

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM ODONTOLOGIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: DENTÍSTICA RESTAURADORA**

JULLIAN JOSNEI DE SOUZA

**DIFERENÇA NO PADRÃO DE DESMINERALIZAÇÃO DA DENTINA USANDO
DIFERENTES PROTOCOLOS DE APLICAÇÃO DE ÁCIDO FOSFÓRICO**

**PONTA GROSSA
2020**

JULLIAN JOSNEI DE SOUZA

**DIFERENÇA NO PADRÃO DE DESMINERALIZAÇÃO DA DENTINA USANDO
DIFERENTES PROTOCOLOS DE APLICAÇÃO DE ÁCIDO FOSFÓRICO**

Tese de Defesa apresentada como requisito para a obtenção do título de Doutor em Odontologia – Área de Concentração Dentística Restauradora, Linha de Pesquisa em Propriedades Físico-Químicas e Biológicas de Materiais Dentários.

Orientador: Prof. Dr. Joao Carlos Gomes
Co-Orientador: Prof. Dr. Alessandro Dourado Loguécio

**PONTA GROSSA
2020**

S729 Souza, JullianJosneide
Diferença no padrão de desmineralização da dentina usando diferentes protocolos de aplicação de ácido fosfórico / JullianJosnei de Souza. Ponta Grossa, 2020.
79 f.

Tese (Doutorado em Odontologia - Área de Concentração: Dentística Restauradora), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientador: Prof. Dr. João Carlos Gomes. Coorientador: Prof. Dr. Alessandro DouradoLoguercio.

1. Ataque ácido dentário. 2. Dentina. 3. Desmineralização dentária. I. Gomes, João Carlos. II. Loguercio, Alessandro Dourado. III. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Dentística Restauradora. IV.T.

CDD: 617.6

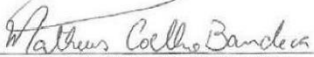
JULLIAN JOSNEI DE SOUZA

**DIFERENÇA NO PADRÃO DE DESMINERALIZAÇÃO DA DENTINA
USANDO DIFERENTES PROTOCOLOS DE APLICAÇÃO DE ÁCIDO
FOSFÓRICO**

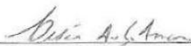
Tese de Defesa apresentada ao Programa de Pós-graduação *Stricto sensu* em Odontologia da Universidade Estadual de Ponta Grossa, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Odontologia, área de concentração em Dentística Restauradora, Linha de Pesquisa em Propriedades Físico-Químicas e Biológicas de Materiais.




Prof. Dr. João Carlos Gomes
Universidade Estadual de Ponta Grossa



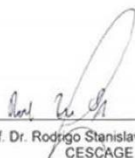
Prof. Dr. Matheus Coelho Bandeira
Universidade CEUMA



Prof. Dr. Cesar Augusto Galvão Arrais
Universidade Estadual de Ponta Grossa



Prof. Dr. Ana Claudia Rodrigues Chibinski
Universidade Estadual de Ponta Grossa



Prof. Dr. Rodrigo Stanislawczuk Grande
CESCAGE

**PONTA GROSSA
2020**

Dedico esse trabalho a minha família, a qual foi fundamental em toda minha trajetória de estudos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a **Deus** primeiramente por tudo tenho e sou. Sou grato pela interseção de Nossa Senhora, mãezinha querida. Também agradeço a toda milícia celeste, em especial: São José e Santo Expedito, São Bento, São Miguel Arcanjo, Anjo da Guarda e Santa Rita de Cássia.

Meus sinceros agradecimentos aos meus pais e irmãos por sempre acreditarem que eu seria capaz, agradeço a minha namorada Victoria, também fundamental nessa jornada.

E por fim, não menos importante, agradeço especialmente a Universidade Estadual de Ponta Grossa na pessoa do professor Dr. João Carlos Gomes e a professora Dra. Osnara Maria Mongruel Gomes pela oportunidade e pela confiança ao me abrirem as portas. Também sou grato ao Professor Dr. Alessandro D. Loguercio, o qual tenho maior respeito por ter me orientado muitas vezes nessa caminhada e continua sendo muito importante na minha vida acadêmica, meu eterno agradecimento a todos vocês.

Agradeço também a CAPES pela concessão de uma bolsa de estudos durante o curso e pelo incentivo a pesquisa.

DADOS CURRICULARES

Jullian Josnei de Souza

Nascimento:	02/01/1991 - Ponta Grossa, PR – Brasil
Filiação:	Mãe – Bernadete Caiuta de Souza Pai – Josnei de Souza
2010 – 2014	Curso de Graduação em Odontologia Universidade Estadual de Ponta Grossa – (UEPG). Ponta Grossa – PR, Brasil.
2016 – 2018	Curso de Pós-Graduação em Odontologia. Área de Concentração em Dentística Restauradora. Nível Mestrado. Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG). Ponta Grossa – PR, Brasil.
2018 – 2020	Em andamento– Curso de Pós-Graduação em Odontologia. Área de Concentração em Dentística Restauradora. Nível Doutorado. Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG). Ponta Grossa – PR, Brasil.

RESUMO

SOUZA, JJ. **Diferença no padrão de desmineralização da dentina usando diferentes protocolos de aplicação de ácido fosfórico.** [Tese de Defesa de Doutorado em Dentística Restauradora – Universidade Estadual de Ponta Grossa;2020].

O objetivo deste estudo foi analisar as diferenças no padrão de desmineralização do substrato dentinário, observando diferenças morfológicas e o efeito do tempo de condicionamento quando utilizado diferentes marcas comerciais de ácido fosfórico, bem como a sua influência na adesão à dentina. Foram selecionados 200 molares humanos isentos de cárie dental, divididos de acordo com os testes a serem realizados. Foram usados os ácidos: UD-Ultra-etch [Ultradent]; 3M-Scotchbond™ Universal Etchant [3M], DP-Condicionador Dental Gel [Dentsply-Sirona] e IV-Total Etch [Ivoclar Vivadent] nos tempos de aplicação do ácido fosfórico (3 e 15 segundos) para o teste de profundidade de desmineralização pela visão sagital através da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Para os testes: avaliação oclusal pela densidade tubular, avaliação da topografia pela rugosidade 3D através da Perfilometria Óptica, mapeamento químico por meio da Espectroscopia micro-Raman, análise da concentração de Ca por meio de Espectroscopia por Dispersão de Energia (EDS), foram utilizados os tempos 0, 3 e 15 segundos de condicionamento. Nos testes de resistência de união à dentina por microtração (RU) e avaliação da Nanoinfiltração (NI), o adesivo e a resina utilizados foram Peak Universal Bond [Ultradent] e Forma Zirconia Nano-Hybrid Composite [Ultradent], respectivamente. Também foi realizado a mensuração do pH e a capacidade de tamponamento dos ácidos através de soluções com água deionizada na proporção 1:2 (por peso). Foi aplicado o teste Two-way ANOVA e post-hoc Tukey ($\alpha=0,05$) para a profundidade de desmineralização e densidade tubular, para as demais análises quantitativas utilizamos One-way ANOVA. Os resultados mostram que para todos os ácidos foi encontrado uma menor profundidade de desmineralização condicionando-se por menos tempo. Para os testes da avaliação oclusal pela densidade tubular, rugosidade, e mapeamento químico, os dados mostram uma menor taxa de desmineralização em 3 s para todos os grupos, exceto para o ácido UD, o qual apresentou comportamento semelhante com 3 e 15 s. Numa análise entre os ácidos, foi visto que UD e 3M apresentaram um potencial menos agressivo, impactando positivamente nos valores de RU e NI; entretanto somente o ácido UD não apresentou diferença nos tempos estudados (3 e 15 s). Não foi encontrado diferença entre os ácidos para a quantidade de Ca; porém, houve diferença para todos os grupos entre os tempos 0, 3 e 15 s. Na avaliação do pH da solução dos ácidos foi encontrado um menor valor para o ácido IV. Conclui-se que o ácido UD promove desmineralização menos acentuada evitando uma sobre-exposição das fibras de colágeno. O condicionamento na dentina por 3 segundos pode levar a alterações significativas em sua estrutura e ser suficiente para permitir a penetração dos monômeros adesivos na trama de colágeno desmineralizado.

Palavras-chave: ataque ácido dentário, dentina, desmineralização dentária.

ABSTRACT

SOUZA, JJ. **Difference in demineralization pattern of dentin using different protocols for application of phosphoric acid.** [Tese de Defesa de Doutorado em Dentística Restauradora – Universidade Estadual de Ponta Grossa;2020].

The aim of this study was to analyze the differences in the demineralization pattern of the dentin substrate, observing morphological differences and the effect of the etching time when using different commercial brands of phosphoric acid, as well as its influence on dentin adhesion. 200 human molars free of dental caries were selected, divided according to the tests to be performed. The acids used were: UD-Ultra-etch [Ultradent]; 3M-Scotchbond™ Universal Etchant [3M], DP-Dental Gel Conditioner [Dentsply-Sirona] and IV-Total Etch [Ivoclar Vivadent] at phosphoric acid application times (3 and 15 seconds) for the demineralization depth test by lateral view through Scanning Electron Microscopy (SEM). For the tests: occlusal assessment by tubular density, topography assessment by 3D roughness using optical profileometry, chemical mapping using micro-Raman spectroscopy, analysis of Ca concentration using energy dispersion spectroscopy (EDS), were used conditioning times 0, 3 and 15 seconds. In microtensile bond strength tests (μ TBS) and Nanoleakage (NL) tests, the adhesive and resin used were Peak Universal Bond [Ultradent] and Forma Zirconia Nano-Hybrid Composite [Ultradent], respectively. The pH measurement and the buffering capacity of the acids were also carried out through solutions with deionized water in the proportion 1: 2 (by weight). Two-way ANOVA and post-hoc Tukey test ($\alpha = 0.05$) were applied for the depth of demineralization and tubular density, for the other quantitative analyzes we used One-way ANOVA. The results show that for all acids, a lower depth of demineralization was found, etching for less time. For the tests of occlusal evaluation by tubular density, roughness, and chemical mapping, the data show a lower rate of demineralization in 3 s for all groups, except for UD acid, which presented a similar behavior with 3 and 15 s. In an analysis between acids, it was seen that UD and 3M showed a less aggressive potential, positively impacting the values of μ TBS and NL; however, only UD acid did not show any difference in the studied times (3 and 15 s). No difference was found between acids for the amount of Ca; however, there was a difference for all groups between times 0, 3 and 15 s. In evaluating the pH of the acid solution, a lower value for IV acid was found. It is concluded that UD acid promotes less accentuated demineralization, avoiding an overexposure of collagen fibers. Etched dentin for 3 seconds can lead to significant changes in its structure and be sufficient to allow the penetration of adhesive monomers into the demineralized collagen web.

Key-words: Dental Acid Etching, Dentin, Tooth Demineralization

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Desenho do estudo.....	27
Figura 2	Esquema do padrão de confecção dos corpos de prova.....	31
Figura 3	A: Filtro Gaussiano aplicado para análise de superfície, B: Filtro de rugosidade aplicado a análise da superfície.....	34
Figura 4	Esquema da divisão da fatia de dentina para análise perfilométrica, 3 e 15 segundos de condicionamento com os diferentes ácidos, UD (ácido fosfórico Ultra-etch -Ultradent); 3M (ácido fosfórico Scotchbond™ Universal Etchant -3M); IV (ácido fosfórico Total Etch – Ivoclar Vivadent); DP(ácido fosfórico Condicionador Dental Gel Dentply Sirona).....	35
Figura 5	Ilustração adaptada do modo de ação da Espectroscopia por Dispersão de Energia (EDS) (GOLDSTEIN, 2003).....	36
Figura 6	Curvas de titulação para os ácidos fosfóricos.....	41
Figura 7	Análise de comprimento da profundidade de desmineralização pelo software ImageJ, mostrando duas imagens e suas mensurações em µm pelo formato de funil da embocadura dos túbulos dentinários após condicionamento ácido (PERDIGAO; LAMBRECHTS; VAN MEERBEEK; TOME et al., 1996).....	42
Figura 8	A= Superfície não condicionada, B= Condicionada por 3s com ácido UD a seta indica a precipitação dos minerais em torno os túbulos dentinários, C= Condicionada por 15s com ácido UD a seta indica a presença de fibras de colágeno na dentina peritubular, mostrando não haver diferença entre os tempos 3 e 15s para o ácido UD.....	44
Figura 9	A= Superfície não condicionada, B= Condicionada por 3s com ácido 3M a seta indica a precipitação dos minerais em torno os túbulos dentinários, C= Condicionada por 15s com ácido 3M a seta indica a presença de fibras de colágeno na dentina peritubular porém menos que o ácido UD.....	44
Figura 10	A= Superfície não condicionada, B= Condicionada por 3s com ácido DP a seta indica a precipitação dos minerais em torno os túbulos dentinários, C= Condicionada por 15s com ácido DP a seta indica o maior diâmetro dos túbulos dentinários.....	45

Figura 11	A= Superfície não condicionada, B= Condicionada por 3s com ácido IV a seta indica a precipitação dos minerais em torno os túbulos dentinários, C= Condicionada por 15s com ácido IV a seta indica o maior diâmetro dos túbulos dentinários.....	45
Figura 12	Imagem mostrando o esquema de avaliação da Rugosidade média 3D das superfícies. A = superfície dentinária sem condicionamento; B = superfície dentinária após 3s de condicionamento com ácido fosfórico e C = superfície dentinária após 15s de condicionamento.....	48
Figura 13	Espectros representando as diferentes intensidades do pico v1 PO4-3 (fosfato) em até 4 µm de profundidade para 3s do ácido Scotchbond™ Universal Etchant -3M.....	50
Figura 14	Espectros representando as diferentes intensidades do pico v1 PO4-3 (fosfato) em até 4 µm de profundidade para 15s do ácido Scotchbond™ Universal Etchant -3M.....	51
Figura 15	Espectros representando as diferentes intensidades do pico v1 PO4-3 (fosfato) em até 4 µm de profundidade para 3s do ácido Ultra-etch - Ultradent.....	52
Figura 16	Espectros representando as diferentes intensidades do pico v1 PO4-3 (fosfato) em até 4 µm de profundidade para 15s do ácido Ultra-etch - Ultradent.....	53
Figura 17	Espectros representando as diferentes intensidades do pico v1 PO4-3 (fosfato) em até 4 µm de profundidade para 3s do ácido Condicionador Dental Gel Dentsply-Sirona.....	54
Figura 18	Espectros representando as diferentes intensidades do pico v1 PO4-3 (fosfato) em até 4 µm de profundidade para 15s do ácido Condicionador Dental Gel Dentsply-Sirona.....	55
Figura 19	Espectros representando as diferentes intensidades do pico v1 PO4-3 (fosfato) em até 4 µm de profundidade para 3s do ácido Total Etch – Ivoclar Vivadent.....	56
Figura 20	Espectros representando as diferentes intensidades do pico v1 PO4-3 (fosfato) em até 4 µm de profundidade para 15s do ácido Total Etch – Ivoclar Vivadent.....	57

Figura 21	Imagens obtidas através do MEV para análise de nanoinfiltração com o ácido fosfórico Ultra-etch -Ultradent. Condicionada com 3 s e condicionada com 15 s. RC = resina composta, CA = camada adesiva, De dentina, a disposição do nitrato de prata está indicado pelas setas.....	60
Figura 22	Imagens obtidas através do MEV para análise de nanoinfiltração com o ácido fosfórico Scotchbond™ Universal Etchant -3M. Condicionada com 3 s e condicionada com 15 s. RC = resina composta, CA = camada adesiva, De = dentina, a disposição do nitrato de prata está indicado pelas setas.....	60
Figura 23	Imagens obtidas através do MEV para análise de nanoinfiltração com o ácido fosfórico Condicionador Dental Gel Dentsply-Sirona. Condicionada com 3 s, e condicionada com 15 s. RC = resina composta, CA = camada adesiva, De = dentina, a disposição do nitrato de prata está indicado pelas setas.....	61
Figura 24	Imagens obtidas através do MEV para análise de nanoinfiltração com o ácido fosfórico Total Etch – Ivoclar Vivadent. Condicionada com 3 s e condicionada com 15 s. RC = resina composta, CA = camada adesiva, De = dentina, a disposição do nitrato de prata está indicado pelas setas.....	61
Figura 25	Médias e desvios-padrões do conteúdo de Cálcio encontrado nas superfícies após diferentes estratégias de condicionamento ácido (3 e 15 segundos). UD (Ultra-etch -Ultradent); 3M (Scotchbond™ Universal Etchant -3M); IV (Total Etch – Ivoclar Vivadent); DP (Condicionador Dental Gel Dentsply-Sirona).....	62
Figura 26	Análise ao EDS com o gráfico mostrando a concentração de Cálcio (Ca) e Fósforo (P); A = da dentina sem condicionamento; B = após 3 s de condicionamento; C = após 15s de condicionamento.....	63
Figura 27	Imagens representando como foi realizado o mapeamento das superfícies condicionadas para análise de EDS. Os pontos rosa indicam Cálcio (Ca) e os pontos verdes indicam Fósforo (P).....	63

Figura 28 Imagem mostrando a diferença na distribuição de Cálcio (Ca) em rosa e Fósforo (P) em verde. A = concentração de Ca sem condicionamento; B = concentração de Ca após 3s de condicionamento; C = concentração de Ca após 15s de condicionamento; D concentração de P sem condicionamento; E = concentração de P após 3s de condicionamento e F = concentração de P após 15s de condicionamento.....

Lista de Tabelas

Tabela 1	Características dos ácidos utilizados segundo seus fabricantes.....	30
Tabela 2	Valores de pH (média e desvio padrão) das soluções dos ácidos.....	40
Tabela 3	Profundidades de desmineralização da dentina (média e desvio-padrão em μm) das diferentes estratégias de condicionamento utilizados. UD (Ultra-etch -Ultradent); 3M (Scotchbond™ Universal Etchant -3M); IV (Total Etch – Ivoclar Vivadent); DP (Condicionador Dental Gel Dentsply-Sirona)(*).....	42
Tabela 4	Médias e desvios-padrão da densidade dos túbulos dentinários por milímetro quadrado (túbulos / mm^2) obtidos em cada condição experimental (N C = Não condicionado) (*)......	43
Tabela 5	Valores de rugosidade 3D Sa (μm) das diferentes estratégias de condicionamento ácido. UD (Ultra-etch -Ultradent); 3M (Scotchbond™ Universal Etchant -3M); IV (Total Etch – Ivoclar Vivadent); DP (Condicionador Dental Gel Dentsply-Sirona). Letras maiúsculas mostram diferenças estatísticas entre colunas (entre os tempos) e letras minúsculas entre as linhas (entre os ácidos).....	47
Tabela 6	Valores de resistência de união (média e desvio-padrão) em μTBS das diferentes estratégias de condicionamento ácido (3 e 15 segundos) no tempo imediato. Letras maiúsculas dentro de cada coluna e letras minúsculas dentro de cada linha indicam a diferença estatística. UD (Ultra-etch -Ultradent); 3M (Scotchbond™ Universal Etchant -3M); IV (Total Etch – Ivoclar Vivadent); DP (Condicionador Dental Gel Dentsply-Sirona).....	58
Tabela 7	Resultado dos tipos de fratura encontradas após 3 segundos. A (adesiva), CR (coesiva em resina) e CD (coesiva em dentina) das diferentes estratégias de condicionamento ácido UD (Ultra-etch -Ultradent); 3M (Scotchbond™ Universal Etchant -3M); IV (Total Etch – Ivoclar Vivadent); DP (Condicionador Dental Gel Dentsply-Sirona).....	58
Tabela 8	Resultado dos tipos de fratura encontradas após 15 segundos. A (adesiva), CR (coesiva em resina) e CD (coesiva em dentina) das diferentes estratégias de condicionamento ácido. UD (Ultra-etch -Ultradent); 3M (Scotchbond™ Universal Etchant -3M); IV (Total Etch – Ivoclar Vivadent); DP (Condicionador Dental Gel Dentsply-Sirona).....	59

Tabela 9 Valores de médias e desvio-padrão da nanoinfiltração obtidos das diferentes estratégias de condicionamento ácido (3 e 15 segundos). Letras maiúsculas dentro de cada coluna e letras minúsculas dentro de cada linha indicam a diferença estatística. UD (Ultra-etch -Ultradent); 3M (Scotchbond™ Universal Etchant -3M); IV (Total Etch – Ivoclar Vivadent); DP (Condicionador Dental Gel Dentsply-Sirona).....

