



*UNESP - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
Faculdade de Odontologia de Araraquara*

DÉBORA LOPES SALLES SCHEFFEL

**Tempo de condicionamento da dentina hígida e afetada
por cárie de dentes decíduos e permanentes. Efeito na
desmineralização do substrato, na produção e na
resistência da união resina-dentina**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas – Área de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Araraquara da Universidade Estadual Paulista, para o título de Mestre em Ciências Odontológicas.

Orientadora: Prof^a Dr^a Josimeri Hebling

Araraquara

-2010-

Scheffel, Débora Lopes Salles

Tempo de condicionamento da dentina hígida e afetada por cárie de dentes decíduos e permanentes. Efeito na desmineralização do substrato, na produção e na resistência da união resina-dentina / Débora Lopes Salles Scheffel.- Araraquara: [s.n.], 2010.

134 f. : 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia

Orientadora : Profa. Dra. Josimeri Hebling

1. Ataque ácido dentário 2. Dentina 3. Dente decíduo
4. Adesivos dentinários 5. Colágeno 6. Cárie dentária
7. Resistência à tração I. Título

DÉBORA LOPES SALLES SCHEFFEL

**Tempo de condicionamento da dentina hídida e afetada
por cárie de dentes decíduos e permanentes. Efeito na
dissolução do substrato, na produção e na resistência da
união resina-dentina**

COMISSÃO JULGADORA

DISSERTAÇÃO PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE

Presidente e Orientador: Profa. Dra. Josimeri Hebling

2º Examinador: Profª. Drª. Lívia Maria Andaló Tenuta

3º Examinador: Profª. Drª. Elisa Maria Aparecida Giro

Araraquara, 19 de março de 2010

Débora Lopes Salles Scheffel

Dados Curriculares

Nascimento	19/07/1986, São José do Rio Pardo, SP
Filiação	João Batista Lopes Salles Lázara Donizeti da Silva Lopes Salles
2004 a 2007	Graduação em Odontologia pela Faculdade de Odontologia de Araraquara – FOAr – UNESP
2008 a 2010	Curso de Pós – Graduação em Ciências Odontológicas, Área de Concentração Odontopediatria, nível Mestrado, na Faculdade de Odontologia de Araraquara – FOAr – UNESP

“O que habita no esconderijo do Altíssimo e descansa à sombra do Onipotente. Diz ao Senhor: Ele é o meu Deus, o meu refúgio, a minha fortaleza e Nele confiarei.” Salmos 91:1-2

Obrigada, Senhor, por guiar-me por teus caminhos e sonhar para mim coisas que nem eu mesma fui capaz de aspirar.

Como foi bom, Senhor, durante todo este tempo, cheio de desafios e muito trabalho, poder confiar em Ti, sabendo que, independente do que acontecia, estavas sempre a me ajudar. Ouviste cada palavra de oração, presenciaste cada momento de incerteza, e inspiraste cada sorriso de alegria. Obrigada, Senhor, por cada oportunidade que criaste, por todas as coisas boas que me aconteceram nestes anos de trabalho, bênçãos maiores das que eu poderia imaginar.

Obrigada, Senhor, porque és fiel e companheiro, o Deus que nunca muda, nem se afasta; o Deus que nunca se cansa de nos levantar. Obrigada por cada dia vivido neste curso, por cada pessoa que colocaste no meu caminho, e por cada amigo.

Obrigada, Senhor, porque senti teu cuidado em cada momento de dificuldade e porque neles tive a oportunidade de crescer e concluir este caminho melhor do que quando nele ingressei.

Por tudo que fizeste e por tudo que ainda farás em minha vida é que agradeço.

Obrigada, Senhor



Dedicatória

Prof.^a. Dr.^a. Josimeri Hebling

Obrigada professora, por me ensinar tantas coisas, pelo seu exemplo como pessoa e pesquisadora, pelo carinho e amizade. Obrigada por nunca se demonstrar cansada e carregar sempre um sorriso no rosto. Obrigada por acreditar em mim e me oferecer tantas boas oportunidades.

Obrigada por ter sido mais que uma orientadora!

Agradecimentos Especiais



Ao meu querido esposo Régis, pela pessoa maravilhosa que é e pelo companheiro irrepreensível que se demonstrou. Agradeço-lhe pela disposição infinita em me ajudar e compreender minhas necessidades, atrasos e ausências; pela pessoa indescritível que é, por estar sempre ao meu lado e por me fazer tão feliz.

Aos meus pais Lázara e João Batista, por me ensinarem a enfrentar as dificuldades e transpor os obstáculos com maturidade, a lutar pelos meus sonhos e principalmente a entender que não são as situações adversas da vida que dizem quem somos ou demonstram nosso caráter, mas sim as atitudes que tomamos diante delas. Obrigada por sempre estarem ao meu lado e se preocuparem comigo, pela educação, apoio e carinho que me deram até hoje.

Aos meus irmãos, Évila e João Pedro, por serem meus companheiros no decorrer de cada instante de minha vida, por dividirem comigo cada lembrança de bons momentos da infância, por me ouvirem, me apoiarem e me entenderem como ninguém mais neste mundo. Vocês são muito especiais e amados, estão e estarão sempre bem guardados no meu coração e presentes em minhas orações. É muito bom ter vocês como irmãos. Obrigada por tudo.

Às minhas avós Therezinha e Maria, por me darem momentos, aromas, texturas e sabores maravilhosos na infância, os quais jamais serão esquecidos ou roubados de mim, por se preocuparem e sempre fazerem tudo o que podem para ajudar. Obrigada por serem grandes avós e exemplos!

Ao vô João e vô Chico, por todas as lembranças e saudades que deixaram; apesar de a morte ter temporariamente nos distanciado, tenho convicção de que em breve nos veremos novamente para nunca mais nos separarmos. “Porquanto o Senhor mesmo, dada a sua palavra de ordem, ouvida a voz do arcanjo e ressoada a trombeta de Deus, descera dos céus e os mortos em Cristo ressuscitarão primeiro; depois nós os vivos, os que ficarmos, seremos arrebatados juntamente com eles entre nuvens, para o encontro do senhor nos ares, e, assim estaremos para sempre com o Senhor”- I Tessalonicenses 4:16-17. “E lhes enxugará dos olhos toda lágrima, e a morte já não existirá, já não haverá luto, nem pranto, nem dor, porque as primeiras coisas passaram”. Apocalipse 21:4.

A todos os meus tios, em especial ao tio Zé, tio Zeti e tia Rê, que me ajudaram, sem medir esforços, em vários momentos dessa caminhada, por sempre tentarem, mesmo quando o rio parecia profundo demais para ser atravessado. Obrigada!

Às minhas tias, Ana, Isa e Lia, por serem sempre doces fontes de carinho.

Ao tio Moacir, por me acolher tantas vezes em sua casa, durante o período de experimentos em Piracicaba, pelo carinho e atenção a mim dispensados.

Aos meus primos, que com certeza são parte fundamental da minha história, apesar de não nos vermos com a mesma frequência da infância, tenho muito bem guardado em meu coração o nome de cada um e todos os bons momentos que passamos juntos. Muito obrigada por terem transformado a minha infância em um período tão especial em minha vida.

À minha prima Mônica, em representação a todos aqueles, que mesmo em duras circunstâncias me apoiaram incondicionalmente. Obrigada por confiar em minhas decisões.

Aos meus sogros, Bruno e Solange, gostaria de expressar meus sinceros agradecimentos pelo filho maravilhoso de caráter exemplar que formaram e por fazerem com que eu realmente me sinta a filha caçula de vocês. Estou muito feliz em poder homenageá-los nestas linhas, pois foram pessoas fundamentais para o sucesso deste trabalho.

Aos meus avós de coração, Elory, Leoni e Oscar por suas orações, sei que torcem muito por mim. Obrigada!

Aos meus amigos queridos, Évelin, Jéssica, Leandro, Simone, Marina, Karenn, Andréa, Cláudia, Rodrigo, Diulie, Aline e Bia, pelo carinho e incentivo para não desistir dos meus sonhos, por vibrarem com as minhas realizações, por se preocuparem com os meus problemas, por serem uma extensão da minha família e companhias tão agradáveis, assim como por todos os ótimos almoços de sábado ao longo destes anos.

A todos os meus amigos da turma de mestrado, Juliana Feltrin, Fabiano Jeremias, Cristiane Costa, Marcela Tagliani e Márcia Tanaka. Obrigada pela amizade, pelo carinho, pelo convívio e por estarem em tantos momentos inesquecíveis da minha vida.

À Emi, pela grande colaboração neste trabalho, por sempre estar disposta a ajudar e ensinar, pela paciência e atenção.

À Hérica, pela amizade, cumplicidade, carinho, companheirismo e por sempre estar pronta a me ajudar, você tornou meu mestrado mais fácil. Obrigada!

Aos professores Dr. Jaime A. Cury e Dr^a. Livia M A Tenuta, por colaborarem tanto com este trabalho, por dedicarem parte de seu tempo por várias semanas ao me receberem tão gentilmente em seu laboratório. Por me passarem, de maneira brilhante, parte dos seus conhecimentos; pela atenção, carinho e cuidado que dispensaram a mim.

Ao Sr Waldomiro, por toda a atenção que a mim reservou, por tudo o que me ensinou, por toda paciência, por todas as nossas conversas, por ter tornado meus dias em Piracicaba mais divertidos.

A minha amiga Juliana Sasaki, por tantos anos de amizade e por ser uma das responsáveis por eu estar em Araraquara hoje.

Aos colegas de pós-graduação. Obrigada pela amizade, pelo convívio e ajuda nos momentos em que precisei.

Agradecimentos



À Universidade Estadual Paulista – “Júlio de Mesquita Filho”, em nome do magnífico Reitor Prof Dr.Herman Jacobus Cornelis Voorwald e Vice-Reitor Prof. Dr. Júlio César Durigan.

À Faculdade de Odontologia de Araraquara – Universidade Estadual Paulista, representados pelo digníssimo Diretor Prof Dr. José Cláudio Martins Segalla e pela Vice-Diretora Prof^a. Dr^a. Andréia Affonso Barretto Montandon.

Ao Departamento de Clínica Infantil da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP representada pela Chefe de Departamento Prof^a. Dr^a. Ângela Cristina Cilense Zuanon e Vice-Chefe Lídia Parsekian Martins.

Aos professores da Disciplina de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Araraquara – FOAR - UNESP, Ângela Cristina Cilense Zuanon, Cyneu Aguiar Pansani, Elisa Maria Aparecida Giro, Fábio César Braga de Abreu e Lima, Josimeri Hebling, Lourdes Aparecida Martins dos Santos-Pinto e Rita de Cássia Loiola Cordeiro pela convivência diária e os ensinamentos adquiridos.

À Coordenação de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas da Faculdade de Odontologia de Araraquara – FOAR– UNESP, representados pelos professores Dra. Josimeri Hebling e Dr. Osmir Batista de Oliveira Jr.

Aos funcionários da Secretaria de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Araraquara – FOAR – UNESP, Mara, Rosângela, Flávia e Alexandre pela atenção que sempre nos dispensaram em todos os momentos.

Ao Prof. Dr. Carlos Alberto de Souza Costa pela atenção, carinho e disponibilidade em nos auxiliar em várias etapas deste trabalho.

À Prof^a. Dra. Elisa, pela amizade, atenção e carinho. Pelo exemplo de dedicação simplicidade e paciência.

Aos professores da Disciplina de Materiais Dentários Dr. Carlos Cruz, Dr. Gelson Luis Adabo, Dr. Luis Geraldo Vaz e Prof^a Dra Renata Garcia Fonseca, pela amizade que sempre nos foi concedida.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, pela concessão de bolsa de estudos (processo 2008/02278-8) e auxílio pesquisa (processo 2009/07924-8).

Ao Prof. Elliot Watanabe Kitajima e ao Sr. Renato Barbosa Salaroli, pertencentes ao Núcleo de Apoio à Pesquisa/ Microscopia Eletrônica Aplicada à Pesquisa Agropecuária – MAP/MEPA, da ESALQ (Escola Superior de Agricultura Luís de Queiroz) da Universidade de São Paulo – USP, pelo auxílio técnico com a microscopia eletrônica de varredura.

Ao Laboratório de Patologia Experimental e Biomateriais do Departamento de Patologia e Fisiologia da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP, coordenado pelo Prof. Dr. Carlos Alberto de Souza Costa, pela disponibilidade de sua infraestrutura física, materiais e equipamentos.

Ao Laboratório de Bioquímica, do Departamento de Ciências Fisiológicas da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP, coordenado pelo Prof. Dr. Jaime Aparecido Cury, pela orientação e ajuda essenciais.

Ao Laboratório de Microbiologia, do Departamento de Fisiologia e Patologia, da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP, coordenado pela Profa. Dr^a. Denise M Palomari Spolidorio e a mestranda Amanda Fontana, pelo carinho e atenção a nós dispensados.

Aos funcionários do Departamento de Clínica Infantil da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP, Tânia, Odete, Dulce, Soninha, Pedrinho e Totó pelo convívio amigável e ajuda em hora oportuna, bem como à Cris e Márcia por nos fornecerem um ambiente de trabalho agradável.

Aos funcionários da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP, Maria Helena, Marley, Cristina, Ceres, Maria, Sílvia, Odete, Eliane, Inês e Adriano. Muito obrigada pela simpatia, carinho, atenção e ajuda constante.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

A todos os pacientes que voluntariamente doaram seus dentes para esta pesquisa.



Sumário

SUMÁRIO

RESUMO	19
ABSTRACT	24
INTRODUÇÃO	28
PROPOSIÇÃO	34
ESTUDO I	36
ESTUDO II	56
ESTUDO III	82
CONSIDERAÇÕES FINAIS	118
REFERÊNCIAS	125
ANEXOS	132



Scheffel DLS. Tempo de condicionamento da dentina hígida e afetada por cárie de dentes decíduos e permanentes. Efeito na desmineralização do substrato, na produção e na resistência da união resina-dentina. [Tese de Mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2010.

RESUMO

O objetivo geral desse trabalho, dividido em três estudos, foi avaliar a influência do tempo de condicionamento ácido na desmineralização da dentina, na qualidade e no desempenho adesivo imediato da união resina-dentina de dentes decíduos e permanentes. No estudo 1, superfícies planas de dentina foram produzidas em molares decíduos e pré-molares (n=8). Sobre cada superfície, três áreas foram delimitadas e condicionadas com ácido fosfórico por 5, 10 ou 15 s. Decorrido o período pré-estabelecido de condicionamento, o ácido foi coletado e a concentração de cálcio dissolvido da dentina ($\mu\text{g Ca}/\text{mm}^2$) foi determinada por microcolorimetria. Os dados foram analisados pela aplicação dos testes de ANOVA, Tukey e análise de regressão linear ($\alpha=0,05$). Correlação positiva significativa foi observada entre a concentração de cálcio e o tempo de condicionamento ácido para ambos, dentes decíduos e permanentes. Para todos os tempos de condicionamento, quantidades estatisticamente superiores de íons cálcio foram detectadas para a dentina de dentes decíduos em comparação a dentina de dentes permanentes. Foi concluído que a dentina de dentes decíduos é mais facilmente desmineralizada do que a dentina de dentes permanentes, e que

essa desmineralização foi maior em função do aumento do tempo de aplicação do ácido. No estudo 2, superfícies planas de dentina também foram produzidas em outros 8 molares decíduos e 8 pré-molares hígidos. As superfícies foram divididas ao meio no sentido vestibulo-lingual por meio de uma canaleta produzida com um disco diamantado. Aleatoriamente, cada metade foi condicionada com ácido fosfórico por 15 ou 5 s e os sistemas adesivos Prime&Bond NT ou Prime&Bond 2.1 foram aplicados. Espécimes envolvendo a interface de união foram produzidos e preparados em laboratório para coloração com tricrômico de Goldner. A espessura da zona de colágeno exposta na base da camada híbrida foi mensurada em microscopia óptica e os dados submetidos a análise de variância a dois critérios fixos e testes complementares de Tukey ($\alpha=0,05$). Em geral, maior exposição de fibrilas de colágeno foi observada quando o mesmo substrato foi condicionado por 15 s em comparação ao condicionamento por 5 s. Maior exposição de colágeno também foi observada em dentes decíduos em comparação a dentes permanentes, entretanto apenas quando o sistema Prime&Bond 2.1 foi utilizado. Pôde ser concluído que o aumento do tempo de condicionamento ácido dificulta a infiltração completa da zona de dentina desmineralizada favorecendo a manutenção de fibrilas de colágeno expostas na base da camada híbrida. Por fim, no estudo 3, das 24 superfícies planas de dentina produzidas em molares decíduos e 24 em pré-molares, metade foi submetida a um protocolo artificial de cárie. Nos dentes cariados, a dentina infectada foi completamente removida deixando como substrato para adesão a dentina afetada por cárie. Sobre esse substrato e também sobre as superfícies mantidas hígidas, foi realizado o condicionamento com ácido

fosfórico por 5, 10 ou 15 s, seguido da aplicação do sistema adesivo Prime&Bond NT. Espécimes ($0,81 \text{ mm}^2$) foram produzidos para o ensaio mecânico de microtração e os dados de resistência de união (RU) foram analisados pela aplicação dos testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney ($\alpha=0,05$). A redução do tempo de condicionamento afetou negativamente os valores de resistência de união apenas para a dentina hígida de dentes permanentes, enquanto nenhum efeito negativo foi observado para a dentina de dentes decíduos, hígida ou afetada por cárie, e para a dentina afetada por cárie de dentes permanentes. Em conclusão, uma vez que dentina hígida e afetada por cárie coexistem na maioria dos preparos cavitários, o condicionamento ácido por no mínimo 10 s deve ser recomendado para dentes permanentes, enquanto períodos inferiores podem ser indicados para dentes decíduos.

PALAVRAS-CHAVE: Ataque ácido dentário; adesivos dentinários; cárie dentária; colágeno; dente decíduo; dentina; resistência a tração



Scheffel DLS. Acid etching time of sound and caries-affected dentin of deciduous and permanent teeth. Effect on demineralization of the substrate, production and adhesive performance of resin-dentin bonds. [Tese de Mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2010.

ABSTRACT

The aim of this work, divided into three studies, was to evaluate the influence of acid etching time on dentin demineralization, quality and immediate adhesive performance of resin-dentin bonds produced in deciduous and permanent teeth. In the first study, flat dentin surfaces were produced in sound primary molars (n=8) and premolars (n=8). On each surface, three circular areas were defined and etched with phosphoric acid for 5, 10 or 15 s. After the predetermined period of etching, the acid was collected and the calcium concentration ($\mu\text{g Ca}/\text{mm}^2$) was determined by microcolorimetry. The data were analyzed by ANOVA, Tukey and linear regression tests ($\alpha=0.05$). Significant positive correlation was observed between calcium concentration and etching time for both deciduous and permanent teeth. For all times of conditioning, statistically higher amounts of calcium ions were removed from dentin of primary teeth compared to dentin of permanent teeth. It was concluded that the primary dentin was more prone to demineralization by phosphoric acid than permanent dentin, and that the extent of demineralization increased as a function of acid etching time. In the second study, flat dentin surfaces were also produced in additional 8 primary molars and 8 premolars. The surfaces were divided into mesial and distal halves

through a shallow notch produced with a diamond disc. Randomly, each half was conditioned with 35% phosphoric acid for 15 or 5 s and the adhesive systems Prime & Bond NT or Prime & Bond 2.1 were applied. Specimens involving the bonded interface were produced and processed for staining with Goldner's trichrome. The thickness of the collagen zone exposed at the base of the hybrid layer (ZC) was measured using optical microscopy. Data were submitted to three-way analysis of variance and Tukey's test ($\alpha=0.05$). Overall, thicker ZC were observed when the same substrate was etched for 15 s compared to 5 s. Also, thicker ZC were seen for primary dentin when etched for the same length of time than the permanent dentin, reaching statistical significance for Prime&Bond 2.1. It was concluded that extending the etching time from 5 s to 15 s was detrimental to the monomeric infiltration of the demineralized dentin, favoring the maintenance of exposed collagen fibrils at the base of the hybrid layer. In the last study, flat dentin surfaces were produced in 24 primary molars and 24 premolars. Half of them were subjected to an artificial caries protocol using *S. Mutans*. In carious teeth, the infected dentin was completely removed leaving as a substrate for adhesion the caries-affected dentin. On this substrate and also on the noncarious dentin, 35% phosphoric acid was applied for 5, 10 or 15 s, followed by application of Prime & Bond NT. Beam shaped specimens (0.81 mm^2) were produced for microtensile test and bond strength data were analyzed by Kruskal-Wallis and Mann-Whitney tests ($\alpha=0.05$). The reduction in acid etching time negatively affected bond strength only for sound dentin of permanent teeth. No negative effect was observed for primary dentin, sound or caries-affected, and

caries-affected permanent dentin. In conclusion, since sound and caries-affected dentin coexist in the majority of the cavity preparations, at least 10 s of acid etching should be recommended for permanent teeth, while shorter periods could be indicated for primary teeth.

