

UNIVERSIDADE DO SAGRADO CORAÇÃO

GENINE MOREIRA DE FREITAS GUIMARÃES

**ANÁLISE DA INTERFACE ADESIVA ENTRE
DENTINA E UM SISTEMA ADESIVO UNIVERSAL**

BAURU
2016

GENINE MOREIRA DE FREITAS GUIMARÃES

**ANÁLISE DA INTERFACE ADESIVA ENTRE
DENTINA E UM SISTEMA ADESIVO UNIVERSAL**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Centro de Ciências da
Saúde da Universidade do Sagrado
Coração, como parte dos requisitos para
Odontologia, sob orientação da Prof^a Dr^a
Karin Cristina da Silva Modena.

BAURU
2016

Guimarães, Genine Moreira de Freitas

G963a

Análise da interface adesiva entre dentina e um sistema adesivo universal / Genine Moreira de Freitas Guimarães. -- 2016.

33f.

Orientadora: Profa. Dr^a Karin Cristina da Silva Modena.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) - Universidade do Sagrado Coração - Bauru – SP

1. Camada Híbrida. 2. Adesivos Dentinários. 3. Microscopia Confocal. 4. Microscopia Eletrônica de Varredura. I. Modena, Karin Cristina da Silva. II. Título.



ATA DE DEFESA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Ata de Defesa do Trabalho de Conclusão de Curso em odontologia de Genine Moreira de Freitas Guimarães.

Ao dia vinte e oito de outubro de dois mil e dezesseis, reuniu-se a banca examinadora do trabalho apresentado como Trabalho de Conclusão de Curso em Odontologia de Genine Moreira de Freitas Guimarães intitulado: "**Análise da interface adesiva entre um sistema adesivo universal e um sistema adesivo convencional.**". Compuseram a banca examinadora os professores Dra. Karin Cristina da Silva Modena, Dra. Maria Cecília Veronezi Daher e Dra. Carolina Nunes Pegoraro. Após a exposição oral, a candidata foi arguida pelos componentes da banca que se reuniram, e decidiram, aprovada, com a nota 100 a monografia. Para constar, fica redigida a presente Ata, que aprovada por todos os presentes, segue assinada pelo Orientador e pelos demais membros da banca.

Dra. Karin Cristina da Silva Modena (Orientadora)

Dra. Maria Cecília Veronezi Daher (Avaliador 1)

Dra. Carolina Nunes Pegoraro (Avaliador 2)

Dedico este trabalho ao meu Deus, pais amados, irmã, namorado, amigos e professores que me apoiaram, me instruíram e acreditaram em mim, sempre.

AGRADECIMENTOS

Não poderia deixar de agradecer primeiramente a Deus, que planejou tudo com carinho para mim ao longo da minha graduação. Ele cuidou de mim em todos os detalhes e me deu sabedoria e direcionamento para realizar todos meus compromissos acadêmicos com sabedoria e responsabilidade. Ele ouviu as preces de angústia e de alegria, e guiou minha caminhada com sabedoria e amor. A Ele toda minha adoração!

Aos meus pais, que me faltam palavras de tanto que o coração está cheio. A eles todo meu amor e agradecimento, por tanto esforço, dedicação, cuidado, carinho e atenção. Vocês são responsáveis pelo meu caráter e educação. Obrigada por me ensinarem desde criança a correr atrás dos meus sonhos e não desistir nunca, e acima de tudo, obrigada por me ensinarem a olhar para o céu, pois nosso Pai é o caminho da felicidade. Vocês são minha base, meu alicerce, meu espelho e admiração. Amo vocês do tamanho do meu coração!

À minha irmã amada, que é meu exemplo. Sempre foi a irmã mais velha que ajudou, que cuidou e que zelou. Minha nhete, estamos virando colegas de profissão! Que esse amor que temos pela odontologia cresça e que possamos ser parceiras de vida e de sucesso por muitos e muitos anos. Amo você, pois você é parte de mim. Obrigada por tudo! Também agradeço a outra irmã postiça que Deus colocou pra mim: Regina, amiga! Obrigada sempre pelas palavras de consolo, pelas gargalhadas e parceria sempre!! Você fez meu ano ser muito melhor! Amo você!

A todos meus familiares, de longe ou perto, que torceram pelo meu sucesso: meu muito obrigada! Esse título é de vocês!

Ao meu namorado Elon, que além de companheiro, virou melhor amigo. Meu amor, durante muitas noites você secou minhas lágrimas e me encheu de esperança. Me apoiou, me ensinou e não me fez desistir. Você me transborda alegria! Essa alegria também é sua! Te amo.

Aos meus sogros, que me adotaram como filha em Bauru e me apoiaram em todas as situações: meu muito obrigada! Amo vocês de coração!!!

Aos meus colegas de faculdade, que somaram tanto na minha trajetória: Obrigada!! Obrigada pelas parcerias na clínica, pelos grupos de estudos, pela companhia nos dias normais, pelas trocas de experiências, alegrias e angústias...A vocês, minha eterna gratidão! Um pouco de mim fica com vocês, e muito de vocês fica em mim! Desejo todo sucesso do mundo! Obrigada fazerem meus dias mais leves e tranquilos!! Sentirei muitas saudades!

Não menos importante, agradeço à minha orientadora Prof^a Karin Modena! Ela foi escolhida a dedo por Jesus pra mim! Você me acompanhou desde que cheguei em Bauru, e ao longo do tempo, você me moldou! Me ajudou, me fez crescer, confiou em mim e se fez presente em muitos momentos importantes da minha vida (você sabe quais). Você, além de orientadora e professora, virou minha amiga e conselheira. Minha prof, eu não tenho palavras pra agradecer. Você foi sem dúvidas essencial na minha graduação. Muito do que sou como aluna devo a ti. Muito do que mudei devo a ti. Muito do que tenho a agradecer, destino a ti! Obrigada por não desistir de mim e por torcer pelo meu sucesso. Devo muito a ti! Muito obrigada por tudo, de coração!

Sou grata também a minha banca examinadora, Prof^a Maria Cecília e Carolina Pegoraro, que durante minha graduação, me ajudaram, incentivaram e exerceram mais do que o papel de serem professoras. Acima de tudo, foram minhas amigas, e aceitaram prontamente o convite para me examinarem no TCC. Obrigada!! Vocês são exemplo pra mim!

Aos meus professores, que são os pais que adotei, obrigada por transporem sabedoria, foco, determinação e amor! Hoje amo essa profissão por consequência das atitudes de vocês! Obrigada por tanta atenção e carinho! Hoje a vontade de ser professora só cresce por conta de vocês! A todos que me orientaram em clínicas, que trocaram experiências, que ensinaram lições pra vida e ministraram da melhor forma as matérias dadas: Obrigada e obrigada!! O esforço de vocês em serem bons professores resultará em alunos muito dedicados e diferenciados no mercado de trabalho e na vida! Vocês fazem parte dessa conquista! Obrigada!

