



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**AVALIAÇÃO DA NANOINFILTRAÇÃO DE UM SISTEMA
ADESIVO UNIVERSAL EXPERIMENTAL E DE SISTEMAS
ADESIVOS UNIVERSAIS COMERCIAIS**

Trabalho submetido por
Mariana Mascarenhas Pyrrait Trincão Cunha
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

outubro de 2019



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**AVALIAÇÃO DA NANOINFILTRAÇÃO DE UM SISTEMA
UNIVERSAL EXPERIMENTAL E DE SISTEMAS ADESIVOS
UNIVERSAIS COMERCIAIS**

Trabalho submetido por
Mariana Mascarenhas Pyrrait Trincão Cunha
para a obtenção do grau de **Mestre** em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Prof. Doutor Mário Cruz Polido

outubro de 2019

Agradecimentos

Ao meu orientador, Prof. Doutor Mário Polido, por toda ajuda e disponibilidade ao longo deste trabalho, por toda a paciência e boa disposição com que sempre me recebeu.

Ao Professor Luís Proença, pela ajuda no tratamento estáticos dos resultados.

À Engenheira Isabel Nogueira do instituto Superior Técnico, pela simpatia e ajuda crucial na observação das amostras no microscópio eletrónico.

À Clínica Universitária Egas Moniz, pela formação de excelência.

A todos os amigos que o Instituto Universitário Egas Moniz me deu e um especial obrigada à minha colega de box, pela amizade e companheirismo ao longo de todos estes anos.

Aos meus pais, pelo amor incondicional, por me darem a oportunidade de estudar o que realmente gosto, por acreditarem sempre em mim e me fazerem seguir os meus sonhos.

À minha irmã, por toda a ajuda e motivação.

Ao Benny, por todo o amor, apoio e paciência.

Resumo

Objetivo: Avaliar a nanoinfiltração da interface adesiva por SEM-EDS de sistemas adesivos universais com Bis-GMA e de um sistema adesivo sem Bis-GMA.

Materiais e Métodos: 15 molares humanos hígidos armazenados de acordo com a norma ISO 11405 foram distribuídos aleatoriamente em 3 grupos (n=5), Grupo SBU, Scotchbond Universal Adhesive, adesivo com bis-GMA; Grupo FBU, Futurabond U, adesivo com bis-GMA; Grupo AUA, Ambar Universal APS, sem bis-GMA. Os dentes foram seccionados num micrótomo de tecidos duros de modo a expor a dentina superficial, sendo em seguida submetidos a um polimento com um disco de CSi 600 grit. Foi aplicado o sistema adesivo selecionado para cada grupo segundo as instruções dos fabricantes, construídos blocos de resina composta com 6 a 8 mm de altura e armazenados durante 24 horas numa estufa a 37°C em água destilada. As amostras foram seccionadas de forma a obter fatias de 0,7mm e para cada grupo foram selecionadas 10 fatias. As fatias foram armazenadas numa estufa, em água destilada, a 37°C durante 1 mês. Após o período de incubação, as amostras foram imersas numa solução aquosa de nitrato de prata amoniacal a 37°C durante 24 horas em recipientes protegidos da luz e seguidamente imersas numa solução fotográfica reveladora durante 8 horas sob luz fluorescente. As amostras foram novamente imersas numa solução reveladora de pH 7,3 durante 12h a 4°C, sendo em seguida lavadas com cacodilato de sódio durante 1 hora. Posteriormente as amostras foram desidratadas em imersões de graus ascendentes de etanol. De seguida foram colocadas numa diluição de 1:1 de etanol com hexametildisilazano durante 10 minutos e secas por imersão em hexametildisilazano durante 10 minutos. Depois de secas, foram embebidas em resina epóxi autopolimerizável, polidas com discos de CSi com abrasão decrescente e suspensões diamantadas de 3 e 1 µm. Por fim as amostras foram colocadas no ultrassom num banho de 100% etanol durante 10 minutos, secas e desmineralizadas em 0,5% de ácido fosfórico durante 1 minuto e sujeitas a testes de nanoinfiltração por SEM-EDS.

Resultados: O grupo FBU foi o que apresentou o grau de nanoinfiltração mais elevado, ao invés do grupo AUA que foi o que obteve menor quantidade nanoinfiltração, no entanto, não foram encontradas diferenças significativas entre os adesivos estudados.

Conclusão: Os 3 adesivos não apresentam diferenças estatisticamente significativas entre si.

Palavras-chave: Adesivos universais, Adesão, Dentina, Nanoinfiltração

Abstract

Objective: To evaluate the adhesive interphase nanoleakage by SEM-EDS of universal adhesive systems with bis-GMA and a universal adhesive system without bis-GMA.

Materials and Methods: 15 sound human molars stored according to ISO 11405 were randomly assigned to 3 groups (n = 5), SBU Group, Scotchbond Universal Adhesive, bis-GMA adhesive; FBU Group, Futurabond U, bis-GMA adhesive; AUA group, Ambar Universal APS, without bis-GMA. The teeth were sectioned in a hard tissue microtome to expose the superficial dentin, then polished with a 600 grit CSi disc. The adhesive system selected for each group was applied according to the manufacturers' instructions, 6 to 8 mm high composite resin blocks were made and stored for 24 hours in a 37°C oven in distilled water. The samples were sectioned to obtain 0.7mm slices and for each group 10 slices were selected. The slices were stored in an oven in distilled water at 37°C for 1 month. After the incubation period, the samples were immersed in an aqueous ammonia silver nitrate solution at 37°C for 24 hours in light-protected containers and then immersed in a developing photographic solution for 8 hours under fluorescent light. The samples were again immersed in a pH 7.3 developer solution for 12h at 4°C, then washed with sodium cacodylate for 1 hour. The samples were subsequently dehydrated in upward grade immersions of ethanol. They were then placed in a 1: 1 dilution of ethanol with hexamethyldisilazane for 10 minutes and dried by immersion in hexamethyldisilazane for 10 minutes. After drying, they were soaked in self-curing epoxy resin, polished with decreasing abrasion CSi discs and 3 and 1 µm diamond suspensions. Finally, the samples were sonicated in a 100% ethanol bath for 10 minutes, dried and demineralized in 0.5% phosphoric acid for 1 minute and subjected to SEM-EDS nanoleakage tests.

Results: The FBU group presented the highest degree of nanoleakage, as opposed to the AUA group which had the lowest amount of nanoleakage. However, no significant differences were found between the adhesives studied.

Conclusion: The 3 adhesives do not present statistically significant differences among themselves.

Keywords: Universal adhesives, Adhesion, Dentin, Nanoleakage

Índice Geral

I.	Introdução	11
1.	Estrutura do dente	11
1.1.	Dentina	12
2.	Adesão.....	16
2.1.	Adesão à dentina	17
2.2.	Bis-GMA.....	19
2.3.	Sistemas adesivos.....	20
2.3.1.	Adesivos “ <i>etch-and-rinse</i> ” e “ <i>self-etch</i> ”	20
2.3.2.	Adesivos universais.....	22
3.	Nanoinfiltração.....	23
II.	Objetivos	25
III.	Materiais e Métodos	27
1.	Tratamento da amostra.....	29
1.1.	Aplicação dos sistemas adesivos.....	31
1.2.	Preparação da amostra.....	33
1.3.	Impregnação e preparação da amostra para o MEV	34
2.	Avaliação da nanoinfiltração.....	38
3.	Análise estatística.....	39
IV.	Resultados	41
V.	Discussão.....	47
VI.	Conclusões	53
VII.	Bibliografia	55

Índice de Figuras

Figura 1 – Desenho esquemático da estrutura de um dente (Dorozhkin, 2009).....	12
Figura 2 - Micrografia eletrônica de varrimento da dentina fraturada longitudinalmente para mostrar os túbulos dentinários (Ritter <i>et al.</i> , 2019).....	13
Figura 3 - Micrografia eletrônica de varrimento da dentina profunda mostrando um processo odontoblástico num túbulo dentinário (asterisco) (Ritter <i>et al.</i> , 2019).....	13
Figura 4 - Diagrama esquemático da vista longitudinal da dentina mostrando os túbulos dentinários (Tri Le, 2017).....	14
Figura 5 - Desenho esquemático de um dente, mostrando a dentina primária e secundária (Simon <i>et al.</i> , 2008).....	14
Figura 6 - Desenho esquemático mostrando os dois tipos de dentina terciária, a dentina reparadora e a dentina reacional (Simon <i>et al.</i> , 2008).....	15
Figura 7 - Molhabilidade e ângulos de contacto (retirado de: http://www.adhesionbonding.com/2012/03/19/plastics-surface-energy-wetting-test-methods/ ;28/08/2019;16:43).17	
Figura 8 - Micrografia de um “ <i>smear-plug</i> ” bloqueando a entrada de um túbulo dentinário (SP: “ <i>smear-plug</i> ”, SL: “ <i>smear-layer</i> ”, Int: dentina intertubular, P: dentina peritubular, T: túbulo dentinário) (Sezinando, 2014).....	18
Figura 9 - Estrutura química do Bis-GMA (Melinte <i>et al.</i> , 2016).....	20
Figura 10 - Esquema de adesão á dentina através da estratégia “ <i>etch and rinse</i> ” (Ritter <i>et al.</i> , 2019).....	21
Figura 11 - Esquema de adesão á dentina através da estratégia “ <i>self-etch</i> ” (Ritter <i>et al.</i> , 2019).....	21
Figura 12 - Estratégias adesivas (Sezinando, 2014).....	22
Figura 13 - Scotchbond Universal Adhesive (3M, Neuss, Germany).....	28
Figura 14 - Futurabond U <i>singleDose</i> (Voco, Cuxhaven, Germany).....	28
Figura 15 - Adesivo Ambar Universal APS (FGM, Joinville, Brasil).....	28
Figura 16 - Medidor de pH Basic 20 HANNA (Limena, Itália).....	28
Figura 17 - Lamparina, faca de cera e cera colante (Sticky Wax, Kemdent, Wiltshire, Inglaterra)	29
Figura 18 - Micrótomo de tecidos duros (Accutom-50, Struers,Denmark).....	29
Figura 19 - Cola de cianocrilato (Zapit, DVA, Corona, Califórnia, USA).....	29
Figura 20 - Câmara pulpar de uma amostra preenchida com cola de cianocrilato.....	29
Figura 21 - Sequência de corte da amostra. (1- Dente hígido; 2 – Dente montado num porta-amostras com cera colante; 3 – Porta-amostras montado no micrótomo de tecidos duros; 4 – Dente depois de ser submetido aos 2 cortes paralelos à face oclusal.).....	30
Figura 22 - Polidora (LaboForce-1, Struers, Denmark).....	30
Figura 23 - Dente a ser submetido a polimento.....	30
Figura 24 - Ácido ortofosfórico (37,5%) (Kerr Italia S.r.l., Scafati (AS), Italy).....	31
Figura 25 - Aplicação do ácido ortofosfórico no dente.....	31
Figura 26 - Resina composta microhíbrida de cor A3 (Bestdent, Barcelona, España).....	32
Figura 27 - Fotopolimerizador Optilux 501 (Kerr, Middleton, USA).....	32
Figura 28 - Estufa de incubação (Mettmert INE 400, Mettmert, Germany).....	33

Figura 29 - Sequência de corte da amostra em fatias. (1- Amostra montada no porta-amostras; 2- Amostra a ser cortada em fatias no micrótomo de tecidos duros; 3- Amostra cortada em fatias).....	33
Figura 30 - Espécime depois de um mês na estufa.....	34
Figura 31 - Espécime revestido com duas camadas de verniz das unhas.....	34
Figura 32 - Espécime após 24 horas imerso na solução de nitrato de prata amoniacal a 50% (pH 9,5).....	34
Figura 33 - Solução fotográfica reveladora (Periomat Intra, Dürr Dental, Bissingen, Germany).....	35
Figura 34 - Espécime a seguir a imersão na solução fotográfica reveladora e do verniz das unhas ter sido raspado.....	35
Figura 35 - Espécime depois de ter estado 12 horas a 4°C imerso na solução fixadora (pH 7,3).....	35
Figura 36 - Espécime final, depois de ter sido lavado e desidratado.....	36
Figura 37 - Resina epóxi autopolimerizável (EpoFix Resin, Struers, Denmark).....	36
Figura 38 - Cilindros (FixiForm, Struers, Denmark).....	36
Figura 39 - Dessecador de vácuo (Bel-Art, New Jersey, USA).....	36
Figura 40 - Polimento dos espécimes na polidora (LaboForce-1, Struers, Denmark).....	37
Figura 41 - Discos de polimento de 220, 360, 600, 1200 e 2400 grit.....	37
Figura 42 - Disco de tecido e suspensão diamantada de 3 e 1 micrómetros.....	37
Figura 43 - Espécimes no banho de etanol no ultrassom (Branson Ultrasonic, Emerson Electric, Connecticut, USA)	38
Figura 44 - Amostra final.....	38
Figura 45 - Amostra revestida numa liga de ouro-paládio de 12nm de espessura.....	38
Figura 46 - Microscópio Eletrónico de Varrimento (MEV Hitachi S-2400, Hitachi High-Technologies Corporation, Tokyo, Japan).....	39
Figura 47 - Microfotografias obtidas por microscópio eletrónico de varrimento (MEV) do adesivo Scotchbond Universal Adhesive (grupo SBU). (A- ampliação x200; B- ampliação x400; C- ampliação x1500; CA- Camada de adesivo; CH- Camada híbrida; RT- “resin-tags”).....	40
Figura 48 - Microfotografias obtidas por microscópio eletrónico de varrimento (MEV) do adesivo Futurabond U (grupo FBU). (A- ampliação x200; B- ampliação x400; C- ampliação x1500; RC – Resina composta; CA- Camada de adesivo; TD- Túbulo dentinário).....	41
Figura 49 - Microfotografias obtidas por microscópio eletrónico de varrimento (MEV) do adesivo Ambar Universal APS (grupo AUA). (A- ampliação x200; B- ampliação x400; C- ampliação x1500; RC- Resina composta; RT- “resin-tags”; TD- túbulo dentinário; CA- Camada de adesivo; CH- Camada híbrida).....	42

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Composição da dentina, em peso e em volume (adaptado de Goldberg <i>et al.</i> , 2011)	13
Tabela 2 - Distribuição dos grupos experimentais	27
Tabela 3 - Composição, Lote, Validade e pH dos adesivos universais utilizados	28
Tabela 4 - Instruções do fabricante para o adesivo Scotchbond Universal Adhesive (3M ESPE, Neuss, Germany).	31
Tabela 5 - as instruções do fabricante para o adesivo Futurabond U (Voco, Cuxhaven, Germany).....	31
Tabela 6 - Instruções do fabricante para o adesivo Ambar Universal APS (FGM, Joinville, Brasil)	32
Tabela 7 - Aplicação da resina composta microhíbrida (Bestdent, Barcelona, España) segundo as instruções do fabricante	32
Tabela 8 – Percentagens de nanoinfiltração por cada sistema adesivo estudado: nº de amostras estudadas, média, desvio padrão, mínimo e máximo (%).....	44
Tabela 9 – Teste de normalidade Shapiro-Wilk para os diferentes grupos experimentais.	45
Tabela 10 – Teste de homogeneidade de variância de Levene.	45
Tabela 11 – Teste ANOVA one-way.	46
Tabela 12 - Teste Hukey HSD	46

Índice de gráficos

Gráfico 1 – Gráfico representativo da interface adesiva da imagem 48(c), confirmando a presença do elemento prata por análise EDS	44
Gráfico 2 – Percentagem de nanoinfiltração por cada grupo estudado (%).....	45

Índice de Abreviaturas

10-MDP – 10-metacrilóiloxidecil dihidrogénio fosfato

°C – Grau celsius

µm – micrómetro

APS – Advanced Polymerization System

Bis-GMA – bisfenol-A glicidil metacrilato

BPA – bisfenol-A

CSi – Carbetto de silício

EDS – microscopia por dispersão de energia

HEDMA – 1,6-Hexanediol dimethacrylate

HEMA – 2-hidroxietil metacrilato

IUEM – Instituto Universitário Egas Moniz

Kv – quilovolt (kilovolt)

M – Molar

mA – miliAmpère

mm – milímetro

nm – nanómetro

pH – potencial de hidrogénio

Rpm – rotações por minuto

MEV – microscópio eletrónico de varrimento (SEM – scanning electron microscope)

MET – microscópio eletrónico de transmissão (TEM – transmission electron microscope)

TS – Especificação técnica (Technical Specification)

UDMA – Uretano dimetacrilato

vs – Versus

I. Introdução

O principal objetivo das restaurações adesivas é formar e manter uma interface, entre o material restaurador e o dente, a qual deve ser selada, estável e duradoura (Breschi *et al.*, 2018).

