

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

PROPRIEDADES SUPERFICIAIS DA DENTINA TRATADA COM PLASMA NÃO TÉRMICO ATMOSFÉRICO: AVALIAÇÃO DO ÂNGULO DE CONTACTO E ANÁLISE TOPOGRÁFICA

Trabalho submetido por

Manon Eliard

para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

julho de 2025

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

PROPRIEDADES SUPERFICIAIS DA DENTINA TRATADA COM PLASMA NÃO TÉRMICO ATMOSFÉRICO: AVALIAÇÃO DO ÂNGULO DE CONTACTO E ANÁLISE TOPOGRÁFICA

Trabalho submetido por

Manon Eliard

para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por

Professora Doutora Ana Filipa Chasqueira

julho de 2025

AGRADECIMENTOS

Queria agradecer à minha orientadora de tese, a Professora Doutora Ana Filipa Chasqueira, pela orientação dedicada e pelo apoio constante, tanto durante o desenvolvimento da tese quanto nas atividades clínicas. Sua competência, paciência e comprometimento foram essenciais para a realização deste trabalho. Agradeço profundamente por sua confiança e por todo o suporte oferecido ao longo dessa jornada.

Gostaria de agradecer sinceramente os Professores Jorge Caldeira, Sofia Pessanha, Susana Sérgio que, dedicaram seu tempo e conhecimento para me apoiar durante a realização desta tese.

À mes parents, merci pour votre amour, votre soutien constant et votre confiance indéfectible. Sans vous, rien de tout cela n'aurait été possible.

À mon frère, mon complice de toujours merci d'avoir toujours été là, avec ton écoute, ton humour et ton soutien.

À ma meilleure amie Yuna, même à distance j'ai senti ta présence. Merci d'être la soeur que je n'ai jamais eue.

À ma coloc, Solène, merci pour ton soutien sans faille. Merci pour tes conseils et ta joie de vivre. Ta présence a rendu cette aventure bien plus douce.

À Julie, merci du fond du cœur pour ton aide précieuse, ta patience et ta générosité. Sans toi, cette thèse aurait sûrement perdu quelques pages (et moi quelques neurones).

À Anatole, Anna, Baptiste, Edouard et Valentin, merci pour votre amitié chère et fidèle et tous ces moments partagés qui ont marqué mon parcours, et mes zygomatics. À ma binôme de clinique, Flavie, merci pour ton soutien constant, que ce soit en clinique ou dans la vie. À Léa, merci d'égayer mes journées par ta présence, ta joie de vivre a été un vrai rayon de soleil tout au long de cette aventure. À Lucas, merci pour les fous rires et l'escalade. À Bea, Charles C, Charles G, Guillaume, Lilou, Marguerite et Salomé, merci pour tous ces instants partagés qui ont rendu ces années aussi belles qu'inoubliables.

RESUMO

Objetivo: Com o presente estudo laboratorial, pretendeu-se avaliar o efeito do Plasma não térmico atmosférico (PNTA) na superfície da dentina, sendo analisada, para isso, a influência do tratamento de superfície (condicionamento com ácido ortofosfórico a 37% ou aplicação de PNTA) na molhabilidade da dentina. Foi ainda examinada a topografia da superfície dentinária antes e após os dois tratamentos.

Materiais e Métodos: Para a primeira fase do estudo foram utilizados 10 dentes humanos hígidos. Os dentes foram seccionados num micrótomo de tecidos duros, de forma a obter um disco de dentina por dente. Foram criados dois grupos experimentais ($n=5$) de acordo com a preparação da superfície da dentina. Num dos grupos, foi aplicado PNTA ; no outro, ácido fosfórico a 37%. A influência na molhabilidade foi avaliada através da medição do ângulo de contacto antes e após a preparação do substrato dentinário, com recurso a um espectro-goniómetro. Numa segunda fase de estudo, foram utilizados 4 dentes humanos hígidos, distribuídos pelos tratamentos ($n=2$). A avaliação da topografia da superfície da dentina foi feita com recurso a um microscópio de força atómica.

Resultados: Observou-se uma diminuição significativa do ângulo de contacto após o tratamento em ambos os grupos ($p=0,005$). Contudo, nenhuma das duas abordagens demonstrou ser significativamente mais eficaz do que a outra na modificação da molhabilidade ($p > 0,05$). Adicionalmente, constatou-se que o tratamento com PNTA não provoca alterações na topografia da superfície dentinária, ao passo que o condicionamento com ácido ortofosfórico a 37% induz modificações visíveis na estrutura e aumenta a rugosidade.

Conclusões: Tanto o ácido ortofosfórico a 37% como o PNTA demonstraram ser eficazes na melhoria da molhabilidade da dentina. No entanto, enquanto o tratamento com PNTA preserva a topografia da superfície dentinária, o condicionamento com ácido ortofosfórico a 37% provoca alterações estruturais evidentes.

Palavras-chave: Plasma não térmico atmosférico, ácido fosfórico, molhabilidade, topografia.

ABSTRACT

Purpose: In this laboratory study, the aim was to evaluate the effect of Atmospheric Non-Thermal Plasma (ANTP) on the dentin surface, by analyzing the influence of surface treatment (conditioning with 37% phosphoric acid or application of ANTP) on dentin wettability. The topography of the dentin surface was also examined before and after both treatments.

Materials and Methods: In the first phase of the study, 10 sound human teeth were used. The teeth were sectioned using a hard tissue microtome to obtain one dentin disc per tooth. Two experimental groups ($n=5$) were created according to the dentin surface preparation. In one group, NATP was applied; in the other, 37% phosphoric acid. The influence on wettability was assessed by measuring the contact angle before and after preparation of the dentin substrate, using a spectro-goniometer. In a second phase of the study, 4 sound human teeth were used, distributed between the treatments ($n=2$). The dentin surface topography was evaluated using an atomic force microscope.

Results: A significant decrease in the contact angle was observed after treatment in both groups ($p=0.005$). However, neither approach proved to be significantly more effective than the other in modifying wettability ($p > 0.05$). Additionally, it was found that treatment with NATP does not cause changes in the topography of the dentin surface, whereas conditioning with 37% phosphoric acid induces visible structural modifications and increases surface roughness.

Conclusions: Both 37% phosphoric acid and NATP proved effective in improving dentin wettability. However, while NATP treatment preserves the topography of the dentin surface, conditioning with 37% phosphoric acid causes evident structural changes.

Keywords: Non-thermal atmospheric plasma, phosphoric acid, wettability, topography.

Índice

<i>I. INTRODUÇÃO</i>	13
1. Estrutura e propriedades da dentina	13
1.1. Composição bioquímica e estrutura microscópica	13
1.2. Adesão à dentina	15
2. Plasma não térmico atmosférico (PNTA): princípios e aplicações biomédicas	18
2.1. Definição e tipos de plasmas.....	18
2.2. Efeitos do PNTA em superfícies biológicas e a sua utilização na Medicina Dentária.....	20
3. Métodos de avaliação das propriedades da superfície da dentina	22
3.1. Medição do ângulo de contacto	22
3.2. Microscopia de força atómica	23
<i>II. OBJETIVOS</i>	27
<i>III. MATERIAIS E MÉTODOS</i>	29
1. Desenho experimental	29
1.1. Seleção e armazenamento das amostras	29
1.2. Dispositivo PNTA.....	29
2. Métodos	30
2.1. Medição do ângulo de contacto, nos diferentes grupos experimentais, com goniómetro	31
2.2. Análise qualitativa da superfície da dentina, dos diferentes grupos experimentais, com microscopia de força atómica (MFA).....	33
<i>IV. RESULTADOS</i>	35
<i>V. DISCUSSÃO</i>	43
<i>VI. CONCLUSÕES</i>	47
<i>VII. BIBLIOGRAFIA</i>	49
<i>VIII. ANEXOS</i>	47

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Microscópio de Força Atómica (Accutom 50, Struers, Ballerup, Dinamarca)	24
Figura 2.	Esquema ilustrativo do funcionamento do MFA.....	24
Figura 3.	Micrótomo de tecidos duros (Accutom 50, Struers, Ballerup, Dinamarca)	30
Figura 4.	Disco de dentina, obtido após corte do dente	30
Figura 5.	Espectro-goniómetro do laboratório de física na FCT-UNL com o disco de dentina	31
Figura 6.	Ácido ortofosfórico a 37% utilizado no estudo (3M ESPE)	32
Figura 7.	Dispositivo de PNTA utilizado no estudo	32
Figura 8.	Tratamento do disco de dentina com PNTA durante 10 s	32
Figura 9.	Ilustração da medição do ângulo de contacto (θ_c).....	33
Figura 10.	MFA (Workshop, Table Top, Califórnia) do laboratório de química na FCT-UNL	33
Figura 11.	Fotografia de dentina antes tratamento ácido com recurso ao MFA (Workshop, Table Top, Califórnia)	38
Figura 12.	Fotografia de dentina após tratamento ácido de 15 s com recurso ao MFA (Workshop, Table Top, Califórnia)	39
Figura 13.	Fotografia de dentina antes tratamento com PNTA com recurso ao MFA (Workshop, Table Top, Califórnia)	39
Figura 14.	Fotografia de dentina após tratamento com PNTA com recurso ao MFA, sítio 1 (Workshop, Table Top, Califórnia)	40
Figura 15.	Fotografia de dentina após tratamento com PNTA com recurso ao MFA, sítio 2 (Workshop, Table Top, Califórnia)	40

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Valores dos ângulos de contacto medidos no espectro-goniómetro com condicionamento ácido.....	35
Tabela 2. Valores dos ângulos de contacto medidos no espectro-goniómetro com PNTA.....	35
Tabela 3. Análise descritiva dos ângulos de contacto medidos.....	36
Tabela 4. Teste de <i>Wilcoxon</i> para a variável do ácido ortofosfórico.....	36
Tabela 5. Teste de <i>Wilcoxon</i> para a variável do PNTA.....	37
Tabela 6. Teste de <i>Mann–Whitney</i> para os dois tratamentos.....	38
Tabela 7. Medidas da rugosidade da dentine antes e após tratamento com PNTA.....	41

LISTA DE ABREVIATURAS

NCPs - Proteínas não colagénicas

JAD - Junção amelo-dentinária

HEMA - Hidroxietilmetacrilato

MMPs- Metaloproteinases da matriz

EDTA - Acido etilenodiamino tetra-acético

QAMs - Amónio quaternário

PNTA - Plasma não térmico atmosférico

DBD - Descarga de barreira dielétrica

APPJ - Jatos de plasma atmosférico

cLSM - Microscopia confocal de varrimento a laser

MEV - Microscopia eletrónica de varrimento

XPS - Espectroscopia fotoelectrónica por raios X

MFA - Microscopia de Força Atómica

FTIR - Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier

10-MDP – 10-metacril-desoxidecil-dihidrogenofosfato

EDC - 1,2-Dicloroetano

eV - Eletrão-volt

kV - Quilovolt

s - Segundos

mm - Milímetros

µm - Micrómetros

I. INTRODUÇÃO

1. Estrutura e propriedades da dentina

1.1. Composição bioquímica e estrutura microscópica

A dentina é um tecido conjuntivo mineralizado, vivo e rico em água, que constitui a maior parte da estrutura dentária (Hilton et al., 2013; Tjäderhane et al., 2011). É produzida pelos odontoblastos localizados na periferia da polpa dentária. De origem papilar, a dentina torna-se um tecido estável após a conclusão da formação radicular, não sofrendo remodelação fisiológica, ao contrário do tecido ósseo (Tjäderhane et al., 2011). A dentina estabelece uma ligação funcional com o esmalte, na coroa, e o cimento, na raiz, desempenhando simultaneamente um papel fundamental na proteção da polpa, na receção e na transmissão de estímulos externos, bem como na absorção das forças oclusais (Nanci, 2003).

