionados de forma a se obter 4 palitos de cerca de 1,0mm² ($\pm$ 0,2mm²). Os palitos foram devidamente medidos,

identificados e fixados na garra do dispositivo usado para o teste de microtração com cola de cianoacrilato em gel (Super Bonder gel, Henkel Ltda., São Paulo, SP, Brasil). Com o espécime fixado à garra, este foi submetido ao teste de resistência a microtração em Máquina Universal de Ensaio (EMIC, Equipamentos e Sistemas de Ensaio LTDA, São José dos Pinhais, PR, Brasil) com velocidade de 0,5 mm/min até que ocorresse a falha. O mesmo procedimento foi realizado para os espécimes LW, LC, BW e BC nos tempos (6A e 12 A).

Análise do padrão de fratura em lupa estereoscópica

Quatrocentos e oitenta palitos foram fraturados no teste de microtração e analisados em lupa estereoscópica com aumento de 10X. As fraturas foram classificadas em: *fratura adesiva* (rompimento na interface dentina/adesivo); *fratura coesiva em dentina* (rompimento da estrutura dentinária); *fratura coesiva em resina* (rompimento da resina); *fratura mista* (presença de fratura em dentina e resina em um mesmo corpo de prova). Três palitos do padrão de fratura de cada tratamento foram selecionados e preparados para a análise em MEV para ilustrar o padrão de fratura mais prevalente.

Análise da Interface Adesiva em Microscopia Eletrônica de Varredura

Para a análise morfológica, foram utilizados 36 terceiros molares hígidos divididos nos 12 tratamentos totalizando 3 blocos completos (n=3), que foram preparados, restaurados e armazenados da mesma forma que a descrita para o teste de microtração. Cada conjunto dente/resina foi incluído em blocos de resina acrílica ativada quimicamente com o auxílio de uma matriz de silicone. Após a polimerização da resina, os espécimes foram posicionados na cortadora metalográfica e seccionadas longitudinalmente no sentido vestibulo-lingual, por um disco diamantado refrigerado com água, obtendo-se três cortes de 1 mm por dente. Em seguida, os espécimes foram incluídos em resina de poliéster e, após a presa da mesma, as secções foram lixadas manualmente com o auxílio de lixas d'água abrasivas de granulação decrescente (#600 a #1200) e polidas pasta de alumina 3µm (Struers A/S, Copenhagen, Denmark) em tecido de seda (Figura 2).

Para a desidratação, os espécimes foram imersos em solução de glutaraldeído (2,5%) em tampão cacodilato de sódio 0,1 M, com pH 7,4, durante 12 horas a 4° C. Após a fixação, os espécimes foram lavados em água destilada por 3 minutos, imersos em água destilada por 1 hora, trocando-se a água a cada 20 minutos.

Em seguida, as superfícies a serem analisadas foram tratadas com EDTA 17% por 5 minutos, lavados, imersos em água destilada e mantidos em um aparelho de ultra-som (T-1449-D, Odontobrás, Ribeirão Preto, SP, Brasil) por 10 minutos, para remoção de possíveis resíduos. Posteriormente, os espécimes foram desidratados com graus ascendentes de

etanol (Labsynth Ltda., Diadema, SP, Brasil): 25% (20 min.), 50% (20 min.), 75% (20 min.), 95% (30 min.) e 100% (60 min.). Para finalizar, as secções foram mantidas por mais 10 minutos em uma solução de HMDS (Merck KGaA, Darmstadt, Germany), secas com papel absorvente, fixadas em *stubs* e metalizadas com cobertura de ouro.

Durante a análise, foi realizada a varredura de toda a interface adesiva e as regiões mais representativas de cada espécime foram fotografadas. A análise das interfaces adesivas foram realizadas através de uma avaliação visual e qualitativa.

Figura 2: Fluxograma da análise morfológica da interface adesiva em MEV: A) Secção dos corpos de prova no sentido vestibulo-lingual; B) Corpo de prova seccionado; C) Inclusão em Resina de poliéster; D) Polimento do corpo de prova; E) Imersão em glutaraldeído; F) Lavagem com água; G) Limpeza com EDTA e lavagem com água; H) Limpeza em cuba ultrassônica I) Desidratação em álcool 25%; J) Desidratação em álcool 50%; K) Desidratação em álcool 75%; L) Desidratação em álcool 95%; M) Desidratação em álcool absoluto; N) Desidratação em HMDS; O) Análise em MEV.

Análise estatística

Foi realizada uma média dos valores obtidos para os 4 palitos de um mesmo espécime e esse considerado o valor médio.

O software empregado na análise foi o R. Os dados foram estatisticamente analisados por ANOVA two-way e teste de Tukey ao nível de significância de 5%.

Resultados

RESULTADOS

Os valores médios (desvio padrão) da resistência a microtração da dentina preparada com laser de Er:YAG ou turbina de alta rotação (broca #245), após o envelhecimento realizado por meio do armazenamento em água deionizada (24 horas, 6 e 12 meses) / termociclagem (sem ciclos, 12.000 e 24.000 ciclos térmicos) estão resumidos na tabela 2.

Tabela 2: Média da resistência a microtração (DP) da dentina preparada com laser de Er:YAG ou turbina de alta rotação, reidratada com água deionizada ou clorexidina após o envelhecimento (Mpa).