O princípio restaurador de “Extensão para Prevenção” sugerido por Greene Vardiman Black evoluiu para “Dentisteria Minimamente Invasiva”. As intervenções minimamente invasivas visam minimizar o tamanho da preparação da cavidade. A preparação do dente é limitada à remoção de esmalte friável e de dentina mole, não sendo necessária a remoção de estrutura dentária sã para retenção mecânica. Esta técnica baseia a sua eficácia no bom selamento da preparação com um adesivo (Nagarkar, Theis-Mahon & Perdigão, 2019; WDF, 2016).

Nos dias de hoje, a resina composta é o material restaurador mais utilizado (Zhou *et al.*, 2019), sendo utilizada numa variedade de situações, tais como restaurações definitivas, selantes de fossas e fissuras, “*inlays*”, “*onlays*”, coroas, cimentos para próteses, ortodontia e até selamentos endodônticos. É provável que a utilização da resina composta continue a crescer quer em frequência quer na versatilidade da sua utilização (Ferracane, 2011).

No entanto, a longevidade destas restaurações não é totalmente satisfatória, porquanto as ligações resina-dentina são menos duradouras que as ligações resina-esmalte, devido às diferentes características histológicas e à composição da dentina. A falha na ligação resina-dentina resulta em microinfiltração, coloração da restauração, cárie secundária e sensibilidade pós-operatória (Zhou *et al.*, 2019).

1. Estrutura do dente

O dente humano é constituído por duas partes principais: a coroa, que fica acima da gengiva e que se projeta para dentro da boca, e a raiz que se estende para a gengiva e é mantida nos maxilares graças aos ligamentos periodontais (Hillson, 2005) (figura 1).

A coroa, possui três componentes principais, que são o esmalte, a dentina e a câmara pulpar.

O esmalte é a camada mais externa da coroa, sendo o tecido mais resistente do corpo humano por ser altamente mineralizado e composto maioritariamente por tecido inorgânico (97%) (Lee, Lee, Park, Kim, & Chung, 2019).

A dentina é a camada entre a polpa do dente e o esmalte. Contém componentes inorgânicos semelhantes ao esmalte, mas com maior quantidade de matéria orgânica (30-50%), principalmente colagénio tipo I, e água (20%) (Breschi *et al.*, 2018).

No interior do dente encontra-se a câmara pulpar que contém principalmente células odontoblásticas, responsáveis pelos processos biológicos que levam à formação de dentina, nervos e vasos sanguíneos (Arana-Chavez & Massa, 2004).

A proximidade entre a polpa e a dentina dá-lhe o nome de complexo-pulpo-dentinário (Simon, Cooper, Berdal, Machtou & Smith, 2008).

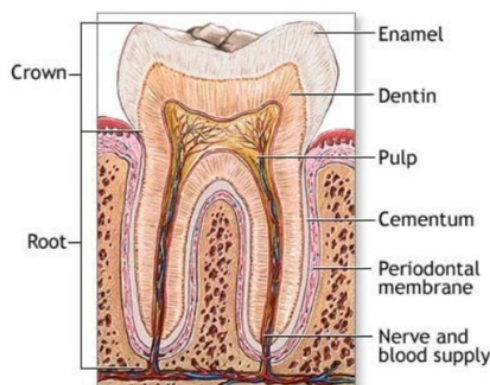


Figura 1 – Desenho esquemático da estrutura de um dente (Dorozhkin, 2009).

1.1.Dentina

A dentina consiste em tecido conjuntivo mineralizado, o qual constitui a maior parte da estrutura dentária, sendo limitada internamente pela polpa e externamente pelo esmalte, na porção coronária e pelo cimento, na porção radicular (Goldberg, Kulkarni, Young & Boskey, 2011).

A dentina é composta por matéria inorgânica, maioritariamente por cristais de hidroxiapatite, que corresponde a cerca de 40-45% do seu volume, matéria orgânica, principalmente colagénio tipo I, representando cerca de 30% do seu volume e cerca de 20-25% de água, sendo que esses valores em peso, se traduzem em, 70% de matéria inorgânica, 20% de matéria orgânica e 10% de água (Fuentes, 2004; Goldberg *et al.*, 2011) (tabela 1).

Tabela 1 – Composição da dentina, em peso e em volume (adaptado de Goldberg *et al.*, 2011).

Matéria inorgânica	70% (em peso)	40-45% (em volume)
Matéria orgânica	20% (em peso)	30% (em volume)
Água	10% (em peso)	20-25% (em volume)

A dentina é um tecido permeável, o qual é composto por milhares de túbulos dentinários que vão desde da câmara pulpar até à junção amelo-dentinária, na coroa, ou até à junção cimento-dentinária, na raiz. A distribuição dos túbulos é desigual, varia dependendo da área do dente, sendo que a densidade aumenta perto da cavidade pulpar. O conteúdo dos túbulos inclui processos de células citoplasmáticas que provêm de odontoblastos e fluido dentinário, que é um líquido semelhante ao plasma (figura 2-4) (Simon *et al.*, 2008; Ghafournia *et al.*, 2019).

Este líquido sofre uma leve e constante pressão da polpa, o que significa que qualquer coisa que tente penetrar através da dentina até à polpa, terá que enfrentar esta pressão (Mjör, 2009).

Estes túbulos estão rodeados por dentina peritubular hipermineralizada que é incorporada numa matriz intertubular que tem como principal constituinte as fibras de colagénio (Grégoire, Joniot, Guignes & Millas, 2003; Fuentes, 2004; Simon *et al.*, 2008).

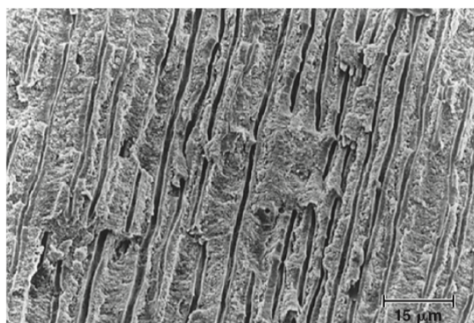


Figura 2 - Micrografia eletrônica de varrimento da dentina fraturada longitudinalmente para mostrar os túbulos dentinários (Ritter *et al.*, 2019).

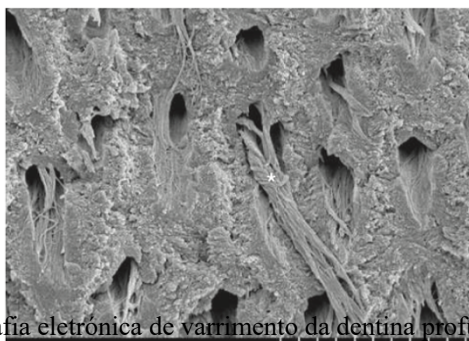


Figura 3 - Micrografia eletrônica de varrimento da dentina profunda mostrando um processo odontoblástico num túbulo dentinário (asterisco) (Ritter *et al.*, 2019).

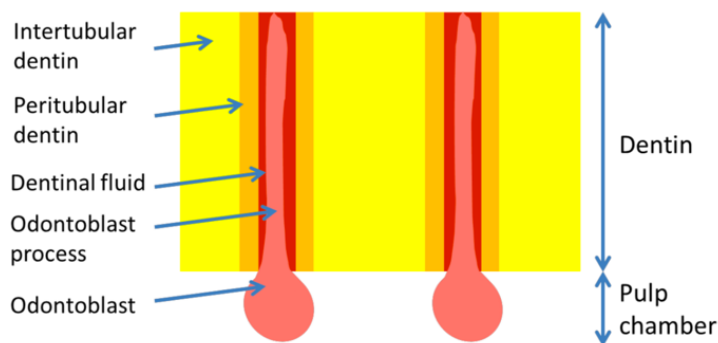


Figura 4 - Diagrama esquemático da vista longitudinal da dentina mostrando os túbulos dentinários (Tri Le, 2017).

A dentina pode ser dividida em dentina primária, secundária e terciária (figura 5).

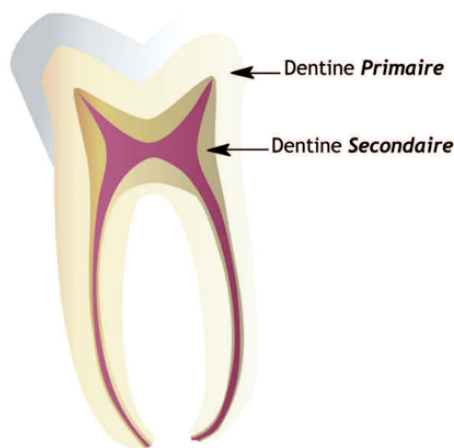


Figura 5 - Desenho esquemático de um dente, mostrando a dentina primária e secundária (Simon *et al.*, 2008).

A dentina primária é a que se forma até que o dente se torne funcional, isto é, quando o dente entra em contacto com o dente antagonista.

A parte mais externa não apresenta túbulos e tem uma estrutura histológica específica chamada “dentina do manto”.

A dentina do manto é formada pelos primeiros odontoblastos diferenciados. Consiste numa camada fina, cerca de 7 a 30 µm. A mineralização desta dentina é quase instantânea e é menos mineralizada, o que lhe confere propriedades mais elásticas permitindo que seja amortecedora.

A dentina do manto é constituída por fibras de colagénio relativamente grandes, perpendiculares à junção amelo-dentinária.

Na dentina do manto na raiz, ao contrário do que se passa na coroa, as fibras de colagénio da primeira dentina formada ficam paralelas à junção amelo-dentinária, o que

faz com que não exista uma verdadeira camada de dentina do manto na dentina radicular (Avery, 2001).

A produção da dentina secundária começa imediatamente a seguir às raízes do dente estarem formadas e continua ao longo da vida, sendo a responsável pela redução lenta e progressiva do tamanho da câmara pulpar. Assim tanto a formação da dentina primária como da secundária são controladas pelos odontoblastos primários. A composição química e a estrutura histológica destes dois tipos de dentina é idêntica, sendo que, a única grande diferença é a velocidade de secreção, 4µm por dia para a dentina primária e 0,4µm por dia para a secundária (Simon *et al.*, 2008; Simon *et al.*, 2010; Goldberg *et al.*, 2011).

Em resposta a estímulos externos, como uma lesão de cárie ou de abrasão forma-se a dentina terciária para proteger a polpa subjacente.

Se for produzida por odontoblastos primários, no caso de se tratar de uma agressão moderada, denomina-se dentina reacional. Se for um estímulo mais agressivo que provoque a morte destes odontoblastos, as células da polpa têm a capacidade de se diferenciar em células “odontoblasto-like” que formam a dentina reparadora (Simon *et al.*, 2010; Tziafas, 2019) (figura 6).

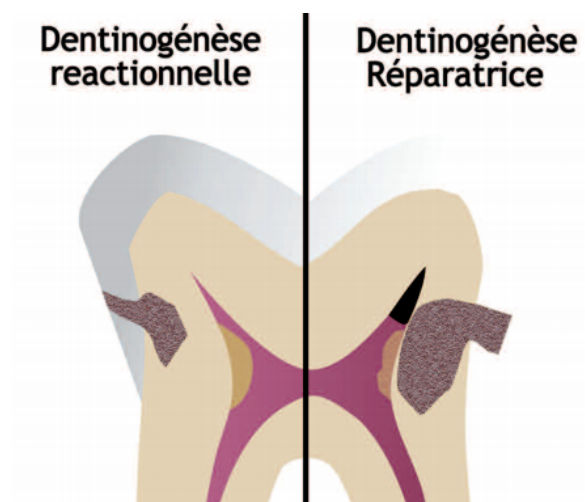


Figura 6 - Desenho esquemático mostrando os dois tipos de dentina terciária, a dentina reparadora e a dentina reacional (Simon *et al.*, 2008).

2. Adesão

A norma ISO/TS 11405 define a adesão como o estado em que duas superfícies são mantidas juntas por forças químicas, físicas ou ambas, com a ajuda de um adesivo.

Em dentisteria, a adesão de materiais à base de resina à estrutura dentária pode ser feita através de 4 tipos de adesão: mecânica, absorção, difusão ou uma combinação entre os três.

A adesão mecânica, é onde há penetração de resina na superfície dentária formando “*resin-tags*” e a camada híbrida, o mecanismo de absorção, consiste na ligação química entre os componentes orgânicos e os componentes inorgânicos da estrutura dentária, por fim o mecanismo de difusão consiste na precipitação de substâncias na superfície dentária, para que os monômeros de resina se possam ligar mecânica ou quimicamente (Ritter *et al.*, 2019).

Há muitos fatores que influenciam a adesão. Em primeiro lugar deve existir um contato próximo entre o adesivo e o substrato (esmalte ou dentina). Além disso, a energia de superfície do adesivo deve ser menor que a do substrato. A energia de superfície é a energia coesiva presente numa interface. Quanto maior for essa energia maior a capacidade de adesão. Por outro lado, devemos ter uma boa molhabilidade e um ângulo de contacto pequeno. Aderir duas substâncias sólidas é muito difícil, porque, por muito lisas que as superfícies aparentem ser, a uma escala intermolecular, as mesmas são rugosas. A molhabilidade é a capacidade de adicionar um líquido que escoe para as irregularidades da superfície aumentando assim, a área de contacto. Os líquidos tendem a formar esferas quando colocados numa superfície, porque essa é a forma com a menor área de superfície e, portanto, uma energia de superfície mínima. O ângulo de contacto é o ângulo interno entre o líquido e o substrato, sendo que, quanto menor for o ângulo maior é a adesão. Geralmente, pequenos ângulos de contato são alcançados quando um líquido de baixa energia de superfície é colocado num substrato com uma alta energia de superfície. Ângulos de contato inferiores a 90 graus indicam uma boa molhabilidade da superfície. A molhabilidade ideal acontece quando o líquido se espalha sobre a superfície com um ângulo de 0 graus (figura 7). Por fim, é importante ter superfícies dentárias limpas e uma polimerização adequada da resina (Anusavice *et al.*, 2012; Sakaguchi & Powers, 2012; Vinagre & Ramos, 2016; Bedran-Russo, Leme-Kraus, Vidal & Teixeira, 2017; Ritter *et al.*, 2019).