Do ponto de vista bioquímico, a dentina é um material compósito hidratado, constituído por três componentes principais: fase mineral, matriz orgânica e água (Hilton et al., 2013; Tjäderhane et al., 2011). A componente mineral representa cerca de 70% da massa seca e 45% do volume total. É composta principalmente por cristais de hidroxiapatite carbonatada, que integram essencialmente cálcio e fósforo (Bertassoni et al., 2015; Shahmoradi et al., 2014). Estes cristais, de dimensões inferiores às do esmalte, são mais suscetíveis à dissolução em meio ácido, o que justifica a maior vulnerabilidade da dentina aos processos de cárie (Nanci, 2003).

A matriz orgânica representa cerca de 20% do peso e 30 a 33% do volume da dentina. É composta maioritariamente por colagénio do tipo I, disposto sob a forma de uma rede fibrilar tridimensional que atua como suporte à mineralização (Tjäderhane et al., 2011). Encontram-se também colagénios dos tipos III e V, em menores quantidades, bem como um conjunto de proteínas não colagénicas (NCPs) envolvidas nas fases de nucleação e crescimento cristalino (Nanci, 2003). A matriz contém ainda proteoglicanos e glicosaminoglicanos, que correspondem a cerca de 10% da componente orgânica,

localizando-se entre as fibrilas de colagénio e ao longo das paredes dos túbulos dentinários, onde regulam a organização da rede e a dinâmica da mineralização. Os lípidos estão presentes em concentrações muito reduzidas, inferiores a 2% (Tjäderhane et al., 2011).

A água constitui aproximadamente 10% do peso da dentina e entre 20 a 25% do seu volume (Tjäderhane et al., 2011 ; Goldberg et al., 2012). A sua distribuição não é homogénea ao longo do tecido: é mínima junto à junção amelo-dentinária (cerca de 1 %) e aumenta progressivamente até atingir cerca de 22% na zona próxima da polpa (Tjäderhane et al., 2011). Este teor em água é essencial para manter as propriedades mecânicas do tecido, facilitar a difusão de iões e macromoléculas e garantir a transmissão dos estímulos (Nanci, 2003).

Microscopicamente, a dentina apresenta uma estrutura tubular densa e organizada, composta por milhares de túbulos dentinários que se estendem desde a polpa até à junção amelo-dentinária (JAD). Estes canais, com diâmetros entre 0,5 e 3 μm , são mais numerosos nas regiões profundas (até 45 000 túbulos/ mm^2) e menos densos na periferia (cerca de 15 000 túbulos/ mm^2) (Pashley, 1996). O seu trajeto não é linear, particularmente ao nível da coroa, onde assumem uma configuração curva em forma de "S". Cada túbulo contém um prolongamento citoplasmático de um odontoblasto e líquido intersticial, que contribuem para a perceção sensorial e a condução de estímulos térmicos ou mecânicos até à polpa (Hilton et al., 2013; Pashley, 1996).

Distinguem-se vários tipos de dentina, de acordo com a sua localização e função. A dentina intertubular, que constitui a maior parte do volume dentinário, é composta por uma matriz colagénica mineralizada de tipo I, sendo responsável pela resistência mecânica do tecido. Já a dentina peritubular, ou intratubular, forma uma camada altamente mineralizada em torno de cada túbulo (Hilton et al., 2013; Pashley, 1996). Esta é desprovida de colagénio, mas rica em proteínas fosforiladas, proteoglicanos e glicosaminoglicanos (Goldberg et al., 2012; Nanci, 2003). Com o avanço da idade, esta camada tende a espessar-se, podendo obliterar os túbulos e diminuir a sua permeabilidade (Pashley, 1996). A dentina do manto, localizada sob a JAD, representa a porção mais externa da dentina primária. É pouco mineralizada, praticamente atubular, e intervém na dissipação das forças mecânicas exercidas sobre o esmalte (Goldberg et al., 2012). A

dentina interglobular corresponde a zonas de mineralização incompleta, resultantes da fusão defeituosa de centros de cristalização. Por fim, a dentina terciária é uma forma de dentina produzida em resposta a agressões externas (cáries, abrasão, trauma). Pode ser sintetizada pelos odontoblastos sobreviventes, sendo designada dentina reacional, ou por células da polpa que se diferenciam em situações de lesão mais grave, originando dentina reparadora. Esta última apresenta uma estrutura heterogênea e irregular, refletindo a capacidade adaptativa do tecido frente a estímulos lesivos (Nanci, 2003).

O processo de formação da dentina, conhecido por dentinogénese, baseia-se na atividade dos odontoblastos, que sintetizam os componentes da matriz extracelular. A mineralização desta matriz decorre através de três mecanismos principais: por meio de vesículas matriciais na dentina do manto, através da matriz extracelular na dentina intertubular, ou por difusão de proteínas de origem sérica na dentina peritubular. Estes mecanismos refletem um controlo preciso e localizado da mineralização, consoante o tipo de dentina envolvido (Goldberg et al., 2012; Nanci, 2003).

1.2. Adesão à dentina

A adesão à dentina baseia-se na capacidade dos monómeros de resina penetrarem na estrutura dentinária, substituindo os minerais eliminados durante o condicionamento ácido. Após a sua polimerização, estes monómeros ancoram-se fisicamente no seio da rede de colagénio exposta, originando uma interface estruturalmente organizada conhecida como camada híbrida. Para alcançar esta interface adesiva, utilizam-se principalmente duas estratégias: a técnica *etch-and-rinse* e a técnica *self-etch* (Cardoso et al., 2011; Hanabusa et al., 2012).

Um elemento fundamental nestes processos é a *smear layer*, uma camada superficial constituída por detritos orgânicos e inorgânicos resultantes da preparação mecânica da dentina, como ocorre durante a realização de cavidades com instrumentos rotativos. Esta camada recobre a superfície dentinária, assim como os orifícios dos túbulos dentinários sob a forma de *smear plugs* (Perdigão, 2010). A *smear layer* possui baixa coesão interna e reduzida capacidade de adesão intrínseca, funcionando como uma barreira física que limita a interação direta entre os adesivos e o tecido dentinário

subjacente (Van Meerbeek et al., 1998). A sua eliminação, modificação ou dissolução parcial representa, por isso, um aspeto crítico no sucesso das estratégias adesivas (Perdigão, 2010).

Na estratégia *etch-and-rinse*, a aplicação de ácido fosfórico tem como objetivo remover por completo a *smear layer* e promover a desmineralização controlada da dentina superficial, expondo assim a rede de fibrilas de colagénio. Seguidamente, é aplicado um *primer* hidrofílico, responsável por reidratar essa matriz colagénica, criando condições favoráveis à penetração da resina adesiva. Esta, ao infiltrar a zona desmineralizada, estabelece, após polimerização, uma camada híbrida estável. Paralelamente, formam-se os denominados *resin tags*, prolongamentos de resina que se inserem nos túbulos dentinários abertos, os quais asseguram uma retenção micromecânica suplementar, reforçando a coesão e a estabilidade da interface adesiva (Cardoso et al., 2011).

Na abordagem *self-etch*, os monómeros ácidos presentes no adesivo modificam a *smear layer* sem a eliminar totalmente, criando uma zona de transição progressiva entre a dentina e o adesivo (Pashley & Carvalho, 1997; Perdigão, 2010; Van Meerbeek et al., 1998). Dependendo do seu pH, estes sistemas desmineralizam de forma mais ou menos profunda e, em alguns casos, preservam cristais de hidroxiapatite em torno das fibrilas de colagénio, o que permite a formação de ligações químicas adicionais, especialmente através do monómero funcional 10-metacril-desoxidecíl-dihidrogenofosfato (10-MDP). (Cardoso et al., 2011).

A eficácia da adesão à dentina pode ser influenciada por diversos fatores. A qualidade do substrato dentinário é um dos principais, sendo que a presença de dentina cariada, esclerosada ou estruturalmente alterada compromete a ligação adesiva devido às suas modificações morfológicas e minerais (Cardoso et al., 2011; Perdigão, 2010). A humidade é outro fator determinante. Uma hidratação adequada do colagénio, tal como promovida pela técnica de *wet bonding*, é essencial para manter a porosidade do tecido e permitir a difusão da resina (Perdigão, 2010). No entanto, o excesso de água pode diluir os monómeros e prejudicar a polimerização, pelo que é essencial um controlo preciso da humidade (Van Meerbeek et al., 1998).

A permeabilidade dentinária, que varia com a profundidade da dentina, a orientação dos túbulos e o estado patológico do tecido, influencia diretamente a capacidade de infiltração dos monómeros de resina (Pashley & Carvalho, 1997). Por sua vez, o tipo de sistema adesivo utilizado, incluindo o número de etapas clínicas, a presença de monómeros como o hidroxietilmetacrilato (HEMA) ou o 10-MDP, o tipo de solventes utilizados e a presença de aditivos com propriedades antibacterianas ou de liberação de flúor, pode afetar a qualidade da adesão, a retenção e a sua durabilidade a longo prazo (Cardoso et al., 2011).

Apesar dos significativos avanços tecnológicos, a camada híbrida continua a ser o ponto mais vulnerável da interface adesiva, sendo particularmente suscetível à degradação ao longo do tempo (Pashley & Carvalho, 1997). Entre os principais mecanismos responsáveis por essa degradação destacam-se a hidrólise dos polímeros de resina, potenciada pela presença constante de água e pela natureza hidrofílica de certos monómeros; a atividade enzimática exercida por metaloproteinases da matriz (MMPs) e catepsinas, que comprometem a integridade das fibrilas de colagénio expostas; a infiltração incompleta da rede de colagénio pelos monómeros, que resulta em zonas colagénicas não protegidas; e, por fim, as variações térmicas e mecânicas decorrentes das cargas funcionais diárias, que impõem stress contínuo sobre a interface adesiva (Breschi et al., 2018; Cardoso et al., 2011).

Para melhorar a estabilidade da interface resina-dentina, diversas estratégias têm sido propostas. A aplicação de inibidores enzimáticos, como a clorohexidina, o ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) ou compostos de amónio quaternário (QAMs), têm demonstrado eficácia na inibição das metaloproteinases matriciais (MMP). O uso de agentes reticulantes, como o 1,2-Dicloroetano (EDC) ou a genipina, permite reforçar a estrutura colagénica, tornando-a menos suscetível à degradação proteolítica. Métodos alternativos de colagem, como o *dry bonding* com etanol por exemplo, melhoram a molhabilidade da superfície e reduzem a absorção de água. O *dry bonding* é um método que visa reduzir a quantidade de humidade na camada híbrida, de forma a melhorar tanto a durabilidade quanto o desempenho da adesão. Ao contrário dos métodos tradicionais de *wet bonding*, que utilizam água, o *dry bonding* procura minimizar a humidade residual na interface adesiva. Para tal, existem principalmente duas técnicas. A primeira baseia-se na

utilização de primers autocondicionante, onde a dentina é previamente seca antes da aplicação do primer, que contém uma quantidade de água menor. O adesivo é então aplicado diretamente, sem necessidade de lavagem, o que permite manter a superfície de adesão mais seca e estável (Cardoso et al., 2011). A segunda técnica utiliza um quelante de cálcio, que elimina seletivamente os minerais da dentina, criando assim espaços na matriz para permitir que a resina se infiltre melhor. O objetivo fundamental do *dry bonding* é evitar a ativação das enzimas de degradação presentes na dentina, como as MMPs, garantindo assim uma adesão mais estável e duradoura ao longo do tempo (Breschi et al., 2018). Estratégias de remineralização biomimética procuram restaurar zonas desmineralizadas e não infiltradas, promovendo a formação de cristais de apatite ao redor das fibrilas de colagénio (Breschi et al., 2018).

