

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO – NÍVEL: MESTRADO
AREA DE CONCENTRAÇÃO CLÍNICA ODONTOLÓGICA
CARIOLOGIA/DENTÍSTICA**

Linha de pesquisa:

Biomateriais e técnicas terapêuticas em Odontologia

**AVALIAÇÃO QUALITATIVA E QUANTITATIVA DAS INTERFACES DE
UNIÃO ADESIVAS EM TECIDO DENTINÁRIO HÍGIDO UTILIZANDO
SOLUÇÃO DE CLOREXIDINA COMO IRRIGANTE: ENSAIO *IN VITRO***

Marcelo Totti

Orientador: Prof. Dra. Maria Carolina Guilherme Erhardt

Porto Alegre, Julho de 2015

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO – NÍVEL: MESTRADO
AREA DE CONCENTRAÇÃO CLÍNICA ODONTOLÓGICA
CARIOLOGIA/DENTÍSTICA**

**AVALIAÇÃO QUALITATIVA E QUANTITATIVA DAS INTERFACES DE
UNIÃO ADESIVAS EM TECIDO DENTINÁRIO HÍGIDO UTILIZANDO
SOLUÇÃO DE CLOREXIDINA COMO IRRIGANTE: ENSAIO *IN VITRO***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como parte dos requisitos obrigatórios para obtenção do título de Mestre em Clínica Odontológica concentração em Cariologia/Dentística.

Marcelo Totti

Orientador: Prof. Dra. Maria Carolina Guilherme Erhardt

Porto Alegre, Julho de 2015

CIP - Catalogação na Publicação

Totti, Marcelo
AVALIAÇÃO QUALITATIVA E QUANTITATIVA DAS
INTERFACES DE UNIÃO ADESIVAS EM TECIDO DENTINÁRIO
HÍGIDO UTILIZANDO SOLUÇÃO DE CLOREXIDINA COMO
IRRIGANTE: ENSAIO IN VITRO / Marcelo Totti. -- 2015.
68 f.

Orientador: Maria Carolina Guilherme Erhardt.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Odontologia,
Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Porto
Alegre, BR-RS, 2015.

1. Adesão. 2. Metaloproteinases. 3. Clorexidina.
4. Dentina. 5. Colágeno. I. Erhardt, Maria Carolina
Guilherme, orient. II. Título.

DEDICATÓRIA

A todos aqueles que de alguma forma estiveram presentes na minha formação como mestre;

A todos que, durante esses anos, apoiaram meus sonhos sem nunca duvidar da minha capacidade de alcançá-los;

A todos que permitiram que durante o curso de mestrado eu pudesse realizar um dos meus maiores sonhos: ser professor da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Nesse aspecto em especial a minha orientadora Professora Doutora Maria Carolina Guilherme Erhardt que desde o surgimento da possibilidade me estimulou nessa busca.

Aqueles que por 6 meses foram meus alunos e reforçaram de uma forma inimaginável minha busca pela carreira acadêmica.

A minha família que sempre esteve presente das mais variadas formas e possibilitou essa formação complementar, em especial a minha esposa Bianca Soares Rodrigues por ser a razão maior da busca dos meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Universidade Federal do Rio Grande do Sul por ter me dado a oportunidade de me formar Cirurgião-Dentista e depois mestre em Clínica Odontológica área de concentração em Cariologia/Dentística com cursos de excelência.

A minha professora orientadora, colega e amiga Maria Carolina Guilherme Erhardt que, nesses 5 anos de orientação, soube a medida certa entre cobrança, amizade e incentivo nessa caminhada.

Aos professores, colegas e, principalmente, amigos Thaís Thomé Feldens, Fábio Herrmann Coelho-de-Souza e Rafael Melara pela convivência, pela disponibilidade, pelo apoio, enfim por serem parte dessa formação e por terem contribuído de forma sem igual no meu aprendizado como Cirurgião-Dentista, como Mestre e como pessoa.

Aos demais professores da disciplina de Dentística da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (FO-UFRGS) pelos constantes ensinamentos.

Aos meus colegas de Mestrado na ênfase Cariologia/Dentística José Carlos D'Ornelas Pereira Junior, Rodrigo Monteiro Vieira, Gabriela Rezende, Ariane da Silva Camargo, pelo convívio nestes dois anos de muito estudo

Aos meus colegas de Mestrado Augusto Bacelo Bidinotto, Israel Bangel Carlotto, Carlos Alberto Nascimento Bernardes e Rômulo Cantarelli pela convivência, pela amizade, pelo apoio e pelos inúmeros momentos de descontração.

À Capes por ter me proporcionado uma bolsa de mestrado ao longo do curso.

Aos professores Francisco Montagner e Marcos Vinícius Reis Só por terem me recebido e disponibilizado o uso do laboratório de Endodontia da FO-UFRGS

Ao pessoal do Laboratorio de Biologia e Bioquímica (LABIM) da FO-UFRGS que me recebeu em sua estrutura para a realização de diversas etapas do trabalho.

Ao Laboratório de Biomateriais e Cerâmicas Avançadas (LABIOMAT) da Faculdade de Engenharia de Materiais da UFRGS, em especial ao Professor Doutor Luís Alberto dos Santos e ao técnico Wilbur Trajano, que me receberam e auxiliaram durante os ensaios de microtração.

RESUMO

OBJETIVO: O objetivo do presente estudo foi determinar a influência da clorexidina, quando utilizada diluída junto à água de irrigação do equipo odontológico, na resistência de união imediata à dentina humana hígida.

METODOLOGIA: 80 molares humanos hígidos foram selecionados e tiveram sua superfície oclusal planificada. Em seguida, foram aleatoriamente divididos em 10 grupos, com 8 espécimes cada, conforme: 1) aplicação dos tratamentos de superfície (lavagem do ácido com água destilada, lavagem do ácido com clorexidina 2%, lavagem do ácido com clorexidina 5%, aplicação de clorexidina 2% e aplicação de clorexidina 5%); e 2) sistemas adesivos (Adper Scotchbond Multi-Use Plus (SBMP) e Adper Single Bond 2 (SB2)). Os dentes foram restaurados com resina composta Filtek Z350 XT. Após 24 horas, foram afixados em cortadeira metalográfica e fatiados nos eixos x e y produzindo espécimes em forma de palitos com 1,0 mm² de área adesiva final que foi mensurada com paquímetro digital. Em seguida, os espécimes foram afixados em dispositivo de microtração, para realização do teste a 0,5 mm/min. Após o teste, o padrão de fratura foi analisado em microscópio óptico (40x). Os valores de resistência adesiva foram expressos em MPa. A análise estatística foi realizada através dos testes two-way ANOVA e teste post-hoc de Tukey. Um espécime por grupo experimental foi seccionado em cortadeira metalográfica em fatias de 1 mm de espessura, para avaliação do padrão de formação da camada híbrida em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). **RESULTADOS:** Para ambos

sistemas adesivos os diferentes métodos de aplicação da clorexidina não resultaram em diferença estatisticamente significativa. SBMP apresentou média significativamente maior que SB2 para lavagem com água destilada (controle), lavagem com clorexidina 2% e aplicação de clorexidina 2%. A análise de MEV revelou um padrão de formação de camada híbrida semelhante aqueles do grupo controle para ambos sistemas adesivos utilizados. Observou-se maior quantidade de fraturas adesivas em todos os grupos. **CONCLUSÃO:** A utilização de clorexidina 2% ou 5% não tem efeito negativo na resistência de união tanto quando utilizada para a lavagem do ácido fosfórico (água de lavagem do equipo) quanto para aplicação como um *primer*, para ambos sistemas adesivos de condicionamento ácido total (3 e 2 passos) avaliados.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ilustração do mecanismo de ação das metaloproteinases (extraído de Liu et al., 2011).....	15
Figura 2. Grupos experimentais segundo tratamento de superfície.	20
Figura 3. Sequência de limpeza e corte dos dentes para os procedimentos restauradores.	23
Figura 4. Materiais restauradores utilizados.	28
Figura 5. Sequência de corte dos dentes para teste de microtração.....	31
Figura 6. Sequência de corte para Microscopia Eletrônica de Varredura.....	33
Figura 7: MEV dos grupos 1, 3, 5, 7 e 9 (grupos em que foi utilizado sistema adesivo Adper Scotchbond Multi-Uso).....	38
Figura 8: MEV dos grupos 2, 4, 6, 8 e 10 (grupos com utilização do sistema adesivo Adper Single Bond 2).	39

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. PROPOSIÇÃO / OBJETIVOS	19
3. MATERIAIS E MÉTODOS	20
3.1. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	20
3.2. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS.....	21
3.3. SELEÇÃO, ARMAZENAMENTO E DESGASTE DOS DENTES.....	21
3.4. PROCEDIMENTOS ADESIVOS E RESTAURADORES.....	24
3.5. PREPARO DOS ESPÉCIMES PARA O TESTE DE MICROTRAÇÃO... 29	
3.6. PREPARO DOS ESPÉCIMES PARA AVALIAÇÃO ESTRUTURAL (MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA).....	32
3.7. ANÁLISE DOS DADOS	34
4. RESULTADOS.....	35
4.1. TESTE DE MICROTRAÇÃO.....	35
4.2. AVALIAÇÃO ESTRUTURAL.....	36
4.3. AVALIAÇÃO DO PADRÃO DE FRATURA.....	40
5. DISCUSSÃO	42
6. CONCLUSÃO	49
REFERÊNCIAS.....	50
APÊNDICE 1 – TERMO DE DOAÇÃO DE DENTES HUMANOS.....	62
APÊNDICE 2 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	63
ANEXO 1 – PARECER CONSUBSTANCIADO COMPEAQ.....	65
ANEXO 2 – PARECER CONSUBSTANCIADO CEP	66

1. INTRODUÇÃO

A substituição de restaurações com falhas é um dos procedimentos mais recorrentes da Odontologia Restauradora, representando uma grande fatia da demanda de trabalho do mercado atual, tanto na prática privada como pública⁽¹⁻³⁾. Beck e colaboradores, em uma recente revisão de literatura⁽⁴⁾ observaram que a maior causa de falha nos primeiros 4 anos em restaurações são as fraturas e os problemas na interface, como por exemplo a infiltração marginal. O Instituto Nacional de Pesquisa Dentária Crânio-Facial dos Estados Unidos (NICDR) recentemente divulgou que neste país, a média de tempo para troca de restaurações é de 5,7 anos e que os gastos com esses procedimentos chegam na casa dos 5 bilhões de dólares^(3, 5). No Brasil, no ano de 2014, o número total de dentes posteriores permanentes restaurados no Sistema Único Saúde (SUS) foi de 18.776.269, segundo o portal Tabnet no mecanismo de busca SIA-SUS⁽⁶⁾. Esses números permitem qualificar a troca de restaurações como um problema de saúde pública importante para as Nações, e pesquisas focadas em proporcionar uma maior vida útil das restaurações são imprescindíveis para a redução dos custos com esses procedimentos e uma resolução efetiva das necessidades restauradoras da população.

Avanços nos materiais restauradores trouxeram novas perspectivas clínicas, pois as falhas relacionadas apenas ao material restaurador foram diminuídas, devido às novas tecnologias empregadas para a sua fabricação, os quais apresentam melhor desempenho clínico⁽⁷⁾. Assim, atualmente, um dos maiores desafios das pesquisas em Odontologia Adesiva é a busca por formas mais eficientes de proporcionar a perfeita união entre dois substratos de natureza diferentes: o substrato dental e o material restaurador adesivo ⁽⁷⁻¹⁰⁾. A união do componente histológico (substrato

dental) com o adesivo (material restaurador) é feita buscando-se um padrão misto de união química e micromecânica entre os dois componentes^(8, 11, 12). A interface formada entre o componente orgânico dentário e o material restaurador permite o entrelaçamento mecânico de substratos de diferentes naturezas, bem como a ligação química entre ambos através de cadeias moleculares híbridas⁽⁵⁾. A camada de tecido dentário desmineralizado, com fibrilas colágenas expostas impregnada por monômeros resinosos foi descrita como camada híbrida⁽¹³⁾, que é morfologicamente caracterizada por uma mescla de componentes orgânicos dentários provenientes da dentina, hidroxiapatita residual, monômeros resinosos e solvente^(8, 14).

A estabilidade da camada híbrida baseia-se na correta impregnação e conversão de monômeros resinosos no interior do substrato dentário, o que promoverá o selamento da dentina e a retenção do material restaurador, ou seja, a preservação da camada híbrida depende da resistência intrínseca dos seus componentes à degradação^(8, 9, 15). Desde os primeiros trabalhos buscando a avaliação longitudinal das interfaces adesivas tem sido relatado que o material resinoso é extraído da interface resultando em maior porosidade na camada híbrida^(16, 17). Em estudo com dentes decíduos⁽¹⁸⁾, foi observado por Microscopia Eletrônica de Varredura que uma parte da camada híbrida havia desaparecido quando as restaurações permaneciam por até 3 anos em boca. O componente histológico dental mais crítico dos processos de união é a dentina, devido às suas características específicas de heterogeneidade (colágeno e hidroxiapatita), umidade e histomorfologia (túbulos dentinários que possuem as prolongamentos odontoblásticos)^(3, 5, 8, 19, 20).

O exato mecanismo de degradação da camada híbrida ainda não está completamente elucidado^(9, 20, 21), porém acredita-se que o primeiro estágio de

biodegradação seja a extração de polímeros resinosos através de água contida em nanoespaços dentro da camada híbrida⁽⁸⁾. Esses espaços existem devido a infiltração parcial de monômeros resinosos no tecido dentinário em conjunto ou não com uma incompleta polimerização, o que acarreta em áreas de dentina exposta sem a correta impregnação de polímeros^(5, 8, 12, 20, 22-24). Morfologicamente, também pode ser resultado de uma diferença entre a profundidade de desmineralização promovida pelo condicionamento ácido e a profundidade de penetração dos monômeros resinosos no momento da aplicação do sistema adesivo^(5, 8, 12, 16, 20), gerando uma região que consiste em fibrilas colágenas expostas, rodeadas por nano espaços interfibrilares preenchidos por água^(5, 8, 20, 23, 25). Além dessa lixiviação pela água contida em nanoespaços admite-se que há ainda um ataque enzimático às fibrilas colágenas expostas⁽⁸⁾. Portanto, atualmente há um consenso de que as interfaces produzidas por essas restaurações adesivas sofrem uma deterioração, que leva a camada híbrida ao colapso ao longo do tempo na cavidade bucal^(8, 9, 20, 23, 24, 26).