KEYWORDS: Acid etching; dentin bonding agents; dental caries; collagen; primary tooth; dentin; bond streng

Introdução



INTRODUÇÃO GERAL

Além de um adequado desempenho adesivo imediato, as interfaces produzidas nas restaurações aderidas aos substratos dentários, esmalte e dentina, também devem apresentar estabilidade longitudinal para garantir a funcionalidade e proteção biológica promovidas por essas restaurações. Dessa forma, diferentes alternativas têm sido investigadas com o intuito de produzir interfaces adesivas menos susceptíveis à biodegradação imposta pela cavidade bucal, uma vez que esse ambiente oferece grandes desafios representados por alterações de temperatura, umidade constante, esforços mastigatórios e reações químicas diversas (De Munck et al⁶, 2003).

Fatores que podem influenciar a produção e a estabilidade longitudinal da união resina-dentina como tipo de substrato (dentina hígida, cariada ou afetada por cárie; decídua ou permanente) (Nakajima et al¹², 1995; Nakajima et al¹³, 1999; Yoshiyama et al³², 2002), tempo de condicionamento (Arrais et al⁴, 2005; Sanabe et al¹⁹, 2009; Sardella et al²², 2005; Wang e Spencer³⁰, 2004), composição dos sistemas adesivos (De Munck et al⁶, 2003) e condição de hidratação da dentina têm sido investigados com o objetivo comum de melhorar a qualidade das interfaces tornando-as mais resistente a hostilidade do meio bucal.

Tem sido demonstrado que diferenças de estrutura e composição entre a dentina de dentes decíduos e permanentes podem interferir nas propriedades mecânicas da união adesiva. A dentina de dentes decíduos quando comparada à de dentes permanentes apresenta menor área de dentina intertubular devido ao maior

número de túbulos dentinários (Sumikawa et al²⁴., 1999), espessura de dentina peritubular de 2 a 5 vezes maior (Hirayama et al⁹., 1992) e ainda menor conteúdo mineral (Angker et al²., 2003; Angker et al³., 2004; Borges et al⁵., 2007) com aumento da concentração de carbonato (Sønju Clasen e Ruyter²⁵, 1997). Essas duas últimas características têm sido associadas a uma maior reatividade desse substrato a ácidos, e conseqüentemente, a uma maior desmineralização quando o mesmo tempo de condicionamento utilizado em dentes permanentes é também empregado em dentes decíduos (Nör et al¹⁵., 1996; Sardella et al²²., 2005). Entretanto, até o momento, não há dados na literatura comparando a solubilidade dos substratos para adesão, esmalte e dentina, de dentes permanentes versus de decíduos, assim como estudos que comprovem a maior reatividade da dentina de dentes decíduos a soluções ácidas como o ácido fosfórico utilizado nos procedimentos adesivos.

A maior desmineralização da dentina e a subsequente infiltração dessa zona desmineralizada resulta na produção de camadas híbridas estruturalmente mais imperfeitas com aumento no número de porosidades (Pioch et al¹⁹., 1998; Wang e Spencer³⁰, 2004). Essa estrutura híbrida representa a principal forma de retenção de resinas ao substrato dentinário (Pashley e Carvalho¹⁸, 1997; Van Meerbeek et al²⁸., 2003) e, idealmente, deveria selar a dentina hermeticamente, impedindo o deslocamento de fluídos, intrínsecos e extrínsecos, de produtos bacterianos ou das próprias bactérias na interface adesiva, assim como ser resistente a degradação hidrolítica e enzimática. Entretanto, tem sido demonstrado que a profundidade de desmineralização da dentina e sua subsequente infiltração

por monômeros resinosos é discrepante (Hashimoto et al⁸., 2000; Spencer e Swafford²⁶, 1999; Spencer et al²⁷., 2004; Wang e Spencer²⁹, 2003), resultando na manutenção de fibrilas de colágeno desprotegidas do reforço mineral e/ou monomérico, as quais propiciam uma via de infiltração de fluidos e bioprodutos bacterianos, denominada de nanoinfiltração (Sano et al²¹., 1995). Esse fenômeno favorece a degradação dos constituintes da união resina-dentina, culminando com a sua falência funcional. A redução do tempo de condicionamento ácido, especialmente no caso dos dentes decíduos, poderia beneficiar a impregnação da dentina desmineralizada uma vez que a profundidade de desmineralização seria menor. Entretanto, essa premissa ainda não encontra respaldo científico.

Trabalhos têm demonstrado que quando o mesmo tempo de condicionamento ácido utilizado para a dentina de dentes permanentes é aplicado na dentina de dentes decíduos, camadas híbridas 20 a 30% mais espessas são formadas, aumentando dessa forma a probabilidade de defeitos intrínsecos (Nör et al¹⁵., 1996; Nör et al¹⁶., 1997). Embora pareça plausível considerar que o aumento da espessura da camada híbrida resulte em maior resistência de união do sistema adesivo ao substrato, inexistência de correlação positiva entre essas variáveis tem sido demonstrada (Hashimoto et al⁸., 2000; Pioch et al¹⁹., 1998). Na realidade, a hibridização incompleta da dentina desmineralizada pode aumentar significativamente com o aumento da espessura da camada híbrida, resultando em menores valores de resistência de união (Hashimoto et al⁸., 2000; Pioch et al¹⁹. 1998).

A redução do tempo de condicionamento ácido da dentina de dentes decíduos em aproximadamente metade do tempo recomendado para dentes permanentes não interfere negativamente na resistência de união imediata de sistemas adesivos (Osorio et al¹⁷., 2010; Sanabe et al²⁰., 2009; Sardella et al²²., 2005; Shashikiran et al²³., 2002) assim como favorece a estabilidade longitudinal da união resina-dentina (Sanabe et al²⁰., 2009). Esses dados favoráveis, entretanto, foram obtidos sobre a dentina hígida, não existindo na literatura a mesma evidência para a dentina afetada por cárie, a qual representa a condição clínica mais prevalente para adesão (Kimochi et al¹⁰., 1999; Nakajima et al¹²., 1995; Yoshiyama et al³²., 2002). O desempenho dos materiais adesivos é diretamente influenciado pelas alterações físico-químicas e morfológicas observadas na dentina afetada por cárie (Nakajima et al¹²., 1995; Nakajima et al¹³., 1999a; Nakajima et al¹⁴., 1999b; Yoshiyama et al³²., 2002) o que culmina na inferioridade da resistência de união quando comparada à observada em dentina hígida (Arrais et al⁴., 2004; Kimochi et al¹⁰., 1999; Nakajima et al¹²., 1995; Nakajima et al¹³⁻¹⁴., 1999; Xie et al³¹., 1996).’

Dessa forma, devido a ausência ou limitadas evidências existentes na literatura vigente, o presente trabalho teve como objetivo (1) investigar se características inerentes a dentina de dentes decíduos a tornam mais susceptível a ação de agentes ácidos, como o ácido fosfórico utilizado nos procedimentos restauradores adesivos, quando comparada a dentina de dentes permanentes; e (2) se a profundidade de desmineralização da dentina de dentes decíduos e permanentes é afetada pelo tempo de condicionamento ácido desses substratos.

Por fim, também foi objetivo desse trabalho (3) investigar se a redução do tempo de condicionamento ácido, especialmente para a dentina de dentes decíduos, favoreceria o desempenho adesivo de um sistema convencional simplificado quando aplicado sobre a dentina hígida e sobre a dentina alterada pelo processo carioso.

Proposição



PROPOSIÇÃO GERAL

Avaliar a influência do tempo de condicionamento ácido na desmineralização da dentina, na qualidade e no desempenho adesivo imediato da união resina-dentina de dentes decíduos e permanentes.

Proposição Específica

Estudo 1: Efeito do tempo de condicionamento ácido na desmineralização da dentina coronária de dentes decíduos e permanentes

Avaliar o grau de desmineralização da dentina hígida de dentes decíduos e permanentes após aplicação de ácido fosfórico, simulando diferentes tempos de condicionamento ácido.

Estudo 2: Influência do tempo de condicionamento ácido na exposição de colágeno na união adesivo-dentina de dentes decíduos e permanentes

Investigar a presença de colágeno exposto na união adesivo-dentina de dentes permanentes e decíduos em função do tempo de condicionamento ácido do substrato.

Estudo 3: Influência do tempo de condicionamento ácido na resistência da união resina-dentina hígida e afetada por cárie de dentes decíduos e permanentes

Avaliar o efeito do tempo de condicionamento ácido da dentina de dentes decíduos e permanentes, hígida e afetada por cárie, na resistência de união imediata de um sistema adesivo convencional simplificado.

Estudo I

**EFEITO DO TEMPO DE CONDICIONAMENTO ÁCIDO NA
DESMINERALIZAÇÃO DA DENTINA CORONÁRIA DE
DENTES DECÍDUOS E PERMANENTES**



**EFEITO DO TEMPO DE CONDICIONAMENTO ÁCIDO NA
DESMINERALIZAÇÃO DA DENTINA CORONÁRIA DE DENTES DECÍDUOS
E PERMANENTES**

Débora Lopes Salles Scheffel

Mestranda em Odontopediatria, Departamento de Clínica Infantil. Faculdade de Odontologia de Araraquara, UNESP – Univ. Estadual Paulista, Araraquara, Brasil.

Lívia Maria Andaló Tenuta

Professor Doutor, Departamento de Ciências Fisiológicas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP, Piracicaba, Brasil.

Jaime Aparecido Cury

Professor Titular, Departamento de Ciências Fisiológicas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP, Piracicaba, Brasil.

Josimeri Hebling

Professor Adjunto, Departamento de Clínica Infantil. Faculdade de Odontologia de Araraquara, UNESP – Univ. Estadual Paulista, Araraquara, Brasil.

Correspondência:

Profa. Dra. Josimeri Hebling

UNESP – Univ. Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de Araraquara

Rua Humaitá, 1680 Araraquara, São Paulo 14801-903, Brasil

e-mail: jhebling@foar.unesp.br

Palavras-chave: ataque ácido dentário, dentina, solubilidade, cálcio, colorimetria, dente decíduo.

Artigo formatado segundo as normas do *Journal of Dentistry*

RESUMO

Objetivo: A dentina de dentes decíduos e permanentes tem propriedades diferentes, mas não está completamente esclarecido como estas diferenças influenciam na desmineralização da dentina após o condicionamento ácido. Deste modo, o objetivo deste estudo foi determinar o efeito do tempo de condicionamento ácido na dissolução da dentina e comparar a taxa de dissolução da dentina decídua e permanente quando o mesmo tempo de condicionamento foi aplicado. **Materiais e Métodos:** Superfícies planas de dentina foram produzidas em dentes decíduos (n=8) e permanentes (n=8) hígidos. Três áreas circulares (2 mm diâmetro) foram delimitadas na região central da superfície e distribuídas aleatoriamente entre os diferentes tempos de condicionamento 5 s, 10 s ou 15 s. 5 µL de H₃PO₄ foram aplicados em cada área e mantidos sob agitação durante o tempo determinado, quando 4 µL foram recolhidos para análise. A quantidade de cálcio na solução foi determinada por meio de microcolorimetria, utilizando Arsenazo III, e os valores expressos em µg Ca/mm². Os resultados foram submetidos a ANOVA dois critérios, Tukey e regressão linear (α=5%). **Resultados:** Correlação estatisticamente significativa entre o tempo de condicionamento ácido e a concentração de cálcio foi observada (dentina decídua R²=0,79; dentina permanente R²=0,73). As médias (desvio-padrão) de dentina decídua dissolvida após 5, 10 e 15 s foram 1,00 (0,25), 1,74 (0,11) e 2,30 (0,42), enquanto que para a dentina permanente esses valores foram 0,47 (0,13), 0,89 (0,36) e 1,38 (0,20) µg Ca/mm², respectivamente. Maiores concentrações de cálcio (p<0,05) foram detectadas para a dentina decídua em todos os tempos de condicionamento ácido. **Conclusão:** O aumento do tempo de condicionamento ácido resultou em maior desmineralização da dentina, tanto para dentes decíduos quanto para permanentes. A dentina decídua foi menos resistente a dissolução com ácido fosfórico quando comparada a dentina de dentes permanentes.

INTRODUÇÃO

A criação de vias de difusão é um passo fundamental dentro dos protocolos de adesão as estruturas dentárias. Essas vias são produzidas a partir da remoção do conteúdo inorgânico tecidual pela aplicação de agentes ácidos e, especificamente para a dentina, da subsequente manutenção dos espaços interfibrilares gerados para posterior infiltração monomérica e polimerização in situ. A camada híbrida resultante é considerada a principal estrutura responsável pela retenção micromecânica das restaurações resinosas e também responde, em grande parte, pelo selamento da dentina.¹

Antes da consagração do condicionamento ácido total, havia uma grande preocupação com o potencial tóxico dos agentes ácidos aplicados sobre o tecido dentinário.² A difusão desses agentes via túbulos dentinários³ seria o fator responsável pela resposta inflamatória pulpar observada após procedimentos restauradores adesivos.⁴ Entretanto, a capacidade tampão exercida pela dentina limita a difusão de ácidos na direção do tecido pulpar,⁵ fato este que exime a difusão de componentes ácidos da responsabilidade de ser o fator causal primário do processo inflamatório pulpar.

A capacidade tampão da dentina é exercida pela fase mineral desse tecido.⁵ Apenas uma porcentagem mínima de íons hidrogênio (H^+) alcança o espaço pulpar após a aplicação de ácidos inorgânicos fortes sobre a dentina,⁵ uma vez que o agente ácido rapidamente reage com formas trivalentes de fosfato presentes no tecido resultando em espécies protonadas de fosfato, os quais são instáveis e

solúveis. O carbonato presente na dentina também é protonado pelo ácido, e ao consumir H^+ , libera CO_2 e água.⁶

Uma vez que a dentina de dentes decíduos apresenta um conteúdo mineral menor do que a dentina de dentes permanentes⁷, e uma maior concentração de carbonato⁸, especula-se que esse substrato apresente uma maior reatividade a soluções ácidas quando comparado a dentina de dentes permanentes.^{9,10} Trabalhos têm demonstrado que quando o mesmo tempo de condicionamento ácido utilizado para a dentina de dentes permanentes é aplicado na dentina de dentes decíduos camadas híbridas mais espessas são formadas,⁹⁻¹¹ e que a redução do tempo de condicionamento para a dentina de dentes decíduos beneficia a estabilidade longitudinal das interfaces produzidas.¹²

A probabilidade de defeitos intrínsecos aumenta com o aumento da espessura da camada híbrida^{13,14} devido a discrepância entre a profundidade de desmineralização dentinária e a infiltração monomérica.^{15,16,17,18} Como consequência desta disparidade, fibrilas de colágeno desprotegidas do reforço mineral e/ou monomérico permanecem expostas na união resina-dentina,¹⁶ contribuindo como vias de infiltração de fluidos e bioprodutos bacterianos, conhecida como nanoinfiltração.¹⁹ Adicionalmente, tem sido demonstrado que essas fibrilas expostas são susceptíveis à ação proteolítica das metaloproteinases da matriz dentinária.^{20,21} Esses fenômenos são responsáveis pela degradação dos constituintes da união resina-dentina, culminando com a sua falência funcional.

Dessa forma, partindo do princípio que a redução do tempo de condicionamento ácido poderia minimizar a discrepância entre a profundidade de

desmineralização dentinária e a posterior infiltração monomérica dessa região, e que a dentina de dentes decíduos poderia ser mais susceptível a desmineralização ácida devido a seu inerente menor conteúdo mineral, o presente estudo tem como objetivo (1) investigar se o aumento do tempo de condicionamento ácido, considerando períodos clinicamente relevantes, exerce efeito na dissolução da dentina de dentes decíduos e permanentes, e (2) comparar a dissolução da dentina desses dentes quando o mesmo tempo de condicionamento é realizado.

MATERIAIS E MÉTODOS

Dezesseis dentes humanos hígidos (8 segundos molares decíduos e 8 pré-molares) foram coletados mediante aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Araraquara (Protocolo #15/08). Para minimizar diferenças relacionadas ao grau de mineralização pós-eruptiva, apenas foram incluídos no estudo dentes pré-molares que estavam em função na cavidade bucal por no mínimo 3 anos.

Superfícies planas em dentina foram produzidas nos 16 dentes, após desgaste do terço coronário oclusal em politriz, (DP10; Panambra Industrial e Técnica Ltda., São Paulo, Brasil) com lixa de carbetto de silício de granulação 320 e irrigação constante com água. O desgaste foi realizado até que nenhuma área contendo esmalte fosse observada em estereomicroscópico (Mod SZX7, Olympus, São Paulo, Brasil).

Em seguida, as superfícies de dentina foram polidas objetivando a produção de uma superfície livre de smear layer. O polimento foi realizado

seqüencialmente com lixas de carbetto de silício de granulação 400, 600 e 1200 em politriz, por 2 min cada, seguidas de disco de feltro impregnado com pasta diamantada (Estec I Water Based Diamond Permanent Polishing Susp. W/Trigger Spray, Extec Corp., Enfield, EUA) (granulação 1 μm) por mais 2 min. A cada troca de lixa os dentes foram levados em cuba ultrassônica preenchida com água destilada por 4 min e após a utilização do disco de feltro o ultrassom foi utilizado com água destilada acrescida de detergente (Ultranet 2 Sonic Cleaning Solution, Buehler, USA), na proporção de 20:1, para a remoção dos resíduos da pasta diamantada. Por fim, os dentes foram abundantemente lavados em água destilada.

Três fitas adesivas circulares com 2,0 mm de diâmetro foram aderidas à superfície dentinária de tal forma que ocupassem a porção mais central da mesma e que permanecessem equidistantes entre si. Em seguida, uma camada de esmalte ácido-resistente (Colorama, CEIL Com. Exp. Ind. Ltda, Sao Paulo, Brasil) foi aplicada em toda a superfície dental. Os discos de fita foram removidos e nas áreas expostas foram aplicados 5 μL de solução de ácido fosfórico à 35% (p/p), por 5, 10 ou 15 s. O volume de ácido fosfórico foi mantido sob agitação constante durante o tempo pré-determinado com a extremidade da ponteira de uma micropipeta e ao final do mesmo 4 μL do ácido contendo os produtos dissolvido da dentina foram recuperados para dosagem de cálcio (Ca) como indicador da quantidade de substrato desmineralizado. A concentração de Ca foi determinada colorimetricamente pelo reativo Arsenazo III.²² As amostras foram analisadas em duplicata em espectrofotômetro (DU 800 Spectrophotometer, Beckman Coulter, CA, EUA) com comprimento de onda de 650 nm.

Para a determinação da solubilização pelo ácido fosfórico, a quantidade de cálcio dissolvido ($\mu\text{g}/\text{mm}^2$) foi comparada pela aplicação do teste de ANOVA à dois critérios fixos (substrato x tempo de condicionamento). Testes complementares de Tukey para comparação aos pares, assim como a análise de regressão linear, também foram aplicados. Todos os testes estatísticos foram considerados ao nível pré-estabelecido de 5% de significância.

RESULTADOS

Dados referentes a concentração de cálcio detectada após aplicação do ácido fosfórico por 5, 10 ou 15 s na dentina de dentes decíduos e permanentes estão apresentados na Tabela 1. Para todos os tempos de condicionamento ácido, a dissolução da dentina decídua foi significativamente maior que da dentina permanente ($p < 0,05$). Na dentina decídua, aumento estatisticamente significativo ($p < 0,05$) da concentração de íons Ca foi observado entre os tempos de 5, 10 e 15 s, enquanto que para a dentina permanente aumento significativo ($p < 0,05$) foi observado somente entre 15 s e os demais tempos de condicionamento, os quais por sua vez não diferiram entre si ($p > 0,05$).

A análise de regressão linear (Figura 1) mostrou correlação significativa ($p < 0,01$) entre os tempos de condicionamento ácido e a concentração de cálcio dissolvido da dentina decídua ($R^2 = 0,79$) e permanente ($R^2 = 0,73$).

DISCUSSÃO

Ambos os fatores, concentração e tempo de aplicação do ácido, influenciam diretamente na profundidade de desmineralização da dentina intertubular.^{13, 16,23,24} Os resultados do presente estudo também demonstraram que, a despeito da capacidade tampão exercida pela dentina,⁵ houve uma correlação direta entre o grau de desmineralização deste tecido e o tempo de contato com o ácido fosfórico, tanto para dentes decíduos como para permanentes. Esse maior grau de dissolução pode exercer efeito negativo na produção e desempenho da interface adesiva, agravando a discrepância entre a profundidade de desmineralização da dentina e a subsequente infiltração desta zona por componentes dos sistemas adesivos.^{13,16,24,25} No entanto, a crescente desmineralização da dentina em função do tempo de condicionamento tem sido observada somente para tempos breves de exposição ao agente ácido. Camps e Pashley⁵ em estudo com discos de dentina, utilizaram os tempos de 15 s, 15 min e 60 min e não verificaram aumento da difusão do fluxo de H⁺ com o aumento do tempo de condicionamento, concluindo que a alta capacidade tampão da dentina limita a ação do ácido já em alguns segundos de exposição.