A adesão à dentina é, portanto, um processo multifatorial e altamente dependente de variáveis anatómicas, bioquímicas e clínicas. Embora os materiais e técnicas adesivas atuais permitam alcançar bons resultados imediatos, a durabilidade da adesão a este substrato continua a ser um dos principais desafios da dentisteria contemporânea. (Cardoso et al., 2011).

2. Plasma não térmico atmosférico (PNTA): princípios e aplicações biomédicas

2.1. Definição e tipos de plasmas

O plasma é considerado o quarto estado da matéria, para além dos estados sólido, líquido e gasoso (López et al., 2019 ; Silva et al., 2023). Embora seja pouco frequente na Terra, é o estado dominante da matéria no universo, representando cerca de 99% da matéria visível, presente em formas como estrelas, nebulosas, vento solar e na ionosfera (López et al., 2019). Ele é um meio condutor de eletricidade, composto por uma mistura de partículas neutras, iões e eletrões livres, que se formam quando um gás é energizado, resultando na sua ionização parcial ou total (Borges et al., 2021).

Descoberto em 1879 por Sir William Crookes e nomeado "plasma" em 1928 por Irving Langmuir, este estado apresenta características físicas distintas que o diferenciam dos gases comuns (Cha & Park, 2014; Hoffmann et al., 2013). O plasma responde a

campos elétricos e magnéticos, e as suas partículas frequentemente interagem de maneira coletiva (Ranjan et al., 2017). Este pode dar origem a fenômenos como o blindagem de Debye e a quase-neutralidade, em que as densidades de íons e elétrons são praticamente iguais (Braný et al., 2020).

O plasma contém várias espécies altamente reativas, como íons, elétrons energéticos, radicais livres, átomos e moléculas excitadas e fótons UV (Tanaka & Hori, 2017). Esses componentes conferem-lhe propriedades químicas e físicas valiosas para diversas aplicações. Nos laboratórios, o plasma é normalmente gerado a partir de gases nobres (como argônio, hélio, azoto e oxigênio), utilizando métodos de excitação como micro-ondas, radiofrequências ou campos elétricos alternados ou contínuos (Borges et al., 2021). Um campo elétrico contínuo é um campo estável ao longo do tempo, no qual a energia é transferida para os elétrons, levando-os a ionizar o gás. Os campos elétricos alternados, por sua vez, variam periodicamente ao longo do tempo (Bruggeman et al., 2019).

Os plasmas são classificados de acordo com o seu grau de ionização e o seu equilíbrio térmico (López et al., 2019; Silva et al., 2023). O grau de ionização é uma medida da extensão da ionização de um gás, indicando a proporção de átomos ou moléculas no gás que perderam elétrons para formar íons e elétrons livres (Tabares & Junkar, 2021). O equilíbrio térmico corresponde a um estado em que as temperaturas das diferentes espécies de partículas presentes no plasma são iguais ou muito próximas umas das outras. Em outras palavras, num plasma em equilíbrio térmico, os elétrons, os íons e as partículas neutras (como os átomos ou moléculas) partilham uma temperatura similar. Já no equilíbrio não térmico, estas últimas não partilham a mesma temperatura. Ou seja, num plasma não térmico, os elétrons possuem uma temperatura muito mais elevada do que a dos íons e dos átomos ou moléculas neutras (Kaushik et al., 2019). Do ponto de vista térmico, distinguem-se duas grandes categorias (Valizadeh et al., 2021) :

- **Plasmas térmicos**, onde os elétrons, íons e partículas neutras estão em equilíbrio térmico, ou seja, com temperaturas semelhantes, frequentemente na faixa de milhares de kelvins (Braný et al., 2020).
- **Plasmas não térmicos**, também conhecidos como plasmas frios, onde apenas os elétrons têm alta energia (vários elétron-volt (eV), equivalentes a dezenas de

milhar de kelvins), enquanto os iões e as partículas neutras permanecem a uma temperatura muito mais baixa, por vezes próxima à temperatura ambiente (300–1000 K). Este desequilíbrio térmico é a causa de várias reações químicas sem aumento significativo da temperatura global do gás (Braný et al., 2020).

O plasma não térmico atmosférico (PNTA) tem um ponto de aplicação que não ultrapassa os 40 °C (Arora et al., 2013; Von Woedtke et al., 2020). Ele pode ser gerado à pressão atmosférica por dispositivos como descarga de barreira dielétrica (DBD), jatos de plasma atmosférico (APPJ), agulhas de plasma ou lápis de plasma (Hoffmann et al., 2013; Lata et al., 2022). O PNTA pode ser gerado por meio de gás, como o hélio, argon mistura hélio-oxigénio, ou azoto (Hoffmann et al., 2013).

A densidade eletrónica no PNTA varia conforme o tipo de fonte, o gás utilizado e a potência aplicada, podendo ir de 10^{11} à 10^{16} cm⁻³, o que representa cerca de 0,1% da densidade total das partículas neutras à pressão atmosférica. A temperatura dos eletrões pode atingir vários eV, enquanto a temperatura do gás se mantém moderada (cerca de 10^3 K), o que permite o tratamento de materiais sensíveis ao calor ou o seu uso em ambientes biológicos (Bárdos & Baránková, 2010).

2.2. Efeitos do PNTA em superfícies biológicas e a sua utilização na Medicina Dentária

O uso do PNTA está a crescer rapidamente no campo da medicina dentária devido à sua capacidade de interagir com os materiais dentários e os tecidos biológicos, principalmente ao modificar as suas propriedades de superfície e gerar espécies reativas (Silva et al., 2023). Este tratamento apresenta um grande potencial para melhorar a eficácia dos tratamentos dentários, particularmente na eliminação dos biofilmes bacterianos dos canais radiculares e na modificação das propriedades físicas e químicas da superfície dos substratos dentários, de modo a otimizar a adesão dos materiais restauradores (Ranjan et al., 2017; Silva et al., 2023). A utilização de plasma em Medicina Dentária apresenta também potencial para a esterilização dos instrumentos dentários, para o branqueamento dentário, para a regeneração tecidular e redução da inflamações nos

tratamentos endodônticos e periodontais (Ranjan et al., 2017; Lata et al., 2022). Um estudo conduzido por Schaudinn et al. demonstrou que o PNTA reduziu a população bacteriana em relação ao grupo não tratado, embora essa redução tenha sido inferior à observada com NaOCl a 6 %. A imagiologia por microscopia confocal de varrimento a laser (cLSM) mostrou também que as zonas tratadas com plasma nos canais radiculares estão desprovidas de sinal, sugerindo a eliminação do biofilme nessas áreas. As amostras tratadas com PNTA revelaram bactérias mortas, células danificadas e bactérias vivas. Por outro lado, os canais radiculares tratados com NaOCl mostraram bactérias mortas espalhadas por toda a extensão dos canais, embora vestígios de biofilme vivo tenham sido observados em alguns pequenos canais secundários (Schaudinn et al., 2013).

Num estudo realizado por Lehmann et al., foi observado que o tratamento com jato de plasma provocou uma alteração significativa na rugosidade das superfícies dentárias, especialmente na dentina, onde foi constatado um ligeiro aumento da rugosidade após o tratamento. Do ponto de vista morfológico, a análise das superfícies com a microscopia eletrônica de varrimento (MEV) revelou que o tratamento com plasma aumenta a rugosidade das zonas intertubulares da dentina. (Lehmann et al., 2013).

O tratamento com PNTA melhora a molhabilidade das superfícies dentárias, reduzindo o ângulo de contacto da água e do etileno glicol nas superfícies de esmalte e dentina. Este efeito é particularmente acentuado na dentina, onde o ângulo de contacto se reduz consideravelmente após o tratamento (Silva et al., 2023). Além disso, a combinação do tratamento com plasma e o condicionamento ácido permite melhores resultados em termos de molhabilidade, facilitando a subsequente penetração de materiais fluídos no substrato dentário. Em vários casos, o ângulo de contacto é tão baixo que a superfície dentária torna-se totalmente molhável, permitindo uma penetração quase instantânea das gotas de fluido. (Lehmann et al., 2013).

No mesmo estudo, a análise de superfície por espectroscopia fotoelectrónica por raios X (XPS) mostrou que o plasma provocou uma redução notável do carbono nas superfícies do esmalte. Esta redução é acompanhada de um aumento nas concentrações de cálcio, fósforo e oxigénio, sugerindo uma alteração química benéfica para as propriedades da superfície. A adição de água desionizada no fluxo de gás do plasma também favorece a formação de ligações C-O, O=C-O e CO_3^{2-} , indicando a formação de

grupos hidrofílicos nas superfícies. Além disso, o uso de plasma enriquecido com peróxido de hidrogénio permite reforçar a formação de ligações C-O. O condicionamento ácido do esmalte favorece a formação de grupos carbonilo (C=O), indicando uma oxidação parcial da superfície. No entanto, o efeito combinado do condicionamento ácido e do tratamento com plasma minimiza esse efeito de oxidação, aumentando novamente a formação de ligações hidrofílicas (Lehmann et al., 2013).

Apesar do seu potencial, o PNTA apresenta algumas limitações, nomeadamente no que diz respeito à sua capacidade de penetrar eficazmente nos canais radiculares mais profundos para eliminar completamente o biofilme. Foi constatado que o plasma necessitava de uma proximidade imediata com o biofilme para ser eficaz. Assim, são necessárias melhorias no design dos dispositivos de PNTA, nomeadamente tornando as agulhas mais flexíveis e capazes de penetrar nas zonas de difícil acesso dos canais radiculares. Um protótipo de micro-PNTA, baseado numa agulha de irrigação flexível de calibre 30, está atualmente em desenvolvimento para melhorar a penetração do plasma nos canais e otimizar a eliminação dos biofilmes (Schaudinn et al., 2013).

Como já foi mencionado, o PNTA apresenta aplicações promissoras em várias áreas da Medicina Dentária. Contudo, mais pesquisas são necessárias para confirmar a sua eficácia a longo prazo em contexto clínico e para aperfeiçoar as suas aplicações na prática de Medicina Dentária (Silva et al., 2023).

3. Métodos de avaliação das propriedades da superfície da dentina

3.1. Medição do ângulo de contacto

A adesão bacteriana inicial aos materiais restauradores dentários é fortemente influenciada pela sua molhabilidade, uma propriedade que é tradicionalmente avaliada através do ângulo de contacto (Yulianto & Rinastiti, 2014). Este ângulo, formado na interface entre uma gota de líquido (geralmente água) e a superfície do material, é um indicador do seu carácter hidrofílico ou hidrofóbico (Namen et al., 2008). Um ângulo elevado traduz uma superfície hidrofóbica, enquanto um ângulo reduzido reflete uma superfície hidrofílica (Rüttermann et al., 2011).