A umidade é capaz de levar a camada híbrida ao colapso através da degradação da rede polimérica e, também, por meio da degradação de fibrilas colágenas. A rede polimérica é degradada devido à presença de canais de água no interior da camada híbrida que promovem a diluição de cadeias poliméricas de baixo peso molecular, tornando a camada híbrida mais porosa e “inchada”, reduzindo as forças de tração e de elasticidade do adesivo^(8, 17, 18, 27-29). A presença de solvente residual volátil diluído no adesivo ou de umidade, pode também interferir na aproximação entre os monômeros na reação de polimerização tornando-a mais difícil e permitindo a formação de espaços na cadeia polimérica o que deixa a camada híbrida menos resistente às forças externas^(8, 30-32). Portanto, a responsabilidade da degradação das redes poliméricas não deve recair apenas na água presente no meio

bucal, mas também, à água contida no interior da dentina mineralizada subjacente, que atua devido ao gradiente osmótico, movimentando-se nos canais de água presentes na camada híbrida agindo sobre as ligações químicas e afetando na estabilidade da interface resina-dentina^(8, 17, 18, 29-31, 33).

A outra via da degradação das interfaces dentárias adesivas é a destruição de fibrilas colágenas por meio de ação enzimática^(8, 12, 34). Um estudo realizado com microscopia Raman⁽³⁵⁾ mostrou que apenas 68% do conteúdo de bis-GMA presente originalmente em adesivos de condicionamento ácido total penetram na dentina desmineralizada, fato confirmado em estudos com análise imunohistoquímica que mostram fibrilas colágenas não completamente encapsuladas pelos monômeros resinosos^(8, 9, 36). A água que rodeia o colágeno não infiltrado pelos monômeros resinosos favorece a ação de enzimas proteolíticas do tipo metaloproteinases (MMPs) da matriz dentinária, que hidrolisam ativamente o substrato proteico^(5, 12, 23, 24, 37). Estas collagenases estão presentes na matriz colágena, e exercem sua ação mesmo em presença de inibidores bacterianos. As bactérias da cárie dental e da doença periodontal também podem ser fonte de enzimas que contribuem com a degradação proteolítica do colágeno desprotegido do seu recobrimento natural, a hidroxiapatita^(5, 8, 20, 24, 38, 39). A ação bacteriana é capaz de dissolver o conteúdo mineral do tecido dentário, porém não proporciona a degradação da matriz dentinária, esta necessita da ativação de MMPs endógenas⁽⁴⁰⁾.

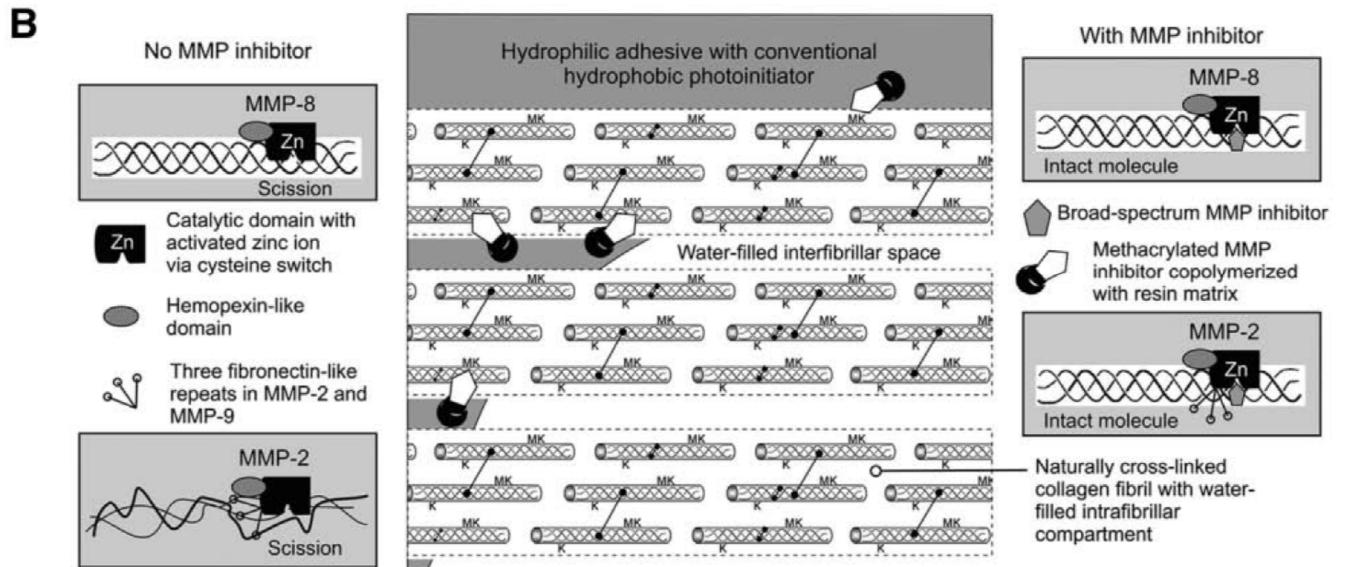
Atualmente as pesquisas que visam incrementar a união entre os materiais restauradores adesivos e o substrato dentário estão focadas em desenvolver métodos restauradores que permitam uma eficiente inibição das enzimas que hidrolisam colágeno, as MMPs^(5, 8, 12, 23, 34, 41-64). Assim sendo a forma mais provável de se conseguir uma camada híbrida estável é conseguir incorporar algum tipo de inativador

do processo de degradação das fibrilas colágenas por meio de ataque enzimático no protocolo adesivo⁽⁸⁾. Primeiramente busca-se entender como funciona o mecanismo de ativação dessas endoproteases. O condicionamento com ácido fosfórico é capaz de inativar a ação das metaloproteinases devido a seu pH altamente ácido (cerca de 0,5), que causa a desnaturação dessas enzimas⁽⁶⁵⁾. Porém, valores de pH entre 2,3 e 5 são efetivos na ativação das gelatinases (MMPs -2 e -9) salivares em um processo descrito como ativação ácida^(47, 54, 66, 67). Desta forma, a existência de atividade proteolítica após a aplicação de um adesivo padrão (pH= 4,3) baseado na técnica de condicionamento ácido total de dois passos, pode ser explicada pelo aumento da ativação destas MMPs, resultando em uma diminuição da eficácia adesiva destes biomateriais^(57, 65). Não obstante, a capacidade proteolítica diminuída destas enzimas é capaz de reativar-se através de um processo de auto-ativação cíclica a partir de proenzimas adicionais⁽⁶⁶⁾. Sendo assim, os inibidores titulares das MMPs podem, de igual maneira, perder atividade com o tempo⁽⁶⁶⁾.

A ação dessas enzimas na quebra das fibrilas colágenas se dá em meio aquoso e é dependente do íon zinco (Zn^{+2}) e da ligação com fibronectinas que auxiliam na clivagem das fibrilas colágenas como pode ser exemplificado na Figura 1. A inativação dessas enzimas é feita por substâncias capazes de conectar-se ao sítio ativo da molécula impedindo que a mesma faça a clivagem das fibrilas colágenas (Figura 1)^(5, 68, 69). As MMPs estão associadas tanto a funções fisiológicas como patológicas e atuam fazendo a degradação da matriz extracelular⁽⁶⁹⁾. Estas enzimas podem ser classificadas em 6 grupos de acordo com a estrutura e substrato em que atua: 1 – Colagenases: MMP -1, -8, -13 e -18; 2 – Gelatinases: MMP -2 e -9; 3 – Stromelisinases: MMP -3, -10 e -11; 4 – Transmembrana: MMP -14, -15, -16, -17, -24 e -25; 5 –

Mtrilisinas: MMP -7 e -26; 6 – Outras: MMP -12, -19, -20, -21, -22, -23, -27 e -28.^(68, 69)

Figura 1. Ilustração do mecanismo de ação das metaloproteinases (extraído de Liu et al., 2011)



Alguns estudos comprovaram que a clorexidina é uma substância com excelentes propriedades inibitórias das MMPs, mesmo em baixas concentrações^(23, 49, 57, 70). A clorexidina é um agente antimicrobiano de amplo espectro comumente utilizado no tratamento de doenças orais⁽²³⁾. As propriedades inibidoras de MMPs (principalmente as -2, -8 e -9) são possivelmente resultantes de sua propriedade quelante zinco/cálcio-dependente^(23, 64, 70, 71). A concentração mínima de clorexidina necessária para a completa inibição das MMPs parece ser de 0,002%⁽³⁷⁾, entretanto a inibição de MMPs com baixas concentrações de clorexidina ocorrem em estudos com pó de dentina não desmineralizada⁽²³⁾. Além disso, discute-se que a clorexidina em presença de cálcio perde o potencial de inibição de MMPs, sendo assim

necessário uma maior concentração de clorexidina para que o seu efeito inibitório seja mantido⁽²³⁾.

Recentes estudos sobre a relação entre a clorexidina e o colágeno dentinário sugerem que pode haver uma competição entre o colágeno do tecido e as MMPs pela clorexidina, o que, por sua vez, exige concentrações altas desta substância para que a inibição das MMPs seja efetiva^(45, 63). A aplicação de clorexidina por 30 segundos é suficiente para que haja a impregnação das fibrilas colágenas pela substância e consequente efeito inibitório de MMPs^(56, 57). Esse efeito inibitório parece ser a chave para uma união mais duradoura entre compósito e elemento dentário^(56, 57). A partir destas conclusões, a clorexidina tornou-se um dos mais populares inibidores de MMPs na prevenção da degradação das interfaces adesivas dentinárias^(8, 12, 50, 56).

A utilização de inibidores de metaloproteinases como um tratamento preliminar da dentina reduz o envelhecimento da interface adesiva ao longo do tempo, através da inibição da ativação dessas proteases^(8, 12, 44, 49, 52, 54, 62). Muitos estudos revelaram que a utilização da clorexidina com a função de *primer* de sistemas adesivos não interfere na resistência de união imediata, bem como na formação de camada híbrida^(12, 34, 41, 47, 49, 51-54, 56-59, 62). A utilização da clorexidina como um *primer* do sistema adesivo, ou seja, como um tratamento de superfície, aplicado após o condicionamento ácido e previamente ao sistema adesivo, permite a impregnação das fibrilas colágenas expostas após o condicionamento ácido e o seu selamento posterior pela aplicação do compósito possibilitando sua ação ao longo do tempo^(47, 53, 54, 63). A clorexidina demonstrou ter mais afinidade com a dentina desmineralizada, e a ligação que ocorre entre a clorexidina e este tecido é reversível, porém não é desfeita por polímeros resinosos e esta parece ser a explicação para a ação da clorexidina ao longo do tempo⁽⁵⁾. O uso da clorexidina como inibidor das metaloproteinases dentinárias é mais

efetivo do que o uso de inibidores específicos, pois ela também é capaz de inibir outras enzimas como as cisteínas e catepsinas, proteases que se localizam no tecido dentinário e também atuam na degradação da matriz colágena^(8, 72).

A utilização mais comum da clorexidina descrita na literatura é como tratamento dentinário após o condicionamento ácido e previamente ao sistema adesivo, com aplicação da solução de maneira ativa^(12, 44, 47, 50, 52, 54, 58). Com isso, incorpora-se um passo clínico ao protocolo adesivo que já é uma técnica considerada complexa, portanto, a incorporação desse passo encontra dificuldade/resistência por parte da comunidade científica e dos próprios clínicos, pois torna o protocolo de adesão ainda mais complexo e demorado⁽⁸⁾. Recentemente tem-se discutido a utilização da clorexidina incorporada a composição do sistema adesivo, o que não traria mais dificuldade à técnica operatória, pois não seria necessário um novo passo no procedimento adesivo^(34, 51, 73). Outra proposta de uso da clorexidina que foi aventada é o seu uso junto com o agente ácido⁽⁴¹⁾. Ambos os métodos mostraram-se eficientes em reduzir a perda de resistência de união dos adesivos ao longo do tempo e não parecem interferir no padrão de formação da camada híbrida.^(8, 34, 41, 51, 73). Estas formas de aplicação eliminariam a necessidade de adicionar um passo clínico ao protocolo adesivo, porém carecem de estudos para que possam ser efetivamente indicadas⁽⁸⁾.

Uma outra possibilidade seria a utilização da água de irrigação do equipo odontológico para aplicar a clorexidina nos preparos, após o condicionamento ácido, no momento em que se faz a lavagem do ácido. Visto que a aplicação do ácido é feita por 30 segundos em esmalte e 15 segundos em dentina, para após ser lavado por 30 segundos, caso se utilize uma solução de clorexidina como líquido irrigante no equipo odontológico, o tempo de aplicação da clorexidina seria de 30 segundos, o que

segundo a literatura seria efetivo^(56, 57). Esse método foi testado em um estudo que comparou o uso de irrigação com água destilada, dois antimicrobianos (Alpron, CitriSil) e clorexidina⁽⁷⁴⁾. Com a realização de um ensaio de cisalhamento com amostras envelhecidas por termociclagem, os autores puderam concluir que o CitriSil e a clorexidina afetam negativamente a resistência de união quando comparados com a irrigação com água destilada⁽⁷⁴⁾. Essa forma de aplicação também não adicionaria passos clínicos à técnica e teria um custo baixo para implementação pelo clínico.

A utilização de clorexidina na água do equipo não seria benéfica apenas para os procedimentos restauradores, uma vez que a mesma é um composto conhecido por ser antimicrobiano, ter substantividade, ser biocompatível e seus efeitos adversos serem relacionados apenas ao uso contínuo⁽⁷⁰⁾. Assim sendo, não há contra-indicação descrita na literatura para a utilização de solução de clorexidina como líquido irrigante no equipo odontológico. A utilização da solução de clorexidina teria, ainda, potencial para beneficiar o clínico em qualquer procedimento que ele venha realizar com o uso desse irrigante. Visto a grande falta de estudos explorando essa forma de aplicação da clorexidina, foi proposto neste trabalho investigar como a irrigação com clorexidina pode interferir na resistência de união imediata e no padrão de formação da camada híbrida em procedimentos restauradores adesivos.

2. PROPOSIÇÃO / OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivo determinar a influência da aplicação da clorexidina, quando utilizada diluída junto à água de irrigação do equipo odontológico ou quando aplicada como primer do sistema adesivo, na resistência de união imediata à dentina humana hígida, com a utilização de adesivos de condicionamento ácido total de 2 e 3 passos, mediante teste de microtração.

