

PAULA CAROLINA DE PAIVA KOMORI

**EFEITO DO DIGLUCONATO DE CLOREXIDINA NA ESTABILIDADE
DA UNIÃO DE SISTEMAS ADESIVOS E DENTINA SADIA OU
AFETADA POR CÁRIE**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Odontologia de Piracicaba, da Universidade
Estadual de Campinas, para obtenção do
Título de Mestre em Materiais Dentários.

Orientadora: Profa. Dra. Marcela Rocha de Oliveira Carrilho

Co-orientador: Prof. Dr. Mario Fernando de Goes

PIRACICABA

2007

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
Bibliotecário: Marilene Girello – CRB-8ª. / 6159

K836e	Komori, Paula Carolina de Paiva. Efeito do digluconato de clorexidina na estabilidade da união de sistemas adesivos e dentina sadia ou afetada por cárie. / Paula Carolina de Paiva Komori. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2007. Orientadores: Marcela Rocha de Oliveira Carrilho, Mario Fernando de Góes. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba. 1. Adesivos dentários. 2. Clorexidina. 3. Cáries dentárias. 4. Resistência dos materiais. I. Carrilho, Marcela Rocha de Oliveira. II. Góes, Mario Fernando de. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. IV. Título. (mg/fop)
-------	--

Título em Inglês: Effect of chlorhexidine digluconate on the bond strength of etch-and-rinse adhesives to normal/caries-affected dentin

Palavras-chave em Inglês (Keywords): 1. Dental adhesives. 2. Chlorhexidine. 3. Dental caries. 4. Tensile strength

Área de Concentração: Materiais Dentários

Titulação: Mestre em Materiais Dentários

Banca Examinadora: Mario Fernando de Góes, Estevão Tomomitsu Kimpara, Luis Roberto Marcondes Martins

Data da Defesa: 15-02-2007

Programa de Pós-Graduação: Materiais Dentários



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



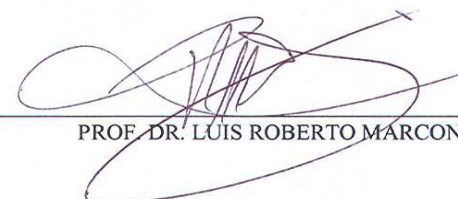
A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de MESTRADO, em sessão pública realizada em 15 de Fevereiro de 2007, considerou a candidata PAULA CAROLINA D. PAIVA KOMORI aprovada.



PROF. DR. MÁRIO FERNANDO DE GOES



PROF. DR. ESTEVÃO TOMOMITSU KIMPURA



PROF. DR. LUÍS ROBERTO MARCONDES MARTINS

Dedico este trabalho,

Aos meus pais Paulo e Maria Izilda, que merecem reconhecimento especial em gratidão pelo apoio e encorajamento caloroso e inabalável. Guiando-me em busca dos meus ideais.

Aos meus irmãos, Marcela e Bruno, pelo incentivo incondicional e por estarem presentes mesmo distantes.

Vocês são inspirações para tudo que há de nobre em minha vida. Amo vocês.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

A **Profa. Dra. Marcela Rocha de Oliveira Carrilho**, da Área Materiais Dentários, Departamento de Odontologia Restauradora, da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, que de maneira insubstituível me orientou na realização deste trabalho, contribuiu para o meu crescimento científico e humano com sua sabedoria, amizade e dedicação. Obrigada por tudo.

Ao **Prof. Dr. Mario Fernando de Goes**, Titular da Área Materiais Dentários, Departamento de Odontologia Restauradora, da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas pela co-orientação e apoio durante a realização deste trabalho. Seu conhecimento e dedicação foram de fundamental importância para minha formação.

A **Profa. Dra. Maria Auxiliadora Junho de Araújo** e **Prof. Dr. Estevão Tomomitsu Kimpara**, professores da disciplina de Materiais Dentários do Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, por me sugerirem esta empreitada. Estimularam e confiaram em meu trabalho.

Ao **Prof. Dr. Rubens Nisie Tango**, professor da disciplina de Materiais Dentários do Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP, agradeço pela amizade, apoio e incentivo. Eterno veterano e exemplo de competência.

A vocês serei eternamente grata.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual de Campinas, na pessoa do Magnífico Reitor **Prof. Dr. José Tadeu Jorge** e vice- reitor **Prof. Dr. Fernando Ferreira Costa**.

À direção da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas nas pessoas do seu Diretor **Prof. Dr. Francisco Haiter Neto** e do Diretor Associado **Prof. Dr. Marcelo de Castro Meneghim**.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento Profissional de Nível Superior (CAPES)** pela concessão da bolsa de mestrado.

Ao **Prof. Dr. Mário Alexandre Coelho Sinhoreti**, Titular da Área Materiais Dentários, Departamento de Odontologia Restauradora, Coordenador Geral de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, pela competência e dedicação demonstrada durante o curso e pelas palavras de incentivo. Obrigada também pela amizade demonstrada diariamente.

A **Prof. Dra. Regina Maria Puppim Rontani**, Titular da Área Odontopediatria, Departamento de Odontologia Infantil, da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, Coordenadora do Programa de Pós-graduação em Materiais Dentários, pelo carinho e conhecimentos científicos transmitidos durante o curso.

Ao **Prof. Dr. Simonides Consani**, Titular da Área Materiais Dentários, Departamento de Odontologia Restauradora, da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, que contribuiu para o meu aprendizado sempre me estimulando. Compartilhando sua experiência e sabedoria, me sinto honrada por ser sua aluna.

Ao **Prof. Dr. Lourenço Correr Sobrinho**, Titular da Área Materiais Dentários, Departamento de Odontologia Restauradora, da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, por todo o conhecimento transmitido e orientação quando solicitada.

Ao **Prof. Dr. Flávio Henrique Baggio Aguiar**, professor da Área Dentística, Departamento de Odontologia Restauradora, da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, pela disposição e contribuição demonstrada durante o exame de qualificação.

Ao **Prof. Dr. Tarcisio José de Arruda Paes Júnior**, professor da disciplina de Prótese Total do Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos - UNESP, agradeço pela amizade, apoio e confiança.

A **todos os professores** que contribuíram para minha formação, seja pessoal ou profissional.

Aos funcionários da Área de Materiais Dentários da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, **Selma Aparecida Barbosa Segalla e Marcos Blanco Cangiani**, pela amizade, atenção e alegria sempre dispostos a colaborar em todos os momentos.

Aos Funcionários, **Adriano Martins e Eliene Romani** técnicos de laboratório do MEV, pela prontidão e boa vontade em ensinar.

As amigas **Andréia de Paula, Flávia Furtado, e Sandrine Berger**, agradeço por me ampararem nos momentos difíceis, criticarem nos momentos certos e comemorarem as vitórias. Dividimos lágrimas e sorrisos durante estes dois anos de convivência que se eternizarão.

Aos amigos do Curso de Mestrado, **Alberto Antunes, Luciano Gonçalves, Michele Bail, Rafael Moraes, Renata Alonso, Suzana Fúcio, William Brandt**, e aos amigos do Curso de Doutorado **Alberth Medina, Ana Flávia Borges, Américo Correr, Cíntia Carvalhal, Dario Segreto, Fabíola Galbiati, Hugo Lemes, Juliana Malacarne, Julio Almeida, Luís Felipe Schneider, Marcelo Muzilli, Marcelo Oliveira, Mirela Shinohara, Mônica Aratani, Murilo Lopes, Myrna Dias, Ricardo Guiraldo, Ricardo Vaz, Vinícius Di Hipólito, Rodrigo Borges, Safira Silva, Wilson Mendes**, por todos os momentos compartilhados e ajuda.

A **todos os meus amigos** que, ainda à distância, me incentivam a continuar na busca dos meus ideais.

A todos que indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

Meus sinceros agradecimentos.

“No curso de nossas existências tendemos há deixar o tempo simplesmente passar, vendo o amanhã como uma mera extensão do hoje, sem um propósito determinado. Os dias tornam-se uma extensão de inércia e perdemos de vista algo de importância fundamental: o amanhã frutífero depende do hoje bem vívido”.

Daísaku Ikeda

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da aplicação da solução aquosa de digluconato de clorexidina a 2% (CHX) na estabilidade da união de sistemas adesivos convencionais e dentina sadia (DS) ou afetada por cárie (DAC). Neste estudo foram testadas as hipóteses de que a CHX não teria efeito prejudicial na resistência de união entre DS ou DAC e que em longo prazo a CHX poderia minimizar o mecanismo de degradação da interface dentina-resina. Vinte molares humanos cariados tiveram o esmalte e dentina superficial removidos para exposição de uma superfície plana de DS e DAC. Os substratos foram condicionados com gel de ácido fosfórico 35% por 15s, lavados e secos com leve jato de ar. Os dentes foram distribuídos em dois grupos para o tratamento da superfície dentinária, o controle: foi re-umedecido com água deionizada; e o experimental: com CHX, a solução umidificadora permaneceu em contato com o substrato durante 60s e o excesso de umidade removido com papel absorvente. Sobre o substrato foi aplicado o adesivo Scotchbond Multi-Purpose (MP) ou Single Bond 2 (SB) e confeccionado um bloco com incrementos de resina composta Z-250. Após 7 dias de armazenagem em solução fosfato tamponada (PBS, pH 7,4) a 37°C, as amostras foram submetidas a cortes seriados, gerando espécimes em forma de palitos com área de interface de união de aproximadamente 0,8mm². Metade dos espécimes foi imediatamente submetida ao teste de microtração e a outra metade permaneceu armazenada por 6 meses. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e teste de Holm-Sidak para contraste das médias em nível de significância ($\alpha=0,05$). A primeira hipótese testada foi confirmada, o uso da CHX após o condicionamento ácido não interferiu na resistência mecânica imediata da interface formada por um compósito de resina e DS ou DAC. A segunda hipótese foi parcialmente confirmada, o uso da CHX após o condicionamento ácido minimizou o processo de degradação das interfaces de união constituídas por DS. A utilização da CHX em associação aos sistemas adesivos convencionais de 2 e 3 passos durante a hibridização pode atuar como potencial agente retardador da degradação das interfaces adesivas promovendo maior longevidade às restaurações adesivas.

Palavras-chave: Adesivo, Clorexidina, Dentina afetada por cárie, Resistência de união.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of 2% chlorhexidine digluconate on the bond strength of etch-and-rinse adhesives applied to sound (SD) and caries-affected dentin (CAD). It is hypothesized that CHX does not have a detrimental effect on the bond strength to sound and caries-affected dentin, as well as that CHX may decelerate the mechanical degradation of resin-dentin bonds over time. Twenty, carious, extracted molars were included in this study. The occlusal enamel of all teeth was removed with a slow-speed diamond saw, under copious water-cooling, in order to expose a flat surface, where the CAD was surrounded by SD. The CAD and SD surfaces were etched with 35% phosphoric acid gel for 15 s, rinsed for 30 s with tap water and dried with oil/water-free air. In the control groups, the dentin substrates were re-hydrated with distilled water, while in the experimental groups were re-hydrated with 2 wt% chlorhexidine digluconate (CHX). After a dwell time of 60 s, excess solution was removed with absorbent paper. The dentin surfaces were then bonded with one of the etch-and-rinse adhesives, Schotchbond Multi-Purpose (MP) or Single Bond 2 (SB). Composite build-up was performed with Z250 and stored in phosphate-buffered saline (PBS, pH 7.4) at 37°C for 7 days. After this period, the restored teeth were longitudinally sectioned across the bonded interface to produce a series of 0.8 mm² beams. Part of those specimens was immediately subjected to a microtensile test. The remaining specimens were stored in PBS at 37°C for six months and then tested in tension under the same protocol. Data were analyzed by ANOVA and Holm-Sidak test for multiple comparisons ($\alpha = 0.05$). The first anticipated hypothesis was confirmed, the use of CHX after acid-etching did not have detrimental effect on the immediate bond strength to both normal and caries-affected dentin and the second anticipated hypothesis was partially confirmed, the mechanical degradation of resin-dentin bonds may be delayed by the application of chlorhexidine (CHX) to sound dentin after phosphoric acid-etching. Attempts to use chlorhexidine adjunctively with conventional acid-and-rinse adhesives may play a clinically-relevant role on the preservation of resin-dentin bonds.

Keywords: Adhesive, Bond-strength, Caries-affected dentin, Chlorhexidine.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	01
2 REVISÃO DE LITERATURA	04
2.1 Características morfo-funcionais da dentina	04
2.2 Mecanismo de adesão a dentina & Classificação dos sistemas adesivos	08
2.3 Longevidade das restaurações adesivas	12
2.4 Degradação dos componentes orgânicos da camada híbrida	17
3 PROPOSIÇÃO	21
4 MATERIAL E MÉTODOS	22
4.1 Avaliação da resistência de união à microtração	22
4.1.1 Obtenção dos dentes	22
4.1.2 Preparo dos dentes	23
4.1.3 Procedimentos de adesão e confecção do bloco em resina	24
4.1.4 Obtenção dos espécimes	26
4.1.5 Ensaio mecânico de microtração	27
4.2 Análise estatística	29
4.3 Análise do padrão de fratura	30
5 RESULTADOS	30
6 DISCUSSÃO	38
7 CONCLUSÃO	46
REFERÊNCIAS	47
ANEXOS	59

1 INTRODUÇÃO

A busca contínua pelo desenvolvimento de materiais odontológicos que apresentem propriedade adesiva às estruturas dentárias tem sido responsável pela constante introdução de novos produtos no mercado odontológico. O aprimoramento dos materiais poliméricos para uso odontológico tem, por exemplo, permitido o alcance de importantes avanços na técnica restauradora, viabilizando procedimentos mais conservadores e estéticos. Da mesma maneira, é igualmente notável a evolução dos conhecimentos sobre os mecanismos que regem o processo de adesão, que em última análise têm objetivado garantir não somente o estabelecimento, mas principalmente a durabilidade da união aos tecidos dentários.

Os procedimentos operatórios atuais são balizados pelo princípio da máxima preservação da estrutura dentária sadia, de tal modo que alguns profissionais têm adotado apenas a escavação da dentina cariada presente na camada mais externa da lesão, infectada por bactérias, mantendo-se preservada a camada mais interna, teoricamente passível de remineralização (TenCate, 2001; Conrado, 2004). O diagnóstico e a remoção de lesões ativas de cárie dependem, muitas vezes, de critérios subjetivos que resultam entre os profissionais, percepções variáveis quanto à quantidade e qualidade de tecido cariado a ser propriamente removido (Banerjee *et al.*, 2000). Assim, uma situação clínica não muito rara poderá implicar na realização de procedimentos de adesão não somente em substrato dentinário sadio, mas também naquele afetado pela cárie e, em certos casos, até mesmo em dentina potencialmente infectada (Yoshiyama *et al.*, 2002).

Com o advento dos sistemas adesivos hidrofílicos, convencionais e autocondicionantes, foi possível estabelecer a união de materiais resinosos com o substrato dentinário, em quaisquer das condições em que este possa se encontrar: sadio, afetado ou infectado por bactérias (Yoshiyama *et al.*, 2002; Doi *et al.*, 2004). Embora a resistência de união de restaurações adesivas seja, significativamente, menor quando estabelecida em regiões de dentina afetada e infectada (Yoshiyama *et al.*, 2002; Doi *et al.*, 2004), ainda assim tais valores reportados por avaliações de curto prazo podem ser considerados clinicamente aceitáveis. Entretanto pouco se sabe sobre os efeitos dos diferentes sistemas

adesivos na resistência de união em dentina afetada por cárie. Está claro que o tipo de dentina e sua estrutura morfológica têm um importante papel durante o desempenho adesivo dos materiais resinosos (Doi *et al.*, 2004). Em adição, as composições químicas dos sistemas adesivos podem alterar o desempenho do mecanismo adesivo (Sengün *et al.*, 2002).

Mesmo que a união dos compósitos de resina em dentina afetada por cárie fosse possibilitada pelo uso dos sistemas adesivos atuais (Yoshiyama *et al.*, 2002), dúvidas remanescem com relação ao comportamento da adesão nestes tipos de substratos, em períodos mais longos. Em tese, em longo prazo, dois eventos distintos poderiam ocorrer: 1) preservação do selamento e manutenção da resistência adesiva alcançada nos períodos iniciais; 2) deterioração do selamento e decréscimo da resistência adesiva obtida nos períodos iniciais.

Aos poucos, a preocupação com a investigação dos sensores da degradação das estruturas tem sido incorporada entre os pesquisadores da área odontológica (Santerre *et al.*, 2001), e a expectativa é que pesquisas futuras possam reverter à tendência de substituição das restaurações por permitir a caracterização dos mecanismos responsáveis pela preservação das restaurações adesivas em boas condições clínicas. Evidências científicas permitem especular que o comprometimento da interface adesiva dentina/resina composta é provavelmente o resultado de um efeito combinado da degradação de seus componentes resinosos que gradualmente absorvem água, tornando-se cada vez mais permeáveis e susceptíveis à hidrólise, e da degradação do substrato dentinário desmineralizado exposto, não protegido pela resina, que também está sujeito à hidrólise (Hashimoto *et al.*, 2000; Loguercio *et al.*, 2005; Carrilho *et al.*, 2005).

Estudos recentes têm trabalhado com a hipótese de que a degradação das fibrilas de colágeno possa ser acelerada pela presença de enzimas endógenas conhecidas como metaloproteinases (MMPs) (Pashley *et al.*, 2004; Hashimoto *et al.*, 2003; Hebling *et al.*, 2005; Carrilho *et al.*, 2007). Estas endopeptidases estão presentes na saliva e na matriz extracelular de células humanas que apresentam atividade metabólica de remodelação e degradação de vários tipos de colágeno (Bourd-Boittin *et al.*, 2005). A matriz dentinária contém muitas proteínas não-colagênicas nas quais estão incluídos alguns tipos de metalo-

proteínases: MMP-2, MMP-8, MMP-9 (Bourd-Boittin *et al.*, 2005; Tjäderhane *et al.*, 1998, Sulkala *et al.*, 2006); e outras colagenases não identificadas (Martin-De Las Heras *et al.*, 2000). Em função do processo de mineralização da dentina, estas enzimas ficam retidas na matriz extracelular em estado latente (Tjäderhane *et al.*, 1998), mas podem ser ativadas se, por alguma razão, a dentina for desmineralizada (Fukae *et al.*, 1991). Desta forma, a suspeita de que estas enzimas possam ser de alguma forma liberadas da matriz de dentina mineralizada e participem da degradação do colágeno exposto pelo procedimento adesivo, ou deixado como subproduto da lesão de cárie, parece ser plausível, mas requer estudos mais profundos.

O efeito destas proteases na degradação de fibrilas de colágeno poderia ser indiretamente evidenciado, se de alguma forma a atividade dessas enzimas fosse inibida. O digluconato de clorexidina, empregado usualmente como solução desinfetante de preparos cavitários (de Castro *et al.*, 2003), mostrou ter função antiproteolítica, inibindo de forma inespecífica a ação de metalo-proteínases (Gendron *et al.*, 1999; Pashley *et al.*, 2004; Hebling *et al.*, 2005). Assim pode-se suspeitar que o emprego desta solução, previamente à aplicação dos sistemas adesivos, poderia funcionar como retardador da degradação das interfaces adesivas, o que se comprovado, representaria grande avanço à evolução da Odontologia Restauradora.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Características morfo-funcionais da dentina

A dentina é um tecido duro, de características visco-elásticas e avascular que envolve a câmara pulpar. É composta, em peso por aproximadamente, 70% de matéria inorgânica, 18% de matéria orgânica e 12% de água. Quando considerados os volumes ocupados por esses elementos, se torna aparente que a maior parte da dentina é ocupada por matéria orgânica (30%) e água (20%). Seu componente inorgânico consiste basicamente de hidroxiapatita e a fase orgânica de colágeno tipo I (Marshall *et al.*, 1997; Ten Cate, 1998).

Morfologicamente a dentina é constituída por túbulos dentinários distribuídos de maneira radial a partir da câmara pulpar até a junção amelo-dentinária (JAD). A característica tubular da dentina particulariza este substrato. Cada túbulo dentinário apresenta uma geometria similar à de um tronco de cone invertido, com a base maior voltada para a polpa, que percorre toda a dentina se estendendo da polpa até a junção amelo-dentinária (JAD). Próximos à polpa, os túbulos dentinários chegam a ocupar cerca de 22% da área de superfície de dentina, enquanto que no limite da JAD representam apenas 1% de toda superfície (Garberoglio & Brännström, 1976). O diâmetro de cada túbulo varia entre 1-3 μm , reduzindo seu calibre em direção à junção amelo-dentinária, devido ao tempo de permanência sob ação mineralizante dos odontoblastos.

A dentina é considerada um tecido vivo, comporta em seu interior túbulos, fluidos tissulares da polpa e os prolongamentos citoplasmáticos dos odontoblastos. Os túbulos são os responsáveis pela comunicação existente entre a dentina e a polpa (Mjör, 1973). Admite-se que a sensibilidade dentinária seja devido ao mecanismo hidrodinâmico do fluido contido nos túbulos dentinários. De acordo com esta teoria, movimentos dos fluidos estimulariam as terminações nervosas localizadas nos túbulos e em torno dos odontoblastos, fazendo com que qualquer que seja o estímulo recebido pela dentina possa ser percebido como uma sensação dolorosa (Brännström, 1972). Porém, o fluido tissular não está relacionado apenas com a sensação dolorosa, sua presença é responsável também pela umidade que caracteriza a dentina (Pashley *et al.*, 1993). Uma vez que a variação do

diâmetro e da densidade dos túbulos dentinários já tenha sido comentada, fica fácil compreender por que o conteúdo relativo de fluido tissular também varia nos diversos segmentos da dentina, contribuindo ainda mais com a heterogeneidade deste substrato.