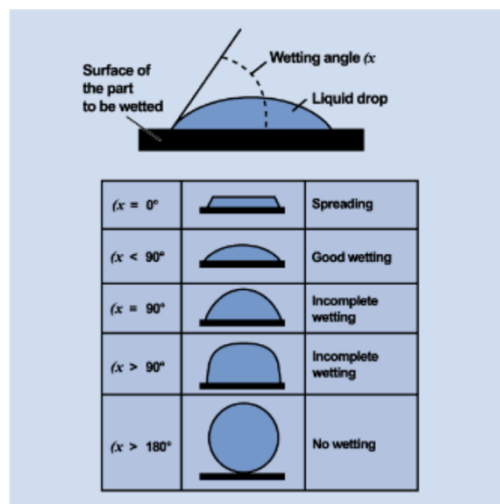


Figura 7 - Molhabilidade e ângulos de contacto (retirado de: <http://www.adhesionbonding.com/2012/03/19/plastics-surface-energy-wetting-test-methods/>; 28/08/2019; 16:43).

2.1. Adesão à dentina

A ligação de substratos dentários é baseada num processo de troca, no qual os minerais removidos dos tecidos duros, após o condicionamento ácido, são substituídos por monómeros de resina que se interligam micromecanicamente nas microporosidades após a polimerização. O principal desafio para os adesivos dentários é proporcionar uma ligação igualmente eficaz em substratos dentários de natureza diferente (Nagarkar *et al.*, 2019).

A adesão à dentina é um verdadeiro desafio, uma vez que é composta por matéria orgânica e apresenta uma estrutura tubular húmida que tornam os procedimentos adesivos mais complexos quando comparados ao esmalte (Li *et al.*, 2000; Vinagre & Ramos, 2016).

Por sua vez, a saliva, o biofilme e outros detritos orgânicos estão sempre presentes na superfície do dente. (Sakaguchi & Powers, 2012).

As paredes de uma preparação cavitária estão cobertas com uma camada de “*smear-layer*”, que é uma camada de detritos orgânicos e inorgânico, que se formam depois da instrumentação manual ou mecânica na superfície do dente (Sakaguchi & Powers, 2012; Vinagre & Ramos, 2016). A “*smear-layer*” preenche os orifícios dos túbulos da dentina formando os “*smear-plugs*” que, representam um obstáculo na infiltração do substrato adesivo na dentina (figura 8). Deste modo, para conseguir uma boa difusão do adesivo é necessário remover ou dissolver a “*smear-layer*” e os “*smear-plugs*” (Vinagre & Ramos, 2016).

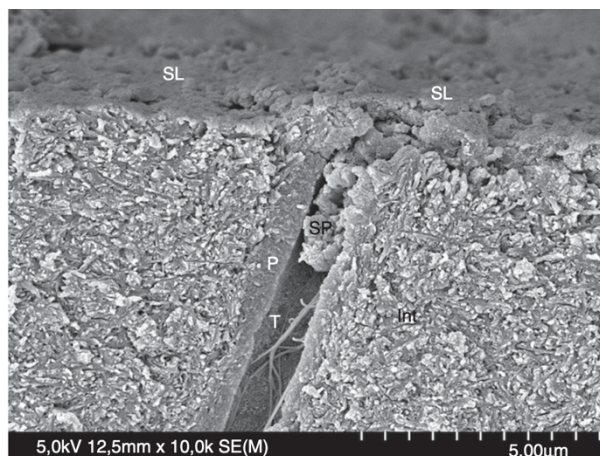


Figura 8 - Micrografia de um “smear-plug” bloqueando a entrada de um túbulo dentinário (SP: “smear-plug”, SL: “smear-layer”, Int: dentina intertubular, P: dentina peritubular, T: túbulo dentinário) (Sezinando, 2014).

Em 1955, Buonocore introduziu pela primeira vez, o ataque ácido no esmalte e relatou a bem-sucedida retenção micromecânica de monómeros de resina no esmalte (Buonocore, 1955).

Gwinnett em 1967, analisou a interface adesiva num microscópio eletrônico e relatou a capacidade dos monómeros de resina penetrarem nas microporosidades no esmalte, criadas pelo ataque ácido (Gwinnett & Matsui, 1967).

Em 1982, Nakabayashi forneceu uma nova visão na adesão à dentina, ao mostrar, que os monómeros de resina também se podiam infiltrar na dentina desmineralizada, depois da ação do ácido e apelidou de camada híbrida a camada superficial da dentina, composta por uma matriz orgânica, infiltrada com os monómeros de resina (Nakabayashi, Kojima & Masuhara, 1982).

O agente ácido remove a camada de “smear-layer” e desmineraliza parcialmente a dentina, cerca de 5-8 μm, expondo os túbulos dentinários e expandindo a rede de colagénio. Depois da aplicação do ácido, este deve ser lavado e a água em excesso deve ser removida (Pashley *et al.*, 2011; Sakaguchi & Powers, 2012, Bedran-Russo *et al.*, 2017). No entanto, a percepção de quão húmida a dentina deve permanecer é muito ambígua. Se a superfície apresentar um excesso de humidade, não haverá infiltração dos monómeros nem uma polimerização adequada da interface dentina-resina. Por outro lado, a dentina deve ser mantida minimamente húmida para evitar o colapso da rede de colagénio, pois tal colapso levaria novamente à infiltração incompleta dos monómeros e à formação de uma camada híbrida demasiado fina (Vinagre & Ramos, 2016).

A ação do ácido é seguida pela aplicação do “*primer*”, que é o responsável pela criação da camada híbrida.

Na realidade, o principal objetivo do “*primer*” é alterar a superfície hidrofílica da dentina numa superfície hidrofóbica, aumentando a energia de superfície e consequentemente tornando a superfície dentária pronta para receber os monómeros de resina hidrofóbicos.

O “*primer*” é constituído por monómeros hidrofílicos que se encontram diluídos em solventes orgânicos (água, etanol e acetona). É graças a estes solventes que os monómeros se conseguem infiltrar nos túbulos dentinários e ao substituir a água presente, pelos monómeros da resina adesiva, formam os “*resin-tags*” (Pashley *et al.*, 2011; Bedran-Russo *et al.*, 2017; Ritter *et al.*, 2019).

O adesivo é composto por monómeros de resina, principalmente hidrofóbicos, como o Bis-GMA mas podem também conter uma pequena percentagem de monómeros hidrofílicos como o HEMA. (Ritter *et al.*, 2019).

2.2. Bis-GMA

O Bis-GMA tem sido um dos monómeros mais utilizados nos adesivos dentários e isto deve-se às suas boas propriedades mecânicas, ao baixo grau de contração, à baixa volatilidade e à capacidade de difusão nas superfícies dentárias. (Vasconcelos e Cruz, Brito, Polido & Gonçalves, 2019) (figura 9).

No entanto, vários estudos “*in vitro*”, indicaram que monómeros, como o Bis-GMA e o HEMA são citotóxicos para os fibroblastos, sendo que o Bis-GMA é o que apresenta a citotoxicidade mais forte (Chen, Liu, Tseng, Jeng & Lin, 2003; Tadin, Gavić & Gavić, 2016). A aplicação de Bis-GMA em materiais dentários está a ser questionada porque apresenta bisfenol-A (BPA), como um dos seus componentes, o que se encontra associado a várias doenças (Yin, Liu & He, 2016). Estudos comprovaram que vários efeitos secundários foram associados ao BPA, como efeitos hormonais, asma, diabetes, obesidade, alterações comportamentais, cancro, infertilidade e malformações genitais (Becher *et al.*, 2018).

Com o objetivo de reduzir a exposição humana ao BPA, estão a ser estudados vários monómeros de metacrilato sem estrutura de BPA, como alternativa ao Bis-GMA (Luo, Liu, Yu, & He, 2019).

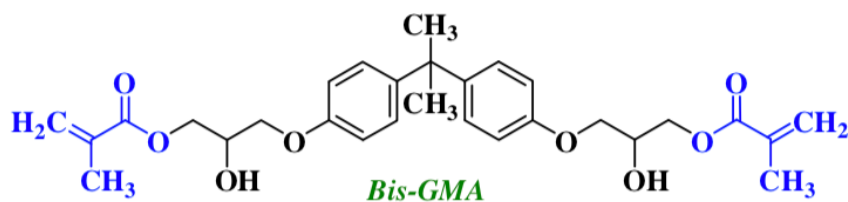


Figura 9 - Estrutura química do Bis-GMA (Melinte *et al.*, 2016).

2.3. Sistemas adesivos

Qualquer sistema adesivo é constituído por 3 elementos, que podem ser apresentados em conjunto ou separados:

- O agente ácido, sendo geralmente utilizado o ácido ortofosfórico a 37%.
- O “*primer*” constituído por monómeros hidrofílicos e hidrofóbicos dissolvidos em solventes orgânicos (água, álcool ou acetona).
- O “*bond*” ou adesivo, constituído, geralmente, por monómeros de resina, iniciadores ou estabilizadores, inibidores e solventes.

(Sakaguchi & Powers, 2012; Vinagre & Ramos, 2016; Vieira de Oliveira *et al.*, 2017; Carrilho *et al.*, 2019).

2.3.1. Adesivos “*etch-and-rinse*” e “*self-etch*”

As estratégias de adesão atuais dependem de como os adesivos dentários interagem com a “*smear-layer*” e podem ser divididos em dois grupos: “*etch and rinse*” e “*self-etch*” (Nagarkar *et al.*, 2019).

A estratégia de “*etch and rinse*” apresenta sempre o componente ácido em separado e consiste na remoção total da “*smear layer*” e desmineralização superficial da dentina e esmalte através da ação do agente ácido, sendo certo que esta estratégia está disponível em 3 passos ou em 2 passos. O sistema de 3 passos apresenta os 3 componentes em separado, já o sistema de 2 passos apresenta, o ácido em separado e o “*primer*” e o adesivo em conjunto (Sezinando, 2014; Bedran-Russo *et al.*, 2017; Nagarkar *et al.*, 2019) (figura 10).

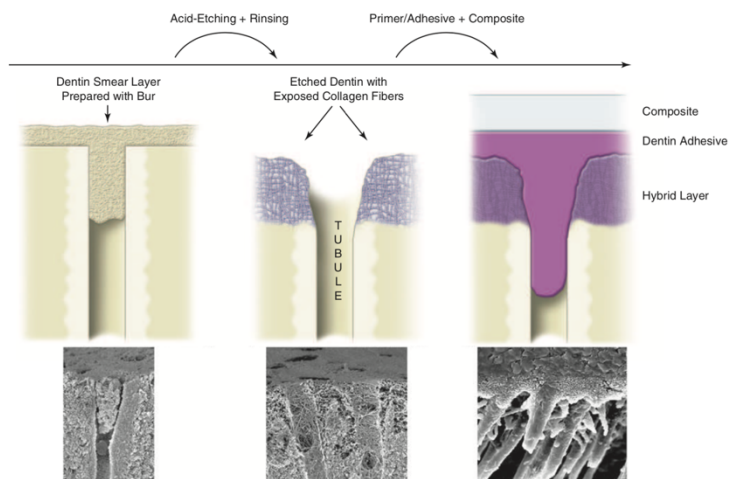


Figura 10 - Esquema de adesão à dentina através da estratégia “*etch and rinse*” (Ritter *et al.*, 2019).

Por outro lado, a estratégia “*self-etch*”, que apresenta sempre o “*primer*” em conjunto com o ácido, torna a “*smear-layer*” permeável sem removê-la completamente, dissolvendo-a para ser incorporada na camada híbrida.

Esta estratégia pode ser utilizada em 2 passos ou em apenas 1, isto é, no sistema de 2 passos temos um “*primer*” ácido, que incorpora o ácido e o “*primer*”, separados do adesivo e no sistema de um único passo temos apenas um frasco, que contém os 3 elementos (Scotti, Cavalli, Gagliani, & Breschi, 2017; Nagarkar *et al.*, 2019) (figura 11).

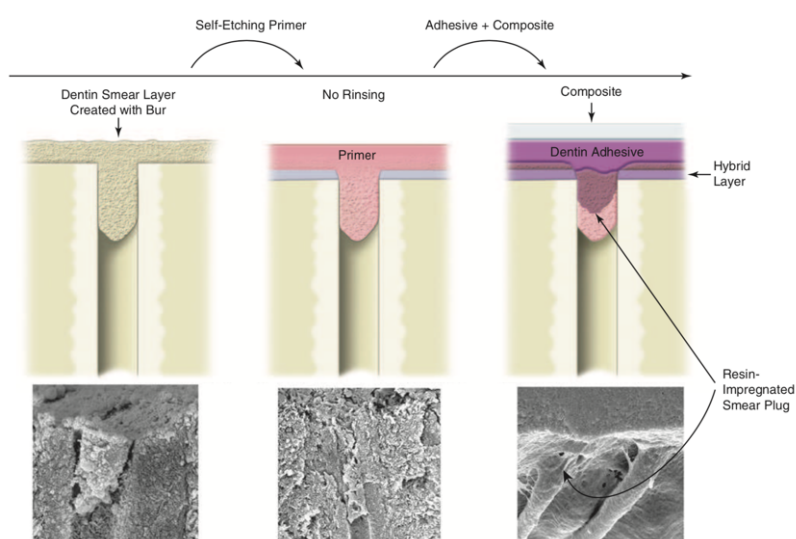


Figura 11 - Esquema de adesão à dentina através da estratégia “*self-etch*” (Ritter *et al.*, 2019).

2.3.2. Adesivos universais

Atualmente existe um novo grupo chamado de sistemas adesivos universais ou “*multi-mode*”, em que a principal característica é que eles podem ser aplicados de acordo com diferentes estratégias de adesão (Perdigão & Swift, 2015; Vinagre & Ramos, 2016).

Estes adesivos permitem ao médico dentista selecionar a estratégia de adesão, “*etch and rinse*”, “*self-etch*” ou uma estratégia alternativa chamada “*selective enamel etching*” (figura 12). Esta estratégia é uma combinação de “*etch and rinse*” sobre esmalte e “*self-etch*” sobre a dentina (Elkaffas, Hamama & Mahmoud, 2018; Nagarkar *et al.*, 2019).

Embora não exista uma definição oficial para o que se qualifica como adesivo universal, a literatura descreve-o como um sistema adesivo de frasco único, que funciona igualmente bem com qualquer uma das estratégias de adesão e que proporciona uma boa adesão à estrutura dentária e aos diferentes materiais restauradores (Carrilho *et al.*, 2019; Ritter *et al.*, 2019).

A maioria dos adesivos universais contém monómeros, como o 10-MDP, que é capaz de se ligar ionicamente à hidroxiapatite. A molécula de 10-MDP cria ligações de fosfato de cálcio, tendo uma ligação química mais estável na água que a de outros monómeros utilizados nos adesivos “*self-etch*”. A dentina é mais recetiva à ligação química entre o 10-MDP e a hidroxiapatite devido à orientação menos ordenada dos cristais e por apresentar menos quantidade e cristais de menor tamanho. Esta ligação leva à formação de sais de cálcio insolúveis que se vão depositando em nano-camadas, que são menores no esmalte quando comparada com a dentina (Van Landuyt *et al.*, 2007; Elkaffas *et al.*, 2018; Papadogiannis, Dimitriadí, Zafiropoulou, Gaintantzopoulou & Eliades, 2019; Ritter *et al.*, 2019).