Tradicionalmente, a medição do ângulo de contacto é realizada com um goniómetro, também designado por dispositivo CA-Goniómetro (Yulianto & Rinastiti, 2014). Este método padrão assenta na técnica da gota séssil, na qual uma gota de água é depositada sobre a superfície de uma amostra perfeitamente horizontal e posteriormente fotografada. O ângulo de contacto é então calculado a partir da imagem, analisando a forma da gota (Ayad et al., 2009; Rüttermann et al., 2011). Equipamentos sofisticados como o Phoenix-Alpha ou o DSA 100S permitem inclusive um cálculo automatizado com base na altura, largura e volume da gota (Rüttermann et al., 2011). Apesar da sua elevada precisão, esta metodologia apresenta uma limitação significativa: exige que a amostra esteja colocada de forma perfeitamente horizontal, o que complica a sua aplicação em contexto clínico, onde a posição das superfícies a analisar pode variar (Yulianto & Rinastiti, 2014).

3.2. Microscopia de força atómica

A Microscopia de Força Atómica (MFA) (Figura 1) é uma técnica avançada que pertence à família dos microscópios de Varrimento por Sonda (SPM). Oferece uma resolução muito elevada, podendo alcançar detalhes na escala subnanométrica, ou mesmo atómica, quando as amostras são de boa qualidade (Zapletalová et al., 2004; Yoshida et al., 1999). O funcionamento da MFA baseia-se na cartografia das forças atómicas entre uma ponta extremamente fina fixada na extremidade de um cantilever flexível e a superfície a analisar (Zapletalová et al., 2004; Farina et al., 1999). Essa ponta, que pode oscilar ou manter contacto com a amostra, provoca uma flexão ou torção do cantilever (Rivoa & Frétny, 2005; Zapletalová et al., 2004). Esta deformação é detetada por um feixe laser refletido no cantilever e captado por um fotodíodo segmentado (Figura 2) (Rivoa & Frétny, 2005). O movimento relativo da ponta em relação à amostra, geralmente controlado por atuadores piezoelétricos, permite criar uma imagem tridimensional muito precisa da topografia da superfície analisada (Zapletalová et al., 2004).

A MFA pode funcionar em diferentes modos adaptados às propriedades das amostras: em modo contacto, a ponta mantém contacto permanente com a superfície,

forneendo uma imagem topográfica precisa, mas que pode induzir deformações ou desgaste. O modo não-contacto evita este contacto fazendo vibrar a ponta acima da superfície, sendo adequado para amostras moles ou delicadas. O modo contacto intermitente, ou “tapping”, é um compromisso muito usado, onde a ponta oscila e toca brevemente a superfície, limitando assim as forças de fricção e as alterações na amostra, enquanto oferece alta resolução (Rivoa & Frétigny, 2005; Silikas et al., 1999). Outros modos especializados, como o modo fricção ou modo pulsado, permitem estudar propriedades tribológicas ou adesivas locais (Rivoa & Frétigny, 2005).

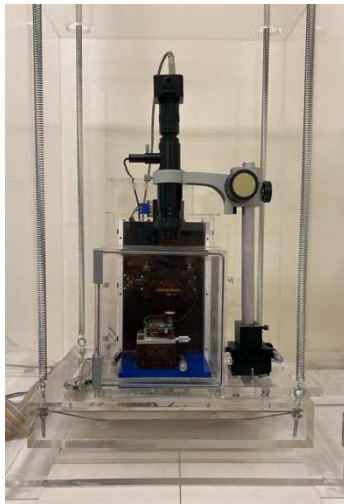


Figura 1. Microscópio de Força Atômica (Accutom 50, Struers, Ballerup, Dinamarca)

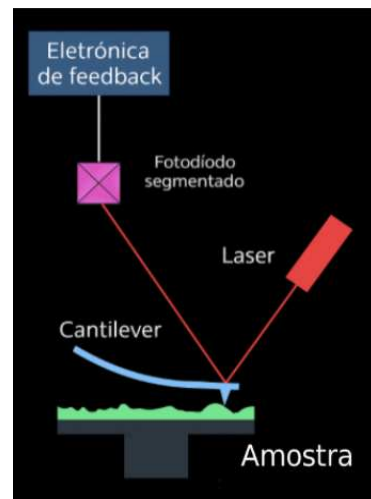


Figura 2. Esquema ilustrativo do funcionamento do MFA

A MFA apresenta várias vantagens, incluindo uma alta resolução lateral e vertical, a possibilidade de imagem de superfícies não condutoras sem preparação complexa e a capacidade de operar em diversos ambientes, incluindo em meio líquido. Esta última característica é particularmente valiosa para o estudo de tecidos biológicos hidratados como a dentina, pois elimina artefactos causados pela desidratação frequentemente observada na microscopia eletrônica de varrimento (MEV) (Zapletalová et al., 2004).

No domínio dentário, a MFA é amplamente usada para explorar a morfologia da dentina, as suas modificações ultraestruturais sob o efeito de tratamentos químicos (por exemplo, o condicionamento ácido ou aplicação de primers auto-condicionantes), assim como as suas propriedades mecânicas locais (dureza, elasticidade das zonas peritubulares e intertubulares) (Zapletalová et al., 2004). Permite também estudar as interações ao nível nanométrico entre os adesivos dentinários e o substrato dentário, em particular as forças de adesão entre a ponta e a dentina, que variam consoante o tratamento e o ambiente aquoso, evidenciando a importância dos constituintes orgânicos, nomeadamente as fibrilas de colagénio (Pelin et al., 2012).

Contudo, a MFA apresenta também algumas limitações. A utilização do cantilever impõe restrições técnicas, nomeadamente a necessidade de uma superfície plana e acessível para varrimento, bem como um campo de análise limitado a pequenas áreas, o que dificulta análises estatísticas e conclusões mais abrangentes. O elevado custo dos equipamentos e o tempo relativamente longo das aquisições (vários minutos por imagem) limitam a sua difusão em ambientes clínicos e industriais. Além disso, a complexidade das interações dinâmicas entre a ponta e a superfície pode afetar a resolução efetiva das imagens (Zapletalová et al., 2004).

Estudos evidenciaram a importância das modificações químicas e morfológicas induzidas pelo condicionamento ácido na dentina. Em particular, o aumento da proporção de colagénio exposto na matriz peritubular e intertubular após desmineralização leva a um aumento significativo das forças de adesão medidas por MFA, refletindo um papel crucial das fibrilas de colagénio no comportamento adesivo local. Estes resultados são consistentes com outras medições efetuadas em superfícies monomoleculares de colagénio e demonstram que a MFA constitui uma ferramenta valiosa para caracterizar os fenómenos de adesão à escala nanométrica no contexto das restaurações dentárias (Pelin et al., 2012).

II. OBJETIVOS

Com o presente estudo laboratorial pretende-se avaliar o efeito do PNTA na superfície da dentina.

Para tal, será avaliada a influência do tratamento de superfície (condicionamento com ácido ortofosfórico ou aplicação de PNTA) na molhabilidade da dentina, de acordo com as seguintes hipóteses experimentais:

H0₁ - O tratamento de superfície da dentina com ácido ortofosfórico não altera a molhabilidade do substrato

H1₁ - O tratamento de superfície da dentina com ácido ortofosfórico altera a molhabilidade do substrato

H0₂ - O tratamento de superfície da dentina com PNTA não altera a molhabilidade do substrato

H1₂ - O tratamento de superfície da dentina com PNTA altera a molhabilidade do substrato

H0₃ – A molhabilidade da dentina não é afetada pelo tipo de tratamento aplicado na superfície

H1₃ - A molhabilidade da dentina é afetada pelo tipo de tratamento aplicado na superfície

Será ainda analisada a topografia da superfície da dentina antes e após condicionamento com ácido ortofosfórico ou aplicação de PNTA.

III. MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo laboratorial foi realizado no Laboratório de Biomateriais do Instituto Universitário Egas Moniz (IUEM), e nos Departamentos de Física e de Química da Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade Nova de Lisboa (FCT-UNL).

1. Desenho experimental

1.1. Seleção e armazenamento das amostras

Este estudo foi aprovada pela comissão de ética EGAS MONIZ (parecer em anexo)

Para o presente estudo laboratorial foram utilizados 14 molares humanos permanentes hígidos do banco de dentes da clínica dentária universitária Egas Moniz e extraídos há menos de 6 meses. Os dentes foram armazenados em cloramina 1% durante 1 semana, a 4 °C, e, posteriormente, transferidos para água destilada, mudada semanalmente para evitar a proliferação de microrganismos.

Para a avaliação da molhabilidade da superfície da dentina usaram-se 10 dentes e os restantes 4 foram utilizados para análise topográfica da superfície da dentina.

1.2. Dispositivo PNTA

Na FCT-UNL, foi desenvolvido um dispositivo PNTA na forma de uma caneta. Este dispositivo, alimentado por uma fonte geradora de alta frequência com uma tensão de 2 kV, consiste num cabo de borossilicato que reveste um eléctrodo, juntamente com dois outros eléctrodos metálicos. A caneta gera um jato de plasma com 7 mm de comprimento, sendo que apenas cerca de 3 mm da pluma de plasma é visível através do orifício inferior da caneta. A fonte de gás utilizada é o argón a 99%, com um fluxo de 3 slm (litros por minuto em condições padrão).

Este protótipo da caneta de plasma biomédica foi desenvolvido pela FCT-UNL para ser um dispositivo portátil e versátil, adequado para uso em ambientes externos,

como foi o caso neste estudo. A caneta é projetada para funcionar em condições atmosféricas e permite a aplicação do PNTA em diversos contextos, especialmente em tecidos biológicos hidratados como a dentina. O borossilicato foi escolhido pela sua resistência ao calor e aos produtos químicos, combinado com um baixo coeficiente de expansão térmica, o que garante a durabilidade e a resistência do dispositivo. A combinação de alto vácuo e pressão atmosférica na utilização de argon permite um controle preciso da aplicação do jato de plasma.

O dispositivo desenvolvido permite a medição e visualização precisa do jato de plasma, facilitando a aplicação do PNTA de forma eficaz e segura, principalmente para tratamentos de superfícies biológicas e dentárias. Além disso, oferece a possibilidade de usar materiais não condutores sem a necessidade de preparações complexas, o que é particularmente vantajoso em ambientes clínicos. O jato de plasma gerado é de pequena dimensão, o que permite uma aplicação local e controlada, sem necessidade de equipamentos volumosos ou difíceis de manusear.

2. Métodos

Inicialmente, os quatorze dentes foram seccionados perpendicularmente ao longo eixo do dente, com o auxílio de um micrótomo de tecidos duros (Accutom 50, Struers, Ballerup, Dinamarca) (Figura 3), com o objetivo de obter discos de dentina. Os dentes foram então fixados num suporte de acrílico, utilizando cera colante, e, em seguida, realizaram-se dois cortes para obter 1 disco de dentina por dente (Figura 4). A espessura dos discos não foi considerada um parâmetro crítico, uma vez que os estudos foram realizados exclusivamente sobre a superfície da dentina.