Os espaços que circundam toda a extensão dos túbulos dentinários apresentam intensa deposição de cristais de apatita e pouca matriz orgânica, dando origem à dentina peritubular altamente mineralizada. Separando os túbulos dentinários encontra-se a dentina intertubular composta por fibrilas de colágeno e cristais de apatita. A área de superfície ocupada pela dentina intertubular varia regionalmente em proporção inversa aos túbulos, sendo que na proximidade da polpa encontra-se uma dentina predominantemente peritubular, com grande percentual de túbulos. Já na superfície (de 3,1 a 3,5mm da polpa), a dentina intertubular ocupa 96,2% da superfície (Garberoglio & Brannström, 1976; Pashley *et al.*, 1995).

Adicionalmente, a dentina pode ser classificada de acordo com a sua localização, estrutura, características da matriz e modificações que sofre em resposta a diferentes estímulos. As variações morfológicas mais encontradas em dentina são: dentina esclerosada, dentina terciária reacional, dentina terciária reparadora e a dentina afetada por cárie (Ten Cate, 2001). Todas essas variações regionais relacionadas à atividade fisiológica ou à presença de cárie refletem em um substrato com características complexas e individuais, contribuindo com a variabilidade das respostas aos possíveis procedimentos restauradores que são realizados nesta estrutura.

A matriz orgânica dentinária é constituída principalmente por fibrilas de colágeno tipo I e na superfície de suas fibrilas estão distribuídas algumas proteínas não colagenosas, tais como fosforina, sialoproteína dentinária e glicosaminoglicanas (GAGs). Essas proteínas interagem com colágeno a partir de ligações que estabelecem com moléculas de água fortemente adsorvidas ao colágeno, formando uma rede de polímeros hidrofílicos (Linden *et al.*, 1995). Essa rede polimérica pode absorver água, porém se apresenta insolúvel devido à presença de ligações peptídicas (Nakabayashi & Pashley, 1998). Em presença de ácidos produzidos por bactérias ou oriundos do condicionamento ácido parte do conteúdo mineral é dissolvido expondo as fibrilas de colágeno e demais

proteínas, que diante dessa situação podem estar mais susceptíveis à solubilização, ou em outras palavras, à degradação (Van Strijp *et al.*, 1992; Nakabayashi & Pashley, 1998).

A cárie é um processo dinâmico que se inicia pela presença de biofilme depositado na superfície do dente resultando num desequilíbrio de pH entre superfície do dente e biofilme. Com o tempo inicia-se a perda mineral e a dissolução dos tecidos dentais, podendo identificar a lesão de cárie (Kidd & Fejerskov, 2004). Por ser um tecido vital e responder a estímulos, diante de um processo carioso a reação de resposta do complexo dentino-pulpar é a deposição de mineral nos túbulos dentinários, também conhecida como esclerose tubular. A esclerose tubular é visivelmente observada por uma coloração amarronzada na dentina que está desmineralizada (Zheng *et al.*, 2003; Kidd & Fejerskov, 2004). Outra reação de resposta é a formação de dentina reacionária que se inicia antes da invasão bacteriana. Quando a cavidade é diretamente exposta a bactérias a invasão ocorre pelos túbulos e parte da dentina começa a se decompor pela ação de ácidos e enzimas proteolíticas, estabelecendo a zona de destruição. Com a invasão bacteriana pelos túbulos e rápida progressão da lesão, os processos odontoblásticos são destruídos constituindo os tratos mortos na dentina, esta zona é denominada de zona de penetração bacteriana (Kidd & Fejerskov, 2004).

A partir do diagnóstico clínico da lesão de cárie toma-se a decisão do tratamento odontológico mais apropriado (Kidd & Fejerskov, 2004). Durante o tratamento da cárie a dentina infectada por cárie (DIC) é frequentemente deixada na cavidade buscando evitar uma exposição pulpar (Doi *et al.*, 2004). Tanto o diagnóstico quanto a remoção são cruciais, diante da subjetividade de detecção da qualidade e quantidade de dentina a ser removida. Assim é possível que clínicos estejam aderindo suas restaurações em substrato composto por dentina sadia, dentina afetada e DIC por cárie em diferentes partes numa mesma cavidade (Yoshiyama *et al.*, 2002).

A identificação dessas camadas pode ser realizada pelo método visual que é difícil e/ou da dureza que é subjetivo. Para facilitar a diferenciação em 1988, Fusayama desenvolveu um detector de cárie (ácido vermelho em propileno glicol – Caries Detector) visando diferenciar clinicamente dentina infectada da afetada por cárie baseado no grau de pigmentação da dentina: rosa intenso corresponde à zona infectada; rosa à zona afetada.

Entretanto outros estudos mostraram que o corante não é específico e não discrimina os tecidos infectados do afetado, corando a matriz orgânica dentinária menos mineralizada que resulta na remoção tecidual desnecessária (Ansari *et al.*, 1999; McComb, 2000). Sendo assim, a combinação do corante com a inspeção visual e da dureza, por sondas exploradoras, parece oferecer uma avaliação mais satisfatória dos tipos de dentina gerando um diagnóstico mais específico e válido da cárie no preparo cavitário (Ansari *et al.*, 1999; McComb, 2000).

O tratamento das lesões de cárie a partir da técnica minimamente invasiva (Mertz-Fairhurst *et al.*, 1979a, 1979b, 1998; Çehreli *et al.*, 2003; Christensen, 2005) tem como principal objetivo a escavação da dentina cariada, removendo apenas a camada mais superficial da lesão altamente infectada por bactérias (DIC), desmineralizada com colágeno desnaturado; e a manutenção da camada interna afetada por cárie (dentina afetada por cárie - DAC) composta por fibrilas de colágeno intactas e considerada fisiologicamente remineralizável (Larger *et al.*, 2003; Yoshiyama *et al.*, 2002, Conrado, 2004). Os estudiosos que advogam a manutenção da dentina afetada, durante a restauração de dentes acometidos por cárie, creditam ao advento dos adesivos hidrofílicos atuais a possibilidade de unir e selar a dentina afetada (e até mesmo a infectada) por cárie, isolando bactérias residuais dos carboidratos fermentáveis presentes nos fluidos orais ou nutrientes vindos da polpa (Yoshiyama *et al.*, 2002). Mantendo-se seladas e isoladas de ácidos bacterianos, o uso adjuntivo de soluções fluoretadas (Ten Cate, 2001) ou hidróxido de cálcio (Conrado, 2004) proporcionaria o aumento da deposição mineral nessa estrutura. Entretanto, uma vez que os sistemas adesivos têm mostrado não serem capazes de selar completamente a dentina (Bouillaguet *et al.*, 2000; Tay *et al.*, 2002; D'Alpino *et al.*, 2006) a consequência clínica desse procedimento é conflitante e consagra um dos paradigmas da odontologia atual: remover ou não a dentina infectada antes de selar a cavidade (McComb, 2000; Kidd, 2004; Kidd & Fejerskov, 2004).

2.2 Mecanismos de adesão à dentina & Classificação dos sistemas adesivos

Em Odontologia o termo adesão é freqüentemente utilizado para definir o processo que estabelece a união micro mecânica entre os compósitos de resina e os substratos dentais, esmalte e dentina. O princípio fundamental da união aos tecidos dentais baseia-se em um processo de troca, em que o componente inorgânico da dentina (cristais de apatita - fosfato de cálcio) é substituído por resina. Esta união é conseguida pela aplicação de um agente intermediário denominado adesivo ou sistema adesivo. O processo de união entre o substrato biológico (dentina e esmalte) e o restaurador (compósito de resina) ocorre em duas fases: a primeira consiste na remoção dos minerais dos tecidos dentais para criação de micro porosidades; e a segunda, também chamada de fase de hibridização, envolve a infiltração e polimerização *in situ* de monômeros resinosos através das porosidades criadas (Nakabayashi *et al.*, 1982; Pashley *et al.*, 1993; Pashley & Carvalho, 1997; Van Meerbeek *et al.*, 2003). Embora existam evidências de que alguns componentes dos adesivos possam reagir quimicamente com elementos do substrato dental, sugerindo um adicional mecanismo de retenção química (Xu *et al.*, 1997; Van Meerbeek *et al.*, 2003), as interações que determinam essa união são, provavelmente, de pequena magnitude e se tornam desprezíveis frente às maiores interações determinadas pela hibridização (Carvalho *et al.*, 2004).

Sistemas adesivos são combinações de monômeros resinosos mais hidrofílicos, como HEMA (2-hidroxi-etil metacrilato), e mais hidrofóbicos como Bis-GMA (bisfenol-A diglicidil éter dimetacrilato), que apresentam diferentes pesos moleculares e viscosidades. A diluição desses monômeros, de modo a se atingir a fluidez necessária para a aplicação clínica, é conseguida pela adição de diluentes resinosos (outros monômeros de menor peso molecular, como o TEGDMA – trietilenoglicol dimetacrilato) e solventes orgânicos polares como a acetona e o etanol, além de água presente em várias formulações (Carvalho *et al.*, 2004). Uma maneira conveniente de classificar a enorme variedade de sistemas adesivos disponíveis na atualidade consiste em dividi-los em dois grandes grupos: sistemas adesivos convencionais ou autocondicionantes (Van Meerbeek *et al.*, 2003). Sob esta classificação os sistemas de união são definidos de acordo com a estratégia que empregam no tratamento

dos substratos dentais; sendo que os sistemas adesivos convencionais requerem, separadamente, o condicionamento ácido da superfície dental, previamente a aplicação da solução monomérica que hibridizará com a dentina, enquanto que os sistemas autocondicionantes empregam monômeros acídicos que desmineralizam o substrato ao mesmo tempo em que infiltram pelas porosidades criadas a fim de serem, subseqüentemente, polimerizados (Perdigão & Lopes, 1999; De Munck *et al.*, 2005).

O procedimento de união utilizando-se sistemas de união convencionais emprega, geralmente, um gel de ácido fosfórico em concentrações variáveis (30-40%) que produz na superfície da dentina e esmalte porosidades pelas quais a resina adesiva será, posteriormente, infiltrada (Fusayama *et al.*, 1979; Nakabayashi *et al.*, 1982). Os sistemas adesivos convencionais são, ainda, subdivididos em duas categorias, em função do número de passos operatórios empregados na hibridização dos substratos dentários. Sistemas de união de 3 passos requerem do condicionamento ácido, aplicação de um *primer* e do adesivo separadamente. Subseqüentemente a aplicação, remoção e lavagem do agente condicionador (ácido fosfórico), uma solução de monômeros resinosos hidrofílicos diluídos em solventes orgânicos denominada *primer* é aplicada sobre o substrato desmineralizado (Carvalho *et al.*, 1998; Nakabayashi e Pashley, 1998). Com a função de infiltrar-se pelas fibrilas de colágeno da dentina, expostas pelo condicionamento ácido, preencher os espaços interfibrilares e formar um novo substrato, a camada híbrida (Nakabayashi *et al.*, 1982; Van Meerbeek *et al.*, 1993; Nakabayashi & Pashley, 1998). Finalmente, cabe ao adesivo composto por monômeros resinosos mais hidrofóbicos a copolimerização com os polímeros da camada híbrida, e a formação de um substrato de ancoragem para o compósito de resina que será utilizado para restaurar a estrutura dentária perdida (Perdigão & Lopes, 1999; Van Meerbeek *et al.*, 2003; De Munck *et al.*, 2005).

Visando a otimização do uso desses sistemas surgiram os adesivos convencionais simplificados de 2 passos. Estes adesivos combinam em uma mesma solução o *primer* e o adesivo resinoso, combinando monômeros hidrofílicos e hidrofóbicos numa única aplicação (Perdigão & Lopes, 1999; Van Meerbeek *et al.*, 2003; De Munck *et al.*, 2005). Nessa versão simplificada, manteve-se a aplicação do condicionamento ácido de forma isolada, seguida pela aplicação de uma única solução denominada de *primer/adesivo*.

Os componentes do primer hidrofílico (monômeros e solventes) foram misturados com os monômeros resinosos hidrofóbicos do adesivo, permitindo que uma única solução fosse compatível com o substrato naturalmente úmido da dentina (Pashley *et al.*, 1993). Nesse sentido, nota-se que a simplificação contempla especificamente um requisito para a adesão à dentina, devido à necessidade do emprego da técnica úmida (Kanca *et al.*, 1992). Compreende-se que, devido à necessidade de características hidrofílicas, as soluções únicas dos adesivos simplificados contêm os solventes orgânicos e monômeros hidrofílicos de baixo peso molecular necessário para que a formulação seja fluida o suficiente para infiltrar-se nos espaços interfibrilares. Embora o nome adotado por esse sistema seja “simplificados”, as formulações são quimicamente mais complexas, haja visto a necessidade de incorporação de quantidades maiores de solventes e diluentes na porção hidrofóbica do adesivo, de maneira a torná-lo compatível com a técnica de hibridização (Carvalho *et al.*, 2004). Assim, como no *primer* dos sistemas de 3 passos, os adesivos de 2 passos podem ou não conter água em sua composição e funcionam simultaneamente com agente de formação da camada híbrida e união com o material restaurador aplicado posteriormente.

Como previamente citado, os sistemas adesivos autocondicionantes diferem dos convencionais por não exigirem a aplicação isolada do ácido condicionador. Os primeiros adesivos autocondicionantes eficientes foram desenvolvidos no início da década de 90, ainda adotando a técnica de 2 passos operatórios. Em essência os adesivos autocondicionantes agregaram num único passo operatório o processo de desmineralização do substrato à aplicação de monômeros adesivos. Assim, enquanto nos adesivos convencionais simplificados o *primer* foi associado à resina adesiva, nos autocondicionantes a associação foi feita entre o *primer* e o ácido (Van Meerbeek *et al.*, 2003). Isso decorre em função da possibilidade de se adicionar ésteres fosfatados aos grupamentos carboxílicos de monômeros resinosos, acidificando-os a ponto de serem capazes de desmineralizar esmalte e dentina. Os primeiros sistemas autocondicionantes empregavam misturas de HEMA e outros monômeros resinosos com ésteres de fenil-fosfato, capazes de copolimerizar com os monômeros de metacrilato (Clearfil Liner Bond 2, Kuraray Med. Inc., Japão) (Watanabe *et al.*, 1994). Posteriormente, foram desenvolvidos

monômeros ácidos específicos (4-MET, 4-metacrilóxi-etil tri-melítico; 10-MDP, 10-metacrilóxi-decil di-hidrôgenio fosfato; etc.), derivados de radicais carboxílicos, os quais conferiram maior estabilidade à formulação (Clearfil Liner Bond 2V, Clearfil SE Bond, Kuraray Med. Inc., Japão; Fluoro Bond, Shofu Inc., Japão; MAC-10, Tokuyama Inc., Japão), além de potencialmente originarem mecanismos químicos de adesão ao dente (Van Meerbeek *et al.*, 2003). Como o mecanismo de autocondicionamento da estrutura dentária depende da acidificação da solução no momento da aplicação, todos os sistemas autocondicionantes devem conter água em sua fórmula, além dos necessários solventes orgânicos e diluentes (monômeros de baixo peso molecular) que tornam a solução fluida o suficiente para infiltrar-se nos tecidos dentais. Nos adesivos autocondicionantes de 2 passos, o caráter ácido e fluido é encontrado no primer do material, que é a primeira solução a ser aplicada e responsável pela formação da camada híbrida com os tecidos dentais. O passo de número 2 é representado pela aplicação de uma resina de baixa viscosidade (adesivo), de características hidrofóbicas e que não contém solventes ou água. Por semelhança, seria a mesma resina adesiva do terceiro passo dos adesivos convencionais de 3 passos. Essa resina copolimeriza-se com o primer ácido e faz a ligação com o material restaurador, além de garantir espessura mínima adequada da camada do adesivo, impedindo que haja comprometimento da polimerização pela presença de oxigênio. A esses adesivos autocondicionantes de 2 passos, nos quais o primer é a solução acidificada, dá-se o nome de “*primer autocondicionante*” (De Munck *et al.*, 2005).

Apesar dos sistemas autocondicionantes já se apresentarem como sistemas de técnica simplificada, os fabricantes não abandonaram a tendência de simplificá-los ainda mais. Introduzidos mais recentemente no mercado, os chamados adesivos de “passo único” que ganharam a atenção por serem tecnicamente atrativos em sua forma de aplicação. Fundamentalmente, os fabricantes uniram o *primer* ácido com a resina adesiva dos sistemas de 2 passos. Dessa maneira, uma única solução que contém os monômeros ácidos, solventes, diluentes e água é aplicada diretamente sobre o substrato dental não condicionado e desempenham a função de desmineralização, infiltração e posterior ligação com o material restaurador. Devido à necessidade da presença de água na formulação única

(para deflagrar o processo de acidificação), entende-se que os monômeros hidrofóbicos deixaram de ser parte significativa nesses materiais (Carvalho *et al.*, 2004).

Embora exista uma tendência para a produção e uso de sistemas adesivos de técnicas simplificadas, dados científicos originados de inúmeras pesquisas laboratoriais e clínicas indicam que os sistemas adesivos convencionais de 3 passos são os que apresentam desempenho mais favorável e a maior credibilidade em longo prazo (Van Meerbeek *et al.*, 2003). Clinicamente, adesivos convencionais de 3 passos e autocondicionantes de 2 passos têm mostrado superior desempenho em relação aos demais, embora os dados com os autocondicionantes de 2 passos necessitem ser confirmados em estudos mais prolongados. Os sistemas convencionais de 2 passos apresentam desempenho clínico menos favorável que seus antecessores de 3 passos (Van Meerbeek *et al.*, 2003; De Munck *et al.*, 2005). Em todos os quesitos, os sistemas autocondicionantes de passo único sempre respondem pelo desempenho menos favorável, ainda que existam grandes variações de performance entre os diferentes estudos (Van Meerbeek *et al.*, 2003). Não há intenção de desqualificar precocemente os adesivos autocondicionantes de passo único, até porque são materiais com reduzido tempo de mercado, entretanto, é inegável que evidências científicas que apontam as deficiências desses produtos estejam aumentando nos meios de divulgação científica.

2.3 Longevidade das restaurações adesivas

Nos últimos 20 anos, o desenvolvimento da Odontologia Adesiva esteve voltado à obtenção de dois objetivos cardiais: o estabelecimento de união resistente, formado entre os tecidos dentários e os materiais restauradores à base de resina, e a redução das taxas de desgaste sofrido por estes materiais. A não observância destes princípios foi, por muito tempo, imputada como sendo determinante do fracasso das restaurações em resina composta, incentivando os profissionais a continuarem se valendo do uso de técnicas restauradoras menos conservadoras, porém mais confiáveis em termos da longevidade clínica proporcionada, empregando, assim, materiais como o amálgama ou a cerâmica. De fato, a associação de eventos como a utilização da técnica de adesão úmida e o surgimento dos sistemas adesivos hidrofílicos possibilitaram um aumento imediato e significativo da

resistência de união das restaurações adesivas (Eick *et al.*, 1997; Pashley & Carvalho, 1997; Perdigão & Lopes, 1999). Da mesma forma, a concomitante melhora das propriedades físico-mecânicas dos compósitos de resina, e a conseqüente diminuição de fracassos clínicos em função de fraturas e desgastes excessivos destes materiais, viabilizou procedimentos restauradores mais conservativos e estéticos, e ajudou a disseminar o emprego corrente das restaurações adesivas.

A despeito do uso corriqueiro, as resinas odontológicas ainda representam uma alternativa provisória sob o ponto de vista da longevidade que proporcionam às restaurações ou às demais aplicações clínicas que se valha de sua utilização (Gwinnett & Yu, 1994; Burrow *et al.*, 1996; Kato & Nakabayashi, 1998; Sano *et al.*, 1999; Kitasako *et al.*, 2000, Armstrong *et al.*, 2001; Hashimoto *et al.*, 2000). Muitos estudos têm mostrado que dentro de um curto período (6 meses a 3 anos) a resistência de união destas restaurações pode ser reduzida a valores 50% inferiores àqueles verificados imediatamente, ou seja, obtidos tão logo os procedimentos de adesão estejam concluídos (Okuda *et al.*, 2001, 2002; Hashimoto *et al.*, 2000, 2001; De Munck *et al.*, 2003; Carrilho *et al.*, 2004). Num estudo de revisão recentemente publicado, Brunthaler *et al.* (2003) afirmam que os estudos que reportam resultados favoráveis ao desempenho clínico das restaurações adesivas são baseados, freqüentemente, em avaliações de curto prazo (de até 3 anos de duração).