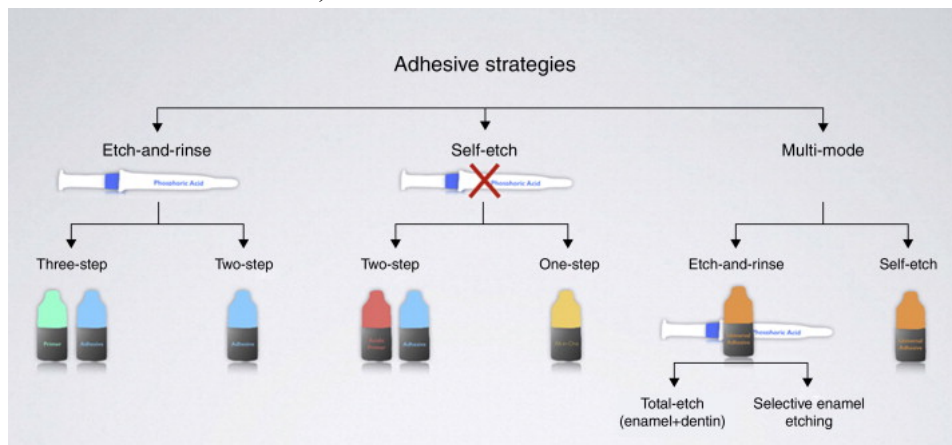


Figura 12 - Estratégias adesivas (Sezinando, 2014).

3. Nanoinfiltração

A qualidade e a duração do selamento da interface entre um material restaurador e a superfície dentária, são considerações importantes para a longevidade das restaurações.

Assim, o estudo da resistência a bactérias e à penetração de fluidos nessa interface, nomeadamente a microinfiltração, tem sido motivo de grande preocupação (Li *et al.*, 2000).

O termo microinfiltração pode ser definido como a passagem de bactérias, fluidos, moléculas ou iões por uma fenda marginal entre a parede da cavidade e o material restaurador e, conseqüentemente, pode resultar em descoloração marginal, sensibilidade pós-operatória, cárie recorrente, patologia pulpar e pode levar a uma perda de retenção (Li *et al.*, 2000; Cardoso *et al.*, 2011; Ritter *et al.*, 2019).

As principais causas da microinfiltração são, a má adesão à estrutura dentária, a contração de polimerização da resina composta, e a diferença nos coeficientes de expansão térmica entre o material restaurador e o dente (Li, Burrow & Tyas, 2002).

Em 1995, Sano *et al.* descreveu outro tipo de infiltração, através de microscópio eletrónico, tendo observado a penetração de nitrato de prata nas margens da camada híbrida na ausência de fendas nas margens da restauração.

Com efeito, esta infiltração acontece em espaços nanométricos, a que o autor deu o nome de nanoinfiltração (Sano *et al.*, 1995), enquanto as fendas na microinfiltração podem variar entre 20 e 50 µm, na nanoinfiltração, as porosidades têm aproximadamente 20 nm (Cardoso Ferreira *et al.*, 2016).

A infiltração do nitrato de prata pode resultar em dois padrões:

- Um padrão isolado de prata que ocorre na camada híbrida resultando de uma infiltração incompleta dos monómeros de resina na matriz de colagénio desmineralizada.
- Um padrão reticular chamado “*water-trees*” que ocorre na camada adesiva e resulta de uma remoção insuficiente da água que tem como consequência uma polimerização incompleta da resina adesiva (Yang *et al.*, 2015; Cardoso Ferreira *et al.*, 2016; Ritter *et al.*, 2019).

A infiltração incompleta de resina na camada híbrida resulta não apenas na nanoinfiltração, mas também na degradação da matriz da dentina devido à ativação das metaloproteinases da matriz (Selvaraj Sampath, Sujatha & Mahalaxmi, 2016).

A nanoinfiltração facilita a permeabilidade a fluidos externos como enzimas orais, bacterianas e a proteases endógenas que são libertadas lentamente e prejudicam o desempenho da interface dentina-resina (Cardoso Ferreira *et al.*, 2016).

Além disso, moléculas de água podem penetrar na interface adesiva, levar à degradação da adesão e consequentemente alargar as fendas nanométricas (Hashimoto, Yamaguchi & Imazato, 2015).

Em 2002 Tay *et al.* desenvolveram uma solução de nitrato de prata amoniacal a 50% para detetar e analisar a nanoinfiltração.

Na realidade, o nitrato de prata é um excelente marcador, porque o diâmetro dos iões de prata é tão pequeno (0,059 nm) que conseguem penetrar facilmente em fendas marginais a uma escala micro e nano ou na captação de água nas interfaces adesivo-dentina (Yang *et al.*, 2015; Cardoso Ferreira *et al.*, 2016).

Os métodos de observação de nanoinfiltração mais usados são o microscópio eletrónico de transmissão (MET) e o microscópio eletrónico de varrimento (MEV) (Hashimoto *et al.*, 2015).

II. Objetivos

Este estudo tem como objetivo avaliar a nanoinfiltração da interface adesiva por SEM-EDS de sistemas adesivos universais com Bis-GMA e de um sistema adesivo sem Bis-GMA.

Hipóteses

Hipótese nula: Não existem diferenças significativas na nanoinfiltração entre os sistemas adesivos com Bis-GMA e o sistema adesivo sem Bis-GMA estudados.

Hipótese alternativa: Existem diferenças significativas na nanoinfiltração entre os sistemas adesivos com Bis-GMA e o sistema adesivo sem Bis-GMA estudados.

Avaliação da nanoinfiltração de um sistema adesivo universal experimental e de sistemas adesivos universais comerciais.

III. Materiais e Métodos

Para este estudo in vitro foram utilizados 15 molares humanos hígidos, sem cáries nem restaurações, extraídos por motivos periodontais ou ortodônticos, cedidos pelo Banco de Dentes Humanos da Clínica Dentária Universitária Egas Moniz.

O estudo foi objeto de aprovação pela Comissão de Ética do Instituto Universitário Egas Moniz (IUEM) (Anexo 1).

Antes do início do estudo os dentes foram tratados tendo sido removidos os tecidos aderentes e o sangue em água corrente e desinfetados numa solução de Cloramina TriHidratada a 1% durante 6 dias, por fim foram armazenados em água desionizada a 4°C por não mais de 6 meses, de acordo com a norma ISO/TS 11405 (ISO/TS 11405:2015).

Os dentes foram distribuídos aleatoriamente em 3 grupos de 5 dentes cada (n=5). Na tabela 2 estão descritos os sistemas adesivos estudados e o fabricante.

O primeiro grupo (SBU) foi composto pelo sistema adesivo Scotchbond Universal Adhesive (3M ESPE, Neuss, Germany), o segundo grupo (FBU) pelo sistema adesivo Futurabond U (Voco, Cuxhaven, Germany) e o último grupo (AUA), pelo adesivo Ambar Universal APS (FGM, Joinville, Brasil).

Nas figuras 13, 14 e 15 são apresentadas imagens dos sistemas adesivos estudados.

Tabela 2 - Distribuição dos grupos experimentais.

Grupos Experimentais
Grupo SBU – Scotchbond Universal Adhesive (3M ESPE, Neuss, Germany) (n=5)
Grupo FBU – Futurabond U (Voco, Cuxhaven, Germany) (n=5)
Grupo AUA – Ambar Universal APS (FGM, Joinville, Brasil) (n=5)



Figura 13 - Scotchbond Universal Adhesive (3M, Neuss, Germany).



Figura 14 - Futurabond U *singleDose* (Voco, Cuxhaven, Germany).



Figura 15 - Adesivo Ambar Universal APS (FGM, Joinville, Brasil).

Os pH dos adesivos foram determinados com o medidor de pH Basic 20 HANNA (Limena, Itália) (figura 16) sendo os valores apresentados na tabela 3 bem como a composição, o lote e a validade dos sistemas adesivos universais utilizados.



Figura 16 - Medidor de pH Basic 20 HANNA (Limena, Itália).

Tabela 3 - Composição, Lote, Validade e pH dos adesivos universais utilizados.

Material	Composição	Lote	Validade	pH
Scotchbond Universal Adhesive (3M ESPE, Neuss, Germany)	MDP, Bis-GMA, HEMA, iniciadores, silano, dimetacrilatos de resina, etanol e água.	901218	31 Dezembro 2020	3,48
Futurabond U (Voco, Cuxhaven, Germany)	Bis-GMA, HEMA, HEDMA, UDMA, monómero adesivo ácido, catalisador, nanopartículas de sílica, iniciador e etanol.	1841241	Outubro 2020	2,44
Ambar Universal APS (FGM, Joinville, Brasil)	MDP, monómeros metacrilatos, complexo fotoiniciador (APS), co-iniciadores e estabilizantes, carga inerente (partículas de sílica) e etanol.	180419	Abril 2021	2,87

1. Tratamento da amostra

Em primeiro lugar os dentes foram colados num porta-amostras com cera colante (Sticky Wax, Kemdent, Wiltshire, Inglaterra) aquecida numa lamparina com a ajuda de uma faca de cera (figura 17), para que, de seguida, fossem cortados num micrótomos de tecidos duros (Accutom-50, Struers,Denmark) (figura 18), com uma lâmina de diamante irrigada com água a 1500 rpm.



Figura 17 - Lamparina, faca de cera e cera colante (Sticky Wax, Kemdent, Wiltshire, Inglaterra).



Figura 18 - Micrótomos de tecidos duros (Accutom-50, Struers,Denmark).

Foram realizados dois cortes paralelamente à face oclusal dos dentes. O primeiro foi realizado para remover as raízes e expor a câmara pulpar que foi limpa com um escavador de dentina e foi preenchida com cola de cianocrilato (Zapit, DVA, Corona, Califórnia, USA) (figura 19 e 20).



Figura 19 - cola de cianocrilato (Zapit, DVA, Corona, Califórnia, USA).



Figura 20 - Câmara pulpar de uma amostra preenchida com cola de cianocrilato.

O segundo corte foi feito de modo a remover a camada de esmalte e expor a dentina superficial (figura 21).



Figura 21 - Sequência de corte da amostra (1- Dente hígido; 2 – Dente montado num-porta amostras com cera colante; 3 – Porta amostras montado no micrótomo de tecidos duros; 4 – Dente depois de ser submetido aos 2 cortes paralelos à face oclusal).

De seguida, os dentes foram polidos numa polidora (LaboForce-1, Struers, Denmark) (figura 22) com lixa de CSi 600 grit sob água corrente, de modo a obter uma camada de dentina homogênea com “*smear layer*” (Luque-Martinez *et al.*, 2014) (figura 23).



Figura 22 - Polidora (LaboForce-1, Struers, Denmark).



Figura 23 - Dente a ser submetido a polimento.

1.1. Aplicação dos sistemas adesivos

Os adesivos foram utilizados na vertente “*selective enamel etching*” em que se aplicou ácido ortofosfórico (37,5%) (Kerr Italia S.r.I., Scafati (AS), Italy) (figura 24) na superfície de esmalte durante 15 segundos (figura 25), porém antes da aplicação do sistema adesivo, os excessos de água foram removidos com jato de ar durante 10 segundos.



Figura 24 - Ácido ortofosfórico (37,5%) (Kerr Italia S.r.I., Scafati (AS), Italy).



Figura 25 - Aplicação do ácido ortofosfórico no dente.

Os sistemas adesivos foram aplicados de acordos com as instruções dos fabricantes. Na tabela 4 descrevem-se as instruções do fabricante para o adesivo Scotchbond Universal Adhesive (3M ESPE, Neuss, Germany).

Tabela 4 - Instruções do fabricante para o adesivo Scotchbond Universal Adhesive (3M ESPE, Neuss, Germany).

Scotchbond Universal Adhesive
1- Aplicar o adesivo com um “ <i>microbrush</i> ” na superfície dentária e esfregar durante 20 segundo
2- Secar levemente com jato de ar durante 5 segundos
3- Fotopolimerizar o adesivo durante 10 segundos

Na tabela 5, as instruções do fabricante para o adesivo Futurabond U (Voco, Cuxhaven, Germany).

Tabela 5 - Instruções do fabricante para o adesivo Futurabond U (Voco, Cuxhaven, Germany).

Futurabond U
1- Ativar o blister individual (<i>singledose</i>)
2- Perfurar com um “ <i>microbrush</i> ” o compartimento de mistura
3- Misturar o adesivo com o “ <i>microbrush</i> ” até obter um líquido homogêneo
4- Aplicar o adesivo na superfície do dente

5- Esfregar o adesivo durante 20 segundos na superfície do dente
6- Secar levemente com jato de ar durante 5 segundos
7- Fotopolimerizar o adesivo durante 10 segundos

Na tabela 6 descreve-se as instruções do fabricante para o adesivo Ambar Universal APS (FGM, Joinville, Brasil).

Tabela 6 - Instruções do fabricante para o adesivo Ambar Universal APS (FGM, Joinville, Brasil).

Ambar Universal APS
1- Aplicar uma gota de adesivo na superfície do dente levemente húmido, friccionando vigorosamente o “microbrush” na superfície dentário durante 10 segundos
2- Aplicar uma segunda gota de adesivo continuando a esfregar o adesivo com o “microbrush”
3- Secar levemente com jato de ar durante 10 segundos
4- Fotopolimerizar o adesivo durante 10 segundos

Seguidamente, foram construídos blocos de resina composta microhíbrida de cor A3 (Bestdent, Barcelona, Espanha) (figura 26) de 6-8mm de altura, fotopolimerizando a cada camada de 2 mm durante 60 segundos (de acordo com as instruções do fabricante, tabela 7) com o fotopolimerizador Optilux 501 (Kerr, Middleton, USA) (figura 27).



Figura 26- Resina composta microhíbrida de cor A3 (Bestdent, Barcelona, Espanha).



Figura 27 - Fotopolimerizador Optilux 501 (Kerr, Middleton, USA).

Tabela 7 - Aplicação da resina composta microhíbrida (Bestdent, Barcelona, Espanha) segundo as instruções do fabricante.

Resina composta microhíbrida (Bestdent, Barcelona, Espanha)
1- Aplicar camadas até 2mm de espessura
2- Fotopolimerizar durante 60 segundos

Por último os espécimes foram armazenados numa estufa de incubação (Mettmert INE 400, Mettmert, Germany) (figura 28) a 37°C, durante 24 horas, dentro de água destilada.



Figura 28 - Estufa de incubação (Mettmert INE 400, Mettmert, Germany).

1.2. Preparação da amostra

Depois do período de incubação os espécimes foram cortados uma segunda vez no micrótomoto de tecidos duros (Accutom-50, Struers, Denmark), mediante um corte transversal para obter várias fatias de 0,7mm (figura 29), e estas fatias foram armazenadas durante 1 mês na estufa de incubação (Mettmert INE 400, Mettmert, Germany) em água destilada a 37°C.