Tratamento Preparo/Reidratação	Envelhecimento		
	sem ciclos térmicos/24 horas	12.000 ciclos térmicos/6 meses	24.000 ciclos térmicos/12 meses
Turbina / água (TW)	27,89 (10,11)	21,16 (7,43)	23,85 (7,43)
Turbina / clorexidina (TC)	29,30 (5,66)	21,82 (5,97)	21,29 (13,35)
Laser Er:YAG / água (LW)	19,67 (9,85)	21,38 (9,10)	19,32 (6,67)
Laser Er:YAG / clorexidina (LC)	12,42 (4,99)	12,42 (6,74)	11,59 (8,24)

A ANOVA a dois critérios revelou que houve efeito significativo para o fator *Tratamento* ($p=0.0000$) (Tabela 3). Para o fator *Envelhecimento* ($p=0,1289$) (tabela 4) e para a interação dos fatores *Tratamento* e *Envelhecimento* ($p=0.4519$), não se observou efeito significativo.

O teste de Tukey demonstrou que, para o fator Tratamento o grupo LC apresentou menor resistência adesiva, diferindo estatisticamente dos grupo BA e BC. O grupo LA, não diferiu estatisticamente dos demais grupos (tabela 2).

Tabela 3: Médias da resistência a microtração e desvios padrão para o fator Tratamento.

Tratamentos	Média em MPa
TW	24,3 (8,11) ^b
TC	24,1 (9,49) ^b
LW	20,1 (8,39) ^{ab}
LC	12,1 (6,56) ^a

Letras iguais indicam similaridade estatística

Tabela 4: Médias da resistência a microtração e desvios padrão para o fator Envelhecimento.

Envelhecimento	Média em MPa
24 horas	22,32 (10,06) ^a
6 meses	19,20 (10,32) ^a
12 meses	19,01 (7,76) ^a

Letras iguais indicam similaridade estatística

Análise da interface adesiva através da MEV

A análise da interface adesiva demonstrou para os grupos irradiados, formação de camada híbrida irregular, com a presença de fendas. Houve a formação de *tags* regulares, com “prolongamentos” e maior deposição de adesivo na região dos vales e os picos foram cobertos com uma fina camada de adesivo. No entanto, pôde-se observar formação de *tags* de resina uniformes (figura 3g, 3h, 3i, 3j, 3k, 3l).

Para os grupos preparados com turbina de alta rotação houve a formação da camada híbrida regular, com presença de *tags* uniformes e em formato de funil (figura 3a, 3b, 3c, 3d, 3e).

A análise das imagens dos grupos turbina de alta rotação 3c e 3f evidenciaram microfraturas na interface e ausência de *tags*, que também foram observados também nas imagens 3i e 3l.

O envelhecimento dos espécimes não interferiu na morfologia da interface adesiva para os grupos irradiados. Para os grupos preparados com turbina de alta-rotação houve a formação de microfendas após 12 meses de armazenamento e 24.000 ciclos térmicos.

Figura 3: Imagens de microscopia eletrônica de varredura das interfaces adesivas com aumento de 1500X. a) TW NA; b) TW 6A; c) TW 12A; d) TC NS; e) TC6A; f) TC 12A; g) LW NA; h) LW 6A; i) LW 12A; j) LC NA; k) LC 6A; l) LC 12A. A = Adesivo; D = Dentina; H = Camada híbrida; R = Resina; * = microfendas. Setas indicam os vales e picos do padrão irregular da dentina preparada com laser de Er:YAG.

Figura 4: Imagens da interface adesiva através de microscopia eletrônica de Varredura com aumento de 3000X. A) Preparo com turbina reidratado com água B) Preparo com turbina reidratado com clorexidina; C) Preparo com laser de Er:YAG reidratado com água; D) Preparo com laser de Er:YAG reidratado com clorexidina. As setas indicam os *tags* para os diferentes preparos, as imagens B e C demonstram a formação de “anéis” em torno dos prolongamentos, que não são evidenciados nas figuras A e B.

Análise do padrão de fratura

Houve a predominância do tipo de fratura mista (Gráfico 1) para todos os tipos de preparos da dentina estudados (Figura 5), seguido pelas fraturas coesivas em resina.

Gráfico 1: Porcentagem do padrão de fratura para os espécimes estudados

Figura 5: Análise em MEV do padrão de fratura mais frequente para cada espécime estudado. a) TW NA; b) TW 6A; c) TW 12A; d) TC NS; e) TC 6A; f) TC 12A; g) LW NA; h) LW 6A; i) LW 12A; j) LC NA; k) LC 6A; l) LC 12A. d=dentina; r=resina.