Wang e Spencer¹⁴ demonstraram que a desmineralização da dentina intertubular de dentes permanentes após a aplicação de ácido fosfórico 35% foi 2 vezes mais profunda quando o ácido foi mantido em contato com a dentina por 15 s comparado com 10 s. De acordo com os autores, durante os primeiros segundos seguidos a aplicação do condicionador ácido, este penetra rapidamente pelos túbulos e remove inicialmente o conteúdo mineral da dentina peritubular e

intertubular circundante. Os túbulos dentinários representam vias preferenciais para a difusão do ácido, especialmente durante os primeiros segundos após sua aplicação,³ enquanto que a ação do ácido na dentina intertubular ocorre posteriormente.²⁶ Dessa forma, a ação efetiva do ácido sobre a desmineralização da dentina intertubular ocorreria a partir de 10 s de sua aplicação sobre esse substrato. No presente estudo foi observado para dentes permanentes um aumento significativo na dissolução da dentina a partir de 15 s, quando comparado com os tempos de 5 s e 10 s de condicionamento ácido, os quais não diferiram entre si. Para a dentina de dentes decíduos um aumento significante na dissolução foi observado de 5 s para 10 s, o qual pode ser explicado pelo fato de que a dentina peritubular do dente decíduo, a qual é altamente mineralizada, pode ser até 5 vezes mais espessa que a dentina peritubular do dente permanente,²⁷ resultando em uma maior quantidade de cálcio liberado em um menor espaço de tempo. Uma vez que a mais rápida desmineralização observada para a dentina de dentes decíduos pode refletir o conteúdo mineral extraído da dentina peritubular e não intertubular, é relevante investigar se apenas 5 s de aplicação do ácido fosfórico seriam suficientes para garantir a produção de uma interface adesiva efetiva funcionalmente.

É importante considerar que a superfície da dentina condicionada no presente estudo estava livre de *smear layer*, uma vez que o objetivo do trabalho foi investigar o efeito da solução ácida na dissolução da dentina sem a interferência dessa estrutura. No entanto, há uma preocupação de que períodos tão breves de condicionamento como 5 s ou 10 s possam não ser suficientes para a

desmineralização de ambas as estruturas, *smear layer* e dentina subjacente.¹⁴ Portanto, mais estudos objetivando avaliar o efeito da redução do tempo de condicionamento ácido na resistência de união dos sistemas adesivos devem ser realizados, considerando que a dentina hígida e livre de *smear layer* não representa o substrato mais relevante usado para adesão durante procedimentos clínicos restauradores. Em alguns estudos, entretanto, já foi demonstrado que para a dentina decídua hígida a redução do tempo de condicionamento ácido de 15 s para 7 s não foi prejudicial ao desempenho adesivo imediato de um sistema adesivo convencional de dois passos^{10-12,28} e aumentou a resistência da união resina-dentina a degradação.¹²

Independentemente da duração do condicionamento ácido, a dentina decídua foi menos resistente ao efeito desmineralizador do ácido que a dentina permanente. Diferenças químicas e morfológicas entre a dentina de dentes decíduos e permanentes^{7,8,27,29} podem explicar a diferença significativa observada nos valores de tecido dissolvido no presente estudo quando estes substratos foram condicionados pelo mesmo período de tempo. De fato, tem sido demonstrado que a progressão da cárie dental é mais rápida nos dentes decíduos que nos permanentes,³⁰ possivelmente porque os tecidos mineralizados dos dentes decíduos apresentam maior conteúdo de carbonato,⁸ resultando em maior solubilidade. Também pode ser sugerido que, devido ao seu menor conteúdo mineral⁷ associado a maior concentração de carbonato,⁸ a dentina de dentes decíduos tem menor capacidade de neutralização dos íons H⁺ liberados do agente

condicionador, o que confere a esse substrato menor resistência a ação desse agente.

A capacidade tampão de um tecido mineralizado está relacionada ao seu conteúdo mineral.⁵ Esta propriedade restringe a extensão da infiltração do H⁺ resultando em menores valores de cálcio dissolvido. Como resultado, uma menor profundidade de dentina desmineralizada é esperada. No presente estudo, os mesmos valores de dentina dissolvida após 10 s de condicionamento ácido na dentina permanente foi observado após 5 s para a dentina decídua. Da mesma forma, valores comparáveis de dentina foram desmineralizados após 15 s de aplicação do ácido fosfórico na dentina permanente e somente 10 s na dentina decídua. Isso demonstra que talvez os protocolos de adesão devam ser diferenciados tecnicamente entre a dentina de dentes decíduos e permanentes, com a indicação de um inferior tempo de condicionamento ácido para os primeiros. Comparação similar pode ser feita entre a dentina hígida e a afetada por cárie. Como a dentina intertubular do substrato afetado por cárie tem menor conteúdo mineral, a zona desmineralizada produzida pelo ácido fosfórico neste substrato é mais profunda do que na dentina hígida.³¹ Além do mais, além de apresentar menor capacidade tampão por unidade de volume devido ao menor conteúdo mineral, a dentina afetada por cárie também é mais porosa, o que pode facilitar a difusão dos íons H⁺.⁵ Semelhantemente, também tem sido relatado que a dentina de dentes decíduos é mais porosa que a dentina de dentes permanentes.^{27,29}

Propriedades como dureza e módulo de elasticidade refletem o conteúdo mineral dos tecidos duros. Hosoya and Marshall³² demonstraram, usando testes de

nanodureza, que a dureza e o módulo de elasticidade da dentina de caninos decíduos foram ambos menores daqueles de pré-molares. Os autores sugerem que podem ser consideráveis as diferenças nas propriedades da dentina de dentes decíduos e permanentes, os quais demandam diferenciação nos protocolos adesivos para esses substratos.^{10,12} Além do mais, foi demonstrado em um estudo recente que o arranjo molecular da fase inorgânica da dentina decídua é diferente da dentina permanente,³³ embora neste mesmo estudo os autores não tenham encontrado diferenças quantitativas no conteúdo mineral quando esses substratos foram comparados.

Além de diferenças no conteúdo mineral e solubilidade da fase inorgânica, características adicionais podem contribuir para a maior dissolução observada na dentina decídua no presente estudo. Sumikawa et al.²⁹ relataram que a dentina dos dentes decíduos apresenta maior número de túbulos dentinários por área, os quais promovem vias de difusão mais rápidas e fáceis para o ácido.³ Além disso, a espessura de dentina peritubular relatada para o dente decíduo²⁷ pode responder pela liberação de maiores quantidades de cálcio observadas para este substrato em relação à dentina permanente quando o mesmo tempo de condicionamento ácido foi utilizado. Uma vez que se pode supor que quanto maior a quantidade de minerais removidos da dentina, mais profunda é a zona de desmineralização, os resultados do presente estudo suportam o fato de que camadas híbridas mais espessas podem ser produzidas após a aplicação de um sistema adesivo na dentina decídua em comparação com a dentina permanente quando o mesmo tempo de condicionamento ácido é utilizado.^{9,11} Consequentemente, um menor

tempo de condicionamento ácido para a dentina decídua pode reduzir a discrepância entre a profundidade de desmineralização e a subsequente impregnação monomérica, reduzindo a exposição de fibrilas de colágeno na interface e aumentando a resistência a degradação hidrolítica e enzimática da união resina-dentina.

CONCLUSÃO

Correlação positiva foi observada entre o tempo de condicionamento ácido e a desmineralização da dentina, tanto para dentes decíduos como permanentes. A dentina de dentes decíduos foi menos resistente a dissolução pelo ácido fosfórico do que a dentina de dentes permanentes independente do tempo de condicionamento, provavelmente devido a ação sinérgica de três fatores principais, composição da fase mineral, conteúdo mineral e características morfológicas.

AGRADECIMENTOS

Este estudo foi apoiado pela Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP (processos 2008/02278-8 e 2009/07924-8). Os autores reconhecem a valiosa colaboração do Sr. Waldomiro Vieira Filho, técnico responsável pelo laboratório de Bioquímica Oral localizado na Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade de Campinas – UNICAMP.

REFERÊNCIAS

1. Nakabayashi N, Kojima K, Masuhara E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. *Journal of Biomedical Materials Research* 1982; **16**:265-73.
2. Pashley DH. The effects of acid etching on the pulpodentin complex. *Operative Dentistry* 1992; **17**:229-42.
3. Selvig KA. Ultrastructural changes in human dentine exposed to a weak acid. *Archives of Oral Biology* 1968; **13**:719-34.
4. Stanley HR, Going RE, Chauncey HH. Human pulp response to acid pretreatment of dentin and to composite restoration. *Journal of the American Dental Association* 1975; **91**:817-25.
5. Camps J, Pashley DH. Buffering action of human dentin in vitro. *Journal of Adhesive Dentistry* 2000; **2**:39-50.
6. LeGeros RZ. Calcium phosphates in oral biology and medicine. *Monographs in Oral Science* 1991; **15**:43-94.
7. Angker L, Nockolds C, Swain MV, Kilpatrick N. Quantitative analysis of the mineral content of sound and carious primary dentine using BSE imaging. *Archives of Oral Biology* 2004; **49**:99-107.
8. Sønju Clasen AB, Ruyter IE. Quantitative determination of type A and type B carbonate in human deciduous and permanent enamel by means of Fourier transform infrared spectrometry. *Advances in Dental Research* 1997; **11**:523-27.
9. Nör JE, Feigal RJ, Dennison JB, Edwards CA. Dentin bonding: SEM comparison of the resin-dentin interface in primary and permanent teeth. *Journal of Dental Research* 1996; **75**:1396-403.

10. Sardella TN, Castro FLA, Sanabe ME, Hebling J. Shortening of primary dentin etching time and its implication on bond strength. *Journal of Dentistry* 2005; **33**:355-62.
11. Olmez A, Oztas N, Basak F. Comparison of the resin-dentin interface in primary and permanent teeth. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry* 1998; **22**:293-98.
12. Sanabe ME, de Souza Costa CA, Hebling J. Effect of acid etching time on the degradation of resin-dentin bonds in primary teeth. *American Journal of Dentistry* 2009; **22**:37-42.
13. Pioch T, Stotz S, Buff E, Duschner H, Staehle HJ. Influence of different etching times on hybrid layer formation and tensile bond strength. *American Journal of Dentistry* 1998; **11**:202-06.
14. Wang Y, Spencer P. Effect of acid etching time and technique on interfacial characteristics of the adhesive-dentin bond using differential staining. *European Journal of Oral Science*, 2004; **112**:293-99.
15. Spencer P, Swafford JR. Unprotected protein at the dentin-adhesive interface. *Quintessence International* 1999; **30**:501-07.
16. Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Sano H, Tay FR, Oguchi H, et al. Over-etching effects on micro-tensile bond strength and failure patterns for two dentin bonding systems. *Journal of Dentistry* 2002; **30**:99-105.
17. Spencer P, Wang Y. Adhesive phase separation at the dentin interface under wet bonding condition. *Journal of Biomedical Materials Research*, 2002; **62**:447-56.
18. Wang Y, Spencer P. Hybridization efficiency of the adhesive/dentin interface with wet bonding. *Journal of Dental Research* 2003; **82**:141-45.

19. Sano H, Takatsu T, Ciucchi B, Horner JA, Matthews WG, Pashley DH. Nanoleakage: leakage within the hybrid layer. *Operative Dentistry* 1995; **20**:18-25.
20. Pashley DH, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho RM, Ito S. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *Journal of Dental Research* 2004; **83**:216-21.
21. Carrilho MR, Tay FR, Donnelly AM, Agee KA, Tjäderhane L, Mazzoni A, et al. Host-derived loss of dentin matrix stiffness associated with solubilization of collagen. *Journal of Biomedical Materials Research Part B Applied Biomaterials* 2009; **90**:373-80.
22. Vogel GL, Chow LC, Brown WE. A microanalytical procedure for the determination of calcium, phosphate and fluoride in enamel biopsy samples. *Caries Research* 1983; **17**:23-31.
23. Uno S, Finger WJ. Effects of acidic conditioners on dentine demineralization and dimension of hybrid layers. *Journal of Dentistry* 1996; **24**:211-16.
24. Bolaños-Carmona V, González-López S, Briones-Luján T, de Haro-Muñoz C, de la Macorra JC. Effect of etching time of primary dentin on interface morphology and microtensile bond strength. *Dental Materials* 2006; **22**:1121-29.
25. Hashimoto M, Ohno H, Endo K, Kaga M, Sano H, Oguchi H. The effect of hybrid layer thickness on bond strength: demineralized dentin zone of the hybrid layer. *Dental Materials* 2000; **16**:406-11.
26. Marshall GW, Inai N, Magidi ICW, Balloch M, Kinney JH, Tagami J, et al. Dentin demineralization: effects of dentin depth, pH and different acids. *Dental Materials* 1997; **13**:338-43.

27. Hirayama M, Yamada M, Miake K. An electron microscope study on dentinal tubules of human deciduous teeth. *Shikwa Gakuho* 1992; **86**:1021-31.
28. Osorio R, Aguilera FS, Otero PR, Romero M, Osorio E, Garcia-Godoy F, Toledano M. Primary dentin etching time, bond strength and ultra-structure characterization of dentin surfaces. *Journal of Dentistry* 2010; **38**:222-31.
29. Sumikawa DA, Marshall GW, Gee L, Marshall SJ. Microstructure of primary tooth dentin. *Pediatric Dentistry* 1999; **2**:439-44.
30. Mejåre I, Stenlund H. Caries rates for the mesial surface of the first permanent molar and the distal surface of the second primary molar from 6 to 12 years of age in Sweden. *Caries Research* 2000; **34**:454-61.
31. Erhardt MC, Toledano M, Osorio R, Pimenta LA. Histomorphologic characterization and bond strength evaluation of caries-affected dentin/resin interfaces: effects of long-term water exposure. *Dental Materials* 2008; **24**:786-98.
32. Hosoya Y, Shinkawa H, Marshall GW. Influence of Carisolv for resin adhesion to sound human primary dentin and young permanent dentin using two different adhesive systems. *Journal of Dentistry* 2005; **33**:283-91.
33. Borges AFS, Bitar RA, Kantovitz KR, Correr AB, Martin AA, Puppin-Rontani RM. New perspectives about molecular arrangement of primary and permanent dentin. *Applied Surface Science* 2007; **254**:1498-505.

Tabela 1. Dissolução da dentina de dentes decíduos e permanentes ($\mu\text{g Ca}/\text{mm}^2$) em função dos diferentes tempos de condicionamento (segundos).

Dentina	Tempo de condicionamento ácido (s)		
	5 s	10 s	15 s
Dente decíduo	1,00 (0,25)* c A**	1,74 (0,11) b A	2,30 (0,42) a A
Dente permanente	0,47 (0,13) b B	0,89 (0,36) bB	1,38 (0,20) a B

* Valores são média (desvio-padrão), n=8

** Os valores representados por letras minúsculas iguais nas linhas e letras maiúsculas iguais nas colunas não diferem estatisticamente (Tukey, $p>0,05$).

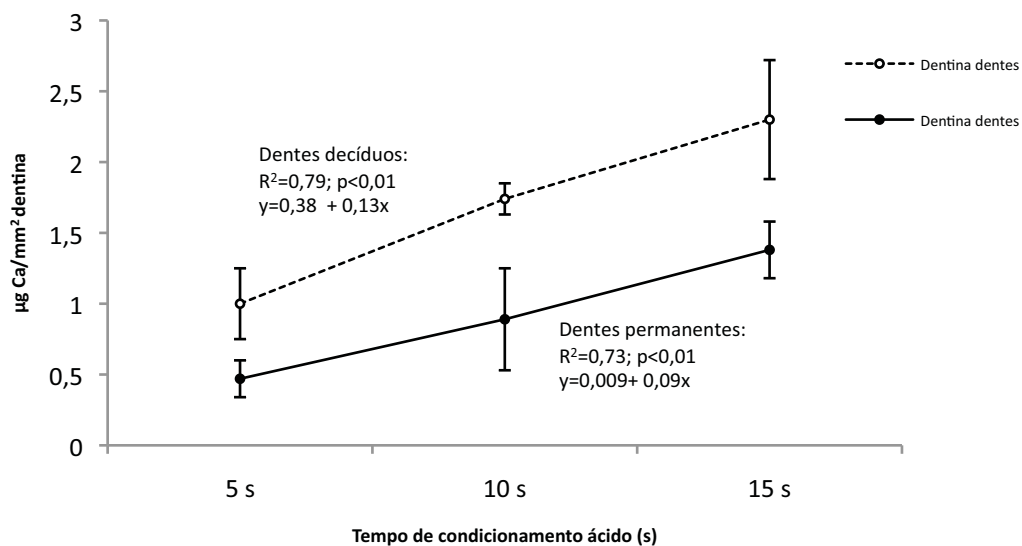


Figura 1. Dissolução da dentina ($\mu\text{g Ca}/\text{mm}^2$) para dentes decíduos e permanentes em função do tempo de condicionamento ácido (segundos). Barra de erro = desvio-padrão.

Estudo II

**INFLUÊNCIA DO TEMPO DE CONDICIONAMENTO ÁCIDO
NA EXPOSIÇÃO DE COLÁGENO NA UNIÃO ADESIVO-
DENTINA DE DENTES DECÍDUOS E PERMANENTES**



**INFLUÊNCIA DO TEMPO DE CONDICIONAMENTO ÁCIDO NA
EXPOSIÇÃO DE COLÁGENO NA UNIÃO ADESIVO-DENTINA DE
DENTES DECÍDUOS E PERMANENTES**

Scheffel DLS¹, de Souza Costa CA², Hebling J³

¹ Mestranda em Odontopediatria, Departamento de Clínica Infantil. Faculdade de Odontologia de Araraquara, UNESP – Univ. Estadual Paulista, Araraquara, Brasil.

² Professor Adjunto, Departamento de Fisiologia e Patologia. Faculdade de Odontologia de Araraquara, UNESP – Univ. Estadual Paulista, Araraquara, Brasil.

³ Professor Adjunto, Departamento de Clínica Infantil. Faculdade de Odontologia de Araraquara, UNESP – Univ. Estadual Paulista, Araraquara, Brasil.

Correspondência:

Profª. Dra. Josimeri Hebling

UNESP – Univ. Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de Araraquara

Rua Humaitá, 1680

Araraquara, São Paulo 14801-903, Brasil

e-mail: jhebling@foar.unesp.br

Palavras-chave: ataque ácido dentário, dente decíduo, adesivos dentinários, dentina, colágeno.

Artigo formatado segundo as normas do *Journal of Adhesive Dentistry*.

RESUMO

Objetivo: Investigar a influência do tempo de condicionamento ácido da dentina de dentes decíduos e permanentes na exposição de colágeno na união adesivo-dentina. **Materiais e Método:** Superfícies planas em dentina foram produzidas em dentes decíduos (n=8) e permanentes (n=8) hígidos. Essas superfícies foram divididas ao meio em porções mesial e distal, sendo cada porção condicionada com ácido fosfórico 35% por 5 s ou 15 s. Os dentes foram aleatoriamente divididos em 2 grupos de acordo com o sistema adesivo, Prime&Bond NT ou Prime&Bond 2.1, e então processados para coloração com Tricrômico de Goldner. A espessura da zona de colágeno (ZC) exposta nas interfaces foi mensurada em microscopia de luz e os dados submetidos ao testes estatísticos de ANOVA e Tukey ($\alpha=0,05$). **Resultados:** Aumento da espessura da ZC exposta na união adesivo-dentina foi observado em função do aumento do tempo de condicionamento. Entretanto, esse aumento foi significativo apenas para o sistema Prime&Bond 2.1. Tendência a ZC mais espessas foi observada para os dentes decíduos, porém com significância estatística apenas para Prime&Bond 2.1 aplicado sobre a dentina condicionada por 5 s. **Conclusão:** Pôde ser concluído que o aumento do tempo de condicionamento ácido favoreceu a permanência de colágeno exposto na interface adesivo-dentina em função do tipo de sistema adesivo utilizado. Maior exposição de colágeno foi observada em dentes decíduos quando comparados aos permanentes quando a dentina foi condicionada por 5 s.