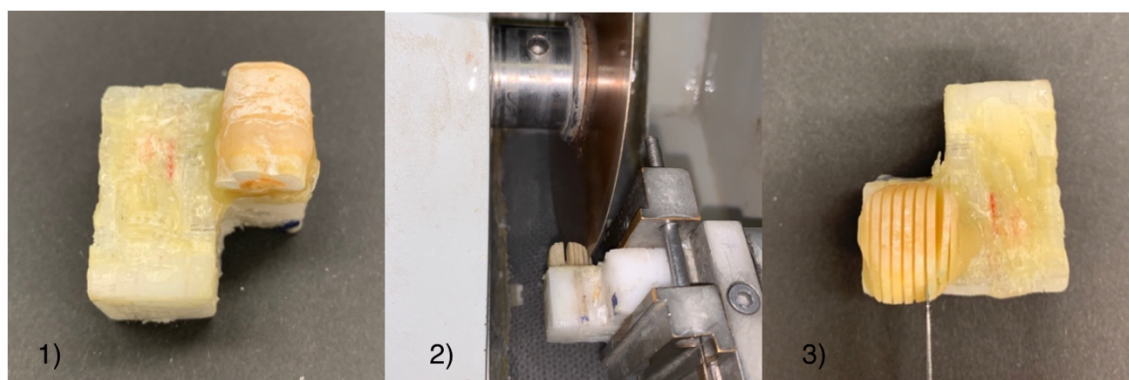


Figura 29 - Sequência de corte da amostra em fatias. (1- Amostra montada no porta-amostras; 2- Amostra a ser cortada em fatias no micrótomoto de tecidos duros; 3- Amostra cortada em fatias).

1.3. Impregnação e preparação da amostra para o MEV

Após o período de incubação (figura 30), foram escolhidas 10 fatias por grupo, 2 por dente, sendo que foram escolhidas as fatias do centro por apresentarem uma interface maior. Os espécimes revestidos por duas camadas de verniz de unhas, à exceção de 1mm da interface adesiva, de modo a que a mesma se encontre exposta ao agente impregnante (figura 31).



Figura 30 – Espécime depois de um mês na estufa.



Figura 31 – Espécime revestido com duas camadas de verniz das unhas.

De seguida, foi formulada uma solução aquosa de nitrato de prata amoniacal pH=9,5 a 50%, à qual se acrescentou uma solução de hidróxido de amónia de maneira a definir para 9,5 o pH da solução. Os espécimes foram imersos nesta solução a 37°C durante 24 horas em frascos protegidos da luz (figura 32).



Figura 32 – Espécime após 24 horas imerso na solução de nitrato de prata amoniacal a 50% (pH 9,5).

Seguidamente os espécimes foram postos debaixo de água corrente, durante 5 minutos e imersos numa solução fotográfica reveladora (Periomat Intra, Dürr Dental, Bissingen, Germany) (figura 33) durante 8 horas debaixo de uma luz fluorescente de maneira a possibilitar a redução dos iões de prata a grãos de prata metálicos. Depois deste período, os espécimes foram lavados com água corrente durante 5 minutos e o verniz de unhas foi raspado com uma faca de cera da superfície dos espécimes (figura 34).



Figura 33 - Solução fotográfica reveladora (Periomat Intra, Dürer Dental, Bissingen, Germany).



Figura 34 – Espécime a seguir a imersão na solução fotográfica reveladora e do verniz das unhas ter sido raspado.

Logo a seguir os espécimes foram imersos numa solução fixadora 2,5% de glutaraldeído com 2% paraformaldeído em 0,1M de cacodilato de sódio tamponado de pH 7,3 durante 12 horas a 4°C (figura 35).



Figura 35 – Espécime depois de ter estado 12 horas a 4°C imerso numa solução fixadora (pH 7,3).

Após a fixação, os espécimes foram lavados com 20ml de 0,1M de cacodilato de sódio tamponado, durante uma hora, onde a solução foi trocada de 20 em 20 minutos e depois foram lavados novamente com água destilada durante 1 minuto.

Tais espécimes foram, sucessivamente, desidratados em imersões de graus crescentes de etanol, iniciando-se por imergir os espécimes em etanol durante 20 minutos a 25%, a 50%, e a 75%, sendo em seguida imersos durante 30 minutos em etanol a 96% e, por fim, foram imersos em etanol a 100% durante 60 minutos.

Finalizado este processo foram colocados numa diluição de 1:1 de etanol e hexametildisilazano, durante 10 minutos e secos por imersão em hexametildisilazano durante 10 minutos (figura 36), tendo, finalmente, sido colocados numa caixa de petri com papel de filtro para secar completamente à temperatura ambiente.



Figura 36 - Espécime final, depois de ter sido lavado e desidratado.

Depois de secos, os espécimes foram embebidos em resina epóxi autopolimerizável (EpoFix Resin, Struers, Denmark) (figura 37) após terem sido estabilizados com cera cola em cilindros (FixiForm, Struers, Denmark) vaselinados (figura 38), e seguidamente, deixados 24 horas num dessecador de vácuo (Bel-Art, New Jersey, USA) (figura 39).



Figura 37 – Resina epóxi autopolimerizável (EpoFix Resin, Struers, Denmark).



Figura 38 - Cilindros (FixiForm, Struers, Denmark) vaselinados.



Figura 39 - Dessecador de vácuo (Bel-Art, New Jersey, USA).

Após a polimerização, os espécimes foram polidos numa polidora (LaboForce-1, Struers, Denmark) (figura 40) com discos de carbeto de silício com abrasão decrescente sob água corrente, tendo se iniciado com um disco de 220 grit durante 30 segundos, de 360 grit por 60 segundos, 600 grit durante 60 segundos, 1200 grit por 60 segundos e, por fim, um disco de 2400 grit durante 60 segundos (figura 41).

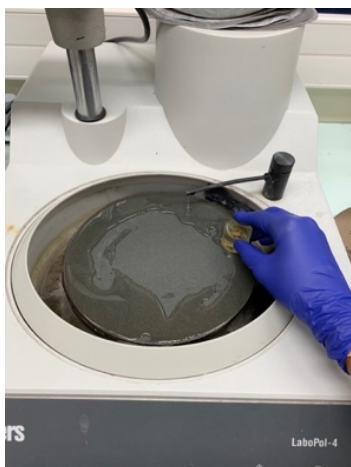


Figura 40 - Polimento dos espécimes na polidora (LaboForce-1, Struers, Denmark).



Figura 41 - Discos de polimento de 220, 360, 600, 1200 e 2400 grit.

Para concluir o polimento, foram usados discos de tecido com suspensões diamantadas de 3 e 1 micrómetros durante 3 minutos cada (figura 42).

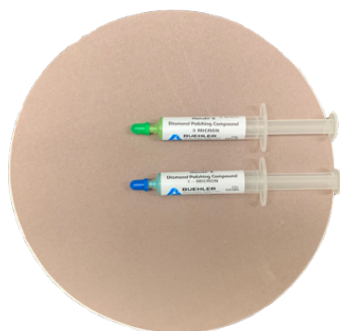


Figura 42 - Disco de tecido e suspensão diamantada de 3 e 1 micrómetros.

De seguida os espécimes foram colocados num banho de ultrassom (Branson Ultrasonic, Emerson Electric, Connecticut, USA) com 100% etanol durante 10 minutos (figura 43). Depois de secos e desmineralizados em 0,5% de ácido fosfórico durante 1 minuto, os espécimes foram colocados em caixas de *petri* forradas com papel absorvente até secarem à temperatura ambiente (figura 44).



Figura 43 – Espécimes no banho de etanol no ultrassom (Branson Ultrasonic, Emerson Electric, Connecticut, USA).



Figura 44 – Amostra final.

2. Avaliação da nanoinfiltração

As amostras foram revestidas numa liga de ouro-paládio de 12nm de espessura com Quorum Technologies, Q150T-ES Sputt-coaster, a 30 mA por 40 segundos (figura 45), e consecutivamente as amostras foram montadas num suporte de alumínio com fita de carbono (Ted Pella Inc) e rotuladas.



Figura 45 - Amostra revestida numa liga de ouro-paládio de 12nm de espessura.

Através do Microscópio Eletrónico de Varrimento (MEV, Hitachi S-2400, Hitachi High-Technologies Corporation, Tokyo, Japan) do Instituto Superior Técnico da Universidade de Lisboa (figura 46) com um detetor de eletrões retrofundidos, uma aceleração de 20Kv e uma distância de trabalho de 13mm, foi possível observar a

extensão de penetração do nitrato de prata ao longo da interface adesivo/dentina (tais amostras foram observadas em 3 ampliações diferentes, 200x, 400x e 1500x).

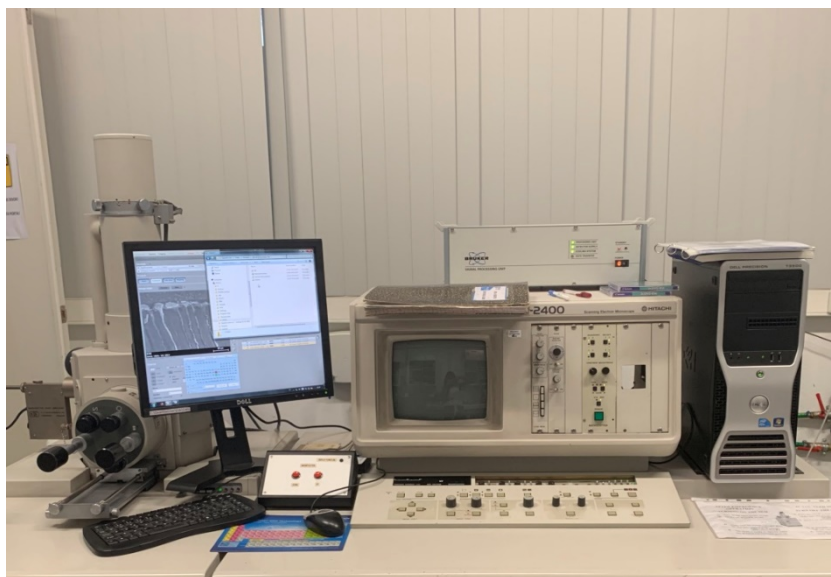


Figura 46 - Microscópio Eletrônico de Varrimento (MEV Hitachi S-2400, Hitachi High-Technologies Corporation, Tokyo, Japan).

3. Análise estatística

Ao longo da observação das amostras no microscópio eletrônico de varrimento (MEV) foram tiradas microfotografias a todo o comprimento da interface das amostras com uma ampliação de 200x.

O comprimento total de cada amostra, assim como o comprimento da nanoinfiltração foram medidos utilizando o software Image J. 1.51 (Wayne Rasbond, National Institutes of Health, EUA).

Feitas as medições, foi calculada a percentagem de penetração do nitrato de prata através da fórmula $N=(C/I) \times 100$, sendo que, N corresponde à percentagem da nanoinfiltração, C corresponde ao comprimento da interface adesiva infiltrada e I corresponde ao comprimento total dessa mesma interface.

Consideramos nanoinfiltração a presença de manchas brancas intensas metalizadas de aspeto reticular ou globular presentes na interface adesiva das amostras.

De facto, a presença de nitrato de prata nessas manchas foi confirmada através do sistema de microanálise por microscopia por dispersão de energia (EDS) associado ao TEM, tendo ainda sido tiradas microfotografias com uma ampliação de 1500x para visualizar a sua localização na interface, assim como a ultramorfologia dos seus depósitos.

Avaliação da nanoinfiltração de um sistema adesivo universal experimental e de sistemas adesivos universais comerciais.

IV. Resultados

De maneira a poder quantificar a nanoinfiltração foram tiradas microfotografias ao longo de toda a interface adesiva com uma ampliação de x200, além disso, de modo a visualizar a localização do nitrato de prata e a sua ultramorfologia foram ainda tiradas microfotografias com uma ampliação de 400x e 1500x. Nas imagens obtidas é possível visualizar, os “*resin-tags*” (RT), a camada híbrida (CH), a resina composta (RC), a camada de adesivo (CA) e os túbulos dentinários (TD), tendo a presença de prata sido confirmada por análise EDS (gráfico 1).

Na figura 47 são apresentados os depósitos de nitrato de prata ao longo da interface adesiva, nas diferentes ampliações: (A) 200x, (B) 400x e (C) 1500x do sistema adesivo Scotchbond Universal Adhesive.

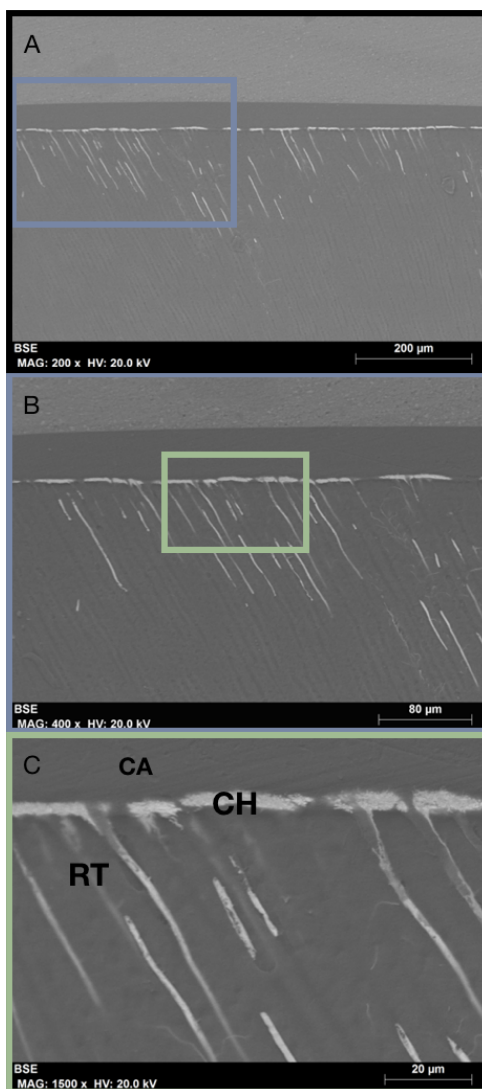


Figura 47 – Microfotografias obtidas por microscópio eletrónico de varrimento (MEV) do adesivo Scotchbond Universal Adhesive (grupo SBU). (A- ampliação x200; B- ampliação x400; C- ampliação x1500; CA- Camada de adesivo; CH- Camada híbrida; RT- “*resin-tags*”).

Na figura 48 são apresentados os depósitos de nitrato de prata ao longo da interface adesiva, nas diferentes ampliações: (A) 200x, (B) 400x e (C) 1500x do sistema adesivo Futurabond U.