Discussão

DISCUSSÃO

A turbina de alta rotação é o principal método para preparo cavitário na odontologia. O Laser de Er:YAG tem sido apontado como uma alternativa à turbina de alta-rotação, por apresentar algumas vantagens que promovem conforto ao paciente, como menor ruído, dor e pressão (HIBST *et al.*, 2002; KELLER *et al.*, 1998; PELAGALLI *et al.*, 1997). Considerando o fator adesão, alguns estudos demonstram que o laser apresenta resistência adesiva semelhante à turbina após curtos períodos de tempo (TRAJTENBERG *et al.*, 2004), devido ao aumento de superfície para adesão, com a presença de microrretenções (ARMENGOL *et al.*, 2000; VISURI *et al.*, 1996). No entanto a irradiação laser, além de causar uma superfície escamosa, com presença de zonas rugosas (CEBALLOS *et al.*, 2001; HOSSEIN *et al.*, 2002), modificaria os níveis de cálcio e fosfato o que levaria à formação de componentes mais estáveis e menos solúveis ao desafio ácido, reduzindo a efetividade do condicionamento ácido (DE MOOR *et al.*, 2010; SHETH *et al.*, 2004). De Oliveira *et al.*, 2007, verificou uma diminuição na resistência adesiva da dentina irradiada, devido à formação de uma camada modificada que estaria relacionada à dissolução mineral pelo condicionamento ácido e difusão do sistema adesivo na superfície dentinária, levando a uma deficiência na hibridização do substrato.

Embora estudos (CEBALLOS *et al.*, 2001; HIBST *et al.*, 2002; RAMOS *et al.*, 2002) tenham avaliado a resistência adesiva da dentina irradiada com laser de Er:YAG por curto período de tempo, a força de união após o envelhecimento foi avaliada por um único estudo (AMARAL *et al.*, 2008), o qual verificou que a resistência adesiva da dentina preparada com laser de Er:YAG após 6 meses de estocagem em água e termociclagem, apresentou menores valores de união devido à degradação da interface adesiva. No entanto, a literatura é ausente de estudos de adesão que avaliem a reidratação com água ou clorexidina da dentina irradiada ao longo do tempo.

A duração do pulso do laser de Er:YAG é um fator importante para a resistência adesiva da dentina e está diretamente relacionada à ablação do tecido e à morfologia de superfície (FIRAT *et al.*, 2010). Embora o laser de Er:YAG de pulso curto seja mais efetivo na ablação dos tecidos dentais (FIRAT *et al.*, 2010; SHETH *et al.*, 2004; STANINEC *et al.*, 2006), o pulso longo é amplamente empregado e apresenta resultados satisfatórios (AMARAL *et al.*, 2008; CORONA *et al.*, 2007; RAMOS *et al.*, 2002). Neste estudo, o preparo cavitário com laser de Er:YAG de pulsos longos parece não ter influenciado a resistência adesiva, tendo em vista que os valores de adesão para os preparos com laser de Er:YAG e reidratado com água foram semelhantes aos demais grupos testados.

Os resultados obtidos neste estudo indicam que o emprego da clorexidina 2% para a reidratação da dentina em preparos realizados com laser de Er:YAG afetou negativamente a resistência à microtração quando comparado aos preparos com turbina de alta rotação. A possível justificativa para os menores valores de união no grupo LC quando comparado aos grupos preparados com broca pode estar relacionada ao processo de ablação termomecânica (KELLER & HIBST, 1989; LI *et al.*, 1992), que causa a desnaturação e fusão das fibras colágenas, resultando em diminuição de espaço interfibrilar (BARCELEIRO *et al.*, 2005; CEBALLOS *et al.*, 2002; SCHEIN *et al.*, 2003), restringindo a difusão da resina na subsuperfície da dentina intertubular (CEBALLOS *et al.*, 2002). Como o tamanho da molécula de clorexidina (massa molecular = $897,8 \text{ g mol}^{-1}$), é maior do que a molécula de alguns componentes do sistema adesivo empregado, como por exemplo, o HEMA (massa molecular = $130,0 \text{ g mol}^{-1}$) ou o Bis-GMA (massa molecular = $512,0 \text{ g mol}^{-1}$) (RICCI *et al.*, 2010), isso poderia dificultar a completa infiltração do monômero e promover falhas na formação da camada híbrida, diminuindo a resistência adesiva.

Na análise em MEV da interface adesiva, a dentina preparada com laser de Er:YAG, apresentou a formação de anéis em torno dos *tags* (figura 4B e 4C), que ocorrem em virtude da superfície irradiada apresentar “cracks”, que seriam infiltrados pelo sistema adesivo (OLIVEIRA *et al.*, 2007). Na figura 4, as setas indicam camada híbrida irregular, que ocorre devido ao acúmulo de adesivo na região dos vales, que correspondem à região de maior energia do pulso, corroborando com os achados de Oliveira *et al.*, 2007. A região dos picos foi preenchida com uma fina camada de adesivo, que pode levar à formação de defeitos na camada híbrida, corroborando com outros achados (CARDOSO *et al.*, 2008a, MORETO *et al.*, 2010). Nas imagens 3g, 3h, 3i, 3j, 3k e 3l observam-se a presença de fendas na interface adesiva, que poderia ser resultado do colapso das fibras colágenas pelo laser e também foram relatados na literatura (ARANHA *et al.*, 2007; MORETO *et al.*, 2010). Para os preparos realizados com turbina de alta rotação, a MEV evidenciou a formação de uma camada híbrida mais regular e a formação de *tags* mais longos (figuras 3a, 3b, 3c, 3d, 3e e 3f).