INTRODUÇÃO

Umidade, heterogeneidade estrutural e composicional tornam a dentina um grande desafio para a odontologia adesiva,⁷ principalmente ao que se refere a estabilidade longitudinal das interfaces produzidas neste substrato, tornando a adesão menos previsível na dentina quando comparada ao esmalte.²³ Suas particularidades se tornam cada vez mais evidentes quando são comparados substratos diferentes, como dentina hígida e afetada por cárie ou dentina decídua e permanente.^{15,16,40}

Fatores críticos para o desenvolvimento de uma adequada união entre sistema adesivo e dentina são a remoção do conteúdo mineral superficial e a subsequente penetração dos componentes do adesivo na dentina desmineralizada³⁶ resultando na produção de uma zona de interdifusão formada por monômeros resinosos e fibrilas de colágeno denominada de camada híbrida.¹³ Esta zona tem sido considerada a principal estrutura responsável pela retenção micromecânica dos adesivos ao substrato dentinário,^{20,33} especialmente quando a adesão é estabelecida em cavidades superficiais e de média profundidade.

Entretanto, a completa infiltração da dentina desmineralizada por monômeros resinosos não é uma realidade clínica. Nas condições viáveis de pressão, temperatura, tempo e umidade, a infiltração parcial da dentina desmineralizada resulta na manutenção de uma zona de colágeno desprotegido do reforço mineral e/ou monomérico na base da camada híbrida, a qual propicia a infiltração de fluidos e bioprodutos bacterianos²⁵ e a subsequente degradação dos constituintes da união resina-dentina, culminando em sua falência funcional.

Diferenças de estrutura e composição entre a dentina de dentes decíduos e permanentes também podem interferir nas propriedades mecânicas da união adesiva, uma vez que a composição mineral e estrutural da dentina decídua a tem associado a uma menor capacidade de tamponamento do agente ácido, o que tem sido considerado responsável pela formação de camadas híbridas aproximadamente 25-30% mais espessas nos dentes decíduos^{17,18} quando a dentina é condicionada pelo mesmo tempo recomendado para a dentina permanente. Camadas híbridas mais espessas tem maior chance de conter porosidades e imperfeições em seu interior,^{22,38} resultando em menores valores de resistência de união.^{10,22}

Um dos fatores que influenciam a espessura da zona de interdifusão é o tempo de condicionamento do substrato dentinário. Por resultar em desmineralização mais profunda da dentina, o aumento do tempo de condicionamento ácido favorece a hibridização inadequada.^{10,22} Tem sido demonstrado que a redução do tempo de condicionamento da dentina de dentes decíduos em aproximadamente metade do tempo recomendado para dentes permanentes não interfere negativamente na resistência de união imediata de sistemas adesivos^{19,24,26,28} assim como favorece a estabilidade longitudinal da união resina-dentina.²⁴ Sendo assim, parece plausível inferir que a redução do tempo de condicionamento ácido da dentina diminuiria a profundidade de desmineralização, minimizando a espessura de colágeno exposto na base da camada híbrida e melhorando, desta forma, a qualidade da interface adesiva. Mediante a estes fatos, o objetivo deste estudo foi avaliar, por meio da coloração

do Tricrômico de Goldner, a influência do tempo de condicionamento ácido da dentina de dentes decíduos e permanentes na exposição de fibrilas de colágeno na união adesivo-dentina.

MATERIAIS E MÉTODOS

Dentes pré-molares (n=8) e molares decíduos (n=8) humanos hígidos, foram coletados mediante aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Araraquara (Protocolo #15/08). Para minimizar diferenças relacionadas ao grau de mineralização pós-eruptiva, apenas foram incluídos no estudo dentes pré-molares que estavam em função na cavidade bucal por no mínimo 3 anos.

Para possibilitar o manuseio dos dentes decíduos, que apresentaram avançada rizólise, as câmaras pulpares foram preenchidas com resina de baixa viscosidade (Filtek Flow, 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA) e raízes artificiais (apenas o terço cervical) foram reproduzidas em resina composta (Z250, 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA).

Superfícies planas em dentina foram produzidas em todos os dentes após desgaste do terço coronário oclusal em politriz (Politriz, Beta, Buehler, Lake Bluff, IL, EUA) com lixa de carbetto de silício de granulação 320 e irrigação constante com água. O desgaste foi realizado até que nenhuma área contendo esmalte fosse observada em estereomicroscópico (Modelo SZX7, Olympus, São Paulo, Brasil).

Sobre a superfície de dentina foi confeccionada uma canaleta rasa com auxílio de um disco diamantado de 0,15 mm de espessura em cortadeira metalográfica (ISOMET 1000, Buehler, Lake Bluff, IL, EUA) sob refrigeração constante, no sentido vestibulo-lingual, de tal forma a dividir essa superfície em duas metades, mesial e distal. Após profilaxia com pedra pomes em água e lavagem abundante, cada metade da superfície foi aleatoriamente selecionada e condicionada com ácido fosfórico à 35% (Scotchbond Etchant, 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA) por 15 s ou 5 s, seguida de lavagem abundante com água por 10 s e secagem com filtro de papel para a manutenção da superfície úmida. O condicionamento foi iniciado em uma das porções oclusais pelo tempo maior, sendo que, completados 8 s, o ácido foi também aplicado na outra porção.

Os dentes foram divididos aleatoriamente em 2 grupos (n=4) de acordo com o sistema adesivo aplicado (Tabela 1), Prime&Bond NT (Dentsply De Trey, Konstanz, Alemanha) ou Prime&Bond 2.1 (Dentsply Caulk, Milford, EUA). Ambos foram aplicados de acordo com as recomendações dos fabricantes. Dessa forma, uma camada inicial de adesivo foi aplicada para ambos os sistemas, a qual foi submetida a um leve jato de ar (5 s a 10 cm de distância) para a evaporação do solvente. Para o sistema Prime&Bond 2.1, uma segunda camada foi imediatamente depositada sobre a primeira e fotoativada por 10 segundos, enquanto que para o sistema Prime&Bond NT esta segunda camada foi aplicada apenas após 20 s da aplicação da primeira camada. Em seguida, o adesivo foi também fotoativado por 10 s. Ao final da aplicação dos adesivos, a superfície dentinária foi

cuidadosamente inspecionada quanto ao seu aspecto, o qual deveria ser brilhante e homogêneo.

Para cada sistema adesivo, quatro novas camadas foram aplicadas e fotoativadas ao final da aplicação da última, para garantir que a espessura do adesivo fosse suficiente para posterior preparo dos dentes para análise em microscopia de luz. Todos os procedimentos envolvendo fotoativação foram realizados com o mesmo aparelho Optilux 500 (Kerr, Danbury, CT, EUA), cuja irradiância foi avaliada com auxílio de um radiômetro (450 ± 10 mW/cm², Model 100, Optilux Radiometer, Kerr, Danbury, CT, EUA).

Preparo dos Espécimes para Microscopia de Luz

As raízes dos pré-molares foram removidas e os dentes seccionados em máquina de corte equipada com disco diamantado (ISOMET 1000, Buheler Ltd., Lake Bluff, IL, EUA), sob refrigeração constante, peso de 250 kgf e velocidade de 400 rpm. Os primeiros cortes foram realizados no sentido mesio-distal, perpendicularmente a canaleta e 2 mm distantes entre eles. Em seguida, um corte paralelo a superfície de dentina foi realizado a 2 mm de distância dessa superfície, no sentido da união esmalte-cimento. As dimensões finais dos espécimes (2 por dente) foram de 2 mm de espessura, 2 mm de largura e aproximadamente 6 mm de comprimento. Esses espécimes foram imersos em formol a 10% por 48 h, desmineralizados em solução de Morse 10% sem agitação por 48 h, lavados em água corrente por 24 h, neutralizados em solução de sulfato de sódio 5% por 24 h, lavados por 24 h em água corrente, desidratados em uma série de etanol com

concentrações crescentes (70 a 100%), seguida em imersão em xilol por 3 min em cada solução e finalmente embebidos em parafina para a obtenção de cortes sequenciais com 5 µm de espessura, os quais foram corados com Tricrômico de Goldner (Wang e Spencer, 2004).

Análise em Microscopia de Luz

Os cortes histológicos analisados foram selecionados aleatoriamente de tal forma que apenas um corte foi considerado para cada espécime. As lâminas foram analisadas em microscópio de luz (DXSL Olympus, São Paulo, Brasil) e imagens foram capturadas (Camedia SP60, Olympus, São Paulo, Brasil) em formato digital com 400x de aumento.

A espessura da camada de colágeno exposta na base da camada híbrida foi mensurada diretamente nas fotomicrografias em cinco áreas definidas, com auxílio do software Image Tool 3.0 (Department of Dental Diagnostic Science at The University of Texas Health Science Center, San Antonio, Texas). Essa mensuração foi realizada 2 vezes com intervalo de 7 dias entre cada leitura, por um único examinador previamente calibrado. A média dos valores obtidos foi utilizada para análise dos dados, sendo que cada espécime foi considerado como unidade experimental.

Análise Estatística

A reprodutibilidade intra-examinador foi determinada pela aplicação da análise de correlação de Pearson. Os dados numéricos referentes a espessura da

camada de colágeno não infiltrada na base da camada híbrida foram submetidos ao teste estatístico de análise de variância (ANOVA) a três critérios fixos, tempo de condicionamento (2 níveis), sistema adesivo (2 níveis) e tipo de substrato (2 níveis) e teste complementar de Tukey. Todos os testes estatísticos foram considerados ao nível de significância de 5%.

RESULTADOS

Os dados referentes a espessura da zona de colágeno exposta na união adesivo-dentina produzida em função das variáveis do estudo estão apresentados na Tabela 2. A concordância intra-examinador obtida pela aplicação da correlação de Pearson foi de 0,88. Apenas os fatores primários “substrato” e “tempo de condicionamento” exerceram efeito estatisticamente significativo sobre esses valores ($p < 0,05$). Conseqüentemente, tanto o fator “adesivo”, assim como todas as possíveis interações entre os fatores de variação do estudo foram não significantes ($p > 0,05$).

Para o mesmo substrato, aumento da espessura da zona de colágeno exposta na união foi observado em função do aumento do tempo de condicionamento ácido de 5 s para 15 s. Entretanto, essa diferença foi estatisticamente significativa apenas quando o sistema adesivo Prime&Bond 2.1 foi aplicado. Da mesma forma, comparando-se o mesmo tempo de condicionamento, uma tendência a maiores valores foi observada para a dentina de dentes decíduos em comparação a dentina de dentes permanentes, embora significância estatística tenha sido atingida apenas para o sistema adesivo

Prime&Bond 2.1. Assim sendo, para esse sistema, houve maior exposição de fibrilas de colágeno na dentina de dentes decíduos condicionada por 5 s em comparação a dentina de dentes permanentes condicionada pelo mesmo tempo. O mesmo raciocínio não se aplica para o tempo de condicionamento de 15 s uma vez que ausência de diferença estatística foi observada entre dentes decíduos e permanentes condicionados por esse tempo.

Interfaces produzidas pelo sistema Prime&Bond 2.1 podem ser visualizadas na Figura 1. Infiltração incompleta da dentina desmineralizada foi observada para todos os espécimes, independente do substrato ou tempo de condicionamento ácido, evidenciada pela presença de fibrilas de colágeno disponíveis para reação com o tricrômico (coradas em vermelho).

DISCUSSÃO

A qualidade da união resina-dentina é um fator crítico para o sucesso de restaurações adesivas.³⁸ Idealmente, após o condicionamento ácido da dentina, toda a zona desmineralizada deveria ser infiltrada por monômeros resinosos no processo de formação da camada híbrida, promovendo o selamento efetivo deste substrato. Porém, estudos tem demonstrado que isto não ocorre, permanecendo assim, colágeno exposto na base da zona hibridizada,^{14,39} susceptível a degradação hidrolítica e enzimática.^{6,10,21}

A microscopia de luz, associada a coloração com Tricrômico de Goldner, tem sido utilizada para detecção de fibrilas de colágeno expostas na união resina-dentina. Esta técnica foi validada por vários estudos,^{9,30,31,34,37,38} nos quais foi

demonstrado que o colágeno não completamente protegido por adesivo, após a remoção do conteúdo inorgânico que o envolvia, fica disponível para reagir com o corante e ser facilmente identificado nas lâminas por sua coloração vermelha, tornando assim possível a mensuração da zona de colágeno exposta na base da camada híbrida.

No presente estudo, foi observado aumento da espessura da zona de colágeno exposto em função do tempo de condicionamento ácido, concordando com os resultados encontrados por Wang e Spencer,³¹ onde os autores concluíram que a espessura da zona de colágeno exposta na base da camada híbrida estava diretamente relacionada ao tempo de condicionamento. Os mesmos autores também observaram que a desmineralização da dentina permanente após a aplicação de ácido fosfórico 35% foi 2 vezes mais profunda quando o ácido foi mantido em contato com a dentina por 15 s comparado com 10 s. Este fato demonstra que apesar da capacidade tampão da dentina,⁵ há maior dissolução desse substrato quando o tempo de condicionamento é estendido. Inversamente, a redução do tempo de condicionamento ácido restringe a extensão da desmineralização, contribuindo para a melhor infiltração da área desmineralizada.¹⁹ Adicionalmente, foi demonstrado que superfícies de dentina mais rugosas foram produzidas quando houve redução do tempo de condicionamento ácido de 15 s para 7 s, resultando em maior área de superfície para interação com o sistema adesivo e consequente melhora na resistência de união a dentina.¹⁹

A despeito da redução do tempo de condicionamento ácido, no presente estudo, fibrilas de colágeno ainda permaneceram expostas na união adesiva (Figura 1), demonstrando que a extensão de desmineralização da dentina não é o único fator que influencia a infiltração monomérica. Outros fatores como peso molecular e hidrofília dos constituintes do sistema adesivo, condição de umidade do substrato e fatores relacionados a técnica de aplicação do adesivo também podem exercer papel relevante no processo de estabelecimento da união resina-dentina.

Agravamento da discrepância entre desmineralização dentinária e infiltração monomérica foi observado para o sistema Prime&Bond 2.1 em função do aumento do tempo de condicionamento ácido. Apesar da presença de partículas de carga na formulação do sistema Prime&Bond NT, o que pode sugerir maior dificuldade de infiltração da dentina desmineralizada, o mesmo foi menos influenciado pela variação do tempo de condicionamento ácido do que o sistema Prime&Bond 2.1. Isso pode ser explicado pelo fato da difusão dinâmica do adesivo para o interior da rede de colágeno ser tempo-dependente.⁸ Segundo as orientações do fabricante, após a aplicação e evaporação do solvente, o Prime&Bond 2.1 é imediatamente fotoativado, enquanto que o sistema Prime&Bond NT deve permanecer em repouso por 20 s sobre a superfície dentinária antes da aplicação da luz. Portanto, pode ser sugerido que o tempo decorrido entre a aplicação do sistema adesivo e sua subsequente fotoativação influencia diretamente sua difusão nos espaços interfibrilares produzidos pelo

condicionamento ácido. Estudos futuros, entretanto, ainda são necessários para evidenciar cientificamente tal suposição.

Maiores valores de espessura da zona de colágeno exposto foram observados para os dentes decíduos em comparação aos permanentes, quando estes substratos foram submetidos ao mesmo tempo de condicionamento ácido. Esses resultados podem ser explicados com base nas diferenças estruturais e morfológicas existentes entre a dentina de dentes decíduos e permanentes.^{2,12,29,32} Tem sido demonstrado que, independentemente da duração do condicionamento ácido, a dentina de dentes decíduos é menos resistente ao efeito desmineralizador do ácido do que a dentina de dentes permanentes (Scheffel et al., dados não publicados). A dentina decídua apresenta um maior número de túbulos dentinários por unidade de área do que a dentina permanente,³² além de ser mais porosa na região intertubular.^{12,32} Uma vez que túbulos dentinários são considerados vias preferenciais de difusão do ácido nos primeiros segundos seguidos a sua aplicação,^{27,36} a desmineralização da dentina decídua também pode ser mais rápida do que a da dentina permanente (Scheffel et al., dados não publicados). Adicionalmente, a dentina de dentes decíduos apresenta menor conteúdo mineral^{1,2,4} e aumento da concentração de carbonato²⁹ quando comparada a dentina de dentes permanentes. Essas características conferem a esse substrato maior solubilidade e menor capacidade de tamponamento e, como consequência, maior reatividade a agentes ácidos, resultando em maior desmineralização quando condicionada pelo mesmo tempo de condicionamento utilizado em dentes permanentes.^{17,26}

A redução do tempo de condicionamento ácido é um procedimento clínico de fácil controle o qual pode minimizar a discrepância entre a profundidade de desmineralização da dentina e sua subsequente infiltração por constituintes do sistema adesivo, afetando de forma positiva a qualidade da interface adesiva.^{3,10,11,22} Entretanto, ainda existe a preocupação de que períodos muito curtos de condicionamento ácido não sejam suficientes para a completa dissolução da *smear layer* e efetiva desmineralização da dentina subjacente,³⁸ associada ao fato de que os resultados favoráveis obtidos com reduzidos tempos de condicionamento, terem sido produzidos sobre a dentina hígida.^{19,22} Portanto, investigações futuras deveriam avaliar a influência da redução do tempo de condicionamento ácido sobre a resistência de união a dentina afetada por cárie, uma vez que este substrato é frequentemente utilizado para adesão.

CONCLUSÃO

O aumento do tempo de condicionamento ácido favoreceu a permanência de colágeno exposto na interface adesivo-dentina em função do tipo de sistema adesivo utilizado. Maior exposição de colágeno foi observada em dentes decíduos quando comparados aos permanentes quando a dentina foi condicionada por 5 s.

RELEVÂNCIA CLÍNICA

A exposição de fibrilas de colágeno na união resina-dentina ocorre, dentre outros fatores, pela incompleta impregnação da dentina desmineralizada pelo adesivo. A diminuição da profundidade de desmineralização por meio da redução

do tempo de condicionamento ácido, pode minimizar a quantidade de colágeno exposto na base da camada híbrida e favorecer a longevidade da união resina-dentina.

AGRADECIMENTOS

Este estudo foi apoiado pela Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP (processos 2008/02278-8 e 2009/07924-8). Os autores reconhecem a valiosa colaboração da Prof^a. Dr^a. Mariane Emi Sanabe e da Sra. Juliana Pirolla, técnica responsável pelo laboratório de Patologia Experimental e Biomateriais da Faculdade de Odontologia de Araraquara, UNESP – Univ. Estadual Paulista.

REFERÊNCIAS

1. Angker L, Swain MV, Kilpatrick N. Micro-mechanical characterization of the properties of primary tooth dentine. *J Dent* 2003;31:261-267.
2. Angker L, Nockolds C, Swain MV, Kilpatrick N. Quantitative analysis of the mineral content of sound and carious primary dentine using BSE imaging. *Arch Oral Biol* 2004;49:99-107.

3. Bolaños-Carmona V, González-López S, Briones-Luján T, de Haro-Muñoz C, de la Macorra JC. Effect of etching time of primary dentin on interface morphology and microtensile bond strength. *Dent Mater* 2006;22:1121-1129.
4. Borges AFS, Bitar RA, Kantovitz KR, Correr AB, Martin AA, Puppim-Rontani RM. New perspectives about molecular arrangement of primary and permanent dentin. *Appl Surf Sci* 2007;254:1498-1505.
5. Camps J, Pashley DH. Buffering action of human dentin in vitro. *J Adhes Dent* 2000;2:39-50.
6. Carrilho MR, Tay FR, Donnelly AM, Agee KA, Tjäderhane L, Mazzoni A, et al. Host-derived loss of dentin matrix stiffness associated with solubilization of collagen. *J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater* 2009;90:373-380.
7. De Munk J, Van Meerbeek B, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Suzuki K et al. Four-year water degradation of total-etch adhesives bonded to dentin. *J Dent Res* 2003;82:136-140.
8. Eliades G, Vougiouklakis G, Palaghias G. Heterogeneous distribution of single bottle adhesive monomers in the resin-dentin interdiffusion zone. *Dent Mater* 2001;17:277-283.

9. Guo X, Spencer P, Wang Y, Ye Q, Yao X, Williams K. Effects of a solubility enhancer on penetration of hydrophobic component in model adhesives into wet demineralized dentin. *Dent Mater* 2007;23:1473-1481.
10. Hashimoto M, Ohno H, Endo K, Kaga M, Sano H, Oguchi H. The effect of hybrid layer thickness on bond strength: demineralized dentin zone of the hybrid layer. *Dent Mater* 2000;16:406-411.
11. Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Sano H, Tay FR, Oguchi H, et al. Over-etching effects on micro-tensile bond strength and failure patterns for two dentin bonding systems. *J Dent* 2002;30:99-105.
12. Hirayama M, Yamada M, Miake K. An electron microscope study on dentinal tubules of human deciduous teeth. *Shikwa Gakuho* 1992;86:1021-1031.
13. Nakabayashi N, Kojima K, Masuhara E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. *J Biomed Mater Res* 1982;16:265-273.
14. Nakabayashi N, Watanabe A, Arao T. A tensile test to facilitate identification of defects in resin-bonded dentin specimens. *J Dent* 1998;26:379-385.

15. 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;74:1679-1688.

16. Nakajima M, Ogata M, Okuda M, Tagami J, Sano H, Pashley DH. Bonding to caries-affected dentin using a self-etching primer. *Am J Dent* 1999;12:309-314.