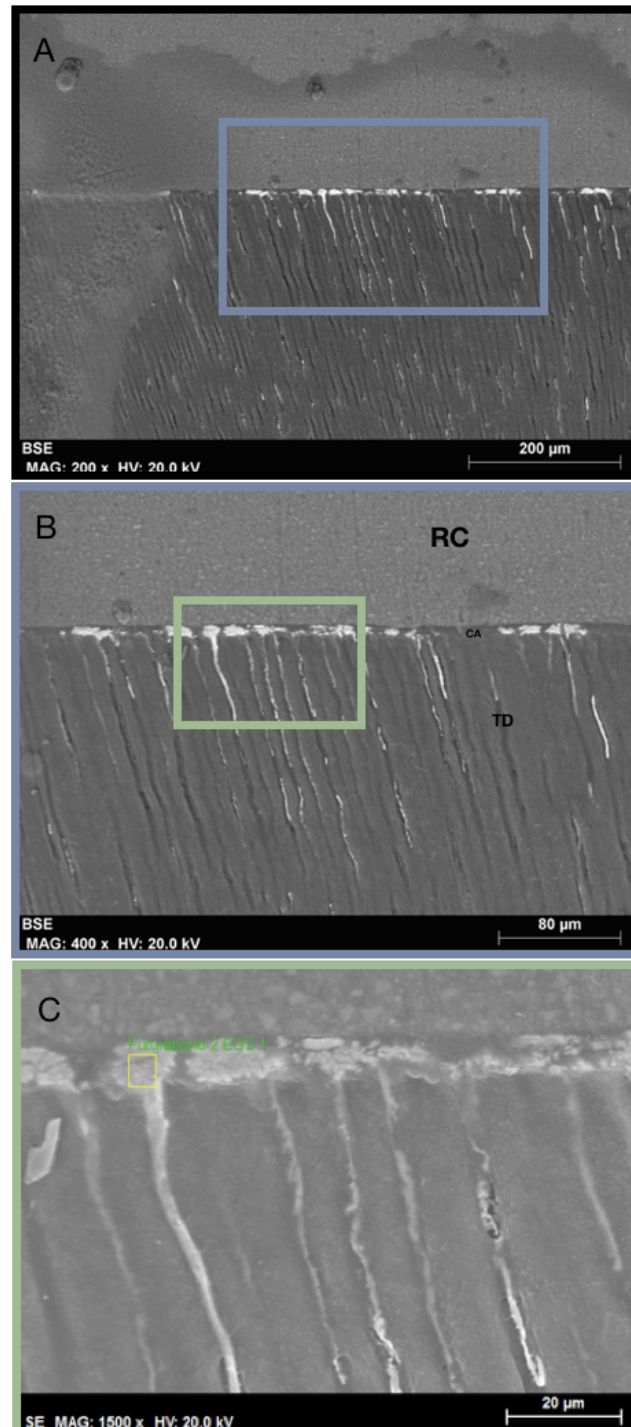


Figura 48 - Microfotografias obtidas por microscópio eletrônico de varrimento (MEV) do adesivo Futurabond U (grupo FBU). (A- ampliação x200; B- ampliação x400; C- ampliação x1500; RC – Resina composta; CA- Camada de adesivo; TD- Túbulo dentinário).

Na figura 49 são apresentados os depósitos de nitrato de prata ao longo da interface adesiva, nas diferentes ampliações: (A) 200x, (B) 400x e (C) 1500x do sistema adesivo Ambar Universal APS.

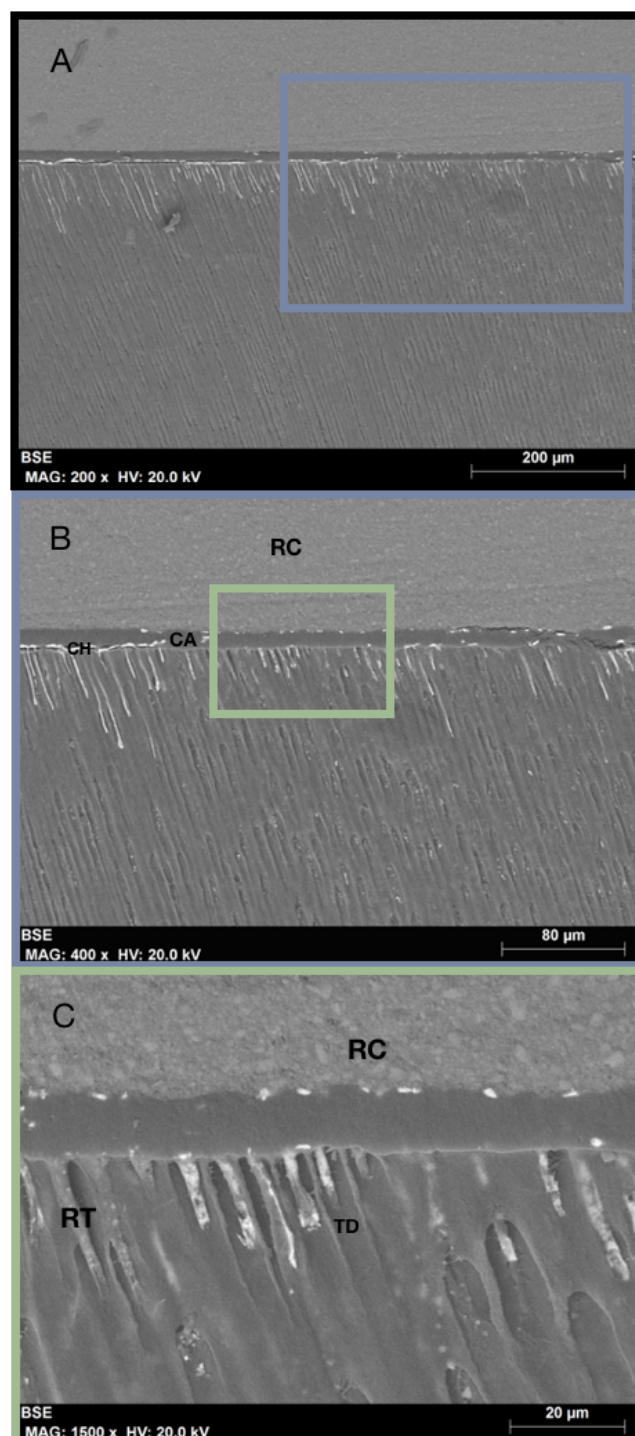


Figura 49 - Microfotografias obtidas por microscópio eletrônico de varrimento (MEV) do adesivo Ambar Universal APS (grupo AUA). (A- ampliação x200; B- ampliação x400; C- ampliação x1500; RC- Resina composta; RT- “resin-tags”; TD- Túbulo dentinário; CA- Camada de adesivo; CH- Camada híbrida).

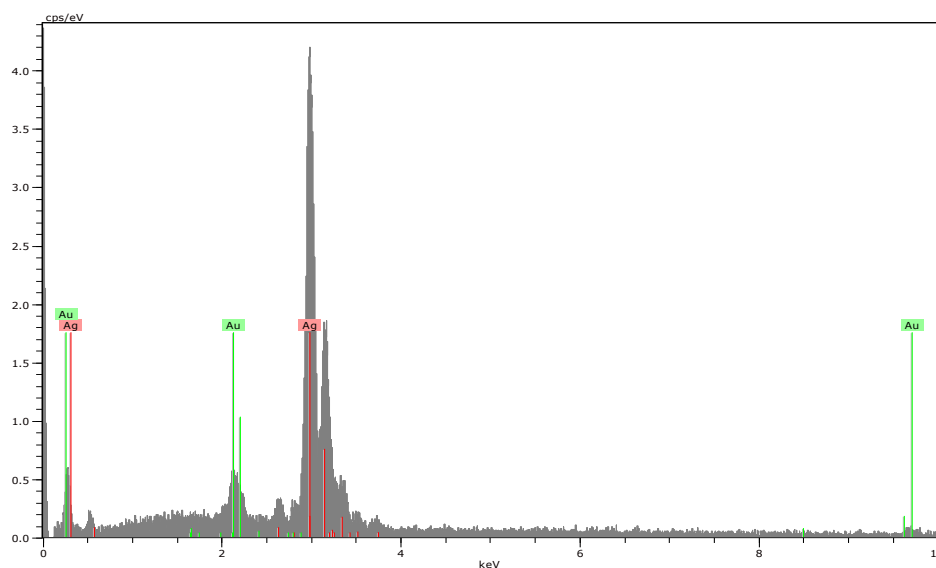


Gráfico 1 – Gráfico representativo da interface adesiva da imagem 48(c), confirmando a presença do elemento prata por análise EDS.

A análise estatística foi calculada com a ajuda do programa IBM SPSS Statistics (IBM SPSS Statistics, IBM Corporation, EUA).

Os valores médios da percentagem de nanoinfiltração da interface adesiva, bem como os respetivos desvios-padrão para cada sistema adesivo, encontram-se expostos na tabela 8. No gráfico 2 estão representados os valores em percentagem dos grupos estudados.

Tabela 8 – Percentagens de nanoinfiltração por cada sistema adesivo estudado: n° de amostras estudadas, média, desvio padrão, mínimo e máximo (%).

Sistema adesivo	Nº de espécimes estudados	Média (%)	Desvio Padrão (%)	Mínimo (%)	Máximo (%)
Scotchbond Universal	10	21,10	8,39	10,32	36,77
Futurabond U	10	25,75	11,21	14,65	47,44
Ambar Universal APS	10	18,72	7,08	5,88	27,77
Total	30	21,86	9,23	5,88	47,44

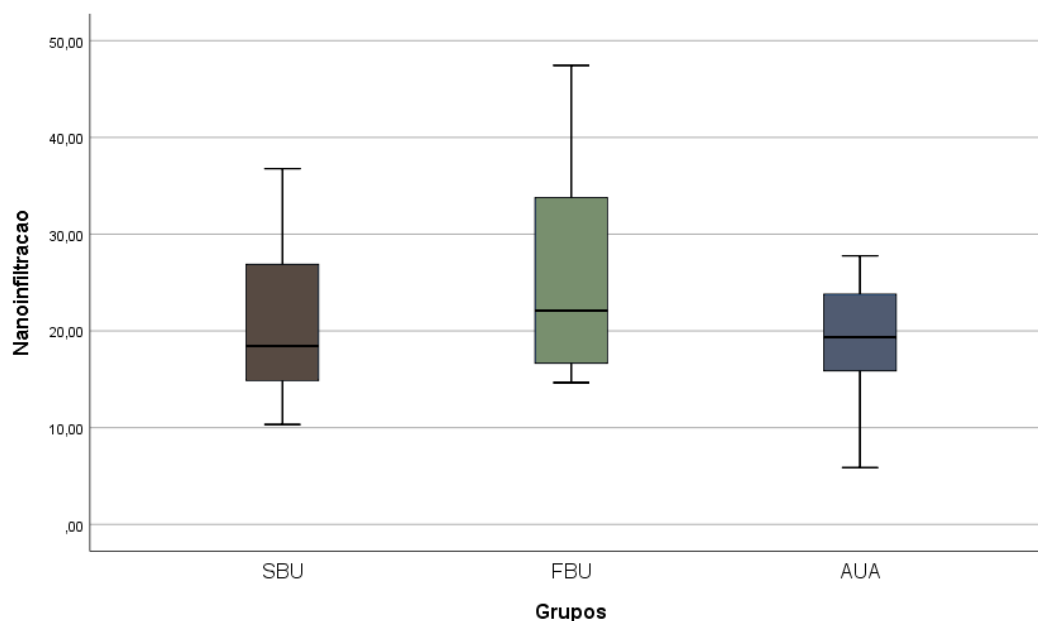


Gráfico 2 – Percentagem de nanoinfiltração por cada grupo estudado (%).

Para verificar a homogeneidade dos valores dentro de cada grupo foram feitos testes de Shapiro-Wilk e de Levene. O nível de significância definido foi de 0,05, sendo que, o valor obtido foi $\geq 0,05$, por conseguinte, verifica-se homogeneidade de variância nos resultados obtidos (tabela 9 e 10).

Tabela 9 – Teste de normalidade Shapiro-Wilk para os diferentes grupos experimentais.

Grupos experimentais	Significância Shapiro-Wilk
SBU	0,529
FBU	0,108
AUA	0,536

Tabela 10 – Teste de homogeneidade de variância de Levene.

Nanoinfiltração	Significância de Levene
Com base na média	0,281
Com base na mediana	0,574

Procedeu-se à comparação dos 3 sistemas adesivos (SBU, FBU e AUA), no que respeita à percentagem de nanoinfiltração (em %), mediante aplicação do teste ANOVA *one-way*. O nível de significância definido foi de 0,05, sendo que, o valor obtido foi

$\geq 0,05$, por conseguinte, verifica-se que não existem diferenças significativas entre os grupos estudados (tabela 11).

Tabela 11 – Teste ANOVA *one-way*.

Nanoinfiltração	Significância ANOVA
Entre grupos	0,229

Ainda assim, foi realizado o teste de Tukey HSD, que é um teste estatístico de comparação múltipla usado para encontrar resultados significativamente diferentes, comparando todos os grupos entre si. O nível de significância definido foi novamente de 0,05, sendo que, o valor obtido foi $\geq 0,05$, verifica-se novamente que não existem diferenças significativas entre nenhum dos grupos estudados (tabela 12).

Tabela 12 - Teste Hukey HSD.

Grupos Experimentais	Grupos Experimentais	Significância Tukey HDS
SBU	FBU	0,494
	AUA	0,828
FBU	SBU	0,494
	AUA	0,201
AUA	SBU	0,828
	FBU	0,210

Apesar de não existirem diferenças significativas entre os sistemas adesivos, o adesivo Futurabond U foi o que apresentou maior expressão de nanoinfiltração (25,75%), inclusive, foi o que apresentou a maior quantidade de depósito de nitrato de prata, tendo chegado aos 47,44% na interface de uma amostra. O adesivo Ambar Universal APS foi o que apresentou a melhor média de nanoinfiltração (18,72), sendo que, foi o que obteve a amostra com menor interface de depósitos de prata, apresentando unicamente 5,88%.

V. Discussão

A duração limitada das restaurações resulta principalmente da exposição das interfaces adesivas ao ambiente oral, que pode provocar um enfraquecimento da ligação entre o material restaurador e os tecidos dentários. Inicialmente, leva à infiltração e à passagem de microrganismos, que conseqüentemente, pode causar, cárie secundária, descoloração marginal, sensibilidade pós-operatória, patologia pulpar e pode ainda levar a uma perda de retenção, sendo então necessário substituir a restauração (Vinagre & Ramos, 2016; Łukomska-Szymańska, Sokołowski & Łapińska, 2017; Li *et al.*, 2000).

Nesta investigação avaliou-se a nanoinfiltração da interface adesiva de três sistemas adesivos universais distintos, um sem a presença de bis-GMA, Ambar Universal APS, e outros dois com a presença de bis-GMA, Scotchbond Universal e Futurabond U.

De acordo com a mesma, os resultados obtidos neste estudo, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas nos valores de nanoinfiltração entre os três adesivos estudados, confirmando assim a hipótese nula.

A escolha de uma técnica padronizada para análise da nanoinfiltração é importante para a discussão dos resultados das diversas pesquisas nesta área, pelo que, vários estudos têm conseguido estabelecer parâmetros para possibilitar esta padronização. O presente trabalho de investigação foi realizado segundo a norma ISO/TS 11405:2015 que define os critérios para realizar testes de adesão em substratos dentários.

De acordo a mesma, foram escolhidos molares definitivos hígidos humanos, extraídos por motivos periodontais ou ortodônticos, sendo que, os tecidos aderentes e o sangue, foram removidos sob água corrente e os dentes foram desinfetados numa solução de cloramina TriHidratada a 1% durante 6 dias. Após este período foram armazenados em água desionizada a 4°C por não mais de 6 meses.

Com o objetivo de padronizar o estudo nos diferentes grupos e parâmetros, não somente todos os procedimentos laboratoriais foram executados pela mesma operadora utilizando as instruções detalhadas dos fabricantes, mas também foi utilizado o mesmo material restaurador, resina composta microhíbrida bestdent cor A3, em todos os grupos de forma a evitar qualquer influência da mesma na adesão.