Serão avaliados, também, o padrão de formação da camada híbrida, através de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e o padrão de fratura dos espécimes através de microscopia óptica com 40 vezes de aumento.

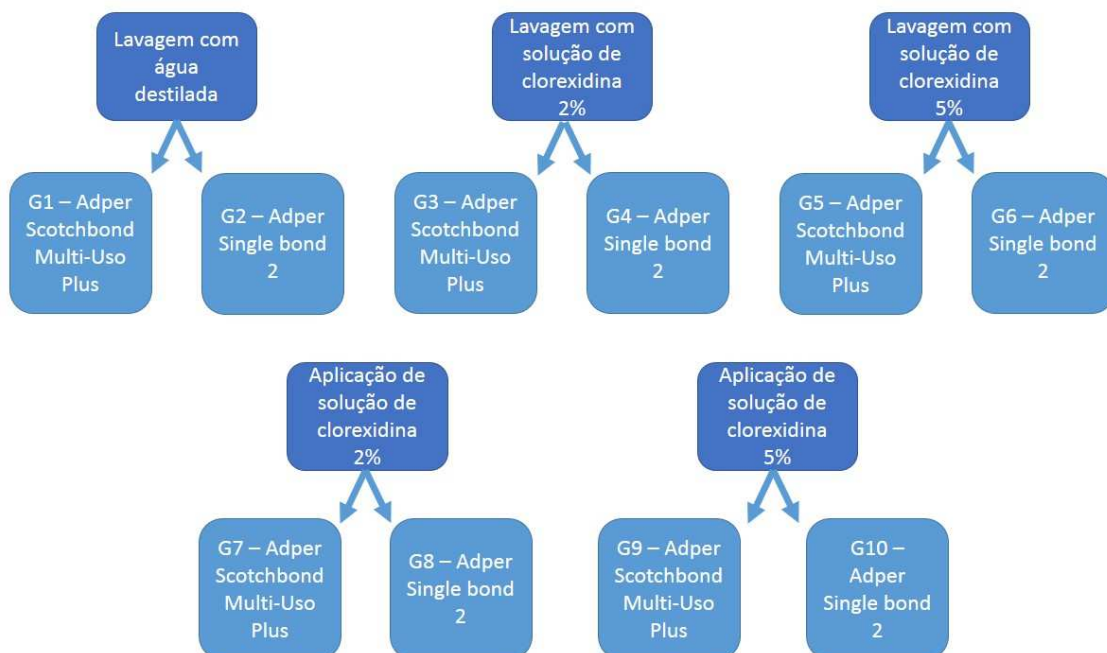
A hipótese nula testada foi que a utilização de solução de clorexidina em preparos cavitários, após condicionamento ácido, não interfere na resistência de união imediata entre compósito e tecido dentário.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Os fatores em estudo deste trabalho *in vitro* foram tratamento da superfície dentinária, em cinco níveis (lavagem do ácido com água destilada; lavagem do ácido com solução de clorexidina 2%; lavagem do ácido com solução de clorexidina 5%, aplicação de clorexidina 2% e aplicação de clorexidina 5%), e sistema adesivo, em dois níveis (Adper Scotchbond Multi-Uso (3M ESPE Dental Products Division, St. Paul, MN, Estados Unidos) e Adper Single Bond 2 (3M ESPE Dental Products Division, St. Paul, MN, Estados Unidos)). A distribuição dos grupos experimentais segundo os tratamentos de superfície está representada na Figura 2.

Figura 2. Grupos experimentais segundo tratamento de superfície.



As unidades experimentais foram constituídas por 80 molares humanos hígidos, que após preparo de superfície, totalizaram dez grupos experimentais com

oito dentes em cada grupo. Um molar por grupo experimental foi seccionado em fatias de 1 mm de espessura para análise em MEV. A variável de resposta, resistência de união, em MPa (Mega Pascal) foi avaliada quantitativamente, através de ensaios de microtração. Foi feita, também a análise do padrão de formação de camada híbrida através de MEV e a análise do padrão de fratura em microscopia óptica.

3.2. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Pesquisa (COMPESQ) (Anexo 1) da Faculdade de Odontologia de Universidade Federal do Rio Grande do Sul (FO-UFRGS) e pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) via envio para a Plataforma Brasil (Anexo 2). No presente trabalho foram empregados materiais comercializados no mercado odontológico nacional e internacional, que mostraram bom desempenho em estudos laboratoriais, não havendo relatos na literatura de efeitos colaterais ou de comprometimento de áreas laboratoriais.

Os dentes utilizados neste projeto foram obtidos através de doações realizadas após esclarecimentos sobre a pesquisa aos pacientes e assinatura do termo de doação de dentes (Apêndice 1) e termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndice 2).

3.3. SELEÇÃO, ARMAZENAMENTO E DESGASTE DOS DENTES

Foram selecionados 80 molares humanos hígidos, recém-extraídos, que foram armazenados em suspensão de timol a 0,1% (em peso) para desinfecção, a uma temperatura de 5 ± 1 °C, até o momento de sua utilização.

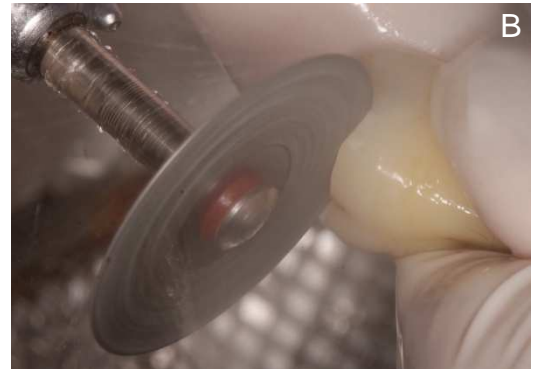
O tamanho da amostra foi baseado em trabalhos prévios com o mesmo estilo de metodologia^(41, 49, 58) e ajustado mediante cálculo amostral realizado baseado no

valor do desvio padrão do sistema adesivo Adper Single Bond ($DP = 6,51 \text{ MPa}^{(75)}$), associados a um intervalo de confiança de 95%, e erro estimado de 5%. Assim sendo Foram utilizados 8 dentes para cada grupo experimental, sendo 7 dentes para a realização dos testes de microtração ($n= 7$) e 1 dente para cada grupo experimental para realização de Microscopia Eletrônica de Varredura. A unidade amostral adotada foi o dente.

Os dentes foram limpos manualmente com curetas periodontais e, em seguida, polidos em baixa rotação (Kavo do Brasil S.A. Ind. e Com., Joinville, SC, Brasil) com taça de borracha embebida em mistura de pedra pomes (SS White, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e água.

O esmalte oclusal foi removido, através de corte perpendicular ao longo eixo dental, com um disco diamantado de dupla face (Medical Burs Ind. e Com. de Pontas e Brocas Cirúrgicas LTDA, Cotia, SP, Brasil), na altura da junção amelo-dentinária. Após a exposição da superfície dentinária, a face oclusal de cada dente foi polida com lixas de carbetto de silício (Saint-Gobain Abrasivos LTDA, Guarulhos, SP, Brasil) acopladas em politriz mecânica (APL-4, AROTEC S.A., Cotia, SP, Brasil), sob constante irrigação à água. Foram utilizadas lixas de granulação decrescente, partindo da granulação 150, passando pelas granulações 320, 400 e 600 (Figura 3). Após foram armazenados em água destilada a $4 \text{ }^\circ\text{C}$ ($\pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$).

Figura 3. Sequência de limpeza e corte dos dentes para os procedimentos restauradores.



A – Limpeza do dente com curetas periodontais, B – Corte da porção oclusal da coroa dentária para exposição de dentina, C – Aspecto do dente pós corte, D – Polimento da porção oclusal.

3.4. PROCEDIMENTOS ADESIVOS E RESTAURADORES

As amostras foram aleatorizadas, pelo site Randon.org, em cinco grupos, de acordo com os seguintes tratamentos de superfície:

Lavagem do ácido com água destilada - Condicionamento com ácido fosfórico a 37% (Condac 37 - FGM Produtos Odontológicos, Joinville, SC, Brasil) durante 15 s, lavagem por 30 s com água destilada e secagem com leve jato de ar.

Lavagem do ácido com solução de clorexidina 2% - Condicionamento com ácido fosfórico a 37% (Condac 37 - FGM Produtos Odontológicos, Joinville, SC, Brasil) durante 15 s, lavagem por 30 s com solução de clorexidina 2% e secagem com leve jato de ar.

Lavagem do ácido com solução de clorexidina 5% - Condicionamento com ácido fosfórico a 37% (Condac 37 - FGM Produtos Odontológicos, Joinville, SC, Brasil) durante 15 s, lavagem por 30 s com solução de clorexidina 5% e secagem com leve jato de ar.

Lavagem do ácido com água destilada e aplicação de clorexidina 2% - Condicionamento com ácido fosfórico 37% (Condac 37 - FGM Produtos Odontológicos, Joinville, SC, Brasil) durante 15 s, lavagem com água destilada por 30 s e secagem com leve jato de ar. A solução de clorexidina 2% foi aplicada por 120 s com microbrush (Cavibrush - FGM Produtos Odontológicos, Joinville, SC, Brasil) sob fricção, e posteriormente a dentina foi delicadamente secada com papel absorvente.

Lavagem do ácido com água destilada e aplicação de clorexidina 5% - Condicionamento com ácido fosfórico 37% (Condac 37 - FGM Produtos Odontológicos, Joinville, SC, Brasil) durante 15 s, lavagem com água destilada por 30

s e secagem com leve jato de ar. A solução de clorexidina 5% foi aplicada por 120 s com microbrush (Cavibrush - FGM Produtos Odontológicos, Joinville, SC, Brasil) sob fricção, e posteriormente a dentina foi delicadamente secada com papel absorvente.

A solução de clorexidina utilizada para lavagem do ácido foi obtida através da diluição de clorexidina 100% manipulada em farmácia de manipulação (Drogamaster Farmácia de Manipulação, Porto Alegre, RS, Brasil) em água destilada em um recipiente de 200 ml, de tal forma que o recipiente contenha esse volume de solução de clorexidina 2% e 5% para aplicação. A realização dessa diluição foi feita de acordo com a fórmula $V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$, em que a variável a ser calculada foi o volume inicial de concentração de clorexidina 100%. Dessa forma para a solução 2% tem-se o seguinte cálculo: $V_1 \times 100\% = 200\text{ml} \times 2\%$, sendo o volume de solução 100% utilizado para conseguir-se a solução aquosa de 2% 4ml diluídos em 196ml de água destilada. Da mesma forma aplicou-se o cálculo para a solução 5%, sendo necessário uma diluição de 10ml de clorexidina 100% em 190ml de água destilada.

Os blocos dentais foram aleatoriamente formados segundo aleatorização feita pelo site Randon.org, baseando-se nos dois sistemas adesivos aplicados segundo as recomendações do fabricante (Quadro 1) ou após os tratamentos de superfície supracitados (Figura 2).

Quadro 1. Sistemas adesivos utilizados no estudo.

Material	Composição	Fabricante	Modo de aplicação
Adper Scotchbond Multi-Usu Lote: N530227 Validade: 2016-10	Primer: HEMA, copolímero do ácido polialcenóico, água pH = 3,3 Adesivo: Bis-GMA, HEMA, amina terciária, canforoquinona pH = 8,2	3M ESPE Dental Products Division, St. Paul, MN, Estados Unidos	Aplicação do <i>primer</i> por 10 s, evaporação do solvente com jato de ar por 5 s. Aplicação de uma camada do adesivo, fotoativação por 20 s
Adper Single Bond 2 Lote: N410097 Validade: AGO/2015	Bis-GMA, copolímero polialcenóico, HEMA, dimetacrilatos, álcool, água, partículas de sílica de 5 nm pH = 4,5	3M ESPE Dental Products Division, St. Paul, MN, Estados Unidos	Aplicação de duas camadas consecutivas do adesivo, evaporação do solvente com jato de ar por 5s, fotoativação por 10s

A resina composta Filtek Z350XT (3M ESPE Dental Products Division, St. Paul, MN, Estados Unidos) foi inserida em 3 incrementos de 2 mm sobre a superfície previamente tratada, sendo cada incremento fotoativado por 40 segundos com o aparelho Radium-cal (SDI Limited Bayswater, Victoria 3153, Austrália), que teve sua potência aferida previamente à confecção das restaurações em radiômetro acoplado

ao carregador do aparelho, estando essa potência em $1200\text{mW}/\text{cm}^2$. Estas foram feitas formando um platô na porção coronária. Os materiais restauradores utilizados estão expostos na Figura 4.

Imediatamente após a finalização da restauração, os dentes tiveram sua porção radicular seccionada com disco diamantado de dupla face (Medical Burs Ind. e Com. de Pontas e Brocas Cirúrgicas LTDA, Cotia, SP, Brasil), expondo a câmara pulpar para que a mesma fosse restaurada com resina composta Filtek Z350XT (3M ESPE Dental Products Division, St. Paul, MN, Estados Unidos) e sistema adesivo Adper Single Bond 2 (3M ESPE Dental Products Division, St. Paul, MN, Estados Unidos) conforme as instruções do fabricante.

Figura 4. Materiais restauradores utilizados.



A – Sistema Adper adesivo Scotchbond Multi-Usos. B – Sistema adesivo Adper Single Bond 2. C – Resina composta Z350 XT e Ácido fosfórico 37% Condac 37

3.5. PREPARO DOS ESPÉCIMES PARA O TESTE DE MICROTRAÇÃO

Terminada a etapa restauradora, os dentes foram fixados em uma placa acrílica com cera pegajosa (KOTA Ind. e Com. LTDA, São Paulo, SP, Brasil), paralelos ao seu longo eixo, para serem adaptadas à cortadeira metalográfica (EXTEC® Labcut 1010 - Low Speed Diamond Saw, Extec Corp., Enfield, CT, Estados Unidos). Secções seriadas com espessura de 1,0 mm foram realizadas através de um disco diamantado de alta concentração (Extec 12235, Extec Corp., Enfield, CT, Estados Unidos), sob irrigação constante com água destilada. Em seguida, a base dos espécimes foi rotada em 90 graus, para a realização de novas secções seriadas com espessura de 1,0 mm, sob irrigação constante com água destilada, para a obtenção de espécimes em forma de palitos com uma área adesiva de aproximadamente 1,0 mm². Os palitos foram armazenados em água destilada a 4 °C ($\pm 2^{\circ}\text{C}$) até o momento da realização do teste de microtração.