Agradeço à minha instituição financiadora, a FAPESP (Iniciação Científica- Processo 2014/19613-5), que patrocinou recursos para que a minha pesquisa fosse

realizada, assim como a Faculdade de Odontologia de Bauru (FOB- USP) que disponibilizou os laboratórios de pesquisa e os instrumentos para que a pesquisa pudesse ser realizada. Agradeço também a todos graduandos e pós-graduandos que ajudaram no decorrer das etapas do meu trabalho. Laís, José Lucas, Tamires, Angélica, Raniel, entre outros, muito obrigada por toda ajuda durante esta fase! Foram de extrema importância!

A todos os funcionários da USC, que com muito amor deixaram nossos dias mais leves! Obrigada a cada um pelos sorrisos no dia-a-dia, pelas conversas, pela boa vontade e pela parceria! Levarei cada um com muito amor e saudades no coração!

E por fim, agradeço à USC, que virou meu lar! Daqui levarei momentos bons, boas memórias e a vontade de visitar sempre que puder! Meu muito obrigada!

“Bem sei que tudo podes, e nenhum dos teus planos pode ser frustrado’.
(BÍBLIA SAGRADA, 2014).

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi comparar a espessura e a qualidade da camada híbrida obtida com os sistemas adesivos, Single Bond Universal - SBU (3M ESPE) e Adper Scotchbond Multi-Purpose - ASMP (3M ESPE) ao longo do tempo. Foram realizadas cavidades Classe I em 50 dentes terceiros molares hígidos preparadas com brocas carbide (#245) em alta rotação (4,0 x 3,0 x 5,0mm) e divididos em dois grupos: SBU e ASMP, restaurados com resina composta Filtek™ Z250 (3M ESPE) pela técnica incremental. Para verificar a qualidade da interface adesiva quanto à presença de fendas foi realizada microscopia confocal (30 espécimes) nos períodos de 24 horas, 6 e 12 meses. Para isso, aos sistemas adesivos foi acrescentado a Rodamina B para visualizar a interface adesiva. Para avaliar da espessura da camada híbrida foi realizada microscopia eletrônica de varredura - MEV (JSM- T220A, JOEL Ltd, Tokyo, Japão) (20 espécimes) no período de 24 horas e 6 meses, previamente processados e metalizados em um metalizador (DentronVacuum – Desk IV Moorestown/NJ – USA). Cada micrografia foi mensurada em três regiões utilizando o software UTHSCSA Image Tool versão 3.0. (University of Texas Health Science Center, San Antonio, Texas) e foi realizada a média desses valores. A análise qualitativa mostrou que ambos os adesivos foram capazes de formar camada híbrida sem a presença de fendas. Os resultados da MEV foram analisados por meio do teste t ($p < 0,05$) e os valores médios ($\mu\text{m} \pm \text{dp}$) da espessura da camada híbrida foram: SBU $1,885 \pm 0,612$ e para ASMP $1,844 \pm 0,462$, mostrando que não diferença estatisticamente significativa ($p = 0,869$) entre os grupos.

Palavras- chave: Camada híbrida. Adesivos dentinários. Microscopia Eletrônica de Varredura. Microscopia Confocal.

ABSTRACT

The aim of this study was to compare the thickness and quality of the hybrid layer, obtained with the adhesive systems, Single Bond Universal- SBU (3M ESPE) and Adper Scotchbond Multi-Purpose- ASMP (3M ESPE) over time. Cavities class I were held in 50 healthy third molars teeth prepared with carbide burs (#245) at high speed (4.0 X 3.0 X 5.0 mm) and divided into two groups: SBU and ASMP, restored with composite resin Filtek™ Z250 (3M ESPE) using an incremental technique. To check the quality of the adhesive interface on the presence of gaps was conducted confocal microscopy (30 specimens) during 24 hours, 6 and 12 months. For that, the Rhodamine B has been added to adhesive systems to show the adhesive interface. To assess the thickness of the hybrid layer scanning electron microscopy was performed-MEV (JSM- T220A, JOEL Ltd, Tokyo, Japan) (20 specimens) in the period of 24 hours and 6 months, previously processed in a metalizador (Dentron Vacuum-Desk IV Moorestown/NJ-USA). Each micrograph was measured in three regions using the UTHSCSA Image Tool software version 3.0. (University of Texas Health Science Center, San Antonio, Texas) and the average of these values was made. The qualitative analysis showed that both the stickers were able to form a hybrid layer without the presence of gaps. The results were analyzed by SEM using the t test ($p < 0.05$) and the average values ($\mu\text{m} \pm \text{SD}$) of the hybrid layer thickness were: SBU 1.885 ± 0.612 and ASMP 1.844 ± 0.462 , showing no statistically significant difference ($p = 0.869$) between the groups.

Keywords: Hybrid layer. Adhesives. Scanning electron microscopy. Confocal Microscopy.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA	13
2 OBJETIVO GERAL	17
3 MATERIAIS E MÉTODOS	18
3.1 Preparo dos espécimes	18
3.2 Análise da interface adesiva	20
3.2.1. Influência da rodamina B no Single Bond Universal e no Adper Scotchbond Multi-Purpose.....	20
3.2.2. Determinação da concentração de rodamina B.....	20
3.2.3. Adição de rodamina B nos sistemas adesivos.....	21
3.2.4. Microscopia Confocal para validação do uso da rodamina B.....	21
3.2.5. Teste de resistência de união por microtração para validação do uso da rodamina B.....	22
3.2.6. Análise estatística	22
3.2.7. Qualidade da interface adesiva – microscopia confocal	22
3.2.8. Análise estatística	23
3.3. Espessura e qualidade da interface adesiva – Microscopia Eletrônica de Varredura	23
3.3.1. Análise estatística	24
4 RESULTADOS	24
4.1 Qualidade da camada híbrida por microscopia confocal	24
4.2. Espessura e qualidade da interface adesiva – microscopia eletrônica de varredura	25
5 DISCUSSÃO	27
6 CONCLUSÃO	30
7 REFERÊNCIAS	31

1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

Apesar do rápido progresso na tecnologia dos sistemas adesivos, desde a sua introdução há mais de 50 anos, a interface adesiva ainda continua sendo um dos grandes problemas desse tipo de tratamento restaurador (BRESCHI et al., 2008). Clinicamente, a principal causa de falhas de restaurações de Classe II está relacionada à infiltração marginal, o que pode levar à descoloração marginal, cárie secundária e subsequente perda de retenção (GAENGLER et al., 2004, FERRACANE et al., 2013). Isso força a substituição dessas restaurações com o passar do tempo.