17. Nör JE, Feigal RJ, Dennison JB, Edwards CA. Dentin bonding: SEM comparison of the resin-dentin interface in primary and permanent teeth. *J Dent Res* 1996;75:1396-1403.

18. Nör JE, Feigal RJ, Dennison JB, Edwards CA. Dentin bonding: SEM comparison of the dentin surface in primary and permanent teeth. *Pediatr Dent* 1997;19:246-252.

19. Osorio R, Aguilera FS, Otero PR, Romero M, Osorio E, Garcia-Godoy F, Toledano M. Primary dentin etching time, bond strength and ultra-structure characterization of dentin surfaces. *J Dent* 2010;38:222-231.

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

21. Pashley DH, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho RM, Ito S. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *J Dent Res* 2004;83:216-221.
22. Pioch T, Stotz S, Buff E, Duschner H, Staehle HJ. Influence of different etching times on hybrid layer formation and tensile bond strength. *Am J Dent* 1998;11: 202-206.
23. Reis AF, Giannini M, Pereira PNR. Effects of a peripheral enamel bond on the long term effectiveness of dentin bonding agents exposed to water in vitro. *J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater* 2008;85B:10-17.
24. Sanabe ME, Kantovitz KR, de Souza Costa CA, Hebling J. Effect of acid etching time on the degradation of resin-dentin bonds in primary teeth. *Am J Dent* 2009;22:37-42.
25. Sano H, Yoshiyama M, Ebisu S, Burrow MF, Takatsu T, Ciucchi B, et al. Comparative SEM and TEM observations of nanoleakage within the hybrid layer. *Oper Dent* 1995;20:160-167.
26. Sardella TN, Castro FLA, Sanabe ME, Hebling J. Shortening of primary dentin etching time and its implication on bond strength. *J Dent* 2005; 33:355-362.

27. Selvig KA. Ultrastructural changes in human dentine exposed to a weak acid. *Arch Oral Biol* 1968;13:719-734.

28. Shashikiran ND, Gunda S, Subba Reddy VV. Comparison of resin-dentine interface in primary and permanent teeth for three different durations of dentine etching. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 2002;20:124-131.

29. Sønju Clasen AB, Ruyter IE. Quantitative determination of type A and type B carbonate in human deciduous and permanent enamel by means of Fourier transform infrared spectrometry. *Adv Dent Res* 1997;11:523-527.

30. Spencer P, Wang Y, Katz JL. Identification of collagen encapsulation at the dentin/adhesive interface. *J Adhes Dent* 2004;6:91-95.

31. Spencer P, Wang Y, Walker MP, Wieliczka DM, Swafford JR. Interfacial chemistry of the dentin/adhesive bond. *J Dent Res* 2000;79:1458-1463.

32. Sumikawa DA, Marshall GW, Gee L, Marshall SJ. Microstructure of primary tooth dentin. *Pediatr Dent* 1999;21:439-444.

33. Van Meerbeek B, De Munck J, Ypshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, et al. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent* 2003;28:215-235.
34. Wang Y, Spencer P, Hager C, Bohaty B. Comparison of interfacial characteristics of adhesive bonding to superficial versus deep dentine using SEM and staining techniques. *J Dent* 2006;34:26-34.
35. Wang Y, Spencer P. Quantifying adhesive penetration in adhesive/dentin interface using confocal Raman microspectroscopy. *J Biomed Mater Res* 2002;59:46-55.
36. Wang Y, Spencer P. Hybridization efficiency of the adhesive/dentin interface with wet bonding. *J Dent Res* 2003;82:141-145.
37. Wang Y, Spencer P. Effect of acid etching time and technique on interfacial characteristics of the adhesive-dentin bond using differential staining. *Eur J Oral Sci* 2004;112:293-299.
38. Wieliczka DM, Kruger MB, Spencer P. Raman imaging of dental adhesive diffusion. *Appl Spectrosc* 1997;51:1593-1596.

39. Yoshiyama M, Tay FR, Doi J, Nishitani Y, Yamada T, Ito K, et al.. Bonding of self-etch and total-etch adhesives to carious dentin. J Dent Res 2002;81:556-560.

Tabela 1. Nome comercial (fabricante), classificação e composição (principais componentes) dos sistemas adesivos

Nome comercial	Classificação	Principais componentes
Prime & Bond NT (Dentsply De Trey, Konstanz, Alemanha)	Convencional simplificado	Resinas di- e trimetacrilato, sílica amorfa, PENTA (dipentaerythritol penta acrylate monophosphate), fotoiniciadores, estabilizadores, cetilamina hidrofluorada e acetona
Prime & Bond 2.1 (Dentsply Caulk, Milford, EUA)	Convencional simplificado	Resinas di- e trimetacrilato, PENTA, hidroxitolueno butilato, 4 etildimetil amino benzoato, fotoiniciadores, cetilamina hidrofluorada e acetona

Tabela 2. Espessura (μm) da zona de colágeno exposta na união adesivo-dentina produzida em dentes decíduos e permanentes em função do tempo de condicionamento ácido.

Adesivo	Substrato			
	Dentina decídua		Dentina permanente	
	5 s	15 s	5 s	15 s
Prime&Bond NT	1,99 (0,66)* A ab	2,18 (0,31) A b	1,49 (0,16) A a	2,03 (0,53) A ab
Prime& Bond 2.1	1,82 (0,41) A b	2,33 (0,31) A c	1,33 (0,26) A a	1,96 (0,39) A bc

* valores representam média (desvio-padrão), n=8

^a letras maiúsculas permitem comparação nas colunas enquanto que letras minúsculas permitem comparação nas linhas. Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente (Tukey, $p>0,05$)

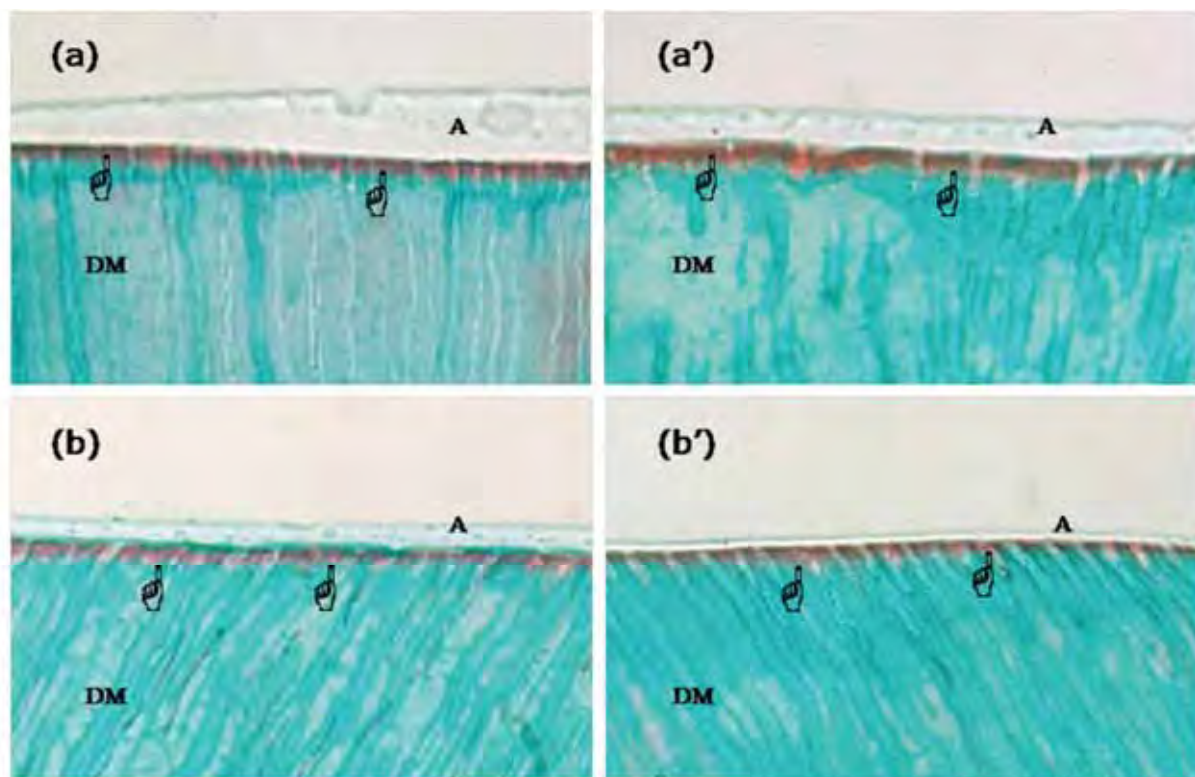


Figura 1. União adesivo-dentina produzida pelo sistema Prime & Bond 2.1 aplicado sobre a (a) dentina de dente decíduo condicionada por 5 s; (a') dentina de dente decíduo condicionada por 15 s; (b) dentina de dente permanente condicionada por 5 s; e (b') dentina de dente permanente condicionada por 15 s. Bege = sistema adesivo (A); verde = dentina mineralizada (DM); vermelho: colágeno exposto (♣). Tricrômico de Goldner, x400.

Estudo III

**INFLUÊNCIA DO TEMPO DE CONDICIONAMENTO ÁCIDO
NA RESISTÊNCIA DA UNIÃO RESINA-DENTINA HÍGIDA E
AFETADA POR CÁRIE DE DENTES DECÍDUOS E
PERMANENTES**



**INFLUÊNCIA DO TEMPO DE CONDICIONAMENTO ÁCIDO NA
RESISTÊNCIA DA UNIÃO RESINA-DENTINA HÍGIDA E AFETADA
POR CÁRIE DE DENTES DECÍDUOS E PERMANENTES**

Título reduzido: Efeito do tempo de condicionamento na resistência da união resina-dentina afetada por cárie

Débora LS Scheffel¹, Hérica A Ricci², Carlos A de Souza Costa³, Josimeri Hebling⁴

¹Mestranda em Odontopediatria, Departamento de Clínica Infantil. Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP, Araraquara, Brasil.

²Mestre e Doutoranda em Odontopediatria, Departamento de Clínica Infantil. Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP, Araraquara, Brasil.

³Professor Adjunto, Departamento de Fisiologia e Patologia. Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP, Araraquara, Brasil.

⁴Professor Adjunto, Departamento de Clínica Infantil. Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP, Araraquara, Brasil.

Autor Correspondente:

Profa. Dra. Josimeri Hebling,

UNESP – Univ. Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de Araraquara

Departamento de Clínica Infantil

Rua Humaitá, 1680 Araraquara, São Paulo, Brasil CEP: 14801-903

e-mail: jhebling@foar.unesp.br

RESUMO

Objetivo: Avaliar o efeito do tempo de condicionamento ácido da dentina de dentes decíduos e permanentes, hígida e afetada por cárie, na resistência de união imediata de um sistema adesivo. **Materiais e Método:** Superfícies planas em dentina foram produzidas em dentes decíduos (n=24) e permanentes (n=24) hígidos, das quais metade foi artificialmente cariada. Sobre a dentina afetada por cárie ou sobre a dentina hígida, foi aplicado o sistema adesivo Prime&Bond NT após o condicionamento com ácido fosfórico por 5 s, 10 s ou 15 s. Em seguida, as coroas dentárias foram reconstruídas em resina e espécimes (0,81 mm²) foram produzidos para o ensaio mecânico de microtração. Os dados de resistência de união (RU) foram submetidos aos testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney ($\alpha=0,05$). **Resultados:** Maiores valores de RU foram obtidos para a dentina hígida em comparação a dentina afetada por cárie, enquanto valores equivalentes foram observados entre dentes decíduos e permanentes. A redução do tempo de condicionamento ácido não afetou os valores de RU produzidos com a dentina de dentes decíduos, hígida ou afetada por cárie, ou com a dentina afetada por cárie de dentes permanentes. Entretanto, valores estatisticamente inferiores foram observados quando a dentina permanente hígida foi condicionada por 5 s. **Conclusão:** O condicionamento ácido da dentina por apenas 5 s pode ser recomendado para dentes decíduos, enquanto o tempo de 10 s seria mais adequado para dentes permanentes, considerando-se que dentina hígida e afetada por cárie coexistem na grande maioria dos preparos cavitários.

Palavras-chave: ataque ácido dentário; cárie dentária; adesivos dentinários; dentina; resistência à tração

INTRODUÇÃO

A condição biológica do substrato afeta diretamente o desempenho da união resina-dentina. Tem sido demonstrado que a adesão a dentina afetada por cárie é inferior a adesão estabelecida em dentina hígida^{4,16,21,22,45,46} devido a características próprias desse substrato. A dentina afetada por cárie apresenta menor conteúdo mineral na dentina intertubular e maior número de porosidades quando comparada a dentina hígida.^{21,42,46,47} Essas porosidades favorecem a difusão do condicionador ácido ao mesmo tempo em que o menor conteúdo mineral reduz a capacidade de tamponamento exercida pelo tecido,⁴³ resultando em uma zona de dentina desmineralizada mais profunda.^{12,43} Adicionalmente, a obliteração dos túbulos dentinários pela deposição de dentina intratubular limita a infiltração monomérica e a subsequente formação dos *tags* de resina,^{20,45,46} estruturas essas responsáveis, juntamente com a camada híbrida, pela retenção micromecânica dos materiais poliméricos a dentina.

Diferenças de estrutura e composição também existem entre a dentina de dentes decíduos e permanentes, as quais podem interferir no desempenho da interface adesiva.^{25,30} A dentina de dentes decíduos quando comparada à de dentes permanentes apresenta menor área de dentina intertubular devido ao maior número de túbulos dentinários,³⁵ espessura de dentina peritubular de 2 a 5 vezes maior,¹⁵ menor conteúdo mineral^{2,3,6} e maior concentração de carbonato.³⁶ Essas características tem sido consideradas responsáveis pela maior reatividade a ácidos, e conseqüentemente, maior desmineralização observada para a dentina decídua quando submetida ao mesmo tempo de condicionamento utilizado em dentes

permanentes.^{23,30} A despeito dessas evidências, os mesmos protocolos adesivos são recomendados pelos fabricantes de sistemas adesivos para a dentina de dentes decíduos e permanentes.

A maior profundidade de desmineralização observada para a dentina afetada por cárie e para a dentina de dentes decíduos dificulta a subsequente impregnação dessa zona por monômeros resinosos. A profundidade de desmineralização da dentina também pode, além da qualidade do substrato, ser influenciada pela composição, concentração e forma de aplicação do condicionador dentinário^{5,13,27,38,41} incluindo o seu tempo de permanência em contato com o substrato. Tempos mais longos de condicionamento resultam em zonas mais profundas de desmineralização da dentina.²⁵ Entretanto, em condições clínicas, a profundidade de desmineralização da dentina excede a capacidade de infiltração dos monômeros devido a ação conjunta de fatores como gradiente de difusão, hidrofília e tamanho molecular.¹⁰ Como resultado, as camadas híbridas formadas são estruturalmente imperfeitas, contendo porosidades^{27,41} e áreas predominantemente hidrófilas, além de uma zona desmineralizada desprovida de reforço em sua base,^{13,19,35,39} considerada a zona mais fraca da interface adesiva.^{9,13}

A possibilidade de redução do tempo de condicionamento ácido para a dentina hígida de dentes decíduos sem o comprometimento do desempenho adesivo da interface tem sido demonstrada em alguns estudos.^{25,29,30,32} Mesmo para a dentina de dentes permanentes, a utilização de tempos inferiores aos 15 segundos atualmente recomendados parece não exercer efeitos adversos sobre a

resistência de união a esse substrato.^{1,41} Entretanto, não existem até o momento evidências científicas demonstrando o efeito da redução do tempo de condicionamento ácido na união de sistemas adesivos a dentina afetada pelo processo de cárie, a qual representa o substrato dentinário mais prevalente durante os procedimentos restauradores adesivos. Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi investigar o efeito do tempo de condicionamento ácido da dentina de dentes decíduos e permanentes, hígida e afetada por cárie, na resistência de união imediata de um sistema adesivo.

MATERIAIS E MÉTODOS

Quarenta e oito dentes humanos hígidos, sendo 24 segundos molares decíduos e 24 pré-molares, foram utilizados para este experimento após sua aprovação pelo Comitê de Ética da Faculdade de Odontologia de Araraquara (protocolo #15/08). Para minimizar diferenças relacionadas ao grau de mineralização pós-eruptiva, apenas foram incluídos no estudo dentes pré-molares que estavam em função na cavidade bucal por no mínimo 3 anos.

Obtenção da superfície de dentina

Como os dentes decíduos apresentavam estágio avançado de rizólise, o terço radicular cervical foi reconstruído em resina composta (Filtek Z350, 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA) para facilitar o manuseio desses dentes durante o experimento. Também, os ápices radiculares dos pré-molares foram selados com a mesma resina. Em seguida, o terço oclusal da coroa de todos os dentes foi

desgastado em politriz metalográfica (Politriz, Modelo Beta, Buehler, Lake Bluff, IL, EUA) com lixa de carbeto de silício de granulação 320 e sob irrigação constante, até a obtenção de uma superfície plana em dentina. A completa remoção do esmalte foi confirmada em lupa estereoscópica (Modelo SZX7, Olympus, São Paulo, Brasil). Nos dentes pertencentes ao grupo controle (dentina hígida), um desgaste adicional (*ca.* 0,5 mm) foi realizado para compensar a posterior remoção da dentina cariada realizada nos dentes submetidos ao protocolo de produção de cárie descrito a seguir, com o objetivo de minimizar diferenças relacionadas a profundidade da dentina utilizada para os procedimentos adesivos.

Produção da lesão artificial de cárie na superfície dentinária

Dos 24 dentes selecionados para cada categoria, ou seja, decíduos e permanentes, doze foram submetidos ao protocolo de indução artificial de cárie. Os dentes selecionados foram impermeabilizados com a aplicação de uma camada de adesivo epóxi de uso doméstico/profissional (ARALDITE, Ciba Especialidades Químicas Ltda., SP, Brasil) seguida de uma camada de verniz ácido resistente (Colorama, CEIL Com. Exp. Ind. Ltda, SP, Brasil), com exceção da superfície de dentina. Os dentes, em grupos de oito, foram então imersos em 300 mL de água destilada depositados em um béquer e o conjunto foi esterilizado em autoclave a 120°C, 1 kgf/cm², por 20 minutos.

Repicagem de Streptococcus mutans

Cepas de *Streptococcus mutans* ATCC25175 (Coleção de Culturas Tropical Fundação André Toselo) foram mantidas congeladas até o momento de sua utilização, as quais foram doadas pelo Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP para a execução desta fase experimental. Trabalhando-se próximo à chama, foi realizada a repicagem dos microrganismos com duas alçadas, removendo-os do tubo de armazenagem da cultura pura e inserindo-os em tubos de ensaio contendo 5 mL de meio BHI caldo esterilizado (*Brain Heart Infusion*, Brain Heart Infusion, Becton Dickinson and Company, Sparks, MD, EUA). Após a agitação dos tubos por alguns segundos, os mesmos foram mantidos a 37°C por 24 horas em estufa bacteriológica (Estufa de Cultura FANEM Ltda. São Paulo, Brasil), em condições de microaerofilia, utilizando-se jarras de anaerobiose com fechamento hermético.

Preparo do meio cariogênico e protocolo de indução de cárie artificial

O meio cariogênico empregado para a indução artificial de cárie dentinária era composto de uma solução para crescimento bacteriano contendo 100 mL de água destilada, 3,7 g de BHI, 1 g de glicose (D-Glucose Anidra, Synth; LabSynth, São Paulo, SP, Brasil), 2 g de sacarose (Cristalçúcar União, Cia União, São Paulo - Brasil) e 0,5 g de extrato de levedura (Becton Dickinson and Company, Sparks, MD, EUA). Após esterilização em autoclave a 120°C durante 20 minutos e resfriamento, os dentes foram transferidos do béquer contendo água destilada para um béquer contendo o meio cariogênico (25 mL/dente) ao qual

foram inoculados 2% do meio de cultura BHI caldo contendo *S. mutans* (100 µL). Finalmente, o béquer contendo os dentes imersos no meio cariogênico inoculado foi colocado em jarra de anaerobiose para crescimento em condições de microaerofilia e levado à estufa a 37°C.

O período total de contato da dentina com o meio cariogênico foi de 14 dias, sendo que a cada 48 horas, o meio cariogênico era trocado por um recém preparado. Concluído o protocolo de indução de cárie, o biofilme formado sobre os dentes foi removido com gazes esterilizadas e os materiais impermeabilizantes com auxílio de um bisturi, seguido de lavagem abundante em água corrente. A dentina, ao final do processo, apresentava-se ligeiramente escurecida, amolecida ao toque com sonda exploradora, podendo ser retirada em lascas com auxílio de uma cureta.

Remoção da dentina cariada

A remoção da dentina cariada foi realizada por um único operador previamente treinado. As superfícies foram manualmente desgastadas em lixas de carbetto de silício de granulação 320 até a remoção completa da dentina infectada e a obtenção de uma superfície resistente ao toque com uma sonda exploradora aplicada com leve pressão (dentina afetada). Em seguida, os dentes foram abundantemente lavados em água corrente.