O comprometimento relativo da estabilidade das restaurações adesivas é mais aparente quando a dentina é o substrato de união primordialmente envolvido. Esta prevalência, provavelmente, se deve ao emprego da técnica de adesão à dentina úmida, adotada na maioria dos protocolos de adesão, e que como solução de compromisso exige a utilização imperativa de sistemas adesivos hidrofílicos a fim de promover a formação de uma adequada zona de interdifusão ou camada híbrida (Van Meerbeek *et al.*, 1993). Porém, a conversão destes monômeros em meio úmido determina a formação de polímeros inerentemente fracos (Paul *et al.*, 1999; Carrilho *et al.*, 2005) e com menor capacidade selar adequadamente a dentina (Tay *et al.*, 2002, 2004). Apesar disso, em análise imediata, resultados elevados de resistência de união são freqüentemente reportados pelo emprego destes materiais (Brunthaler *et al.*, 2003). A contrapartida se traduz, entretanto, no fato de

que a natureza hidrófila destes adesivos determina que os mesmos estejam intrinsecamente sujeitos à absorção de água e à degradação por hidrólise ao longo do tempo (Santerre *et al.*, 2001). A caracterização do fenômeno de permeação de água através dos materiais adesivos (Tay *et al.*, 2002, 2003; Itthagarun *et al.*, 2004) indicam que a sorção de água em polímeros constituídos por monômeros hidrofílicos (Yiu *et al.*, 2005; Ito *et al.*, 2006, Malacarne *et al.*, 2006) pode, em parte, ser responsável pela degradação destes materiais (Tay *et al.* 2002; Tay & Pashley, 2003, Tay *et al.*, 2003; Yiu *et al.*, 2004) ou, minimamente, determinar o comprometimento expressivo do seu desempenho mecânico em longo prazo (Paul *et al.*, 1999; Carrilho *et al.*, 2004; Yiu *et al.*, 2004).

Desde que a técnica de hibridização da dentina foi proposta (Nakabayashi *et al.*, 1982), houve preocupação em assinalar a importância de que todos os espaços deixados pela desmineralização fossem inteiramente substituídos pelos monômeros resinosos (Nakabayashi *et al.*, 1982; Nakabayashi & Takarada 1992; Kato & Nakabayashi, 1998). Essa assertiva baseava-se nas especulações de que as fibrilas de colágeno não envolvidas pelo material resinoso estariam desprotegidas da hidrólise a que fatalmente estariam sujeitas na cavidade oral (Nakabayashi *et al.*, 1982; Nakabayashi & Takarada, 1992; Burrow *et al.*, 1996; Kato & Nakabayashi, 1998; Hashimoto *et al.*, 2000). Ao longo destes últimos 20 anos, esta suspeita ficou reduzida ao nível das especulações não havendo suporte científico para respaldá-la; ao contrário a literatura apresentava sinais que apontavam para a estabilidade da dentina desmineralizada frente a um desafio hidrolítico prolongado (Carvalho *et al.*, 2000; Carrilho *et al.*, 2004).

Técnicas mais sofisticadas de análise ultra-estrutural, como a espectroscopia de Raman e a microscopia eletrônica de transmissão, permitiram evidenciar, recentemente, que a concentração e distribuição de monômeros resinosos no interior da dentina desmineralizada é, de fato, irregular e descontínua (Spencer & Swafford, 1999, Spencer *et al.*, 2000; Spencer & Wang, 2002; Wang & Spencer, 2003), resultando invariavelmente na exposição permanente de fibrilas de colágeno (Spencer *et al.*, 2000; Wang & Spencer 2003). Paralelamente, e de forma inédita, estudos *in vitro* têm indicado que as fibrilas de colágeno expostas pelo condicionamento ácido da dentina podem ter suas características morfológicas progressivamente alteradas pela exposição contínua a soluções aquosas

(Hashimoto *et al.*, 2003; Pashley *et al.*, 2004). Um estudo *in vivo*, mais recente, demonstrou que o colágeno da camada híbrida de dentes decíduos sofreu alterações morfológicas (perda de periodicidade e desfibrilamento) significativas em apenas 6 meses de funcionamento clínico (Hebling *et al.*, 2005). Os autores levantaram a hipótese de que essa rápida degradação do colágeno poderia estar relacionada ao fato de que as camadas híbridas avaliadas, naquele estudo, se constituíram num substrato misto, isto é, composto por dentina sadia e afetada por cárie (Hebling *et al.*, 2005). Portanto, essa hipótese parte do princípio que, uma vez que os sistemas adesivos têm mostrado ser pouco efetivo em selar completamente à dentina (Bouillaguet *et al.*, 2000, Itthagarun *et al.*, 2004; Chresoni *et al.*, 2004), o colágeno presente na dentina afetada por cárie, que apresenta um menor número ligações peptídicas (Kuboki *et al.*, 1977), seria teoricamente mais susceptível a degradação (Hebling *et al.*, 2005).

Em 1995, Sano e colaboradores demonstraram que a resistência de união dos compósitos de resina poderia ser afetada pelas características físico-mecânicas da dentina. Quando a dentina é acometida por um processo de cárie, ela é submetida a repetidos ciclos de desmineralização que causam o amolecimento parcial de sua estrutura (Nakajima *et al.*, 1995; Yoshiyama *et al.*, 2000; Doi *et al.*, 2004), resultando em desnaturação da sua estrutura e do rompimento de muitas ligações peptídicas das fibrilas de colágeno, responsáveis pela rigidez da dentina (Kuboki *et al.*, 1977; Zheng *et al.*, 2003). Este decréscimo na rigidez do substrato dentinário favorece o seu relativo colapso e, assim, pode dificultar a proporcional infiltração dos monômeros resinosos, criando uma camada híbrida porosa com reduzida resistência coesiva (Yoshiyama *et al.*, 2000; Ceballos *et al.*, 2003; Doi *et al.*, 2004). Como a resistência da interface de união sistemas adesivos/substratos dentais depende da resistência intrínseca dos componentes que a formam (Pashley & Carvalho, 1997; Carrilho *et al.*, 2005), é plausível considerar que a baixa resistência de união na dentina cariada observada no estudo de Sano *et al.* (1995) seja, de fato, um produto das alterações físico-mecânicas deste substrato quando comparado ao sadio.

A maioria dos estudos que avaliam o desempenho dos sistemas adesivos, em curto ou longo prazo, emprega dentina sadia, mesmo sendo a dentina afetada por cárie e a dentina esclerosada substratos mais relevantes clinicamente (Nakajima *et al.*, 1999;

Yoshiyama *et al.*, 2000; Sengün *et al.*, 2002). Estes substratos são raramente utilizados devido à dificuldade em obtê-los em condições práticas que possibilite a realização do teste, devido ao formato irregular e tamanho das lesões (Nakajima *et al.*, 1999). Como esses substratos normalmente ocorrem em pequenas áreas no preparo cavitário, algumas técnicas para se avaliar o desempenho dos sistemas adesivos nesses substratos são inapropriadas (Yoshiyama *et al.*, 2000). Neste sentido o teste mecânico de microtração, proposto Sano e colaboradores em 1995, constitui uma ferramenta metodológica importante, pois permite avaliar inúmeras diferenças regionais do substrato dentinário (Shono *et al.*, 1997; Phrukkanon *et al.*, 1999); por exemplo, comparar dentina coronária e radicular (Yoshiyama *et al.*, 1996), entre dentina normal e afetada por cárie (Nakajima *et al.*, 1995; Yoshiyama *et al.*, 2000; Doi *et al.*, 2004), entre dentina normal e esclerosada (Prati *et al.*, 1999), e entre diferentes paredes de um único preparo cavitário (Yoshiyama *et al.*, 1996).

Evidentemente, os estudos clínicos são os mais apropriados para avaliar o desempenho das restaurações adesivas em longo prazo, já que neste cenário eles serão submetidos às diversas condições adversas como variações térmicas, de pH, de fluxo salivar, cargas mecânicas, dieta alimentar, etc. No entanto, estes estudos são caros, dependem de tempo para fornecer resultados, de uma equipe que mostre coerência (concordância intra e entre avaliadores e operadores), de planejamento elaborado, de aprovação por um comitê de ética, e de já apresentar subsídios para ser avaliados em humanos. Assim, os estudos laboratoriais e pré-clínicos constituem ferramenta obrigatória, e permitem o trabalho com variáveis isoladas ou não e que influirão na efetividade e confiabilidade requeridas do material. Neste sentido, o preparo das amostras para o teste de microtração, adicionalmente, permite ao pesquisador simular, laboratorialmente, o relativo envelhecimento das restaurações adesivas, submetendo as interfaces de união a diferentes desafios como o armazenamento em água e/ou saliva artificial (Sano *et al.*, 1999; Hashimoto *et al.*, 2000; De Munck *et al.*, 2005, 2006; Loguercio *et al.*, 2005; Carrilho *et al.*, 2005), soluções aquosas contendo enzimas salivares (Armstrong *et al.*, 2006; Toledano *et al.*, no prelo), variações de pH (Peris *et al.*, 2006) e cargas mecânicas cíclicas (De Munck *et al.*, 2005; Osorio *et al.*, 2005; Toledano *et al.*, 2006; Mitsui *et al.*, 2006).

2.4 Degradação dos componentes orgânicos da camada híbrida

As evidências científicas atuais permitem especular que o comprometimento da interface de união dentina/resina composta é provavelmente o resultado de um efeito combinado da degradação de seus componentes resinosos que gradualmente absorvem água (Ito *et al.*, 2005; Malacarne *et al.*, 2006), tornando-se cada vez mais permeáveis e susceptíveis à hidrólise (Ferracane *et al.*, 2005; Yiu *et al.*, 2006; Carrilho *et al.*, 2005), e da degradação do substrato dentinário desmineralizado exposto, não protegido pela resina, que também está sujeito à hidrólise (Hashimoto *et al.*, 2003; Pashley *et al.*, 2004).

Alguns pesquisadores têm trabalhado com a hipótese de que a degradação das fibrilas de colágeno possa ser catalisada pela presença de enzimas endógenas conhecidas como metalo-proteinases (MMPs) (Pashley *et al.*, 2004; Hebling *et al.*, 2005; Mazzoni *et al.*, 2006; Nishitani *et al.*, 2006; Carrilho *et al.*, 2007). As metalo-proteinases constituem um grupo de pelo menos 22 enzimas presentes na matriz extracelular de tecidos humanos, em que se observa intensa atividade metabólica de remodelação e degradação de vários tipos de colágeno. A atividade destas enzimas é diretamente dependente da presença de cálcio e zinco (Tjäderhane *et al.*, 2002). Estudos que trazem evidências, mais contundentes, da presença e atividade das MMPs nos tecidos orais são mais na avaliação dessas enzimas em tecidos moles, como por exemplo, no ligamento periodontal (Sorsa *et al.*, 2006). Embora ainda sejam restritos, é patente o registro de um número crescente de estudos que, direta ou indiretamente, têm revelado a presença e/ou a atividade dessas enzimas em outros tecidos orais, como a dentina (Tjäderhane *et al.*, 1998, 2002; Sulkala *et al.*, 2002, 2006).

O envolvimento de algumas MMPs na remodelação do colágeno tipo I durante a amelogenese e dentinogenese, por exemplo, suportam a hipótese de que essas enzimas podem permanecer inativas na matriz extracelular do esmalte e dentina após o processo de mineralização dos mesmos (Fukae *et al.*, 1991, 1992; Sulkala *et al.*, 2002; Van Strijp *et al.*, 2002). E diante de situações de desequilíbrio metabólico, como observado, por exemplo, na progressão da cárie, as MMPs poderiam ser expostas e reativadas, tornando-se novamente capazes de degradar a matriz orgânica desses substratos, principalmente da dentina (Tjäderhane *et al.*, 1998; Chaussain Miller *et al.*, 2006). A atividade da enzima MMP-8, uma potente collagenase, foi associada à destruição do colágeno em lesões de cárie

induzidas em animais roedores *germe-free* (Tjäderhane *et al.*, 1998). As evidências confirmam que a enzima identificada não era de origem bacteriana, mas do próprio hospedeiro, e que antes da desmineralização induzida estavam, provavelmente, em estado latente e, portanto, inativadas pela deposição de mineral (Tjäderhane *et al.*, 1998). Num estudo recente, técnicas de imuno-histoquímica associadas à eletroferese e *Western blot*, empregadas, freqüentemente, para detectar a expressão de proteínas, foram bem sucedidas em confirmar a presença de MMP-8 e MMP-2 em dentina humana mineralizada, e na matriz extracelular da pré-dentina não mineralizada (Sulkala *et al.*, 2006). Acredita-se que essas enzimas estejam inter-molecularmente ligadas ao colágeno da matriz de dentina e que uma vez expostas, seriam potencialmente capazes de degradar o colágeno a que estão ligadas (Tjäderhane *et al.*, 1998; Pashley *et al.*, 2004, Mazzoni *et al.*, 2006, Nishitani *et al.*, 2006, Breschi *et al.*, 2006).

Cabe lembrar que durante os procedimentos de união dos compósitos de resina aos tecidos dentais, a dentina deve ser condicionada por soluções ou monômeros ácidos tendo, assim, parte de sua estrutura mineral removida. Assim, é perfeitamente razoável presumir que, neste momento, não apenas o colágeno seja exposto, mas também proteínas não-colagênicas, como por exemplo, enzimas proteolíticas (metalo-proteinases, catepsinas, etc). Se durante a aplicação da resina adesiva, os monômeros fossem eficientes em infiltrar-se completamente por todos os espaços interfibrilares da dentina, copolimerizando-se, provavelmente as MMPs expostas pelo condicionamento seriam novamente “fossilizadas”, permanecendo inativas. Entretanto sabe-se que os sistemas de união disponíveis, invariavelmente, falham nesta infiltração (Wang & Spencer; 2003, 2005), portanto inúmeros sítios da matriz dentinária poderão permanecer completamente expostos. Desta forma, a suspeita de que as MMPs possam de alguma forma participar da degradação do colágeno exposto durante o procedimento adesivo parece ser plausível (Pashley *et al.*, 2004; Mazzoni *et al.*, 2006; Nishitani *et al.*, 2006), mas requer estudos mais profundos.

A regulação da atividade e expressão das MMPs é regulada em múltiplos níveis, incluindo desde a transcrição da proteína, à secreção e degranulação de sua forma inativa ou, quando já é secretada e ativa na matriz extracelular, através da ação dos inibidores de extracelulares da matriz. Os inibidores teciduais das metalo-proteinases (TIMPs), são

proteínas glicosiladas de baixo peso molecular que participam da regulação do metabolismo da matriz extracelular e inibem, com diferentes graus de efetividade, a atividade de todos os tipos de MMPs (Chaussain Miller *et al.*, 2006; Sorsa *et al.*, 2006). Portanto, em condições fisiológicas normais, a atividade de MMPs é, eficientemente, controlada por todos os mecanismos reguladores citados. Entretanto, a exposição dramática da matriz extracelular em tecidos colagênicos, dado a estímulos patológicos endógenos e exógenos, podem determinar distúrbios em um, ou mais de um, dos mecanismos regulatórios da atividade de MMPs e, assim, favorecer a excessiva destruição e degradação do tecido (Chaussain Miller *et al.*, 2006; Sorsa *et al.*, 2006). Nesse sentido, em situações potencialmente capazes de favorecer tal desequilíbrio, o uso adjunto de inibidores sintéticos de metalo-proteinase cumpre um papel regulador importante (Gendron *et al.*, 1999; Sorsa *et al.*, 2006).

O digluconato de clorexidina (CHX) é um eficaz agente antibacteriano de amplo espectro, que tem se mostrado efetivo na inibição de pelos menos três tipos de metalo-proteinase MMP-2, MMP-8 e MMP-9 (Gendron *et al.*, 1999). As propriedades antiproteolíticas da CHX parecem ser efetivas até mesmo quando presente em baixas concentrações. Acredita-se que a CHX interaja com os grupos sulfidril e/ou cisteína presentes nos sítios ativos de algumas MMP (MMP-8), ou ainda possa quelar o cálcio presente nos tecidos, inativando outras MMPs (MMP-2 e MMP-9), e inibindo a atividade colagenolítica dessas enzimas (Gendron *et al.*, 1999). A utilização da CHX é atraente sob o ponto de vista clínico, pois já tem sido freqüentemente utilizada para limpeza de preparos cavitários, atuando como agente desinfetante sobre esmalte ou dentina afetada por cárie, antes da confecção das restaurações (Gendron *et al.*, 1999; de Castro *et al.*, 2003; Basrani *et al.*, 2004; Schmalz *et al.*, 2004; Hebling *et al.*, 2005). Devido à composição da solução em 98% de água, a CHX pode ainda atuar na manutenção da expansão da rede de fibrilas colágenas desmineralizadas, requisito necessário à infiltração dos monômeros resinosos para a formação da camada híbrida. Em alguns estudos sua utilização após o condicionamento ácido mostrou não comprometer a adesão dos sistemas adesivos convencionais ou autocondicionantes (de Castro *et al.*, 2003; Hebling *et al.*, 2005; Pappas *et al.*, 2005, Carrilho *et al.*, 2007). Adicionalmente, estudos *in vivo* (Hebling *et al.*, 2005) e

in vitro (Carrilho *et al.*, 2007) indicam que a aplicação da solução de clorexidina após o condicionamento da dentina e previamente ao uso dos adesivos convencionais pode desacelerar o processo de degradação das interfaces adesivas, podendo constituir uma ferramenta clínica útil na busca pela maior longevidade das restaurações adesivas. Embora estes estudos indiquem potenciais benefícios da utilização da clorexidina antes da aplicação dos sistemas adesivos, é evidente que estudos adicionais sobre ação destes agentes sobre diferentes tipos de dentina, hibridizadas com diferentes sistemas de união se fazem necessários.

3 PROPOSIÇÃO

3.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito da aplicação do digluconato de clorexidina na estabilidade da união de sistemas adesivos e dentina sadia ou afetada por cárie.

3.2 Objetivos específicos

1) Testar a hipótese de que a utilização do digluconato de clorexidina previamente à aplicação dos sistemas adesivos não interfere na resistência mecânica imediata da união de sistemas adesivos e dentina sadia ou afetada por cárie;

2) Testar a hipótese de que a utilização do digluconato de clorexidina previamente à aplicação dos sistemas adesivos pode minimizar o processo de degradação das interfaces constituídas tanto por dentina sadia quanto daquela afetada por cárie.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, conforme parecer de número 172/2004 em 07/02/2005 (Anexo 1).

4.1 Avaliação da resistência de união à microtração

4.1.1 Obtenção dos dentes

Foram selecionados 20 molares humanos permanentes recém extraídos não restaurados, apresentando lesão de cárie ativa em dentina, e mantidos sob refrigeração em solução de timol 0,1% (Merck S.A., Darmstadt, Alemanha) por um período máximo de 3 meses. Os dentes foram radiografados utilizando filme radiográfico periapical (Dental intraoral E-speed film, size 2, Kodak, São José dos Campos, São Paulo, Brasil) e tela milimetrada (Figura 1A) para padronizar a identificação da extensão da lesão de cárie e da profundidade aproximada em que os procedimentos adesivos seriam efetuados; que neste caso foi entre a dentina média e profunda (Figura 1B).

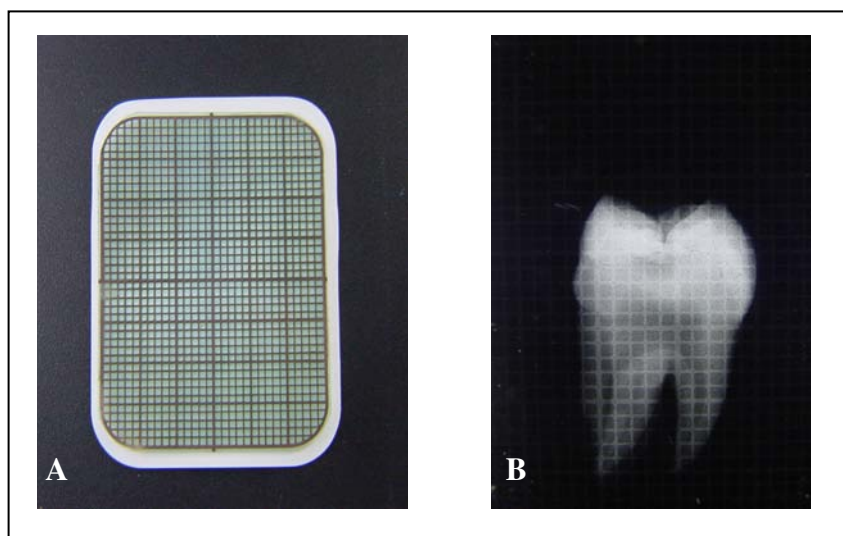


Figura 1 – Seleção dos dentes: A) Filme periapical + Tela milimetrada; B) Radiografia padronizada: espessura mínima de 1mm de dentina entre a base da lesão de cárie e o teto da câmara pulpar.

4.1.2 Preparo dos dentes

Os 20 dentes foram limpos com curetas, e polidos com taça de borracha e pedra pomes em baixa rotação sob irrigação constante, seguida de lavagem com água destilada. Os dentes foram fixados a uma placa de acrílico com cera pegajosa, e longo eixo paralelo à superfície da placa. O esmalte oclusal e a dentina superficial foram removidos pelo corte de um disco diamantado (Exttec Corp., Enfield, CT, EUA) acoplado à máquina de corte (Isomet 1000, Buehler Ltd., Lake Bluff, Illinois, EUA – Figura 2B), sob refrigeração a água para expor uma superfície plana de dentina média para profunda com lesão de cárie circundada por dentina sadia (Figura 3B).

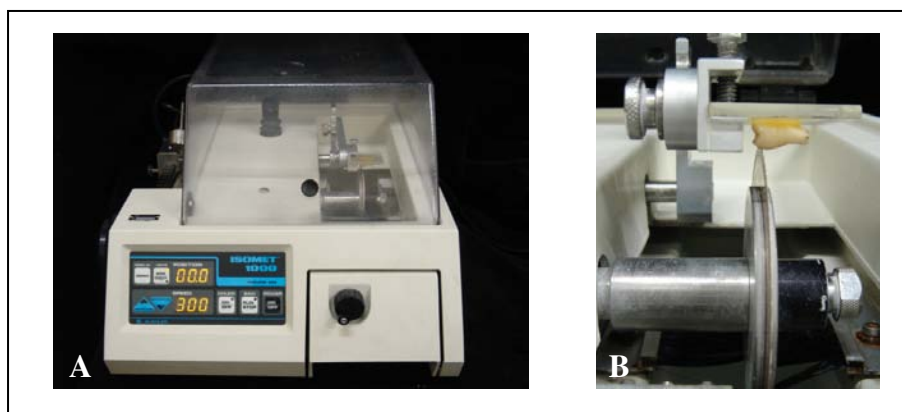


Figura 2 – A: Cortadeira ISOMET 1000, Buehler; B: Disco diamantado acoplado a cortadeira para realização do corte do esmalte e dentina superficial do dente fixado a placa de acrílico.