O maior desafio é obter uma adesão igualmente efetiva para dois tecidos duros de natureza diferente: esmalte e dentina. Embora muitos trabalhos revelem excelente efetividade da adesão imediata e em curto prazo (INOUE et al., 2001), a durabilidade e estabilidade da interface adesiva na dentina continuam sendo questionáveis (CARRILHO et al., 2005; DE MUNCK et al., 2005a; TAY et al., 2005). Estudos destacam que os valores imediatos de resistência adesiva nem sempre se correlacionam com a estabilidade adesiva em longos períodos de tempo visto que a degradação ao longo da interface em dentina ocorre rapidamente (CARRILHO et al., 2005; TAY et al., 2005, SPENCER et al., 2010). A sorção de água é uma das principais causas que desestabiliza a adesão entre o sistema adesivo e a estrutura dentária, embora os mecanismos envolvidos na degradação da interface ainda não sejam bem esclarecidos (VAN MEERBEEK et al., 2010).

Uma das causas da baixa durabilidade da resistência adesiva é a ativação das metaloproteinases de matriz (MMP) por ácidos fracos, como o ácido láctico produzido por bactérias da lesão cáriosa, e condicionadores ácidos utilizados com os sistemas adesivos. Esses ácidos descobrem e ativam as MMPs. Outro fator contribuinte é a incompleta infiltração do sistema adesivo nas microporosidades criadas pelo condicionamento ácido. Se todas as fibrilas de colágeno expostas fossem envolvidas pelo sistema adesivo, as MMPs não teriam livre acesso à água, uma condição essencial para a ativação dessas enzimas (PASHLEY et al., 2011, TEKÇE et al., 2016).

A abordagem dos sistemas adesivos convencionais consiste na realização do condicionamento ácido, aplicação e polimerização da combinação de primer e adesivo no mesmo frasco (convencionais de dois passos) ou em frascos separados (convencionais de três passos). Por outro lado, os sistemas adesivos autocondicionantes não necessitam do condicionamento ácido prévio, uma vez que contêm monômeros ácidos que simultaneamente condicionam e infiltram o substrato dental, incorporando a “smear layer”, sem remover o fosfato de cálcio e podem ser subdivididos de acordo com o seu pH ou sua acidez em forte, intermediário ou moderado (DE MUNCK et al., 2005).

O mecanismo de adesão ao esmalte e à dentina é baseado num processo de troca, em que os minerais removidos dos tecidos duros dentais são substituídos por monômeros resinosos que, após a polimerização, tornam-se micromecanicamente unidos nas microporosidades criadas (VAN MEERBEEK et al., 2003). Esse processo, chamado de hibridização, envolve infiltração e polimerização *in situ* das resinas nas microporosidades criadas na superfície do tecido duro (OSORIO et al., 2016). Enquanto que a união micromecânica é um pré-requisito para atingir uma boa adesão, o benefício de interação química adicional entre monômeros funcionais e componentes do substrato dentário tem ganhado atenção (YOSHIDA et al., 2004). Monômeros funcionais, como 10-MDP, contêm grupos carboxílicos e fosfatos que são capazes de interagir quimicamente com o cálcio da hidroxiapatita por meio de ligações iônicas primárias, formando sais estáveis de cálcio-fosfato e cálcio-carboxalato junto com um efeito limitado de descalcificação. Entretanto, a adesão química por si só não é suficiente, é necessário que as ligações iônicas formadas sejam estáveis em ambiente aquoso. A adesão química promovida pelo 10-MDP parece ser não apenas efetiva, mas também mais estável em água que a promovida por outros monômeros funcionais como 4-MET e o fenil P (YOSHIDA et al., 2004).

Em 2012, foi lançado no mercado um novo sistema adesivo, o Single Bond Universal (3M ESPE, Saint Paul – MN, EUA). É um sistema adesivo de frasco único que pode ser usado como convencional, utilizando condicionamento ácido total ou condicionamento ácido seletivo, e como autocondicionante. O que o difere dos demais sistemas adesivos do mesmo fabricante é a substituição dos monômeros metacrilatos (UDMA e GDMA) ou monômero metacrilato fosforilado (MHP) pelo metacrilóxidecila fosfato (MDP) (THEOBALDO et al., 2015). A incorporação do

copolímero do Vitrebond™ confere a esse sistema adesivo a mesma característica observada no cimento de ionômero de vidro modificado por resina Vitrebond™ que, em condições de umidade, mantém a resistência adesiva. O Single Bond Universal (3M ESPE) possui como solventes etanol e água. O etanol, por ser menos volátil que a acetona, ajuda a manter a consistência do sistema adesivo enquanto é utilizado, evitando a separação de fases durante a sua aplicação.

Idealmente, um sistema adesivo deveria ser composto à base de monômeros hidrofóbicos, o que conferiria maior durabilidade clínica ao material. Entretanto, são acrescentados diluentes para que o adesivo penetre nas microporosidades criadas nos tecidos dentais durante a hibridização. A combinação de componentes nesse novo Single Bond Universal determina maior característica hidrofóbica após a polimerização. Antes da polimerização e durante a sua aplicação, o Single Bond Universal é hidrofílico o que permite um ótimo molhamento da estrutura dental. Isso se deve à presença do copolímero do Vitrebond™ em sua composição que, por ser hidrofílico, facilita a hibridização na dentina e após a polimerização do sistema adesivo, esse polímero é consumido, determinando características hidrofóbicas ao material.

Estudos laboratoriais têm demonstrado que o Single Bond Universal produziu maiores valores de força adesiva em esmalte seco (BARKMEIER et al., 2009a), em esmalte condicionado pelo tempo recomendado pelo fabricante, esmalte condicionado por 60 segundos e seco em seguida (BARKMEIER et al., 2009b), em dentina (MCLEOD et al., 2010) e na parede gengival (CAVALCANTI et al., 2010) que os demais sistemas adesivos testados. Também não foram observadas diferenças de resistência de união nas condições de esmalte seco e úmido (BARKMEIER et al., 2009a). Quando submetido à fadiga, o Single Bond Universal apresentou maiores valores de força de cisalhamento para o esmalte seco que para o esmalte úmido. Barkmeier et al. sugerem que a complexa mistura de monômeros, a presença do copolímero do Vitrebond™ e de água pode induzir a possibilidade de separação de fases quando a adesão é realizada na superfície de esmalte úmido.