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

EUA	Estados Unidos da América
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
NI	Nanoinfiltração
EDS	Espectroscopia de Energia Dispersiva
10-MDP	10-metacriloxi-decil-dihidrogenofosfato
SE	Self etch
TE	Total etch
BDH	Banco de dentes humanos
UEPG	Universidade Estadual de Ponta Grossa
CEP	Cômite de Ética e Pesquisa
UD	Ácido fosfórico Ultra-etch -Ultradent
3M	Ácido fosfórico Scotchbond™ Universal Etchant -3M
DP	Ácido fosfórico Condicionador Dental Gel- Dentsply
IV	Ácido fosfórico Total Etch – Ivoclar Vivadent
As	Rugosidade 3D média
Bis-GMA	Bisfenol-A Diglicidil Dimetacrilato
TEGDMA	Trietileno Glicol Dimetacrilato
Bis-EMA	Bisfenol-A Diglicidil Dimetacrilato Etoxilado
UDMA	Uretano Dimetacrilato

LISTA DE SÍMBOLOS

mL	Mililitros
M	Molar
G	Gramas
°	Graus
NaOH	Hidróxido de Sódio
HCl	Ácido clorídrico
S	Segundos
H	Horas
Min	Minutos
Mm	Micrômetro
Si ₃ N ₄	Nitreto de Silício
Kev	Quiloelétron-volt
Pa	Pascal
Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂	Hidroxiapatita dentinária
Ca	Cálcio
P	Fósforo
O	Oxigênio
H	Hidrogênio
F	Flúor
Cu	Cobre
Zn	Zinco
Fe	Ferro
pH	Potencial Hidrogeniônico

Sumário

1. INTRODUÇÃO	17
2. REVISÃO DE LITERATURA	19
3. PROPOSIÇÃO	25
3.1 Proposição Geral	25
3.2 Proposições Específicas	25
4. MATERIAL E MÉTODOS	26
4.1 Aspectos Éticos	26
4.2 Desenho do Estudo	26
4.3 Preparo das Amostras	28
4.3.1 Preparo das soluções	28
4.3.2 Preparo dos espécimes	28
4.3.3 Materiais utilizados	29
4.4 Mensuração do pH e Capacidade de Tamponamento dos Ácidos	31
4.5 Análise da Superfície Oclusal e Sagital	32
4.6 Avaliação da Rugosidade Superficial pela Perfilometria Óptica	33
4.7 Mapeamento Através da Espectroscopia Micro-Raman	35
4.8 Teor Residual de Cálcio (Ca) na Dentina Desmineralizada - EDX	35
4.9 Avaliação da Resistência de União à Dentina:	37
4.9.1 Seleção dos Dentes:	37
4.9.2 Preparo dos Dentes:	37
4.9.3 Procedimento Restaurador:	37
4.9.4 Teste de Resistência de União à Dentina por Microtração (μ TBS):	37
4.10 Avaliação da Infiltração por Nanoinfiltração (NI):	38
4.11 Análise Estatística	39
5. RESULTADOS	40
6. DISCUSSÃO	68
7. CONCLUSÃO	72
ANEXO A Parecer consubstanciado do CEP	78

1. INTRODUÇÃO

O condicionamento ácido na dentina tem muito a ser estudado, pois é um processo delicado e extremamente importante para o sucesso da adesão. Sabe-se que a *smear layer* não pode ser removida apenas por lavagem com água, portanto precisa da dissolução através de um condicionamento(PUPPIN-RONTANI; TEIXEIRA; SINHORETI; SOBRINHO, 2010; VAN MEERBEEK; DE MUNCK; YOSHIDA; INOUE *et al.*, 2003). Na dentina o ataque ácido provoca desmineralização completa até alguns micrómetros superficiais na dentina intertubular, expondo a matriz de fibras de colágeno subjacente que é quase totalmente privada de hidroxiapatita(PASHLEY; TAY; BRESCHI; TJADERHANE *et al.*, 2011).

Como tal, o mecanismo principal de adesão à dentina utilizando adesivos *etch-and-rinse*, é baseado na difusão e depende da hibridização tão completa quanto possível da resina nos túbulos dentinários abertos e na matriz de colágeno exposta, formando a camada híbrida(VAN MEERBEEK; DE MUNCK; YOSHIDA; INOUE *et al.*, 2003; VAN MEERBEEK; PEUMANS; POITEVIN; MINE *et al.*, 2010). Infelizmente, não se consegue uma penetração em toda a zona que foi desmineralizada deixando assim algumas fibras colágenas expostas na base da camada híbrida(PASHLEY; TAY; BRESCHI; TJADERHANE *et al.*, 2011), essa camada de fibrilas colágenas desprotegidas corre o risco de ser hidrolisada ou degradada por enzimas endógenas da dentina, reduzindo assim significativamente a resistência de união(LIU; TJÄDERHANE; BRESCHI; MAZZONI *et al.*, 2011).

Por muito tempo, o condicionamento ácido foi preconizado para que sua utilização fosse feita em 15 s na superfície dentinária, pois acreditava-se que é o tempo necessário para a remoção de quase todo o conteúdo mineral, exposição das fibrilas colágenas e facilidade na interação monômero-colágeno(PASHLEY; TAY; BRESCHI; TJADERHANE *et al.*, 2011); entretanto, diferentes tempos de condicionamento utilizando concentração semelhantes de ácido fosfórico podem gerar alterações morfológicas na superfície da dentina desmineralizada. O tempo de condicionamento prolongado causa alterações morfológicas na superfície dentinária e essas mudanças têm efeitos negativos no processo de hibridização da dentina(BRAJDIĆ; KRZNARIĆ; AZINOVIĆ; MACAN *et al.*, 2008; PERDIGÃO; LOPES, 2001).

Tem sido demonstrado também que concentrações de ácido fosfórico entre 30 e 40% são efetivas em produzir um substrato adequado para infiltração da resina adesiva e formação da camada híbrida(TARCIN; GUNDAY; OVECOGLU; TURKMEN *et al.*, 2009); desta maneira, deveria ter-se um padrão semelhante de ação entre ácidos de diferentes marcas comerciais com mesmo tempo e concentração, mas isso não é observado na literatura(HASHIMOTO; OHNO; KAGA; SANO *et al.*, 2002; WANG; SPENCER, 2004).

Devido a diversidade e particularidades de cada material, juntamente pelo fato de um ácido promover ação controlada de desmineralização(SYROU, 2008), o objetivo deste trabalho foi avaliar a diferença no padrão de desmineralização, a morfologia dentinária e a influência na resistência de união e microinfiltração marginal da dentina tratada com diferentes marcas comerciais e diferentes tempos de condicionamento de ácido fosfórico.

2. REVISÃO DE LITERATURA

- Condicionamento Dentinário

Buonocore quando propôs o condicionamento ácido do dente para aumentar a adesão de materiais restauradores se referia somente ao esmalte (BUONOCORE, 1955). A aplicação de ácido fosfórico em dentina só foi aceita posteriormente e apenas em 1982, com o estudo de Nakabayashi, discorrendo sobre a formação da camada híbrida, a qual era responsável por criar adesão a um substrato tão peculiar como a dentina (NAKABAYASHI; KOJIMA; MASUHARA, 1982). Desde o descobrimento da formação da camada híbrida que se sabe que esse é um passo bastante crítico na técnica restauradora.

O condicionamento ácido na dentina produz aberturas nos túbulos dentinários e isso resulta numa rede de fibras de colágeno separadas por microporos dentro da dentina intertubular. A maioria dos sistemas adesivos foram projetados para promover adesão da dentina através da interação de um monômero hidrofílico com um solvente orgânico com um substrato relativamente úmido, e assim acredita-se que a eficácia dos adesivos de dentina dependem da infiltração desses monômeros hidrofílicos de alta afinidade na rede de fibras de colágeno que compõem a estrutura da dentina condicionada por ácido (PERDIGÃO; LOPES, 2001).

Após condicionamento ácido, a *smear layer* é removida e a dentina superficial desmineralizada, permitindo a criação de uma camada híbrida bem impregnada (HANABUSA; MINE; KUBOKI; MOMOI *et al.*, 2012). Foi demonstrado que vários adesivos universais, utilizados em modo *etch-and-rinse* resultavam numa maior penetração da dentina, com formação de *resin tags* longos (até 50 μm) e camada híbrida mais espessa (2-4 μm) (WAGNER; WENDLER; PETSCHL; BELLI *et al.*, 2014).

- Características do Ácido Fosfórico

As concentrações comumente utilizadas de ácido fosfórico estão entre 30 e 40% e são eficazes em produzir um substrato adequado para infiltração da resina adesiva e formação da camada híbrida (TARCIN; GUNDAY; OVECOGLU; TURKMEN *et al.*, 2009).

Embora a concentração seja fundamental, existem outros fatores que são determinantes para a efetividade dos condicionadores, como por exemplo o pH que é influenciado pela concentração dos mesmos(MARSHALL; INAI; MAGIDI; BALOOCH *et al.*, 1997). A importância do pH em relação aos efeitos dos ácidos sobre as superfícies dentinárias tem sido elucidada em alguns aspectos, os níveis de condicionamento aumentam drasticamente quando o pH diminui.

Concentrações similares de ácido fosfóricos contendo diferentes espessantes resultam em diferentes profundidades de desmineralização, bem como em morfologia diferente de condicionamento da dentina(PERDIGÃO; MAY; WILDER; LOPES, 2000). Essa diferença de profundidade gera uma preocupação visto que a penetração incompleta desta rede de colágeno microporoso desmineralizado pode resultar em uma zona delicada dentro da camada híbrida e entre a camada híbrida e a dentina inalterada que poderia ser suscetível a degradação(SANO; SHONO; TAKATSU; HOSODA, 1994).

Outro fator importante relacionado ao ácidos é a sua viscosidade. Em relação a essa propriedade, os condicionadores ácidos apresentam-se geralmente na forma de gel, uma vez que a viscosidade proporciona melhor controle na área de aplicação pelo clínico, em virtude do reduzido escoamento.

A viscosidade do condicionador é fornecida pela adição de agentes espessantes, dentre eles sílica ou hidroxixelulose. A adição de sílica coloidal (5 ou 10%) ou esferas poliméricas tem sido indicada por esta não interferir na resistência de união(PERDIGAO; DENEHY; SWIFT, 1994; PERDIGÃO; MAY; WILDER; LOPES, 2000).

A sílica, usada como espessante, pode ficar acumulada na entrada dos túbulos dentinários, em razão da dificuldade em ser removida na lavagem, e interferir no procedimento adesivo(PERDIGAO; DENEHY; SWIFT, 1994). Entretanto, apesar de possíveis diferenças no agente espessante entre os condicionadores utilizados, qualquer discussão a respeito dessas características é imprecisa, uma vez que a composição destes é pobremente fornecida pelos fabricantes(PASSOS; SANTOS; RODRIGUES; GRIZA *et al.*, 2012).

A utilização da ponta da seringa aplicadora é fundamental para um efetivo condicionamento dentinário no tempo preconizado de 15s (WANG; SPENCER, 2004).

A pressão exercida pelo êmbolo da seringa contra a entrada, de menor área, da ponta aplicadora provoca uma redução da viscosidade do condicionador (efeito *shear thinning*)(WANG; SPENCER, 2004). Isso resultada em maior molhamento da dentina pelo condicionador e mais efetivo condicionamento.

- Tempos de condicionamento

Além da concentração, ph e viscosidade do condicionador, o tempo de condicionamento também é capaz de influenciar o padrão de desmineralização da dentina(PERDIGÃO; LOPES, 2001).

A capacidade de desmineralização causada pelo ácido fosfórico é afetada diretamente pelo tempo de condicionamento, e uma alternativa para manter os níveis de Cálcio dentro da camada híbrida, seria reduzir o tempo de aplicação do ácido, a fim de proporcionar novos métodos para melhorar a estabilidade da ligação entre resina e dentina dos adesivos universais, pois quanto menor a desmineralização da dentina, preserva-se a hidroxiapatita que será fortemente ligada aos cristais de Cálcio na interface da restauração(STAPE; WIK; MUTLUAY; AL-ANI *et al.*, 2018).

Alguns estudos testaram os resultados obtidos na dentina após a redução do tempo de condicionamento ácido. Um estudo realizado em 2013 utilizou ácido fosfórico à 35% e formou três grupos com tempos de condicionamento diferentes (3, 10 e 15 segundos). Seus resultados apresentaram que prolongar o tempo de condicionamento da dentina com o ácido fosfórico tem um impacto negativo na resistência de união. Outros estudos mostraram que um tempo prolongado de ataque ácido tende a formar uma camada híbrida mais espessa, reduzindo a força de adesão da dentina(GORACCI; RENGO; EUSEPI; JULOSKI *et al.*, 2013).Outros trabalhos mostraram que o condicionamento pela metade do tempo recomendado pelo fabricante forneceu maior força de adesão dentinária(OSORIO; AGUILERA; OTERO; ROMERO *et al.*, 2010; SARDELLA; DE CASTRO; SANABE; HEBLING, 2005).

Uma melhor interação do adesivo universal com a resina foi observado, quando o tempo de condicionamento ácido foi reduzido a 3 segundos; o mesmo estudo apontou que não houve diminuição no conteúdo de cálcio na dentina e a camada híbrida não apresentou diferenças quando comparada à uma dentina não condicionada(STAPE; WIK; MUTLUAY; AL-ANI *et al.*, 2018).

Outro estudo manteve passivamente a dentina em contato com o ácido durante 10 segundos e não observou nenhuma zona de interdifusão nos cortes corados com tricômico de Goldner. Durante os primeiros segundos de aplicação do ácido fosfórico, o produto penetrou rapidamente através dos túbulos dentinários e removeu o conteúdo mineral da dentina circundante peritubular e intertubular, se desfazendo assim, a necessidade de manter o ácido por mais de 10 segundos na dentina(SCHEFFEL; HUCK; SOARES; BASSO *et al.*, 2016).

Um estudo realizado em 2005, comparou as diferenças presentes na dentina de dentes permanentes e dentes decíduos e comprovou que o condicionamento deve se apresentar eficiente e não extenso, pois a desmineralização extensa da dentina intertubular colapsa as fibras de colágeno e os cristais de fosfato se precipitam, conseqüentemente uma camada protetora é formada, a qual não é completamente impregnada pelo adesivo e pelo monômero, afetando a eficácia da adesão(SARDELLA; DE CASTRO; SANABE; HEBLING, 2005).

- Adesão na Dentina

A completa infiltração da matriz de colágeno pela resina é impraticável, pelo que pode ficar uma área de dentina desmineralizada exposta na interface adesiva. Conseqüentemente, pode ocorrer sensibilidade pós-operatória e degradação da interface(MENA-SERRANO; KOSE; DE PAULA; TAY *et al.*, 2013).

O condicionamento dos tecidos dentários é um passo operatório importante em procedimentos clínicos adesivos. Embora determinados sistemas adesivos já promovam alguma adesão química, a retenção micromecânica continua a ser a responsável máxima pela união dente – restauração(SOBRAL V, 2014). A análise do padrão de condicionamento pode contribuir significativamente para compreender a eficácia dos sistemas adesivos existentes no mercado e servir como base de estudo para o desenvolvimento de novas estratégias. A interação dos agentes condicionadores é também diferente consoante as características do substrato onde é aplicado(SOBRAL V, 2014).

Sabendo-se que todo o processo de adesão na dentina é muito complexo, além da preocupação com os materiais utilizados, deve-se atentar criticamente ao substrato, usualmente é recomendado deixar a dentina húmida, porém esta é uma tarefa clinicamente difícil, pois depende dos solventes usados no adesivo e na interpretação do clínico das instruções do fabricante(MUÑOZ; LUQUE; HASS; REIS *et al.*, 2013). Pensa-se que a água deixada na superfície da dentina mantém a matriz de colágeno flexível e permeável à infiltração subsequente dos monômeros. Esta técnica garante uma difusão eficiente da resina se toda a água for eliminada e substituída por monômeros de resina durante a aplicação do primer. Caso contrário, a polimerização da resina na camada híbrida pode ser afetada ou, pelo menos, a água remanescente vai competir com a resina na dentina desmineralizada(YOSHIDA; INOUE, 2012).

Nos adesivos que utilizam água ou etanol como solvente pode ser seguida a técnica de “*dry bonding*”, em que se seca ligeiramente a dentina condicionada com um jato de ar(VAN MEERBEEK; DE MUNCK; YOSHIDA; INOUE *et al.*, 2003). A secagem da dentina com ar faz com que a matriz de colágeno fique sem suporte e por isso colapse, evitando que os monómeros do primer e adesivo infiltrem bem a superfície condicionada(YOSHIDA; INOUE, 2012), o que se traduz numa redução da força de adesão(MUÑOZ; LUQUE; HASS; REIS *et al.*, 2013).

Na literatura há artigos que têm criticamente avaliado o papel da camada rica em colágeno produzida por o condicionamento ácido da dentina(GWINNETT, 1992; 1994; SANO; SHONO; TAKATSU; HOSODA, 1994). Foi sugerido que os agentes de união na dentina não se difundem completamente através da rede de colágeno que permanece após o ácido condicionamento da dentina(SANO; SHONO; TAKATSU; HOSODA, 1994). Esse colágeno desprotegido pode produzir uma camada porosa fraca não suportada por hidroxiapatita ou encapsulado por resina.

Também é visto que a hidrólise subsequente dos peptídeos de colágeno expostos pode levar à degradação da ligação dentina-resina, resultando em menor força de união e aumento de microinfiltração(WAKABAYASHI; KONDOU; SUZUKI; YATANI *et al.*, 1994). A dissolução do mineral após condicionamento ácido resulta em uma camada de colágeno exposta na superfície dentinária, aumentando sua permeabilidade e dando origem a uma melhor difusão da resina.

Portanto, uma adesão mais previsível poderia ser obtida diretamente com hidroxiapatita parcialmente desmineralizada da dentina removendo o colágeno(VARGAS; COBB; ARMSTRONG, 1997)

No mecanismo de adesão dos adesivos autocondicionantes de baixo pH (*strong self-etch*) é primariamente baseado na difusão, o que é semelhante à abordagem convencional (*etch-and-rinse*). Estes adesivos têm sido documentados com valores de forças de adesão reduzidos, especialmente na dentina. Além da elevada acidez que aparenta diminuir drasticamente a performance do adesivo, outra preocupação é o efeito da água residual que fica na interface adesiva(VAN MEERBEEK; DE MUNCK; YOSHIDA; INOUE *et al.*, 2003). Além do mais, o fosfato de cálcio dissolvido, que fica encapsulado na resina, é bastante solúvel(GIANNINI; MAKISHI; AYRES; VERMELHO *et al.*, 2015).

Os sistemas “*mild*” *self-etch* têm no geral um pH de aproximadamente 3 e desmineralizam a dentina apenas numa profundidade de 1µm. Esta desmineralização superficial é parcial, mantendo hidroxiapatita residual aderida ao colágeno (GIANNINI; MAKISHI; AYRES; VERMELHO *et al.*, 2015).

Em um estudo publicado no ano de 2007, foi verificado que o condicionamento ácido reduz significativamente as forças de adesão de um adesivo *self-etch* à dentina(PROENÇA; POLIDO; OSORIO; ERHARDT *et al.*, 2007). Isso pode estar relacionado com a redução da interação entre 10-MDP e a dentina após o condicionamento, pois a disponibilidade de hidroxiapatita é reduzida(VAN LANDUYT; PEUMANS; DE MUNCK; LAMBRECHTS *et al.*, 2006).

O motivo pela qual a redução da força de adesão tem sido atribuída à infiltração incompleta da resina na matriz de colágeno desmineralizada (HASHIMOTO; OHNO; ENDO; KAGA *et al.*, 2000). O ácido fosfórico desmineraliza a dentina mais profundamente do que os adesivos “*mild*” (*suvaes*) *self-etch* estão desenhados para infiltrar(HANABUSA; MINE; KUBOKI; MOMOI *et al.*, 2012). Embora haja uma melhor morfologia da interface após o condicionamento ácido, foi demonstrado que resulta na diminuição das forças de adesão, com aumento no número de falhas adesivas(VAN LANDUYT; PEUMANS; DE MUNCK; LAMBRECHTS *et al.*, 2006).