A diferenciação entre dentina afetada e infectada por cárie foi monitorada pela utilização de solução corante, Caries Detector (Kuraray, Med. Inc, Okayama, Japão) combinado à inspeção tátil com sonda exploradora afiada (Nakajima *et al.*, 1995; Ansari *et al.*, 1999; Yoshiyama *et al.*, 2002). Toda dentina foi coberta pela solução para pigmentar a lesão e facilitar a identificação do substrato. Após 10 segundos a solução foi lavada com água e a dentina classificada em 3 tipos: dentina sadia, substrato duro e sem pigmentação; dentina afetada por cárie, substrato duro e com coloração rosa e dentina infectada por cárie, substrato amolecido com coloração rosa intenso, que foi removido com brocas de aço em baixa rotação. Repetia-se o procedimento de identificação para exposição de substrato formado apenas por dentina sadia e afetada por cárie.

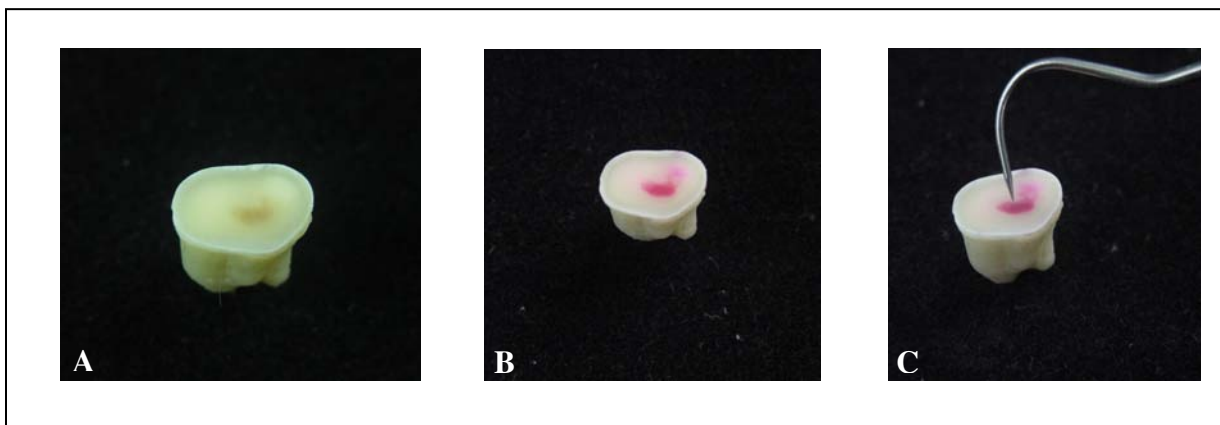


Figura 3 - Identificação do substrato: A) Inspeção visual: superfície de dentina sadia e lesão de cárie; B) Inspeção visual: superfície de dentina sadia e dentina afetada por cárie corada em rosa e C) Inspeção da dureza: superfície verificada com sonda exploradora afiada.

4.1.3 Procedimentos de adesão e confecção do bloco em resina

Para hibridização e confecção do bloco em resina foram utilizados dois sistemas adesivos e uma resina composta, cujas composições são apresentadas no quadro 1. Os dentes foram aleatoriamente distribuídos em dois grupos: grupo controle (C = sem a aplicação do digluconato de clorexidina) e grupo experimental (CHX = aplicação do digluconato de clorexidina).

No grupo controle (C) após o condicionamento por 15 s com ácido fosfórico 35% (3M ESPE Dental Products, St. Paul, MN, EUA), a dentina foi lavada por 30s, seca com leve jato de ar por 30s e re-umedecida com água deionizada, utilizando um microbrush. A solução permaneceu sobre a superfície durante 60s, e quando necessário o excesso de água foi removido com papel absorvente (filtro de papel para café, Melita, Brasil), recortado em perfurador de papel com 13mm² de área. Os sistemas adesivos foram aplicados posteriormente (Quadro1).

No grupo experimental (CHX) a água deionizada empregada no grupo controle foi substituída por solução aquosa de digluconato de clorexidina a 2% (PRODERMA, Farmácia de Manipulação, Piracicaba, SP, Brasil). Da mesma forma, a solução permaneceu sobre a superfície durante 60s e o excesso removido com papel absorvente antes da aplicação do sistema adesivo (Carrilho *et al.*, 2007).

Seguida a aplicação de cada um dos sistemas adesivos sobre a superfície de dentina hibridizada foram adicionados 3 incrementos (cada incremento com $\pm 1,5\text{mm}$ de espessura) de resina composta Filtek Z250 na cor A3 (3M ESPE Dental Products, St. Paul, MN, EUA) e fotoativados, individualmente por 20s, utilizando aparelho fotoativador Elipar Threelight (3M ESPE Dental Products, St. Paul, MN, EUA). A intensidade de luz foi monitorada com radiômetro (Modelo 100, Demetron, Danbury, CT, EUA) e encontrava-se entre $700\text{-}800\text{mW/cm}^2$. Cada dente recebeu uma marcação sobre a restauração de resina composta, correspondendo à área de união formada por dentina afetada por cárie (Figura 4A). Ao término de todos os procedimentos, os dentes foram armazenados em solução fosfato tamponada (Phosphate Buffered Saline – PBS, pH = 7,4) a 37°C por 7 dias.

Material (Lote)		Composição	Técnica de Aplicação	Fabricante
Corante	Caries Detector (530)	Propileno glicol e ácido vermelho 52.	Aplicar uma gota na superfície, aguardar 10s e lavar com água.	KURARAY Med. Inc., Okayama, Japão.
Agente Condicionador	Ácido Fosfórico 35% (5EN)	Água, ácido fosfórico e sílica sintética amorfa.	Aplicar no esmalte e dentina, aguardar 15s, lavar com água por 30s e secar por 30s com leve jato de ar	3M ESPE Dental Products St. Paul, MN, EUA.
Sistemas Adesivos	Scotchbond Multi-Purpose (Primer 5BA Adesivo 5PH)	<i>Primer:</i> água, HEMA e copolímero do ácido polialcenóico. <i>Adesivo:</i> Bis-GMA e HEMA.	<i>Primer:</i> aplicar no esmalte e dentina agitando por 20s e secar suavemente com leve jato de ar por 30s para evaporar o solvente. <i>Adesivo:</i> aplicar o adesivo no esmalte e dentina e fotoativação por 10s.	3M ESPE Dental Products St. Paul, MN, EUA.
	Single Bond 2 (5EW)	Etanol, Bis-GMA, nanopartículas, HEMA, dimetacrilatos, copolímero do ácido polialcenóico e água.	Aplicar a primeira camada agitando por 20s, a segunda camada agitando por 10s, aplicar um leve jato de ar por 30s para evaporar o solvente e fotoativação por 10s.	3M ESPE Dental Products St. Paul, MN, EUA.
Resina Composta	Filtek Z250 (5CG)	Partículas de carga inorgânica, Bis-EMA, UDMA, Bis-GMA, TEGDMA e água.	Aplicar em incrementos de aproximadamente $1,5\text{mm}$ e fotoativação de cada incremento por 20s.	3M ESPE Dental Products St. Paul, MN, EUA.

Quadro 1 - Nomes comerciais, número de lote, composição, técnica de aplicação e fabricante dos materiais utilizados neste estudo. (Bis-EMA: Bisfenol-A-polietileno-glicol-dieter-dimetacrilato; Bis-GMA: Bisfenol-A-diglicidil-eter-dimetacrilato; HEMA: 2-hidroxietil metacrilato; UDMA: Uretano dimetacrilato; TEGDMA: Trietilenoglicol-dimetacrilato)

4.1.4 Obtenção dos espécimes

Ao término do prazo de 7 dias, todos os dentes foram lavados em água destilada e submetidos a um corte para remoção da raiz. Cada dente foi fixado pela extremidade seccionada a uma placa de acrílico (Figura - 4A) acoplado a máquina de corte, permitindo a realização de secções em planos transversais à interface dentina/resina, em ambos sentidos do dente: vestibulo-lingual (Figura - 5B) e méso-distal (Figura - 5C).

Os espécimes obtidos no formato de palitos eram compostos de um lado por dentina sadia ou dentina afetada por cárie e do outro lado por resina. A área da superfície de secção transversal dos palitos era de aproximadamente $0,8\text{mm}^2$.

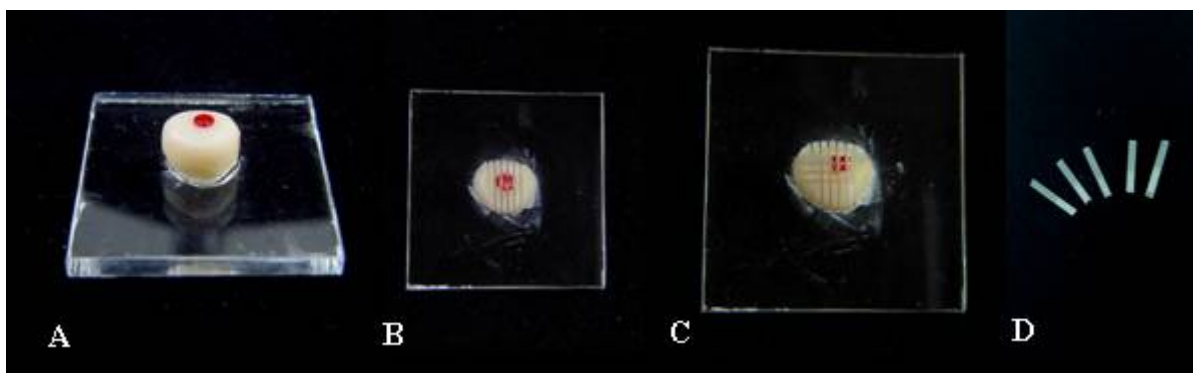


Figura 4 - Secção da amostra: A) Amostra fixada à placa de acrílico; B) Amostra seccionada no sentido vestibulo-lingual; C) Amostra seccionada no sentido méso-distal e D) Palitos de RC e dentina.

Cada grupo de palitos (dentina sadia/ dentina afetada por cárie) foram divididos em 2 subgrupos, sendo o primeiro grupo submetido ao ensaio mecânico de tração imediatamente após seu preparo e o segundo grupo armazenado em solução PBS para ensaio mecânico após 6 meses de armazenamento. O pH da solução foi controlado mensalmente com auxílio de um pH Metro de bancada digital (Biothec, Piracicaba, Brasil), variando de 7,4 a 7,0 no decorrer do estudo.

4.1.5 Ensaio mecânico de microtração

Antes da realização do ensaio mecânico, cada espécime foi fixado no dispositivo para teste de microtração (Figura 5A) e este acoplado a máquina de ensaios Instron (Instron 4411, Londres, Inglaterra – Figura 5B), com cola a base de cianoacrilato gel (Super bonder, Loctite Henkel LTDA., Itapevi, São Paulo, Brasil) e ativador (7452, Loctite Henkel LTDA., Itapevi, São Paulo, Brasil). A carga de tração foi aplicada num plano perpendicular à interface adesiva, com célula de carga de $\pm 500\text{N}$ (Static Load Cell – Instron) e velocidade de $0,5\text{mm/min}$ até a ruptura dos espécimes (Figura 7C).

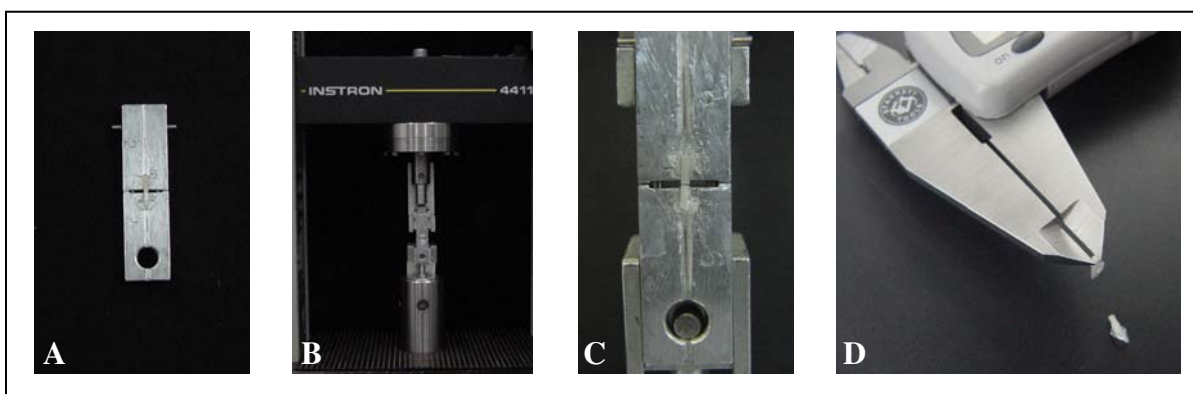


Figura 5 – Ensaio mecânico: A) Espécime fixado com cola; B) Máquina de ensaio Instron 4411+ dispositivo montado para realização do teste; C) Espécime fraturado e D) Mensuração da secção transversal do espécime.

Os fragmentos fraturados foram removidos do dispositivo e a secção transversal mensurada com paquímetro digital, precisão de $0,01\text{mm}$ (727, Starret Indústria e Comércio Ltda., Itu, SP, Brasil) na região próxima à fratura (Figura 5D). Os valores de resistência adesiva foram calculados em Kgf/cm^2 e transformados em MPa, de acordo com a seguinte equação:

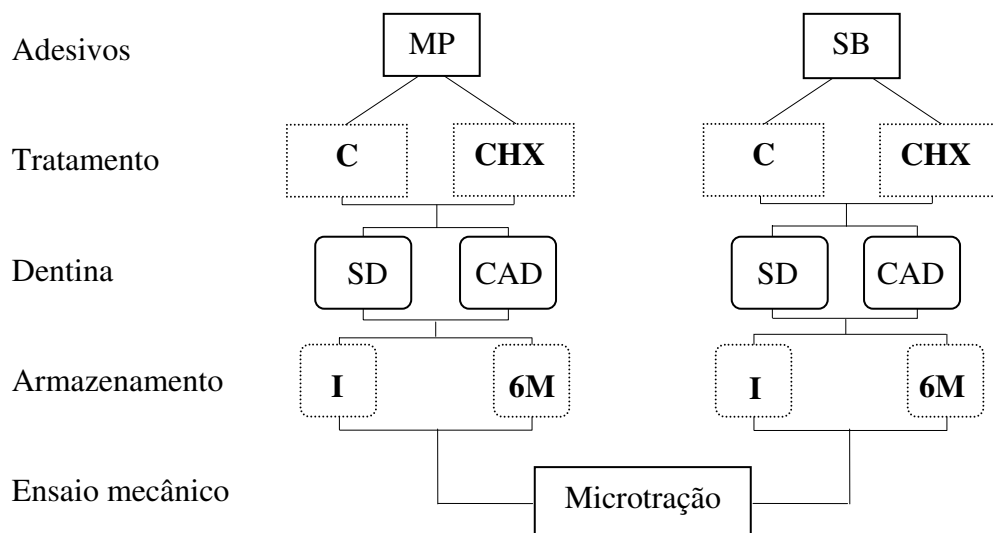
$$1) \frac{\text{Área do espécime em mm}^2}{100} = \text{Área do espécime em cm}^2$$

$$2) \frac{\text{Valor de resistência de união em quilograma-força}}{\text{Área do espécime em cm}^2} = \text{Kgf / cm}^2$$

$$3) \text{Kgf / cm}^2 \times 0,0980665 = \text{MPa}$$

Os valores obtidos e transformados correspondem ao valor de resistência de união (RU) de cada espécime testado.

REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DAS CONDIÇÕES ESTUDADAS



4.2 Análise estatística

O delineamento estatístico empregado considerou a análise combinada dos fatores de modo a responder aos propósitos do estudo. Assim foram realizadas quatro análises de variância (a três critérios). Nas duas primeiras abordagens, os sistemas adesivos (SB e MP) foram analisados a parte, e as médias de resistência de união foram comparadas de acordo com os fatores: 1-substrato (sadio *versus* afetado por cárie); 2-tratamento da dentina (controle *versus* experimental) e 3-tempo de realização do teste mecânico (imediato *versus* após 6 meses de armazenagem). Nas demais abordagens de dados, os substratos (sadio e afetado por cárie) foram analisados a parte, e as médias de resistência de união foram comparadas de acordo com os fatores: 1-sistemas adesivos (SB *versus* MP), 2-tratamento da dentina (controle *versus* experimental) e 3-tempo de realização do teste mecânico (imediato *versus* após 6 meses de armazenagem). O teste de Holm-Sidak para contraste das médias foi aplicado quando o resultado da análise de variância diagnosticou diferenças significantes entre os fatores e/ou níveis de tratamento. Todas as análises foram realizadas em nível de significância $\alpha=0,05$.

4.3 Análise do padrão de fratura

Os palitos fraturados foram montados em stubs metálicos com fita dupla-face de carbono (Nisshin Em. Co. Ltd., Japão). Em seguida, as superfícies fraturadas foram cobertas com ouro-paládio no metalizador (Desk II, Denton Vacuum Inc, EUA) e foram observados em microscópio eletrônico de varredura (Jeol, JSM - 5600LV, Tóquio, Japão) com aceleração de voltagem de 15kV, WD = 30mm e spotsize 28mm.

Os padrões de fratura foram classificados em 3 categorias: fratura adesiva/mista (A/M); coesiva em resina (CR – compósito de resina) e coesiva em dentina (CD).

5 RESULTADOS

Para cada grupo de estudo foram calculados o valor médio da área de secção transversal (AST) dos espécimes testados, e valores de média e desvio-padrão estão representados na tabela 1. Apenas pela análise descritiva pode-se observar a homogeneidade dos valores médios de AST entre os diferentes grupos de estudo, condição considerada necessária à análise comparativa dos valores de resistência de união dos mesmos grupos (Pashley *et al.*, 1999).

Tabela 1 - Média e desvio-padrão (mm²) da área de secção transversal de cada grupo de estudo, em função de todas as condições experimentais.

Substrato	Tratamento da Dentina	Tempo de realização do ensaio mecânico	Single Bond (SB)	Scotchbond Multi-Purpose (MP)
Sadio	Controle (C)	Imediato (IM)	0,84 ± 0,03	0,85 ± 0,03
		6 meses (6M)	0,86 ± 0,03	0,86 ± 0,06
	Experimental (CHX)	Imediato (IM)	0,84 ± 0,03	0,86 ± 0,03
		6 meses (6M)	0,85 ± 0,04	0,86 ± 0,02
Afetado por Carie	Controle (C)	Imediato (IM)	0,84 ± 0,03	0,85 ± 0,03
		6 meses (6M)	0,84 ± 0,02	0,87 ± 0,04
	Experimental (CHX)	Imediato (IM)	0,85 ± 0,04	0,86 ± 0,02
		6 meses (6M)	0,85 ± 0,02	0,87 ± 0,03

As médias de resistência de união e desvios-padrão (em MPa) obtidos para o sistema adesivo **Single Bond 2 (SB)**, em todas as condições experimentais avaliadas, estão expressos na tabela 2. O efeito da interação tripla *Substrato X Tratamento da Dentina X Tempo de realização de Ensaio Mecânico* não foi significativo ($p=0,83$; Anexo 3), assim como não foi significativo a interação dupla *Substrato X Tratamento da Dentina* ($p=0,591$; Anexo 3). Foram significantes os efeitos das interações duplas *Substrato X Tempo de realização de Ensaio Mecânico* ($p=0,021$; Anexo 3) e *Tratamento da Dentina X Tempo de realização de Ensaio Mecânico* ($p=0,025$; Anexo 3), bem como os efeitos dos fatores de primeira ordem *Substrato* ($p=0,025$; Anexo 3), *Tratamento da*

Dentina ($p=0,006$ Anexo 3), e *Tempo de realização de Ensaio Mecânico* ($p<0,001$; Anexo 3). Diferenças entre as condições experimentais são identificadas por diferentes letras maiúsculas ($p<0,05$).

Tabela 2 - Média de resistência de união (RU) e desvio-padrão (MPa) obtidos para o sistema adesivo Single Bond 2 (SB).

Adesivo Single Bond 2		Tempo de Realização do Ensaio Mecânico	
		Imediato	6 meses
Controle	Dentina Sadia	$32,49 \pm 4,87^A$	$16,89 \pm 5,88^C$
	Dentina Afetada	$23,85 \pm 5,14^{B,C}$	$15,74 \pm 4,69^C$
CHX	Dentina Sadia	$32,98 \pm 3,09^A$	$24,62 \pm 6,64^B$
	Dentina Afetada	$25,45 \pm 4,02^B$	$26,03 \pm 7,58^B$

Letras iguais significam semelhança estatística ($p>0,05$)

Nota-se que na condição de realização do ensaio mecânico **Imediato** os valores de resistência de união para o grupo controle (protocolo adesivo convencional) e grupo experimental (uso prévio da clorexidina) foram estatisticamente semelhantes ($p>0,05$), sendo que para dentina sadia as médias foram sempre significativamente maiores quando contrastadas com as médias da dentina afetada por cárie ($p<0,05$). Já para a condição de realização do ensaio mecânico após **6 Meses** as médias de resistência entre a dentina sadia e afetada deixaram de ser significantes ($p>0,05$), mas em contrapartida o tratamento Controle passou a apresentar médias significativamente menores do que o tratamento com a Clorexidina ($p<0,05$). Após **6 meses** de armazenagem as médias de resistência de união para **dentina sadia**, tanto da condição controle quanto daquela tratada com clorexidina, foram significativamente menores daquelas obtidas quando da realização do teste mecânico **Imediato** ($p<0,05$). Entretanto, para a **dentina afetada** por cárie não foram observadas diferenças significativas entre as médias obtidas para os ensaios **Imediato** e após **6 meses**, independentemente do tratamento da dentina (controle ou clorexidina) ($p>0,05$).