Considerando o fator envelhecimento, a reidratação com clorexidina ou água deionizada em preparos realizados com laser ou turbina, resultou em valores resistência adesiva semelhantes após 24 horas de estocagem sem ciclos térmicos, após 6 meses de estocagem e 12.000 ciclos térmicos e após 12 meses de estocagem e 24.000 ciclos térmicos, independente da reidratação com água ou clorexidina. Os dados indicam que não houve degradação da interface adesiva nos períodos de envelhecimento testados para ambos os tipos de preparos. Esse resultado pode ter ocorrido em virtude do sistema adesivo

conter etanol como solvente o que favorece o seu emprego na técnica úmida, uma vez que o solvente facilita a evaporação da água (HASHIMOTO *et al.*, 2000; DANTAS *et al.*, 2008).

Segundo YIU *et al.* 2008, o preparo com brocas carbide produz uma *smear layer* fina e uniforme, que pode ser facilmente removida com o condicionamento ácido. O condicionamento ácido que precede alguns sistemas adesivos, como o empregado neste estudo, remove a *smear layer* e os *smear plugs* provocados pelo corte das brocas e desmineraliza a dentina superficial (PASHLEY *et al.*, 1992). O preparo com laser de Er:YAG, produz uma superfície livre de *smear layer* por promover a ablação térmica do tecido dentinário (CEBALLOS *et al.*, 2001). A ausência de *smear layer* explicaria a semelhança entre os espécimes preparados com turbina e os preparados com laser e reidratado com água, tendo em vista que o sistema adesivo empregado é precedido por condicionamento ácido, o que tornaria a superfície dentinária semelhante.

O mecanismo de degradação dos componentes da interface adesiva pode ser definido como um fenômeno complexo que envolve ambos substratos, tanto resina como dentina. Essa degradação ocorre pela ação da água e de enzimas da matriz dentinária (Metaloproteinases - MMPs). Sabe-se que as MMPs podem ser ativadas em ambientes com baixo pH (DAVIS, 1991; TJÄDERHANE *et al.*, 1998), assim, e o condicionamento ácido aplicado previamente ao adesivo contribui com o processo de ativação das MMPs durante a desmineralização, transformando as MMPs pró-ativas em MMPs solúveis via separação dos peptídeos de baixo peso molecular (TAY *et al.*, 2006; ZHANG *et al.* 2009), aumentando, dessa forma, a atividade das MMPs e contribuindo para a degradação da interface adesiva ao longo do tempo (NISHITANI *et al.*, 2006).

No presente estudo, a escolha pela clorexidina na concentração de 2% ocorreu em função dos resultados observados na literatura, indicando que o emprego da clorexidina a 2% preveniu a diminuição na força de união (CARRILHO *et al.*, 2007; BRESCHI *et al.*, 2010; DE MUNCK *et al.*, 2004; HEBLING *et al.*, 2005), devido à inibição da degradação enzimática (MMPs) (GENDRON *et al.*, 1999). Os espécimes reidratados com clorexidina consideravam a hipótese de a mesma apresentar maior valor de resistência adesiva ao longo do tempo quando comparada aos grupos reidratados com água, o que não foi observado em nosso estudo. Além da clorexidina, especula-se que a presença de monômeros hidrofílicos, como o HEMA, que estão presentes no Single Bond, também poderiam inibir a degradação do colágeno através da adsorção das MMPs, e facilitar o efeito inibitório prolongado da clorexidina nas MMPs dentro da matriz desmineralizada (OSÓRIO *et al.*, 2011).

A resistência adesiva ao longo do tempo tem sido analisada e fornece dados importantes com relação à durabilidade da interface adesiva. A técnica de envelhecimento *in*

vitro mais comumente usada é o armazenamento em água (DE MUNCK *et al.*, 2003; FUKUSHIMA *et al.*, 2001; SHONO *et al.*, 1999) ou saliva artificial (KITASAKO *et al.*, 2000) que, ao longo do tempo, diminuem a efetividade da adesão, pela degradação dos componentes da interface (resina e colágeno) por hidrólise (DE MUNCK *et al.*, 2005). A água também pode infiltrar e diminuir as propriedades mecânicas da matriz polimérica por inchaço e redução da força entre as cadeias poliméricas (FERRACANE *et al.*, 1998). Além disso, alguns componentes da interface como monômeros não polimerizados podem desagregar e reduzir a união. (HASHIMOTO *et al.*, 2002) A degradação da interface adesiva tem sido observada em curtos períodos de tempo (SHONO *et al.*, 1999), para pequenas áreas (palitos), onde a difusão é mais fácil. Em nosso estudo, tentou-se simular a situação clínica, optando-se por estocagem em saliva artificial que possui íons que simulam de forma mais semelhante ao ambiente oral, bem como o envelhecimento da restauração, por longos períodos, 6 e 12 meses e de forma total, sendo os palitos obtidos posteriormente.