Os resultados obtidos a partir de estudos laboratoriais devem ser verificados também clinicamente, visto que os mecanismos envolvidos na obtenção e degradação da camada híbrida ocorrem de maneira distinta quando aplicados *in*

vivo. Entretanto é possível realizar o envelhecimento do espécime *in vitro*, embora isso não necessariamente reflita as mudanças que ocorrem no meio bucal e na mesma escala de tempo. A maior parte do conhecimento atual sobre interface adesiva origina-se a partir de estudos laboratoriais. Os testes laboratoriais não devem se tornar uma avaliação isolada, mas permitir o prognóstico do comportamento clínico do material utilizado ou da técnica operatória, por isso igualmente importante como os ensaios clínicos (BAYNE, 2012).

2 OBJETIVO GERAL

Comparar a interface adesiva de um sistema adesivo universal com um sistema adesivo convencional de três passos.

Objetivos específicos

- 1) Comparar a espessura e a qualidade da camada híbrida obtida com os sistemas adesivos, Single Bond Universal e Adper Scotchbond Multi-Purpose ao longo do tempo.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Preparo dos espécimes

Foram utilizados, no total, 50 dentes terceiros molares hígidos com indicação para exodontia obtidos no Laboratório de Fisiologia e Farmacologia Clínica do Departamento de Ciências Biológicas, disciplina de Farmacologia, após assinatura do Termo de Doação pelos respectivos doadores ou obtidos por doação de cirurgiões dentistas, segundo o protocolo de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da FOB-USP aprovado sob nº 336.286. Os dentes foram armazenados em solução de timol a 0,1% à temperatura ambiente por um período inferior a 6 meses. Foram eliminados os dentes com trincas, rachaduras e/ou outros defeitos e aqueles selecionados foram limpos, retirando qualquer resíduo de tecidos periodontais e gengivais aderidos na superfície dentária com curetas manuais. Foram seccionadas as raízes próximo da junção amelo-cementária e realizada planificação das cúspides até expor a dentina (FIGURAS 1 e 2).



Figura 1



Figura 2

Fonte: elaborado pela autora

Cavidades Classe I foram preparadas, em alta rotação, com brocas carbide (#245, KG Sorensen), com 4,0 mm de profundidade em dentina, extensão vestibulo-lingual de 3,0 mm e extensão mesio-distal de 5,0 mm (FIGURA 3) e restauradas com Single Bond Universal - SBU (3M ESPE, Saint Paul – MN, EUA) ou Adper Scotchbond Multi-Purpose - ASBMP (3M ESPE, Saint Paul – MN, EUA) (FIGURAS 4 e 5) e resina composta à base de Bis-GMA (Filtek™ Z250 – 3M ESPE, Saint Paul – MN, USA) usando a técnica incremental (FIGURA 6). Após a aplicação do sistema adesivo, seguindo as orientações do fabricante (tabela 1), a resina composta foi inserida através de incrementos oblíquos, polimerizados por 40 segundos com lâmpada LED (Radii-cal®, SDI Brasil Indústria e Comercio Ltda., Sumaré/SP –

Brasil). Cada incremento de resina composta, com no máximo 2 mm de espessura, foi inserido e polimerizado (FIGURA 7).



Figura 3



Figura 4



Figura 5

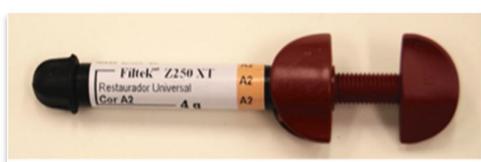


Figura 6



Figura 7

Fonte: elaborado pela autora

Tabela 1- Sistemas adesivos: composição e protocolo.

Material	Composição	Técnica
Single Bond Universal	MDP, BisGMA, HEMA, Copolímero do Vitrebond™ (copolímero do ácido polialcenóico modificado por metacrilato), etanol, água, sistema fotoiniciador, partículas de carga e silano.	1. Condicionamento ácido (Scotchbond Etchant 35%) por 15s, seguido por lavagem com "spray" ar/água por 10s. Remoção do excesso de água com papel absorvente. 2. Aplicação do adesivo por 20 s com movimentos leves com o uso aplicador. Secagem leve com ar por 5 s para evaporar o solvente. Polimerização por 10 s.
Adper Scotchbond Multi-Purpose	Primer: HEMA, copolímero do ácido polialcenóico, água Adesivo: Bis-GMA, HEMA, canforoquinona	1. Condicionamento ácido (Scotchbond Etchant 35%) por 15 s e lavagem com "spray" ar/água por 15 s. Remoção do excesso de água com papel absorvente. 2. Aplicação de uma camada do primer e leve secagem por 5 s 3. Aplicação do adesivo e polimerização por 10 s.

Fonte: elaborada pela autora.

3.2 Análise da interface adesiva

3.2.1. Influência da rodamina B no Single Bond Universal e no Adper Scotchbond Multi-Purpose

Agentes fluorescentes são utilizados em microscopia como uma ferramenta para melhorar a visualização de determinadas características do espécime a partir de certa resolução e contraste. Esses compostos podem ser misturados com sistemas adesivos e possibilitar a análise da micromorfologia da interface adesiva com maior precisão. Quando misturados, a emissão fluorescente característica indica a presença do corante e, portanto do material a que foi adicionado (D'ALPINO et al., 2006). A rodamina B é o fluoróforo mais utilizado para esse propósito (CORONA et al., 2003; DE ALMEIDA et al., 2003; SIDHU et al., 2004).

Sendo assim, foi necessário determinar a concentração de rodamina B para os 2 sistemas adesivos utilizados neste estudo. Para tanto, diferentes concentrações da rodamina foram testados para os sistemas adesivos para determinação da concentração ideal de cada um.

3.2.2. Determinação da concentração de rodamina B

Para determinar a proporção da massa de rodamina B por unidade de volume de sistema adesivo foi tomado como base os estudos de D'Alpino et al (2006b), em que avaliaram a influência da adição de rodamina B no sistema adesivo Adper™ Single Bond 2 em diferentes condições. O valor de 0,16 miligramas de rodamina B para cada mililitro de adesivo (mg/ml), obtido nesse estudo, foi tomado como referência para a determinação de novas proporções entre o fluoróforo e os sistemas adesivos avaliados, buscando-se uma concentração que seja suficiente para a adequada visualização do corante nos espécimes levados ao microscópio confocal e, ao mesmo tempo, que não altere importantes propriedades dos sistemas adesivos no processo de adesão. As concentrações da rodamina B foram definidas com os estudos piloto e, apenas depois disso o corante foi utilizado nos espécimes para serem avaliados em microscopia confocal.