As médias de resistência de união e desvios-padrão (em MPa) obtidos para o sistema adesivo Scotchbond Multi-Purpose (MP), em todas as condições experimentais avaliadas, estão expressos na tabela 3. Não foram significantes os efeitos da interação tripla *Substrato X Tratamento da Dentina X Tempo de realização de Ensaio Mecânico* ($p=0,247$; Anexo 3); das interações duplas *Substrato X Tratamento da Dentina* ($p=0,481$; Anexo 3) e *Tratamento da Dentina X Tempo de realização de Ensaio Mecânico* ($p=0,253$; Anexo 3), nem mesmo do fator de primeira ordem *Tratamento da Dentina* ($p=0,732$; Anexo 3). Por outro lado, foram significantes os efeitos da interação dupla *Substrato X Tempo de realização de Ensaio Mecânico* ($p=0,024$; Anexo 3) e dos fatores de primeira ordem Substrato ($p=0,014$ Anexo 3), e *Tempo de realização de Ensaio Mecânico* ($p=0,013$; Anexo 3). Diferenças entre as condições experimentais são identificadas por diferentes letras maiúsculas ($p<0,05$).

Tabela 3 - Média de resistência de união (RU) e desvio-padrão (MPa) obtidos para o sistema adesivo Scotchbond Multi-Purpose (MP).

Scotchbond Multi-Purpose		Tempo de Realização do Ensaio Mecânico	
		Imediato	6 meses
Controle	Dentina Sadia	$31,90 \pm 9,00^A$	$17,81 \pm 8,03^B$
	Dentina Afetada	$21,46 \pm 6,53^B$	$21,01 \pm 5,70^B$
CHX	Dentina Sadia	$29,42 \pm 3,50^A$	$24,36 \pm 4,23^{A,B}$
	Dentina Afetada	$20,79 \pm 3,20^B$	$20,27 \pm 5,87^B$

Letras iguais significam semelhança estatística ($p>0,05$)

Nota-se que também para o adesivo Scotchbond Multi-Purpose, os valores de resistência de união para o grupo controle (protocolo adesivo convencional) e grupo experimental (uso prévio da clorexidina) foram estatisticamente semelhantes ($p>0,05$) sob a condição de realização do ensaio mecânico **Imediato**; sendo que, uma vez mais, a dentina sadia apresentou médias sempre significativamente maiores do que a dentina afetada por cárie ($p<0,05$). Porém, aos **6 Meses** de armazenagem as médias de resistência entre a dentina sadia e afetada deixaram de ser significantes ($p>0,05$), e os tratamento Controle e Clorexidina mantiveram valores de média estatisticamente similares ($p>0,05$). Após **6 meses** de armazenagem, as médias de resistência de união para **dentina sadia** na condição controle foi significativamente menor daquelas obtida

quando da realização do teste mecânico **Imediato** ($p < 0,05$). Entretanto, para a **dentina sadia** tratada com clorexidina e **dentina afetada** nas duas condições de tratamento (controle e clorexidina) não foram observadas diferenças significativas entre as médias nos tempos **Imediato** e **6 meses** ($p > 0,05$).

A comparação do desempenho dos sistemas adesivos combinados à condição do substrato **Dentina Sadia** esta apresentada na tabela 3. Não foram significantes os efeitos da interação tripla *Adesivos X Tratamento da Dentina X Tempo de realização de Ensaio Mecânico* ($p = 0,648$; Anexo 3); das interações duplas *Adesivo X Tratamento da Dentina* ($p = 0,863$; Anexo 3) e *Adesivo X Tempo de realização de Ensaio Mecânico* ($p = 0,290$; Anexo 3), nem mesmo do fator de primeira ordem *Adesivo* ($p = 0,403$; Anexo 3). Entretanto, foram significantes os efeitos da interação dupla *Tratamento da Dentina X Tempo de realização de Ensaio Mecânico* ($p = 0,013$; Anexo 3) e dos fatores de primeira ordem *Tratamento da Dentina* ($p = 0,025$ Anexo 3), e *Tempo de realização de Ensaio Mecânico* ($p < 0,001$; Anexo 3). Diferenças entre as condições experimentais são identificadas por diferentes letras maiúsculas ($p < 0,05$).

Tabela 4 - Média de RU e desvio-padrão (MPa) obtidos para os sistemas adesivos SB e MP e o substrato de dentina sadia.

Dentina Sadia		Tempo de Realização do Ensaio Mecânico	
		Imediato	6 meses
Single Bond 2	Controle	32,49 ± 4,87 ^A	17,09 ± 5,88 ^C
	CHX	32,98 ± 3,09 ^A	23,64 ± 6,64 ^B
Scotchbond Multi-Purpose	Controle	30,70 ± 9,00 ^A	17,01 ± 8,03 ^C
	CHX	29,42 ± 3,50 ^A	24,36 ± 4,23 ^B

Letras iguais significam semelhança estatística ($p > 0,05$)

Em termos gerais, os sistemas adesivos Single Bond 2 e Scotchbond Multi-Purpose apresentaram desempenho semelhante com respeito à resistência de união obtida em **Dentina Sadia**, independentemente dos tratamentos (controle e clorexidina) e tempo de realização do ensaio mecânico (imediato e após 6 meses). Quando analisados

sob a condição de realização do ensaio mecânico **Imediato**, as médias de resistência observadas entre os dois sistemas empregados, nas duas condições de tratamento (controle e clorexidina) da dentina foram estatisticamente similares ($p>0,05$). Aos **6 meses**, porém, a resistência de união para a condição de tratamento da dentina **Controle** foi significativamente menor do que para condição **Clorexidina** ($p<0,05$), para os dois sistemas adesivos. Independentemente da condição de tratamento da dentina, as médias de resistência de união verificadas quando da realização do ensaio mecânico **Imediato** foram sempre maiores do que após **6 meses** de armazenagem ($p>0,05$).

A comparação do desempenho dos sistemas adesivos combinados na condição do substrato **Dentina Afetada** esta apresentada na tabela 4. Não foram significantes os efeitos da interação, *Adesivos X Tratamento da Dentina X Tempo de realização de Ensaio Mecânico* ($p=0,465$; Anexo 3); das interações duplas *Tratamento da Dentina X Tempo de realização de Ensaio Mecânico* ($p=0,475$; Anexo 3), *Adesivo X Tratamento da Dentina* ($p=0,175$; Anexo 3), *Adesivo X Tempo de realização de Ensaio Mecânico* ($p=0,154$; Anexo 3), nem mesmo de nenhum fator de primeira ordem *Adesivo* ($p=0,577$; Anexo 3), *Tratamento da Dentina* ($p=0,331$ Anexo 3), e *Tempo de realização de Ensaio Mecânico* ($p=0,091$; Anexo 3).

Tabela 5 - Média de RU e desvio-padrão (MPa) obtidos para os sistemas adesivos SB e MP e o substrato de dentina afetada por cárie.

Dentina Afetada		Tempo de Realização do Ensaio Mecânico	
		Imediato	6 meses
Single Bond 2	Controle	23,85 ± 5,14 ^A	15,74 ± 4,69 ^A
	CHX	25,45 ± 4,02 ^A	22,42 ± 7,58 ^A
Scotchbond Multi-Purpose	Controle	21,46 ± 6,53 ^A	21,01 ± 5,70 ^A
	CHX	20,79 ± 3,20 ^A	20,27 ± 5,87 ^A

Letras iguais significam semelhança estatística ($p>0,05$)

Os sistemas adesivos Single Bond 2 e Scotchbond Multi-Purpose apresentaram médias de resistência de união similares quando aplicados sobre a **Dentina Afetada**, independentemente dos tratamentos (controle e clorexidina) e tempo de realização do ensaio mecânico (imediato e 6 meses) ($p>0,05$).

O resultado da análise de fratura ocorrido em cada condição experimental está representado no gráfico de barras (Figura 6). Para a classificação das falhas ocorridas, foram adotadas 3 categorias: fratura adesiva/mista (A/M); coesiva em resina (CR – compósito de resina) e coesiva em dentina. Foram também incluídas neste gráfico as fraturas prévias, apontando eventualmente a fragilidade dos espécimes nas respectivas condições experimentais investigadas.

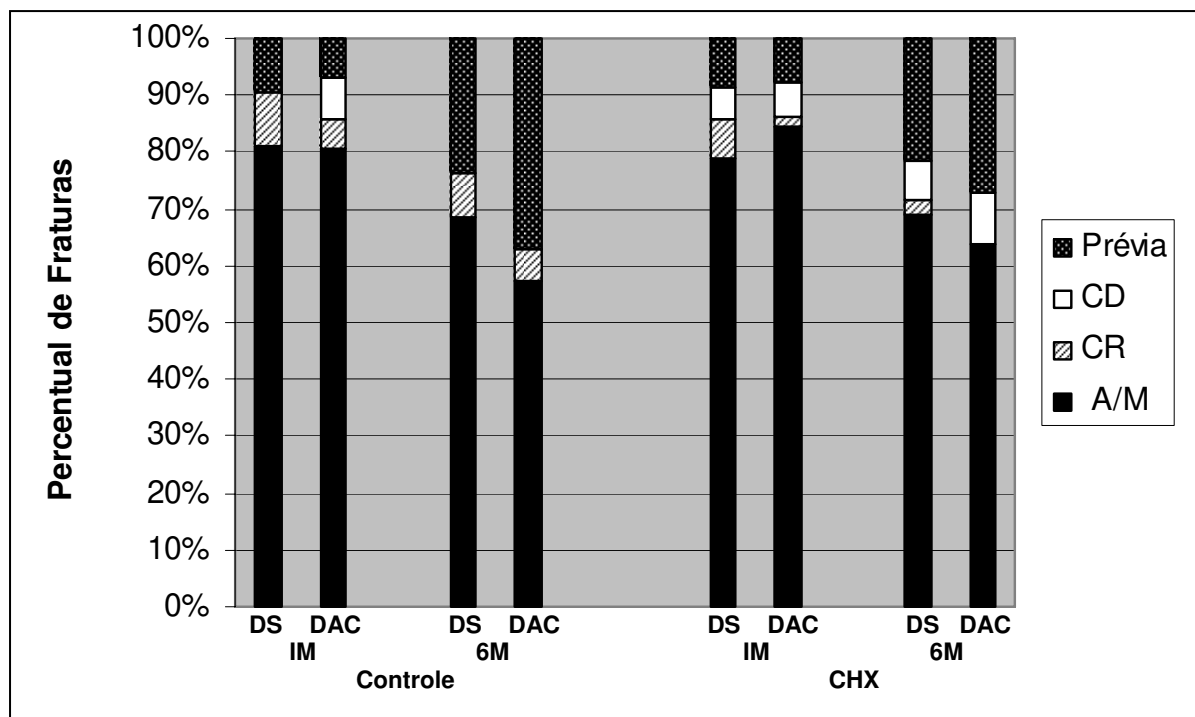


Figura 6 – Gráfico de barras: Porcentagem do padrão de fratura das interfaces do grupo controle e experimental (CHX) formada por substrato sadio (DS) e afetado por cárie (DAC) e os sistemas adesivos (Scotchbond Multi-Purpose e Single Bond 2) submetido ao teste de resistência de união imediato (IM) e após 6 meses (6M).

Os resultados indicam que a distribuição do padrão de fratura foi variável em cada grupo, entretanto a tendência que se repete para todos os grupos predominantemente é de falha do tipo adesivo/misto (A/M) independente do sistema adesivo utilizado, tratamento realizado e tempo de realização do teste de resistência de união. A maior frequência de espécimes fraturados previamente ao teste foi observada no grupo controle, em dentina afetada por cárie no teste após 6 meses de armazenamento.

As fotomicrografias ilustradas a seguir representam o tipo de fratura adesivo/misto (A/M). Na figura 7A, observa-se imagem ilustrativa do padrão de fratura do tipo misto que ocorreu para sistema adesivo Single Bond 2 e dentina sadia do grupo experimental no teste imediato, e a figura 7B em maior aumento (300X) a área marcada da figura 7A; onde se pode observar a camada de adesivo (a) fraturada em “lasca”, parte da resina composta (R) e a camada híbrida (ch) pelos túbulos dentinários obliterados caracterizando o topo da camada híbrida a camada de adesivo.

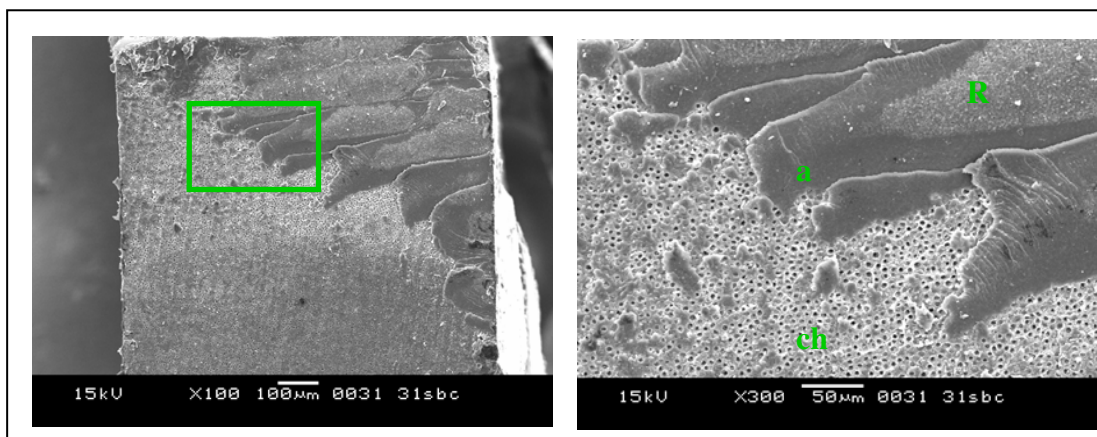


Figura 7 – A) Fotomicrografia em MEV ilustrando o padrão de fratura misto obtido após o teste de microtração imediato em espécime constituído por sistema adesivo Single Bond 2 e dentina sadia do grupo experimental. B) A imagem ilustrativa em maior aumento da área marcada na figura A, onde se observa a camada de adesivo (a) fraturada em “lasca”, parte da resina composta (R) e a camada híbrida (ch) pelos túbulos dentinários obliterados caracterizando o topo da camada híbrida a camada de adesivo.

Na figura 8A, observa-se imagem ilustrativa do padrão de fratura do tipo adesivo que ocorreu para sistema adesivo Single Bond 2 e dentina cariada do grupo controle no teste realizado após 6 meses de armazenamento, e a figura 8B em maior aumento (300X) a área marcada da figura 8A; onde se pode observar o topo da camada híbrida caracterizada pela presença de túbulos dentinários obliterados e cobertos pelo adesivo (*), base da camada híbrida caracterizada pela presença de tags fraturados (↑) e camada de adesivo (a).

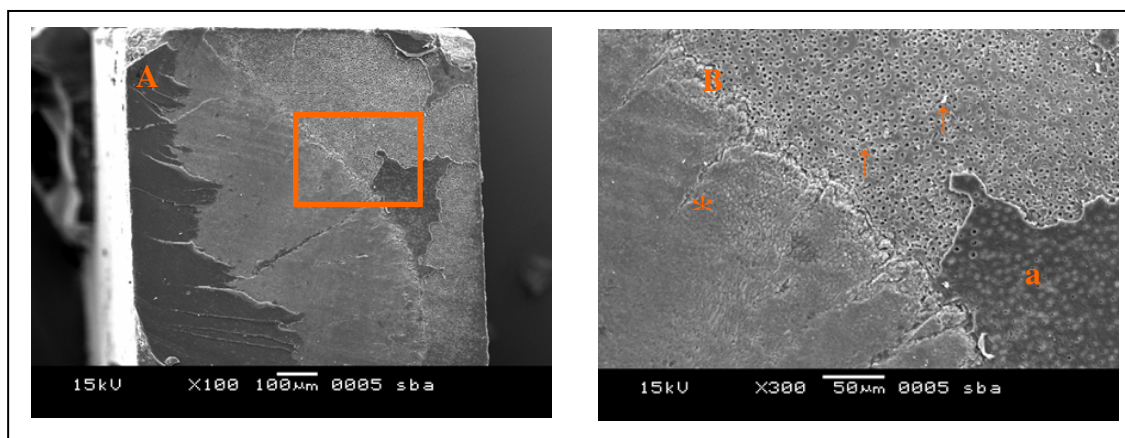


Figura 8 – A) Fotomicrografia em MEV ilustrando o padrão de fratura adesivo obtido após o teste de microtração realizado após 6 meses em espécime constituído por sistema adesivo Single Bond 2 e dentina cariada do grupo controle. B) A imagem ilustrativa em maior aumento da área marcada na figura A, onde se observa a o topo da camada híbrida caracterizada pela presença de túbulos dentinários obliterados e cobertos pelo adesivo (*), base da camada híbrida caracterizada pela presença de tags fraturados (↑) e camada de adesivo (a).

6 DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo confirmam a primeira hipótese proposta, isto é, que a utilização do digluconato de clorexidina a 2% previamente à aplicação dos sistemas adesivos não interferiria na resistência mecânica imediata da interface entre os sistemas adesivos Single Bond 2 e Scotchbond Multi-Purpose e dentina sadia ou afetada por cárie. A segunda hipótese proposta foi parcialmente confirmada, a utilização do digluconato de clorexidina a 2% previamente à aplicação dos sistemas adesivos Single Bond 2 e Scotchbond Multi-Purpose minimizaria o processo de degradação das interfaces de união constituídas por dentina sadia. Essa metodologia permitiu observar diferenças significativas entre os valores de resistência de união de sistemas adesivos empregados em substratos diferentes, bem como tratamentos realizados e o tempo para realização do teste de microtração.

Em corroboração com estudos prévios (Nakajima *et al.*, 1995, 1999, 2004; Yoshiyama *et al.*, 2000, 2002; Sengün *et al.*, 2000; Arrais *et al.*, 2005), os resultados deste trabalho indicam que, a interação do substrato afetado por cárie e os sistemas de união estabeleceram interfaces de união mais fracas no teste imediato quando comparadas àquelas constituídas em substrato sadio. O principal fator envolvido no comprometimento do desempenho dos sistemas de união em substrato afetado por cárie está, diretamente, relacionado com as características morfológicas que particularizam este substrato.

A dentina afetada por cárie apresenta menor conteúdo mineral (Tjäderhane *et al.*, 1995) devido aos repetidos ciclos de des/remineralização sofridos durante a progressão da lesão de cárie (Nakajima *et al.*, 1995), apresentando-se mais frágil e menos resistente do que a dentina sadia (Marshall *et al.*, 2001; Zheng *et al.*, 2003; Hosoya *et al.*, 2004; Inoue *et al.*, 2006). A dentina intertubular apresenta menor conteúdo mineral e é mais susceptível ao efeito desmineralizador promovido pelo condicionamento ácido com ácido fosfórico (Yoshiyama *et al.*, 2000; 2002). É provável que a taxa de desmineralização da dentina intertubular afetada por cárie seja maior do que a dentina sadia (Arnold *et al.*, 2003), constituindo-se inclusive por cristais mais amorfos, que podem não ser autenticamente a

hidroxiapatita (Arnold *et al.*, 2001), e assim mais susceptíveis à dissolução em soluções ácidas (Nakajima *et al.*, 2005).

Poderia se esperar desta maneira, que a dentina intertubular desmineralizada do substrato afetado por cárie fosse, conseqüentemente, mais permeável e apta à infiltração dos monômeros resinosos para formação de uma camada híbrida mais consistente. Porém, embora o condicionamento ácido em substrato afetado por cárie resulte na formação de interfaces invariavelmente mais espessas (Nakajima *et al.*, 2005; Haj-Ali *et al.*, 2006; Hosoya & Tay, 2006; Wang *et al.*, 2006), estas também se apresentam mais porosas (Nakajima *et al.*, 2005; Haj-Ali *et al.*, 2006; Hosoya & Tay, 2006; Wang *et al.*, 2006); estruturalmente mais complexas (Hosoya & Tay, 2006; Wang *et al.*, 2006), deficientemente formadas e quimicamente menos instáveis quando comparadas com interfaces constituídas por dentina sadia (Wang *et al.*, 2006).