Figura 3. Micrótomo de tecidos duros (Accutom 50, Struers, Ballerup, Dinamarca)



Figura 4. Disco de dentina, obtido após corte do dente

2.1. Medição do ângulo de contacto, nos diferentes grupos experimentais, com goniómetro

Para o primeiro estudo, dez discos de dentina foram seleccionados e distribuídos em dois grupos experimentais ($n=5$). O principal objetivo foi avaliar a molhabilidade da superfície da dentina, medindo o ângulo de contacto, tanto antes como depois do tratamento da superfície da dentina, em função dos diferentes grupos experimentais. As medições de todas as amostras foram realizadas com o auxílio dum espectro-goniómetro (Figura 5).

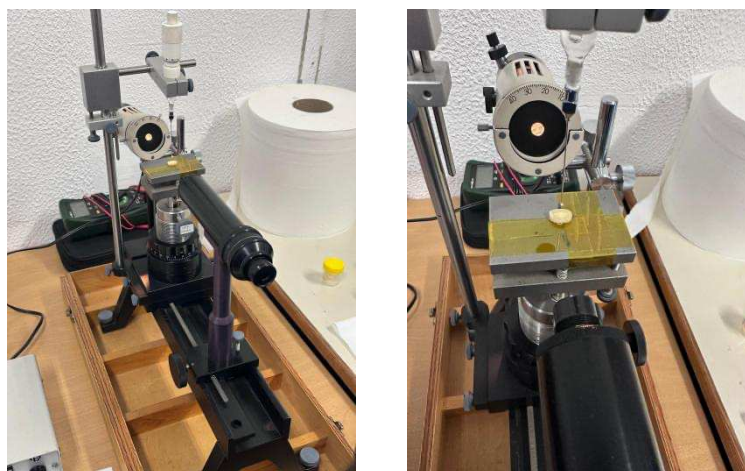


Figura 5. Espectro-goniómetro do laboratório de física na FCT-UNL com o disco de dentina

No primeiro grupo experimental, a superfície da dentina foi condicionada com ácido ortofosfórico a 37% (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA) durante 15 s, seguido de lavagem com água por 15 s, finalmente, secagem com ar comprimido durante 5 s (Figura 6). No segundo grupo experimental, sobre a superfície da dentina foi aplicado o PNTA, durante 10 s a uma distância de 4 mm entre a ponta da pluma e o topo da superfície da dentina (Figura 7 e 8). Um estudo anterior realizado pela aluna Teresa Barroso, que usou a mesmacaneta de PNTA e estudou vários tempos e distâncias de aplicação, demonstrou

uma maior redução do ângulo de contacto para um tempo de aplicação de 10 s a uma distância de 4 mm. Estes parâmetros foram, portanto, adotados no presente estudo.



Figura 6. Ácido ortofosfórico a 37% utilizado no estudo (3M ESPE)

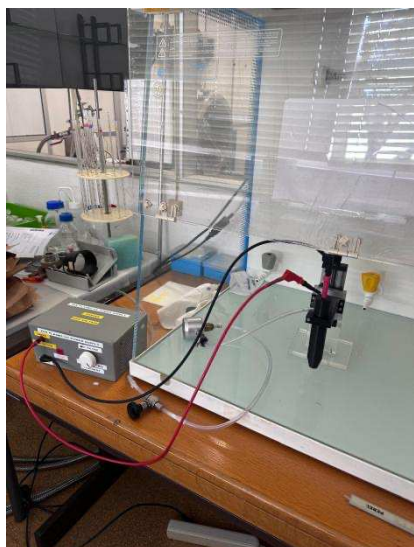


Figura 7. Dispositivo de PNTA utilizado no estudo

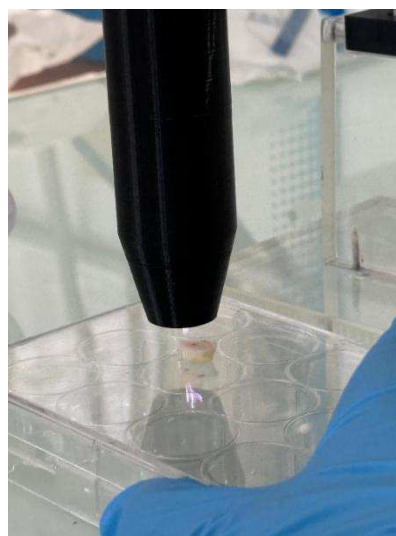


Figura 8. Tratamento do disco de dentina com PNTA durante 10 s

Relativamente ao uso do goniómetro, a medição do ângulo de contacto foi realizada depositando-se uma gota séssil sobre a superfície da dentina, antes e após o seu tratamento. O ângulo de contacto foi obtido medindo-se o ângulo entre a superfície da dentina e a linha que passa pela extremidade da gota (Figura 9). Um ângulo mais pequeno corresponde a um melhor molhamento, indicando que a superfície da dentina é mais hidrofílica.

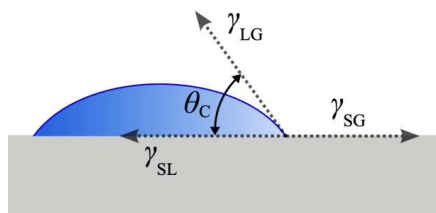


Figura 9. Ilustração da medição do ângulo de contacto (θ_c)

2.2. Análise qualitativa da superfície da dentina, dos diferentes grupos experimentais, com microscopia de força atômica (MFA)

Para o segundo estudo, foram utilizados quatro discos de dentina e distribuídos em dois grupos experimentais ($n=2$). O principal objetivo deste estudo foi analisar topograficamente a superfície da dentina, com recurso ao MFA (Workshop, Table Top, Califórnia) (Figura 10). A preparação dos espécimes para este estudo foi semelhante aos do primeiro estudo. Assim, num grupo a superfície da dentina foi condicionada com ácido ortofosfórico a 37%, enquanto no outro grupo, a superfície da dentina foi tratada com PNTA. Para cada espécime, foi realizada a análise da superfície antes e depois do tratamento.

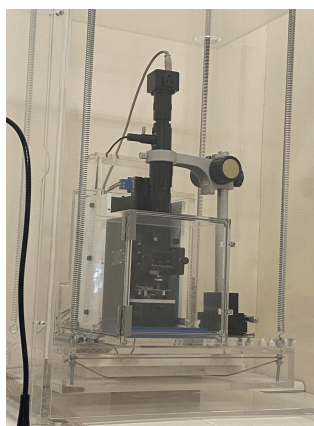


Figura 10. MFA (Workshop, Table Top, Califórnia) do laboratório de química na FCT-UNL

IV. RESULTADOS

Os resultados dos ângulos de contacto medidos no primeiro estudo laboratorial encontram-se na Tabela 1 e 2. Os valores médios iniciais foram semelhantes nos dois grupos, 49.4° e 48.8°. Após a aplicação do tratamento, houve uma diminuição nos ângulos de contacto, com valores médios inferiores para o grupo do ácido ortofosfórico (27°).

Tabela 1. Valores dos ângulos de contacto medidos no espectro-goniómetro com condicionamento ácido

	Dente 1	Dente 2	Dente 3	Dente 4	Dente 5	Média
<i>Antes condicionamento</i>	73°	30°	36°	61°	47°	49.4°
<i>Após condicionamento</i>	30°	16°	24°	48°	17°	27°

Tabela 2. Valores dos ângulos de contacto medidos no espectro-goniómetro com PNTA

	Dente 1	Dente 2	Dente 3	Dente 4	Dente 5	Média
<i>Antes PNTA</i>	60°	57°	41°	46°	40°	48.8°
<i>Após PNTA</i>	54°	30°	40°	28°	29°	36.2°

A tabela 3 apresenta a estatística descritiva relativa às medições do ângulo de contacto realizadas num conjunto de vinte espécimes (n=10), antes e após o tratamento de acordo com o grupo experimental. Os valores obtidos variaram entre 16° (após tratamento com ácido ortofosfórico) e 73° (antes de qualquer tratamento), o que reflete uma variabilidade significativa entre as superfícies analisadas. A média das medições foi de 40,35°, com um desvio padrão de 15,40, indicando uma dispersão moderada dos dados em torno do valor médio.

Tabela 3. Análise descritiva dos ângulos de contacto medidos

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
ângulo contacto	20	16	73	40.35	15.397
Valid N (listwise)	20				

Com o objetivo de avaliar o efeito do tratamento (ácido ortofosfórico ou PNTA) no ângulo de contacto, foi aplicado o teste não paramétrico de Wilcoxon para amostras emparelhadas. Esta escolha metodológica justifica-se pelo reduzido tamanho da amostra (n=10), o que não permite garantir a normalidade das distribuições.

O teste de Wilcoxon foi realizado separadamente para cada um dos tratamentos, comparando-se os valores do ângulo de contacto medidos antes e após a aplicação do tratamento nos mesmos espécimes. Em ambos os casos, os resultados revelaram uma diminuição significativa do ângulo de contacto após o tratamento. De facto, o valor de p obtido em ambos os grupos foi de 0,005, inferior ao nível de significância de 0,05, o que leva à rejeição das duas primeiras hipóteses nulas (Tabela 4 e 5).

Tabela 4. Teste de Wilcoxon para a variável do ácido ortofosfórico

	Null Hypothesis	Test	Sig. ^{a,b}	Decision
1	The median of differences between momento da medição and ângulo contacto equals 0.	Related-Samples Wilcoxon Signed Rank Test	.005	Reject the null hypothesis.

a. The significance level is .050.

b. Asymptotic significance is displayed.

Total N	10
Test Statistic	55.000
Standard Error	9.804
Standardized Test Statistic	2.805
Asymptotic Sig.(2-sided test)	.005

Tabela 5. Teste de Wilcoxon para a variável do PNTA

	Null Hypothesis	Test	Sig. ^{a,b}	Decision
1	The median of differences between momento da medição and ângulo contacto equals 0.	Related-Samples Wilcoxon Signed Rank Test	.005	Reject the null hypothesis.

a. The significance level is .050.

b. Asymptotic significance is displayed.

Total N	10
Test Statistic	55.000
Standard Error	9.811
Standardized Test Statistic	2.803
Asymptotic Sig.(2-sided test)	.005

Com o objetivo de avaliar se existia uma diferença estatisticamente significativa entre os dois tratamentos (ácido ortofosfórico e PNTA) relativamente à variação do ângulo de contacto, foi realizado o teste não paramétrico de Mann–Whitney. A escolha deste teste justificou-se pelo reduzido número de amostras e pela impossibilidade de garantir uma distribuição normal dos resultados. O teste de Mann–Whitney foi aplicado para comparar as variações do ângulo de contacto (Δ) entre os dois grupos de tratamento. Esta variação, designada por delta (Δ), corresponde à diferença entre o valor do ângulo de contacto antes e após a aplicação do tratamento ($\Delta = \text{ângulo antes} - \text{ângulo depois}$), permitindo assim quantificar a eficácia de cada tratamento na alteração da molhabilidade da superfície.

O valor de p obtido foi de 0,222, valor superior ao nível de significância de 0,05 pelo que não existe diferenças estatisticamente significativas entre os dois tratamentos. Pelo que, não se pode rejeitar a terceira hipótese nula (Tabela 6).