3. PROPOSIÇÃO

3.1 Proposição Geral

O objetivo do presente estudo é avaliar as diferenças no padrão de desmineralização da dentina após o condicionamento com ácido fosfórico de diferentes marcas comerciais, usando diferentes protocolos de aplicação.

3.2 Proposições Específicas

3.2.1 Avaliar a diferença morfológica da dentina após diferentes protocolos de aplicação de ácido fosfórico;

3.2.2 Avaliar o perfil químico da dentina condicionada com os diferentes protocolos de aplicação ácido fosfórico;

3.2.3 Avaliar o conteúdo residual de Cálcio na superfície dentinária condicionada com os diferentes protocolos de aplicação de ácido fosfórico;

3.2.4 Avaliar a influência dos diferentes protocolos de aplicação de ácido fosfórico na resistência de união e nanoinfiltração marginal da dentina.

4. MATERIAL E MÉTODOS

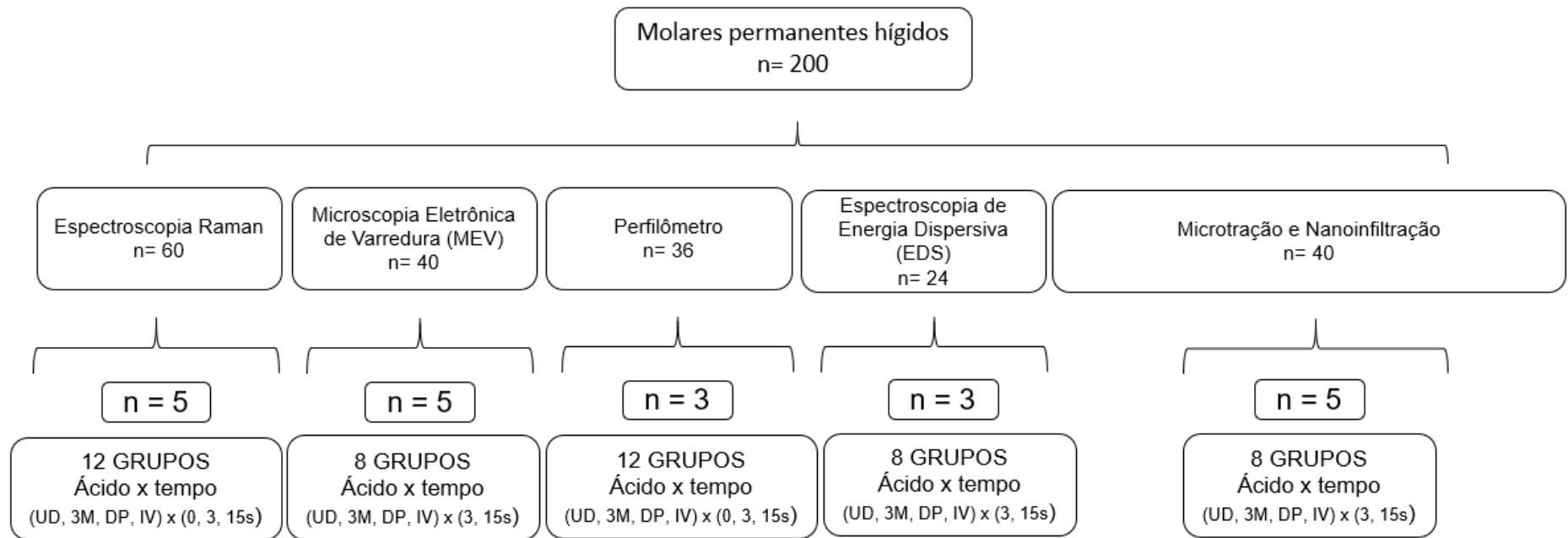
4.1 Aspectos éticos

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa envolvendo em Seres Humanos da Universidade Estadual de Ponta Grossa (CEP/UEPG), de acordo com o parecer 2.672.996, como demonstrado no anexo A.

4.2 Desenho do estudo

Para realização desta tese foram realizados ensaios *in vitro* tais como: análise de profundidade sagital, padrão de densidade tubula amos através da Microscopia Eletrônica de Varredura, rugosidade superficial pela perfilometria óptica, teor residual de cálcio por Espectroscopia de Energia Dispersiva, mapeamento químico pela Microscopia Raman, bem como testes mecânicos como: resistência de união e nanoinfiltração, bem como análises químicas de mensuração da solução de ph dos ácidos e sua capacidade de tamponamento. Para ta, foram selecionados 200 molares humanos permanentes hígidos, divididos entre os testes realizados conforme mostra a figura 1.

Figura 1 - Desenho do estudo.



Fonte: O autor

4.3 Preparo das amostras

4.3.1 Preparo das soluções

Para a fixação das amostras nos propusemos a fazer uma solução alternativa à solução de Cacodilato, a qual é mais comumente utilizada, com o objetivo de propor mais uma opção para este propósito evitando a toxicidade do Cacodilato. Inicialmente foram homogeneizadas 500 mL de água destilada e deionizada à 4°C com 12,1g de Tris HCl, que gerou uma solução com pH em torno de 6, logo após, aos poucos foi adicionado NaOH 0,1M até chegar no pH 7,4 verificada com auxílio do pHmetro (Taylor Hobson CCI Lite, São Paulo – Brazil). Em seguida, 200 mL Dessa solução de TRIS 0,2M foi diluída com 200 mL de água destilada deionizada, obtendo-se TRIS 0,1M. Adicionou-se à essa solução TRIS 0,1M, 225 mL + 25 mL de Glutaraldeído 25%, com isso obteve-se uma solução de glutaraldeído 2,5% com Tris 0,1M. Sendo as soluções finais:

- . Tris HCl 0,1 e 0,2 M
- . Glutaraldeído 2,5%
- . NaOH 0,1 M

4.3.2 Preparo dos espécimes

Os dentes tiveram todo esmalte coronário desgastado com auxílio de um recortador de gesso, no sentido oclusal até chegar na dentina, verificando-se por meio de microscópio óptico se não havia ilhas de esmalte. Com uma ponta diamantada tronco cônica removeu-se todo esmalte lateral, deixando apenas dentina em todas as paredes.

Em seguida, foram fixados com cera pegajosa no *stubs* de modo com que a face oclusal ficasse paralela ao com o sentido do disco de corte e a face coronária foi marcada com uma lapiseira. Sob irrigação a 300 rpm foi realizado corte de 1,4cm (para compensar a espessura do disco) na máquina de corte (Isomet 1000, Buehler Ltd., Lake Bluff, Illinois, EUA), com ajuda de um disco diamantado (15 HC-4in, Buehler Ltd., Lake Bluff, Illinois, EUA).

Em seguida, fez-se o polimento em uma lixa 600 por 60s na porção coronária demarcada e armazenou-se à 37° C em água destilada.

Nos discos de dentina, foi realizada uma edentação com um disco de alumínio na face oposta a ser condicionada, essa linha de corte deveria quase ultrapassar a fatia, cuja finalidade seria facilitar a quebra da fatia posteriormente, tanto para a análise da superfície oclusal (figura 2 A) quanto a profundidade de desmineralização pela visão sagital (figura 2 B).

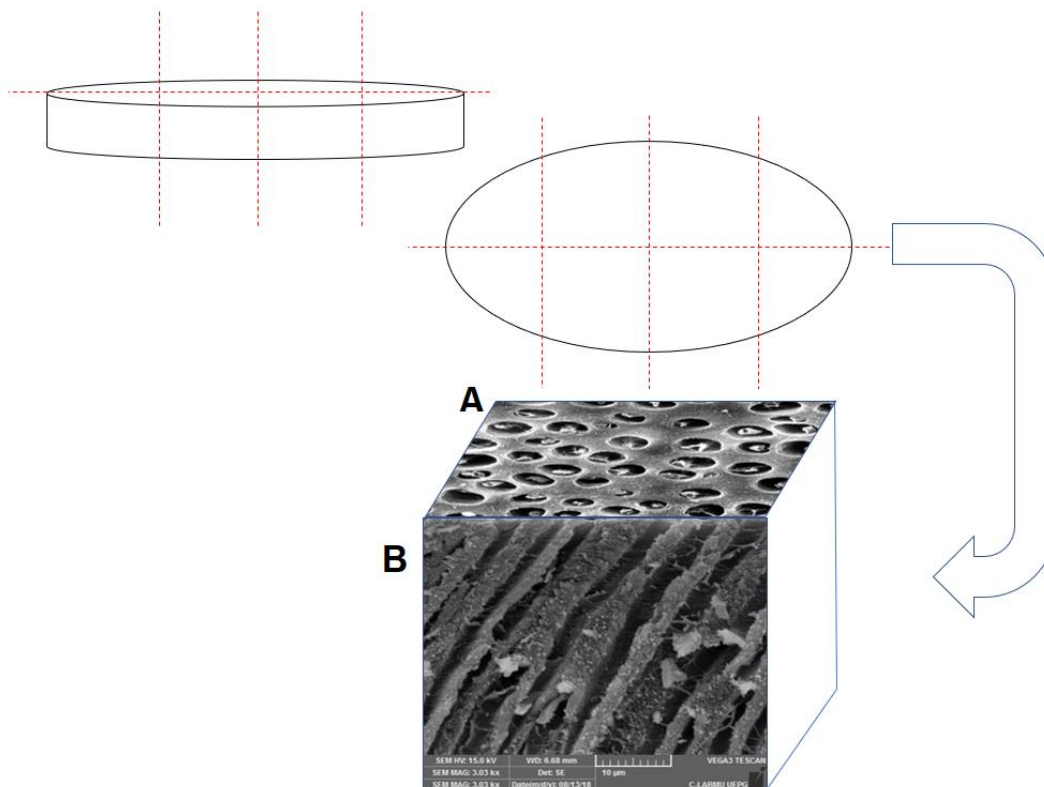
4.3.3 Materiais utilizados

Foram utilizados os ácidos: UD (ácido fosfórico Ultra-etch -Ultradent South Jordan, UT, EUA); 3M (ácido fosfórico Scotchbond™ Universal Etchant -3M St Paul, MN, EUA); IV (ácido fosfórico Total Etch – Ivoclar Vivadent Schaan, Liechtenstein); DP (ácido fosfórico Condicionador Dental Gel Dentsply-Sirona) Charlotte, NC, EUA). O adesivo utilizado foi Peak Universal Bond; Ultradent, South Jordan, UT, EUA (2-metil metacrilato, HEMA, Bis-GMA, etanol, 0.2% de diacetato de clorexidina, ácido metacrílico, 7,5% de partículas com pH 1.9, LOTE BF8FY), e a resina composta Forma Zirconia Nano-Hybrid Composite Ultradent, South Jordan, UT, EUA (Bis-GMA, TEGDMA, Bis-EMA, UDMA e contém carga inorgânica a base de zircônia/sílica e vidro de bário, lote D0778). A tabela 1 mostra as características dos ácidos utilizados segundo os fabricantes.

Tabela 1 Características dos ácidos utilizados segundo seus fabricantes.

Ácido	Concentração	Composição	Lote
Ultra-etch- Ultradent	35%	Ácido fosfórico, sílica amorfa sintética, não contém glicerina	X036
Scotchbond™ Universal Etchant - 3M	32%	Ácido fosfórico, água, sílica amorfa sintética, polietilenoglicol e óxido de alumínio	643399
Total Etch – Ivoclar Vivadent	37%	Ácido fosfórico, álcool polivinílico, polímeros solúveis e pigmentos	U42586
Condicionador Dental Gel Dentsply –Sirona	37%	Ácido fosfórico; surfactante; aerosil 200; água deionizada e pigmento	246602I

Figura 2 Esquema do padrão de confecção dos corpos de prova.



Fonte: O autor

4.4 Mensuração do pH e capacidade de tamponamento dos ácidos

Para mensurar o pH da solução dos ácidos, selecionamos 2g de cada ácido fosfórico (UD, 3M, DP e 3M) através da balança de precisão diluídos em 4mL de água deionizada de modo a ter uma solução completamente homogênea. Em seguida, essas soluções foram avaliadas em um phmetro (Taylor Hobson CCI Lite, São Paulo – Brazil) previamente calibrado com as chamadas “buffer solutions”. Após a calibração concluída, foi realizada 3 mensurações por solução de ácido de modo que o bulbo e o eletrodo do phmetro permanecessem completamente submersos.

Para a capacidade de tamponamento as amostras foram diluídas em água ultrapura 1:10. Após a diluição completa do ácido fosfórico, a titulação de cada amostra foi iniciada pela adição sucessiva de gotas de 1 mL de NaOH (0,08 N). Após cada adição de NaOH, o pH foi medido pelo medidor de pH (HANNA; Modelo pH 21) e o procedimento repetido até a solução atingir o pH aproximado de 2,2. Uma leitura foi realizada para cada ácido.

4.5 Análise da superfície oclusal e sagital

Para estas análises utilizamos o MEV (Microscópio Eletrônico de Varredura). Confeccionou-se os corpos de prova conforme a figura 2 A para a análise oclusal e densidade tubular e 2 B para mensuração da profundidade de desmineralização pela vista sagital.

Para mensurar a densidade dos túbulos dentinários foram utilizadas 15 micrografias eletrônicas de cada grupo na visão oclusal com uma ampliação de 2500x. As dimensões de cada micrografia resultam em uma área de $1716,5 \mu\text{m}^2 = 0,0017165 \text{ mm}^2$. O número de túbulos dentinários presentes em cada micrografia eletrônica foi dividido pela área ($0,0017165 \text{ mm}^2$) (DUTRA-CORREA; ANAUATE-NETTO; ARANA-CHAVEZ, 2007).

Aplicou-se então o protocolo específico de cada ácido com seus respectivos tempos na face que foi polida, oposta a face com edentação. Lavou-se abundantemente e foram secos levemente com discos de papel feltro. Em seguida, o disco foi imergido com a face condicionada para cima na solução glutaraldeído 2,5 com This 0,1M por 12h na geladeira a 4° C (fase importante para fixação da parte orgânica da dentina). Nesta etapa realizou-se a lavagem com as soluções preparadas. Após as 12 horas a 4° C iniciou-se com banho de TRIS 0,2M por 20 min seguido de 1 min de água destilada, seguido de 20 min TRIS, seguido de 1min de água destilada, seguido de 20 min de TRIS, seguido de 1 min de água destilada. (3 banhos de 20 min de TRIS 0,2M intercalados por 1 min de água destilada entre cada banho). Após foi realizado a sequência de alcóois para a desidratação:

- 25 % durante 20 min
- 50 % durante 20 min
- 75 % durante 20 min
- 95% durante 30 min
- 100% durante 60 min

Etapa realizada sempre com tampa para não volatizar e após isso, colocou-se os discos em cima de um papel feltro em cima do *stubs*. Para o processo de desidratação, as amostras foram deixadas em uma caixa contendo sílica coloidal por 24 h para, então, serem fraturadas na edentação previamente feita, coladas nos *stubs* com uma cola a base de cianocrilato e por fim, metalizadas em carbono/ouro (MED 010, Balzers Union, Balzers, Liechtenstein).

Foi utilizado o microscópio eletrônico 15mm de varredura de emissão de campo (VEGA SB; Tescan, Warrendale, PA, EUA) em modo de elétrons retroespalhados e as medidas mensuradas utilizando o Image J software.

4.6 Avaliação da Rugosidade superficial pela Perfilometria óptica

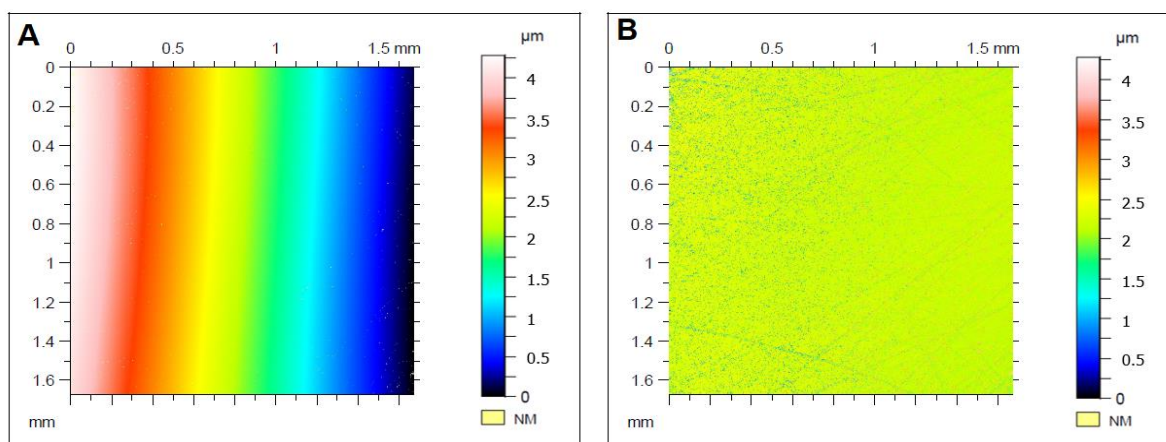
As amostras de dentina foram preparadas da mesma forma que foi explicado anteriormente. Cada amostra foi polida com a sequência de lixas de carbetto de silício de granulação #1000, #1200, #1500, #2000, #2500, #4000 durante 60s, para padronização das superfícies oclusais coronárias, buscando uma superfície mais lisa possível para analisar a rugosidade gerada pelos ácidos. Foram realizados os condicionamentos com os diferentes ácidos propostos UD (ácido fosfórico Ultra-etch -Ultradent); 3M (ácido fosfórico Scotchbond™ Universal Etchant -3M); IV (ácido fosfórico Total Etch – Ivoclar Vivadent); DP (ácido fosfórico Condicionador Dental Gel Dentsply-Sirona) nos subgrupos: tempo 0 (sem condicionamento) 3 e 15 s. Após isto iniciou-se a mesma sequência de fixação e desidratação descritas nos testes anteriores.

Por fim, os discos foram colados em um *stub* metálico e metalizados em carbono/ouro (MED 010, Balzers Union, Balzers, Liechtenstein) e então foram introduzidas na célula do perfilometro (Taylor Hobson CCI Lite, São Paulo – Brazil) para análise. Em cada área foram feitas 5 leituras com intervalos de 2.0µm entre eles, com uma velocidade de 500 µm/s, gerando um tempo de leitura final de 44 minutos por amostra. Posteriormente, as informações coletadas foram analisadas pelo software TalyMap Gold 6.2.6302 e ilustrados em imagens tridimensionais que possibilitam a visão da caracterização da superfície quanto a sua topografia e diferentes parâmetros de rugosidade, usando um cut-off de 0,30 mm (STRAIOTO; NETO; SOARES; MELLO, 2005).

As imagens inicialmente são tidas como dados primários, que dizem respeito a rugosidade e a forma topográfica da superfície, para melhor entendimento dos resultados foi aplicado um filtro Gaussiano (figura 3 A) através do software para aprimoramento das imagens digitais, este filtro descarta o primeiro e último cut-off e resulta assim em valores de rugosidade (S_q = altura média quadrática da rugosidade observada, S_{sk} = Skewness: indica distribuição entre picos e vales na superfície, S_{ku} = Kurtosis: mesmo caso do S_{sk} , porém como média quadrática, S_p = máximo pico de rugosidade da superfície (maior ponto do centro ao pico da superfície rugosa), S_v = mínimo vale observado na superfície (menor ponto do centro ao fundo da superfície rugosa), S_z = maior altura de pico a vale observada e S_a = Rugosidade média quadrática da superfície, o parâmetro de maior importância para nosso trabalho pois indica o perfil médio da rugosidade da superfície.