A deficiente infiltração de monômeros e a separação de componentes hidrofílicos/hidrofóbicos dos sistemas de união (Wang *et al.*, 2006) quando aplicados à dentina afetada por cárie parece, também, estar relacionados com o comprometimento das propriedades mecânicas da interface formada neste substrato. O decréscimo da rigidez das fibrilas de colágeno na matriz de dentina cariada, dada à destruição de parte de suas ligações peptídicas (Kuboki *et al.*, 1977; Zheng *et al.*, 2003), pode fazer desse tecido uma estrutura complacente, altamente susceptível às alterações dimensionais, se colapsando mais facilmente do que a dentina desmineralizada sadia, frente aos diferentes passos operatórios (aplicação de agentes desnaturantes como ácido fosfórico e/ou desidratantes como os solventes orgânicos, etanol e acetona) que fazem parte do procedimento de união (Pashley *et al.*, 2007). Como a infiltração eficiente dos monômeros no interior da dentina desmineralizada depende da completa expansão das fibrilas de colágeno expostas pelo condicionamento ácido (Pashley & Carvalho, 1997), é lícito especular que numa estrutura naturalmente mais frágil, como a dentina afetada por cárie (Kuboki *et al.*, 1977; Zheng *et al.*, 2003), os sistemas adesivos enfrentem maior dificuldade de se infiltrarem a fim de constituírem camadas híbridas coesas e resistentes. Adicionalmente, a presença de cristais minerais ácido-resistentes no interior dos túbulos dentinários e dentina intertubular do substrato afetado por cárie (Nakajima *et al.*, 1995, 1999, 2004; Doi *et al.*, 2004; Say *et al.*,

2005) também pode dificultar a infiltração dos monômeros adesivos, contribuindo com a reduzida interação micro-mecânica entre os substratos envolvidos (Yoshiyama *et al.*, 2002; Ceballos *et al.*, 2003).

Por outro lado, embora os valores de resistência de união em dentina afetada por cárie tenham sido sempre menores do que em dentina sadia, é interessante notar que as variações de resistência para aquele substrato não foram significativamente relevantes, independentemente, do uso do digluconato de clorexidina, do tipo de adesivo empregado e do período de realização do teste mecânico (imediato ou 6 meses) (Tabela 5). Neste sentido, os resultados de nosso estudo não confirmam a especulação levantada por Hebling *et al.* (2005) de que rápida deterioração morfológica das interfaces de união formadas entre o sistema Single Bond e dentina afetada por cárie tenha sido também devido à deterioração deste substrato, metabolicamente, mais ativo. A ausência de variação na resistência de união à dentina afetada por cárie pode ser interpretada sob pontos de vista que não são, necessariamente, mutuamente excludentes. Poderia ser considerado que os valores de resistência obtidos para condição inicial controle e experimental (25-23 MPa) já estivessem próximos dos limites mínimos necessários para hibridização dos sistemas de união empregados e dentina afetada por cárie; e que variações significativas desses valores de resistência já resultassem em falhas prematuras ou coesivas do substrato afetado, impedindo que as mesmas fossem comparadas entre as falhas exclusivamente adesivas ou de interface. De fato, o número de falhas prematuras e coesivas do substrato nos grupos de dentina afetada foi sempre maior dos que nos grupos de dentina sadia (Figura 6). Outra perspectiva seria considerar que, embora as alterações morfológicas possam ocorrer de modo a caracterizar a degradação das interfaces formadas em dentina afetada em apenas 6 meses (Hebling *et al.*, 2005), alterações mecânicas dentro do mesmo período podem não ser proporcionais e somente se revelarem marcantes após períodos de funcionamento mais longos (i.e. após anos). Estudos longitudinais, *in vitro* e *in vivo*, empregando períodos de análise mais longos e correlacionando resultados de análise mecânica e morfológica são necessários para esclarecer ambas as hipóteses.

A resistência de união obtida nos grupos em que o substrato sadio foi utilizado também não sofreu variações marcantes quando o teste de tração foi realizado

imediatamente ao preparo dos espécimes. Porém, após 6 meses de armazenagem o decréscimo dos valores de resistência foi significativo e variou entre índices como 25 a 50%, respectivamente para o grupo experimental (previamente tratado com clorexidina) e controle. Estudos investigando a durabilidade das restaurações adesivas têm mostrado que substâncias presentes nos fluidos orais, como água e enzimas salivares, podem atuar na degradação dos componentes que constituem a interface de união (Shono *et al.*, 1999; Hashimoto *et al.*, 2000; Armstrong *et al.*, 2001; Santerre *et al.*, 2001; De Munck *et al.*, 2005).

Uma vez que estes componentes se deterioram frente aos inúmeros desafios enfrentados (umidade, variações térmicas e de pH e ciclos mastigatórios intermitentes), a deterioração da própria camada híbrida não pode ser evitada. Admite-se que tanto o componente resinoso (Carrilho *et al.*, 2005) quanto à dentina desmineralizada e desprotegida pela deficiente infiltração de monômeros estejam susceptíveis à degradação. A deterioração do componente resinoso é, certamente, um dos fatores responsáveis pela redução dos valores de resistência de união observados após 6 meses de armazenamento em água. Como a maioria dos sistemas disponíveis no mercado, os adesivos utilizados neste estudo, MP e SB, apresentam em suas composições monômeros hidrofílicos (HEMA), que quando polimerizados formam conseqüentemente polímeros hidrofílicos, estabilizados por ligações *éster* altamente susceptíveis à sorção de água (Santerre *et al.*, 2001, Ito *et al.*, 2006, Malacarne *et al.*, 2006) e à degradação catalisada por enzimas salivares, tais como a colinesterase e psedo-colinesterase (Santerre *et al.*, 2001).

A absorção de água pelo polímero atua como um agente plastificador, alterando parcialmente a energia de coesão das cadeias poliméricas (Jacobsen & Söderholm, 1995; Andrzejewska, 2001; Ferracane, 2006). Inicialmente, a presença de água causará a diminuição prematura das propriedades mecânicas do polímero (Yiu *et al.*, 2004; Carrilho *et al.*, 2005), e que com o passar do tempo poderá resultar na hidrólise de suas moléculas, condenando a estrutura (Göpferich, 1996; Santerre, 2001). Supõe-se, portanto, que qualquer dos sistemas adesivos disponíveis no mercado produzirá interfaces de união que cedo ou tarde apresentarão, deterioração mecânica de sua estrutura (Ferracane, 2006).

O emprego de sistemas adesivos hidrofílicos é ainda comprometedor sob outro aspecto; ele exige que a infiltração dos monômeros ocorra em substrato dentinário úmido. Nesta condição, há necessidade de que toda a umidade seja completamente eliminada antes que os monômeros sejam polimerizados, caso contrário à conversão dos mesmos estará comprometida (Jacobsen & Söderholm, 1995, Paul *et al.*, 1999; Ferracane, 2006). Estudos indicam, porém, que a eliminação completa da umidade presente no substrato não pode ser integralmente alcançada, uma vez que parte dos solventes orgânicos, que deveriam favorecer a evaporação da água dos substratos, fica retida na própria camada de adesivo (Yiu *et al.*, 2005), retendo consigo parte da água do substrato. A água presente no substrato ainda favorece a emulsão dos componentes do adesivo, separando seus componentes hidrofílicos dos hidrofóbicos (Spencer & Wang, 2005; Wang & Spencer, 2006). Em consequência apenas os monômeros mais hidrofílicos e de menor peso molecular (i.e. HEMA) conseguem alcançar extensões mais profundas do substrato desmineralizado (Spencer & Wang, 2005; Wang & Spencer, 2006). Assim, parte da camada híbrida será formada apenas por polímeros mais hidrofílicos, que absorvem mais água e são mecanicamente mais fracos (Carrilho *et al.*, 2004; Yiu *et al.*, 2006). Adicionalmente, como a água do substrato é apenas parcialmente removida, ela acaba dificultando a infiltração dos monômeros resinosos, já que compete pelos mesmos espaços que estes deveriam alcançar para formar uma camada híbrida coesa e resistente. O resultado final é que a associação de adesivos hidrofílicos à técnica de adesão à dentina úmida produz interfaces porosas e permeáveis aos fluidos (Tay *et al.*, 2003; Hashimoto *et al.*, 2005), em que parte das fibrilas de colágeno ficará permanentemente desprotegida (Spencer & Wang, 2005; Wang & Spencer, 2006) e, portanto exposta às alterações físico-químicas que ocorram em seu micro-ambiente.

Embora a degradação do substrato desmineralizado fosse hipoteticamente considerada, os estudos que avaliaram as propriedades isoladas da dentina desmineralizada tendiam a mostrar que este substrato permanecia relativamente estável, quando, por exemplo, armazenados por longos períodos em água ou soluções aquosas (Carvalho *et al.*, 2000; Carrilho *et al.*, 2005). Admite-se que o grande número de ligações peptídicas, exclusivamente presentes no colágeno tipo I da dentina, pudessem ser responsáveis pela

tenacidade e estabilidade desta estrutura (Rivera & Yamauchi, 1993), tornando-a resistente aos ataques químicos desnaturantes (Butler & Richardson, 1984). Entretanto, quando analisado dentro da estrutura da camada híbrida o colágeno exposto pelo condicionamento ácido e não protegido pela resina pode não revelar a mesma estabilidade (Hashimoto *et al.*, 2001; 2003; Pashley *et al.*, 2004, Hebling *et al.*, 2005; Carrilho *et al.*, 2006, 2007).

Neste contexto, a suspeita de que a desestruturação do colágeno exposto pelo condicionamento ácido e parcialmente exposto pela hibridização possa ser liderada pela ação proteolítica de componentes da própria matriz de dentina desmineralizada e/ou da dentina mineralizada adjacente à camada híbrida começa a ser, paulatinamente, sustentada por estudos *in vitro* e *in vivo* (Hebling *et al.*, 2005; Armstrong *et al.*, 2006; Mazzoni *et al.*, 2006; Nishitani *et al.*, 2006, Carrilho *et al.*, 2006, 2007). Esses estudos trabalham com a hipótese de que a proteólise do colágeno se daria pela re-ativação das metalo-proteinases (MMPs), enzimas não-colagênicas que constituem parte da matriz extracelular da dentina (Tjäderhane *et al.*, 2002).

Como visto anteriormente, a presença das metalo-proteinases MMP-2 e MMP-8 em dentina humana foram recentemente identificadas por métodos imuno-histoquímicos, indicando que perante situações fisio/patológicas específicas, a atividade destas enzimas pode ser novamente desencadeada (Aimes e Quigley, 1995; Sulkala *et al.*, 2006). É importante salientar que para isso, condições micro-ambientais como ótimo pH (5-7) e concentrações ideais de íons cálcio (Ca^{2+}) e zinco (Zn^{2+}) são exigidas para que estas enzimas possam atuar sobre o colágeno, clivando-o em sítios específicos (Aimes e Quigley, 1995). O indício de que a atividade de MMPs pode, de fato, auxiliar na degradação do colágeno exposto presente na camada híbrida é reforçado no presente estudo, quando se observa que após 6 meses de armazenagem a redução da resistência de união nas amostras de dentina sadia, tratadas com digluconato de clorexidina 2% (CHX) foi menor do que para o grupo controle. O digluconato de clorexidina é um composto orgânico conhecido por sua potente ação anti-séptica e antibacteriana, que age sobre um largo espectro de microorganismos entre gram-positivos, gram-negativos, fungos e alguns tipos de vírus (Stanley *et al.*, 1999). Acredita-se que ação antibacteriana da clorexidina ocorra por reações oxi-redutoras sobre a membrana celular dos microorganismos-alvo (Charon *et al.*, 1985;

Beighton *et al.*, 1991). Verificou-se que na presença de clorexidina esses microorganismos perdem sua capacidade proteolítica e são impedidos de destruir a matriz extracelular dos tecidos em que se encontram (Grenier, 1993; 1996). Porém, uma faceta pouco conhecida do digluconato de clorexidina é sua ação antiproteolítica sobre enzimas de origem do próprio hospedeiro, presentes na matriz extracelular de vários tecidos humanos (Tjäderhane *et al.*, 2002; Sorsa *et al.*, 2004), e não apenas sobre enzimas bacterianas. Gendron *et al.* (1999), demonstraram num estudo *in vitro* que, mesmo na ausência de bactérias, a atividade de metalo-proteinases (MMP-2, -8 e -9) sobre colágeno tipo I pode ser moderada pela presença do digluconato de clorexidina em concentrações baixas e variadas (0,001 - 0,05%). Os autores acreditam que o efeito inibitório da clorexidina sobre essas metalo-proteinases se deve a uma ação quelante, seqüestradora de íons Ca^{2+} , uma vez que atividade dessas enzimas foi novamente iniciada quando a solução de cloreto de cálcio foi adicionada ao substrato analisado. Baseados nestes resultados, alguns estudos, entre os quais o presente se inclui, buscaram avaliar se, de fato, a clorexidina poderia prevenir ou minimizar a degradação do colágeno, que tem sido verificada nas camadas híbridas formadas pelos sistemas adesivos hidrofílicos aplicados sobre a dentina, seguindo o protocolo de “adesão úmida” (Hashimoto *et al.*, 2001, 2003; Pashley *et al.*, 2004; Hebling *et al.*, 2005). A idéia é conveniente uma vez que o digluconato de clorexidina tem sido freqüentemente, empregado como agente de limpeza dos preparos cavitários, não apresentado efeito negativo sobre a hibridização subsequente de materiais resinosos e a dentina por ele tratada (Perdigão *et al.*, 1994; Silva & Frasciscone, 1998; de Castro *et al.*, 2005). Pelo menos, estes estudos que se valeram da utilização da clorexidina após o condicionamento da dentina, deixando-a sobre o substrato previamente à aplicação da resina adesiva, têm demonstrado que a degradação morfológica e/ou mecânica do componente orgânico da camada híbrida pôde ser significativamente minimizada (Hebling *et al.*, 2005; Carrilho *et al.*, 2006, 2007).

Embora o uso do digluconato de clorexidina tenha se revelado promissor na minimização da degradação das interfaces adesivas, cabe salientar que alternativas devem ser pesquisadas, visto que um dos objetivos da odontologia restauradora é produzir interfaces adesivas permanentemente estáveis. Uma frente de estudo poderia, por exemplo, buscar estudar outras soluções inibitórias da atividade de MMPs, como por exemplo as

tetraciclina (Golub *et al.*, 1983, Gendron *et al.* 1999, Sorsa *et al.*, 2004, 2006); ou então testar a efetividade da incorporação de inibidores de MMPs nos próprios materiais restauradores. Porém, o que parece fundamental é avaliação de técnicas e materiais restauradores que possam garantir a perfeita infiltração de monômeros mais estáveis, de preferência hidrofóbicos, em toda extensão de dentina que seja desmineralizada. Assim, os dois fatores que têm sido apontados como os responsáveis pela degradação das interfaces adesivas, isto é, as resinas e o colágeno exposto estariam conseqüentemente protegidos das fontes promotoras de deterioração (água, enzimas salivares, enzimas proteolíticas, variações de pH).

Pode-se afirmar que se mantida a tendência atual de se produzirem adesivos cada vez mais hidrofílicos (portanto mais instáveis) aplicados sobre substrato saturado com água, qualquer que seja o recurso empregado para prolongar a durabilidade das restaurações adesivas será apenas paliativo. A busca pelo perfeito selamento da dentina exposta, patologicamente ou não, garantindo a proteção deste tecido, é um dos desafios que se apresenta hoje, e provavelmente nos próximos anos, tanto aos fabricantes de materiais restauradores adesivos quanto, principalmente, aos profissionais que buscam tirar vantagem dos recursos oferecidos pelo emprego desses materiais nas inúmeras situações clínicas vigentes.

7 CONCLUSÃO

Neste estudo foi confirmada a primeira hipótese proposta e a segunda proposta foi parcialmente confirmada, de que:

1) A utilização do digluconato de clorexidina previamente à aplicação dos sistemas adesivos não interferiu na resistência imediata da união entre os sistemas adesivos e a dentina sadia ou afetada por cárie;

2) A utilização do digluconato de clorexidina previamente à aplicação dos sistemas adesivos pode minimizar o processo de degradação das interfaces constituídas por dentina sadia.

REFERÊNCIAS*

Aimes RT, Quigley JP. Matrix metalloproteinase-2 is an interstitial collagenase. Inhibitor-free enzyme catalyzes the cleavage of collagen fibrils and soluble native type I collagen generating the specific 3/4- and 1/4-length fragments. *J Biol Chem.* 1995; 17; 270(11):5872-6.

Andrzejewska E. Photopolymerization kinetics of multifunctional monomers. *Prog Polym Sci* 2001; 26:605-665.

Ansari G, Beeley JA, Reid JS, Foye RH. Caries detector dyes--an in vitro assessment of some new compounds. *J Oral Rehabil.* 1999; 26(6): 453-8.

Arrais CA, Giannini M, Nakajima M, Tagami J. Effects of additional and extended acid etching on bonding to caries-affected dentine. *Eur J Oral Sci.* 2004; 112(5):458-64.

Armstrong SR, Jessop JL, Vargas MA, Zou Y, Qian F, Campbell JA, *et al.* Effects of exogenous collagenase and cholesterol esterase on the durability of the resin-dentin bond. *J Adhes Dent.* 2006; 8(3):151-60.

Armstrong SR, Keller JC, Boyer DB. The influence of water storage and C-factor on the dentin-resin composite microtensile bond strength and debond pathway utilizing a filled and unfilled adhesive resin. *Dent Mater* 2001; 17(3): 268-276.

Arnold WH, Konopka S, Gaengler P. Qualitative and quantitative assessment of intratubular dentin formation in human natural carious lesions. *Calcif Tissue Int.* 2001; 69(5):268-73.

Arnold WH, Konopka S, Kriwalsky MS, Gaengler P. Morphological analysis and chemical content of natural dentin carious lesion zones. *Ann Anat.* 2003; 185(5):419-24.

Banerjee A, Kidd EA, Watson TF. In vitro evaluation of five alternative methods of carious dentine excavation. *Caries Res.* 2000; 34(2): 144-50.

Basrani B, Ghanem A, Tjaderhane L. Physical and chemical properties of chlorhexidine and calcium hydroxide-containing medications. *J Endod.* 2004; 30(6): 413-7.

Beighton D, Decker J, Homer K A. Effects of chlorhexidine on enzyme activities of dental plaque bacteria. *J Clin Periodontol.* 1991; 18:85-89.

* De acordo com a norma da UNICAMP/FOP, baseadas na norma do International Committee of Medical Journal Editors – Grupo de Vancouver. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o Medline.

Bouillaguet S, Duroux B, Ciucchi B, Sano H. Ability of adhesive systems to seal dentin surfaces: an in vitro study. *J Adhes Dent*. 2000; 2(3): 201-8.

Bourd-Boittin K, Fridman R, Fanchon S, Septier D, Goldberg M, Menashi S. Matrix metalloproteinase inhibition impairs the processing, formation and mineralization of dental tissues during mouse molar development. *Exp Cell Res*. 2005; 304(2): 493-505.

Brännström M. Dentin and pulp in restorative dentistry. Wolf Medical Publications Ltda 1982; 125p.

Breschi L, Mazzoni A, Pashley DH, Pasquantonio G, Ruggeri A, Suppa P, *et al*. Electric-current-assisted Application of Self-etch Adhesives to Dentin. *J Dent Res*. 2006; 85(12): 1092-6.

Brunthaler A, König F, Lucas T, Sperr W, Schedle A. Longevity of direct resin composite restorations in posterior teeth. *Clin Oral Investig*. 2003; 7(2): 63-70.

Burrow MF, Satoh M, Tagami J. Dentin bond durability after three years using a dentin bonding agent with and without priming. *Dent Mater*. 1996; 12(5): 302-7.

Butler WT, Richardson WS. Bioquímica das proteínas do dente. In: Menaker RL, Morhart RE, Navia, JM. Cáries dentárias – bases biológicas 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1984; 150-169.

Carrilho MRO, Carvalho RM, de Goes MF, di Hipólito V, Geraldeli S, Tay FR *et al*. Chlorhexidine preserves dentin bond in vitro. *J Dent Res* 2007; 86(1): 90-4.

Carrilho MR, Carvalho RM, Tay FR, Pashley DH. Effects of storage media on mechanical properties of adhesive systems. *Am J Dent*. 2004; 17(2):104-8.

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

Carvalho RM. Adesivos dentinários: fundamentos para aplicação clínica. *Rev Dent Res* 1998; 1: 62-96.

Carvalho RM, Carrilho MRO, Pereira LCG, Garcia FCP, Marquezini L Jr, Silva SMD *et al*. Sistemas adesivos: fundamentos para aplicação clínica. *Biodonto* 2004; 2(1): 1-89.

Carvalho RM, Tay F, Sano H, Yoshiama M, Pashley DH. Long –term mechanical properties of EDTA-demineralized dentin matrix. *J Adhes Dent* 2000; 2(3): 193-9.

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

Cehreli ZC, Yazici AR, Akca T, Ozgunaltay G. A morphological and micro-tensile bond strength evaluation of a single-bottle adhesive to caries-affected human dentine after four different caries removal techniques. J Dent. 2003; 31(6): 429-35.

Charon J, Thomas T, Joachim F, Lempereur G, Capron A. Métabolisme oxydatif et chlorhexidine. J Parodontol. 1985;4:377–382.

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.

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

Christensen GJ. The advantages of minimally invasive dentistry. J Am Dent Assoc. 2005; 136(11): 1563-5.

Conrado CA. Remineralization of carious dentin. II: In vivo microradiographic and chemical studies in human permanent teeth capped with calcium hydroxide. Braz Dent J. 2004; 15(3): 186-9.

D'Alpino PH, Pereira JC, Svizero NR, Rueggeberg FA, Carvalho RM, Pashley DH. A new technique for assessing hybrid layer interfacial micromorphology and integrity: two-photon laser microscopy. J Adhes Dent. 2006; 8(5): 279-84.

de Castro FL, de Andrade MF, Duarte Junior 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.