Tabela 6. Teste de Mann–Whitney para os dois tratamentos

	Null Hypothesis	Test	Sig. ^{a,b}	Decision
1	The distribution of variação_ângulo_contacto is the same across categories of tratamento.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	.222 ^c	Retain the null hypothesis.

a. The significance level is .050.

b. Asymptotic significance is displayed.

c. Exact significance is displayed for this test.

Total N	10
Mann-Whitney U	19.000
Wilcoxon W	34.000
Test Statistic	19.000
Standard Error	4.787
Standardized Test Statistic	1.358
Asymptotic Sig.(2-sided test)	.175
Exact Sig.(2-sided test)	.222

A análise da superfície dentinária condicionada com ácido ortofosfórico a 37%, realizada por MFA (Workshop, Table Top, Califórnia) revelou alterações morfológicas significativas em comparação com a dentina não tratada (Figura 11). O condicionamento foi realizado com aplicação do ácido durante 15 s (Figura 12). As imagens obtidas demonstraram uma superfície com topografia irregular e presença de depressões e saliências pronunciadas, resultantes da remoção parcial da smear layer e da exposição das fibras de colagénio subjacentes.

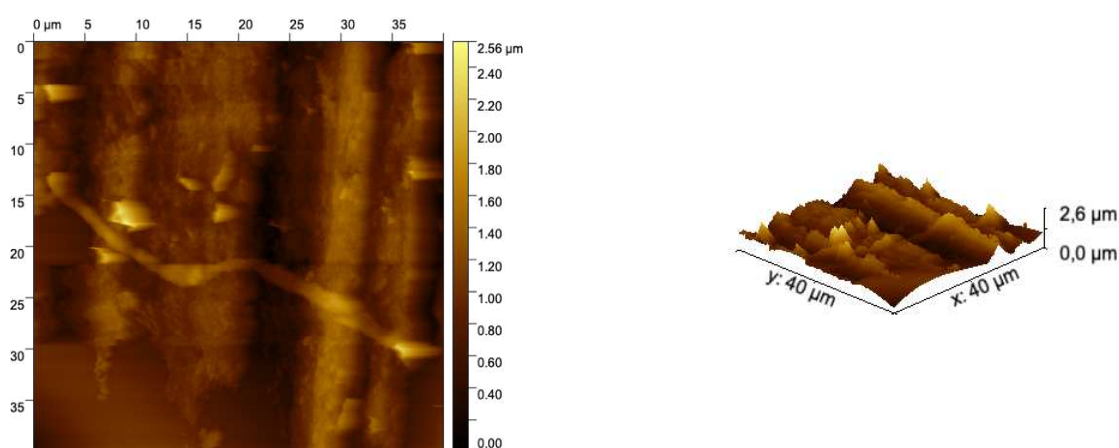


Figura 11. Fotografia de dentina antes tratamento ácido com recurso ao MFA (Workshop, Table Top, Califórnia)

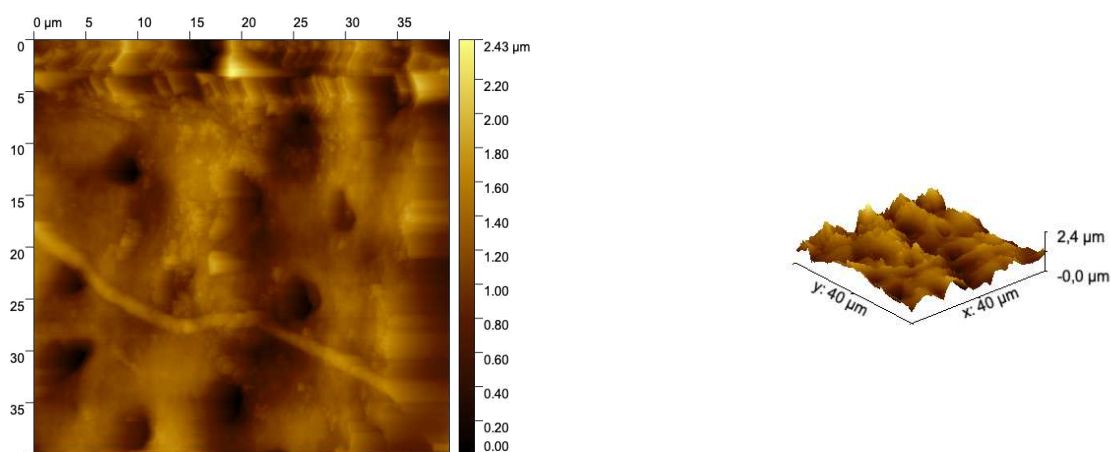


Figura 12. Fotografia de dentina após tratamento ácido de 15 s com recurso ao MFA (Workshop, Table Top, Califórnia)

A análise da superfície dentinária após aplicação de PNTA durante 10 s foi realizada em dois sítios diferente da amostra. Foi revelada uma topografia visualmente homogênea, sem alterações morfológicas aparentes em relação ao estado inicial da superfície (Figura 13). A imagem tridimensional obtida revelou uma superfície contínua, com relevo suave e ausência de estruturas proeminentes ou descontinuidades visíveis (Figura 14 e 15).

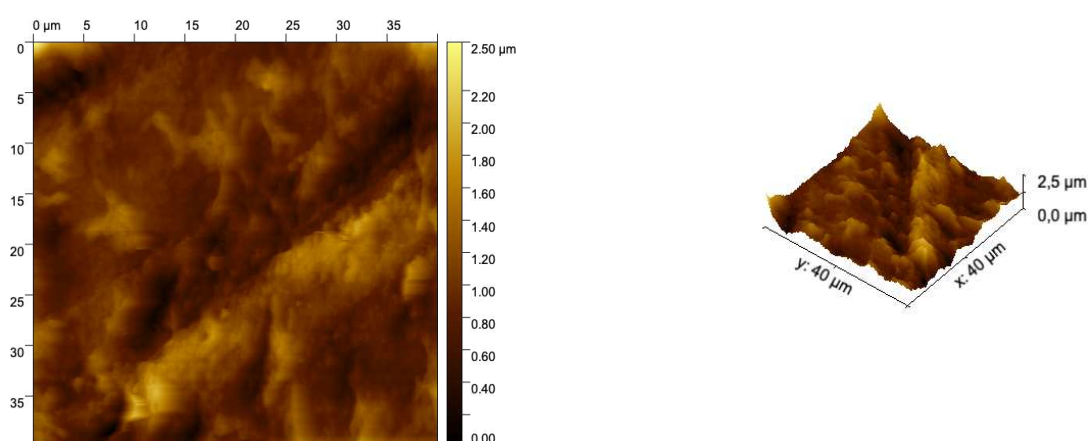


Figura 13. Fotografia de dentina antes tratamento com PNTA com recurso ao MFA (Workshop, Table Top, Califórnia)

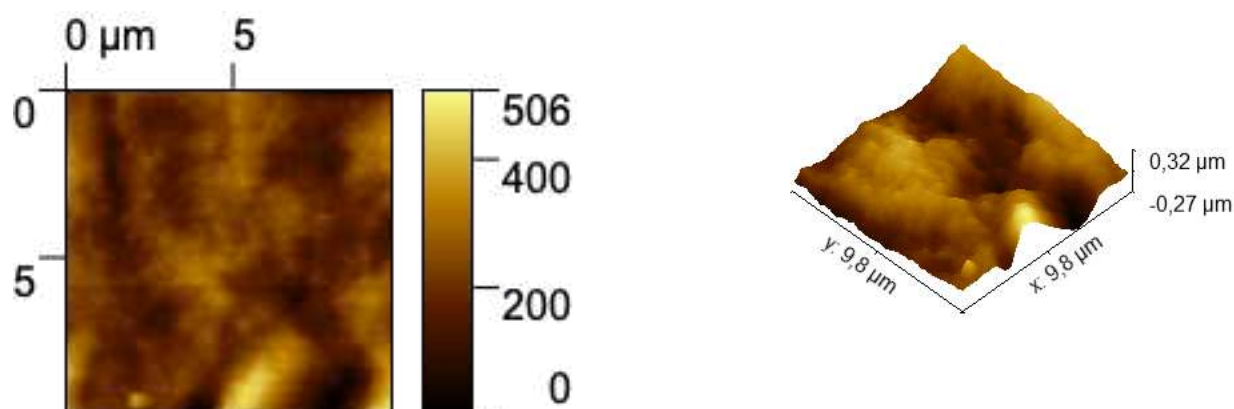


Figura 14. Fotografia de dentina após tratamento com PNTA com recurso ao MFA, sítio 1 (Workshop, Table Top, Califórnia)

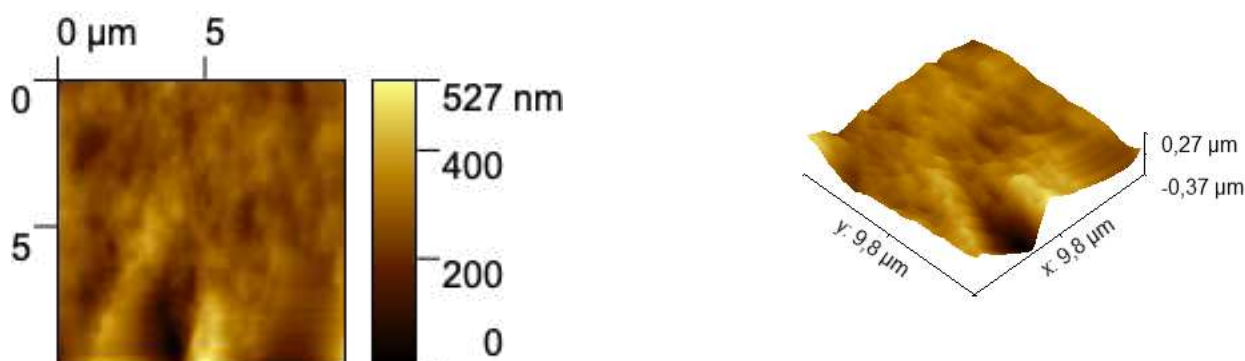


Figura 15. Fotografia de dentina após tratamento com PNTA com recurso ao MFA, sítio 2 (Workshop, Table Top, Califórnia)

Dado que visualmente não foram observadas modificações relevantes, procedeu-se à medição quantitativa da rugosidade superficial com o objetivo de determinar se o tratamento com PNTA induziu alguma alteração topográfica mensurável. Esta abordagem permitiu uma análise mais precisa da microestrutura da dentina tratada, mesmo na ausência de evidências morfológicas claras nas imagens obtidas. A média da rugosidade após PNTA é de 65.565 nm que não difere da rugosidade antes PNTA.

Tabela 7. Medidas da rugosidade da dentina antes e após tratamento com PNTA

	Antes PNTA	Após PNTA sitio 1	Após PNTA sitio 2
Rugosidade da dentina (em nm)	63.76	77.77	53.36

V. DISCUSSÃO

O objetivo deste estudo experimental foi avaliar e comparar o efeito de dois tratamentos de superfície da dentina, na sua molhabilidade, através da medição do ângulo de contacto entre a superfície daquela e uma gota de água. Os resultados obtidos demonstraram que tanto o condicionamento com ácido ortofosfórico a 37% como o tratamento com PNTA permitiram uma redução significativa do ângulo de contacto após o tratamento, o que indica uma melhoria da molhabilidade da superfície do substrato dentinário. Perante estes resultados rejeitam-se a primeira e a segunda hipóteses nulas. Este parâmetro é essencial na dentisteria adesiva, uma vez que uma melhor molhabilidade favorece uma difusão mais eficaz dos sistemas adesivos sobre a superfície da dentina e, potencialmente, uma melhor retenção micromecânica (Aguilar-Mendoza et al., 2008).