Além do envelhecimento pela armazenagem em saliva artificial (FUKUSHIMA *et al.*, 2001; SADEK *et al.*, 2010), outra forma tem sido relatada na literatura, o envelhecimento por termociclagem (GALE & DARVELL, 1999; HASHIMOTO *et al.*, 2000; MIYAZAKI *et al.*, 1998), que pode ocorrer por duas maneiras: 1) a água quente acelera a hidrólise dos componentes da interface, e subsequentemente absorve água e extrai os produtos da degradação ou oligômeros de resina pobremente polimerizados (MIYAZAKI *et al.*, 1998) e 2) as diferentes temperaturas causam contração e expansão do material restaurador, que é diferente da estrutura dental, gerando *stress* na interface adesiva (DE MUNK *et al.*, 2005). Em nosso trabalho, associamos dois meios de envelhecimento da interface adesiva como proposto por Amaral *et al.*, 2008. Esses métodos de envelhecimento podem levar a propagação de fraturas ao longo da interface adesiva (GALE & DARVELL, 1999), como apresentados nas MEVs dos espécimes preparados com turbina de alta rotação e reidratados com água ou clorexidina, analisados após 12 meses de estocagem e 24.000 ciclos térmicos.

Considerando os resultados deste estudo, onde os preparos com laser de Er:YAG reidratados com clorexidina apresentaram os menores valores de resistência adesiva quando comparados aos preparos com turbina independente da reidratação, verificou-se não ser conveniente a reidratação com clorexidina nas cavidades preparadas com laser de Er:YAG. Estudos futuros são necessários para avaliar a resistência adesiva em tempos maiores aos estudados, bem como estudos clínicos que comprovem a durabilidade de restaurações em preparos com laser Er:YAG e turbina de alta-rotação com diferentes reidratações.

Conclusão

CONCLUSÃO

Considerando a metodologia empregada e os resultados obtidos neste estudo, pode-se concluir que:

- A reidratação da dentina com clorexidina influenciou negativamente a resistência adesiva dos preparos com laser de Er:YAG.
- O envelhecimento em saliva artificial e termociclagem não interferiram na resistência adesiva da dentina.
- A interface adesiva dos preparos com laser de Er:YAG apresentou formação de camada híbrida irregular com presença de fendas. O envelhecimento não interferiu na morfologia da interface adesiva para os preparos com laser e houve formação de microtrincas nos preparos com broca independente da reidratação.

Referências Bibliográficas

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Amaechi BT, Higam SM, Edgar WM. Factors influencing the development of dental erosion in vitro: enamel type, temperature and exposure time. *J Oral Rehabil.* 1999; 26(8):624-30.
2. Amaral FLB, Colucci V, Souza-Gabriel AE, Chinelatti MA, Palma-Dibb RG, Corona SAM. Adhesion to Er:YAG laser-prepared dentin after long-term water storage and thermocycling. *Oper Dent* 2008; 33(1):51-58.
3. Amaral FLB, Colucci V, Souza-Gabriel AE, Chinelatti MA, Palma-Dibb RG, Corona SAM. Bond durability in erbium:yttrium-aluminium-garnet laser-irradiated enamel. *Lasers Med Sci.* 2010; 25(2):155-63.
4. Aoki A, Ishikawa I, Yamada T, Otsuki M, Watanabe H, Tagami J, Ando Y, Yamamoto H. Comparison between Er:YAG laser and convencional technique for root caries in vitro. *J Dent Res.* 1998; 77(6):1404-14.
5. Aranha AC, De Paula Eduardo C, Gutknecht N, Marques MM, Ramalho KM, Apel C. Analysis of the interfacial micromorphology of adhesive systems in cavities prepared with Er,Cr:YSGG, Er:YAG laser and bur. *Microsc Res Tech.* 2007; 70(8):745-51.
6. Armengol V, Jean A, Marion D. Temperature rise during Er:YAG and Nd:YAP laser ablation of dentin. *J Endod.* 2000; 26(3):138-141.
7. Barceleiro M de O, de Mello JB, de Mello GS, Dias KR, de Miranda MS, Sampaio Filho HR. Hybrid layer thickness and morphology: the influence of cavity preparation with Er:YAG laser. *Oper Dent.* 2005; 30(3):304-10.
8. Brackett WW, Tay FR, Brackett MG, Dib A, Sword RJ, Pashley DH. The effect of chlorhexidine on dentin hybrid layers in vivo. *Oper Dent.* 2007; 32(2):107–111.
9. Breschi L, Mazzoni A, Nato F, Carrilho M, Visintini E, Tjäderhane L, Ruggeri A Jr, Tay FR, Dorigo ED, Pashley DH. Chlorhexidine stabilizes the adhesive interface: a 2-year in vitro study. *Dent Mater.* 2010; 26(4): 320–325.
10. Cardoso MV, Coutinho E, Ermis RB, Poitevin A, Van Landuyt K, De Munck J, Carvalho RC, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Influence of Er,Cr:YSGG laser treatment on the microtensile bond strength of adhesives to dentin. *J Adhes Dent* 2008;10(1):25-33.
11. Carrilho MR, Tay FR, Donnelly AM, Agee KA, Tjäderhane L, Mazzoni A, Breschi L, Foulger S, Pashley DH. Host-derived loss of dentin matrix stiffness associated with solubilization of collagen. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2009; 90(1):373–380.