Não obstante a se tratar de um estudo “*in vitro*”, pretendeu-se reproduzir ao máximo as condições clínicas que acontecem “*in vivo*” aquando da execução de todos os procedimentos. Os dentes foram polidos com lixa de CSi de 600 grit sob água corrente,

de modo a obter uma camada de dentina homogênea com “*smear layer*” similar à obtida em circunstâncias clínicas (Luque-Martinez *et al.*, 2014). Logo após terem sido construídos os blocos de resina composta, as amostras foram armazenadas em água desionizada numa estufa a 37°C durante 24 horas permitindo uma completa polimerização da resina simulando o que acontece intra-oralmente (Tay *et al.*, 2003; Wang *et al.*, 2017).

Sendo que a nanoinfiltração acontece em espaços nanométricos, utiliza-se uma solução de nitrato de prata amoniacal a 50% para detetar e analisar a nanoinfiltração, que por conter iões de prata de um diâmetro de 0,059 nm consegue facilmente infiltrar-se nas nanoporosidades que têm aproximadamente 20 nm (Yang *et al.*, 2015; Cardoso Ferreira *et al.*, 2016). Esta solução de nitrato de prata permite a penetração dos iões de prata sem exigir uma reação química ou a utilização de materiais radioativos (Costa *et al.*, 2011).

Nos estudos de nanoinfiltração, habitualmente são usadas soluções de nitrato de prata com um pH ácido, no entanto devido ao longo tempo de imersão necessário (24 horas), tem havido preocupações com o possível efeito desmineralizante. Para garantir que não haja penetração de nitrato de prata através de vias criadas pela acidez da solução, nesta investigação foi utilizada uma solução de nitrato de prata amoniacal básica, com um pH de 9,5 (Chen *et al.*, 2015; Costa *et al.*, 2011).

Embora não haja unanimidade na literatura científica, nesta investigação as amostras foram cobertas por duas camadas de verniz de unhas à exceção de 1mm da interface adesiva, de modo a que a mesma se encontre exposta ao agente impregnante como efetuado em vários estudos (Duarte, Perdigão & Lopes, 2006; Luque-Martinez *et al.*, 2014; Marchesi, André, Ayres, Martins. & Giannini, 2014; Lenzi, Raggio, Soares & Rocha, 2015; Makishi *et al.*, 2016; Gutiérrez *et al.*, 2019).

A técnica empregada para medir a quantidade de nanoinfiltração utiliza amostras polidas, contudo, existe alguma controvérsia com este método, pois é possível que o corte e o polimento das amostras possam causar uma deposição de prata nas superfícies das mesmas, sendo que os resultados mostrariam uma deposição maior do que a realmente existente (Li *et al.*, 2002). De modo a prevenir estes falsos resultados, nesta investigação, as amostras foram limpas no ultrassom num banho de etanol como feito em outros estudos (Muñoz *et al.*, 2013; Luque-Martinez *et al.*, 2014; Muñoz *et al.*, 2014; Muñoz *et al.*, 2015; Sezinando *et al.*, 2015; Gutiérrez *et al.*, 2019; Siqueira *et al.*, 2019).

Os estudos similares disponíveis na literatura são muito escassos, dificultando assim a comparação de resultados. Apesar de existirem várias investigações que estudem

a nanoinfiltração qualitativa, há muito poucos de avaliação quantitativa, sendo que, a maioria compara o protocolo “*self-etch*” com o de “*etch-and-rinse*”. Independentemente do número reduzido de investigações presentes na literatura que estudem a nanoinfiltração quantitativa com os adesivos utilizados neste estudo, foram analisados os que, de certa forma, se pudessem correlacionar com algumas das condições deste estudo.

Tendo em conta a pesquisa feita aquando do planeamento do protocolo desta investigação, constatou-se que os resultados obtidos com o protocolo “*self-etch*” apresentavam menores depósitos de nitrato de prata, pelo que o protocolo selecionado para a realização deste estudo foi o de “*selective enamel etching*” sendo que, esta estratégia é uma combinação de “*etch and rinse*” sobre esmalte e “*self-etch*” sobre a dentina.

Num estudo realizado por Makishi *et al.* em 2015, foi avaliada a nanoinfiltração no adesivo Scotchbond Universal na vertente “*self-etch*”. No entanto nesse estudo, as amostras foram submetidas a termociclagem, foi realizado um polimento quase inexistente e não foi realizado nenhum protocolo de secagem. Ainda que o protocolo final tenha algumas dissemelhanças, obtiveram um resultado muito semelhante ao obtido na presente investigação.

Luque-Martinez e seus colaboradores em 2014, realizaram uma investigação em que também avaliaram o sistema adesivo Scotchbond Universal. Este estudo comparou a nanoinfiltração em diferentes tempos de evaporação do solvente e com dois protocolos de aplicação de sistemas adesivos, “*self-etch*” e “*etch-and-rinse*”. O protocolo para a avaliação da nanoinfiltração foi muito semelhante ao do presente estudo exceto a seleção da amostra, sendo que a investigação foi realizada em dentes restaurados contrariamente a este que foi realizado em dentes hígidos. Não obstante, os resultados da percentagem de nanoinfiltração são muito similares aos desta investigação.

No entanto, Muñoz *et al.* conduziram três estudos em 2013, 2014 e 2015 em que estudavam o adesivo Scotchbond Universal e obtiveram valores de nanoinfiltração bastante inferiores aos obtidos no grupo SBU. O protocolo realizado por Muñoz *et al.* não diferia do realizado neste estudo excetuando o corte da amostra, sendo que Muñoz *et al.* avaliou a nanoinfiltração em palitos de 1 mm² e não em fatias.

O adesivo Ambar Universal APS é muito recente, tendo sido introduzido no mercado unicamente em Agosto de 2018. Este adesivo é uma nova versão do Ambar Universal sendo que, a principal diferença é o sistema APS que, segundo a marca (FGM), é um sistema de polimerização que promove diferentes benefícios, que não são

especificados pela mesma (disponível em: <https://www.fgm.ind.br/fgmnews/ambar-universal-aps-evolucao/>). Sendo um adesivo tão recente não foram encontrados estudos sobre o mesmo, no entanto, foram encontradas duas investigações sobre a sua versão anterior, Ambar Universal, que já não continha Bis-GMA, sendo esse o objeto de estudo, decidiu-se analisar essas investigações.

Em 2019, Gutiérrez *et al.* elaborou um estudo que analisou o efeito da junção de nanopartículas de óxido de zinco e de cobre a adesivos universais avaliando vários parâmetros, entre eles a nanoinfiltração. O protocolo de nanoinfiltração foi semelhante ao efetuado neste estudo sendo os resultados obtidos com o adesivo Ambar Universal no grupo controlo, sem a adição das nanopartículas, similares aos observados no grupo AUA.

Num estudo realizado por Siqueira *et al.* (2019), avaliou-se a microtração e a nanoinfiltração com diferentes sistemas adesivos universais e dois protocolos, “*self-etch*” e “*etch-and-rinse*”. Nesta investigação foram realizados 2 grupos experimentais, um em dentes com erosão causada por ácido cítrico, outro em dentes com erosão por refrigerantes, e um grupo controlo, realizado em dentes hígidos. Para efeitos comparativos ao presente estudo, foram utilizados os dados obtidos em dentes hígidos com os adesivos Scotchbond Universal, Futurabond U e Ambar Universal. O protocolo de nanoinfiltração foi realizado em palitos, pelo que, Siqueira *et al.* obteve resultados muito inferiores aos obtidos neste estudo, como sucedeu nos estudos de Munõz. No entanto, os resultados obtidos por Siqueira *et al.* nos adesivos Ambar Universal e Scotchbond Universal foram idênticos e o resultado obtido para o adesivo Futurabond U foi mais elevado.

Em 2015, Chen *et al.* realizaram um estudo cujo objetivo foi de avaliar a capacidade de adesão de adesivos universais à dentina através da microtração e da nanoinfiltração. O estudo foi realizado com 5 adesivos universais sendo que, dois deles foram o Scotchbond Universal e o Futurabond U. Apesar da avaliação da nanoinfiltração ter sido realizada unicamente com carácter qualitativo, Chen *et al.* relataram que as camadas híbridas obtidas pelo adesivo Futubrand U apresentavam uma presença de nitrato de prata mais acentuada quando comparadas com as camadas híbridas formadas pelos outros quatro adesivos.

No presente estudo, apesar de não terem sido observadas diferenças estatisticamente significativas entre os 3 grupos, o adesivo Futurabond U foi o que apresentou percentagens de nitrato de prata substancialmente mais elevadas. Estes

resultados podem ser devidos à ausência de 10-MDP na sua formulação. Em 2015, Muñoz *et al.*, realizou um estudo que avaliou a resistência adesiva e a nanoinfiltração de adesivos universais com e sem 10-MDP na sua composição, sendo que, o resultado mostrou que os adesivos universais que contêm 10-MDP apresentam ligações mais estáveis e menores quantidades de nanoinfiltração, concluindo ainda que a molécula de 10-MDP permite uma ligação química estável à dentina criando uma nanocamada de sais de cálcio estáveis.

A composição química dos adesivos determina o seu sucesso clínico, pelo que, a melhoria do seu comportamento clínico pode ser alcançada através de dois meios diferentes. A primeira maneira envolve ajustar a quantidade de ingredientes nos adesivos, sendo que este método já foi amplamente explorado. A segunda via consiste em formular novos componentes, em particular, monómeros que podem ser adaptados para fornecer qualidades relativas à polimerização, à molhabilidade e à ligação química, no entanto este processo é demorado e dispendioso, o que explica a razão pela qual apenas poucas empresas tenham escolhido esse caminho. Ainda assim, o desenvolvimento de novos ingredientes e monómeros personalizados parece mais promissor para uma melhoria significativa dos adesivos (Van Landuyt *et al.*, 2007).

Existem assim, vários outros fatores que influenciam o desenvolvimento da nanofiltração, incluindo o tipo de solvente (água vs etanol), os monómeros (HEMA, Bis-GMA), os diferentes pesos moleculares dos componentes (de 130 - HEMA a 513 - Bis-GMA), os vários aditivos (ácido maléico, glutaraldeído) e os diferentes métodos de aplicação dos sistemas adesivos (adesão à dentina com humidades diferentes) (Łukomska-Szymańska *et al.*, 2017). Contudo, com a presente investigação, podemos supor que a presença de bis-GMA não influencia a quantidade de nanoinfiltração.

No entanto esta investigação, apresentou algumas limitações, que poderiam ser diminuídas com uma amostra maior, aumentando o número de adesivos aplicados, aplicando diferentes protocolos de adesão e avaliando outros parâmetros, como a microtração.

Avaliação da nanoinfiltração de um sistema adesivo universal experimental e de sistemas adesivos universais comerciais.

VI. Conclusões

Não obstante as limitações “*in vitro*” do presente estudo *in vitro*, podemos concluir que:

1 - Os sistemas adesivos universais estudados não apresentaram diferenças estatísticas significativas nos valores de nanoinfiltração obtidos.

2 - Os adesivos Scotchbond Universal e Ambar Universal APS apresentaram valores de nanoinfratação muito semelhantes.

3 - O adesivo Futurabond U foi aquele que apresentou valores de nanoinfiltração mais elevados.

Com base nestas conclusões e nos resultados obtidos, a hipótese alternativa deve ser rejeitada, aceitando-se assim a hipótese nula.

Avaliação da nanoinfiltração de um sistema adesivo universal sem Bis-GMA e de sistemas adesivos universais com Bis-GMA.

VII. Bibliografia

Anusavice, K. J., Shen, C. & Rawls, H.R. (2012). *Phillips' Science of Dental Materials*. 12th Ed., Philadelphia, USA: Elsevier Saunders.

Arana-Chavez, V. E. & Massa, L. F. (2004). Odontoblasts: the cells forming and maintaining dentine. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 36(8), 1367-1373. doi: 10.1016/j.biocel.2004.01.006

Avery, J. (2001). *Oral Development and Histology*. 3rd Ed., Stuttgart, Baden-Württemberg, Germany: Thieme.

Becher, R., Wellendorf, H., Sakhi, A. K., Samuelsen, J. T., Thomsen, C., Bølling, A. K. & Kopperud, H. M. (2018). Presence and leaching of bisphenol a (BPA) from dental materials. *Acta Biomaterialia Odontologica Scandinavica*, 4(1), 56-62. Doi:10.1080/23337931.2018.1476869

Bedran-Russo, A., Leme-Kraus, A. A., Vidal, C. M. P. & Teixeira, E. C. (2017). An Overview of Dental Adhesive Systems and the Dynamic Tooth–Adhesive Interface. *Dental Clinics of North America*, 61(4), 713-731. doi: 10.1016/j.cden.2017.06.001

Breschi, L., Maravic, T., Ribeiro Cunha, S., Comba, A., Cadenaro, M., Tjäderhane, L., ... Mazzoni, A. (2018). Dentin bonding systems: From dentin collagen structure to bond preservation and clinical applications. *Dental Materials*, 34(1), 78-96. doi: 10.1016/j.dental.2017.11.005

Buonocore, M. G. (1955). A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. *Journal of Dental Research*, 34(6), 849-853. Doi: 10.1177/00220345550340060801

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(1), 31-44. doi:10.1111/j.1834-7819.2011.01294.x

Cardoso Ferreira, J., Teixeira Pires, P., Ribeiro de Melo, P. & Silva, M. J. (2016). Adhesives - Application and properties, Etch-and-Rinse and Self-Etch Adhesives Behavior on Dentin. London, United Kingdom: IntechOpenLimited. doi: 10.5772/65605.

Carrilho, E., Cardoso, M., Marques Ferreira, M., Marto, C. M., Paula, A., & Coelho, A. S. (2019). 10-MDP Based Dental Adhesives: Adhesive Interface Characterization and Adhesive Stability-A Systematic Review. *Materials (Basel, Switzerland)*, 12(5), 790. doi:10.3390/ma12050790

Chen, R., Liu, C., Tseng, W., Jeng, J. & Lin, C. (2003). Cytotoxicity of three dentin bonding agents on human dental pulp cells. *Journal of Dentistry*, 31(3), 223-229. doi: 10.1016/s0300-5712(02)00088-x

Chen, C., Niu, L. N., Xie, H., Zhang, Z. Y., Zhou, L. Q., Jiao, K., ... Tay, F. R. (2015). Bonding of universal adhesives to dentine – Old wine in new bottles?. *Journal of Dentistry*, 43(5), 525-536. doi: 10.1016/j.jdent.2015.03.004

Costa, J. F., Siqueira, W. L., Loguercio, A. D., Reis, A., Oliveira, E. d., Alves, C. M., ... Grande, R. H. (2011). Characterization of aqueous silver nitrate solutions for leakage tests. *Journal of applied oral science*, 19(3), 254–259. doi:10.1590/s1678-77572011000300014

Dorozhkin S. V. (2009). Calcium Orthophosphates in Nature. *Biology and Medicine. Materials*, 2(2), 399–498. doi:10.3390/ma2020399

Duarte S. Jr., Perdigão, J. & Lopes, M. M. (2006). Effect of dentin conditioning time on nanoleakage. *Operative Dentistry*, 31(4), 500-511. Doi: 10.2341/05-86

Elkaffas, A. A., Hamama, H., & Mahmoud, S. H. (2018). Do universal adhesives promote bonding to dentin? A systematic review and meta-analysis. *Restorative dentistry & endodontics*, 43(3), e29. doi:10.5395/rde.2018.43.e29

Ferracane, J. L. (2011). Resin composite—State of the art. *Dental Materials*, 27(1), 29-38. doi: 10.1016/j.dental.2010.10.020

Fuentes Fuentes, M.V. (2004). Propiedades mecánicas de la dentina humana. *Avances en Odontoestomatología*, 20(2), 79-83.