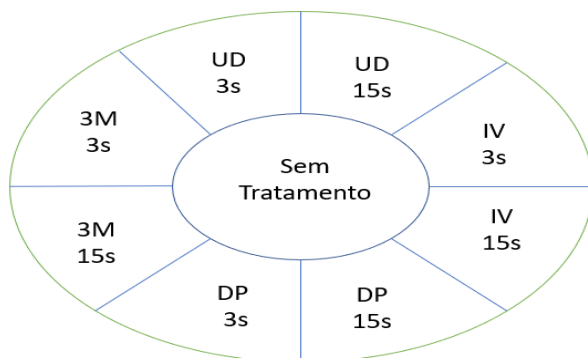
Posteriormente, para a rugosidade foi aplicado um outro filtro (figura 3 B) com um *cut-off* de 0,30mm, o que redimensiona a área analisada para 1,67mm x 1,67mm, obtendo assim as imagens finais analisadas, é a forma da sua superfície estudada após a remoção das chamadas "*outliers*" que seria um refinamento para observação. Dessa forma, para cada grupo foram registrados 5 médias da rugosidade superficial 3D (S_a), ou seja, 45 registros por fatia de dente e totalizando assim 225 leituras. A ilustração de como cada disco foi preparado para estas análises esta descrita na figura 4.

Figura 3 A: Filtro Gaussiano aplicado a análise de superfície, B: Filtro de rugosidade aplicado a análise da superfície.



Fonte: O autor

Figura 4 Esquema da divisão da fatia de dentina para análise perfilométrica, 3 e 15 segundos de condicionamento com os diferentes ácidos, UD (ácido fosfórico Ultra-etch -Ultradent); 3M (ácido fosfórico Scotchbond™ Universal Etchant -3M); IV (ácido fosfórico Total Etch – Ivoclar Vivadent); DP (ácido fosfórico Condicionador Dental Gel Dentsply-Sirona).



Fonte: O autor

4.7 Mapeamento através da Espectroscopia micro-Raman

A espectroscopia Raman é um método de análise baseado no fenômeno do espalhamento da radiação, que envolve interações da radiação eletromagnética com a porção da amostra que é foco da análise química (SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2017). Os picos Raman resultantes fornecem a “impressão digital” de cada componente bioquímico da amostra. Para este teste, foram selecionado 5 discos de dentina, cada espécime foi distribuído e mensurado nos seguintes momentos: *baseline* (sem condicionamento), 3 e 15 segundos de condicionamento com os diferentes ácidos propostos UD (ácido fosfórico Ultra-etch -Ultradent); 3M (ácido fosfórico Scotchbond™ Universal Etchant -3M); IV (ácido fosfórico Total Etch – Ivoclar Vivadent); DP (ácido fosfórico Condicionador Dental gel Dentsply-Sirona). Foi realizado o mapeamento das amostras com o objetivo de traçar o perfil químico das superfícies condicionadas.

4.8 Teor residual de Cálcio (Ca) na dentina desmineralizada – EDX

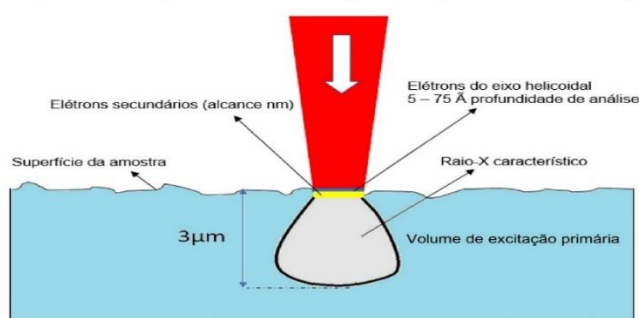
Foram realizadas duas análises da concentração de Ca através da Espectroscopia de Raios-x por Dispersão de Energia, inicialmente de maneira quantitativa observando a %wt do conteúdo de Ca residual (WU; ITOH; YAMASHITA, 1998) e num segundo momento, uma análise qualitativa da distribuição dos elementos

Ca e P. Foram preparadas 5 fatias de dentina conforme mostra a figura 1, todos os discos foram polidos com a sequência de lixas de carbetto de silício de granulação #1000, #1200, #1500, #2000, #2500, #4000 durante 60s, para padronização das superfícies oclusais coronárias. Em cada corpo de prova foi realizado 5 medidas de cada grupo. Após cada tempo as fatias foram imersas em uma solução fixadora de Tris HCl 0,2 M e posteriormente desidratadas com a sequência dos alcóois (25%, 50%, 75%, 95% e 100%).

Para análise quantitativa foram selecionadas 5 áreas aleatórias e para a análise qualitativa foi mapeado uma área contendo tanto dentina peritubular quanto a intertubular para verificar a ação do ácido em todo substrato. Neste estudo, as análises foram realizadas com energia de aceleração de 10 KeV, pressão de 40 Pa e tempo de leitura de 3 min, com isto o grau de penetração no substrato nos permite analisar é de aproximadamente 3 μm . No microscópio eletrônico de varredura, uma corrente de elétrons primários é focalizada na superfície da amostra, resultando na emissão de um número de diferentes partículas ou ondas (elétrons secundários, elétrons retroespalhados, raios X, fótons, elétrons helicoidais). Os elétrons secundários e retroespalhados são usados para imagens, enquanto os raios X fornecem informações químicas características dos átomos emissores. A profundidade sondada na análise de EDX é de cerca de 1-3 μm (figura 5). (GOLDSTEIN, 2003). Para este teste foi utilizado o microscópio eletrônico de varredura de emissão de campo (VEGA SB; Tescan, Warrendale, PA, EUA).

Figura 5 Ilustração adaptada do modo de ação da Espectroscopia por Dispersão de Energia (EDS) (GOLDSTEIN, 2003).

Espectroscopia de Raios-X por Dispersão de Energia



Fonte: O autor

4.9 Avaliação da resistência de união à dentina:

4.9.1 Seleção dos dentes:

Foram selecionados 40 molares humanos isentos de cárie dental. Os dentes foram obtidos por meio da doação realizada pelo Banco de Dentes Humanos – BDH da UEPG e aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos nº 0105 da Universidade Estadual de Ponta Grossa-CEP UEPG de acordo com o parecer nº 2.672.996.

4.9.2 Preparo dos dentes:

Primeiramente foi removido todo o esmalte oclusal utilizando o recortador de gesso e, em seguida, as bordas circundantes de esmalte foram removidas com pontas diamantadas 2135 F (KG Sorensen Cotia, SP, Brasil) em alta rotação. Posteriormente, foi realizado polimento da superfície de dentina oclusal com lixas de carbetto de silício de granulação #600, durante 60s, para padronização da *smear layer*.

4.9.3 Procedimento restaurador:

Os espécimes foram divididos de acordo com a marca comercial do ácido UD, 3M, IV, DP e os diferentes tempos de aplicação do ácido fosfórico a ser utilizado: 3 e 15 segundos para cada ácido. Uma vez realizada a etapa do condicionamento, o sistema adesivo foi aplicado segundo as indicações do fabricante e então fotoativados por 10 s usando um aparelho fotopolimerizador a base de LED com uma intensidade de 1000 mW/cm² (VALO, Ultradent Products, South Jordan, UT, EUA).

A restauração dos dentes foi realizada com resina composta (Resina Nanohíbrida Forma Zirconia - Ultradent, South Jordan, UT, EUA) em três incrementos de 1 mm e fotoativado por 40 s cada incremento. Apenas um operador realizou todos os procedimentos adesivos.

Após a restauração, os dentes ficaram em água destilada a 37°C por 24 h e cortados na máquina de corte (Isomet 1000, Buehler Ltd., Lake Bluff, Illinois, EUA). Então, sob irrigação e a 300 rpm, realizamos cortes perpendiculares no eixo “x” e outra

no eixo “y”, obtendo-se espécimes no formato de “palitos” com uma área de secção transversal de $0,8 \pm 0,1 \text{ mm}^2$, utilizando o disco diamantado (15 HC-4in, Buehler Ltd., Lake Bluff, Illinois, EUA).

A área de secção transversal foi mensurada com paquímetro digital e para o cálculo de microtração (Digimatic Caliper, Mitutoyo, Kanagawa, Tóquio, Japão). A metade dos palitos de cada dente foi selecionada para ser testada imediatamente [IM] (24 h) e o restante após 1 ano [1A] de armazenamento em água destilada a 37 °C.

4.9.4 Teste de resistência de união à dentina por microtração (μ TBS):

Em cada palito foi aplicado em suas extremidades cola de cianocrilato gel (Loctite Superbonder Power Easy Gel, Henckel, São Paulo, São Paulo, Brasil) sem encostar na interface dente-restauração e colado em garras de Geraldeli (Odeme Biotechnology, Joaçaba, Santa Catarina, Brasil). Após a completa polimerização da cola, as garras foram levadas a máquina de ensaios universal (Kratos Dinamômetros, Cotia, São. Paulo, Brasil) e realizado o teste a uma velocidade de 0,5 mm/min com célula de carga de 100 N até rompimento da interface.

O padrão de fratura de todos os palitos testados foi classificada com auxílio da lupa estereoscópica com 100x de magnificação (Olympus SZ40, Shinjuku-ku, Tóquio, Japão), de acordo com a localização da fratura: adesiva (interface adesiva dente/restauração); coesiva em dentina (localizada na dentina); coesiva em resina (localizada na resina) e mista (localizada na interface dente/restauração, mas que inclui falha coesiva dos substratos vizinhos).

4.10 Avaliação da infiltração por nanoinfiltração (NI):

Foram selecionados três palitos de cada dente cortados para o teste de microtração. Esses palitos foram colocados em eppendorfs (OA12, Odeme Biotechnology, Joaçaba, SC, Brasil) contendo nitrato de prata amoniacal 50% em peso com $\text{pH} = 7$ e armazenados numa caixa escura por 24 h.

Após a completa infiltração, realizou-se a lavagem dos palitos com água destilada. Para a redução dos íons de prata ao longo da interface de união, os palitos ficaram imersos numa solução reveladora (Kodak, Rochester, Nova Iorque, EUA) por 8 h sob luz fluorescente.

Uma vez concluído esta etapa, os palitos foram novamente lavados, secos e então colados em stubs com cianocrilato e polidos em uma politriz de bancada (ALM

4, Arotec, Cotia, São Paulo, Brasil) sob constante irradiação com lixas de granulações 1000, 1200, 1500, 2000, 2500 e 4000 e pastas diamantadas com granulações decrescentes de 6, 3, 1 e 0,25 μm (Buehler Ltd, Lake Bluff, IL, EUA).

Uma lavagem em cuba ultrassônica por 8 min era realizada entre cada lixa e após a última lixa, eram realizada uma lavagem maior de 30 min em cuba ultrassônica.

Após as amostras estarem completamente secas, foram colocadas em uma caixa com sílica coloidal por 24 h para uma completa desidratação e, então, metalizadas em carbono/ouro (MED 010, Balzers Union, Balzers, Liechtenstein).

As interfaces resina-dentina foram analisadas em um microscópio eletrônico de varredura de emissão de campo (VEGA SB; Tescan, Warrendale, PA, EUA) em modo de elétrons retroespalhados.

Em cada palito foi realizado três fotomicrografias com aumento 1200X na interface sendo uma no centro e outras duas 3 μm à esquerda e à direita do centro. A porcentagem relativa de nitrato de prata nas áreas da camada híbrida e camada de adesivo foram mensuradas utilizando o Image J software (National Institutes of Health, EUA) (SCHNEIDER; RASBAND; ELICEIRI, 2012) operado por um avaliador “cego” ao grupo experimental que pertencia cada imagem.

4.11 Análise estatística

Após a realização dos ensaios e a tabulação dos dados seguidos da análise estatística através do software Stat Soft STATISTICA 12.5.192.7.

Para o teste avaliação de profundidade pelo MEV através do corte sagital das fatias de dentina, foi realizado o teste ANOVA 2 fatores (ácido x tempo) para verificar se houve diferença entre os grupos e posteriormente um post-hoc Tukey para confirmar onde se encontrava esta diferença ($\alpha= 0,05$).

Para as demais análises, foi realizado o teste One-way ANOVA e posteriormente um post-hoc Tukey para confirmar onde se encontrava esta diferença ($\alpha= 0,05$) primeiramente entre os diferentes tempos (3 e 15 s) no mesmo ácido e posteriormente entre os ácidos analisando-se nos mesmos tempos.

Para o mapeamento da análise de conteúdo de Ca e P realizado pelo EDS não foi realizado teste estatístico por se tratar de uma análise qualitativa, a mesma situação ocorreu com os espectros do mapeamento da microscopia Raman, os quais da mesma forma, foram avaliados qualitativamente.

5. RESULTADOS

- Mensuração do pH e capacidade tampão dos ácidos

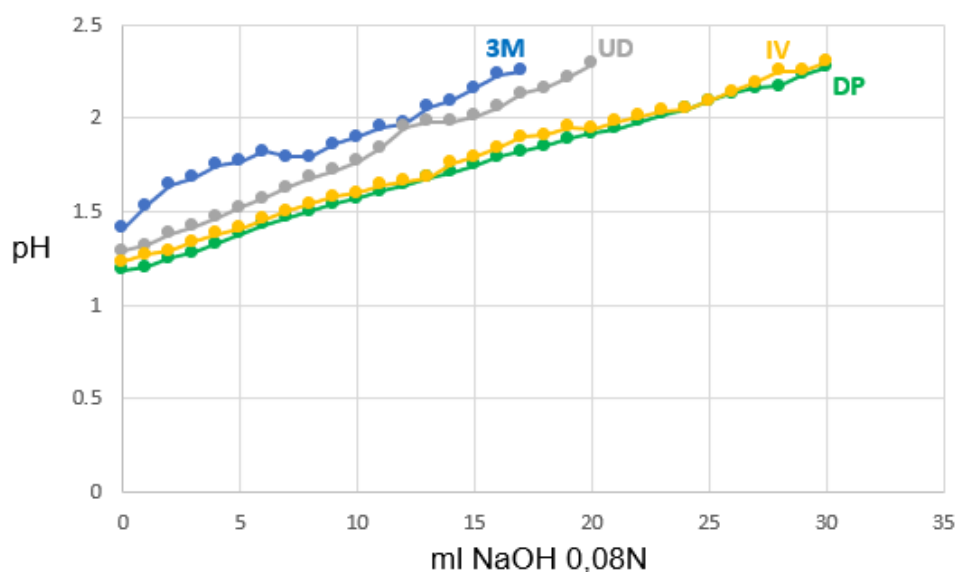
As soluções dos ácidos UD e 3M apresentaram valores de pH mais altos em relação aos ácidos DP e IV, o menor pH encontrado foi do ácido IV. O valor das médias dos pHs encontrados estão expressos na tabela 2.

A curva de tamponamento mostra que o ácido 3M inicialmente alcaliniza mais rapidamente. O ácido UD tamponou de maneira mais regular e estabilizou-se em pH 2 com 4 volumes de NaOH, indicando que possui uma estabilidade química não vista em outros ácidos. Os ácidos DP e IV se comportaram de maneira muito semelhante, precisavam de mais NaOH para tamponar e naturalmente são mais agressivos (figura 6).

Tabela 2 Valores de pH (média e desvio padrão) das soluções dos ácidos.

Ácido	pH
UD - Ultra-etch- Ultradent	1.131 ± 0.03
3M - Scotch bond™ Universal Etchant -3M	1.222 ± 0.02
IV - Total Etch – Ivoclar Vivadent	0.823 ± 0.06
DP - Condicionador Dental Gel Dentsply-Sirona	0.949 ± 0.04

Figura 6 Resultados de titulação para os ácidos fosfóricos.



Fonte: O autor

- Análise da profundidade pela visão sagital

Para a interpretação deste teste foi mensurado as imagens obtidas no MEV pelo corte sagital das fatias através do software imageJ conforme mostra a figura 7, esta mensuração é realizada a partir do formato de funil que os túbulos dentinários ficam após serem condicionados, indicando que há uma profundidade de desmineralização (PERDIGAO; LAMBRECHTS; VAN MEERBEEK; TOME *et al.*, 1996; PERDIGÃO; LOPES, 2001; PERDIGÃO; MAY; WILDER; LOPES, 2000).

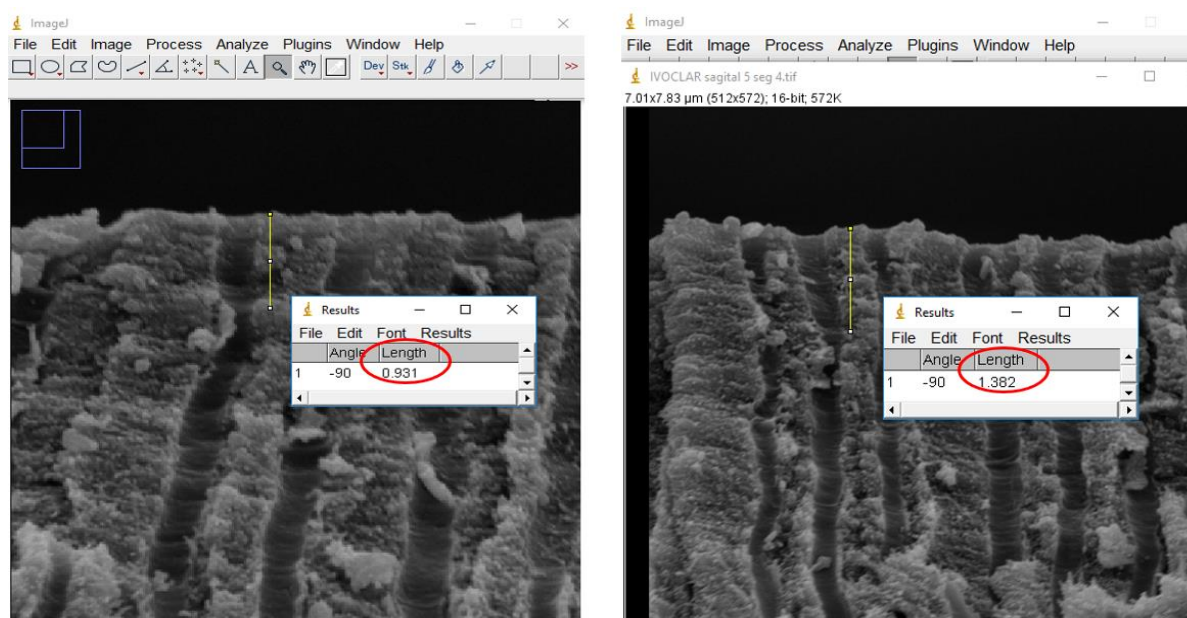
Em relação ao padrão de desmineralização da dentina na vista sagital, a interação entre os produtos foi estatisticamente significativa ($p = 0,001$; Tabela 3). Quando um menor tempo de condicionamento foi aplicado, não foi observada diferença significativa no padrão de dentina de desmineralização sagital para os diferentes grupos ($p > 0,05$; Tabela 3). No entanto, após 15 s de condicionamento, foi observado um padrão de dentina de desmineralização profunda para DP e IV em comparação com a UD ($p = 0,001$; Tabela 2). O ácido 3M mostrou um comportamento intermediário quando aplicado por 15 s em comparação aos outros grupos.

Tabela 3 Profundidades de desmineralização da dentina (média e desvio-padrão em μm) das diferentes estratégias de condicionamento utilizados. UD (Ultra-etch - Ultradent); 3M (Scotchbond™ Universal Etchant -3M); IV (Total Etch – Ivoclar Vivadent); DP (Condicionador Dental Gel Dentsply-Sirona)(*).

	UD	3M	DP	IV
3s	1.15 \pm 0.44 A	1.19 \pm 0.38 A	1.47 \pm 0.54 AB	1.62 \pm 0.42 AB
15s	2.04 \pm 0.36 B	2.35 \pm 0.54 BC	2.56 \pm 0.53 C	2.64 \pm 0.62 C

(*) As médias identificadas com a mesma letra maiúscula são estatisticamente semelhantes. (Teste de Tukey, $p \leq 0,05$).

Figura 7 Esquema da análise de comprimento da profundidade de desmineralização pelo software ImageJ, mostrando duas imagens e suas mensurações em μm pelo formato de funil da embocadura dos túbulos dentinários após condicionamento ácido (PERDIGAO; LAMBRECHTS; VAN MEERBEEK; TOME et al., 1996).



Fonte : O autor

- Densidade tubular e Avaliação oclusal das superfícies condicionadas

Na avaliação da densidade tubular, pela vista oclusal, corroborando com os achados mencionados na vista lateral, os ácidos UD e 3M apresentaram comportamento semelhante com menor densidade tubular quando foi aplicado um menor tempo de ataque ($p > 0,05$, Tabela 4), diferente de Ácidos DP e IV, especialmente quando gravados por 15 s, que mostraram uma quantidade maior de túbulos dentinários abertos ($p = 0,001$, Tabela 4).