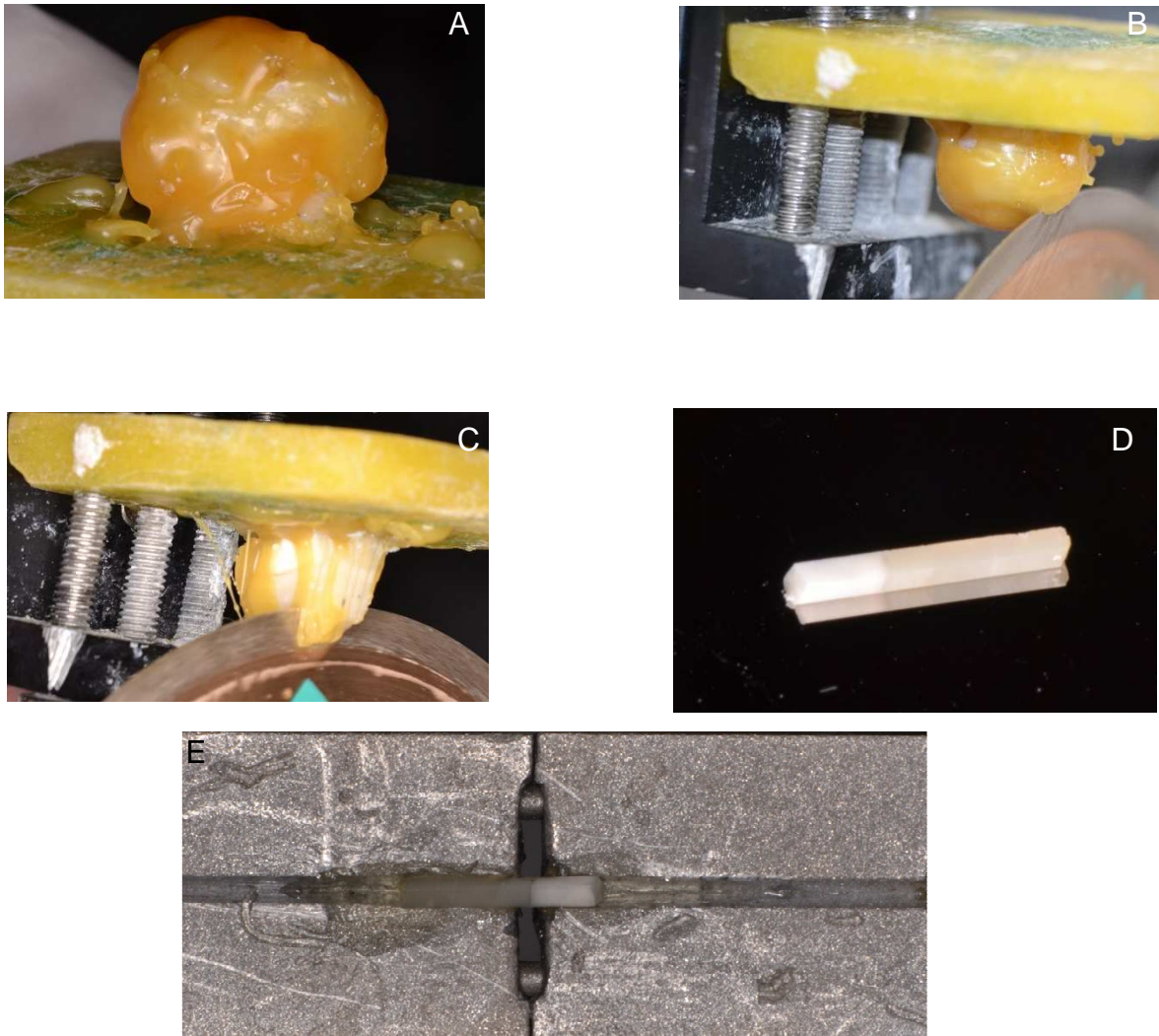
Os corpos de prova selecionados tiveram a área da interface adesiva mensurada com paquímetro digital (Mitutoyo MDC Lite 293, Mitutoyo Sul Americana São Paulo, SP, Brasil), e foram individualmente afixados ao dispositivo de microtração (Odeme Equipamentos Médico e Odontológicos LTDA, Joaçaba, SC, Brasil), em máquina de ensaio universal (INSTRON 3360, Illinois Tool Works Inc., Glenview, IL, Estados Unidos), com um adesivo à base de cianoacrilato (Super Bonder, Henkel Loctite Adesivos LTDA, Itapevi, SP, Brasil) pelas suas extremidades, de modo a posicionar a área de adesão perpendicular ao longo eixo da força de tração. Na Figura 5 está ilustrado o preparo dos espécimes para o teste de microtração.

Os testes foram realizados com velocidade constante de 0,5 mm/min. Os valores máximos da resistência de união, em quilograma-força (kgf), foram registrados

no momento da fratura, logo após o término dos movimentos da máquina de ensaio. Os dados foram coletados para posterior cálculo da resistência de união, com valores finais expressos em MPa, fazendo-se a razão da força, fornecida em Newton (N) pela máquina de ensaio, pela área adesiva em milímetros quadrados (mm²) previamente aferida de cada espécime. Após a realização dos testes de microtração, cada espécime foi observado em microscópio óptico (SZ 51 Olympus Optical do Brasil Ltda, São Paulo, SP, Brasil) para a definição do padrão de fratura em: 1) coesiva em resina composta, 2) coesiva em dentina, 3) mista em resina composta e/ou dentina e 4) adesiva.

Os testes de microtração foram realizados no Laboratório de Biomateriais e Cerâmicas Avançadas (LABIOMAT) da Faculdade de Engenharia de Materiais da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Figura 5. Sequência de corte dos dentes para teste de microtração.



A – Inclusão do dente em cera para fixação em placa acrílica para corte em cortadeira metalográfica, B – Corte das fatias em cortadeira metalográfica, C – Giro do espécime em 90° e novo corte seriado para obtenção dos palitos, D – Aspecto dos palitos, E – Palito afixado em *jig* para ensaio de microtração.

3.6. PREPARO DOS ESPÉCIMES PARA AVALIAÇÃO QUALITATIVA ESTRUTURAL (MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA)

Terminada a etapa restauradora, um dente de cada grupo experimental foi separado e fixado em placa acrílica com cera pegajosa (KOTA Ind. e Com. LTDA, São Paulo, SP, Brasil) perpendicularmente ao seu longo eixo para serem adaptados à cortadeira metalográfica (EXTEC ® Labcut 1010 - Low Speed Diamond Saw, Extec Corp., Enfield, CT, Estados Unidos). Secções seriadas foram realizadas através de um disco diamantado de alta concentração (Extec 12235, Extec Corp., Enfield, CT, Estados Unidos), sob irrigação constante com água destilada, originando fatias de aproximadamente 1 mm de espessura.

As fatias foram polidas manualmente com lixas d'água de granulação 1200 e 1500 (Saint-Gobain Abrasivos Ltda., Jundiaí, SP, Brasil) com movimentos circulares, sob constante irrigação com água destilada, para manter a superfície o mais plana possível. Após o polimento as fatias foram lavadas e condicionadas com ácido fosfórico a 37% (Condac 37 - FGM Produtos Odontológicos, Joinville, SC, Brasil) por 15 s, lavados com água destilada por 15 s, e secos com papel absorvente. Em seguida os espécimes receberam tratamento deproteinizante com solução de hipoclorito de sódio a 1% (Líquido de Milton) por 120 s, lavados com água destilada por 15 s e secos com papel absorvente.

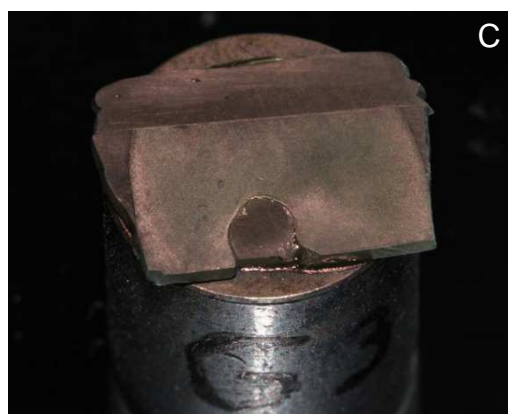
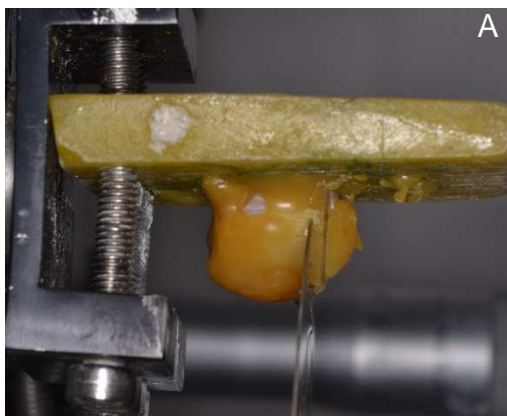
Após o preparo os corpos-de-prova foram afixados em *stubs* e acondicionados por 24 horas em uma estufa de cultura (EL 1.1 – Odontobrás, Ribeirão Preto, SP, Brasil) para a secagem e, após esse período de tempo, foram levados a um metalizador (Med 10, Balzers Liechtenstein) para aplicação de uma delgada película de ouro a fim de se realizar a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) para a

análise da camada híbrida dos diferentes grupos experimentais deste estudo. Na Figura 6 estão ilustrados o corte e a metalização das fatias para a análise em MEV.

As amostras foram analisadas em microscópio eletrônico (JEOL JSM 5800LV, JEOL, Japão) e fotomicrografias foram obtidas das regiões mais expressivas da camada híbrida com um aumento de 1500 e 3000 vezes.

A análise de MEV foi realizada no Centro de Microscopia Eletrônica (CME) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Figura 6. Sequência de corte para Microscopia Eletrônica de Varredura.



A – Corte das fatias em cortadeira metalográfica, B – Aspecto das fatias, C Fatia afixada em *stub* para Microscopia Eletrônica de Varredura.

3.7. ANÁLISE DOS DADOS

A forma de distribuição dos dados foi verificada por meio do teste de Kolmogorov-Smirnov revelando uma distribuição normal da amostra. Sendo assim, as médias de resistência de união obtidas no teste de microtração (expressas em MPa) foram analisadas através do teste de análise de variância de duas vias (Two-way ANOVA) e após submetidas ao teste post-hoc de Tukey. O software utilizado para a realização do teste estatístico foi o SAS® University Edition (©SAS Institute Inc., SAS Campus Drive, Cary, North Carolina 27513, Estados Unidos). Para ambos os testes foi adotado o nível de significância de 5%.

As imagens obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura e o padrão de fratura dos espécimes não foram submetidos a testes estatísticos, sendo suas análises feitas de forma qualitativa e descritiva.

4. RESULTADOS

4.1. TESTE DE MICROTRAÇÃO

A análise de variância dos valores de resistência à tração demonstrou diferenças estatísticas significativas para o fator sistema adesivo ($p < .0001$) mas não para o fator tratamento de superfície ($p = 0,6336$). Por conseguinte, foi verificada também uma interação significativa entre os fatores em estudo ($p = 0,0052$).

Vale ressaltar que, em função da normalidade dos dados e da homogeneidade das variâncias, não houve a necessidade de transformação de dados (verificado através do teste de Kolmogorov-Smirnov).

O Teste Tukey foi então empregado para evidenciar as diferenças estatísticas significativas entre cada fator em estudo, além da interação dos fatores. Para ambos os testes o nível de significância foi ajustado em 5%.

Os resultados desta análise estão representados na Tabela 1. Foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre os sistemas adesivos Adper Scotchbond Multi-Use e Adper Single Bond 2 quando estes foram aplicados de acordo com as normas do fabricante (controle) ou com solução de clorexidina 2% (seja como *primer* previamente à aplicação do adesivo, ou durante a lavagem do ácido fosfórico). Quando foi utilizada a solução de clorexidina 5% (tanto para aplicação como *primer* quanto para lavagem do ácido), não foram observadas diferenças entre os dois sistemas avaliados.

Avaliando-se individualmente os sistemas adesivos, não foi observada influência da utilização da clorexidina como *primer* previamente à aplicação do adesivo ou

durante a lavagem do ácido fosfórico, independentemente da concentração da solução de clorexidina utilizada.

Tabela 1. Média (desvio padrão) de resistência de união em MPa em função do sistema adesivo e do tratamento de superfície.