3.2.3. Adição de rodamina B nos sistemas adesivos

A rodamina B (Rhodamine B®; Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Gillingham/New Rd – Reino Unido) foi dissolvida no Single Bond Universal e no adesivo do Adper Scotchbond Multi-Purpose na concentração, miligramas de corante por mililitro do sistema adesivo, determinada pelos estudos pilotos.

Para obter a mistura de corante e sistema adesivo foi utilizado frasco de vidro protegido da luz para pesar a massa de pó em balança analítica com legibilidade de 0,01 mg. O sistema adesivo foi adicionado no volume adequado por meio de pipeta. Após a dissolução do corante, o frasco foi tampado e agitado em aparelho vibrador de alta potência, garantindo a obtenção de uma solução homogênea. Esta operação foi realizada imediatamente após o preparo da mistura e antes de iniciar os procedimentos adesivos/restauradores.

3.2.4. Microscopia Confocal para validação do uso da rodamina B

Os espécimes (3 dentes para cada grupo) foram preparados da mesma maneira descritos no item “Preparo dos espécimes, aplicando-se os mesmos sistemas adesivos, Single Bond Universal e Adper Scotchbond Multi-Purpose, porém previamente marcados pelo corante fluorescente rodamina B (Rhodamine B®; Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Gillingham/New Rd – Reino Unido), adicionado nas concentrações de 0,02µg/mL e 0,1µg/mL em cada sistema adesivo.

Em seguida, os dentes foram imersos em água deionizada e mantidos em estufa à temperatura de 37°C por período mínimo de 24 horas. Após, os dentes foram removidos da estufa, secos e fixados com cera pegajosa no dispositivo metálico de base plana, adaptável na máquina de cortes seriados (Isomet™ Low Speed Saw® Buehler, Lake Bluff - EUA). Os dentes foram seccionados, no sentido mesiodistal da coroa, com disco diamantado (High concentration diamond, Wafering Blade-102 mm x 0,3mm x 12,7 mm / ExcetCorp. Enfield, CT, USA, Ref. 12205 de 1,3cm) em baixa velocidade (150 rpm) e sob refrigeração com água, obtendo-se fatias de espessura média de 0,8 mm (FIGURA 8).



Figura 8

As fatias foram mantidas hidratadas por 24 horas até a análise em microscópio confocal de varredura a laser (Leica TCS SPE, Leica Microsystems CMS, Mannheim, Alemanha), utilizando-se software de microscopia (Leica Application Suite Advanced Fluorescence, Leica Microsystems CMS). A qualidade da interface foi analisada com aumento de 40X (cada 1,0 °— 1,0 mm, 1024 pixels e 0,976 μm em resolução).

Após a análise dos espécimes, foi possível determinar que as concentrações permitiram uma análise adequada da interface. Sendo assim, os testes de resistência de união e a análise em microscopia confocal foram processados.

3.2.5. Teste de resistência de união por microtração para validação do uso da rodamina B

O preparo dos espécimes (30 dentes) e os testes de microtração para validação da concentração da rodamina B foram processados como descritos no item "Preparo dos espécimes".

3.2.6. Análise estatística

Os resultados de resistência de união à dentina para validação do uso da rodamina B foram correlacionados com análise de variância (ANOVA) a um critério e pareados entre si, com nível de significância de 5%.

3.2.7. Qualidade da interface adesiva – microscopia confocal

Os espécimes obtidos de 30 dentes foram preparados e analisados da mesma forma descrita no item anterior

Os espécimes hibridizados pelos sistemas adesivos marcados com rodamina B foram avaliados imediatamente e depois de 6 e 12 meses de envelhecimento.

3.2.8. Análise estatística

Por se tratar de uma avaliação qualitativa, não foi realizada análise estatística.

3.3. Espessura e qualidade da interface adesiva – Microscopia Eletrônica de Varredura

Os espécimes (20 dentes) foram preparados da mesma maneira descritos no item “Preparo dos espécimes”.

Após o procedimento restaurador, os dentes foram imersos em água deionizada e mantidos em estufa a temperatura de 37°C por período mínimo de 24 horas. Após esse período, os dentes foram removidos da estufa, secos e fixados com cera pegajosa em dispositivo metálico de base plana, adaptável na máquina de cortes seriados (Isomet™ Low Speed Saw® Buehler, Lake Bluff - EUA). Em seguida, foram seccionados com disco diamantado (High concentration diamond, Wafering Blade -102 mm x 0,3mm x 12,7 mm / ExcetCorp. Enfield, CT, USA, Ref. 12205 de 1,3cm) em baixa velocidade (150 rpm) e sob refrigeração com água deionizada. O seccionamento ocorreu no sentido mesiodistal da coroa, gerando fatias. As fatias foram imersas em solução de ácido clorídrico 18% (HCl 5N) por 30 segundos, para remoção da *smear layer* superficial, lavadas por 30 segundos com água deionizada, seguido da imersão em hipoclorito de sódio a 5% por 15 minutos, para remoção de todo colágeno não infiltrado pelo sistema adesivo e posterior lavagem por 30 segundos. Os espécimes permaneceram 12 horas secando em temperatura ambiente para depois serem montados em stubs de alumínio e metalizados com ouro-paládio, em um metalizador (DentronVacuum – Desk IV Moorestown/NJ – USA), previamente à observação em MEV (JSM- T220A, JOEL Ltd, Tokyo, Japão). No MEV, os espécimes foram analisados na dentina da interface adesiva a ser testada com aumento de 1000x e 1500x. Cada micrografia foi mensurada em três regiões distintas com o auxílio do software UTHSCSA Image Tool versão 3.0. (Universisty of Texas Health Science Center, San Antonio, Texas) e a média foi realizada com valores encontrados.

3.3.1. Análise estatística

Os resultados foram analisados por meio do teste “t”, com nível de significância de 5%.

4 RESULTADOS

4.1 Qualidade da camada híbrida por microscopia confocal

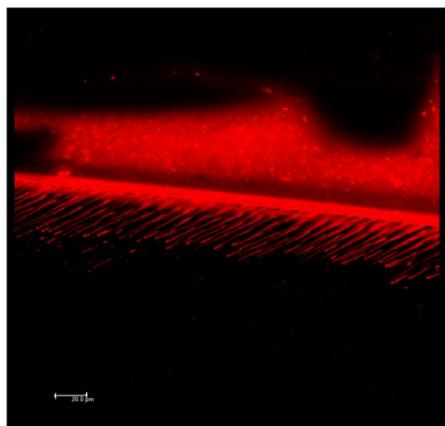
Tabela 2- Validação por Microtração

Valores (MPa±dp)	
ASMP	SBU
41,540±13,265	35,652±10,772

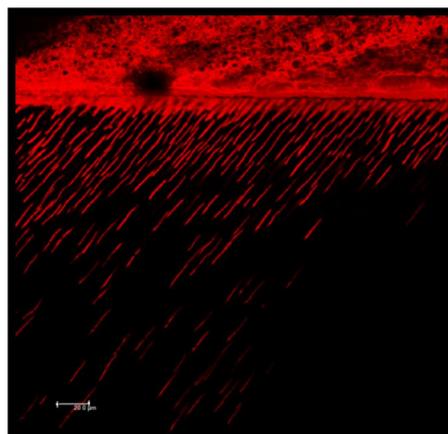
Nos resultados de Microscopia Confocal nos períodos de 24 h, 6 e 12 meses, a análise qualitativa em relação à presença de fendas não mostrou diferença entre os dois sistemas adesivos utilizados (SBU e ASMP). Ambos os adesivos foram capazes de formar camada híbrida sem a presença de fendas.