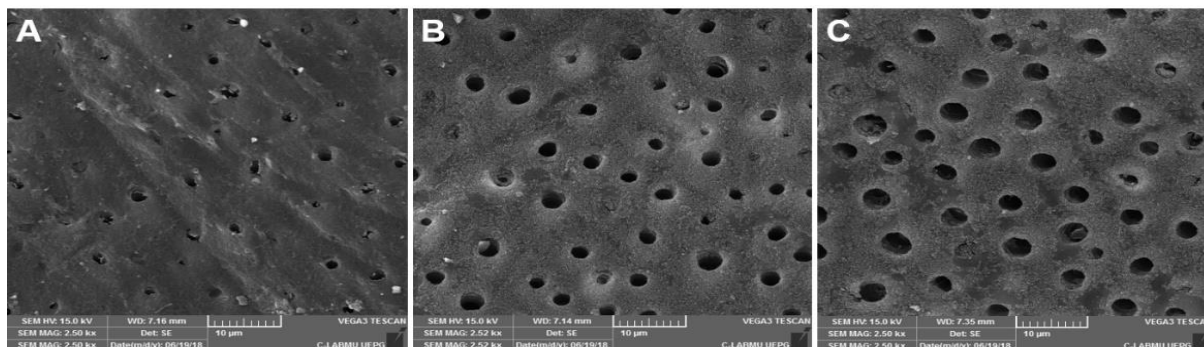
O efeito do condicionamento ácido na superfície oclusal, permite uma inferência sobre a dissolução do manguito peritubular, permeabilidade dos túbulos dentinários e alguma exposição da rede fibrilar de colágeno. É observado que os minerais foram precipitados em torno da superfície da matriz de colágeno exposta ao redor dos túbulos. Foi visto que para todos os grupos, houve uma menor desmineralização quando condicionados por 3s comparada com 15s. A superfície condicionada com o ácido UD exibe uma aparência mais limpa e livre de precipitados tanto no tempo 3 quanto 15s (figura 8). Nesse grupo, acredita-se que as fibrilas de colágeno foram capazes de suportar seu próprio peso sem colapsar, mesmo quando examinadas usando condições desidratadas e de alto vácuo. A morfologia da superfície da dentina no grupo 3M foi semelhante à observada no grupo UD (figura 9). As morfologias características dos grupos DP e IV, ambos em 15s, mostram que houve uma maior dissolução mineral e também o diâmetro aparente túbulos foi maior comparada com os outros grupos (figuras 10 e 11 respectivamente).

Tabela 4 Médias e desvios-padrão da densidade dos túbulos dentinários por milímetro quadrado (túbulos / mm²) obtidos em cada condição experimental (N C = Não condicionado) (*).

	UD	3M	DP	IV
N C	11.224 ± 9.82 A	10.912 ± 7.63 A	12.608 ± 11.51 A	11.334 ± 10.32 A
3s	21.869 ± 10.17 B	23.262 ± 14.15 B	28.717 ± 11.6 BC	29.679 ± 8.91 BC
15s	23.968 ± 9.04 B	25.812 ± 9.28 B	34.67 ± 12.64 C	35.217 ± 13.57 C

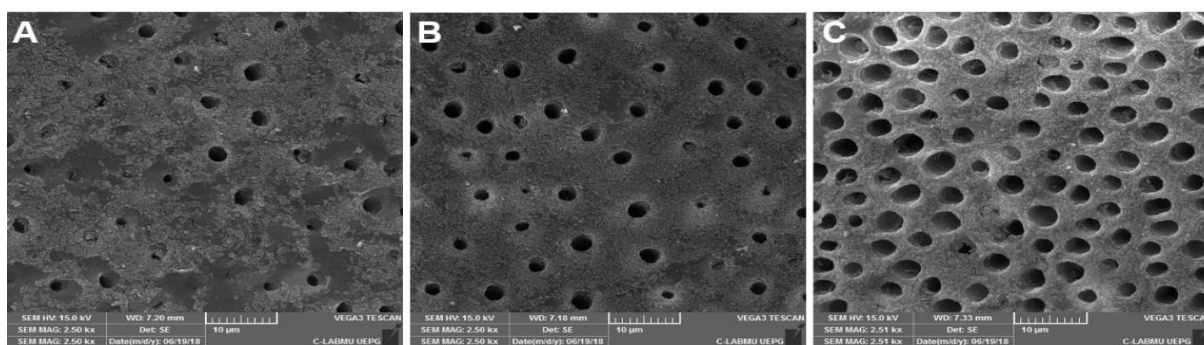
(*) As médias identificadas com a mesma letra maiúscula são estatisticamente semelhantes. (Teste de Tukey, $p \leq 0,05$).

Figura 8 A= Superfície não condicionada, B= Condicionada por 3s com ácido UD a seta indica a precipitação dos minerais em torno os túbulos dentinários, C= Condicionada por 15s com ácido UD a seta indica a presença de fibras de colágeno na dentina peritubular, mostrando não haver diferença entre os tempos 3 e 15s para o ácido UD.



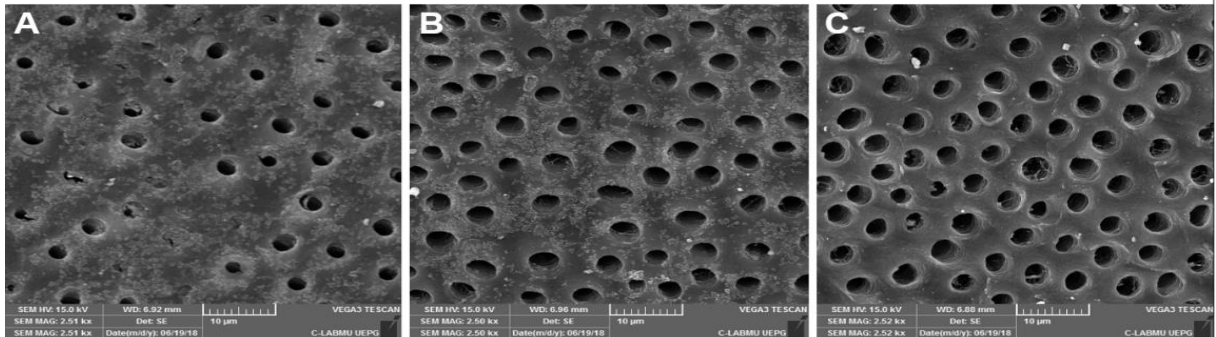
Fonte: O autor

Figura 9 A= Superfície não condicionada, B= Condicionada por 3s com ácido 3M a seta indica a precipitação dos minerais em torno os túbulos dentinários, C= Condicionada por 15s com ácido 3M a seta indica a presença de fibras de colágeno na dentina peritubular porém menos que o ácido UD.



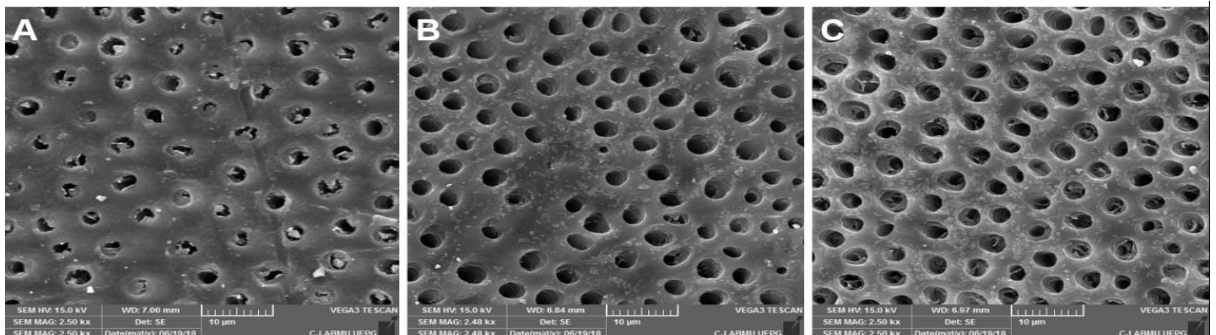
Fonte: O autor

Figura 10 A= Superfície não condicionada, B= Condicionada por 3s com ácido DP a seta indica a precipitação dos minerais em torno os túbulos dentinários, C= Condicionada por 15s com ácido DP a seta indica o maior diâmetro dos túbulos dentinários.



Fonte: O autor

Figura 11 A= Superfície não condicionada, B= Condicionada por 3s com ácido IV a seta indica a precipitação dos minerais em torno os túbulos dentinários, C= Condicionada por 15s com ácido IV a seta indica o maior diâmetro dos túbulos dentinários.



Fonte: O autor

- Avaliação da topografia pela rugosidade superficial

As informações fornecidas pela da leitura das amostras através do equipamento e do software TalyMap Gold 6.2.6302 foram representados em imagens tridimensionais; entretanto, as imagens obtidas apesar de serem indicativas em determinar características da topografia da amostra analisada, na qual as cores mostram uma relação entre picos e vales, nesta as áreas em marrom indicam maior rugosidade (figura 12), necessitam que os valores numéricos sejam extraídos a partir do cálculo dos parâmetros indicados, os quais garantem uma mensuração mais precisa das diferentes rugosidades encontradas na superfície.

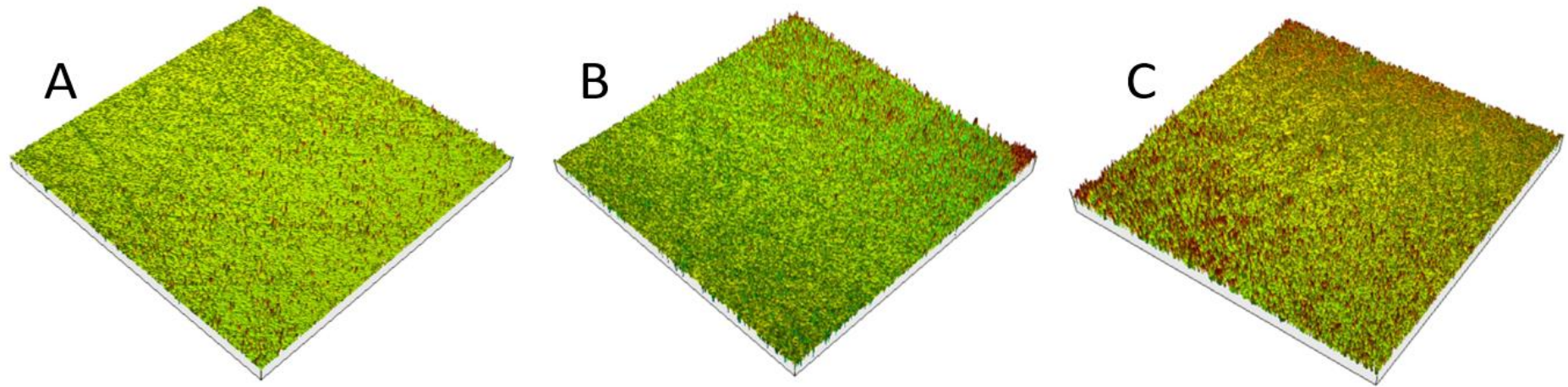
Ao analisar primeiramente a diferença entre os tempos dentro de um mesmo ácido, os resultados mostram que houve um aumento na rugosidade 3D (S_a) em todos nos grupos 3M, DP e IV ($p < 0,05$) com, indicando que ao condicionar com 3s há um'a breve alteração na superfície comparada ao estado inicial (sem condicionamento) e que com 15s acontece uma alteração maior ainda; entretanto para o grupo UD não foi encontrado diferença significativa entre os tempos 3 e 15s.

Quando faz-se a análise entre os ácidos no mesmo tempo, é visto que tanto para 3 quanto para 15s não houve diferença significativ a entre os ácidos 3M e UD ($p > 0,05$); porém esses mostraram uma rugosidade estatisticamente menor do que os ácidos DP e IV ($p < 0,05$). Os resultados estatísticos estão expressos na tabela 5.

Tabela 5 Valores de rugosidade 3D Sa (μm) das diferentes estratégias de condicionamento ácido. UD (Ultra-etch -Ultradent); 3M (Scotchbond™ Universal Etchant -3M); IV (Total Etch – Ivoclar Vivadent); DP (Condicionador Dental Gel Dentsply-Sirona). Letras maiúsculas mostram diferenças estatísticas entre linhas (entre os tempos) e letras minúsculas entre as colunas (entre os ácidos).

	UD	3M	DP	IV
0s	1.09 \pm 0.30 Aa	1.02 \pm 0.23 Aa	1.07 \pm 0.15 Aa	1.19 \pm 0.21 Aa
3s	2.07 \pm 0.38 Ba	2.10 \pm 0.51 Ba	2.56 \pm 0.33 Bb	2.78 \pm 0.34 Bb
15s	2.93 \pm 0.35 Ba	3.21 \pm 0.28 Ca	4.22 \pm 0.55 Cb	4.31 \pm 0.38 Cb

Figura 12 Imagem mostrando o esquema de avaliação da Rugosidade média 3D das superfícies. A = superfície dentinária sem condicionamento; B = superfície dentinária após 3s de condicionamento com ácido fosfórico e C = superfície dentinária após 15s de condicionamento.



ISO 25178		
Height Parameters		
Sq	3.28	μm
Ssk	-0.816	
Sku	24.9	
Sp	25.0	μm
Sv	26.5	μm
Sz	51.6	μm
Sa	1.55	μm

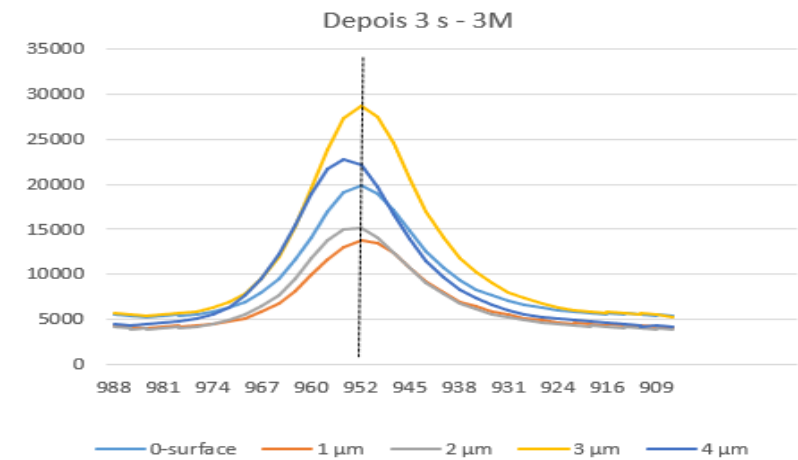
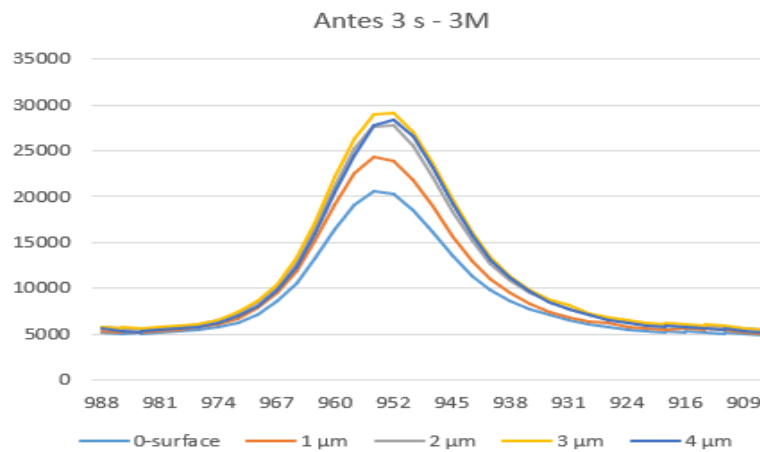
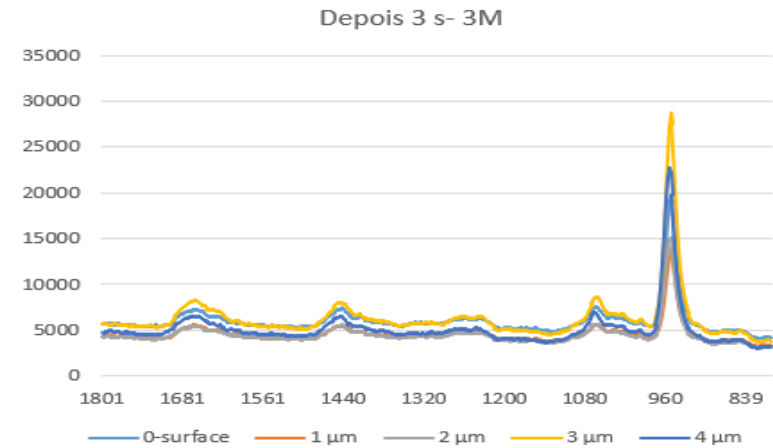
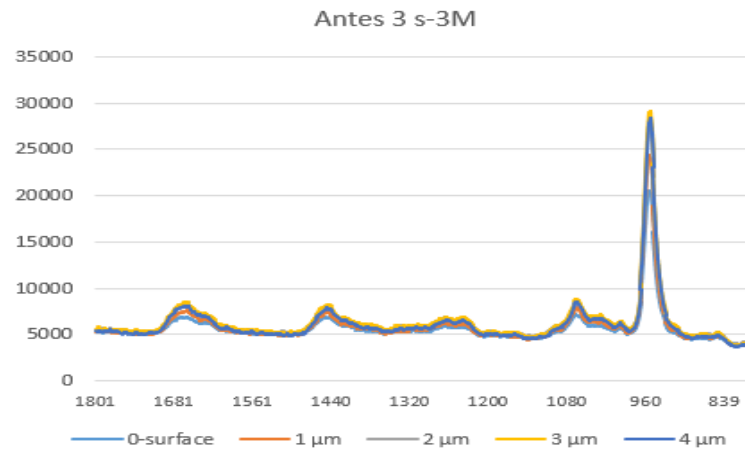
ISO 25178		
Height Parameters		
Sq	4.09	μm
Ssk	-0.00868	
Sku	11.3	
Sp	24.5	μm
Sv	23.7	μm
Sz	48.2	μm
Sa	2.43	μm

ISO 25178		
Height Parameters		
Sq	7.53	μm
Ssk	-0.818	
Sku	6.63	
Sp	28.2	μm
Sv	33.6	μm
Sz	61.8	μm
Sa	5.03	μm