Tratamento de superfície	n	Sistema adesivo	
		SBMP	SB2
Água	7	38,0 (11,6) Aa	18,3 (8,4) Ba
Lavagem com clorexidina 2%	7	30,2 (5,8) Aa	19,5 (4,0) Ba
Lavagem com clorexidina 5%	7	29,6 (7,6) Aa	25,7 (10,1) Aa
Aplicação de clorexidina 2%	7	37,0 (5,5) Aa	21,7 (7,9) Ba
Aplicação de clorexidina 5%	7	26,4 (7,1) Aa	27,6 (6,8) Aa

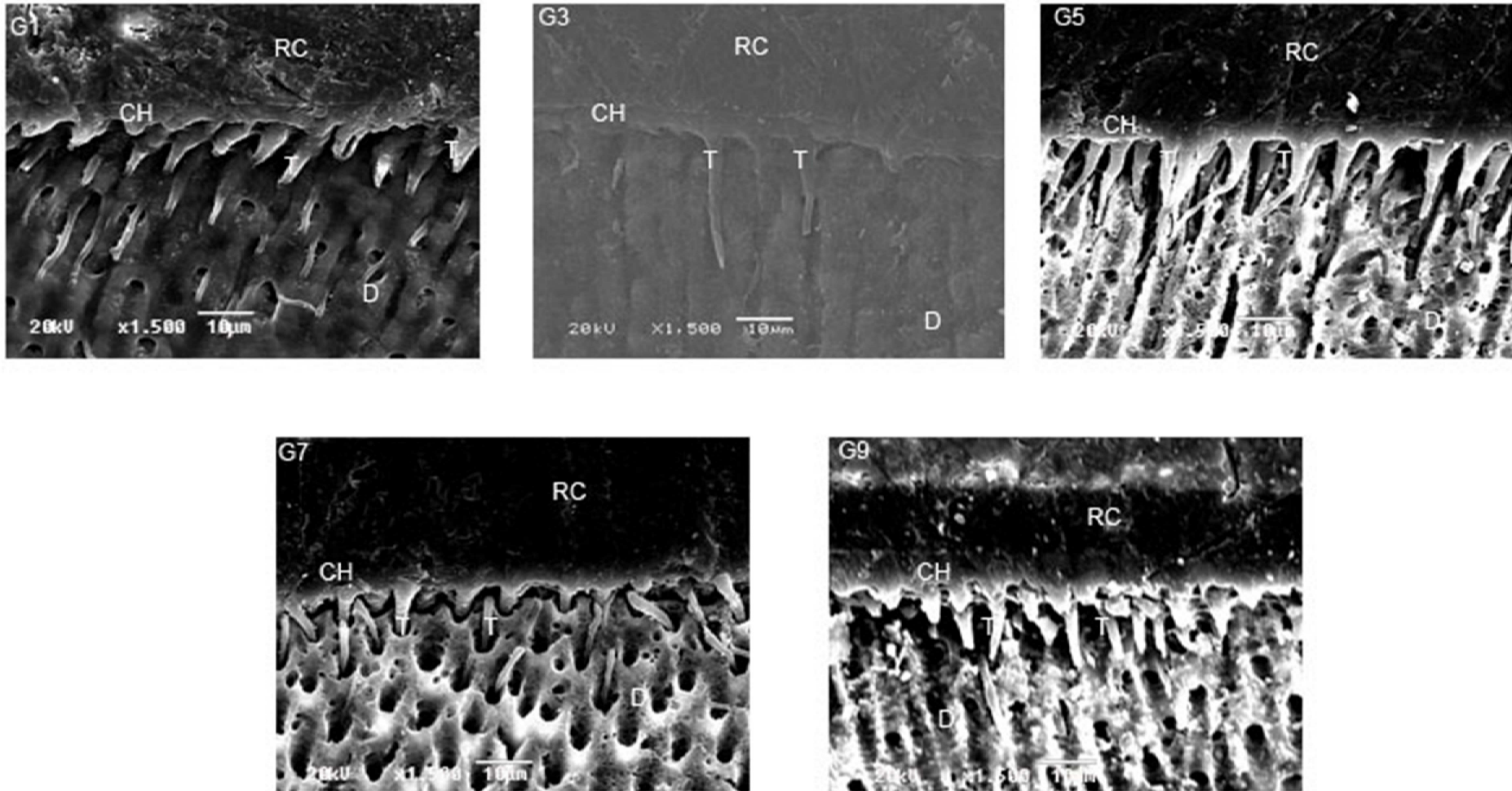
Médias seguidas de letras distintas (maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical) diferem estatisticamente entre si ($p \leq 0,05$).

4.2. AVALIAÇÃO ESTRUTURAL

A avaliação estrutural do padrão de formação de camada híbrida foi feita por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Como observado na Figura 7, o padrão de formação de camada híbrida foi semelhante para todos os grupos em que o sistema adesivo Adper Scotchbond Multi-Usado foi utilizado, independentemente do tratamento de superfície realizado. Para esse sistema adesivo, pode-se observar ainda a formação de camada híbrida mais espessa do que aquelas formadas quando da utilização do sistema adesivo Adper Single Bond 2 (Figura 8). O padrão de camada híbrida para o sistema adesivo Adper Single Bond 2 também não apresentou diferenças para os diferentes tratamentos de superfície realizados. Foi possível

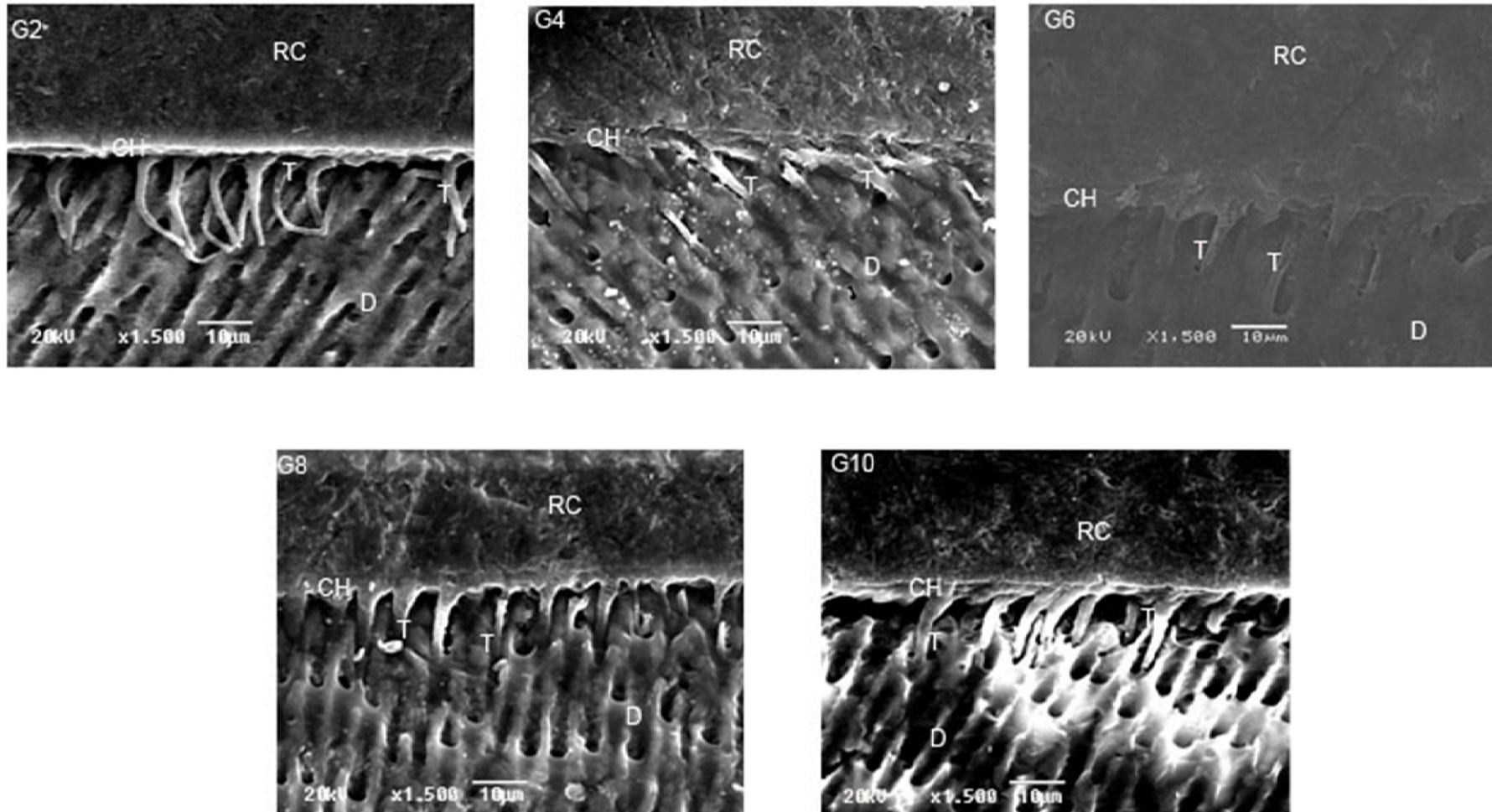
verificar nas imagens (Figuras 7 e 8), que para ambos adesivos e todos os tratamentos de superfície utilizados há uma boa penetração de *tags* resinosos no tecido dentinário.

Figura 7: MEV dos grupos 1, 3, 5, 7 e 9 (grupos em que foi utilizado sistema adesivo Adper Scotchbond Multi-Usa).



G1 - GRUPO 1 (CONTROLE). G3 - GRUPO 3 (LAVAGEM COM CLOREXIDINA 2%). G5 - GRUPO 5 (LAVAGEM COM CLOREXIDINA 5%). G7 - GRUPO 7 (APLICAÇÃO DE CLOREXIDINA 2%). G9 - GRUPO 9 (APLICAÇÃO DE CLOREXIDINA 5%). RC - RESINA COMPOSTA. CH - CAMADA HÍBRIDA. D - DENTINA. T - TAGS DE RESINA

Figura 8: MEV dos grupos 2, 4, 6, 8 e 10 (grupos com utilização do sistema adesivo Adper Single Bond 2).

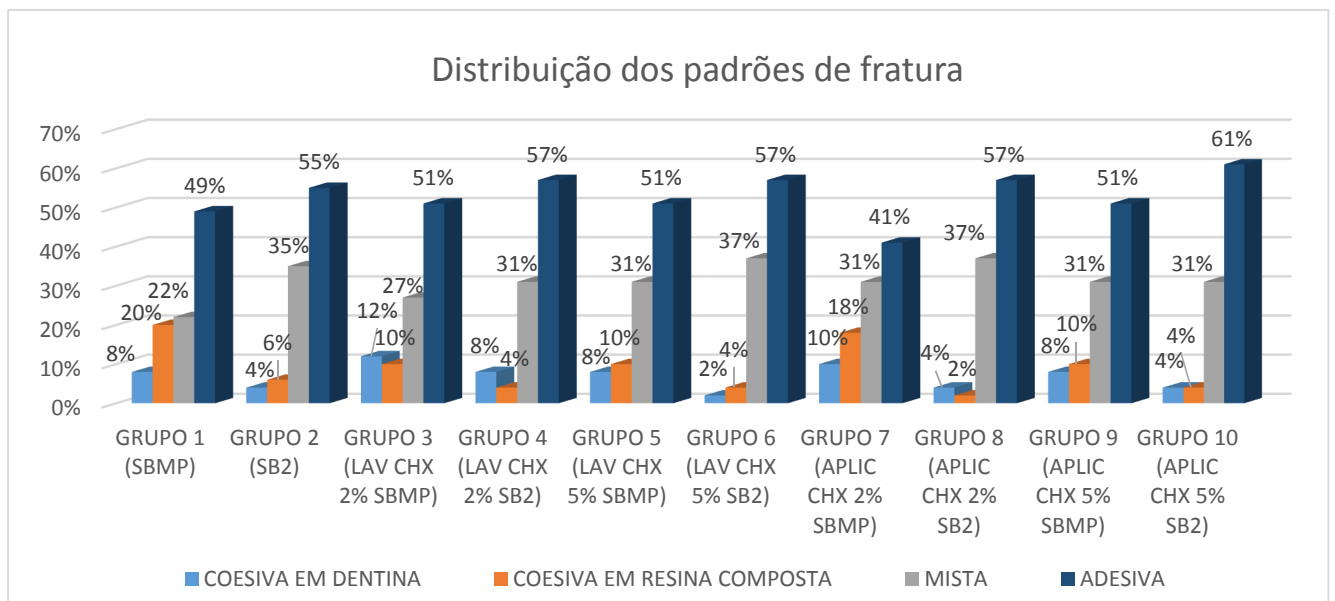


G2 - GRUPO 2 (CONTROLE). G4 - GRUPO 4 (LAVAGEM COM CLOREXIDINA 2%). G6 - GRUPO 6 (LAVAGEM COM CLOREXIDINA 5%). G8 - GRUPO 8 (APLICAÇÃO DE CLOREXIDINA 2%). G10 - GRUPO 10 (APLICAÇÃO DE CLOREXIDINA 5%). RC - RESINA COMPOSTA. CH - CAMADA HÍBRIDA. D - DENTINA. T - TAGS DE RESINA

4.3. AVALIAÇÃO DO PADRÃO DE FRATURA

O padrão de fratura foi observado em microscópio óptico (SZ 51 Olympus Optical do Brasil Ltda, São Paulo, SP, Brasil) definido como: 1) coesiva em resina composta, 2) coesiva em dentina, 3) mista em resina composta e/ou dentina e 4) adesiva. A distribuição dos padrões de fratura nos diferentes grupos experimentais está disposta no Gráfico 1.

Gráfico 1. Distribuição do padrão de fratura segundo os grupos experimentais (porcentagem).



Pode-se observar que em todos os grupos ocorreu um maior número de fraturas adesivas, ficando quase sempre em torno de 50%, seguido, por fraturas mistas. Houve um número reduzido de fraturas coesivas, tanto em resina composta como em dentina para todos os grupos. Foi possível notar também, que os grupos

com maior número de fraturas adesivas foram os grupos 4, 6, 8 e 10. Nesses grupos foi utilizado o sistema adesivo Adper Single Bond 2 e feito tratamento de superfície com clorexidina nas concentrações 2 e 5%.

5. DISCUSSÃO

A necessidade de substituição de restaurações pode ser considerada um problema de saúde pública^(5, 6). Aproximadamente metade das restaurações de dentes posteriores realizadas em adultos é substituída num prazo médio de 5,7 anos, sendo a cárie secundária e problemas marginais as falhas mais comumente observadas^(1, 2, 5, 10, 76). Esse quadro leva a comunidade odontológica a pensar em como prolongar o tempo de vida útil das restaurações de resina composta a fim de tornar a restauração dentária um tratamento resolutivo a longo prazo. Nesse contexto pesquisas que visem colaborar com a evolução das técnicas e matérias adesivos devem ser incentivadas para que esse quadro possa ser revertido.

O objetivo desse trabalho vem de encontro a esse panorama, propondo um tratamento de superfície que possibilite prolongar a vida útil das restaurações adesivas sem que haja necessidade de tornar a técnica restauradora ainda mais complexa ou sensível. Para tanto avaliou-se o tratamento da superfície dentinária com clorexidina, importante inibidor de metaloproteinase^(47, 70), em diferentes concentrações (2% e 5%) e formas de aplicação (água de irrigação do equipo odontológico ou aplicação como *primer* após o condicionamento ácido) e sua interação com sistemas adesivos de condicionamento ácido total de 2 ou 3 passos.

A hipótese nula do presente estudo foi totalmente confirmada (Tabela 1). Quando os sistemas adesivo de 3 passos Adper Scotchbond Multi-Usado e de 2 passos Adper Single Bond 2 foram utilizados, os diferentes métodos e concentrações de clorexidina não diferiram estatisticamente do grupo controle (aplicação de acordo com as instruções do fabricante). No entanto, os dois sistemas adesivos de condicionamento ácido avaliados diferiram estatisticamente entre si quando aplicados

de acordo com as normas do fabricante ou quando se utilizou o tratamento de superfície dentinária com solução de clorexidina 2%, para ambas as formas de aplicação (água de irrigação do equipo odontológico ou aplicação como *primer* após o condicionamento ácido).