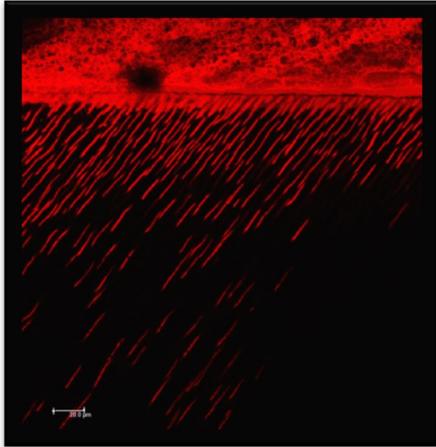
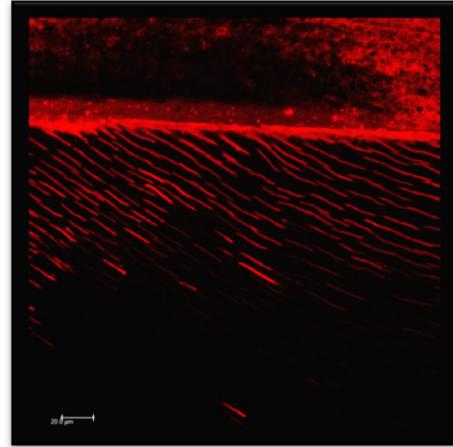
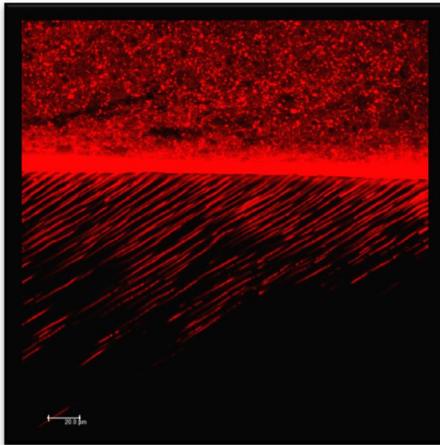
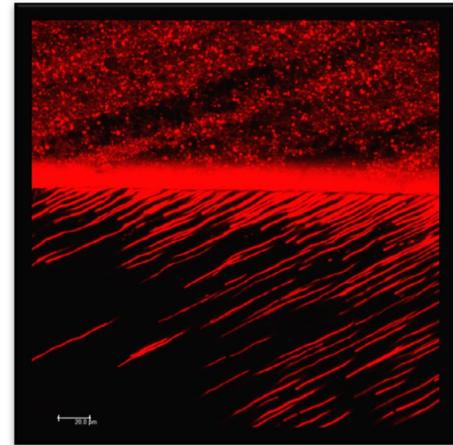
Microscopia Confocal 24 horas:

SBU



SBMP



Microscopia Confocal 6 Meses:SBUSBMP**Microscopia Confocal 12 Meses:**SBUSBMP

Fonte: elaborado pela autora

4.2. Espessura e qualidade da interface adesiva – microscopia eletrônica de varredura

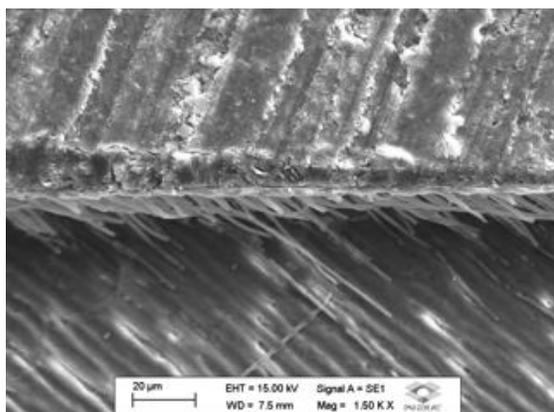
A análise dos resultados por meio do test t ($p < 0,05$) nos períodos de 24 horas e 6 meses não mostrou diferença estatisticamente significativa para os valores de espessura da camada híbrida. Os valores médios ($\mu\text{m} \pm \text{dp}$) foram:

24 horas: Adper Single Bond Universal $1,885 \pm 0,612$ e para Adper Scotchbond Multi-Purpose $1,844 \pm 0,462$.

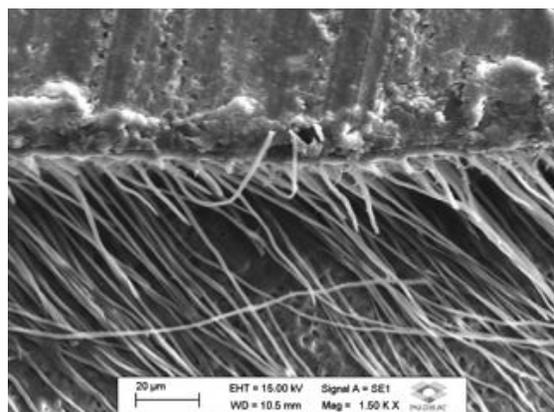
6 meses: Adper Scotchbond Multi-Purpose $2,3282 \pm 0,396$ e para Single Bond Universal $2,168 \pm 0,607$.