A diminuição do ângulo de contacto observada com ambos os tratamentos estudados sugere que cada um deles conduziu a um aumento da energia superficial da dentina. No caso do ácido ortofosfórico, estes resultados são consistentes com os dados da literatura, que descrevem o seu efeito desmineralizante sobre a superfície da dentina, removendo a smear layer, expondo a rede de colagénio e aumentando a porosidade, o que facilita a posterior infiltração da resina (Tezvergil-Mutluay et al., 2013). No caso do PNTA, o efeito poderá estar relacionado com uma modificação química da superfície (Ayres et al., 2018). O tratamento da dentina com PNTA provoca alterações na superfície dentinária que resultam de dois mecanismos principais : modificação superficial e condicionamento (*etching*), os quais atuam simultaneamente durante a aplicação do PNTA ao substrato dentário (Ritts et al., 2010). A modificação superficial induzida pelo PNTA pode levar a diversas alterações na dentina. Entre essas alterações destacam-se modificações na composição química das fibrilas de colagénio, o aumento da hidrofília do substrato, o alargamento dos túbulos dentinários e a redução da espessura da camada de lama dentinária (*smear layer*). Além disso, observou-se que o PNTA reduz a quantidade de compostos à base de carbono presentes na superfície dentinária, o que poderá resultar num aumento relativo das concentrações de cálcio, fósforo e oxigénio na região tratada. Estas mudanças contribuem para a diminuição do ângulo de contacto, favorecendo a molhabilidade da superfície e, potencialmente, aumentando a força de adesão ao substrato (Awad et al., 2021; Bolla et al., 2023; Chen et al., 2013). No mesmo

sentido, outros estudos confirmam que o tratamento com PNTA aumenta a energia superficial e confere propriedades hidrofílicas às superfícies dentárias. Este efeito deve-se à remoção de hidrocarbonetos e à introdução de grupos hidroxilo na superfície tratada, permitindo uma maior penetração dos monómeros adesivos (Zhang et al., 2014). Hirata e colaboradores constataram valores de energia superficial significativamente mais elevados no grupo tratado com PNTA, em comparação com o grupo controlo (Hirata et al., 2015). Os autores atribuíram esse aumento sobretudo a uma elevação significativa da componente polar da energia superficial, apesar de se ter observado um decréscimo correspondente da componente dispersiva. Este comportamento poderá estar relacionado com alterações na composição química da superfície dentinária (Hirata et al., 2015).

Comparando os dois procedimentos, não foram detetadas diferenças significativas entre os dois tratamentos no que respeita à variação do ângulo de contacto. Isto indica que, em termos de molhabilidade, ambas as abordagens são equivalentes. Este resultado realça o potencial do PNTA como uma alternativa eficaz, ao mesmo tempo que é menos agressiva para a dentina. Desta forma, não estamos em condições de rejeitar a terceira hipótese nula.

Relativamente à análise de superfície com MFA, esta observação em alta resolução permitiu comparar a topografia da superfície da dentina antes e após o tratamento. Verificou-se que o tratamento com PNTA não altera a topografia da superfície dentinária, que se mantém intacta e preserva a sua integridade morfológica. Considerando o condicionamento com ácido ortofosfórico, este conduziu a uma alteração significativa na rugosidade da superfície das fatias de dentina analisadas, com alterações compatíveis com a exposição das fibras de colagénio. Estes resultados reforçam a ideia de que, embora ambos os tratamentos melhorem a molhabilidade, os seus efeitos estruturais são fundamentalmente distintos. O tratamento com PNTA surge, assim, como uma abordagem não invasiva, capaz de modificar as propriedades de superfície sem comprometer a arquitetura tecidual, o que pode representar uma vantagem clínica importante numa perspetiva de preservação tecidual.

Não obstante, importa considerar algumas limitações. O reduzido tamanho da amostra nos primeiros estudos pode comprometer o poder estatístico das análises realizadas. Além disso, embora as medições do ângulo de contacto e a análise por

microscopia de força atômica forneçam informações relevantes sobre as propriedades de superfície, estes métodos, isoladamente, não permitem tirar conclusões definitivas quanto ao desempenho dos tratamentos testados em termos de adesão à dentina. Serão necessários ensaios mecânicos complementares, como os testes de microtração, para avaliar de forma objetiva a força adesiva de diferentes sistemas adesivos aplicados após o condicionamento com PNTA, permitindo assim determinar o seu impacto clínico real na adesão. Adicionalmente, importa salientar que parâmetros experimentais como o tempo de exposição e a distância do jato de plasma em relação à superfície dentinária podem influenciar significativamente os efeitos obtidos, sendo, por isso, fundamentais para a reprodutibilidade dos resultados. Outro aspecto metodológico a considerar prende-se com o polimento prévio das amostras dentinárias. A realização desta etapa antes da análise por MFA seria recomendável, uma vez que superfícies mais lisas permitem uma comparação mais precisa e uma caracterização topográfica mais fiável, favorecendo a consistência dos dados obtidos.

Em perspetiva, estes dados encorajam o aprofundamento da investigação sobre o tratamento com o PNTA, nomeadamente em condições clínicas simuladas, bem como a exploração da sua associação com diferentes sistemas adesivos. A ausência de efeitos deletérios sobre a estrutura da dentina e a sua eficácia comparável à do ácido ortofosfórico posicionam o PNTA como uma tecnologia promissora no campo da dentisteria adesiva moderna. Adicionalmente, futuras investigações deverão considerar metodologias mais abrangentes, como a medição do ângulo de contacto com gotas de adesivo e não apenas com água, bem como com gotas de ácido após a aplicação de plasma, a fim de refletir com maior fidelidade as condições clínicas. Para além disso, recomenda-se a realização de testes de adesão que incluam ensaios de microtração, análises de micro e nanoinfiltração. A aplicação de técnicas complementares, como a espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), poderá permitir a avaliação do grau de conversão dos sistemas adesivos utilizados após diferentes abordagens de tratamento da superfície dentinária incluindo o protocolo convencional com ácido e adesivo, a aplicação de PNTA seguida de adesivo, e mesmo a utilização isolada de PNTA. Estas análises multidimensionais permitirão uma caracterização mais completa do impacto do PNTA na adesão dentinária, contribuindo para a sua validação e potencial integração na prática clínica.

VI. CONCLUSÕES

Para concluir, os resultados deste estudo demonstraram que tanto o ácido ortofosfórico a 37% como o PNTA são eficazes no aumento da molhabilidade da dentina. No entanto, a análise comparativa não revelou diferenças significativas entre as duas modalidades, sugerindo uma eficácia equivalente na modificação da energia superficial.

A análise realizada com recurso ao MFA evidenciou uma diferença fundamental entre as duas abordagens: o tratamento com PNTA não altera a topografia da dentina, ao contrário do condicionamento ácido, que induz uma desmineralização evidente da superfície.

VII. BIBLIOGRAFIA

- Aguilar-Mendoza, J. A., Rosales-Leal, J. I., Rodriguez-Valverde, M. A., & Cabrerizo-Vilchez, M. A. (2008). Effect of acid etching on dentin wettability and roughness: Self-etching primers versus phosphoric acid. *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*, 84(1), 277–285. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.30871>
- Arora, V., Nikhil, V., Suri NK, & Arora P. (2013). Cold Atmospheric Plasma (CAP) In Dentistry. *Dentistry*, 04(01). <https://doi.org/10.4172/2161-1122.1000189>
- Awad, M. M., Alhalabi, F., Alshehri, A., Aljeaidi, Z., Alrahlah, A., Özcan, M., & Hamama, H. H. (2021). *materials Effect of Non-Thermal Atmospheric Plasma on Micro-Tensile Bond Strength at Adhesive/Dentin Interface: A Systematic Review*. <https://doi.org/10.3390/ma>
- Ayad, M. F., Johnston, W. M., & Rosenstiel, S. F. (2009). Influence of dental rotary instruments on the roughness and wettability of human dentin surfaces. *Journal of Prosthetic Dentistry*, 102(2), 81–88. [https://doi.org/10.1016/S0022-3913\(09\)60114-1](https://doi.org/10.1016/S0022-3913(09)60114-1)
- Ayres, A. P., Bonvent, J. J., Mogilevych, B., Soares, L. E. S., Martin, A. A., Ambrosano, G. M., Nascimento, F. D., Van Meerbeek, B., & Giannini, M. (2018). Effect of non-thermal atmospheric plasma on the dentin-surface topography and composition and on the bond strength of a universal adhesive. *European Journal of Oral Sciences*, 126(1), 53–65. <https://doi.org/10.1111/eos.12388>
- Bárdos, L., & Baránková, H. (2010). Cold atmospheric plasma: Sources, processes, and applications. In *Thin Solid Films* (Vol. 518, Issue 23, pp. 6705–6713). <https://doi.org/10.1016/j.tsf.2010.07.044>

- Bertassoni, L. E., Kury, M., Rathsam, C., Little, C. B., & Swain, M. V. (2015). The role of proteoglycans in the nanoindentation creep behavior of human dentin. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 55, 264–270. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2015.10.018>
- Bolla, N., Mayana, A., Gali, P., Vemuri, S., Garlapati, R., & Kamal, S. (2023). Effect of nonthermal atmospheric plasma on bond strength of composite resin using total-etch and self-etch adhesive systems. *Journal of Conservative Dentistry*, 26(3), 292–298. https://doi.org/10.4103/jcd.jcd_33_23
- Borges, A. C., Kostov, K. G., Pessoa, R. S., De Abreu, G. M. A., Lima, G. D. M. G., Figueira, L. W., & Koga-Ito, C. Y. (2021). Applications of cold atmospheric pressure plasma in dentistry. *Applied Sciences (Switzerland)*, 11(5), 1–15. <https://doi.org/10.3390/app11051975>
- Braný, D., Dvorská, D., Halašová, E., & Škovierová, H. (2020). Cold atmospheric plasma: A powerful tool for modern medicine. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 21, Issue 8). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms21082932>
- Breschi, L., Maravic, T., Cunha, S. R., Comba, A., Cadenaro, M., Tjäderhane, L., Pashley, D. H., Tay, F. R., & Mazzoni, A. (2018). Dentin bonding systems: From dentin collagen structure to bond preservation and clinical applications. In *Dental Materials* (Vol. 34, Issue 1, pp. 78–96). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2017.11.005>
- Bruggeman, P. J., Iza, F., & Brandenburg, R. (2019). Foundations of atmospheric pressure non-equilibrium plasmas. In *Plasma Sources Science and Technology* (Vol. 26, Issue 12). Institute of Physics Publishing. <https://doi.org/10.1088/1361-6595/aa97af>
- Cardoso, M. V., De Almeida Neves, A., Mine, A., Coutinho, E., Van Landuyt, K., De Munck, J., & Van Meerbeek, B. (2011). Current aspects on bonding effectiveness