- Mapeamento através da Espectroscopia Raman

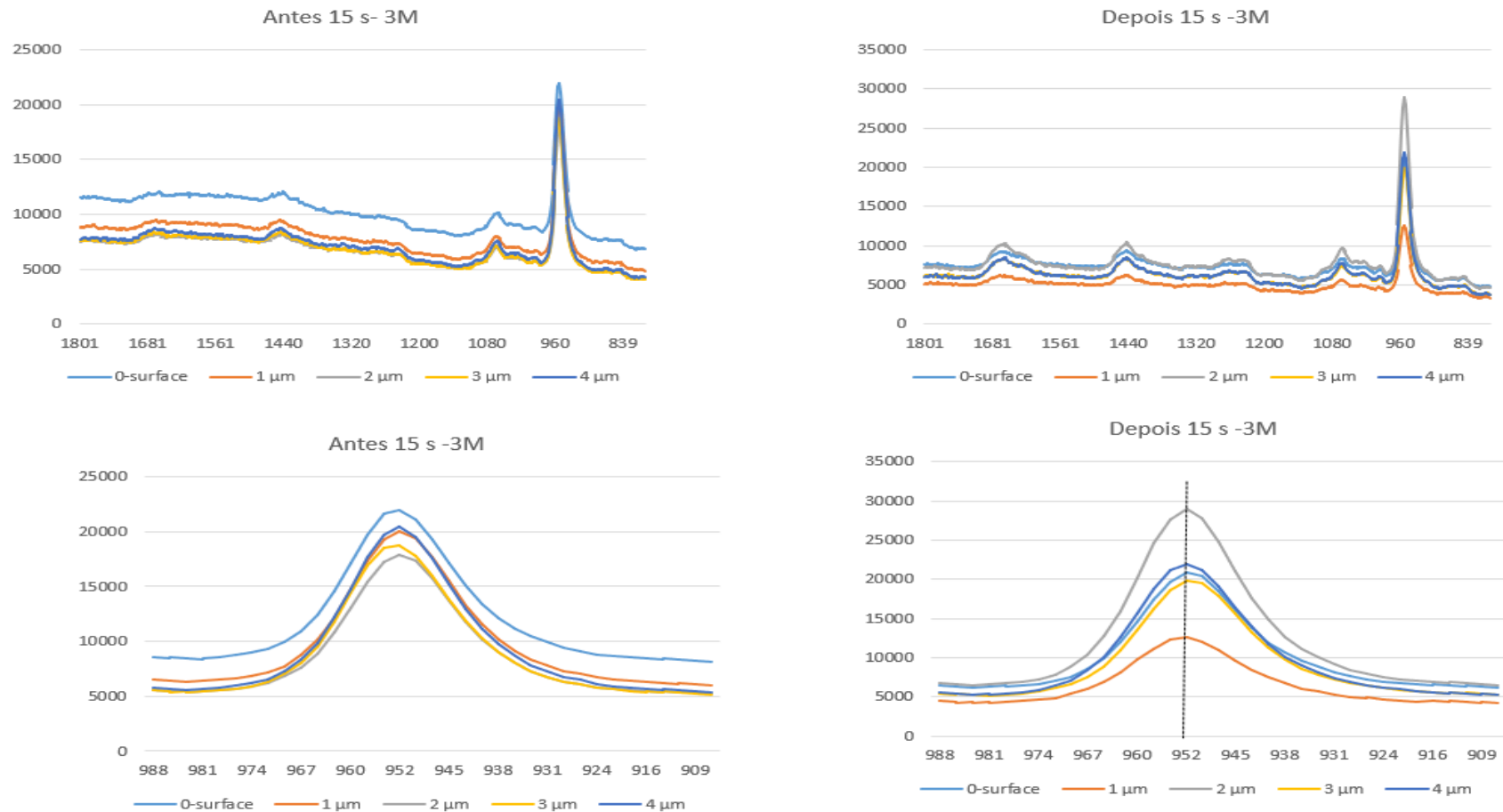
Espectros representativos da Espectroscopia micro-Raman foram obtidos pelo perfil químico dos grupos experimentais (figuras 13 a 20). Todos os espectros foram registrados na região de 800-1800 cm^{-1} , que abrange a região da impressão digital associada ao mineral de dentina e colágeno. Os picos ativos associados ao mineral foram atribuídos a 952 cm^{-1} ($\nu_1 \text{PO}_4^{3-}$, fosfato) e a 1072 cm^{-1} ($\nu_1 \text{CO}_3^{2-}$, carbonato), enquanto que ao colágeno são atribuídos a 1667 cm^{-1} (amida I), 1242 cm^{-1} (amida III) e 1452 cm^{-1} (CH_2). Diferentes perfis químicos foram identificados entre os ácidos e tempos de condicionamento. Para todos os ácidos, o condicionamento promoveu um gradiente de desmineralização, no qual é possível observar diferentes profundidades de desmineralização pelas diferentes intensidades dos picos de fosfato, independentemente do tempo condicionado. Nos ácidos 3M, DP e IV, no tempo de 15 s, parece ter aumentado esse efeito. No entanto, o ácido UD promoveu um padrão mais regular, revelado pela menor diferença de intensidade do pico de fosfato entre as profundidades, nos dois tempos (3 e 15 s). Uma observação interessante foi a mudança promovida no $\nu_1 \text{PO}_4^{3-}$ após 3 s de condicionamento no ácido 3M e 3 e 15 s para UD, bem como a diminuição da largura do pico, especialmente para 3 M em 3s. A mudança em 952 cm^{-1} demonstra modificações na característica mineral e a diminuição da largura está relacionada ao grau de cristalinidade mineral. Além disso, após o condicionamento, são evidenciados picos de colágeno mais intensos para todos os ácidos. Ácidos como o 3M e UD revelaram menos exposição ao colágeno em comparação com o DP e o IV, especialmente o em UD 15 s. Curiosamente, o UD revelou uma profundidade de exposição ao colágeno muito controlada, uma vez que na superfície o pico de colágeno é mais intenso e diminuiu através da profundidade, independentemente do tempo de condicionamento. Enquanto os outros ácidos revelaram padrão irregular de desmineralização e exposição ao colágeno em toda a profundidade.

Figura 13 - Espectros representando as diferentes intensidades do pico ν_1 PO_4^{3-} (fosfato) em até 4 μm de profundidade para 3s do ácido Scotchbond™ Universal Etchant -3M.



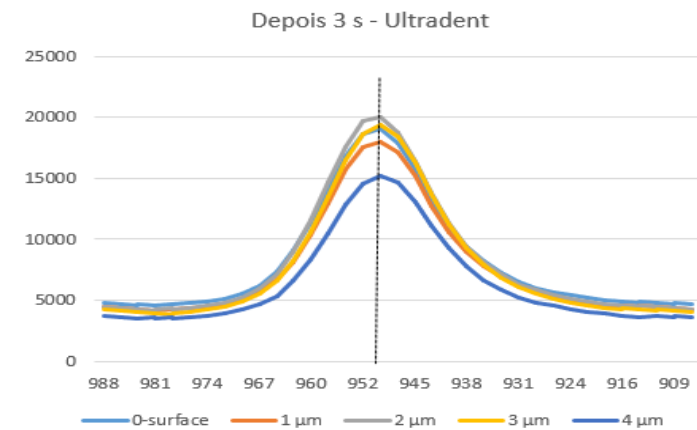
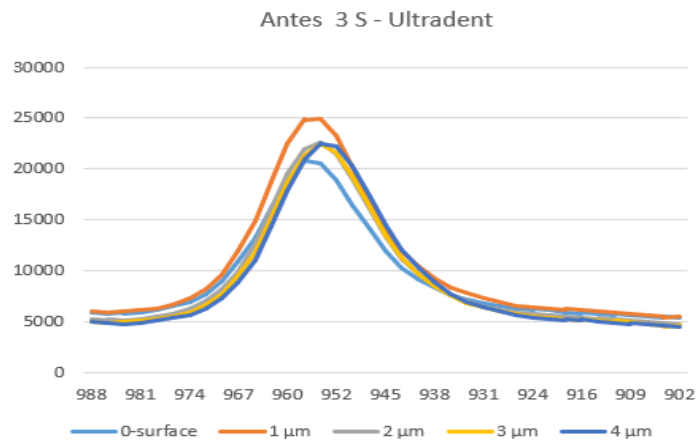
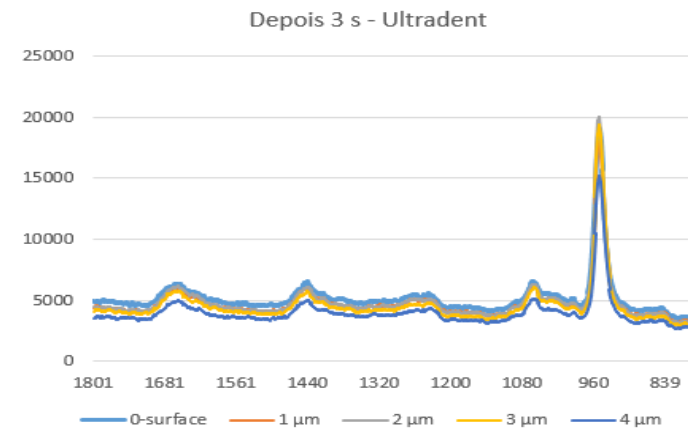
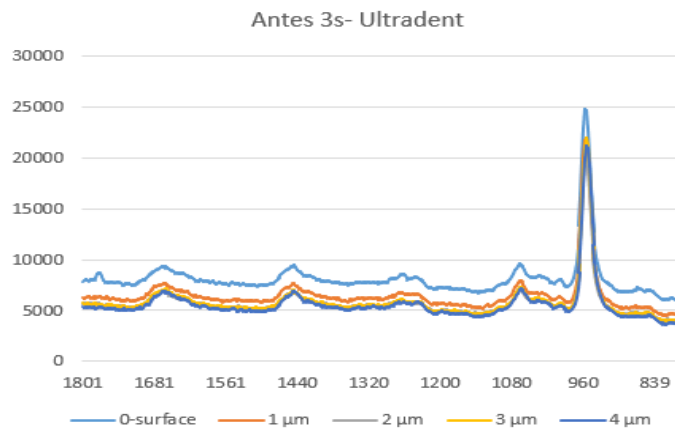
Fonte: O autor

Figura 14 - Espectros representando as diferentes intensidades do pico v1 PO4-3 (fosfato) em até 4 μm de profundidade para 15s do ácido Scotchbond™ Universal Etchant -3M.



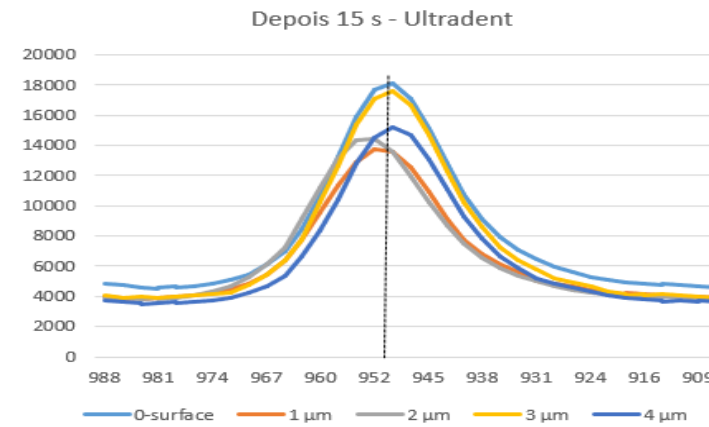
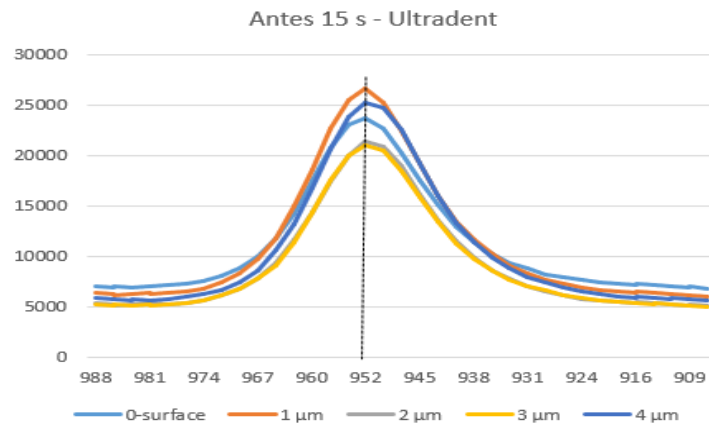
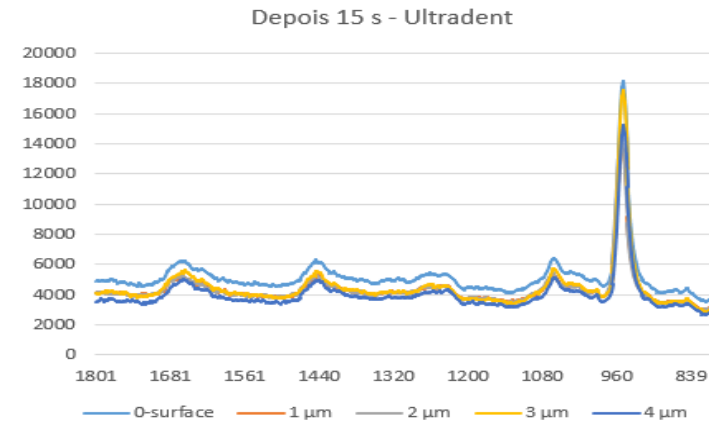
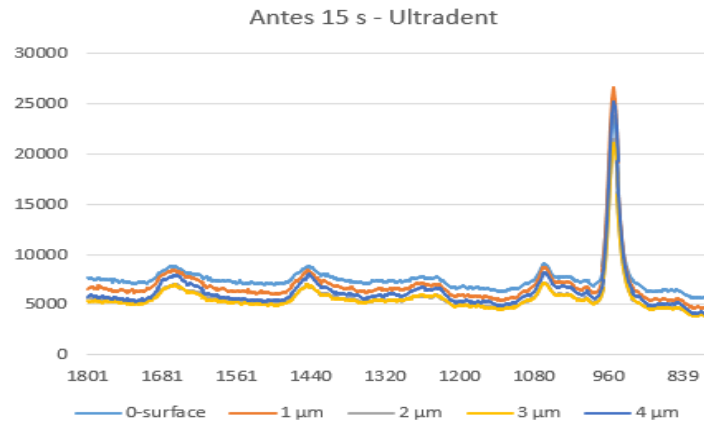
Fonte: O autor

Figura 15 - Espectros representando as diferentes intensidades do pico v1 PO4-3 (fosfato) em até 4 μm de profundidade para 3s do ácido Ultra-etch -Ultradent.



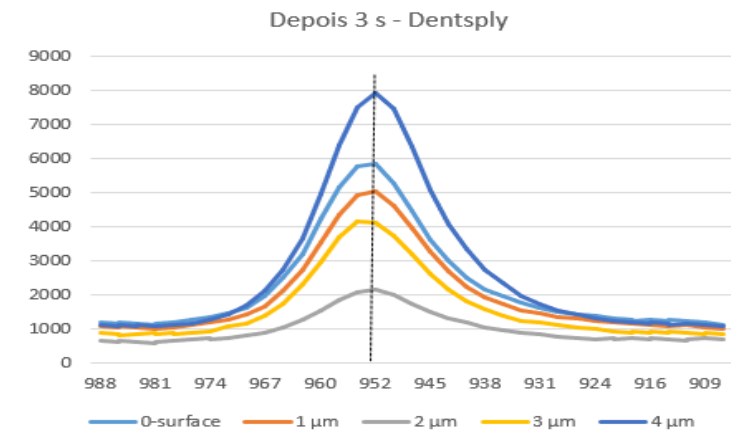
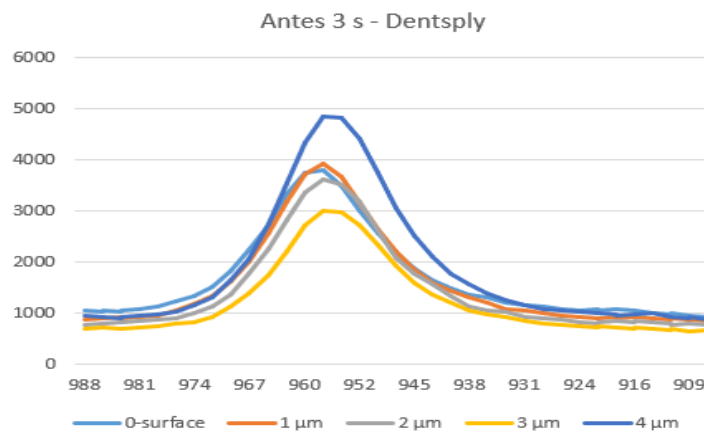
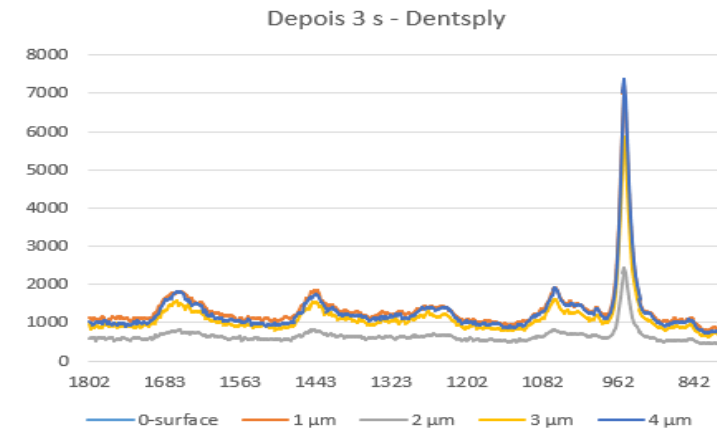
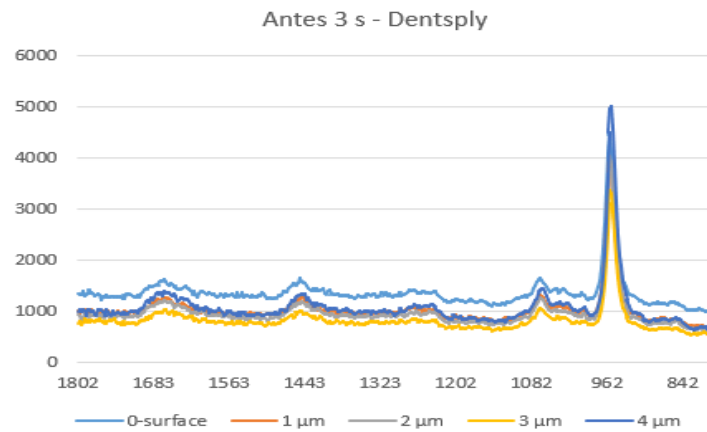
Fonte: O autor

Figura 16 - Espectros representando as diferentes intensidades do pico v1 PO4-3 (fosfato) em até 4 µm de profundidade para 15s do ácido Ultra-etch -Ultradent.



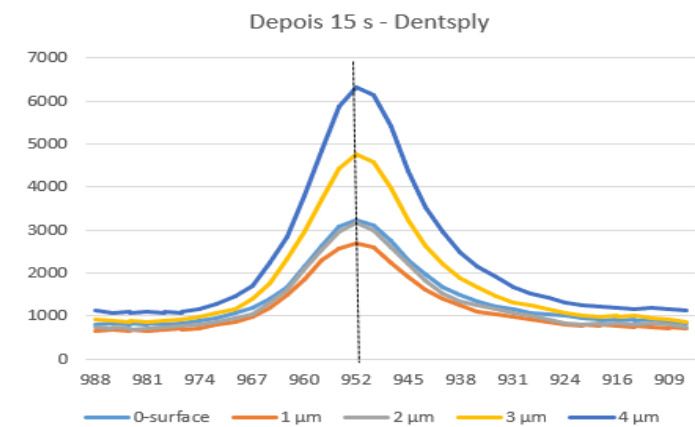
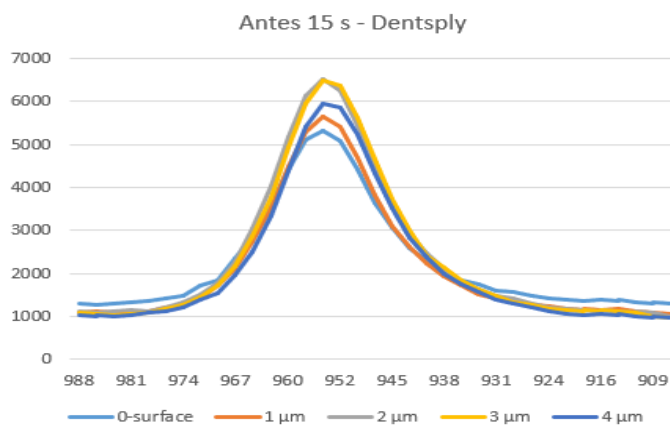
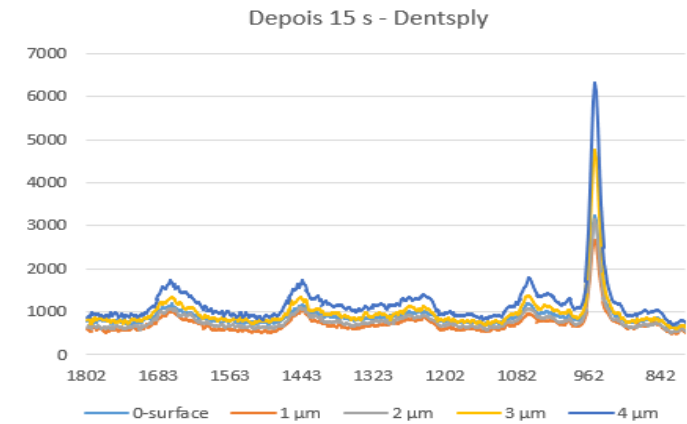
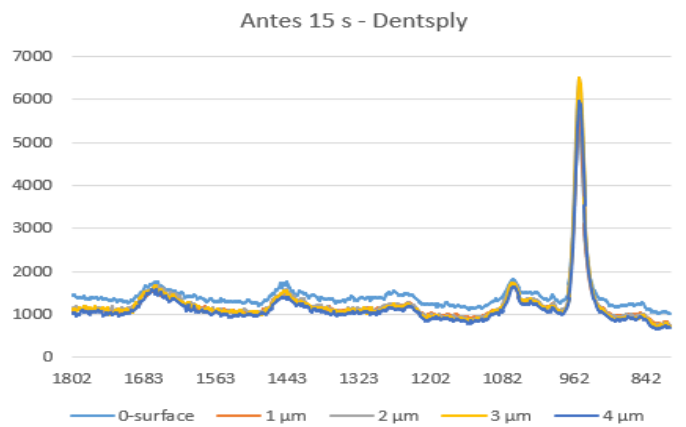
Fonte: O autor

Figura 17 - Espectros representando as diferentes intensidades do pico v1 PO4-3 (fosfato) em até 4 μm de profundidade para 3s do ácido Condicionador Dental Gel Dentsply-Sirona.