Ghafournia, M., Tehrani, M.H., Nekouei, A., Faghihian, R., Mohammadpour, M. & Feiz, A. (2019). In vitro evaluation of dentin tubule occlusion by three bioactive materials: A scanning electron microscopic study. *Dental Research Journal*, 16(3), 166-171.

Goldberg, M., Kulkarni, A. B., Young, M. & Boskey, A. (2011). Dentin: structure, composition and mineralization. *Frontiers in bioscience (Elite edition)*, 3, 711–735.

Grégoire, G., Joniot, S., Guignes, P. & Millas, A. (2003). Dentin permeability: Self-etching and one-bottle dentin bonding systems. *Journal of Prosthetic Dentistry*, 90(1), 42 - 49. doi: 10.1016/s0022-3913(03)00258-0

Gutiérrez, M. F., Alegría-Acevedo, L. F., Méndez-Bauer, L., Bermudez, J., Dávila-Sánchez, A., Buvinic, S., ... Fernández, E. (2019). Biological, mechanical and adhesive properties of universal adhesives containing zinc and copper nanoparticles. *Journal of Dentistry*, 82, 45-55. doi: 10.1016/j.jdent.2019.01.012

Gwinnett, A. J. & Matsui, A. (1967). A study of enamel adhesives: The physical relationship between enamel and adhesive. *Archives of Oral Biology*, 12(12), 1615-1620. Doi: 10.1016/0003-9969(67)90195-1

Hashimoto, M., Yamaguchi, S. & Imazato, S. (2015). Nanoleakage and Durability of Resin/Dentin Bonds. *Current Oral Health Reports*, 2(4), 195-201. doi: 10.1007/s40496-015-0059-6

Hillson, S. (2005). Dental Tissues. In *Teeth (pp. 146-206)*. 2nd Ed. Cambridge: Cambridge University Press. doi:10.1017/CBO9780511614477

Imbeni, V., Kruzic, J. J., Marshall, G. W., Marshall, S. J. & Ritchie, R. O. (2005). The dentin-enamel junction and the fracture of human teeth. *Nature Materials*, 4(3), 229–232. doi: 10.1038/nmat1323

Lee, K., Lee, B. M., Park, C. K., Kim, Y. H., & Chung, G. (2019). Ion Channels Involved in Tooth Pain. *International journal of molecular sciences*, 20(9), 2266. doi:10.3390/ijms20092266

Lenzi, T. L., Raggio, D. P., Soares, Z. M. & Rocha, R. O. (2015). Bonding Performance of a Multimode Adhesive to Artificially-induced Caries-affected Primary Dentin. *The Journal of Adhesive dentistry*, 17(2), 125-131. doi: 10.3290/j.jad.a34058.

Li, H., Burrow, M. F. & Tyas, M. J. (2000). Nanoleakage patterns of four dentin bonding systems. *Dental Materials*, 16(1), 48-56.

Li, H., Burrow, M. F. & Tyas, M. J. (2002). The effect of thermocycling regimens on the nanoleakage of dentin bonding systems. *Dental Materials*, 18(3), 189-196

Łukomska-Szymańska, M., Sokołowski, J. & Łapińska, B. (2017). Degradation of a hybrid layer – Review of literature. *Journal of Stomatology*, 70(1). 88-94. Doi: 10.5604/01.3001.0010.1775.

Luque-Martinez, I. V., Perdigão, J., Muñoz, M. A., Sezinando, A., Reis, A. & Loguercio, A. D. (2014). Effects of solvent evaporation time on immediate adhesive properties of universal adhesives to dentin. *Dental Materials*, 30(10), 1126-1135. Doi: 10.1016/j.dental.2014.07.002

Luo, S., Liu, F., Yu, B. & He, J. (2019). Preparation of low shrinkage stress Bis-GMA free dental resin composites with a synthesized urethane dimethacrylate monomer. *Journal of Biomaterials Science*, 30(2), 137-149. doi: 10.1080/09205063.2018.1556853

Maas, M. C. & Dumont, E. R. (1999). Built to last: The structure, function, and evolution of primate dental enamel. *Evolutionary Anthropology*, 8(4), 133-152. doi:10.1002/(SICI)1520-6505(1999)8:4<133::AID-EVAN4>3.0.CO;2-F

Makishi, P., André, C. B., Ayres, A. P. A., Martins, A. L., ... Giannini, M. (2016). Effect of Storage Time on Bond Strength and Nanoleakage Expression of Universal Adhesives Bonded to Dentin and Etched Enamel. *Operative Dentistry*, 41(3), 305-317. Doi: 10.2341/15-163-L

Marchesi, G., Frassetto, A., Mazzoni, A., Apolonio, F., Diolosà, M., Cadenaro, M. & Breschi, L. (2014). Adhesive performance of a multi-mode adhesive system: 1-year in vitro study. *Journal of Dentistry*, 42(5), 603-612. doi: 10.1016/j.jdent.2013.12.008

Melinte, V., Buruiana, T., Chibac, A., Mares, M., Aldea, H. & Buruiana, E. C. (2016). New acid BisGMA analogs for dental adhesive applications with antimicrobial activity. *Dental Materials*, 32(12), 314-326. doi: 10.1016/j.dental.2016.09.026

Mjör, I. A. (2009). Dentin permeability: the basis for understanding pulp reactions and adhesive technology. *Brazilian Dental Journal*, 20(1), 3-16. doi: 10.1590/S0103-64402009000100001

Muñoz, M. A., Luque, I., Hass, V., Reis, A., Loguercio, A. D., Bombarda, N. H. C. (2013). Immediate bonding properties of universal adhesives to dentine. *Journal of Dentistry*, 41(5), 404-411. doi: 10.1016/j.jdent.2013.03.001

Muñoz, M. A., Luque-Martinez, I., Malaquias, P., Hass, V., Reis, A., Campanha, N. H. & Loguercio, A. D. (2015). In Vitro Longevity of Bonding Properties of Universal Adhesives to Dentin. *Operative Dentistry*, 40(3), 282-292. doi: 10.2341/14-055-L

Muñoz, M. A., Sezinando, A., Luque-Martinez, I., Szesz, A. L., Reis, A., Loguercio, A. D., ... Perdigão, J. (2014). Influence of a hydrophobic resin coating on the bonding efficacy of three universal adhesives. *Journal of Dentistry*, 42(5), 595-602. doi: 10.1016/j.jdent.2014.01.013

Nagarkar, S., Theis-Mahon, N. & Perdigão, J. (2019). Universal dental adhesives: Current status, laboratory testing, and clinical performance. *Journal of Biomedical Materials Research*, 107(6), 2121-2131. doi: 10.1002/jbm.b.34305

- Nakabayashi, N., Kojima, K. & Masuhara, E. (1982). The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. *Journal of Biomedical Materials Research*, 16(3), 265-273. Doi: 10.1002/jbm.820160307
- Papadogiannis, D., Dimitriadi, M., Zafiropoulou, M., Gaintantzopoulou, M. D., & Eliades, G. (2019). Universal Adhesives: Setting Characteristics and Reactivity with Dentin. *Materials (Basel, Switzerland)*, 12(10), 1720. doi:10.3390/ma12101720
- Pashley, D. H., Tay, F. R., Breschi, L., Tjäderhane, L., Carvalho, R. M., Carrilho, M., & Tezvergil-Mutluay, A. (2011). State of the art etch-and-rinse adhesives. *Dental materials: official publication of the Academy of Dental Materials*, 27(1), 1–16. doi: 10.1016/j.dental.2010.10.016
- Perdigão, J. & Swift, E. J. (2015). Universal Adhesives. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*, 27(6), 331-334. Doi: 10.1111/jerd.12185
- Ritter, A. V., Boushell, L. W. & Walter, R. (2019). *Sturdevant's Art and Science of Operative Dentistry*. 7th Ed., Riverport Lane, St. Louis, Missouri, EUA: Elsevier Mosby.
- Sakaguchi, R. & Powers, J. (2012). Materials for Adhesion and Lunting. In *Craig's Restorative Dental Materials* (pp. 327-347). 13th Ed., Riverport Lane, St. Louis, Missouri, EUA: Elsevier Mosby.
- Sano, H., Takatsu, T., Ciucchi, B., Horner, J. A., Matthews, W. G., & Pashley, D. H. (1995). Nanoleakage: leakage within the hybrid layer. *Operative dentistry*, 20(1), 18-25.
- Scotti, N., Cavalli, G., Gagliani, M. & Breschi, L. (2017). New adhesives and bonding techniques. Why and when? *The international Journal of Esthetic Dentistry*, 12(4), 2-13.
- Selvaraj, K., Sampath, V., Sujatha, V. & Mahalaxmi, S. (2016). Evaluation of microshear bond strength and nanoleakage of etch-and-rinse and self-etch adhesives to dentin pretreated with silver diamine fluoride/potassium iodide: An in vitro study. *Indian Journal of Dental Research*, 27(4), 421-425. doi: 10.4103/0970-9290.191893

Sezinando, A. (2014). Looking for the ideal adhesive – A review. *Revista Portuguesa de Estomatologia, Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacial*, 55(4), 194-206. Doi: 10.1016/j.rpemd.2014.07.004

Sezinando, A., Luque-Martinez, I., Muñoz, M. A., Reis, A., Loguercio, A. D. & Perdigão, J. (2015). Influence of a hydrophobic resin coating on the immediate and 6-month dentin bonding of three universal adhesives. *Dental Materials*, 31(10), 236-246. doi: 10.1016/j.dental.2015.07.002

Simon, S., Cooper, P., Berdal, A., Machtou, P. & Smith, A. (2008). Biologie pulpaire : comprendre pour appliquer au quotidien. *Revue Odonto Stomatologique* 37, 209–235. [1]
[SEP]

Simon, S., Lumley, P. J., Cooper, P. R., Berdal, A., Machtou, P. & Smith, A. J. (2010). Trauma and Dentinogenesis: A Case Report. *Journal of Endodontics*, 36(2), 342 - 344. doi: 10.1016/j.joen.2009.09.021

Siqueira, F. S. F., Cardenas, A. M., Ocampo, J. B., Hass, V., Bandeca, M. C., Gomes, J.C., ... Loguercio, A.D. (2018). Bonding Performance of Universal Adhesives to Eroded Dentin. *The Journal of Adhesive dentistry*, 20(2), 121-132. doi: 10.3290/j.jad.a40300

Tadin, A., Gavić, L. & Gavić, N. (2016). Adhesives - Application and properties, Biocompatibility of Dental Adhesives. London, United Kingdom: IntechOpenLimited. doi: 10.5772/65605.

Tay, F. R., Hashimoto, M., Pashley, D. H., Peters, M. C., Lai, S. C., Yiu, C. K. & Cheong, C. (2003). Aging affects two modes of nanoleakage expression in bonded dentin. *Journal of Dental Research*, 82(7), 537-541. DOI: 10.1177/154405910308200710

Tri Le, Q. (2017). *Laser ablation of dentin and its medical application* (Tese de Doutoramento). Université de Bordeaux, França.

Tziafas, D. (2019). Characterization of Odontoblast-like Cell Phenotype and Reparative Dentin Formation In Vivo: A Comprehensive Literature Review. *Journal of Endodontics*, 45(3), 241 - 249. doi: 10.1016/j.joen.2018.12.002

Van Landuyt, K. L., Snauwaert, J., Munck, J., Peumans, M., Yoshida, Y., Poitevin, A., ... Van Meerbeek, B. (2007). Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. *Biomaterials*, 28(26), 3757-3785. doi: 10.1016/j.biomaterials.2007.04.044

Vasconcelos e Cruz, J., Brito, J., Polido, M. & Gonçalves, L. L. (2019). A new experimental adhesive system containing G-IEMA – physicochemical properties. *Journal of Adhesion Science and Technology*, 33(4), 418-432. Doi:10.1080/01694243.2018.1539154

Vieira de Oliveira, L., Prado, M., Santos Dias, C. T., Nóbrega de Castro, A., Silveira Pereira, G. D. & Louvadinho, J. R. (2017). Influência do tempo e meio de armazenamento na resistência adesiva e microinfiltração de sistemas adesivos. *Revista Brasileira de Odontologia*, 74(1), 7-13. Doi: 10.18363/rbo.v74n1.p.7

Vinagre, A. & Ramos, J. (2016). Adhesives - Application and properties, Adhesion in Restorative Dentistry. London, United Kingdom: IntechOpenLimited. doi: 10.5772/65605.

Wang, R., Shi, Y., Li, T., Pan, Y., Cui, Y. & Xia, W. (2017). Adhesive interfacial characteristics and the related bonding performance of four self-etching adhesives with different functional monomers applied to dentin. *Journal of Dentistry*, 62, 72-80. doi: 10.1016/j.jdent.2017.05.010

World Dental Federation (2016). FDI policy statement on Minimal Intervention Dentistry (MID) for managing dental caries. *International Dental Journal*, 67(1), 6-7. doi:10.1111/idj.12308

Yang, H., Guo, J., Guo, J., Chen, H., Somar, M., Yue, J. & Huang, C. (2015). Nanoleakage evaluation at adhesive-dentin interfaces by different observation methods. *Dental Materials Journal*, 34(5), 654-662. Doi: 10.4012/dmj.2015-051

Yin, C. K., Garcia-Godoy, F., Tay, F. R., Pashley, D. H., Imazato, S., King, N. M., Lai, S. C. (2002). A nanoleakage perspective on bonding to oxidized dentin. *Journal of Dental Research*, 81(9), 628-632. Doi: 10.1177/154405910208100910

Yin, M., Liu, F. & He, J. (2016). Preparation and characterization of Bis-GMA free dental resin system with synthesized dimethacrylate monomer TDDMMA derived from tricyclo[5.2.1.0(2,6)]-decanedimethanol. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 57, 157-163. doi: 10.1016/j.jmbbm.2015.11.020

Zhou, W., Liu, S., Zhou, X., Hannig, M., Rupf, S., Feng, J., ... Cheng, L. (2019). Modifying Adhesive Materials to Improve the Longevity of Resinous Restorations. *International journal of molecular sciences*, 20(3), 723. doi:10.3390/ijms20030723

Avaliação da nanoinfiltração de um sistema adesivo universal sem Bis-GMA e de sistemas adesivos universais com Bis-GMA.

Anexos

Comissão de Ética EGAS MONIZ



Proc. Interno nº 780

Ex.ma Senhora

Mariana Mascarenhas Pyrrait Cunha

Monte de Caparica, 26 de junho de 2019.

Ex.ma Senhora,

Em resposta ao Pedido de Parecer que submeteu à apreciação da Comissão de Ética da Egas Moniz, com o tema denominado **“Avaliação da nanoinfiltração de um sistema adesivo universal experimental e de sistemas adesivos universais comerciais”**, foi aprovado por unanimidade.

Com os melhores cumprimentos,

A Presidente da Comissão de Ética da Egas Moniz

Profª. Doutora Maria Fernanda de Mesquita

EGAS MONIZ – COOPERATIVA DE ENSINO SUPERIOR, CRL
Campus Universitário – Quinta da Granja – Monte de Caparica
2829-511 Caparica

Anexo 1 - Aprovação do trabalho pela Comissão de Ética da Egas Moniz.