MEV 24 horas:

SBU

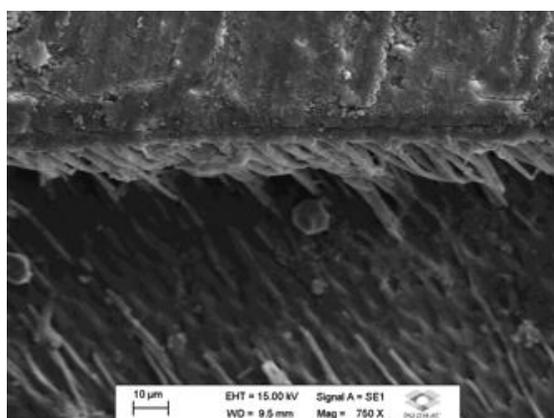


SBMP

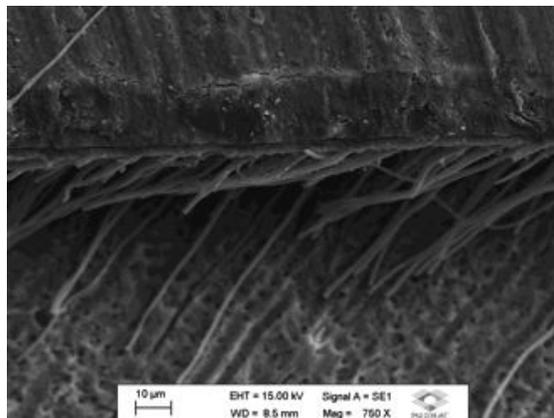


MEV 6 meses:

SBU



SBMP



Fonte: elaborado pela autora.

5 DISCUSSÃO

Os adesivos universais representam a última geração de adesivos no mercado, influenciando a Odontologia Restauradora e tornando possível os tratamentos minimamente invasivos. A adesão ao esmalte é bastante estável a longo prazo, mas estudos *in vivo* e *in vitro* mostram que a adesão à dentina é mais difícil e limitada. O principal problema está na interface de adesão principalmente pela absorção de água que desestabiliza a união dente/restauração (VAN MEERBEEK et al., 2010; PROENÇA et al., 2007; LEHMANN et al., 2009; LIU et al., 2011; MARCHESI et al., 2014; PEUMANS et al., 2005; OPDAM et al., 2014; LOHBAUER et al., 2014).

O sistema adesivo Single Bond Universal tem sido amplamente estudado, já que se trata de um material lançado há pouco tempo no mercado e, se apresentar, segundo o fabricante, como uma revolução na classe dos adesivos. Entretanto, muitos estudos são caracterizados como de curto prazo, o que dificulta a certeza da eficácia do material na longevidade da restauração (PERDIGÃO et al., 2014). Atualmente, a informação disponível acerca de sistemas adesivos universais é reduzida. Em relação à adesão à dentina pouco se sabe, colocando-se questões quanto à equivalência de performance comparando apenas técnicas adesivas iguais ou se esta é superior aos restantes sistemas adesivos existentes no mercado (CHEN et al., 2015).

Nesse contexto, os adesivos de três passos continuam com comportamento de alta performance, tanto em termos de resistência de união como de durabilidade, em função de os componentes hidrófilos e hidrófobos desses produtos estarem em frascos separados, portanto, são considerados padrão ouro nas comparações entre sistemas adesivos (BRESCHI et al., 2007; DE MUNCK et al., 2005).

O presente estudo baseou-se em uma análise *in vitro*, ao longo do tempo da qualidade e espessura da camada híbrida obtida entre os sistemas adesivos Single Bond Universal (3M ESPE, Saint Paul – MN, EUA) e Adper Scotchbond Multi-Purpose (3M ESPE, Saint Paul – MN, EUA). A avaliação dos resultados obtidos pelos testes de microscopia confocal (análise de 24 horas, 6 e 12 meses) e microscopia eletrônica de varredura (24 horas e 6 meses) não mostrou diferença estatisticamente significativa entre os sistemas adesivos testados. Estes resultados concordam com os resultados dos estudos de Lohbauer et al. (2014), mostrando que

o adesivo Single Bond Universal possui resultados tão eficazes e satisfatórios quando comparados aos adesivos convencionais em avaliações a curto prazo. Isso pode ocorrer pelo fato de que o Single Bond Universal possui em sua composição ao invés de monômeros metacrilatos (UDMA e GDMA) o metacrilóxidecilo fosfato (MDP), que confere uma adesão mais íntima com o substrato dentinário, dando características hidrofóbicas após sua polimerização. Outro fator que o fabricante afirma auxiliar na eficácia deste sistema adesivo universal é inserção do copolímero Vitrebond™, que, mesmo em condições de umidade, mantém uma resistência adesiva favorável.

Bouillaguet et al (2001) reforçam a importância da formação da camada híbrida, sendo uma camada resultante da combinação de fibrilas de colágeno e polímero e pode ser definida como a impregnação de um monômero à superfície dentinária desmineralizada, formando uma camada ácido-resistente de dentina reforçada por resina. (NAKABAYASHY et al 1992). Não obstante, a evidência científica existente mostra que ainda não se consegue obter uma camada híbrida ideal, que seja resistente e que consiga manter continuamente a sua resistência adesiva (PERDIGÃO et al., 2013a; SPENCER et al., 2014).

Por meio da avaliação da microscopia confocal, os espécimes foram analisados para verificar qualidade da interface adesiva da restauração e concluiu-se que ambos os sistemas adesivos (SBU e ASMP) foram capazes de formar camada híbrida, sem a presença de fendas e estáveis ao longo de 12 meses de avaliação.

Estudos in vitro mostram que a deterioração da adesão entre a resina e a dentina, a longo prazo, se deve à degradação da camada híbrida, através da degradação hidrolítica dos monômeros do adesivo e da degradação proteolítica das fibras de colagênio pelas metaloproteinases da matriz dentinária (MMPs), o que, conseqüentemente, leva à diminuição da resistência adesiva (Perdigão et al., 2013b). Além disto, pensa-se que a degradação da camada híbrida resulta de um conjunto de eventos consecutivos que se iniciam durante o passo de condicionamento ácido da dentina (SPENCER et al., 2010).

Miyazaki et al (2003) enfatizam que a qualidade da camada híbrida formada é mais importante que a sua espessura e que a resistência e a durabilidade de união entre a restauração de resina e o dente são necessárias para prevenir a microinfiltração e a formação de *gap*. Desta maneira, a espessura da camada

híbrida foi analisada por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e demonstrou que não houve diferença estatisticamente significativa entre os dois sistemas adesivos testados.

Como esta pesquisa se trata de uma parte de um projeto de pós-doutorado com uma pesquisa clínica envolvida, a metodologia utilizada para a restauração da cavidade foi semelhante ao que foi realizado clinicamente, cavidades de Classe I, já que há a influência do fator de configuração cavitária (NIKOLAENKO et al., 2004; BELLI et al., 2006) nos fatores avaliados. Como foi mostrado no estudo de Agulhari et al., espécimes obtidos a partir de cavidades apresentaram redução estatisticamente significativa nos valores de resistência de união devido ao alto fator C.

6 CONCLUSÃO

Pode-se concluir que os sistemas adesivos Single Bond Universal e Scotchbond Multi-Purpose se comportaram de maneira semelhante em relação a espessura e qualidade da camada híbrida pelos períodos avaliados.