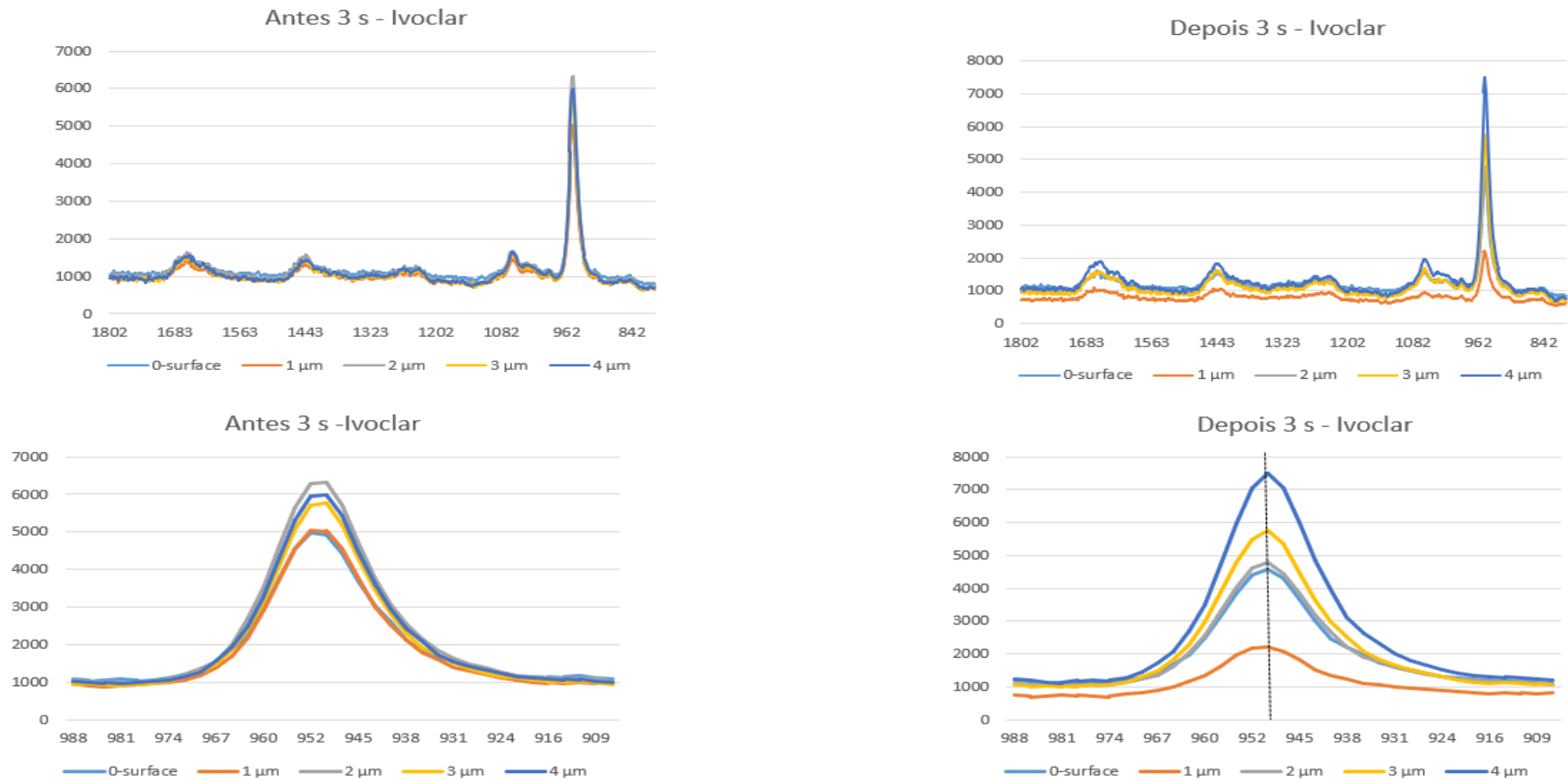
Fonte: O autor

Figura 18 - Espectros representando as diferentes intensidades do pico v1 PO4-3 (fosfato) em até 4 μm de profundidade para 15s do ácido Condicionador Dental Gel Dentsply-Sirona.



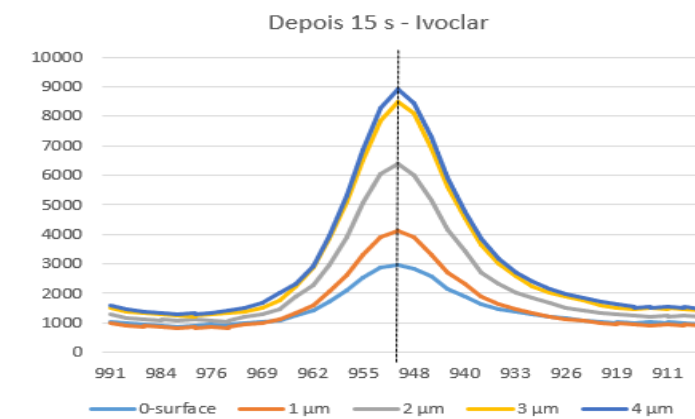
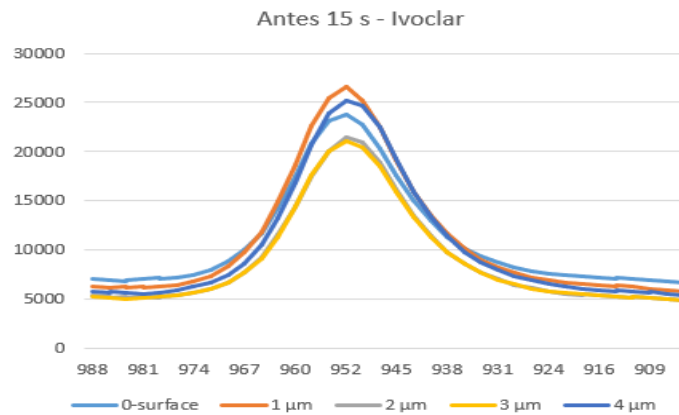
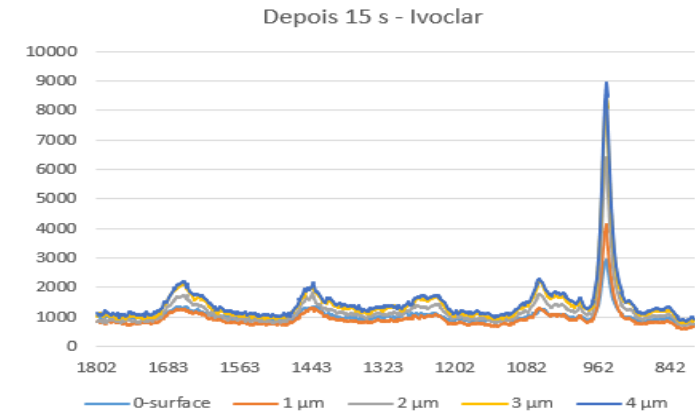
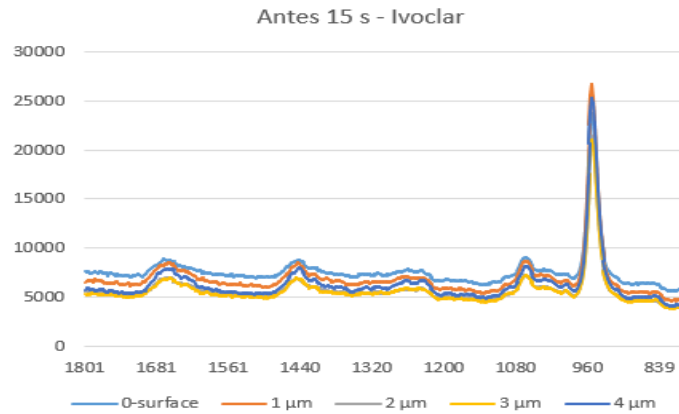
Fonte: O autor

Figura 19 - Espectros representando as diferentes intensidades do pico v1 PO4-3 (fosfato) em até 4 µm de profundidade para 3s do ácido Total Etch – Ivoclar Vivadent.



Fonte: O autor

Figura 20 - Espectros representando as diferentes intensidades do pico v1 PO4-3 (fosfato) em até 4 μm de profundidade para 15s do ácido Total Etch – Ivoclar Vivadent.



Fonte: O autor

- Teste de resistência de união à dentina por microtração

A interação entre produtos dos valores da resistência da união resina-dentina mostrou diferença estatisticamente significativa ($p = 0,03$; Tabela 6). O condicionamento da dentina com UD e 3M apresentou maiores valores de resistência adesiva resina-dentina, estatisticamente superiores aos obtidos para DP e IV, independentemente do tempo de condicionamento ($p = 0,03$; Tabela 6). No entanto, quando comparados 3s e 15s, 3M, DP e IV apresentaram diminuição significativa nos valores de resistência da união resina-dentina ($p = 0,03$; Tabela 6). A porcentagem do padrão de fratura encontrada nos palitos após o teste de microtração, vemos a predominância de fraturas adesivas em todos os ácidos tanto após o condicionamento de 3s (tabela 7) quanto de 15s (tabela 8).

Tabela 6 Valores de resistência de união (média e desvio-padrão) em μ TBS das diferentes estratégias de condicionamento ácido (3 e 15 segundos) no tempo imediato. Letras maiúsculas dentro de cada linha e letras minúsculas dentro de cada coluna indicam a diferença estatística. UD (Ultra-etch -Ultradent); 3M (Scotchbond™ Universal Etchant -3M); IV (Total Etch – Ivoclar Vivadent); DP (Condicionador Dental Gel Dentsply-Sirona).

	UD	3M	DP	IV
3s	42.83 \pm 2.99 Aa	43.15 \pm 1.74 Aa	39.76 \pm 2.47 Ab	37.92 \pm 1.62 Ab
15s	40.61 \pm 2.72 Aa	39.41 \pm 2.53 Bab	36.82 \pm 2.59 Bb	34.46 \pm 1.58 Bb

Tabela 7 Resultado dos tipos de fratura encontradas após 3 segundos. A (adesiva), CR (coesiva em resina) e CD (coesiva em dentina) das diferentes estratégias de condicionamento ácido UD (Ultra-etch -Ultradent); 3M (Scotchbond™ Universal Etchant -3M); IV (Total Etch – Ivoclar Vivadent); DP (Condicionador Dental Gel Dentsply-Sirona).

	UD	3M	DP	IV
A	90%	85%	82.5%	92.5%
CD	7.5%	10%	7.5%	5%
CR	2.5%	5%	10%	2.5%

Tabela 8 Resultado dos tipos de fratura encontradas após 15 segundos. A (adesiva), CR (coesiva em resina) e CD (coesiva em dentina) das diferentes estratégias de condicionamento ácido. UD (Ultra-etch -Ultradent); 3M (Scotchbond™ Universal Etchant -3M); IV (Total Etch – Ivoclar Vivadent); DP (Condicionador Dental Gel Dentsply-Sirona).

	UD	3M	DP	IV
A	85%	90%	82.5%	95%
CD	12.5%	7.5%	12.5%	2.5%
CR	2.5%	2.5%	5%	2.5%

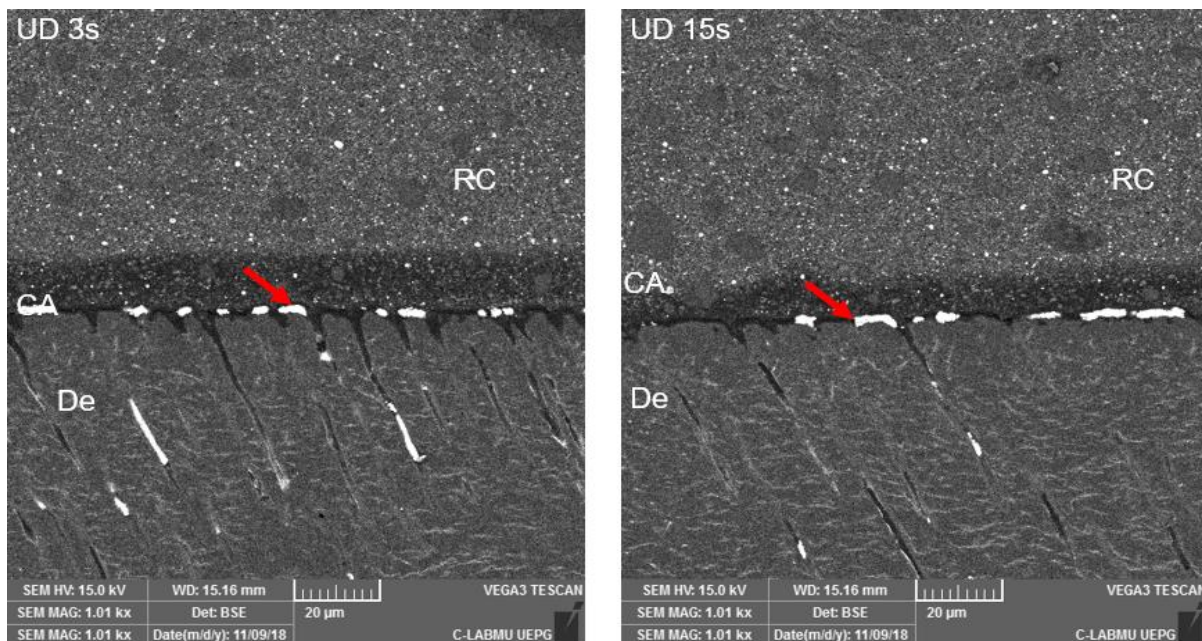
- Avaliação por nanoinfiltração (NI):

Os valores de nanoinfiltração estão representados na tabela 9. A interação entre produtos dos valores de nanoinfiltração mostrou diferença estatisticamente significativa ($p = 0,002$; tabela 9). Após 3 s de tempo de condicionamento, foram observados menores valores de nanoinfiltração para todos os ácidos fosfóricos avaliados ($p > 0,05$; tabela 9). Entretanto, após 15 s do tempo de condicionamento, 3M, DP e IV apresentaram maiores valores de nanoinfiltração, estatisticamente superiores aos obtidos nos 3 s de condicionamento ($p = 0,02$; tabela 9) (figuras 22, 23 e 24 respectivamente). Além disso, quando são comparados os valores de nanoinfiltração após 15 s de condicionamento, foram observados valores mais altos de nanoinfiltração para DP e IV em comparação com UD ($p = 0,02$; tabela 9)(figura 21). O ácido da 3M mostrou uma quantidade intermediária de nanoinfiltração quando aplicada por 15 s em comparação com os outros ácidos testados (tabela 9).

Tabela 9 Valores de médias e desvio-padrão da nanoinfiltração obtidos das diferentes estratégias de condicionamento ácido (3 e 15 segundos). Letras maiúsculas dentro de cada linha e letras minúsculas dentro de cada coluna indicam a diferença estatística. UD (Ultra-etch -Ultradent); 3M (Scotchbond™ Universal Etchant -3M); IV (Total Etch – Ivoclar Vivadent); DP (Condicionador Dental Gel Dentsply-Sirona).

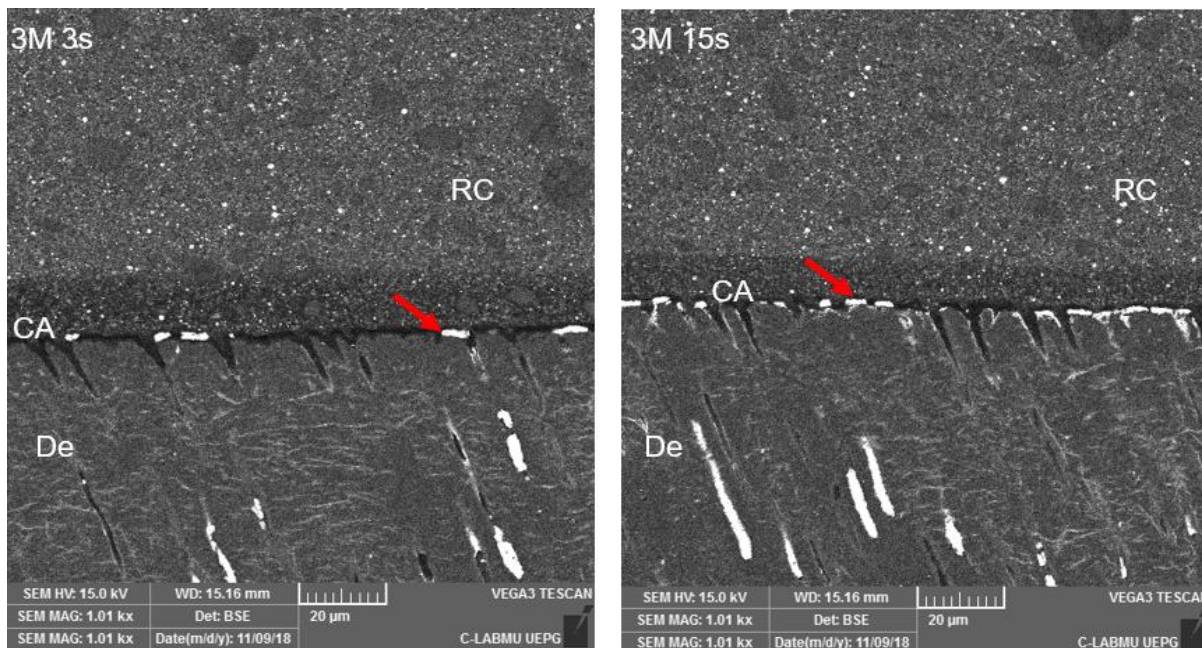
	UD	3M	DP	IV
3s	11.30 ± 2.15 Aa	11.16 ± 1.68 Aa	13.13 ± 3.24 Aab	17.66 ± 2.33 Ab
15s	13.02 ± 2.29 Aa	14.34 ± 2.86 Ba	20.22 ± 4.34 Bb	20.59 ± 3.38 Bb

Figura 21 Imagens obtidas através do MEV para análise de nanoinfiltração com o ácido fosfórico Ultra-etch -Ultradent. Condicionada com 3 s e condicionada com 15 s. RC = resina composta, CA = camada adesiva, De = dentina, a disposição do nitrato de prata está indicado pelas setas.