12. Carrilho MRO, Carvalho RM, de Goes MF, Di Hipólito V, Geraldeli S, Tay FR, Pashley DH, Tjäderhane L. Chlorhexidine preserves dentin Bond in vitro. *J Dent Rest.* 2007; 86(1):91-94.
13. Carrilho MRO, Geraldeli S, Tay FR, de Goes MF, Carvalho RM, Tjäderhane L; Reis AF, Hebling J, Mazzoni A, Breschi L, Pashley DH. In vivo preservation of the hybrid layer by chlorhexidine. *J Dent Rest.* 2007b; 86(6):529-533.
14. Ceballos L, Osorio R, Toledano M, Marshall GW. Microleakage of composite restorations after acid or Er:YAG laser cavity treatments. *Dent Mater.* 2001;17(4):340-346.
15. Ceballos L, Osorio R, Toledano M, Tay F, Marshall GW. Bonding to Er:YAG laser treated dentin. *J Dent Res.* 2002; 81(2):119-122.
16. Chaussain-Miller C, Fioretti F, Goldberg M, Menashi S. The role of matrix metalloproteinases (MMPs) in human caries. *J Dent Res.* 2006; 85(1):22-32.
17. Colucci V, Amaral FLB, Palma-Dibb RG, Pécora JD, Corona SAM. Water flow on Erbium:yttrium-aluminum-garnet laser irradiation: Effects on dental tissues. *Lasers Med Sci.* 2009; 24(5):811-8.
18. Corona SAM, Souza AE, Chinelatti MA, Pécora JD, Borsatto MC, Palma-Dibb RG. Effect of energy and pulse repetition rate of Er: YAG laser on dentin ablation ability and morphological analysis of the laser-irradiated substrate. *Photomed Lasers Surg.* 2007; 25(1):26-33.
19. Corona SAM, Souza-Gabriel AE, Chinelatti MA, Pécora JD, Borsatto MC, Palma-Dibb RG. Influence of energy and pulse repetition rate of Er:YAG laser on enamel ablation ability and morphological analysis of the laser-irradiated surface. *J Biomed Mat Res Part A.* 2008; 84(3):569-575.
20. Cozcan C, Arcoria CJ, Pelagalli J, Powell GL. Dentistry for the 21st century? Erbium: YAG laser for teeth. *J Am Dent Assoc.* 1997; 128(8):1080-1087.
21. Dantas DC, Ribeiro AI, Lima LH, de Lima MG, Guênes GM, Braz AK, Braz R. Influence of water storage time on the bond strength of etch-and-rinse and self-etching adhesive systems. *Braz Dent J.* 2008;19(3):219-23.
22. De Moor RJ, Delmé KL. Laser-assisted cavity preparation and adhesion to erbium-lased tooth structure: part 2. present-day adhesion to erbium-lased tooth structure in permanent teeth. *J Adhes Dent.* 2010; 12(2):91-102.
23. De Munck J, Van den Steen PE, Mine A, Van Landuyt KL, Poitevin A, Opdenakker G, Van Meerbeek B. Inhibition of enzymatic degradation of adhesive-dentin interfaces. *J Dent Res.* 2009; 88(12):1101-6.

24. 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; 84(2):118-132.
25. De Munck J, Van Meerbeek B, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Suzuki K. Four-year water degradation of total-etch adhesives bonded to dentin. *J Dent Res.* 2003; 82(2):136–40.
26. De Munck J, Van Meerbeek B, Yudhira R, Lambrechts P, Vanherle G. Micro-tensile bond strength of two adhesives to Erbium: YAG-lased vs. bur-cut enamel and dentin. *Eur J Oral Sci.* 2002; 110(4):322-29.
27. de Oliveira MT, de Freitas PM, de Paula Eduardo C, Ambrosano GM, Giannini M. Influence of Diamond Sono-Abrasion, Air-Abrasion and Er:YAG Laser Irradiation on Bonding of Different Adhesive Systems to Dentin. *Eur J Dent.* 2007;1(3):158-66.
28. Ferracane JL, Berge HX, Condon JR. In vitro aging of dental composites in water-effect of degree of conversion, filler volume, and filler-matrix coupling. *J Biomed Mater.* 1998; 42(3):465–72.
29. Firat E, Gurgan S, Gutknecht N. Microtensile bond strength of an etch-and-rinse adhesive to enamel and dentin after Er:YAG laser pretreatment with different pulse durations. *Lasers Med Sci.* 2010.[epub ahead of print]
30. Frankenberger R, Krämer N, Ebert J, Lohbauer U, Käppel S, ten Weges S, Petschelt A. Fatigue behavior of the resin-resin bond of partially replaced resin-based composite restorations. *Am J Dent.* 2003;16(1):17-22.
31. Frankenberger R, Pashley DH, Reich SM, Lohbauer U, Petschelt A, Tay FR. Characterization of resin-dentine interfaces by compressive cyclic loading. *Biomaterials.* 2005; 26(14):2043-2052.
32. Freitas PM, Navarro RS, Barros JA, Eduardo CP. The use of Er:YAG laser for cavity preparation an SEM evaluation. *Microsc Res Tech.* 2007; 70(9):803-808.
33. Fukushima T, Inoue Y, Miyazaki K, Itoh T. Effect of primers containing N-methylolacrylamide or N-methylolmethacrylamide on dentin bond durability of a resin composite after 5 years. *J Dent.* 2001; 29(3):227-34.
34. Gale MS, Darvell BW. Thermal cycling procedures for laboratory testing of dental restorations. *J Dent.* 1999; 27(2):89-99.
35. Gendron R, Grenier D, Sorsa T, Mayrand D. Inhibition of the activities of matrix metalloproteinases 2, 8, and 9 by chlorhexidine. *Clin Diagn Lab Immunol.* 1999; 6(3):437-9.