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

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

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

- Doi J, Itota T, Torii Y, Nakabo S, Yoshiyama M. Micro-tensile bond strength of self-etching primer adhesive systems to human coronal carious dentin. *J Oral Rehabil.* 2004; 31(10): 1023-8.
- Eick JD, Gwinnett AJ, Pashley DH, Robinson SJ. Current concepts on adhesion to dentin. *Crit Rev Oral Biol Med* 1997; 8(3): 306-335.
- Ferracane JL. Hygroscopic and hydrolytic effects in dental polymer networks. *Dent Mater* 2006; 22:211-222.
- Fukae M, Kaneko I, Tanabe T, Shimizu M. Metalloproteinases in the mineralized compartments of porcine dentine as detected by substrate-gel electrophoresis. *Arch Oral Biol.* 1991; 36(8): 567-73.
- Fusayama T. Clinical guide for removing caries using a caries-detecting solution. *Quintessence Int.* 1988; 19(6): 397-401.
- Fusayama T, Nakamura M, Kurosaki N, Iwaku M. Non-pressure adhesion of a new adhesive restoration resin. *J Dent Res* 1979; 58(4): 1364-1370.
- Garberoglio R, Brannstrom M. Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules. *Arch Oral Biol.* 1976; 21(6): 355-62.
- 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.
- Grenier D. Reduction of proteolytic degradation by chlorhexidine. *J Dent Res.* 1993;72:630-633.
- Grenier D. Effect of chlorhexidine on the adherence properties of *Porphyromonas gingivalis*. *J Clin Periodontol.* 1996; 23:140-142.
- Golub L, Lee H M, Lehrer G, Nemiroff A, McNamara T F, Kaplan R, Ramamurthy N. Minocycline reduces gingival collagenolytic activity during diabetes: preliminary observations and a proposed new mechanism of action. *J Periodontal Res.* 1983;18:516-526.
- Gopferich A. Mechanisms of polymer degradation and erosion. *Biomater* 1999; 17:103-114.

Gwinnett AJ, YU S. Effect of long-term water storage on dentin bonding. *Am J Dent* 1994; 8(2): 109-111.

Haj-Ali R, Walker M, Williams K, Wang Y, Spencer P. Histomorphologic characterization of noncarious and caries-affected dentin/adhesive interfaces. *J Prosthodont*. 2006; 15(2):82-8

Hashimoto M, Tay FR, Ito S, Sano H, Kaga M, Pashley DH. Permeability of adhesive resin films. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2005; 74(2):699-705.

Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Endo K, Sano H, Oguchi H. Resin-tooth adhesive interfaces after long-term function. *Am J Dent*. 2001; 14(4):211-5.

Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Endo K, Sano H, Oguchi H. In vivo degradation of resin-dentin bonds in humans over 1 to 3 years. *J Dent Res*. 2000; 79(6): 1385-91.

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.

Hebling J, Pashley DH, Tjaderhane L, Tay FR. Chlorhexidine Arrests Subclinical Degradation of Dentin Hybrid Layers in vivo. *J Dent Res*. 2005; 84(8): 741-6.

Hosoya Y, Marshall GW. The nano-hardness and elastic modulus of carious and sound primary canine dentin. *Oper Dent* 2004 ; 29(2):142-9.

Hosoya Y, Taguchi T, Tay FR. Evaluation of a new caries detecting dye for primary and permanent carious dentin. *J Dent*. 2006; 29; no prelo.

Inoue G, Tsuchiya S, Nikaido T, Foxton RM, Tagami J. Morphological and mechanical characterization of the acid-base resistant zone at the adhesive-dentin interface of intact and caries-affected dentin. *Oper Dent*. 2006; 31(4):466-72.

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(33): 6449-59.

Itthagarun A, Tay FR, Pashley DH, Wefel JS, Garcia-Godoy F, Wei SH. Single-step, self-etch adhesives behave as permeable membranes after polymerization. Part III. Evidence from fluid conductance and artificial caries inhibition. *Am J Dent*. 2004;17(6):394-400.

Jacobsen T, Soderholm KJ. Some effects of water on dentin bonding. *Dent Mater.* 1995; 11(2): 132-6.

Kanca J. Effect of resin primer solvents and surface wetness on resin composite bond strength to dentin. *Am J Dent* 1992; 5(4): 213-15.

Kanca J. Resin bonding to wet substrate. Bonding to dentin. *Quintessence Int* 1992; 23(1): 39-41.

Kato G, Nakabayashi N. The durability of adhesion to phosphoric acid etched, wet dentin substrates. *Dent Mater* 1998; 14(5): 347-352.

Kidd EA. How 'clean' must a cavity be before restoration? *Caries Res.* 2004; 38(3): 305-13.

Kidd EA, Fejerskov O. What constitutes dental caries? Histopathology of carious enamel and dentin related to the action of cariogenic biofilms. *J Dent Res.* 2004; 83 Spec No C(C35-8).

Kitasako Y, Burrow MF, Nikaido T, Tagami J. The influence of storage solution on dentin bond durability of resin cement. *Dent Mat* 2000; 16(1): 1-6.

Kuboki Y, Ohgushi K, Fusayama T. Collagen biochemistry of the two layers of carious dentin. *J Dent Res.* 1977; 56(10): 1233-7.

Lager A, Thornqvist E, Ericson D. Cultivable bacteria in dentine after caries excavation using rose-bur or carisolv. *Caries Res.* 2003; 37(3): 206-11.

Linden LA, Kallskog O, Wolgast M. Human dentine as a hydrogel. *Arch Oral Biol.* 1995; 40(11): 991-1004.

Loguercio AD, Uceda-Gomez N, Carrilho MR, Reis A. Influence of specimen size and regional variation on long-term resin-dentin bond strength. *Dent Mater.* 2005; 21(3): 224-31.

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

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

Marshall GW, Habelitz S, Gallagher R, Balooch M, Balooch G, Marshall SJ. Nanomechanical properties of hydrated carious human dentin. *J Dent Res.* 2001; 80(8):1768-71.

Martin-De Las Heras S, Valenzuela A, Overall CM. The matrix metalloproteinase gelatinase A in human dentine. Arch Oral Biol. 2000; 45(9): 757-65.

Mazzoni A, Pashley DH, Nishitani Y, Breschi L, Mannello F, Tjaderhane L, *et al.* Reactivation of inactivated endogenous proteolytic activities in phosphoric acid-etched dentine by etch-and-rinse adhesives. Biomaterials. 2006; 27(25): 4470-6.

McComb D. Caries-detector dyes--how accurate and useful are they? J Can Dent Assoc. 2000; 66(4): 195-8.

Mertz-Fairhurst EJ, Curtis JW, Jr., Ergle JW, Rueggeberg FA, Adair SM. Ultraconservative and cariostatic sealed restorations: results at year 10. J Am Dent Assoc. 1998; 129(1): 55-66.

Mertz-Fairhurst EJ, Schuster GS, Williams JE, Fairhurst CW. Clinical progress of sealed and unsealed caries. Part I: Depth changes and bacterial counts. J Prosthet Dent. 1979a; 42(5): 521-6.

Mertz-Fairhurst EJ, Schuster GS, Williams JE, Fairhurst CW. Clinical progress of sealed and unsealed caries. Part II: Standardized radiographs and clinical observations. J Prosthet Dent. 1979b; 42(6): 633-7.

Mitsui FH, Peris AR, Cavalcanti AN, Marchi GM, Pimenta LA. Influence of thermal and mechanical load cycling on microtensile bond strengths of total and self-etching adhesive systems. Oper Dent. 2006; 31(2): 240-7.

Mjör IA. Histology of the human tooth. In: Mjör IA & Pindborg JJ. Dentin and Pulp 1973.

Nakabayashi N, Kojima K, Masuhara E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. J Biomed Mat Res 1982; 16(3): 265-273.

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

Nakabayashi N, Takarada K. Effect of HEMA on bonding to dentin. Dent Mater 1992; 8(2): 125-130.

Nakajima M, Kitasako Y, Okuda M, Foxton RM, Tagami J. Elemental distributions and microtensile bond strength of the adhesive interface to normal and caries-affected dentin. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2005 15;72(2):268-75.

Nakajima M, Sano H, Burrow MF, Tagami J, Yoshiyama M, Ebisu S, *et al.* Tensile bond strength and SEM evaluation of caries-affected dentin using dentin adhesives. J Dent Res. 1995; 74(10): 1679-88.

Nakajima M, Sano H, Zheng L, Tagami J, Pashley DH. Effect of moist vs. dry bonding to normal vs. caries-affected dentin with Scotchbond Multi-Purpose Plus. *J Dent Res.* 1999; 78(7): 1298-303.

Nishitani Y, Yoshiyama M, Wadgaonkar B, Breschi L, Mannello F, Mazzoni A, *et al.* Activation of gelatinolytic/collagenolytic activity in dentin by self-etching adhesives. *Eur J Oral Sci.* 2006; 114(2): 160-6.

Okuda M, Pereira PN, Nakajima M, Tagami J. Relationship between nanoleakage and long-term durability of dentin bonds. *Oper Dent.* 2001; 26(5): 482-90.

Okuda M, Pereira PN, Nakajima M, Tagami J, Pashley DH. Long-term durability of resin dentin interface: nanoleakage vs. microtensile bond strength. *Oper Dent.* 2002; 27(3): 289-96.

Osorio R, Toledano M, Osorio E, Aguilera FS, Tay FR. Effect of load cycling and in vitro degradation on resin-dentin bonds using a self-etching primer. *J Biomed Mater Res A.* 2005; 72(4): 399-408.

Osorio R, Erhardt MC, Pimenta LA, Osorio E, Toledano M. EDTA treatment improves resin-dentin bonds' resistance to degradation. *J Dent Res.* 2005 Aug; 84(8):736-40.

Pappas M, Burns DR, Moon PC, Coffey JP. Influence of a 3-step tooth disinfection procedure on dentin bond strength. *J Prosthet Dent.* 2005; 93(6): 545-50.

Pashley DH, Carvalho RM. Dentine permeability and dentine adhesion. *J Dent* 1997; 25(5): 355-372.

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.

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

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

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; 27:209-214.

Perdigao J, Denehy GE, Swift JE. Effects of chlorhexidine on dentin surfaces and shear bond strengths. *Am J Dent.* 1994; 7:81-84.

Perdigao J, Lopes M. Dentin bonding--questions for the new millennium. J Adhes Dent. 1999; 1(3): 191-209.

Peris AR, Mitsui FH, Lobo MM, Bedran-Russo AK, Marchi GM. Adhesive systems and secondary caries formation: Assessment of dentin bond strength, caries lesions depth and fluoride release. Dent Mater. 2006;

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

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

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.

Rivera EM, Yamauchi M. Site comparisons of dentine collagen cross-links from extracted human teeth. Arch Oral Biol. 1993; 38(7):541-6.

Sano H, Takatsu T, Ciucchi B, Horner JA, Matthews WG, Pashley DH. Nanoleakage: leakage within the hybrid layer. Oper Dent. 1995; 20(1): 18-25.

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

Santerre JP, Shajii L, Leung BW. Relation of dental composite formulations to their degradation and the release of hydrolyzed polymeric-resin-derived products. Crit Rev Oral Biol Med. 2001; 12(2): 136-51.

Say EC, Nakajima M, Senawongse P, Soyman M, Ozer F, Tagami J. Bonding to sound vs caries-affected dentin using photo- and dual-cure adhesives. Oper Dent. 2005; 30(1):90-8.

Schmalz G, Ergucu Z, Hiller KA. Effect of dentin on the antibacterial activity of dentin bonding agents. J Endod. 2004; 30(5): 352-8.

Sengun A, Unlu N, Ozer F, Ozturk B. Bond strength of five current adhesives to caries-affected dentin. J Oral Rehabil. 2002; 29(8): 777-81.

Silva EV, Frasciscone PAS. Influência da umidade e de um agente de limpeza cavitária na resistência de união de sistemas adesivos dentinários. Rev Fac Odontol Bauru. 1998; 6: 53-57.

Shono Y, Terashita M, Pashley EL, Brewer PD, Pashley DH. Effects of cross-sectional area on resin-enamel tensile bond strength. *Dent Mater.* 1997; 13(5): 290-6.

Sorsa T, Tjaderhane L, Salo T. Matrix metalloproteinases (MMPs) in oral diseases. *Oral Dis.* 2004; 10(6):311-8. Review.

Sorsa T, Tjaderhane L, Konttinen YT, Lauhio A, Salo T, Lee HM, *et al.* Matrix metalloproteinases: contribution to pathogenesis, diagnosis and treatment of periodontal inflammation. *Ann Med.* 2006; 38(5): 306-21.

Spencer P, Swafford JR. Unprotected protein at the dentin-adhesive interface. *Quintessence Int.* 1999; 30(7): 501-7.

Spencer P, Wang Y. Adhesive phase separation at the dentin interface under wet bonding conditions. *J Biomed Mater Res.* 2002; 62(3): 447-56.

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

Stanley A, Wilson M, Newman H N. The *in vitro* effects of chlorhexidine on subgingival plaque bacteria. *J Clin Periodontol.* 1989;16:259–264

Sulkala M, Larmas M, Sorsa T, Salo T, Tjaderhane L. The localization of matrix metalloproteinase-20 (MMP-20, enamelysin) in mature human teeth. *J Dent Res.* 2002; 81(9): 603-7.

Sulkala M, Tervahartiala T, Sorsa T, Larmas M, Salo T, Tjaderhane L. Matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) is the major collagenase in human dentin. *Arch Oral Biol.* 2007; 52(2):121-7. Epub 2006 Oct 12.

Tay FR, Hashimoto M, Pashley DH, Peters MC, Lai SC, Yiu CK, Cheong C. Aging affects two modes of nanoleakage expression in bonded dentin. *J Dent Res.* 2003; 82(7):537-41.

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

Tay FR, Pashley DH. Have dentin adhesives become too hydrophilic? *J Can Dent Assoc.* 2003; 69(11):726-31. Review.

Tay FR, Pashley DH, Yiu C, Cheong C, Hashimoto M, Itou K, *et al.* Nanoleakage types and potential implications: evidence from unfilled and filled adhesives with the same resin composition. *Am J Dent.* 2004; 17(3): 182-90.

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

Ten Cate AR. Oral Histology: Development, structure and function. St. Louis: Mosby; 1992.

Ten Cate JM. Remineralization of caries lesions extending into dentin. J Dent Res. 2001; 80(5): 1407-11.

Tjäderhane L. The mechanism of pulpal wound healing. Aust Endod J. 2002; 28(2): 68-74.

Tjäderhane L, Hietala EL, Larmas M. Mineral element analysis of carious and sound rat dentin by electron probe microanalyzer combined with back-scattered electron image. J Dent Res. 1995; 74(11):1770-4.

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): 1622-9.

Toledano M, Osorio R, Osorio E, Aguilera FS, Yamauti M, Pashley DH, *et al.* Durability of resin-dentin bonds: Effects of direct/indirect exposure and storage media. Dent Mater. 2006; no prelo.

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

Van Meerbeek B, Kanumilli PV, De Munck J, Van Landuyt K, Lambrechts P, Peumans M. A randomized, controlled trial evaluating the three-year clinical effectiveness of two etch & rinse adhesives in cervical lesions. Oper Dent. 2004; 29(4): 376-85.

Van Strijp AJ, Klont B, Ten Cate JM. Solubilization of dentin matrix collagen in situ. J Dent Res. 1992; 71(8): 1498-502.

Wang Y, Spencer P. Hybridization efficiency of the adhesive/dentin interface with wet bonding. J Dent Res. 2003; 82(2): 141-5.

Wang Y, Spencer P, Walker MP. Chemical profile of adhesive/caries-affected dentin interfaces using Raman microspectroscopy. J Biomed Mater Res A. 2006; 21; no prelo.

Xu J, Stangel I, Butler IS, Gilson DF. An FT-Raman spectroscopic investigation of dentin and collagen surfaces modified by 2-hydroxyethylmethacrylate. J Dent Res. 1997; 76(1): 596-601.

Yang B, Adelung R, Ludwig K, Bossmann K, Pashley DH, Kern M. Effect of structural change of collagen fibrils on the durability of dentin bonding. *Biomaterials*. 2005; 26(24): 5021-31.

Yiu CK, Hiraishi N, Chersoni S, Breschi L, Ferrari M, Prati C, King NN, Pashley DH, Tay FR. Single-bottle adhesives behave as permeable membranes after polymerisation. II. Differential permeability reduction with an oxalate desensitiser. *J Dent*. 2006; 34(2):106-16.

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; 25:5789-5796.

Yiu CK, Pashley EL, Hiraishi N, King NM, Goracci C, Ferrari M, Carvalho RM, Pashley DH, Tay FR. Solvent and water retention in dental adhesive blends after evaporation. *Biomaterials*. 2005; 26(34):6863-72.

Yoshiyama M, Carvalho RM, Sano H, Horner JA, Brewer PD, Pashley DH. Regional bond strengths of resin to human root dentine. *J Dent* 1996a; 24(6): 435-442.

Yoshiyama M, Sano H, Ebisu S, Tagami J, Ciucchi B, Carvalho RM, Johnson MH, Pashley DH. Regional strengths of bonding agents to cervical sclerotic root dentin. *J Dent Res* 1996b; 75(6): 1404-1413.

Yoshiyama M, Tay FR, Doi J, Nishitani Y, Yamada T, Itou K, *et al*. Bonding of self-etch and total-etch adhesives to carious dentin. *J Dent Res*. 2002; 81(8): 556-60.

Yoshiyama M, Urayama A, Kimochi T, Matsuo T, Pashley DH. Comparison of conventional vs self-etching adhesive bonds to caries-affected dentin. *Oper Dent*. 2000; 25(3): 163-9.

Zheng L, Hilton JF, Habelitz S, Marshall SJ, Marshall GW. Dentin caries activity status related to hardness and elasticity. *Eur J Oral Sci*. 2003; 111(3): 243-52.

ANEXO 1



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



CERTIFICADO – 2ª VIA

O Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP certifica que o projeto de pesquisa "Avaliação in vitro da resistência de união formada por sistemas adesivos e dentina afetada por cárie ao longo do tempo", protocolo nº 172/2004, dos pesquisadores **MARCELA ROCHA DE OLIVEIRA CARRILHO**, **CAMILA FILLET MONTEBELLO** e **PAULA CAROLINA DE PAIVA KOMORI**, satisfaz as exigências do Conselho Nacional de Saúde – Ministério da Saúde para as pesquisas em seres humanos e foi aprovado por este comitê em 07/02/2005.

The Research Ethics Committee of the School of Dentistry of Piracicaba - State University of Campinas, certify that project "Long-term evaluation of bond strength to affected dentin: in vitro study", register number 172/2004, of **MARCELA ROCHA DE OLIVEIRA CARRILHO**, **CAMILA FILLET MONTEBELLO** and **PAULA CAROLINA DE PAIVA KOMORI**, comply with the recommendations of the National Health Council - Ministry of Health of Brazil for researching in human subjects and was approved by this committee at 07/02/2005.


Cinthia Pereira Machado Tabchoury
 Secretária
 CEP/FOP/UNICAMP


Jacks Jorge Júnior
 Coordenador
 CEP/FOP/UNICAMP

Piracicaba, SP, Brazil, June 15 2005

Nota: O título do protocolo aparece como fornecido pelos pesquisadores, sem qualquer edição.
 Notice: The title of the project appears as provided by the authors, without editing.

ANEXO 2

Tabela 5 - Resultados originais da resistência de união (MPa) ao substrato dentinário dos sistemas adesivos avaliados.

Tratamento	Substrato	Tempo de Teste	SB	Media	Desvio	MP	Media	Desvio
C	DS	IM	34,735			23,59		
C	DS	IM	33,62			24,7236364		
C	DS	IM	27,325			37,7953846		
C	DS	IM	38,9			44,54		
C	DS	IM	27,895	32,495	4,878426	28,8725	31,904304	9,003432
C	DAC	IM	25,25			29,5533333		
C	DAC	IM	20,05			22,825		
C	DAC	IM	31,935			24,66		
C	DAC	IM	19,0325			17,775		
C	DAC	IM	23,0025	23,854	5,140372	12,5333333	21,469333	6,535852
CHX	DS	IM	37,6133333			31,635		
CHX	DS	IM	30,56			28,75		
CHX	DS	IM	30,5368421			24,87		
CHX	DS	IM	31,5366667			27,91		
CHX	DS	IM	34,69	32,987368	3,094359	33,9763333	29,428267	3,503482
CHX	DAC	IM	31,22			16,98		
CHX	DAC	IM	23,45			24,4766667		
CHX	DAC	IM	25,385			23,5075		
CHX	DAC	IM	20,3766			20,55		
CHX	DAC	IM	26,82	25,45032	4,028443	18,45	20,792833	3,202561
C	DS	6M	23,6966667			30,645		
C	DS	6M	22,0966667			13,09		
C	DS	6M	12,7			19,03		
C	DS	6M	15,93			9,53		
C	DS	6M	10,07	16,898667	5,88281	16,8	17,819	8,032467
C	DAC	6M	15,06			26,03		
C	DAC	6M	11,585			17,0066667		
C	DAC	6M	23,095			23,14		
C	DAC	6M	17,035			25,745		
C	DAC	6M	11,93	15,741	4,690831	13,13	21,010333	5,706983
CHX	DS	6M	27,5533333			20,03		
CHX	DS	6M	17,33			26,03		
CHX	DS	6M	22,175			30,49		
CHX	DS	6M	34,57			24,46		
CHX	DS	6M	21,48	24,621667	6,644333	20,81	24,364	4,234593
CHX	DAC	6M	26,65			16,41		
CHX	DAC	6M	30,415			17,005		
CHX	DAC	6M	13,96			30,49		
CHX	DAC	6M	26,46			17,4233333		
CHX	DAC	6M	14,65	22,427	7,584174	20,05	20,275667	5,877074

Tratamento: C – controle, CHX – clorexidina; Substrato: DS – dentina sadia, DAC- dentina afetada por cárie; Tempo de teste: IM – imediato, 6M – armazenagem por 6 meses; SB – Single Bond 2 e MP – Scotchbond Multipurpose

ANEXO 3

Resultado dos testes estatísticos aplicados (Programa Sigma Stat):

Three Way Analysis of Variance

Data source: ADESIVO SINGLE BOND 2 (SB)

Balanced Design

Dependent Variable: Resistência de União

Normality Test: Passed (P = 0.157)

Equal Variance Test: Passed (P = 0.862)

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Tratamento	1	252.725	252.725	8.817	0.006
Dentina	1	158.392	158.392	5.526	0.025
Tempo de teste	1	619.658	619.658	21.620	<0.001
Tratamento x Dentina	1	8.455	8.455	0.295	0.591
Tratamento x Tempo de teste	1	158.629	158.629	5.535	0.025
Dentina x Tempo de teste	1	168.854	168.854	5.891	0.021
Tratamento x Dentina x Tempo d	1	1.351	1.351	0.0471	0.830
Residual	32	917.175	28.662		
Total	39	2285.238	58.596		

The difference in the mean values among the different levels of Tratamento are greater than would be expected by chance after allowing for the effects of differences in Dentina and Tempo de teste. There is a statistically significant difference (P = 0.006). To isolate which group(s) differ from the others use a multiple comparison procedure.