As microfotografias (Figuras 7 e 8) realizadas a partir de análise de Microscopia Eletrônica de Varredura, revelaram padrões semelhantes de formação de camada híbrida para grupos tratados com o mesmo sistema adesivo, sem influência do tratamento de superfície com os diferentes métodos e concentrações de clorexidina na morfologia interfacial. Comparando-se os dois sistemas adesivos avaliados, foi possível observar a formação de uma camada híbrida mais espessa para os grupos em que o sistema adesivo Adper Scotchbond Multi-Usado foi utilizado. Tal achado provavelmente está relacionado ao uso de uma resina fluida de maior viscosidade como camada final para este sistema de 3 passos.

A avaliação da resistência de união foi realizada utilizando-se o teste de microtração, um método laboratorial eficiente na comparação de diferentes materiais e técnicas restauradoras, nas mais diversas regiões dentais disponíveis para adesão, fornecendo vários espécimes advindos do mesmo dente^(41, 47, 52, 75, 77). As falhas produzidas pelo teste de microtração foram em grande parte adesivas, seguidas de fraturas mistas (Gráfico 1), essa distribuição de padrão de falha encontra-se em acordo com outros trabalhos previamente publicados^(41, 53). No entanto, outros estudos mostraram um maior número de fraturas mistas^(49, 50, 57), mas não relatam que essa diferença seja estatisticamente significativa. Além disso, esses dois tipos de padrão de fratura (mista e adesiva) apresentavam maior distribuição do que as fraturas coesivas em resina composta ou em dentina^(49, 50, 57), assim como a distribuição de fraturas do presente trabalho.

Nos grupos experimentais em que o sistema adesivo simplificado (Adper Single Bond 2) foi utilizado pode-se perceber um maior número de fraturas adesivas do que naqueles em que se utilizou o sistema adesivo de 3 passos (Adper Scotchbond Multi-Use). Hashimoto et al. (2000) mostraram que a distribuição de fraturas coesivas de substrato (dentina/resina) em espécimes submetidos ao teste de microtração é proporcional à resistência de união. Em um estudo de 4 anos de acompanhamento⁽⁷⁸⁾ verificou-se que um decréscimo nos valores de resistência de união está relacionado a um aumento de fraturas adesivas.

Podemos considerar que os achados principais desse estudo são: o fato de o uso de clorexidina como solução na água do equipo odontológico não interferir na resistência de união imediata dos sistemas adesivos convencionais de 3 e 2 passos e o fato de a aplicação de clorexidina 5% para ambas as formas de aplicação (água de irrigação do equipo odontológico ou aplicação como *primer* após o condicionamento ácido) equiparar os valores de resistência de união do sistema adesivo de 3 passos Adper Scotchbond Multi-Use com as do sistema adesivo de 2 passos Adper Single Bond.

A utilização de clorexidina 2% é muito comum em trabalhos que testam este inibidor de metaloproteinases^(12, 41, 46, 47, 49, 52-54, 57, 58, 60, 73). Nesses estudos, a utilização de clorexidina como um *primer* do sistema adesivo não afeta a resistência de união imediata e o padrão de formação da camada híbrida. Alguns deles ainda mostraram que a clorexidina é efetiva em diminuir a perda de resistência de união ao longo do tempo^(41, 49, 58), sendo o tempo máximo em avaliação de 2 anos. Mobarak⁽⁵³⁾ observou que a clorexidina 2% não é efetiva em um período maior que 2 anos. O autor argumenta que a clorexidina tem substantividade nos tecidos dentários, mas que essa

substantividade é dependente da concentração^(53, 63). No entanto, essa dependência tempo de contato-concentração ainda não está suficientemente bem esclarecida.

Murthy et al. (2012) testaram soluções de antimicrobianos (Citrisil e Alpron), água destilada e clorexidina 0,2% na lavagem do ácido fosfórico em procedimentos restauradores adesivos pelo teste de resistência ao cisalhamento. Seus resultados mostraram que a utilização de clorexidina 0,2% utilizada interferiu negativamente na resistência de união o que vai contra os resultados deste estudo, porém em sua metodologia a solução foi aplicada com uma seringa de 50 ml por 15 segundos, ou seja, trabalhou-se com uma solução pouco concentrada e em um período de tempo curto e esses fatores podem ter influenciado nos resultados do estudo.

Tendo em vista estes achados laboratoriais, a utilização de soluções com maiores concentrações de clorexidina para o tratamento de superfície dentinária deve ser estimulado. No presente estudo, ambos os usos da solução de clorexidina 2% e 5% (lavagem do ácido fosfórico e aplicação como *primer* ao sistema adesivo) comportaram-se de maneira similar sem afetar a resistência de união imediata e sem interferir no padrão de formação da camada híbrida (Figuras 7 e 8). Tais resultados corroboram com diversos estudos previamente publicados^(12, 41, 46, 47, 49, 52-54, 57, 58, 60) e sugerem que a irrigação com clorexidina no momento da lavagem do ácido pode ser efetiva em preservar a resistência de união em restaurações adesivas, devendo esse protocolo operatório ser testado em estudos de envelhecimento da amostra, e em seguida em avaliações clínicas. Com o desenvolvimento destes trabalhos será possível elucidar como a concentração de clorexidina na solução de lavagem utilizada afeta a substantividade do material e se a sua utilização seria efetiva para produzir interfaces mais estáveis e duráveis a longo prazo.

O uso de clorexidina 5% como tratamento de superfície dentinária a fim de inibir os efeitos de metaloproteinases já foi utilizado nos trabalhos de Erhardt et al. (2008) e Mobarak et al. (2011)^(50, 53). O estudo de Mobarak e colaboradores utilizou dentina afetada por cárie e dentina hígida em sua metodologia⁽⁵³⁾ e concluiu que para um período de 2 anos a utilização de solução de clorexidina 5% é capaz de reduzir a degradação da camada híbrida em dentina afetada por cárie. O estudo de Erhardt e colaboradores utilizou apenas tecido dentinário cariado em sua metodologia, e mostrou em uma avaliação imediata da resistência de união que a solução de clorexidina 5% aplicada como um *primer* sobre a superfície dentinária não afeta a resistência de união do sistema adesivo de condicionamento ácido total de 3 passos utilizado no estudo⁽⁵⁰⁾.

No presente trabalho, quando a clorexidina foi utilizada em concentração de 5%, observaram-se diferentes comportamentos: para o sistema adesivo de 3 passos Adper Scotchbond Multi-Usado, a utilização da solução em ambos protocolos de tratamento (*primer* do sistema adesivo ou solução de lavagem do condicionamento ácido) não interferiu na resistência de união imediata, em conformidade com o já apresentado na literatura ^(50, 53). Com relação a sensibilidade e tempo de execução da técnica adesiva, o método que se utiliza da lavagem do ácido com a solução de clorexidina apresenta a vantagem de não adicionar etapas ao protocolo adesivo.

Já para o sistema adesivo de condicionamento ácido total simplificado Adper Single Bond 2, a utilização de clorexidina 5% também não interferiu na resistência de união imediata, apesar de notarmos uma forte tendência a um aumento nos valores de resistência de união (não diferindo estatisticamente). Supõe-se que pode existir a possibilidade de que tais diferenças se evidenciem a longo prazo, em estudos de envelhecimento de amostras (em andamento) ou mesmo avaliações clínicas. São

restritos os trabalhos que utilizaram clorexidina 5% como tratamento de superfície na literatura^(50, 53), esses trabalhos têm conclusão estimuladora quanto ao uso dessa substância, mostrando que ela não interfere na resistência de união imediata⁽⁵⁰⁾ e é efetiva em frear a perda de resistência de união em um período de 2 anos⁽⁵³⁾. Porém, em nenhum desses trabalhos a clorexidina 5% foi utilizada em conjunto com o adesivo de condicionamento ácido total simplificado Adper Single Bond 2. A solução foi utilizada como um *primer* em conjunto com outros sistemas adesivos, que podem não interagir com a clorexidina da mesma maneira que o sistema adesivo utilizado no presente trabalho.

É possível especular que o aumento na resistência de união quando do tratamento de superfície com solução de clorexidina 5% associada ao uso do sistema adesivo simplificado Adper Single Bond 2 pode ter-se dado devido a interações do composto utilizado e os componentes mais hidrofílicos do sistema adesivo em questão^(79, 80), tais como o HEMA e o ácido polialcenoico. No entanto, novos estudos sobre a interação entre esses dois compostos devem ser conduzidos para que esse comportamento possa ser melhor elucidado.

A clorexidina, além de preservar a integridade da interface adesiva, pode ser utilizada para a prevenção e remineralização de tecido dentinário afetado por cárie^(68, 81), uma vez que esta solução possui efeito inibitório sobre as mesmas metaloproteinases que tem papel determinante na evolução das lesões cariosas^(5, 68, 81, 82). Assim sendo, o uso de soluções de clorexidina com o intuito de se chegar a restaurações mais duráveis, com maior estabilidade de união micromecânica e química entre tecido dentário e monômeros resinosos deve ser incentivado.

Ainda não há consenso sobre a concentração ideal de clorexidina para que se possa ter a efetiva inativação de metaloproteinases por longos períodos de tempo⁽⁴³⁾. Para essa definição, sugerem-se estudos que avaliem desde concentrações muito pequenas do composto até concentrações maiores, com longos períodos de envelhecimento de amostra. Há, também, a necessidade de se estudar a influência das soluções de clorexidina na preservação da camada híbrida quando da utilização de sistemas adesivos autocondicionantes como agente de união⁽⁸⁾. É necessário que se entenda melhor a interação da clorexidina com os sistemas adesivos para que se possa definir uma concentração e método de aplicação efetivos para seu uso clínico de maneira protocolária.

6. CONCLUSÃO

Considerando as condições experimentais sob as quais foi realizado este estudo, e os resultados obtidos, pode-se concluir que:

1) A utilização de clorexidina 2% ou 5% não tem efeito negativo na resistência de união tanto quando utilizada para a lavagem do ácido fosfórico quanto para aplicação como um *primer*, quando da aplicação de um sistema adesivo de condicionamento ácido total de 3 passos e outro de 2 passos;

2) O sistema adesivo convencional de 3 passos Adper Scotchbond Multi-Use apresentou maiores valores de resistência de união que o sistema de 2 passos Adper Single Bond 2 para lavagem com água destilada (controle), lavagem com clorexidina 2% e aplicação de clorexidina 2%;

3) A análise micromorfológica das interfaces adesivas sob Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) revelou que os diferentes métodos de aplicação e concentrações de clorexidina não interferiram na formação da camada híbrida (diferenças com relação à espessura das mesmas foram notadas para o sistema convencional de 3 passos, sendo estas mais espessas que as formadas para o sistema adesivo convencional de 2 passos).

4) Com relação ao padrão de fratura, foi observada maior predominância de falhas adesivas em todos os grupos experimentais, seguida pelas fraturas do tipo mista.

REFERÊNCIAS

1. Bernardo M, Luis H, Martin MD, Leroux BG, Rue T, Leitao J, et al. Survival and reasons for failure of amalgam versus composite posterior restorations placed in a randomized clinical trial. *Journal of the American Dental Association*. 2007;138(6):775-83.
2. Gordan VV, Garvan CW, Richman JS, Fellows JL, Rindal DB, Qvist V, et al. How dentists diagnose and treat defective restorations: evidence from the dental practice-based research network. *Operative Dentistry*. 2009;34(6):664-73.
3. Spencer P, Ye Q, Park J, Topp EM, Misra A, Marangos O, et al. Adhesive/Dentin interface: the weak link in the composite restoration. *Annals of Biomedical Engineering*. 2010;38(6):1989-2003.
4. Beck F, Lettner S, Graf A, Bitriol B, Dumitrescu N, Bauer P, et al. Survival of direct resin restorations in posterior teeth within a 19-year period (1996-2015): A meta-analysis of prospective studies. *Dental Materials*. 2015. In Press
5. Liu Y, Tjaderhane L, Breschi L, Mazzoni A, Li N, Mao J, et al. Limitations in bonding to dentin and experimental strategies to prevent bond degradation. *Journal of Dental Research*. 2011;90(8):953-68.
6. DataSUS. Restauração de dentes posteriores permanentes tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sia/cnv/qauf.def2014.
7. Nahsan FP, Mondelli RF, Franco EB, Naufel FS, Ueda JK, Schmitt VL, et al. Clinical strategies for esthetic excellence in anterior tooth restorations: understanding

- color and composite resin selection. *Journal of Applied Oral Science*. 2012;20(2):151-6.
8. Reis A, Carrilho M, Breschi L, Loguercio AD. Overview of clinical alternatives to minimize the degradation of the resin-dentin bonds. *Operative Dentistry*. 2013;38(4):E1-E25.
9. Breschi L, Mazzoni A, Ruggeri A, Cadenaro M, Di Lenarda R, De Stefano Dorigo E. Dental adhesion review: aging and stability of the bonded interface. *Dental Materials*. 2008;24(1):90-101.
10. Strobel S, Hellwig E. The effects of matrix-metallo- proteinases and chlorhexidine on the adhesive bond. *Swiss Dental Journal*. 2015;125(2):134-45.
11. Perdigao J. Dentin bonding-variables related to the clinical situation and the substrate treatment. *Dental Materials*. 2010;26(2):e24-37.
12. Totti M, Goulart M, Fagundes LO, Thomé T, Conceição EN, Coelho-de-Souza FH, et al. Quantitative and qualitative evaluation of resin-dentin bond strengths: *in vitro* effects of surface treatment with metalloproteinase inhibitors. *Journal of Research in Dentistry*. 2014;2(3):251-60.
13. Nakabayashi N. Bonding mechanism of resins and the tooth. *Kokubyo Gakkai zasshi The Journal of the Stomatological Society, Japan*. 1982;49(2):410.
14. Nakabayashi N, Ashizawa M, Nakamura M. Identification of a resin-dentin hybrid layer in vital human dentin created *in vivo*: durable bonding to vital dentin. *Quintessence International*. 1992;23(2):135-41.