36. Gurgan S, Kiremitci A, Cakir FY, Yazici E, Gorucu J, Gutknecht N. Shear bond strength of composite bonded to erbium:yttrium-aluminum-garnet laser-prepared dentin. *Lasers Med Sci.* 2007; 24(1):117-22.
37. Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Endo K, Sano H, Oguchi H. In vivo degradation of resin-dentin bonds in human over 1 to 3 years. *J Dent Res.* 2000; 79(6):1385-1391.
38. Hashimoto M, Ohno H, Sano H, Kaga M, Oguchi H. Degradation patterns of different adhesives and bonding procedures. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2003; 66(1):324-30.
39. Hashimoto M, Ohno H, Sano H, Tay FR, Kaga M, Kudou Y, Oguchi H, Araki Y, Kubota M. Micromorphological changes in resin– dentin bonds after 1 year of water storage. *J Biomed Mater Res.* 2002; 63(3):306–11.
40. Hebling J, Pashley DH, Tjäderhane L, Tay FR. Chlorhexidine arrests subclinical degradation of dentin hybrid layers in vivo. *J Dent Res.* 2005; 84(8):741-746.
41. Hibst RJ. Lasers for caries removal and cavity preparation: state of the art and future directions. *J Oral Laser Appl.* 2002; 2(4):203-211.
42. Hibst R, Keller U. Experimental studies of the application of the Er:YAG laser on dental hard substances: I. Measurement of the ablation rate. *Lasers Surg Med.* 1989; 9(4):338-334.
43. Hossain M, Nakamura Y, Yamada Y, Kimura Y, Nakamura G, Matsumoto K. Ablation depths and morphological changes in human enamel and dentin after Er:YAG laser irradiation with or without water mist. *J Clin Las Med Surg.* 1999; 17(3):105-109.
44. Hossain M, Nakamura Y, Yamada Y, Murakami Y, Matsumoto K. Microleakage of composite resin restorations in cavities prepared by Er,Cr:YSGG laser irradiation and etched bur cavities in primary teeth. *J Clin Pediatr Dent* 2002;26(3):263-268.
45. Huang MS, Li MT, Huang FM, Ding SJ. The effect of thermocycling and dentine pre-treatment on the durability of the bond between composite resin and dentine. *J Oral Rehabil.* 2004; 31(5):492-499.
46. Keller U, Hibst R, Geurtsen W, Schilke R, Heidmann D, Klaiber B, Raab WH. Erbium:YAG laser application in caries therapy. Evaluation of patient perception and acceptance. *J Dent.* 1998; 26(8):649-656.
47. Kitasako Y, Burrow MF, Nikaido T, Tagami J. The influence of storage solution on dentin bond durability of resin cement. *Dent Mater.* 2000; 16(1):1-6.

48. Li Z, Code JE, Van De Merwe WP. Er:YAG laser ablation of enamel and dentine of human teeth: determination of ablation rates at various fluences and pulse repetition rates. *Lasers Surg Med* 1992; 12(6):625-630.
49. Martinez-Insua A, Da Silva Dominguez L, Rivera FG, Santana-Penin UA. Differences in bonding to acid-etched or Er: YAG-laser-treated enamel and dentin surfaces. *J Prosthet Dent*. 2000; 84(3):280-288.
50. Matsumoto K, Nakamura Y, Makesi K, Kimura Y. Clinical dental application of Er:YAG laser for class V cavity preparation. *J Clin Laser Med Surg* 1996; 14(3):123-127.
51. Miyazaki M, Sato M, Onose H & Moore BK. Influence of thermal cycling on dentin bond strength of two step bonding systems. *Am J Dent*. 1998; 11(3):118-122.
52. Moretto SG, Azambuja N Jr, Arana-Chavez VE, Reis AF, Giannini M, Eduardo Cde P, De Freitas PM. Effects of ultramorphological changes on adhesion to lased dentin- Scanning electron microscopy and transmission electron microscopy analysis. *Microsc Res Tech*. 2011; 74(8):720-6.
53. Nishitani Y, Yoshiyama M, Wadgaonkar B, Breschi L, Mannello F, Mazzoni A. Activation of gelatinolytic/collagenolytic activity in dentin by self-etching adhesives. *Eur J Oral Sci* 2006; 114(2):160-6.
54. Oliveira DC, Manhães LA, Marques MM, Matos AB. Microtensile bond strength analysis of different adhesive systems and dentin prepared with high-speed and Er:YAG laser: a comparative study. *Photomed Laser Surg*. 2005; 23(2):219-24.
55. Osorio R, Yamauti M, Osorio E, Ruiz-Requena ME, Pashley D, Tay F, Toledano M. Effect of dentin etching and chlorhexidine application on metalloproteinase-mediated collagen degradation. *Eur J Oral Sci*. 2011; 119(1):79-85.
56. Pashley DH. The effects of acid etching on the pulpodentin complex. *Oper Dent*. 1992; 17(6):229-242.
57. Pashley DH, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho RM, Ito, S. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *J Dent Res*. 2004; 83(3):216-221.
58. Pelagalli J, Gimbel CB, Hansen RT, Swett A, Winn DW. Investigational study of the use of Er:YAG laser versus dental drill for caries removal and cavity preparation- phase I. *J Clin Laser Med Surg*. 1997; 15(3):109-15.
59. Quo BC, Drummond JL, Koerber A, Fadavi S, Punwani I. Glass ionomer microleakage from preparations by an Er/YAG laser or a high-speed handpiece. *J Dent*. 2002; 30(4):141-146.