The difference in the mean values among the different levels of Dentina are greater than would be expected by chance after allowing for the effects of differences in Tratamento and Tempo de teste. There is a statistically significant difference (P = 0.025). To isolate which group(s) differ from the others use a multiple comparison procedure.

The difference in the mean values among the different levels of Tempo de teste are greater than would be expected by chance after allowing for the effects of differences in Tratamento and Dentina. There is a statistically significant difference (P = <0.001). To isolate which group(s) differ from the others use a multiple comparison procedure.

The effect of different levels of Tratamento does not depend on what level of Dentina is present. There is not a statistically significant interaction between Tratamento and Dentina. (P = 0.591)

The effect of different levels of Tratamento depends on what level of Tempo de teste is present. There is a statistically significant interaction between Tratamento and Tempo de teste. (P = 0.025)

The effect of different levels of Dentina depends on what level of Tempo de teste is present. There is a statistically significant interaction between Dentina and Tempo de teste. (P = 0.021)

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Holm-Sidak method):

Overall significance level = 0.05

Comparisons for factor: **Tratamento**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
CHX vs. C	5.027	2.969	0.00562	0.050	Yes

Comparisons for factor: **Dentina**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
DS vs. DC	3.980	2.351	0.0251	0.050	Yes

Comparisons for factor: **Tempo de teste**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
IM vs. 6M	7.872	4.650	0.0000548	0.050	Yes

Comparisons for factor: **Dentina within C**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
DS vs. DC	4.899	2.046	0.049	0.050	Yes

Comparisons for factor: **Dentina within CHX**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
DS vs. DC	3.060	1.278	0.210	0.050	No

Comparisons for factor: **Tratamento within DS**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
CHX vs. C	4.108	1.716	0.096	0.050	No

Comparisons for factor: **Tratamento within DC**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
CHX vs. C	5.947	2.484	0.018	0.050	Yes

Comparisons for factor: **Tempo de teste within C**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
IM vs. 6M	11.855	4.951	0.000	0.050	Yes

Comparisons for factor: **Tempo de teste within CHX**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
IM vs. 6M	3.889	1.624	0.114	0.050	No

Comparisons for factor: **Tratamento within IM**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
CHX vs. C	1.044	0.436	0.666	0.050	No

Comparisons for factor: **Tratamento within 6M**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
CHX vs. C	9.010	3.763	0.001	0.050	Yes

Comparisons for factor: **Tempo de teste within DS**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
IM vs. 6M	11.981	5.004	0.000	0.050	Yes

Comparisons for factor: **Tempo de teste within DC**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
IM vs. 6M	3.763	1.572	0.126	0.050	No

Comparisons for factor: **Dentina within IM**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
DS vs. DC	8.089	3.379	0.002	0.050	Yes

Comparisons for factor: **Dentina within 6M**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
DC vs.DS	0.129	0.0540	0.957	0.050	No

Power of performed test with alpha = 0.0500: for Tratamento: 0.786

Power of performed test with alpha = 0.0500: for Dentina: 0.534

Power of performed test with alpha = 0.0500: for Tempo de teste: 0.997

Power of performed test with alpha = 0.0500: for Tratamento x Dentina: 0.0500

Power of performed test with alpha = 0.0500: for Tratamento x Tempo de teste: 0.535

Power of performed test with alpha = 0.0500: for Dentina x Tempo de teste: 0.569

Least square means for Tratamento:

Group Mean

C 22.247

CHX 27.274

Std Err of LS Mean = 0.423

Least square means for Dentina:

Group Mean

DS 26.751

DC 22.771

Std Err of LS Mean = 0.423

Least square means for Tempo de teste:

Group Mean

IM 28.697

6M 20.825

Std Err of LS Mean = 0.423

Least square means for Tratamento x Dentina:

Group Mean

C x DS 24.697

C x DC 19.797

CHX x DS 28.805

CHX x DC 25.744

Std Err of LS Mean = 0.599

Least square means for Tratamento x Tempo de teste:

Group Mean

C x IM 28.174

C x 6M 16.320

CHX x IM 29.219

CHX x 6M 25.330

Std Err of LS Mean = 0.599

Least square means for Dentina x Tempo de teste:

Group	Mean
-------	------

DS x IM	32.741
---------	--------

DS x 6M	20.760
---------	--------

DC x IM	24.652
---------	--------

DC x 6M	20.890
---------	--------

Std Err of LS Mean = 0.599

Least square means for Tratamento x Dentina x Tempo de teste:

Group	Mean
-------	------

C x DS x IM	32.495
-------------	--------

C x DS x 6M	16.899
-------------	--------

C x DC x IM	23.854
-------------	--------

C x DC x 6M	15.741
-------------	--------

CHX x DS x IM	32.987
---------------	--------

CHX x DS x 6M	24.622
---------------	--------

CHX x DC x IM	25.450
---------------	--------

CHX x DC x 6M	26.038
---------------	--------

Std Err of LS Mean = 0.846

Three Way Analysis of Variance

Data source: ADESIVO SCOTCHBOND MULTI-PURPOSE (MP)

Balanced Design

Dependent Variable: Resistência de União

Normality Test: Passed (P = 0.309)

Equal Variance Test: Passed (P = 0.498)

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Tratamento	1	4.415	4.415	0.119	0.732
Dentina	1	249.186	249.186	6.738	0.014
Tempo de teste	1	253.153	253.153	6.845	0.013
Tratamento x Dentina	1	18.770	18.770	0.508	0.481
Tratamento x Tempo de teste	1	50.208	50.208	1.358	0.253
Dentina x Tempo de teste	1	206.420	206.420	5.581	0.024
Tratamento x Dentina x Tempo d	1	51.520	51.520	1.393	0.247
Residual	32	1183.488	36.984		
Total	39	2017.160	51.722		

The difference in the mean values among the different levels of Tratamento are not great enough to exclude the possibility that the difference is just due to random sampling variability after allowing for the effects of differences in Dentina and Tempo de teste. There is not a statistically significant difference (P = 0.732).

The difference in the mean values among the different levels of Dentina are greater than would be expected by chance after allowing for the effects of differences in Tratamento and Tempo de teste. There is a statistically significant difference (P = 0.014). To isolate which group(s) differ from the others use a multiple comparison procedure.

The difference in the mean values among the different levels of Tempo de teste are greater than would be expected by chance after allowing for the effects of differences in Tratamento and Dentina. There is a statistically significant difference (P = 0.013). To isolate which group(s) differ from the others use a multiple comparison procedure.

The effect of different levels of Tratamento does not depend on what level of Dentina is present. There is not a statistically significant interaction between Tratamento and Dentina. (P = 0.481)

The effect of different levels of Tratamento does not depend on what level of Tempo de teste is present. There is not a statistically significant interaction between Tratamento and Tempo de teste. (P = 0.253)

The effect of different levels of Dentina depends on what level of Tempo de teste is present. There is a statistically significant interaction between Dentina and Tempo de teste. (P = 0.024)

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Holm-Sidak method):
Overall significance level = 0.05

Comparisons for factor: **Dentina**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
DS vs. DC	4.992	2.596	0.0141	0.050	Yes

Comparisons for factor: **Tempo de teste**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
IM vs. 6M	5.031	2.616	0.0135	0.050	Yes

Comparisons for factor: **Dentina within C**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
DS vs. DC	3.622	1.332	0.192	0.050	No

Comparisons for factor: **Dentina within CHX**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
DS vs. DC	6.362	2.339	0.026	0.050	Yes

Comparisons for factor: **Tratamento within DS**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
CHX vs. C	2.034	0.748	0.460	0.050	No

Comparisons for factor: **Tratamento within DC**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
C vs. CHX	0.706	0.259	0.797	0.050	No

Comparisons for factor: **Tempo de teste within C**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
IM vs. 6M	7.272	2.674	0.012	0.050	Yes

Comparisons for factor: **Tempo de teste within CHX**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
IM vs. 6M	2.791	1.026	0.313	0.050	No

Comparisons for factor: **Tratamento within IM**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
C vs. CHX	1.576	0.580	0.566	0.050	No

Comparisons for factor: **Tratamento within 6M**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
CHX vs. C	2.905	1.068	0.293	0.050	No

Comparisons for factor: **Tempo de teste within DS**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
IM vs. 6M	9.575	3.521	0.001	0.050	Yes

Comparisons for factor: **Tempo de teste within DC**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
IM vs. 6M	0.488	0.179	0.859	0.050	No

Comparisons for factor: **Dentina within IM**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
DS vs. DC	9.535	3.506	0.001	0.050	Yes

Comparisons for factor: **Dentina within 6M**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
DS vs. DC	0.448	0.165	0.870	0.050	No

Power of performed test with alpha = 0.0500: for Tratamento: 0.0500
 Power of performed test with alpha = 0.0500: for Dentina: 0.643
 Power of performed test with alpha = 0.0500: for Tempo de teste: 0.651
 Power of performed test with alpha = 0.0500: for Tratamento x Dentina: 0.0500
 Power of performed test with alpha = 0.0500: for Tratamento x Tempo de teste: 0.0843
 Power of performed test with alpha = 0.0500: for Dentina x Tempo de teste: 0.540

Least square means for Tratamento:

Group Mean

C 23.051

CHX 23.715

Std Err of LS Mean = 0.481

Least square means for Dentina:

Group Mean

DS 25.879

DC 20.887

Std Err of LS Mean = 0.481

Least square means for Tempo de teste:

Group Mean

IM 25.899

6M 20.867

Std Err of LS Mean = 0.481

Least square means for Tratamento x Dentina:

Group Mean

C x DS 24.862

C x DC 21.240

CHX x DS 26.896

CHX x DC 20.534

Std Err of LS Mean = 0.680

Least square means for Tratamento x Tempo de teste:

Group Mean

C x IM 26.687

C x 6M 19.415

CHX x IM 25.111

CHX x 6M 22.320

Std Err of LS Mean = 0.680

Least square means for Dentina x Tempo de teste:

Group	Mean
-------	------

DS x IM	30.666
---------	--------

DS x 6M	21.091
---------	--------

DC x IM	21.131
---------	--------

DC x 6M	20.643
---------	--------

Std Err of LS Mean = 0.680

Least square means for Tratamento x Dentina x Tempo de teste:

Group	Mean
-------	------

C x DS x IM	31.904
-------------	--------

C x DS x 6M	17.819
-------------	--------

C x DC x IM	21.469
-------------	--------

C x DC x 6M	21.010
-------------	--------

CHX x SD x IM	29.428
---------------	--------

CHX x SD x 6M	24.364
---------------	--------

CHX x DC x IM	20.793
---------------	--------

CHX x DC x 6M	20.276
---------------	--------

Std Err of LS Mean = 0.962

Three Way Analysis of Variance
Data source: DENTINA SADIA

Balanced Design

Dependent Variable: Resistência de União

Normality Test: Passed (P = 0.100)

Equal Variance Test: Passed (P = 0.929)

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Tratamento	1	107.458	107.458	5.547	0.025
Tempo de teste	1	1181.765	1181.765	61.002	<0.001
Adhesive	1	13.895	13.895	0.717	0.403
Tratamento x Tempo de teste	1	134.536	134.536	6.945	0.013
Tratamento x Adhesive	1	0.584	0.584	0.0301	0.863
Tempo de teste x Adhesive	1	22.444	22.444	1.159	0.290
Tratamento x Tempo de teste x	1	4.104	4.104	0.212	0.648
Residual	32	619.920	19.373		
Total	39	2084.706	53.454		

The difference in the mean values among the different levels of Tratamento are greater than would be expected by chance after allowing for the effects of differences in Tempo de teste and Adhesive. There is a statistically significant difference (P = 0.025). To isolate which group(s) differ from the others use a multiple comparison procedure.

The difference in the mean values among the different levels of Tempo de teste are greater than would be expected by chance after allowing for the effects of differences in Tratamento and Adhesive. There is a statistically significant difference (P = <0.001). To isolate which group(s) differ from the others use a multiple comparison procedure.

The difference in the mean values among the different levels of Adhesive are not great enough to exclude the possibility that the difference is just due to random sampling variability after allowing for the effects of differences in Tratamento and Tempo de teste. There is not a statistically significant difference (P = 0.403).

The effect of different levels of Tratamento depends on what level of Tempo de teste is present. There is a statistically significant interaction between Tratamento and Tempo de teste. (P = 0.013)

The effect of different levels of Tratamento does not depend on what level of Adhesive is present. There is not a statistically significant interaction between Tratamento and Adhesive. (P = 0.863)

The effect of different levels of Tempo de teste does not depend on what level of Adhesive is present. There is not a statistically significant interaction between Tempo de teste and Adhesive. (P = 0.290)

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Holm-Sidak method):
Overall significance level = 0.05

Comparisons for factor: **Tratamento**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
CHX vs. C	3.278	2.355	0.0248	0.050	Yes

Comparisons for factor: **Tempo de teste**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
IM vs. 6M	10.871	7.8100.00000000657		0.050	Yes

Comparisons for factor: **Tempo de teste within C**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
IM vs. 6M	14.539	7.386	0.000	0.050	Yes

Comparisons for factor: **Tempo de teste within CHX**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
IM vs. 6M	7.203	3.659	0.001	0.050	Yes

Comparisons for factor: **Tratamento within IM**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
C vs. CHX	0.390	0.198	0.844	0.050	No

Comparisons for factor: **Tratamento within 6M**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
CHX vs. C	6.946	3.529	0.001	0.050	Yes

Comparisons for factor: **Adhesive within C**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
SB vs. MP	0.937	0.476	0.637	0.050	No

Comparisons for factor: **Adhesive within CHX**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
SB vs. MP	1.420	0.722	0.476	0.050	No

Comparisons for factor: **Tratamento within SB**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
CHX vs. C	3.520	1.788	0.083	0.050	No

Comparisons for factor: **Tratamento within MP**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
CHX vs. C	3.036	1.543	0.133	0.050	No

Comparisons for factor: **Adhesive within IM**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
SB vs. MP	2.677	1.360	0.183	0.050	No

Comparisons for factor: **Adhesive within 6M**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
MP vs. SB	0.319	0.162	0.872	0.050	No

Comparisons for factor: **Tempo de teste within SB**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
IM vs. 6M	12.369	6.284	0.000	0.050	Yes

Comparisons for factor: **Tempo de teste within MP**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
IM vs. 6M	9.373	4.762	0.000	0.050	Yes

Power of performed test with alpha = 0.0500: for Tratamento: 0.536

Power of performed test with alpha = 0.0500: for Tempo de teste: 1.000

Power of performed test with alpha = 0.0500: for Adhesive: 0.0500

Power of performed test with alpha = 0.0500: for Tratamento x Tempo de teste: 0.659

Power of performed test with alpha = 0.0500: for Tratamento x Adhesive: 0.0500

Power of performed test with alpha = 0.0500: for Tempo de teste x Adhesive: 0.0638

Least square means for Tratamento:

Group Mean

C 24.328

CHX 27.606

Std Err of LS Mean = 0.348

Least square means for Tempo de teste:

Group Mean

IM 31.403

6M 20.532

Std Err of LS Mean = 0.348

Least square means for Adhesive:

Group Mean

SB 26.557

MP 25.378

Std Err of LS Mean = 0.348

Least square means for Tratamento x Tempo de teste:

Group Mean

C x IM 31.598

C x 6M 17.059

CHX x IM 31.208

CHX x 6M 24.005

Std Err of LS Mean = 0.492

Least square means for Tratamento x Adhesive:

Group	Mean
-------	------

C x SB	24.797
--------	--------

C x MP	23.860
--------	--------

CHX x SB	28.317
----------	--------

CHX x MP	26.896
----------	--------

Std Err of LS Mean = 0.492

Least square means for Tempo de teste x Adhesive:

Group	Mean
-------	------

IM x SB	32.741
---------	--------

IM x MP	30.064
---------	--------

6M x SB	20.372
---------	--------

6M x MP	20.691
---------	--------

Std Err of LS Mean = 0.492

Least square means for Tratamento x Tempo de teste x Adhesive:

Group	Mean
-------	------

C x IM x SB	32.495
-------------	--------

C x IM x MP	30.700
-------------	--------

C x 6M x SB	17.099
-------------	--------

C x 6M x MP	17.019
-------------	--------

CHX x IM x SB	32.987
---------------	--------

CHX x IM x MP	29.428
---------------	--------

CHX x 6M x SB	23.646
---------------	--------

CHX x 6M x MP	24.364
---------------	--------

Std Err of LS Mean = 0.696

Three Way Analysis of Variance

Data source: DENTINA CARIADA

Balanced Design

Dependent Variable: Resistência de União

Normality Test: Passed (P = 0.175)

Equal Variance Test: Passed (P = 0.844)

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Tratamento	1	29.508	29.508	0.974	0.331
Tempo de teste	1	91.695	91.695	3.028	0.091
Adhesive	1	9.624	9.624	0.318	0.577
Tratamento x Tempo de teste	1	15.823	15.823	0.523	0.475
Tratamento x Adhesive	1	58.727	58.727	1.939	0.173
Tempo de teste x Adhesive	1	64.518	64.518	2.131	0.154
Tratamento x Tempo de teste x	1	16.563	16.563	0.547	0.465
Residual	32	969.035	30.282		
Total	39	1255.493	32.192		

The difference in the mean values among the different levels of Tratamento are not great enough to exclude the possibility that the difference is just due to random sampling variability after allowing for the effects of differences in Tempo de teste and Adhesive. There is not a statistically significant difference (P = 0.331).

The difference in the mean values among the different levels of Tempo de teste are not great enough to exclude the possibility that the difference is just due to random sampling variability after allowing for the effects of differences in Tratamento and Adhesive. There is not a statistically significant difference (P = 0.091).

The difference in the mean values among the different levels of Adhesive are not great enough to exclude the possibility that the difference is just due to random sampling variability after allowing for the effects of differences in Tratamento and Tempo de teste. There is not a statistically significant difference (P = 0.577).

The effect of different levels of Tratamento does not depend on what level of Tempo de teste is present. There is not a statistically significant interaction between Tratamento and Tempo de teste. (P = 0.475)

The effect of different levels of Tratamento does not depend on what level of Adhesive is present. There is not a statistically significant interaction between Tratamento and Adhesive. (P = 0.173)

The effect of different levels of Tempo de teste does not depend on what level of Adhesive is present. There is not a statistically significant interaction between Tempo de teste and Adhesive. (P = 0.154)

Power of performed test with alpha = 0.0500: for Tratamento: 0.0500
Power of performed test with alpha = 0.0500: for Tempo de teste: 0.267
Power of performed test with alpha = 0.0500: for Adhesive: 0.0500
Power of performed test with alpha = 0.0500: for Tratamento x Tempo de teste: 0.0500
Power of performed test with alpha = 0.0500: for Tratamento x Adhesive: 0.146
Power of performed test with alpha = 0.0500: for Tempo de teste x Adhesive: 0.166

Least square means for Tratamento:

Group Mean

C 20.519

CHX 22.236

Std Err of LS Mean = 0.435

Least square means for Tempo de teste:

Group Mean

IM 22.892

6M 19.864

Std Err of LS Mean = 0.435

Least square means for Adhesive:

Group Mean

SB 21.868

MP 20.887

Std Err of LS Mean = 0.435

Least square means for Tratamento x Tempo de teste:

Group Mean

C x IM 22.662

C x 6M 18.376

CHX x IM 23.122

CHX x 6M 21.351

Std Err of LS Mean = 0.615

Least square means for Tratamento x Adhesive:

Group Mean

C x SB 19.797

C x MP 21.240

CHX x SB 23.939

CHX x MP 20.534

Std Err of LS Mean = 0.615

Least square means for Tempo de teste x Adhesive:

Group Mean

IM x SB 24.652

IM x MP 21.131

6M x SB 19.084

6M x MP 20.643

Std Err of LS Mean = 0.615

Least square means for Tratamento x Tempo de teste x Adhesive

Group Mean

C x IM x SB 23.854

C x IM x MP 21.469

C x 6M x SB 15.741

C x 6M x MP 21.010

CHX x IM x SB 25.450

CHX x IM x MP 20.793

CHX x 6M x SB 22.427

CHX x 6M x MP 20.276

Std Err of LS Mean = 0.870