Os dentes mantidos hígidos também foram submetidos a etapa de esterilização em autoclave e ao desgaste da superfície de dentina com lixas 320

manualmente por 30 s para que a *smear layer* fosse produzida com o mesmo tipo de instrumento utilizado para os dentes cariados.

Procedimentos adesivos

Sobre a dentina afetada por cárie ou sobre a dentina hígida foi realizado o condicionamento com ácido fosfórico 35% (Scotchbond Etchant, 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA), durante 15, 10 ou 5 s (n=4 para cada tipo de dente e substrato), seguido de lavagem abundante com água destilada por 10 segundos e secagem com papel absorvente para a obtenção de uma superfície úmida. Uma primeira camada do sistema Prime & Bond NT (Dentsply De Trey, Konstanz, Alemanha) foi aplicada sobre toda a superfície e mantida passivamente (sem agitação) por 20 segundos. Em seguida, o adesivo foi submetido a leves jatos de ar (5 segundos a uma distância de 10 cm) para evaporação do solvente antes da aplicação de uma segunda camada que foi logo em seguida submetida a jatos de ar e fotoativada por 10 s.

Finalizada a aplicação do sistema adesivo, foi confeccionada a restauração de resina composta (Filtek Z350, 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA) cor A 3,5. Três incrementos de 1 mm cada foram aplicados e fotoativados individualmente. Os dentes foram então armazenados por 24 horas em água destilada à 37°C. Todos os procedimentos envolvendo fotoativação foram realizados com o mesmo aparelho Optilux 500 (Kerr, Danbury, CT, EUA), cuja irradiância foi avaliada com auxílio de um radiômetro (450 ± 10 mW/cm², Model 100, Optilux Radiometer, Kerr, Danbury, CT, EUA).

Obtenção dos espécimes para o ensaio mecânico de microtração

Cada dente restaurado foi fixado em base de madeira com auxílio de godiva de baixa fusão e levado a cortadeira metalográfica (ISOMET 1000, Buehler Ltd, Lake Bluff, IL, EUA) para ser seccionado transversalmente na altura do primeiro terço radicular com disco de diamante de 0,15 mm de espessura (Diamond Wafering Blade, Buehler Ltd, Lake Bluff, IL, EUA), sob constante irrigação, peso de 200 gf e velocidade de 300 rpm. Em seguida, a porção coronária foi posicionada na máquina de tal forma que a interface adesiva ficasse perpendicular a face de corte do disco diamantado. Cortes seriados com 0,9 mm de espessura foram realizados, iniciando-se junto a uma das faces proximais até a face oposta. Após rotação do dente em 90°, uma nova série de cortes foi feita, também com 0,9 mm de espessura. Ao final, os espécimes em forma de paralelogramos (palitos) com área transversal de secção de aproximadamente 0,81 mm² foram separados da porção radicular do dente com um corte transversal realizado aproximadamente 2 mm abaixo da junção amelo-cementária.

Todos os espécimes foram inspecionados em lupa estereoscópica com aproximadamente 30 vezes de aumento. Aqueles que apresentaram defeitos como bolhas ou irregularidades nas proximidades da união resina-dentina foram excluídos da amostra. Os espécimes selecionados tiveram sua área adesiva individualmente mensurada com paquímetro digital (Mod. 500- 144b, Mytutoyo Sul Americana Ltda., SP, BR) com resolução de 0,01 mm.

Ensaio Mecânico de Microtração

O ensaio mecânico de microtração foi realizado em máquina de ensaios mecânicos (DL-Digital Line, EMIC, Paraná, Brasil) ajustada para forças de tração com célula de carga de capacidade máxima de 1 KN. Os espécimes foram individualmente fixados a um dispositivo metálico com adesivo de cianoacrilato associado a um acelerador à base de cianoacrilato (Super Bonder Gel e Ativador 7456, Henkel Loctite Ltda, São Paulo, Brasil). Este dispositivo metálico foi adaptado à máquina de ensaios mecânicos para o teste de microtração, que atuou com velocidade de 1,0 mm/min. Os movimentos de tração foram iniciados por meio de um programa computadorizado específico (Tesc-Test Script, EMIC Equipamentos de ensaio Ltda., São José dos Pinhais, Paraná, Brasil) até que o espécime fosse rompido, quando o movimento foi cessado e os valores de carga máxima registrados.

Análise das Fraturas

Imediatamente após o teste de microtração, as metades obtidas para cada espécime foram armazenadas por 48 horas em glutaraldeído 2%. Em seguida, foram mantidas secas em recipientes a temperatura ambiente até o momento da leitura das fraturas em estereomicroscópio (Mod SZX7, Olympus, São Paulo, Brasil), quando foram classificadas em: (1) coesiva da resina ou dentina; (2) adesiva; ou (3) mista.

Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Espécimes com fraturas classificadas como adesiva, para cada grupo experimental (n=5), foram aleatoriamente selecionados para análise em MEV (DSM 940, Carl Zeiss, Oberkochen, Alemanha). Após montagem em *stubs* metálicos e metalização com ouro (Evaporador MED 010, Balzer, EUA) ambas as partes desses espécimes (dentina e resina) foram examinadas conjuntamente (imagens especulares) e imagens digitais foram obtidas em aumentos de 500x e 1000x.

Tratamento Estatístico dos Dados

Os dados referentes à resistência de união (MPa) foram analisados pela aplicação dos testes não-paramétricos de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney, ao nível pré-estabelecido de significância de 5%, considerando os espécimes como unidade experimental. As fraturas foram descritas como frequência absoluta e porcentagem do total de espécimes para cada grupo.

RESULTADOS

Dados referentes aos valores de resistência de união (MPa) obtidos pela aplicação do sistema adesivo sobre a dentina hígida e dentina afetada por cárie de dentes decíduos e permanentes em função dos diferentes tempos de

condicionamento ácido estão apresentados na Tabela 1. A análise do efeito dos fatores principais demonstrou que maiores valores de resistência de união foram obtidos para a dentina hígida em comparação a dentina afetada por cárie, enquanto que valores equivalentes foram produzidos sobre a dentina de dentes decíduos e permanentes (Mann-Whitney, $p > 0,05$).

O tempo de condicionamento ácido exerceu efeito significativo quando considerada a interação tipo de dente/substrato. Dessa forma, maiores valores de resistência de união foram produzidos para a dentina hígida de dentes decíduos condicionada com ácido fosfórico por 5 s, quando comparados aos valores obtidos sobre a dentina hígida de dentes permanentes condicionada pelo mesmo tempo (Tabela 1, colunas). Quando o substrato foi condicionado pelos tempos de 10 s e 15 s, valores estatisticamente não diferentes foram observados entre decíduos e permanentes. Adicionalmente, também foi observado que apenas para a dentina hígida de dentes permanentes houve influência do tempo de condicionamento ácido, onde valores estatisticamente superiores foram obtidos quando esse substrato foi condicionado por 15 s em comparação aos valores observados quando o ácido fosfórico foi aplicado por apenas 5 s (Tabela 1, linhas), enquanto que valores intermediários foram obtidos para o condicionamento por 10 s. Dessa forma, a redução do tempo de condicionamento ácido do substrato de 15 s para 5 s influenciou negativamente os valores de resistência de união a dentina hígida de dentes permanentes, sendo o mesmo não observado para as demais interações (Tabela 1, linhas).

A distribuição dos tipos de fraturas observadas para a dentina hígida e dentina afetada por cárie de dentes decíduos e permanentes em função do tempo de condicionamento ácido está apresentada como frequência absoluta e porcentagem de ocorrência na Tabela 2 e graficamente como frequência absoluta na Figura 1. Falhas coesivas de resina e dentina foram identificadas com maior frequência quando o sistema adesivo foi aplicado sobre a dentina hígida. Maiores porcentagens de fraturas envolvendo a interface, fraturas adesivas e mistas, foram observadas para a dentina afetada por cárie. Nenhuma influência do tipo de dente e tempo de condicionamento ácido pôde ser identificada sobre o tipo de fratura ocorrida.

Fotomicrografias em MEV representativas de fraturas ocorridas em dentes decíduos em função do tempo de condicionamento (5 s, 10 s e 15 s) estão apresentadas nas Figuras 2 e 3 para os substratos hígido e afetado por cárie, respectivamente. Espécimes pertencentes aos grupos de dentina afetada por cárie com fratura inicialmente classificadas como adesiva em microscopia óptica apresentaram pequenas fraturas coesivas de dentina ao longo da interface (Figura 3). O mesmo não foi observado para os espécimes pertencentes aos grupos de dentina hígida. Nesses grupos, fraturas adesivas ocorridas na base da camada híbrida com rompimento dos *tags* de resina foram as mais frequentemente observadas em MEV (Figura 2). Ratificando os resultados obtidos em microscopia óptica, nenhuma característica diferencial foi observada entre as fraturas ocorridas em dentes decíduos e permanentes ou entre os tempos de condicionamento ácido. Por outro lado, os espécimes de dentina hígida e dentina afetada por cárie eram de

fácil distinção uma vez que para a última, superfícies mais complexas envolvendo pequenas, porém múltiplas áreas de fratura coesiva em dentina, foram visualizadas.

DISCUSSÃO

Duas zonas, distintas em vários aspectos (coloração, dureza, conteúdo microbiológico, potencial de remineralização, composição molecular), compõem a lesão de cárie estabelecida em dentina. A zona externa da lesão, denominada de dentina infectada, é constituída de tecido dentinário necrótico, com perda praticamente completa do seu conteúdo mineral, rede de colágeno irreversivelmente degradada e presença de um grande número de microrganismos essencialmente proteolíticos.^{20,24} A zona interna, denominada de dentina afetada ou contaminada, apresenta-se endurecida em relação a primeira, embora ainda com menor conteúdo mineral e maior presença de porosidades na zona de dentina intertubular, quando comparada a dentina hígida.^{21,43,46,47} Adicionalmente, apresenta rede de colágeno desorganizada, porém passível de remineralização e menor número de microrganismos.^{20,24}

Segundo a filosofia de mínima intervenção que norteia a Odontologia contemporânea e devido a possibilidade de recuperação biológica e funcional da dentina afetada por cárie, a remoção seletiva do tecido cariado tem sido preconizada com veemência, com o objetivo de preservar estrutura dentária e evitar a exposição desnecessária do tecido pulpar. Dessa forma, a utilização da dentina afetada por cárie como substrato nos procedimentos restauradores

adesivos tem sido cada vez mais frequente. Além do mais, dentina hígida e dentina afetada por cárie coexistem na maioria dos preparos cavitários e conseqüentemente os materiais adesivos deveriam apresentar satisfatório desempenho em ambas.

No presente estudo, maiores valores de resistência de união foram obtidos para a dentina hígida em comparação a dentina afetada por cárie tanto para dentes decíduos quanto para dentes permanentes e em todos os tempos de condicionamento. Estes achados corroboram os de outros estudos que avaliaram comparativamente a resistência de união a dentina hígida e a dentina afetada por cárie, nos quais valores significativamente inferiores de adesão e interfaces mais complexas foram observadas para a última.^{8,11,34,42,45}

A dentina afetada por cárie apresenta menor conteúdo mineral e maior número de porosidades na dentina intertubular,^{21,28} facilitando a difusão do agente ácido ao mesmo tempo que seu tamponamento pelos minerais dissolvidos fica comprometido pelo inferior conteúdo mineral que esse tecido apresenta em comparação a dentina hígida. Como consequência, zonas de dentina desmineralizada mais profundas e camadas híbridas mais espessas são produzidas sobre a dentina afetada por cárie. Entretanto, ausência de correlação positiva existe entre espessura da camada híbrida e resistência de união.^{13,27} Camadas híbridas mais espessas apresentam maior número de imperfeições como porosidades, áreas predominantemente hidrófilas (fenômeno de separação de fases), áreas de conversão monomérica incompleta³⁷ e áreas de exposição de fibrilas de colágeno.¹¹ Todos esses fatores comprometem a resistência de união

imediate e tornam a união resina-dentina afetada por cárie mais susceptível a degradação hidrolítica e enzimática, reduzindo sua estabilidade longitudinal.⁷

Embora um protocolo artificial de indução de cárie tenha sido utilizado no presente estudo, os resultados confirmam, a semelhança das lesões naturais de cárie, que tal método foi capaz de induzir alterações no substrato que influenciaram negativamente a resistência de união do sistema adesivo Prime&Bond NT. Alteração de cor e textura são parâmetros rotineiramente utilizados em clínica para a diferenciação entre a dentina infectada e afetada, os quais são reproduzidos pelo método microbiológico utilizado. Marquezan et al.¹⁷ demonstraram que este método foi o mais adequado para a produção de lesões artificiais contendo ambas as zonas encontradas nas lesões de cárie dentinária naturais, dentina infectada e afetada, sendo o mais indicado para procedimentos que envolvam remoção seletiva do tecido cariado.

Adicionalmente as alterações na fase inorgânica que influenciam negativamente a resistência de união a esse substrato, outras características encontradas na dentina afetada por cárie também interferem no desempenho da união resina-dentina. Devido a reprecipitação dos minerais dissolvidos durante o processo carioso e também a deposição de dentina intratubular pelas células odontoblásticas em resposta a injúria presente, a dentina afetada por cárie apresenta túbulos dentinários obliterados por cristais ácido-resistentes, impedindo a infiltração monomérica desses túbulos e a formação dos *tags* de resina.^{11,20,26} Essas estruturas, juntamente com a camada híbrida, são responsáveis pela retenção micromecânica das resinas aos substratos dentários.

Tanto para dentes decíduos como dentes permanentes, a variação do tempo de condicionamento não exerceu efeito sobre os valores de resistência de união a dentina afetada por cárie. O mesmo foi observado para a dentina hígida de dentes decíduos. Tem sido demonstrado que o aumento do tempo de condicionamento ácido resulta em desmineralização mais profunda da dentina⁴¹ o que dificulta sua adequada hibridização.^{13,27,41} Entretanto, nos estudos que avaliaram a influência do tempo de condicionamento ácido sobre a resistência de união a dentina, períodos superiores aos utilizados no presente estudo foram investigados. Wang e Spencer⁴² condicionaram a dentina hígida de dentes permanentes por períodos que variaram de 10 a 60 s, enquanto que no estudo de Hashimoto et al.¹⁴ essa variação foi de 15 a 180 s. Os resultados do presente estudo sugerem que, considerando-se períodos clinicamente significantes, ou seja, inferiores a 15 s, o aumento na profundidade de desmineralização não exerceu efeito negativo sobre a resistência de união imediata do sistema adesivo Prime&Bond NT. Adicionalmente, segundo as recomendações do fabricante, este adesivo deve ser mantido sobre a superfície condicionada por 20 segundos antes de sua fotoativação, o que pode ter favorecido sua infiltração na dentina desmineralizada, mesmo que essa desmineralização tenha sido mais profunda após 15 s de condicionamento comparada a promovida após 5 s. Scheffel et al. (dados não publicados) demonstraram que o aumento do tempo de condicionamento ácido da dentina hígida de dentes decíduos e permanentes exerceu influência sobre a exposição de fibrilas de colágeno na interface adesiva apenas quando o sistema adesivo Prime&Bond 2.1 foi aplicado, enquanto que o sistema Prime&Bond NT foi

indiferente a essa variação. Desta forma, pode ser sugerido que a redução do tempo de condicionamento para a dentina afetada por cárie, associado a ação tempo-dependente da infiltração monomérica,¹⁰ não influencia de forma negativa a resistência de união imediata. Entretanto, a estabilidade mecânica dessas interfaces em longo prazo ainda precisa ser investigada. Sanabe et al.²⁹ observaram que apesar da redução do tempo de condicionamento ácido da dentina hígida de dentes decíduos de 15 s para 7 s não ter exercido influência na resistência de união imediata de um sistema adesivo convencional simplificado, a mesma favoreceu a longevidade da união resina-dentina.

Para a dentina hígida, maiores valores de resistência de união foram produzidos para os dentes decíduos condicionados com ácido fosfórico por 5 s, quando comparados aos valores obtidos sobre a dentina hígida de dentes permanentes condicionada pelo mesmo tempo. Tem sido demonstrado que a redução do tempo de condicionamento ácido da dentina decídua em aproximadamente 50% (7 s) não exerce influência negativa na resistência de união de sistemas convencionais simplificados a este substrato.^{25,29,30,32} Em alguns estudos, aumento significativo da resistência de união foi observado,^{25,30} justificado pela influência de características inerentes a morfologia e composição química da dentina de dentes decíduos no processo de adesão,^{25,30} e pelo aumento de rugosidade superficial da dentina intertubular observado quando um menor tempo de condicionamento ácido é utilizado.²⁵ A dentina decídua apresenta menor conteúdo mineral^{2,3,6} e aumento da concentração de carbonato³⁶ o que juntamente com sua maior porosidade^{15,36} a tem associado a uma maior reatividade a ácidos

(Scheffel et al., dados não publicados), e conseqüentemente, a uma maior desmineralização quando o mesmo tempo de condicionamento utilizado em dentes permanentes é também aplicado em dentes decíduos.^{23,30} O aumento da profundidade de desmineralização da dentina favorece a manutenção de fibras de colágeno expostas na base da camada híbrida uma vez que monômeros resinosos não conseguem infiltrar completamente essa zona.^{27,40} Camadas híbridas 25 a 30% mais espessas são formadas sobre a dentina decídua quando esta é condicionada pelo mesmo período de tempo utilizado para a dentina permanente.²³ Entretanto, ausência de correlação existe entre a espessura da camada híbrida e resistência de união. Camadas híbridas mais espessas tem maior chance de conter porosidades e imperfeições em seu interior,^{27,41} resultando em menores valores de resistência de união.^{13,27}

Apenas para a dentina hígida de dentes permanentes, a redução do tempo de condicionamento de 15 s para 5 s influenciou negativamente os valores de resistência de união. Wang e Spencer⁴¹ demonstraram que a desmineralização da dentina intertubular de dentes permanentes após a aplicação de ácido fosfórico 35% foi 2 vezes mais profunda quando o ácido foi mantido em contato com a dentina sob agitação por 15 s comparado com 10 s. Quando o ácido foi mantido passivamente em contato com a dentina por 10 s, nenhuma zona de interdifusão pôde ser identificada em lâminas coradas com tricrômio de Goldner. De acordo com os autores, durante os primeiros segundos seguidos a aplicação do condicionador ácido, este penetra rapidamente pelos túbulos dentinários e remove inicialmente o conteúdo mineral da dentina peritubular e intertubular circundante.

Os túbulos dentinários representam vias preferenciais para a difusão do ácido, especialmente durante os primeiros segundos após sua aplicação³¹, enquanto que a ação do ácido na dentina intertubular ocorre posteriormente.¹⁸ Dessa forma, a ação efetiva do ácido sobre a desmineralização da dentina intertubular ocorreria a partir de 10 s de sua aplicação sobre esse substrato, sendo que períodos inferiores a este poderiam não ser suficientes para a dissolução da smear layer e desmineralização da dentina subjacente.

CONCLUSÕES

O condicionamento ácido da dentina por apenas 5 s pode ser recomendado para dentes decíduos, enquanto o tempo de 10 s seria mais adequado para dentes permanentes, considerando-se que dentina hígida e afetada por cárie coexistem na grande maioria dos preparos cavitários.

AGRADECIMENTOS

Este estudo foi apoiado pela Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP (processos 2008/02278-8 e 2009/07924-8). Os autores reconhecem o apoio técnico prestado pelo Prof. Dr. Elliot W. Kitajima, diretor do centro de microscopia eletrônica NAP/MEPA (Escola de Agronomia Luiz de Queiróz, ESALQ, USP) e pelo doutorando Sr. Renato Barbosa Salaroli.

REFERÊNCIAS

1. Abu-Hanna A, Gordan VV. Evaluation of etching time on dentin bond strength using single bottle bonding systems. *J Adhes Dent* 2004;6:105-110.
2. Angker L, Swain MV, Kilpatrick N. Micro-mechanical characterization of the properties of primary tooth dentine. *J Dent* 2003;31:261-267.
3. Angker L, Nockolds C, Swain MV, Kilpatrick N. Quantitative analysis of the mineral content of sound and carious primary dentine using BSE imaging. *Arch Oral Biol* 2004;49:99-107.
4. 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;112:458-464.
5. Bolaños-Carmona V, González-López S, Briones-Luján T, de Haro-Muñoz C, de la Macorra JC. Effect of etching time of primary dentin on interface morphology and microtensile bond strength. *Dent Mater* 2006; 22:1121-1129.