15. Sano H. Microtensile testing, nanoleakage, and biodegradation of resin-dentin bonds. *Journal of Dental Research*. 2006;85(1):11-4.
16. Sano H, Shono T, Takatsu T, Hosoda H. Microporous dentin zone beneath resin-impregnated layer. *Operative Dentistry*. 1994;19(2):59-64.
17. Sano H, Yoshikawa T, Pereira PN, Kanemura N, Morigami M, Tagami J, et al. Long-term durability of dentin bonds made with a self-etching primer, in vivo. *Journal of Dental Research*. 1999;78(4):906-11.
18. Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Endo K, Sano H, Oguchi H. In vivo degradation of resin-dentin bonds in humans over 1 to 3 years. *Journal of Dental Research*. 2000;79(6):1385-91.
19. Balooch M, Habelitz S, Kinney JH, Marshall SJ, Marshall GW. Mechanical properties of mineralized collagen fibrils as influenced by demineralization. *Journal of Structural Biology*. 2008;162(3):404-10.
20. Hashimoto M. A review--micromorphological evidence of degradation in resin-dentin bonds and potential preventional solutions. *Journal of Biomedical Materials Research Part B, Applied Biomaterials*. 2010;92(1):268-80.
21. Vaidyanathan TK, Vaidyanathan J. Recent advances in the theory and mechanism of adhesive resin bonding to dentin: a critical review. *Journal of Biomedical Materials Research Part B, Applied Biomaterials*. 2009;88(2):558-78.
22. Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Sano H, Endo K, Oguchi H. The extent to which resin can infiltrate dentin by acetone-based adhesives. *Journal of Dental Research*. 2002;81(1):74-8.

23. Tjaderhane L, Nascimento FD, Breschi L, Mazzoni A, Tersariol IL, Geraldeli S, et al. Strategies to prevent hydrolytic degradation of the hybrid layer-A review. *Dental Materials*. 2013;29(10):999-1011.
24. Mazzoni A, Nascimento FD, Carrilho M, Tersariol I, Papa V, Tjaderhane L, et al. MMP activity in the hybrid layer detected with in situ zymography. *Journal of Dental Research*. 2012;91(5):467-72.
25. Dundar M, Ozcan M, Comlekoglu ME, Sen BH. Nanoleakage inhibition within hybrid layer using new protective chemicals and their effect on adhesion. *Journal of Dental Research*. 2011;90(1):93-8.
26. Mazzoni A, Scaffa P, Carrilho M, Tjaderhane L, Di Lenarda R, Polimeni A, et al. Effects of etch-and-rinse and self-etch adhesives on dentin MMP-2 and MMP-9. *Journal of Dental Research*. 2013;92(1):82-6.
27. Yiu CK, King NM, Pashley DH, Suh BI, Carvalho RM, Carrilho MR, et al. Effect of resin hydrophilicity and water storage on resin strength. *Biomaterials*. 2004;25(26):5789-96.
28. Ito S, Hashimoto M, Wadgaonkar B, Svizero N, Carvalho RM, Yiu C, et al. Effects of resin hydrophilicity on water sorption and changes in modulus of elasticity. *Biomaterials*. 2005;26(33):6449-59.
29. Ferracane JL. Hygroscopic and hydrolytic effects in dental polymer networks. *Dental Materials*. 2006;22(3):211-22.

30. Paul SJ, Leach M, Rueggeberg FA, Pashley DH. Effect of water content on the physical properties of model dentine primer and bonding resins. *Journal of Dentistry*. 1999;27(3):209-14.
31. Ye Q, Spencer P, Wang Y, Misra A. Relationship of solvent to the photopolymerization process, properties, and structure in model dentin adhesives. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2007;80(2):342-50.
32. Loguercio AD, Loeblein F, Cherobin T, Ogliari F, Piva E, Reis A. Effect of solvent removal on adhesive properties of simplified etch-and-rinse systems and on bond strengths to dry and wet dentin. *The Journal of Adhesive Dentistry*. 2009;11(3):213-9.
33. Tay FR, Pashley DH. Water treeing--a potential mechanism for degradation of dentin adhesives. *American Journal of Dentistry*. 2003;16(1):6-12.
34. Nishitani Y, Hosaka K, Hoshika T, Yoshiyama M, Pashley DH. Effects of chlorhexidine in self-etching adhesive: 24 hours results. *Dental Materials Journal*. 2013;32(3):420-4.
35. Wang Y, Spencer P. Hybridization efficiency of the adhesive/dentin interface with wet bonding. *Journal of Dental Research*. 2003;82(2):141-5.
36. Breschi L, Prati C, Gobbi P, Pashley D, Mazzotti G, Teti G, et al. Immunohistochemical analysis of collagen fibrils within the hybrid layer: a FEISEM study. *Operative Dentistry*. 2004;29(5):538-46.
37. Birkedal-Hansen H, Moore WG, Bodden MK, Windsor LJ, Birkedal-Hansen B, DeCarlo A, et al. Matrix metalloproteinases: a review. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*. 1993;4(2):197-250.

38. Pashley DH, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho RM, et al. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *Journal of Dental Research*. 2004;83(3):216-21.
39. Boushell LW, Kaku M, Mochida Y, Bagnell R, Yamauchi M. Immunohistochemical localization of matrixmetalloproteinase-2 in human coronal dentin. *Archives of Oral Biology*. 2008;53(2):109-16.
40. Tjaderhane L, Larjava H, Sorsa T, Uitto VJ, Larmas M, Salo T. The activation and function of host matrix metalloproteinases in dentin matrix breakdown in caries lesions. *Journal of Dental Research*. 1998;77(8):1622-9.
41. Stanislawczuk R, Reis A, Loguercio AD. A 2-year in vitro evaluation of a chlorhexidine-containing acid on the durability of resin-dentin interfaces. *Journal of Dentistry*. 2011;39(1):40-7.
42. Ali AA, El Deeb HA, Badran O, Mobarak EH. Bond durability of self-etch adhesive to ethanol-based chlorhexidine pretreated dentin after storage in artificial saliva and under intrapulpal pressure simulation. *Operative Dentistry*. 2013;38(4):439-46.
43. Collares FM, Rodrigues SB, Leitune VC, Celeste RK, Borba de Araujo F, Samuel SM. Chlorhexidine application in adhesive procedures: a meta-regression analysis. *The Journal of Adhesive Dentistry*. 2013;15(1):11-8.
44. Hebling J, Pashley DH, Tjaderhane L, Tay FR. Chlorhexidine arrests subclinical degradation of dentin hybrid layers in vivo. *Journal of Dental Research*. 2005;84(8):741-6.

45. Kim J, Uchiyama T, Carrilho M, Agee KA, Mazzoni A, Breschi L, et al. Chlorhexidine binding to mineralized versus demineralized dentin powder. *Dental Materials*. 2010;26(8):771-8.
46. Lenzi TL, Tedesco TK, Soares FZ, Loguercio AD, Rocha Rde O. Chlorhexidine does not increase immediate bond strength of etch-and-rinse adhesive to caries-affected dentin of primary and permanent teeth. *Brazilian Dental Journal*. 2012;23(4):438-42.
47. Carrilho MR, Carvalho RM, de Goes MF, di Hipolito V, Geraldeli S, Tay FR, et al. Chlorhexidine preserves dentin bond in vitro. *Journal of Dental Research*. 2007;86(1):90-4.
48. Hiraishi N, Yiu CK, King NM, Tay FR, Pashley DH. Chlorhexidine release and water sorption characteristics of chlorhexidine-incorporated hydrophobic/hydrophilic resins. *Dental Materials*. 2008;24(10):1391-9.
49. Breschi L, Mazzoni A, Nato F, Carrilho M, Visintini E, Tjaderhane L, et al. Chlorhexidine stabilizes the adhesive interface: a 2-year in vitro study. *Dental Materials*. 2010;26(4):320-5.
50. Erhardt MC, Osorio R, Toledano M. Dentin treatment with MMPs inhibitors does not alter bond strengths to caries-affected dentin. *Journal of Dentistry*. 2008;36(12):1068-73.
51. Sabatini C. Effect of a chlorhexidine-containing adhesive on dentin bond strength stability. *Operative Dentistry*. 2013;38(6):609-17.

52. Brackett WW, Tay FR, Brackett MG, Dib A, Sword RJ, Pashley DH. The effect of chlorhexidine on dentin hybrid layers in vivo. *Operative Dentistry*. 2007;32(2):107-11.
53. Mobarak EH. Effect of chlorhexidine pretreatment on bond strength durability of caries-affected dentin over 2-year aging in artificial saliva and under simulated intrapulpal pressure. *Operative Dentistry*. 2011;36(6):649-60.
54. Carrilho MR, Geraldeli S, Tay F, de Goes MF, Carvalho RM, Tjaderhane L, et al. In vivo preservation of the hybrid layer by chlorhexidine. *Journal of Dental Research*. 2007;86(6):529-33.
55. Zhou J, Tan J, Chen L, Li D, Tan Y. The incorporation of chlorhexidine in a two-step self-etching adhesive preserves dentin bond in vitro. *Journal of Dentistry*. 2009;37(10):807-12.
56. Leitune VC, Portella FF, Bohn PV, Collares FM, Samuel SM. Influence of chlorhexidine application on longitudinal adhesive bond strength in deciduous teeth. *Brazilian Oral Research*. 2011;25(5):388-92.
57. Breschi L, Cammelli F, Visintini E, Mazzoni A, Vita F, Carrilho M, et al. Influence of chlorhexidine concentration on the durability of etch-and-rinse dentin bonds: a 12-month in vitro study. *The Journal of Adhesive Dentistry*. 2009;11(3):191-8.
58. Loguercio AD, Stanislawczuk R, Polli LG, Costa JA, Michel MD, Reis A. Influence of chlorhexidine digluconate concentration and application time on resin-dentin bond strength durability. *European Journal of Oral Sciences*. 2009;117(5):587-96.

59. Stape TH, Menezes Mde S, Barreto Bde C, Naves LZ, Aguiar FH, Quagliatto PS, et al. Influence of chlorhexidine on dentin adhesive interface micromorphology and nanoleakage expression of resin cements. *Microscopy Research and Technique*. 2013;76(8):788-94.
60. Stape TH, Menezes MS, Barreto BC, Aguiar FH, Martins LR, Quagliatto PS. Influence of matrix metalloproteinase synthetic inhibitors on dentin microtensile bond strength of resin cements. *Operative Dentistry*. 2012;37(4):386-96.
61. De Munck J, Van den Steen PE, Mine A, Van Landuyt KL, Poitevin A, Opdenakker G, et al. Inhibition of enzymatic degradation of adhesive-dentin interfaces. *Journal of Dental Research*. 2009;88(12):1101-6.
62. Lafuente D. SEM analysis of hybrid layer and bonding interface after chlorhexidine use. *Operative Dentistry*. 2012;37(2):172-80.
63. Carrilho MR, Carvalho RM, Sousa EN, Nicolau J, Breschi L, Mazzoni A, et al. Substantivity of chlorhexidine to human dentin. *Dental Materials*. 2010;26(8):779-85.
64. Lessa FC, Nogueira I, Huck C, Hebling J, Costa CA. Transdentinal cytotoxic effects of different concentrations of chlorhexidine gel applied on acid-conditioned dentin substrate. *Journal of Biomedical Materials Research Part B, Applied Biomaterials*. 2010;92(1):40-7.
65. Mazzoni A, Pashley DH, Nishitani Y, Breschi L, Mannello F, Tjaderhane L, et al. Reactivation of inactivated endogenous proteolytic activities in phosphoric acid-etched dentine by etch-and-rinse adhesives. *Biomaterials*. 2006;27(25):4470-6.

66. Nishitani Y, Yoshiyama M, Wadgaonkar B, Breschi L, Mannello F, Mazzoni A, et al. Activation of gelatinolytic/collagenolytic activity in dentin by self-etching adhesives. *European Journal of Oral Sciences*. 2006;114(2):160-6.
67. Moon PC, Weaver J, Brooks CN. Review of matrix metalloproteinases' effect on the hybrid dentin bond layer stability and chlorhexidine clinical use to prevent bond failure. *The Open Dentistry Journal*. 2010;4:147-52.
68. Chaussain-Miller C, Fioretti F, Goldberg M, Menashi S. The role of matrix metalloproteinases (MMPs) in human caries. *Journal of Dental Research*. 2006;85(1):22-32.
69. Hannas AR, Pereira JC, Granjeiro JM, Tjaderhane L. The role of matrix metalloproteinases in the oral environment. *Acta Odontologica Scandinavica*. 2007;65(1):1-13.
70. Gendron R, Grenier D, Sorsa T, Mayrand D. Inhibition of the activities of matrix metalloproteinases 2, 8, and 9 by chlorhexidine. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*. 1999;6(3):437-9.
71. Chang YC, Huang FM, Tai KW, Chou MY. The effect of sodium hypochlorite and chlorhexidine on cultured human periodontal ligament cells. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*. 2001;92(4):446-50.
72. Scaffa PM, Vidal CM, Barros N, Gesteira TF, Carmona AK, Breschi L, et al. Chlorhexidine inhibits the activity of dental cysteine cathepsins. *Journal of Dental Research*. 2012;91(4):420-5.

73. Yiu CK, Hiraishi N, Tay FR, King NM. Effect of chlorhexidine incorporation into dental adhesive resin on durability of resin-dentin bond. *The Journal of Adhesive Dentistry*. 2012;14(4):355-62.
74. Murthy BS, Manjula K, George JV, Shruthi N. Evaluation of effect of three different dental unit waterline antimicrobials on the shear bond strength to dentin - An ex vivo study. *Journal of Conservative Dentistry*. 2012;15(3):289-92.
75. Arias VG. Determinação do número de dentes, palitos e influência da localização dos palitos na dentina para o ensaio de microtração. Piracicaba: Universidade Estadual de Campinas; 2007.
76. Pashley DH, Tay FR, Imazato S. How to increase the durability of resin-dentin bonds. *Compendium of Continuing Education in Dentistry*. 2011;32(7):60-4, 6.
77. Eckert GJ, Platt JA. A statistical evaluation of microtensile bond strength methodology for dental adhesives. *Dental Materials*. 2007;23(3):385-91.
78. De Munck J, Van Meerbeek B, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Suzuki K, et al. Four-year water degradation of total-etch adhesives bonded to dentin. *Journal of Dental Research*. 2003;82(2):136-40.
79. Van Landuyt KL, Snauwaert J, De Munck J, Peumans M, Yoshida Y, Poitevin A, et al. Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. *Biomaterials*. 2007;28(26):3757-85.
80. Ozer F, Blatz MB. Self-etch and etch-and-rinse adhesive systems in clinical dentistry. *Compendium of Continuing Education in Dentistry*. 2013;34(1):12-4, 6, 8; quiz 20, 30.