60. Ramos RP, Palma Dibb RG, Chimello DT, Chinelatti MA, Pécora JD. Effect of Er:YAG laser on bond strength to dentin of a self-etching primer and two single-bottle adhesive systems. *Laser Surg Med.* 2002; 31(3):164-170.
61. Ricci HA, Sanabe ME, Costa CA, Hebling J. Effect of chlorhexidine on bond strength of two-step etch-and-rinse adhesive systems to dentin of primary and permanent teeth. *Am J Dent.* 2010; 23(3):128-32.
62. Sattabanasuk V, Burrow MF, Shimada Y, Tagami J. Resin adhesion to caries-affected dentine after different removal methods. *Aust Dent J.* 2006; 51(2):162-9.
63. Schein MT, Bocangel JS, Nogueira GEC & Schein PAL. SEM evaluation of interaction pattern dentin and resin after cavity preparation using Er:YAG laser. *J Dent.* 2003; 31(2):127-135.
64. Sheth KK, Staninec M, Sarma AV, Fried D. Selective targeting of protein, water, and mineral in dentin using UV and IR pulse lasers: the effect on the bond strength to composite restorative materials. *Lasers Surg Med* 2004; 35(4):245-53.
65. Shono Y, Ogawa T, Terashita M, Carvalho RM, Pashley EL, Pashley DH. Regional measurement of resin–dentin bonding as an array. *J Dent Res.* 1999; 78(2):699–705.
66. Staninec M, Gardner AK, Le CQ, Sarma AV, Fried D. Adhesion of composite to enamel and dentin surfaces irradiated by IR laser pulses of 0.5-35 micros duration. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2006; 79(1):193-201.
67. Sulkala M, Larmas M, Sorsa T, Salo T, Tjäderhane L. The localization of matrix metalloproteinase-20 (MMP-20, enamelysin) in mature human teeth. *J Dent Res.* 2002; 81(9):603-7.
68. 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.
69. Tjäderhane 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(8):1622–1629.
70. Trajtenberg CP, Pereira PN, Powers JM. Resin bond strength and micromorphology of human teeth prepared with an Erbium:YAG laser. *Am J Dent.* 2004; 17(5):331-6.
71. Van Meerbeek B, De Munck J, Mattar D, Van Landuyt K, Lambrechts P. Microtensile bond strengths of an etch & rinse and self-etch adhesive to enamel and dentin as a function of surface treatment. *Oper Dent.* 2003; 28(5):647-660.
72. Visuri SR, Gilbert JL, Wright DD, Wigdor HA, Walsh JT Jr. Shear strength of composite bonded to Er:YAG laser prepared dentin. *J Dent Res* 1996; 75:599-605.

73. Wahab FK, Shaini FJ, Morgano SM. The effect of thermocycling on microleakage of several commercially available composite Class V restorations in vitro. *J Prosthet Dent.* 2003; 90(2):168-174.
74. Yiu CK, King NM, Pashley DH, Suh BI, Carvalho RM, Carrilho MR. Effect of resin hydrophilicity and water storage on resin strength. *Biomaterials.* 2004; 25(26):5789-5796.
75. Zhang SC, Kern M. The role of host-derived dentinal matrix metalloproteinases in reducing dentin bonding of resin adhesives. *Int J Oral Sci* 2009;1(4):163–76.

Anexo

Carta de aprovação do projeto pelo comitê de ética em pesquisa da FORP - USP

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
Avenida do Café, s/nº - Telefone: (016) 3602-3963
14040-904 - Ribeirão Preto - SP - Brasil
Fax: (016) 3633-0999

OF.CEP/116/FORP

Ribeirão Preto, 23 de março de 2009.

Prezado Senhor,

Ref.: Processo nº 2009.1.165.58.1
CAAE nº 0011.0.138.000-09

A pedido da Profa. Dra. Cláudia Helena Lovato da Silva, Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa, desta Faculdade, informamos que o referido Comitê em sua 96ª Sessão, realizada em 23 de março de 2009, **aprovou** o projeto de pesquisa intitulado: **"Efeito da clorexidina na preservação da camada híbrida e resistência adesiva da dentina irradiada com laser de Er:YAG: Estudo *in vitro*".**

Na oportunidade, lembramos da necessidade de entregar na Secretaria do Comitê, com o formulário preenchido pelo pesquisador responsável, os **Relatórios Parciais** nos dias **28 de fevereiro de 2010, 30 de janeiro de 2011** e o **Relatório Final** no dia **30 de dezembro de 2011**.

Atenciosamente,

Glaucete Della Rosa
Secretária do Comitê de Ética em Pesquisa