6. Borges AFS, Bitar RA, Kantovitz KR, Correr AB, Martin AA, Puppini-Rontani RM. New perspectives about molecular arrangement of primary and permanent dentin. *Appl Surf Sci* 2007;254:1498-1505.
7. Breschi L, Perdigao J, Gobbi P, Mazzotti G, Falconi M & Lopes M
Immunocytochemical identification of type I collagen in acid-etched dentin. *J Biomed Mater Res A* 2003;66:764-769.
8. Ceballos L, Camejo DG, Fuentes MV, Osorio R, Toledano M, Carvalho RM, Pashley DH. Microtensile bond strength of total-etch and self-etching adhesives to caries-affected dentine. *J Dent* 2003;31:469-477.
9. Cetingüiç A, Olmez S, Vural N. HEMA diffusion from dentin bonding agents through various dentin thickness in primary molars. *Am J Dent* 2006;19:231-235.
10. Eliades G, Vougiouklakis G, Palaghias G. Heterogeneous distribution of single bottle adhesive monomers in the resin-dentin interdiffusion zone. *Dent Mater* 2001;17: 277-283.

11. Erhardt MCG, Toledano M, Osório R, Pimenta LA. Histomorphologic characterization and bond strength evaluation of caries-affected dentin/resin interfaces: Effects of long-term water exposure. *Dent Mater* 2008;24:786-798.
12. Haj-Ali R, Walker M, Williams K, Wang Y, Spencer P. Histomorphologic characterization of noncarious and caries-affected dentin/adhesive interfaces. *J Prosthodont* 2006;15:82-88.
13. Hashimoto M, Ohno H, Endo K, Kaga M, Sano H, Oguchi H. The effect of hybrid layer thickness on bond strength: demineralized dentin zone of the hybrid layer. *Dent Mater* 2000;16:406-411.
14. Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Sano H, Tay FR, Oguchi H, et al. Over-etching effects on micro-tensile bond strength and failure patterns for two dentin bonding systems. *J Dent* 2002;30:99-105.
15. Hirayama M, Yamada M, Miake K. An electron microscope study on dentinal tubules of human deciduous teeth. *Shikwa Gakuho* 1992; 86:1021-1031.
16. Kimochi T, Yoshiyama M, Urayama A, Matsuo T. Adhesion of a new commercial self-etching/self-priming bonding resin to human caries-infected

- dentin. *Dent Mater* 1999;18:437-443.
17. Markezan M, Corrêa FN, Sanabe ME, Rodrigues Filho LE, Hebling J, Guedes-Pinto AC, Mendes FM. Artificial methods of dentine caries induction: A hardness and morphological comparative study. *Arch Oral Biol* 2009;54:1111-1117.
18. Marshall GW, Inai N, Magidi ICW, Balloch M, Kinney JH, Tagami J, et al. Dentin demineralization: effects of dentin depth, pH and different acids. *Dent Mater* 1997;13:338-343.
19. Nakabayashi N, Watanabe A, Arao T. A tensile test to facilitate identification of defects in resin-bonded dentin specimens. *J Dent* 1998;26:379–385.
20. Nakajima M, Sano H, Burrow MF, Tagami J, Yoshiyama M, Ebisu S, Ciucchi B, Russell CM, Pashley DH. Tensile bond strength and SEM evaluation of caries-affected dentin using dentin adhesives. *J Dent Res* 1995;74:1679-1688.
21. Nakajima M, Ogata M, Okuda M, Tagami J, Sano H, Pashley DH. Bonding to caries-affected dentin using a self-etching primers. *Am J Dent* 1999;12:309-314.

22. 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;78:1298-1303.

23. Nör JE, Feigal RJ, Dennison JB, Edwards CA. Dentin bonding: SEM comparison of the resin-dentin interface in primary and permanent teeth. *J Dent Res* 1996;75:1396-1403.

24. Ogawa K, Yamashita Y, Ichijo T, Fusayama T. The ultrastructure and hardness of the transparent layer of human carious dentin. *J Dent Res* 1983;62:7-10.

25. Osorio R, Aguilera FS, Otero PR, Romero M, Osorio E, Garcia-Godoy F, Toledano M. Primary dentin etching time, bond strength and ultra-structure characterization of dentin surfaces. *J Dent* 2010;38:222-231.

26. Pereira PN, Nunes MF, Miguez PA, Swift EJ, Jr. Bond strengths of a 1-step selfetching system to caries-affected and normal dentin. *Oper Dent* 2006;31:677-681.

27. Pioch T, Stotz S, Buff E, Duschner H, Staehle HJ. Influence of different etching times on hybrid layer formation and tensile bond strength. *Am J Dent*

1998; 11:202-206.

28. Reis AF, Bedran-Russo AK, Giannini M, Pereira PN. Interfacial ultramorphology of single-step adhesives: nanoleakage as a function of time. *J Oral Rehabil* 2007;34:213-221.
29. Sanabe ME, Kantovitz KR, de Souza Costa CA, Hebling J. Effect of acid etching time on the degradation of resin-dentin bonds in primary teeth. *Am J Dent* 2009;22:37-42.
30. Sardella TN, Castro FLA, Sanabe ME, Hebling J. Shortening of primary dentin etching time and its implication on bond strength. *J Dent* 2005;33:355-362.
31. Selvig KA. Ultrastructural changes in human dentine exposed to a weak acid. *Arch Oral Biol* 1968;13:719-734.
32. Shashikiran ND, Gunda S, Subba Reddy VV. Comparison of resin-dentine interface in primary and permanent teeth for three different durations of dentine etching. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 2002;20:124-131.

33. Spencer P, Wang Y. Adhesive phase separation at the dentin interface under wet bonding conditions. *J Biomed Mater Res* 2002;62:447-456.
34. Spencer P, Wang Y, Katz JL, Misra A. Physicochemical interactions at the dentin/adhesive interface using FTIR chemical imaging. *J Biomed Opt* 2005;10:031104.
35. Sumikawa DA, Marshall GW, Gee L, Marshall SJ. Microstructure of primary tooth dentin. *Pediatr Dent* 1999;21:439-444.
36. Sønju Clasen AB, Ruyter IE. Quantitative determination of type A and type B carbonate in human deciduous and permanent enamel by means of Fourier transform infrared spectrometry. *Adv Dent Res* 1997;11:523-527.
37. Tay FR, Carvalho R, Sano H, Pashley DH. Effect of smear layers on the bonding of a self-etching primer to dentin. *J Adhes Dent* 2000;2:99-116.
38. Uno S, Finger WJ. Effects of acidic conditioners on dentine demineralization and dimension of hybrid layers. *J Dent* 1996;24:211-216.
39. Wang Y, Spencer P. Hybridization efficiency of the adhesive/dentin interface with wet bonding. *J Dent Res* 2003;82:141-45.

40. Wang Y, Spencer P. Quantifying adhesive penetration in adhesive/dentin interface using confocal Raman microspectroscopy. *J Biomed Mater Res.* 2002;59:46-55.
41. Wang Y, Spencer P. Effect of acid etching time and technique on interfacial characteristics of the adhesive-dentin bond using differential staining. *Eur J Oral Sci* 2004;112:293-299.
42. Wang Y, Spencer P, Hager C, Bohaty B. Comparison of interfacial characteristics of adhesive bonding to superficial versus deep dentin using SEM and staining techniques. *J Dent* 2006;34:26-34.
43. Wang Y, Spencer P, Walker MP. Chemical profile of adhesive/caries-affected dentin interfaces using Raman microspectroscopy. *J Biomed Mater Res A* 2007;81:279-286.
44. Xie J, Flaitz CM, Hicks MJ, Powers JM. Bond strength of composite to sound and artificial carious dentin. *Am J Dent* 1996;9:31-33.
45. 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;81:556–560.

46. 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;25:163–169.

47. Zheng L, Hilton JF, Habelitz S, Marshall SJ, Marshall GW. Dentin caries activity status related to hardness and elasticity. *Eur J Oral Sci* 2003;111:243-252.

Tabela 1. Resistência de união (MPa) a dentina hígida e dentina afetada por cárie de dentes decíduos e permanentes para os diferentes tempos de condicionamento ácido.

Dente	Substrato	Tempo de condicionamento (s)		
		5 s	10 s	15 s
Decíduos	Hígido	30,3 (25,8-34,7)[22] a A	30,5 (24,3-37,5)[24] a A	25,7 (15,3-36,3)[27] a A
	Afetado cárie	11,1 (7,8-14,2)[17] c A	14,0 (11,2-20,1)[15] b A	10,3 (8,7-17,9)[16] b A
Permanentes	Hígido	23,3 (19,7-28,1)[14] b B	25,8 (20,1-34,3)[13] a AB	30,8 (21,8-36,9)[35] a A
	Afetado cárie	11,2 (7,3-15,0)[23] c A	13,3 (9,7-20,4)[18] b A	10,8 (8,6-14,5)[24] b A

^a Valores são mediana (percentil 25-percentil 75) [n]. Valores identificados com a mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente (Mann-Whitney, $p > 0,05$).

Tabela 2. Distribuição dos tipos de fratura em função do tipo de dente, substrato e tempo de condicionamento ácido.

Dente	Substrato	Tempo de condicionamento (s)		
		5 s	10 s	15 s
Decíduos	Hígido	A=11 (50,0) ^a ; M=1 (4,5); CR=7 (31,8); CD=3 (13,6)	A=13 (54,2); M=4 (16,7); CR=5 (20,8); CD=2 (8,3)	A=13 (48,1); M=4 (14,8); CR=9 (33,3); CD=1 (3,7)
	Afetado cárie	A=14 (82,4); M=2 (11,8); CR=1 (5,9)	A=10 (66,7); M=5 (33,3)	A=10 (62,5); M=6 (37,5)
Permanentes	Hígido	A=9 (64,3); M=2 (14,3); CR=3 (21,4)	A=11 (84,6); CR=2 (15,4)	A=19 (54,3); M=2 (5,7); CR=12 (34,3); CD=2 (5,7)
	Afetado cárie	A=17 (73,9); M=6 (26,1)	A=13 (72,2); M=3 (16,7); CR=2 (11,1)	A=19 (79,2); M=5 (20,8)

A = adesiva; M = mista; CR = coesiva em resina; CD = coesiva em dentina. ^a Valores representam frequência absoluta (porcentagem do total de espécimes do grupo).

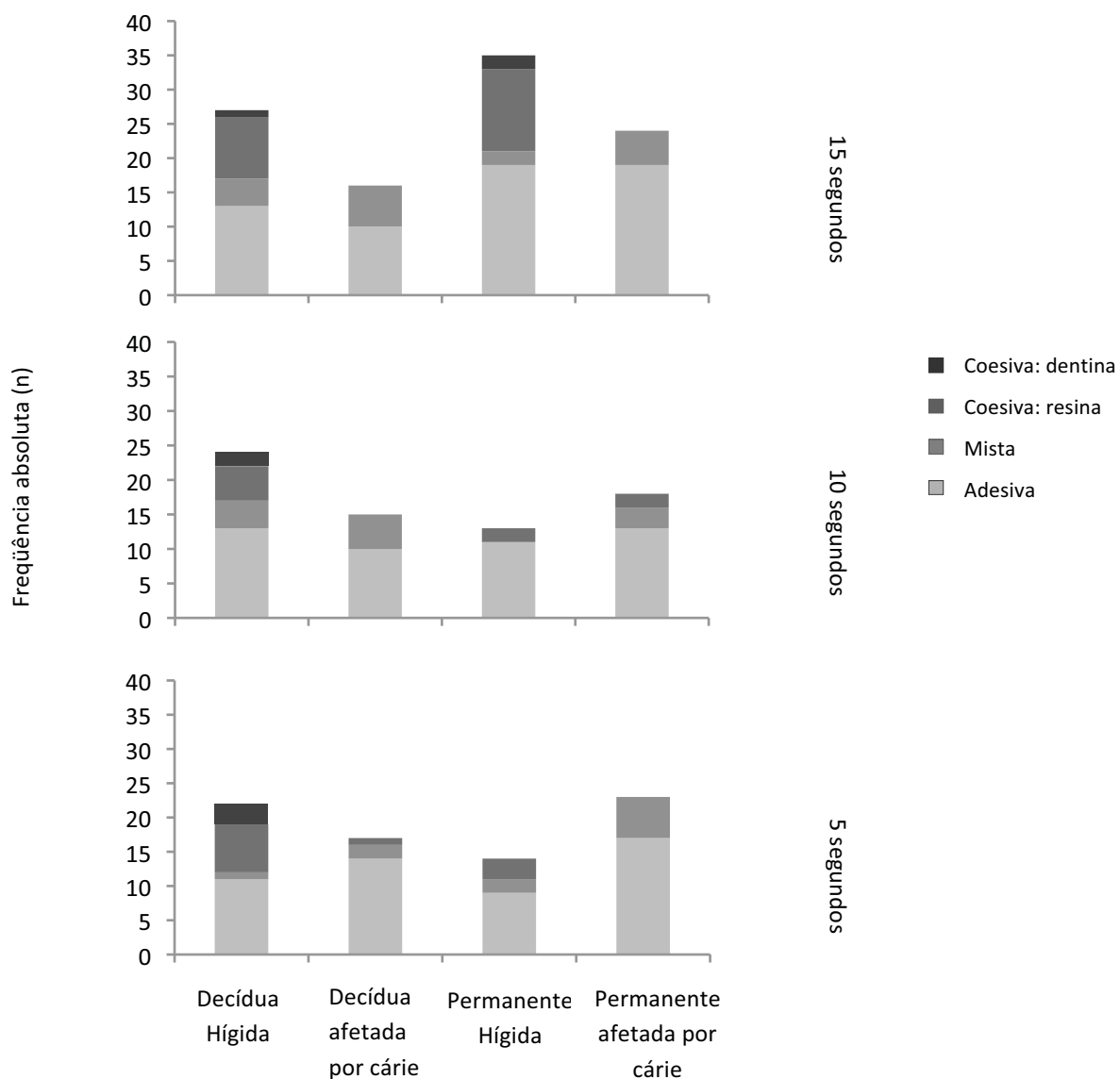


Figura 1. Frequências absolutas (n) dos tipos de fratura observados para os grupos segundo o tipo de dente, substrato e tempo de condicionamento ácido.

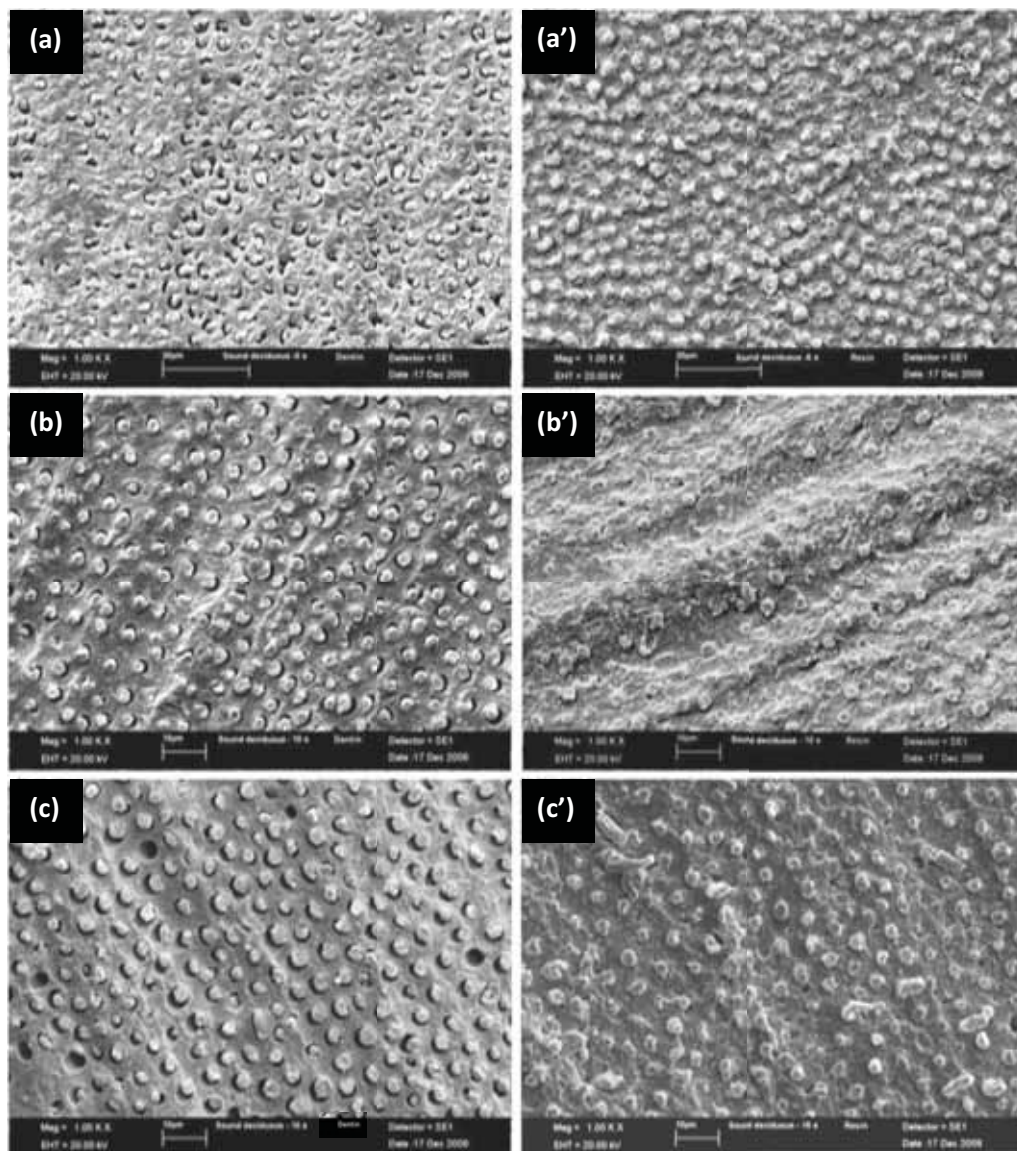


Figura 2. Fotomicrografias em MEV de espécimes fraturados, lado dentina (coluna da esquerda) e lado resina (coluna da direita), pertencentes aos grupos de dentina hígida. Interfaces produzidas em dentes decíduos após (a, a') 5 segundos, (b, b') 10 segundos e (c, c') 15 segundos de condicionamento da dentina com ácido fosfórico. Falhas ocorridas na união adesivo-dentina foram observadas para todos os tempos de condicionamento ácido. Tags de resina no interior dos túbulos dentinários podem ser observados na porção de dentina (a, b e c), os quais também são projetados na porção de resina (a', b', e c').

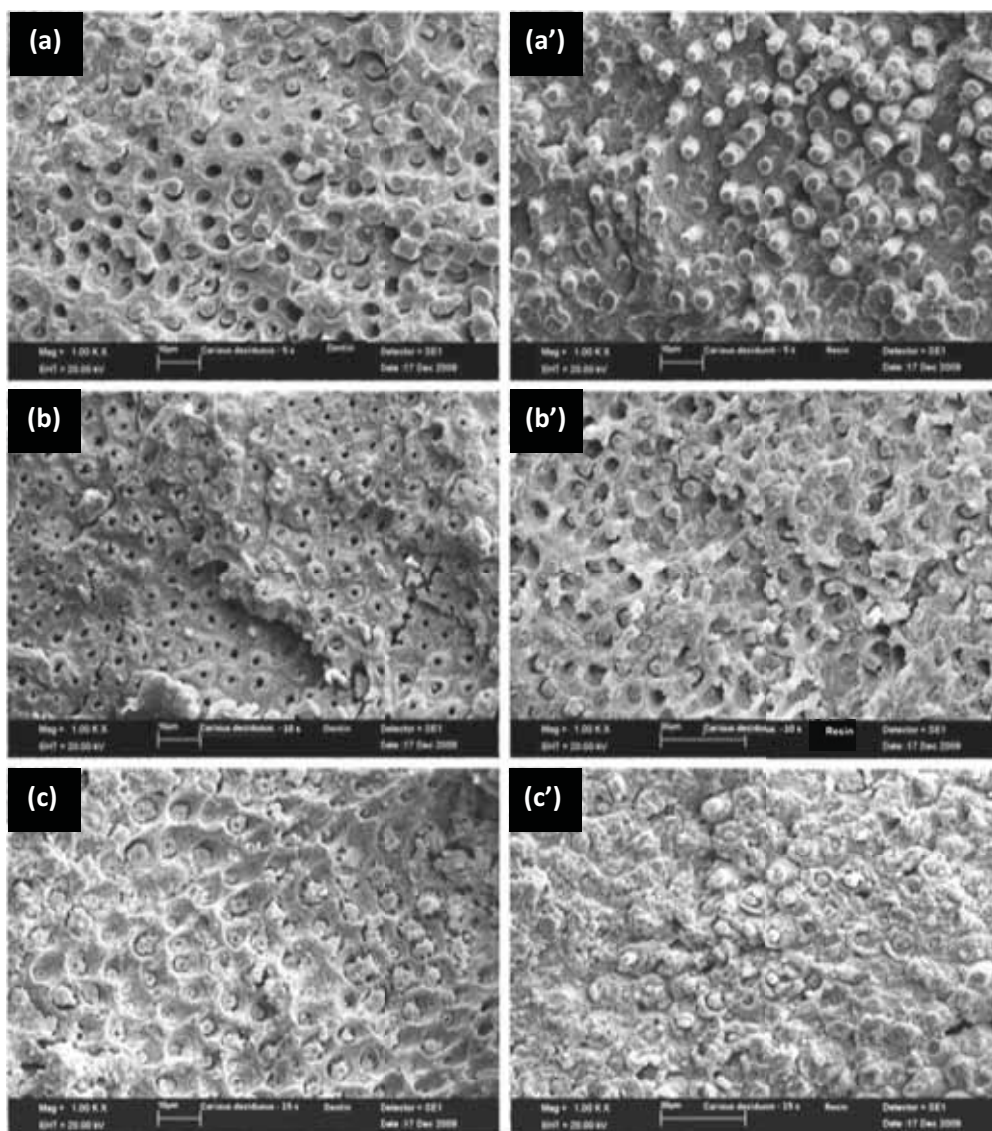


Figura 3. Fotomicrografias em MEV de espécimes fraturados, lado dentina (coluna da esquerda) e lado resina (coluna da direita), pertencentes aos grupos de dentina afetada por cárie. Interfaces produzidas em dentes decíduos após (a, a') 5 segundos, (b, b') 10 segundos e (c, c') 15 segundos de condicionamento da dentina com ácido fosfórico. Falhas ocorridas na união adesivo-dentina foram observadas para todos os tempos de condicionamento ácido. Entretanto, em comparação a dentina hígida, superfícies mais irregulares foram observadas, sugestivas de fratura coesiva de dentina.