81. Mazzoni A, Tjaderhane L, Checchi V, Di Lenarda R, Salo T, Tay FR, et al. Role of dentin MMPs in caries progression and bond stability. *Journal of Dental Research*. 2015;94(2):241-51.

82. van Strijp AJP, Jansen DC, DeGroot J, ten Cate JM, Everts V. Host-Derived Proteinases and Degradation of Dentine Collagen in situ. *Caries Research*. 2003;37(1):58-65.

APÊNDICE 1 – TERMO DE DOAÇÃO DE DENTES HUMANOS**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
Faculdade de Odontologia*****Termo de Doação de Dente Permanente***

Eu, _____, natural
de _____, residente à
_____, telefone
_____, portador do RG nº _____ aceito doar o
dente _____, para a execução do projeto de pesquisa
intitulado “Avaliação qualitativa e quantitativa das interfaces adesivas de união em tecido
dentinário hígido utilizando solução de clorexidina como irrigante: ensaio *in vitro*”, sob
responsabilidade da professora Maria Carolina Guilherme Erhardt.

Estou ciente de que o dente doado será utilizado especificamente para este fim
e de que este dente foi extraído por indicação terapêutica outra que não a execução
da presente pesquisa.

Porto Alegre, ____ de _____ de 201__

Assinatura

APÊNDICE 2 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

“AVALIAÇÃO QUALITATIVA E QUANTITATIVA DAS INTERFACES ADESIVAS DE UNIÃO EM TECIDO DENTINÁRIO HÍGIDO UTILIZANDO SOLUÇÃO DE CLOREXIDINA COMO IRRIGANTE: ENSAIO *IN VITRO*”

Responsável pela pesquisa: Professora Doutora Maria Carolina Guilherme Erhardt.
“Universidade Federal do Rio Grande do Sul”

Este documento que você está lendo é chamado de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Ele contém explicações sobre o estudo que você está sendo convidado a participar. Antes de decidir se deseja participar (de livre e espontânea vontade) você deverá ler e compreender todo o conteúdo. Ao final, caso decida participar, você será solicitado a assiná-lo e receberá uma cópia do mesmo. Antes de assinar faça perguntas sobre tudo o que não tiver entendido bem. A equipe deste estudo responderá às suas perguntas a qualquer momento (antes, durante e após o estudo). Sua participação é voluntária, o que significa que você poderá desistir a qualquer momento, retirando seu consentimento, sem que isso lhe traga nenhum prejuízo ou penalidade, bastando para isso entrar em contato com um dos pesquisadores responsáveis.

Essa pesquisa procura avaliar métodos de tratamento de superfície que melhorem a qualidade da adesão entre tecido dentário e materiais restauradores. Caso decida aceitar o convite, o elemento dentário proveniente da exodontia a qual será submetido por motivos terapêuticos será doado aos pesquisadores mediante termo de doação de dentes permanentes que também será assinado pelo senhor/senhora.

Os riscos envolvidos com sua participação são: os riscos previamente informados pelo Cirurgião-Dentista que realizará o procedimento de exodontia. Assim sendo a participação como doador de dente para a pesquisa não acarretará em nenhum risco adicional ao senhor/senhora. Caso esse procedimento possa gerar algum tipo de constrangimento você não precisa realizá-lo.

Você terá os seguintes benefícios ao participar da pesquisa: por se tratar de um estudo *in vitro* não haverá benefícios diretos aos doadores dos dentes porém sua participação poderá ajudar no maior conhecimento sobre adesão aos tecidos dentários e no desenvolvimento de técnicas que aprimorem o tratamento restaurador dos elementos dentários.

Todas as informações obtidas serão sigilosas. O material com as suas informações (gravações, entrevistas, entre outras) ficará guardado em local seguro sob a responsabilidade dos pesquisadores com a garantia de manutenção do sigilo e confidencialidade e que será destruído após a pesquisa. A divulgação dos resultados será feita de forma a não identificar

os voluntários. Os resultados deste trabalho poderão ser apresentados em encontros ou revistas científicas, entretanto, ele mostrará apenas os resultados obtidos como um todo, sem revelar seu nome, instituição a qual pertence ou qualquer informação que esteja relacionada com sua privacidade.

Conforme previsto pelas normas brasileiras de pesquisa com a participação de seres humanos você não receberá nenhum tipo de compensação financeira pela sua participação neste estudo.

Você ficará com uma cópia deste Termo e toda a dúvida que você tiver a respeito desta pesquisa, poderá perguntar diretamente para Maria Carolina Guilherme Erhardt, telefone: 49429382. Endereço: Ramiro Barcelos 2492. E-mail: carolinabee@hotmail.com

Consentimento Livre e Esclarecido

Declaro que fui devidamente informado e esclarecido pelo pesquisador sobre a pesquisa _____ (Avaliação qualitativa e quantitativa das interfaces adesivas de união em tecido dentinário hígido utilizando solução de clorexidina como irrigante: ensaio *in vitro*), dos procedimentos nela envolvidos, assim como dos possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isso me traga prejuízo ou penalidade.

Nome do participante:

Assinatura do participante ou responsável:

Assinatura do pesquisador responsável

ANEXO 1 – PARECER CONSUBSTANCIADO COMPESQ



Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Faculdade de Odontologia

PARECER CONSUBSTÂNCIADO DA COMISSÃO DE PESQUISA

Parecer aprovado em reunião do dia 17 de abril de 2014

ATA nº 04/2014.

A Comissão de Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul após análise aprovou o projeto abaixo citado com o seguinte parecer:

O objetivo deste estudo será determinar a resistência de união promovida por sistemas adesivos convencionais, quando estes são aplicados sobre superfícies dentinárias hígidas que tiveram o ácido fosfórico previamente lavado com solução de clorexidina (através de solução irrigante presente no equipo odontológico). Duzentos e quarenta molares humanos hígidos serão selecionados e terão sua superfície oclusal planificada. Em seguida, os dentes serão aleatoriamente divididos em 30 grupos, com 8 espécimes cada, conforme: 1) aplicação dos tratamentos de superfície (lavagem do ácido com água destilada, lavagem do ácido com clorexidina 2% e lavagem do ácido com clorexidina 5%); 2) sistemas adesivos (Adper Scotchbond Multi-Usso Plus e Adper Single Bond 2); e 3) tempo de armazenagem (imediate, 6 meses e 1 ano). Os dentes serão restaurados com resina composta Filtek Z350 XT. Após 24 horas, os dentes serão afixados em uma cortadeira metalográfica e fatiados nos eixos x e y produzindo espécimes em forma de palitos com 1,0 mm² de área adesiva final. Em seguida, os espécimes serão afixados em dispositivo de microtração, para realização do teste a 0,5 mm/min. Após o teste, a área de adesão de cada palito será mensurada com paquímetro digital e o padrão de fratura será analisado em microscópio óptico. Os valores de resistência adesiva serão expressos em MPa. Um espécime por grupo experimental será seccionado em cortadeira metalográfica em fatias finas de 1mm de espessura, para avaliação do padrão de formação da camada híbrida em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). A análise da atividade das gelatinases presentes na dentina será feita por meio de ensaio de zimografia. Cento e sessenta dentes serão armazenados e envelhecidos a fim de determinar os efeitos da aplicação de clorexidina, previamente aos procedimentos adesivos ao longo do tempo. A análise estatística utilizar-se-á dos testes de análise de variância (ANOVA) e Tukey.

O projeto apresenta mérito científico e está aprovado na COMPESQ, devendo ser encaminhado ao Comitê de Ética em Pesquisa da UFRGS.

PROJETO: Nº 25872 - AVALIAÇÃO QUALITATIVA E QUANTITATIVA DAS INTERFACES ADESIVAS DE UNIÃO EM TECIDO DENTINÁRIO HÍGIDO UTILIZANDO SOLUÇÃO DE CLOREXIDINA COMO IRRIGANTE: ENSAIO IN VITRO.

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: MARIA CAROLINA GUILHERME ERHARDT

Porto Alegre, 17 de abril de 2014.

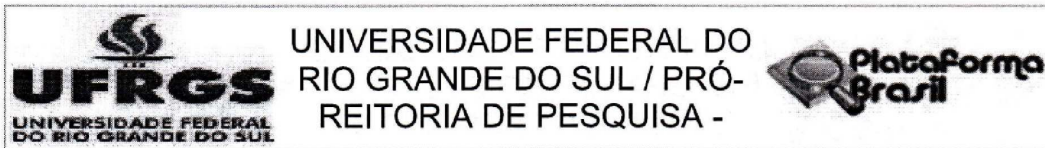

Prof. Dra. Juliana Jobim Jardim

Coordenadora da

Comissão de Pesquisa ODONTOLOGIA UFRGS

Juliana Jardim
Professora - UFRGS
CRO-RS 12929

ANEXO 2 – PARECER CONSUBSTANCIADO CEP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação qualitativa e quantitativa das interfaces adesivas de união em tecido dentinário hígido utilizando solução de clorexidina como irrigante: ensaio in vitro

Pesquisador: Maria Carolina Guilherme Erhardt

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 34145214.6.0000.5347

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Patrocinador Principal: Programa de Apoio a Planos de Reest e Exp.das Universidades Federais - REUNI

DADOS DO PARECER

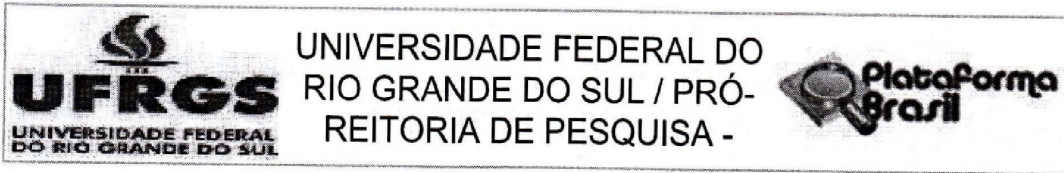
Número do Parecer: 908.971

Data da Relatoria: 26/11/2014

Apresentação do Projeto:

O objetivo deste estudo será determinar a resistência de união promovida por sistemas adesivos convencionais, quando estes são aplicados sobre superfícies dentinárias hígidas que tiveram o ácido fosfórico previamente lavado com solução de clorexidina (através de solução irrigante presente no equipo odontológico). Duzentos e dez molares humanos hígidos serão selecionados e terão sua superfície oclusal planificada. Em seguida, os dentes serão aleatoriamente divididos em 10 grupos, com 7 espécimes cada, conforme: 1) aplicação dos tratamentos de superfície (lavagem do ácido com água destilada, lavagem do ácido com clorexidina 2% e lavagem do ácido com clorexidina 5%); e 2) sistemas adesivos (Adper Scotchbond Multi-Usado Plus e Adper Single Bond 2). Os dentes serão restaurados com resina composta Filtek Z350 XT. Após 24 horas, os dentes serão afixados em uma cortadeira metalográfica e fatiados nos eixos x e y produzindo espécimes em forma de palitos com 1,0 mm² de área adesiva final. Em seguida, os espécimes serão afixados em dispositivo de microtração, para realização do teste a 0,5 mm/min. Após o teste, a área de adesão de cada palito será mensurada com paquímetro digital e o padrão de fratura será analisado em microscópio óptico. Os valores de resistência adesiva serão expressos em MPa. Um espécime por grupo experimental será

Endereço: Av. Paulo Gama, 110 - Sala 317 do Prédio Anexo 1 da Reitoria - Campus Centro
Bairro: Farroupilha **CEP:** 90.040-060
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3308-3738 **Fax:** (51)3308-4085 **E-mail:** etica@propesq.ufrgs.br



Continuação do Parecer: 908.971

seccionado em cortadeira metalográfica em fatias finas de 1mm de espessura, para avaliação do padrão de formação da camada híbrida em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Cento e quarenta dentes serão armazenados e envelhecidos a fim de determinar os efeitos da aplicação de clorexidina, previamente aos procedimentos adesivos ao longo do tempo. A análise estatística utilizar-se-á dos testes estatísticos não paramétricos de Kruskal-Wallis e Dunn. A meta do estudo é avaliar se a utilização da clorexidina diluída na água de irrigação do equipo pode ser um efetivo agente inibidor das metaloproteinases/MMPs, determinando um novo método de tratamento à dentina que possa ajudar a prolongar a longevidade das interfaces de união.

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo deste estudo será determinar a resistência de união promovida por sistemas adesivos convencionais, quando estes são aplicados sobre superfícies dentinárias hígidas que tiveram o ácido fosfórico previamente lavado com solução de clorexidina (através de solução irrigante presente no equipo odontológico).

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos e benefícios estão explicitados de forma clara no texto do projeto e do TCLE.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O estudo possui aprovação da Compesq Odontologia, cronograma e orçamento em conformidade.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

São apresentadas cartas de concordância dos laboratórios onde será desenvolvido o estudo. O cálculo do tamanho de amostra foi apresentado pelo pesquisador. Serão utilizados 240 molares humanos doados pelos pacientes. Foi removido o termo de doação de dentes feita pelo cirurgião-dentista e sua menção no texto. O cronograma está adequado.

Recomendações:

O projeto está em condições de aprovação.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Pela aprovação.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Av. Paulo Gama, 110 - Sala 317 do Prédio Anexo 1 da Reitoria - Campus Centro
Bairro: Farroupilha **CEP:** 90.040-060
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3308-3738 **Fax:** (51)3308-4085 **E-mail:** etica@propesq.ufrgs.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DO
RIO GRANDE DO SUL / PRÓ-
REITORIA DE PESQUISA -

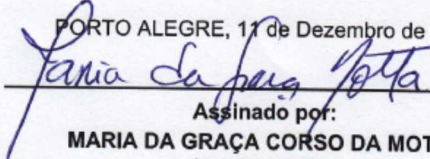


Continuação do Parecer: 908.971

Considerações Finais a critério do CEP:

Aprovado.

PORTO ALEGRE, 11 de Dezembro de 2014


Assinado por:
MARIA DA GRAÇA CORSO DA MOTTA
(Coordenador)

Endereço: Av. Paulo Gama, 110 - Sala 317 do Prédio Anexo 1 da Reitoria - Campus Centro
Bairro: Farroupilha CEP: 90.040-060
UF: RS Município: PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3308-3738 Fax: (51)3308-4085 E-mail: etica@propesq.ufrgs.br