7 REFERÊNCIAS

ALMEIDA, J. B. et al. Three different methods to evaluate microleakage of packable composites in Class II restorations. **Operative Dentistry-University of Washington**, v. 28, n. 4, p. 453-460, 2003.

BARKMEIER, Wayne W. et al. Effect of enamel etching time on roughness and bond strength. **Operative dentistry**, v. 34, n. 2, p. 217-222, 2009. Disponível em: < <http://www.jopdentonline.org/doi/pdf/10.2341/08-72>> Acesso 3 out. 2016.

BARKMEIER, Wayne W.; ERICKSON, Robert L.; LATTA, Mark A. Fatigue limits of enamel bonds with moist and dry techniques. **Dental materials**, v. 25, n. 12, p. 1527-1531, 2009.

BAYNE, Stephen C. Correlation of clinical performance with 'in vitro tests' of restorative dental materials that use polymer-based matrices. **Dental Materials**, v. 28, n. 1, p. 52-71, 2012.

BELLI, Sema; DÖNMEZ, Nazmiye; ESKITASCIOĞLU, Gürcan. The effect of c-factor and flowable resin or fiber use at the interface on microtensile bond strength to dentin. **Journal of Adhesive Dentistry**, v. 8, n. 4, 2006.

BRESCHI, L. et al. Dental adhesion review: aging and stability of the bonded interface. **Dental Materials**, v. 24, n.1, 90-101, 2008.

CARRILHO, M. R. et al. Durability of resin-dentin bonds related to water and oil storage. **American Journal of Dentistry**, v. 18, n. 6, p. 315-319, 2005.

CAVALCANTI, Andrea Nóbrega et al. Evaluation of dentin hardness and bond strength at different walls of class II preparations. **J Adhes Dent**, v. 12, n. 3, p. 183-188, 2010. Disponível em: < https://www.researchgate.net/profile/Paula_Mathias/> Acesso 3 fev. 2016.

CHEN, C. et al. Bonding of universal adhesives to dentine—Old wine in new bottles?. **Journal of dentistry**, v. 43, n. 5, p. 525-536, 2015. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0300571215000706>> Acesso 2 abr. 2016.

CORONA, S. A. M. et al. Assessing microleakage of different class V restorations after Er: YAG laser and bur preparation. **Journal of oral rehabilitation**, v. 30, n. 10, p. 1008-1014, 2003.

D ALPINO, Paulo HP et al. Factors affecting use of fluorescent agents in identification DE MUNCK, J. de et al. A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results. **Journal of dental research**, v. 84, n. 2, p. 118-132, 2005.

DE MUNCK, J. de et al. A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results. **Journal of dental research**, v. 84, n. 2, p. 118-132, 2005.

GAENGLER, P. et al. Micromorphological evaluation of posterior composite restorations—a 10-year report. **Journal of oral rehabilitation**, v. 31, n. 10, p. 991-1000, 2004.

INOUE, Satoshi et al. Microtensile bond strength of eleven contemporary adhesives to dentin. **Journal of Adhesive Dentistry**, v. 3, n. 3, p. 237-245, 2001.

LEHMANN, N. et al. Self-etching increases matrix metalloproteinase expression in the dentin-pulp complex. **Journal of Dental Research**, v. 88, n. 1, p. 77-82, 2009.

LIU, Y. et al. Limitations in bonding to dentin and experimental strategies to prevent bond degradation. **Journal of Dental Research**, v. 90, n. 8, p. 953-968, 2011.

MARCHESI, Giulio et al. Adhesive performance of a multi-mode adhesive system: 1-year in vitro study. **Journal of dentistry**, v. 42, n. 5, p. 603-612, 2014.

MCLEOD, M. E.; PRICE, R. B. T.; FELIX, C. M. Effect of configuration factor on shear bond strengths of self-etch adhesive systems to ground enamel and dentin. **Operative dentistry**, v. 35, n. 1, p. 84-93, 2010.

MIYAZAKI, Masashi et al. Influence of self-etching primer drying time on enamel bond strength of resin composites. **Journal of dentistry**, v. 27, n. 3, p. 203-207, 1999.

NAKABAYASHI, N.; TAKARADA, K. Effect of HEMA on bonding to dentin. **Dental Materials**, v. 8, n. 2, p. 125-130, 1992.

NIKOLAENKO, Sergej A. et al. Influence of c-factor and layering technique on microtensile bond strength to dentin. **Dental Materials**, v. 20, n. 6, p. 579-585, 2004.

OPDAM, N. J. M. et al. Longevity of Posterior Composite Restorations A Systematic Review and Meta-analysis. **Journal of dental research**, v. 93, n. 10, p. 943-949, 2014.

PASHLEY, David H.; TAY, Franklin R.; IMAZATO, Satoshi. How to increase the durability of resin-dentin bonds. **Compendium of continuing education in dentistry (Jamesburg, NJ: 1995)**, v. 32, n. 7, p. 60-4, 66, 2011.

PERDIGÃO, J. et al. A new universal simplified adhesive: 18-month clinical evaluation. **Operative dentistry**, v. 39, n. 2, p. 113-127, 2014.

PERDIGÃO, J.; LOGUERCIO, A. D. Universal or multi-mode adhesives: why and how?. **The journal of adhesive dentistry**, v. 16, n. 2, p. 193, 2014.

PEUMANS, Marleen et al. Clinical effectiveness of contemporary adhesives: a systematic review of current clinical trials. **Dental materials**, v. 21, n. 9, p. 864-881, 2005.

PROENÇA, Jatyr P. et al. Dentin regional bond strength of self-etch and total-etch adhesive systems. **Dental materials**, v. 23, n. 12, p. 1542-1548, 2007.

SIDHU, S. K.; MCCABE, J. F. The adaptation and cavity sealing ability of compomer restorative materials. **American journal of dentistry**, v. 17, n. 5, p. 327-330, 2004.

SPENCER, Paulette et al. Adhesive/dentin interface: the weak link in the composite restoration. **Annals of biomedical engineering**, v. 38, n. 6, p. 1989-2003, 2010.

TAY, F. R. et al. Water treeing in simplified dentin adhesives-deja vu?. **Operative Dentistry-University Of Washington-**, v. 30, n. 5, p. 561-579, 2005.

VAN MEERBEEK, B. et al. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. **Operative Dentistry-University Of Washington-**, v. 28, n. 3, p. 215-235, 2003.

VAN MEERBEEK, Bart et al. Relationship between bond-strength tests and clinical outcomes. **Dental Materials**, v. 26, n. 2, p. e100-e121, 2010.

YOSHIDA, Y. et al. Comparative study on adhesive performance of functional monomers. **Journal of Dental Research**, v. 83, n. 6, p. 454-458, 2004.