- and stability in adhesive dentistry. *Australian Dental Journal*, 56(SUPPL. 1), 31–44. <https://doi.org/10.1111/j.1834-7819.2011.01294.x>
- Cha, S., & Park, Y. S. (2014). Plasma in dentistry. *Clinical Plasma Medicine*, 2(1), 4–10. <https://doi.org/10.1016/j.cpme.2014.04.002>
- Chen, M., Zhang, Y., Sky Driver, M., Caruso, A. N., Yu, Q., & Wang, Y. (2013). Surface modification of several dental substrates by non-thermal, atmospheric plasma brush. *Dental Materials*, 29(8), 871–880. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2013.05.002>
- Farina, M., Schemmel, A., Weissmü, G., Cruz, R., Kachar, B., & Bisch, P. M. (1999). *Atomic Force Microscopy Study of Tooth Surfaces*. <https://doi.org/10.1006/jsbi.1998.4069>
- Goldberg, M., Kulkarni, A. B., Young, M., & Boskey, A. (2012). *Dentin: Structure, Composition and Mineralization: The role of dentin ECM in dentin formation and mineralization*. <https://doi.org/10.2741/e281>
- Hanabusa, M., Mine, A., Kuboki, T., Momoi, Y., Van Ende, A., Van Meerbeek, B., & De Munck, J. (2012). Bonding effectiveness of a new “multi-mode” adhesive to enamel and dentine. *Journal of Dentistry*, 40(6), 475–484. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2012.02.012>
- Hilton, T. J., Ferracane, J. L., & Broome, J. C. (2013). *Fundamentals of operative dentistry*.
- Hirata, R., Teixeira, H., Ayres, A. P. A., Machado, L. S., Coelho, P. G., Thompson, V. P., & Giannini, M. (2015). Long-term Adhesion Study of Self-etching Systems to Plasma-treated Dentin. *The Journal of Adhesive Dentistry*, 17(3), 227–233. <https://doi.org/10.3290/j.jad.a34138>
- Hoffmann, C., Berganza, C., & Zhang, J. (2013). *Cold Atmospheric Plasma: methods of production and application in dentistry and oncology*. <https://doi.org/10.1186/2045-9912-3-21>

- Kaushik, N. K., Kaushik, N., Linh, N. N., Ghimire, B., Pengkit, A., Sornsakdanuphap, J., Lee, S. J., & Choi, E. H. (2019). Plasma and nanomaterials: Fabrication and biomedical applications. In *Nanomaterials* (Vol. 9, Issue 1). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/nano9010098>
- Lata, S., Chakravorty, S., Mitra, T., Pradhan, P. K., Mohanty, S., Patel, P., Jha, E., Panda, P. K., Verma, S. K., & Suar, M. (2022). Aurora Borealis in dentistry: The applications of cold plasma in biomedicine. In *Materials Today Bio* (Vol. 13). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2021.100200>
- Lehmann, A., Rueppell, A., Schindler, A., Zylla, I. M., Seifert, H. J., Nothdurft, F., Hannig, M., & Rupf, S. (2013). Modification of enamel and dentin surfaces by non-thermal atmospheric plasma. *Plasma Processes and Polymers*, 10(3), 262–270. <https://doi.org/10.1002/ppap.201200088>
- López, M., Calvo, T., Prieto, M., Múgica-Vidal, R., Muro-Fraguas, I., Alba-Elías, F., & Alvarez-Ordóñez, A. (2019). A review on non-thermal atmospheric plasma for food preservation: Mode of action, determinants of effectiveness, and applications. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 10, Issue APR). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00622>
- Namen, F., Galan, J. B., Farias De Oliveira, J., Cabreira, R. D., Costa, F., Filho, S., Souza, A. B., & De Deus, G. (2008). Surface Properties of Dental Polymers: Measurements of Contact Angles, Roughness and Fluoride Release. In *Materials Research* (Vol. 11, Issue 3). <https://doi.org/10.1590/S1516-14392008000300002>
- Nanci, A. (2003). *Ten Cate's Oral Histology Development, Structure, and Function 9TH EDITION*. www.konkur.in
- Pashley, D. H. (1996). *DYNAMICS OF THE PULPCHDENTIN COMPLEX*. <https://doi.org/10.1177/10454411960070020101>

- Pashley, D. H., & Carvalho, R. M. (1997). dentine permeability and dentine adhesion. In *Journal of Dentistry* (Vol. 25, Issue 96). [https://doi.org/10.1016/s0300-5712\(96\)00057-7](https://doi.org/10.1016/s0300-5712(96)00057-7)
- Pelin, I. M., Piednoir, A., Machon, D., Farge, P., Pirat, C., & Ramos, S. M. M. (2012). Adhesion forces between AFM tips and superficial dentin surfaces. *Journal of Colloid and Interface Science*, 376(1), 262–268. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2012.03.013>
- Perdigão, J. (2010). Dentin bonding-Variables related to the clinical situation and the substrate treatment. *Dental Materials*, 26(2). <https://doi.org/10.1016/j.dental.2009.11.149>
- Ranjan, R., Krishnamraju, P. V., Shankar, T., & Gowd, S. (2017). Nonthermal plasma in dentistry: An update. In *Journal of International Society of Preventive and Community Dentistry* (Vol. 7, Issue 3, pp. 71–75). Wolters Kluwer (UK) Ltd. https://doi.org/10.4103/jispcd.JISPCD_29_17
- Ritts, A. C., Li, H., Yu, Q., Xu, C., Yao, X., Hong, L., & Wang, Y. (2010). Dentin surface treatment using a non-thermal argon plasma brush for interfacial bonding improvement in composite restoration. *European Journal of Oral Sciences*, 118(5), 510–516. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0722.2010.00761.x>
- Rivoa, J., & Frétigny, C. (2005). *Microscopie à force atomique (AFM)*. http://olivier.granier.free.fr/PC-Montesquieu445072/cariboost_files/AFM.pdf
- Rüttermann, S., Trellenkamp, T., Bergmann, N., Raab, W. H. M., Ritter, H., & Janda, R. (2011). A new approach to influence contact angle and surface free energy of resin-based dental restorative materials. *Acta Biomaterialia*, 7(3), 1160–1165. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2010.10.002>
- Schaudinn, C., Jaramillo, D., Freire, M. O., Sedghizadeh, P. P., Nguyen, A., Webster, P., Costerton, J. W., & Jiang, C. (2013). Evaluation of a nonthermal plasma needle to

eliminate ex vivo biofilms in root canals of extracted human teeth. *International Endodontic Journal*, 46(10), 930–937. <https://doi.org/10.1111/iej.12083>

Shahmoradi, M., Bertassoni, L. E., Elfallah, H. M., & Swain, M. (2014). *Fundamental Structure and Properties of Enamel, Dentin and Cementum* (pp. 511–547). https://doi.org/10.1007/978-3-642-53980-0_17

Silikas, N., Watts, D. C., England, K. E. R., & Jandt, K. D. (1999). *Surface fine structure of treated dentine investigated with tapping mode atomic force microscopy (TMAFM)*. [https://doi.org/10.1016/S0300-5712\(98\)00032-3](https://doi.org/10.1016/S0300-5712(98)00032-3)

Silva, N., Marques, J., da Cruz, M. B., Luís, H., Sérgio, S., & Mata, A. (2023). The applications of cold atmospheric plasma in dentistry. In *Plasma Processes and Polymers* (Vol. 20, Issue 12). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/ppap.202300067>

Tabares, F. L., & Junkar, I. (2021). Cold plasma systems and their application in surface treatments for medicine. *Molecules*, 26(7). <https://doi.org/10.3390/molecules26071903>

Tanaka, H., & Hori, M. (2017). Biomedical Application of Non-Thermal Atmospheric Pressure Plasma and Its Usefulness. Medical applications of non-thermal atmospheric pressure plasma. *J. Clin. Biochem. Nutr*, 60(1), 29–32. <https://doi.org/10.3164/jcbn.16667>

Tezvergil-Mutluay, A., Mutluay, M., Seseogullari-Dirihan, R., Agee, K. A., Key, W. O., Scheffel, D. L. S., Breschi, L., Mazzoni, A., Tjäderhane, L., Nishitani, Y., Tay, F. R., & Pashley, D. H. (2013). Effect of phosphoric acid on the degradation of human dentin matrix. *Journal of Dental Research*, 92(1), 87–91. <https://doi.org/10.1177/0022034512466264>

- Tjäderhane, L., Carrilho, M. R., Breschi, L., Tay, F. R., & Pashley, D. H. (2011). Dentin basic structure and composition-an overview. *Endodontic Topics*, 20(1), 3–29. <https://doi.org/10.1111/j.1601-1546.2012.00269.x>
- Valizadeh, S., Farhadi, E., Moradi, A., & Hashemikamangar, S. S. (2021). Evaluation of the Effect of Cold Plasma Treatment on the Microshear Bond Strength of Composite Resin Restorations to Dentin using Different Adhesive Systems and the Effect of Thermocycling. *The Open Dentistry Journal*, 15(1), 734–741. <https://doi.org/10.2174/1874210602115010734>
- Van Meerbeek, B., Perdigão, J., Lambrechts, P., & Vanherle, G. (1998). The clinical performance of adhesives. In *Journal of Dentistry* (Vol. 26, Issue 96). [https://doi.org/10.1016/s0300-5712\(96\)00070-x](https://doi.org/10.1016/s0300-5712(96)00070-x)
- Von Woedtke, T., Emmert, S., Metelmann, H. R., Rupf, S., & Weltmann, K. D. (2020). Perspectives on cold atmospheric plasma (CAP) applications in medicine. In *Physics of Plasmas* (Vol. 27, Issue 7). American Institute of Physics Inc. <https://doi.org/10.1063/5.0008093>
- Yoshida, Y., Van Meerbeek, B., Snauwaert, J., Hellemans, L., Lambrechts, P., Vanherle, G., Wakasa, K., & Pashley, D. H. (1999). A novel approach to AFM characterization of adhesive tooth-biomaterial interfaces. *Journal of Biomedical Materials Research*, 47(1), 85–90. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4636\(199910\)47:1<85::AID-JBM12>3.0.CO;2-H](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4636(199910)47:1<85::AID-JBM12>3.0.CO;2-H)
- Yulianto, H. D. K., & Rinastiti, M. (2014). *CONTACT ANGLE MEASUREMENT OF DENTAL RESTORATIVE MATERIALS BY DROP PROFILE IMAGE ANALYSIS* (Vol. 3, Issue 2). <https://doi.org/10.22146/teknosains.6023>
- Zapletalová, Z., Kubínek, R., Vůjtek, M., & Novotný, R. (2004). *EXAMINATION OF DENTIN SURFACE USING AFM*. <https://doi.org/10.14712/18059694.2018.121>

Zhang, Y., Yu, Q., & Wang, Y. (2014). Non-thermal atmospheric plasmas in dental restoration: Improved resin adhesive penetration. *Journal of Dentistry*, 42(8), 1033–1042. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2014.05.005>

VIII. ANEXOS



EGAS MONIZ SCHOOL
of HEALTH & SCIENCE

Comissão de Ética EGAS MONIZ

Processo Interno: 1520
PT 556/24

Ex.ma Senhora
Manon Aurore Eliard

Monte de Caparica, 18 de dezembro de 2024.

Ex.ma Senhora,

Em resposta ao Pedido de Parecer que submeteu à apreciação da Comissão de Ética da Egas Moniz, com o tema denominado: "**Propriedades superficiais da dentina tratada com plasma não térmico atmosférico: avaliação do ângulo de contacto e análise topográfica**", foi aprovado.

A Presidente da Comissão de Ética da Egas Moniz

Profª Doutora Cidália de Castro