Considerações Finais



CONSIDERAÇÕES FINAIS

A produção de vias de difusão a partir da remoção do conteúdo inorgânico tecidual pela aplicação de um agente ácido é um passo fundamental dentro dos protocolos de adesão a dentina. A subsequente infiltração monomérica nos espaços interfibrilares criados na dentina desmineralizada e sua polimerização in situ resulta na produção de uma zona de interdifusão, denominada camada híbrida (Nakabayashi et al¹¹., 1982), a qual, juntamente com os tags de resina projetados no interior dos túbulos dentinários, representam as estruturas responsáveis pela retenção micromecânica das resinas a dentina (Pashley, Carvalho¹⁸, 1997; Van Meerbeek et al²⁸., 2003), assim como pelo selamento desse substrato. Entretanto, devido a limitações inerentes ao substrato dentinário, a composição e técnica de aplicação dos sistemas adesivos, os monômeros não conseguem impregnar completamente a zona de dentina desmineralizada e, desta forma, envelopar as fibrilas de colágeno expostas com a remoção do conteúdo mineral (Hashimoto et al⁸., 2000; Sano et al²¹., 1995; Spencer et al²⁷., 2004). Como resultado ocorre a formação de interfaces adesivas com a exposição de fibrilas de colágeno, as quais são susceptíveis a degradação via enzimas endógenas da dentina (metaloproteinases da matriz dentinária, MMPs), enzimas exógenas bacterianas e salivares, assim como degradação hidrolítica que também afeta o componente polimérico da união.

Uma forma simples, e aplicável clinicamente, de minimizar a discrepância entre a profundidade de desmineralização e de infiltração monomérica é o

controle do tempo de condicionamento ácido. O tempo de 15 s recomendado atualmente, independente da qualidade do substrato, foi definido com base em trabalhos que utilizaram diferentes tempos de condicionamento e observaram que para tempos superiores a 15 s havia uma influência negativa sobre a resistência de união (Pioch et al¹⁹., 1998). Dessa forma, o objetivo geral do presente trabalho foi avaliar a influência de tempos clinicamente reproduzíveis de condicionamento ácido sobre a desmineralização da dentina e sobre a qualidade da união resina-dentina considerando-se diferentes substratos como dentina de dentes permanentes, de dentes decíduos, dentina hígida e dentina afetada por cárie.

Tem sido demonstrado que a redução do tempo de condicionamento ácido não exerce influência sobre a resistência de união a dentina de dentes decíduos (Osorio et al¹⁷., 2009; Sanabe et al²⁰., 2009; Sardella et al²²., 2005 e Shashikiran et al²³., 2002) e que camadas híbridas 25-30% mais espessas são formadas na dentina decídua em comparação a dentina permanente quando o mesmo tempo de condicionamento é utilizado (Nör et al¹⁵., 1996). Os resultados desses estudos sugerem que a dentina de dentes decíduos poderia ser menos resistente a ação do agente ácido do que a dentina de dentes permanentes. Entretanto, essa suposição, embora plausível, não encontra respaldo na literatura, fato este que instigou a realização do primeiro estudo desse trabalho. Os resultados demonstraram correlação positiva significativa entre a remoção de íons cálcio do substrato e o tempo de condicionamento, tanto para dentes decíduos como para dentes permanentes. Também foi observado que a dentina de dentes decíduos perdeu mais minerais do que a dentina de dentes permanentes para todos os tempos de

condicionamento ácido investigados (5, 10 e 15 s). Como especulado nos estudos mencionados anteriormente (Osorio et al¹⁷., 20010; Sanabe et al²⁰., 2009; Sardella et al²²., 2005 e Shashikiran et al²³., 2002), a dentina de dentes decíduos realmente foi mais susceptível a ação do ácido fosfórico do que a dentina de dentes permanentes. Diferenças morfológicas como número de túbulos dentinários por unidade de área (Sumikawa et al²⁴., 1999), porosidade da dentina intertubular e espessura da dentina peritubular (Hirayama et al⁹., 1992; Sumikawa et al²⁴., 1999), assim como diferenças de composição química como quantidade mineral (Angker et al², 2003; Angker et al³., 2004; Borges et al⁵., 2007) e quantidade de carbonato presente no tecido (Borges et al⁵., 2007), podem justificar tal diferença.

Uma vez determinado que existe uma maior desmineralização na dentina de dentes decíduos em comparação a dentina de dentes permanentes quando o mesmo tempo de condicionamento ácido é aplicado, e também que existe aumento progressivo no grau de desmineralização em função do aumento do tempo de condicionamento ácido, no segundo estudo deste trabalho foi elaborada a hipótese de que essa maior desmineralização poderia afetar diretamente a infiltração monomérica da zona de dentina desmineralizada. Uma vez que a ação do ácido não limita-se a superfície da dentina, uma maior remoção de minerais desse substrato significa sua desmineralização mais profunda. Tem sido demonstrado que a discrepância entre a desmineralização da dentina e a infiltração monomérica aumenta em função da maior profundidade de desmineralização (Wang , Spencer³⁰, 2004). Dessa forma, camadas híbridas contendo maior número de imperfeições intrínsecas como porosidades, áreas de conversão monômero-

polímero inadequada ou inexistente, áreas de predomínio hidrófilo e áreas de exposição de fibrilas de colágeno são produzidas quando a profundidade de desmineralização excede a capacidade de infiltração monomérica (Hashimoto et al.⁸, 2000; Pioch et al.¹⁹, 1998; Wang, Spencer²⁹, 2003). De forma geral, os resultados do segundo estudo demonstraram que realmente ocorre maior exposição de fibrilas de colágeno em interfaces produzidas com a dentina condicionada por 15 s em comparação ao condicionamento por apenas 5 s, e que também, maior exposição de colágeno ocorreu na dentina de dentes decíduos em comparação a dentina de dentes permanentes quando ambas foram condicionadas pelo mesmo tempo. Entretanto, esses efeitos negativos do aumento do tempo de condicionamento ácido foram observados para apenas um dos dois sistemas adesivos investigados, o que demonstra que não apenas a profundidade de desmineralização da dentina, mas também outros fatores como composição e técnica de aplicação do adesivo exercem influência no qualidade da união resina-dentina. O adesivo indiferente ao efeito do tempo de condicionamento ácido foi mantido sobre a superfície de dentina por 20 s previamente a sua fotoativação, em comparação ao adesivo sensível a essa variável, o qual foi fotoativado imediatamente após sua aplicação. Esses resultados corroboram com Eliades et al.,⁷ os quais demonstraram em seu estudo que a infiltração monomérica da dentina desmineralizada é tempo-dependente.

Por fim, uma vez demonstrado que o tempo de condicionamento ácido exerce efeito na qualidade da união resina-dentina, no terceiro estudo foi investigado o comportamento mecânico dessa união produzida sobre a dentina

condicionada por 5 s, 10 s ou 15 s. Um aspecto relevante do terceiro estudo foi a utilização da dentina afetada por cárie como substrato para adesão, uma vez que até o presente momento não existem na literatura trabalhos que tenham utilizado este tipo de substrato para investigar o efeito do tempo de condicionamento ácido sobre o desempenho adesivo de materiais poliméricos. Tem sido demonstrado que, a semelhança do descrito para a dentina decídua em comparação a dentina permanente, existem diferenças morfológicas e de composição que tornam a dentina afetada por cárie um substrato menos apropriado para adesão do que a dentina hígida. Valores inferiores de resistência de união são reportados na literatura para a dentina afetada por cárie (Arrais et al⁴., 2004; Kimochi et al¹⁰., 1999; Nakajima et al¹³., 1999; Xie et al. ³¹, 1996; Yoshiyama et al³²., 2002) resultantes do menor conteúdo mineral e maior porosidade da dentina intertubular (Nakajima et al¹³., 1999), além da obliteração dos túbulos dentinários (Nakajima et al¹²., 1995; Yoshiyama et al³²., 2002) observada para este substrato em comparação a dentina hígida. Os resultados do terceiro estudo confirmaram que menores valores de resistência de união são produzidos para a dentina afetada por cárie, independentemente do tempo de condicionamento ácido. Entretanto, não foi observada diferença entre dentes decíduos e permanentes.

O aumento do tempo de condicionamento ácido não afetou os valores de resistência de união a dentina hígida de dentes decíduos, assim como observado por Sanabe et al.,²⁰ e também a dentina afetada por cárie de dentes decíduos e permanentes. Apenas para a dentina hígida de dentes permanentes, o condicionamento ácido por apenas 5 s resultou em valores de resistência de união

estatisticamente inferiores aos obtidos com o condicionamento ácido por 15 s, enquanto que valores intermediários foram obtidos com 10 s de aplicação do ácido. Wang e Spencer³⁰ (2004) também demonstraram que, quando aplicado passivamente por curtos períodos, o ácido fosfórico não foi capaz de dissolver completamente a smear layer e desmineralizar a dentina subjacente. Consequentemente, uma vez que dentina hígida e dentina afetada por cárie estão ambas presentes na maioria dos preparos cavitários, parece prudente considerar que o condicionamento do substrato dentinário por apenas 5 s pode ser recomendado para dentes decíduos, enquanto que o condicionamento por no mínimo 10 s é mais adequado para os dentes permanentes.

Embora os resultados do presente trabalho tenham demonstrado que a desmineralização mais profunda e a conseqüente maior exposição de fibrilas de colágeno nas interfaces produzidas pode não afetar o desempenho adesivo imediato de sistemas adesivos, é relevante investigar em trabalhos futuros, a estabilidade longitudinal dessas interfaces, uma vez que os mecanismos de degradação enzimática e hidrolítica ocorrem em longo prazo. Como demonstrado por Sanabe et al.,²⁰ apesar de não interferir no desempenho imediato, a redução do tempo de condicionamento ácido da dentina hígida de dentes decíduos aumentou a longevidade das interfaces adesivas.

Referências



REFERÊNCIAS¹

1. Abu-Hanna A, Gordan VV. Evaluation of etching time on dentin bond strength using single bottle bonding systems. *J Adhes Dent.* 2004; 6: 105-10.
2. Angker L, Swain MV, Kilpatrick N. Micro-mechanical characterization of the properties of primary tooth dentine. *J Dent.* 2003; 31: 261-67.
3. Angker L, Nockolds C, Swain MV, Kilpatrick N. Quantitative analysis of the mineral content of sound and carious primary dentine using BSE imaging. *Arch Oral Biol.* 2004; 49: 99-107.
4. 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: 458-64.
5. Borges AFS, Bitar RA, Kantovitz KR, Correr AB, Martin AA, Puppini-Rontani RM. New perspectives about molecular arrangement of primary and permanent dentin. *Appl Surf Sci.* 2007; 254: 1498-05.

¹ De acordo com o estilo Vancouver. Disponível no site: http://www.nlm.gov/bsd/uniform_requirements.html

6. De Munk J, Van Meerbeek B, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Suzuki K et al. Fouryear water degradation of total-etch adhesives bonded to dentin. *J Dent Res.* 2003; 82: 136 -40.
7. Eliades G, Vougiouklakis G, Palaghias G. Heterogeneous distribution of singlebottleadhesive monomers in the resin-dentin interdiffusion zone. *Dent Mater.* 2001; 17: 277-83.
8. Hashimoto M, Ohno H, Endo K, Kaga M, Sano H, Oguchi H. The effect of hybrid layer thickness on bond strength: demineralized dentin zone of the hybrid layer. *Dent Mat.* 2000; 16: 406-11.
9. Hirayama M, Yamada M, Miake K. An electron microscope study on dentinal tubules of human deciduous teeth. *Shikwa Gakuho* 1992; 86: 1021-31.
10. Kimochi T, Yoshiyama M, Urayama A, Matsuo T. Adhesion of a new commercial self-etching/self-priming bonding resin to human caries-infected dentin. *Dent Mater.* 1999; 18: 437-443.
11. Nakabayashi N, Kojima K, Masuhara E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. *J Biom Mat Res.* 1982; 16: 265-73.

12. 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: 1679-88.
13. Nakajima M, Ogata M, Okuda M, Tagami J, Sano H, Pashley DH. Bonding to caries-affected dentin using a self - etching primers. *Am J Dent.* 1999; 12: 309-14.
14. 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: 1298-303.
15. Nör JE, Feigal RJ, Dennison JB, Edwards CA. Dentin bonding: SEM comparison of the resin-dentin interface in primary and permanent teeth. *J Dent Res.* 1996; 75: 1396-403.
16. Nör JE, Feigal RJ, Dennison JB, Edwards CA. Dentin bonding: SEM comparison of the dentin surface in primary and permanent teeth. *Pediatric Dent.* 1997; 19: 246-52.
17. Osorio R, Aguilera FS, Otero PR, Romero M, Osorio E, Garcia-Godoy F, Toledano M, Primary dentin etching time, bond strength and ultra-

- structure characterization of dentin surfaces. *J Dent* 2010; 38: 222-31.
18. Pashley DH, Carvalho RM. Dentine permeability and dentine adhesion. *J Dent* 1997; 25: 355-72.
19. Pioch T, Stotz S, Buff E, Duschner H, Staehle HJ. Influence of different etching times on hybrid layer formation and tensile bond strength. *Am J Dent*. 1998; 11: 202-06.
20. Sanabe ME, Kantovitz KR, de Souza Costa CA, Hebling J. Effect of acid etching time on the degradation of resin-dentin bonds in primary teeth. *Am J Dent*. 2009; 22: 37-42.
21. Sano H, Yoshiyama M, Ebisu S, Burrow MF, Takatsu T, Ciucchi B, et al. Comparative SEM and TEM observations of nanoleakage within the hybrid layer. *Oper Dent*. 1995; 20: 160-7.
22. Sardella TN, Castro FLA, Sanabe ME, Hebling J. Shortening of primary dentin etching time and its implication on bond strength. *J Dent*. 2005; 33: 355-62.
23. Shashikiran ND, Gunda S, Subba Reddy VV. Comparison of resin-dentine interface in primary and permanent teeth for three different durations of

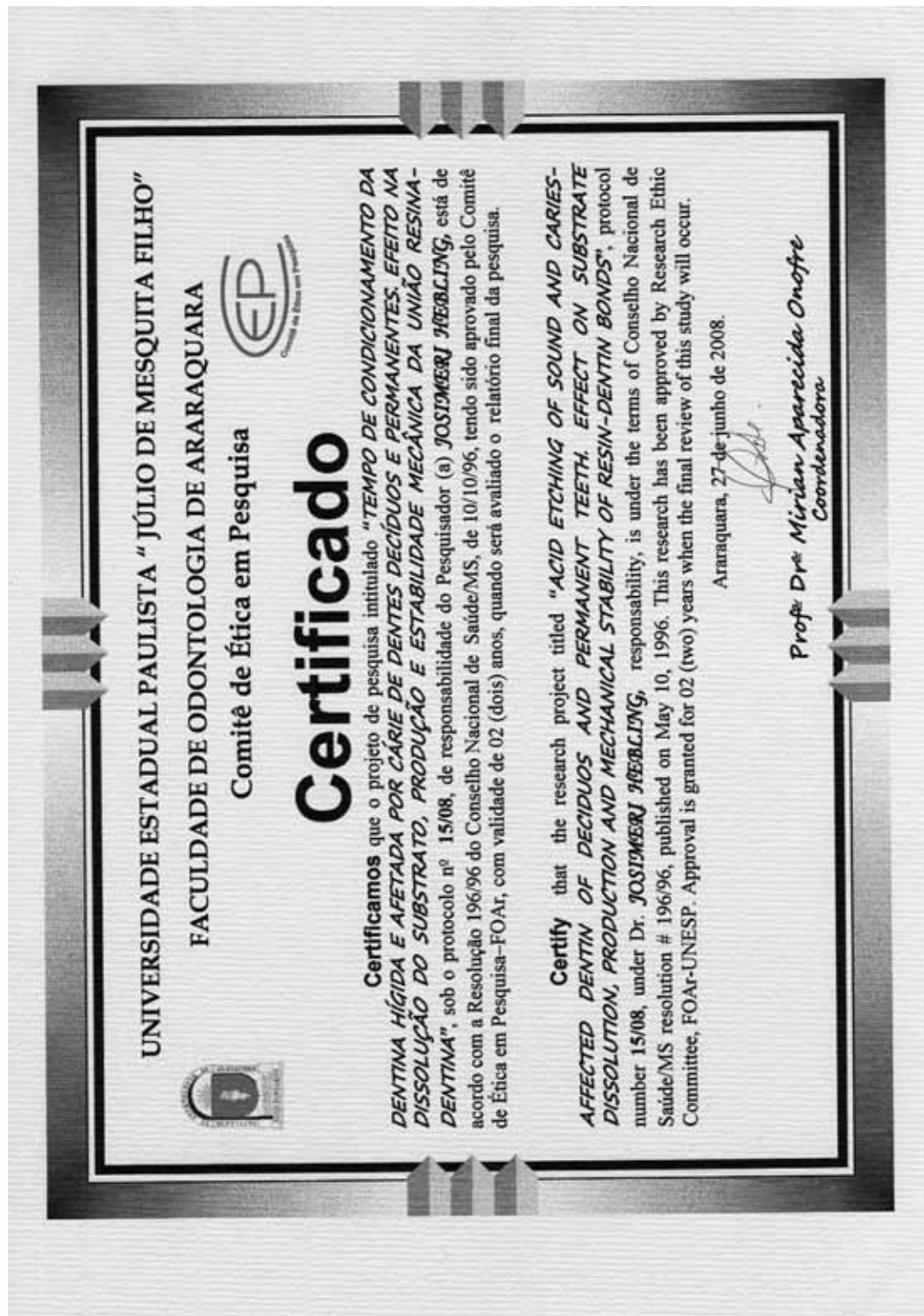
- dentine etching. *J Indian Soc Pedod Prev Dent.* 2002; 20: 124-31.
24. Sumikawa DA, Marshall GW, Gee L, Marshall SJ. Microstructure of primary tooth dentin. *Pediatr Dent.* 1999; 21: 439-44.
25. Sønju Clasen AB, Ruyter IE. Quantitative determination of type A and type B carbonate in human deciduous and permanent enamel by means of Fourier transform infrared spectrometry. *Adv Dent Res.* 1997; 11: 523-27.
26. Spencer P, Swafford JR. Unprotected protein at the dentin-adhesive interface. *Quint Int.* 1999; 30: 501-07.
27. Spencer P, Wang Y, Katz JL. Identification of collagen encapsulation at the dentin/adhesive interface. *J Adhes Dent.* 2004; 6: 91-5.
28. Van Meerbeek B, De Munck J, Ypshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, et al. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent* 2003;28:215-235.
29. Wang Y, Spencer P. Hybridization efficiency of the adhesive/dentin interface with wet bonding. *J Dent Res.* 2003; 82: 141-45.
30. Wang Y, Spencer P. Physiochemical interactions at the interfaces between self-etch adhesive systems and dentine. *J Dent.* 2004; 32: 567-579.

31. Xie J, Flaitz CM, Hicks MJ, Powers JM. Bond strength of composite to sound and artificial carious dentin. *Am J Dent.* 1996; 9: 31-3.

32. 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: 556-60.



A. Certificado de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Odontologia de Araraquara



Autorizo a reprodução deste trabalho.
(Direitos de publicação reservado ao autor)

Araraquara, 19 de marco de 2010.

DÉBORA LOPES SALLES SCHEFFEL