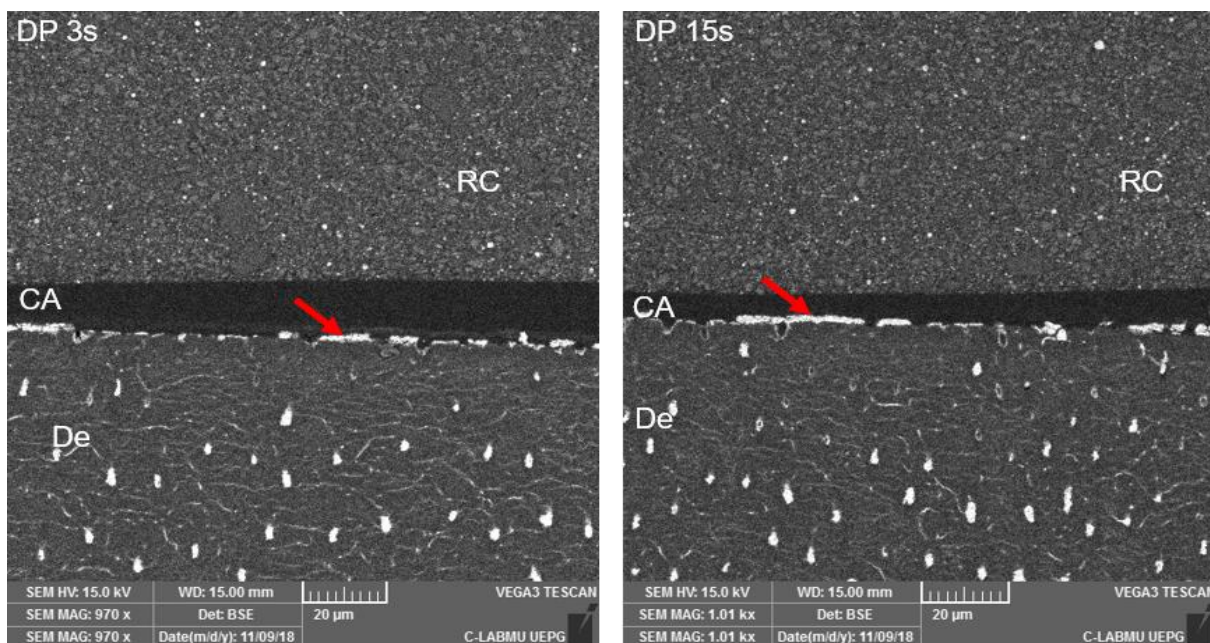
Fonte: O autor

Figura 2 Imagens obtidas através do MEV para análise de nanoinfiltração com o ácido fosfórico Scotchbond™ Universal Etchant -3M. Condicionada com 3 s e condicionada com 15 s. RC = resina composta, CA = camada adesiva, De = dentina, a disposição do nitrato de prata está indicado pelas setas.



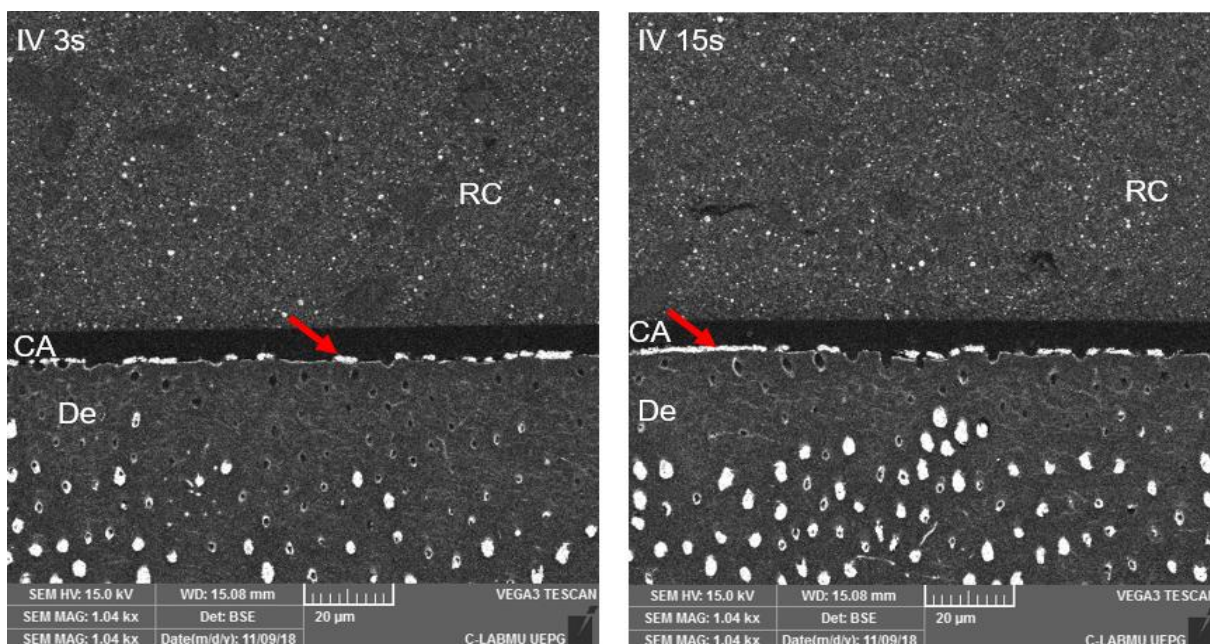
Fonte: O autor

Figura 23 Imagens obtidas através do MEV para análise de nanoinfiltração com o ácido fosfórico Condicionador Dental Gel Dentsply-Sirona. Condicionada com 3 s, e condicionada com 15 s. RC = resina composta, CA = camada adesiva, De = dentina, a disposição do nitrato de prata está indicado pelas setas.



Fonte: O autor

Figura 24 Imagens obtidas através do MEV para análise de nanoinfiltração com o ácido fosfórico Total Etch – Ivoclar Vivadent. Condicionada com 3 s e condicionada com 15 s. RC = resina composta, CA = camada adesiva, De = dentina, a disposição do nitrato de prata está indicado pelas setas.

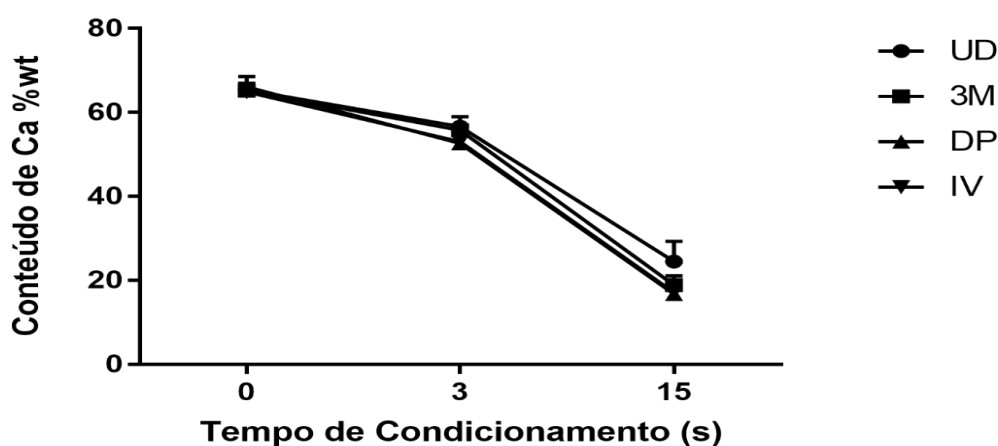


Fonte: O autor

- Teor residual de Ca na dentina desmineralizada

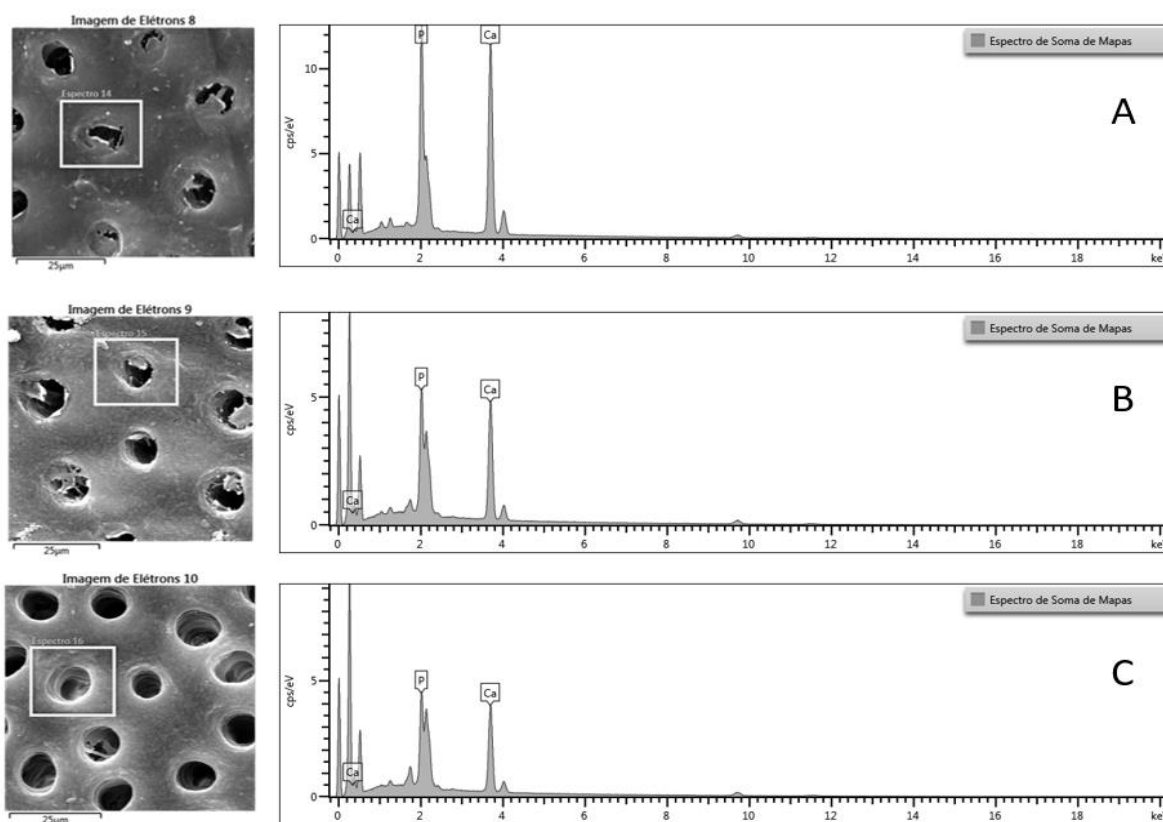
Primeiramente, é importante salientar que para verificar a influência dos ácidos na desmineralização, foi avaliada a porção inorgânica da dentina que consiste de sais minerais sob a forma de cristais de hidroxiapatita. Cada cristal é composto por vários milhares de unidades e cada unidade básica fundamental tem como fórmula $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, para análise em questão foi selecionado apenas o elemento Ca para determinar esta desmineralização (figura 25). Para uma análise quantitativa, vemos que o conteúdo de Ca diminuiu significativamente para todos os ácidos os tempos de 0, 3 e 15s respectivamente ($p < 0,05$) (figura 26). Levando-se em consideração os diferentes ácidos a partir de mesmo tempo, verificou-se que não houve diferença no teor de Ca entre os ácidos ($p > 0,05$). Ao fazermos uma análise qualitativa a partir do mapeamento da superfícies condicionadas (figura 27), percebemos que de fato há uma diferença entre os diferentes tempos 0, 3 e 15s expressos na figura 28, o qual mostra que a distribuição de Ca (expresso na cor rosa) e P (expresso na cor verde) sofre uma significativa alteração na região peritubular, indicando que de maneira bem superficial ($\pm 3\mu\text{m}$) ocorre uma desmineralização das superfícies condicionadas.

Figura 25 Médias e desvios-padrões do conteúdo de Cálcio encontrado nas superfícies após diferentes estratégias de condicionamento ácido (3 e 15 segundos). UD (Ultra-etch -Ultradent); 3M (Scotchbond™ Universal Etchant -3M); IV (Total Etch – Ivoclar Vivadent); DP (Condicionador Dental Gel Dentsply-Sirona).



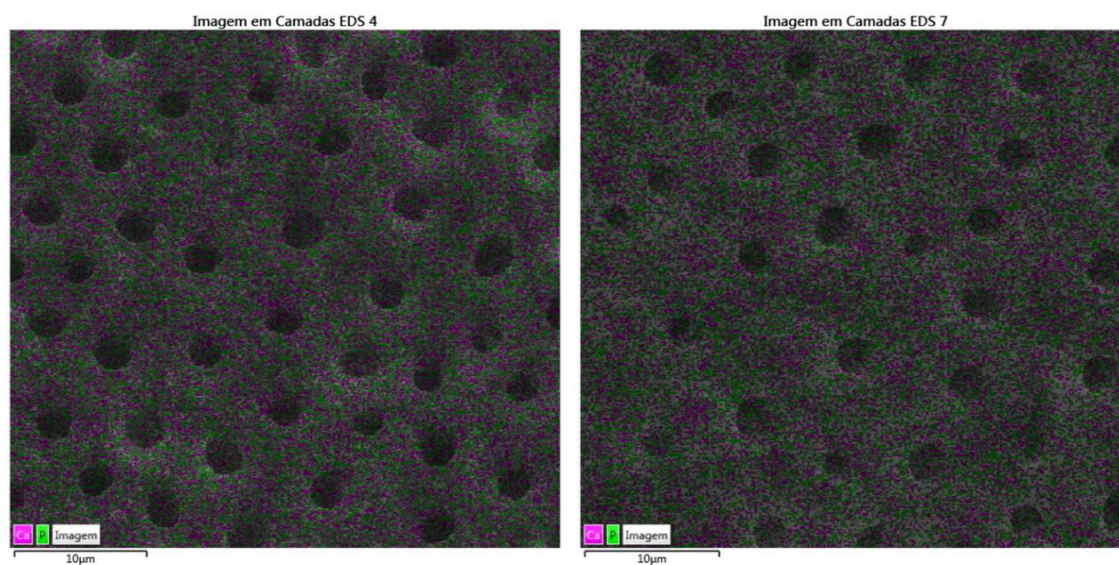
Fonte: O autor

Figura 26 Análise ao EDS com o gráfico mostrando a concentração de Cálcio (Ca) e Fósforo (P); A = da dentina sem condicionamento; B = após 3 s de condicionamento; C = após 15s de condicionamento.



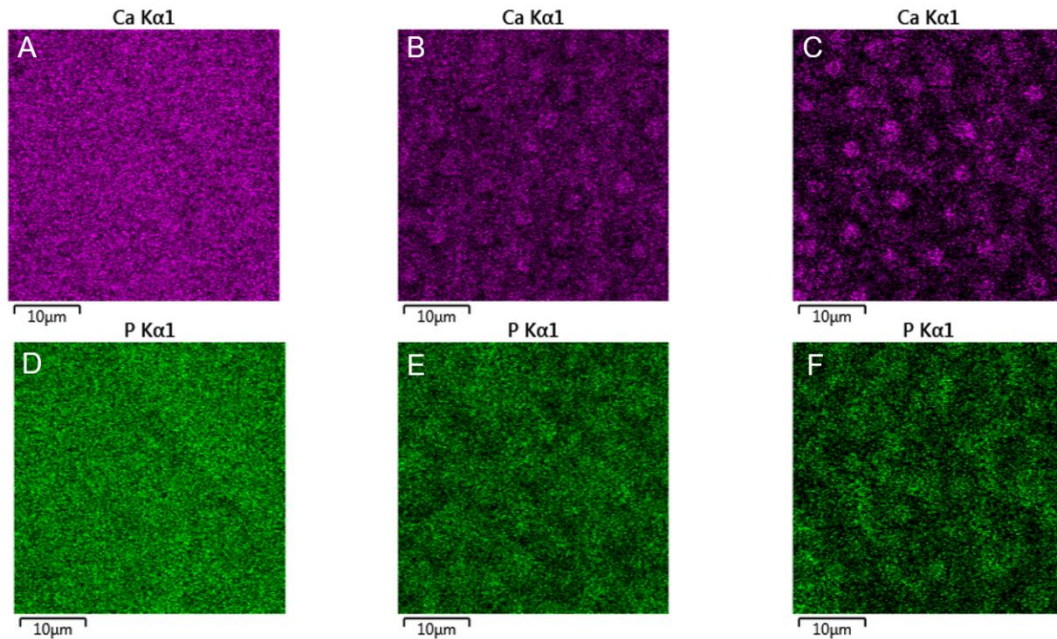
Fonte: O autor

Figura 27 Imagens representando como foi realizado o mapeamento das superfícies condicionadas para análise de EDS. Os pontos rosa indicam Cálcio (Ca) e os pontos verdes indicam Fósforo (P).



Fonte: O autor

Figura 28 Imagem mostrando a diferença na distribuição de Cálcio (Ca) em rosa e Fósforo (P) em verde. A = concentração de Ca sem condicionamento; B = concentração de Ca após 3s de condicionamento; C = concentração de Ca após 15s de condicionamento; D concentração de P sem condicionamento; E = concentração de P após 3s de condicionamento e F = concentração de P após 15s de condicionamento.



Fonte: O autor

6. DISCUSSÃO

Estudos mostram que há uma relação entre a profundidade de desmineralização da dentina e o tempo de condicionamento ácido (PERDIGÃO; LOPES, 2001). Neste sentido, este trabalho mostrou que o ácido UD apresentou de fato uma capacidade de ação controlada com uma menor profundidade frente aos outros ácidos testados seguido do ácido da 3M, o qual mostrou um bom comportamento comparado aos outros testados (DP e IV).

Essa característica auto-limitante do ácido UD pode ser explicada por não conter glicerina em sua composição conforme informa o fabricante, facilitando assim sua solubilidade na hora da lavagem (SYROP, 2008). A viscosidade da maioria dos géis dos ácidos, mantido principalmente pela glicerina, a qual fica alojada na superfície, o cálcio superficial desmineralizado funciona como um tampão para resistir a mudanças na concentração de íons hidrogênio. Outro ponto, é por não apresentar polímeros em sua composição, pois a adição de polímeros pode interferir peso molecular, presumindo-se que o produto final fique mais denso com adição de polímero prejudicando sua lavagem.

A profundidade de desmineralização encontrada, está de acordo com alguns relatos prévios na faixa de 1 a 6 μm (SCHULZE; OLIVEIRA; WILSON; GANSKY *et al.*, 2005). Convergindo com nossos resultados, a literatura mostra em alguns estudos morfológicos da dentina condicionada com diferentes ácidos fosfóricos em concentrações semelhantes que realmente podem resultar em diferentes profundidades de desmineralização da dentina (PERDIGÃO; LAMBRECHTS; VAN MEERBEEK; TOME *et al.*, 1996). Essa diferença pode ser uma consequência da composição de cada ácido, como por exemplo no uso de espessantes e outros modificadores, como polímeros e pigmentos, introduzidos pelo fabricantes na composição de seus géis (PERDIGÃO; LOPES, 2001).

Os ácidos que apresentam sílica como espessante, ocasionam uma penetração mais lenta quando comparada a outros espessantes (WANG; HUME, 1988). Porém, a sílica pode ficar acumulada na entrada dos túbulos dentinários, em razão da dificuldade em ser removida na lavagem, e interferir no procedimento adesivo. Concentrações semelhantes de ácido fosfórico com espessantes diferentes são capazes de produzir padrões diferentes de desmineralização, bem como morfologias distintas na dentina condicionada (PERDIGÃO; DENEHY; SWIFT, 1994).

Possíveis diferenças no agente espessante entre os condicionadores utilizados podem ser encontradas, porém qualquer discussão a respeito dessas características é imprecisa, uma vez que a composição destes é pobremente fornecida pelos fabricantes(PASSOS; SANTOS; RODRIGUES; GRIZA *et al.*, 2012).

Embora a mensuração realizada foi baseada em numa metodologia já existente(PERDIGAO; LAMBRECHTS; VAN MEERBEEK; TOME *et al.*, 1996), é importante ressaltar que os valores da profundidade de desmineralização podem estar subestimados, pois ao preparar as amostras para o MEV há um encolhimento de dentina desmineralizada em todas as etapas(CARVALHO; YOSHIYAMA; TAGAMI; SANO *et al.*, 1996).

Nossos resultados mostram que os ácidos UD e 3M tamponaram mais rápido, precisando de menos NaOH, indicando um potencial ácido reduzido e impactando diretamente nos valores de pH. Uma vez que pHs maiores resultam em uma menor desmineralização, (CARDENAS; DE SIQUEIRA; BANDECA; FEITOSA *et al.*, 2017) a importância do pH em relação aos efeitos dos ácidos sobre as superfícies dentinárias está relacionada aos níveis de condicionamento que aumentam quando o pH diminui e em relação ao estabelecimento de intensas forças de adesão à dentina, a penetração superficial pode ser relacionada ao pH maior com outros ácidos(PERDIGÃO; LOPES, 2001). Um pH < 1 faz com que o mineral extra-fibrilar e intra-fibrilar das superfícies da dentina seja completamente dissolvido, favorecendo a desidratação das fibrinas desmineralizadas e então colapsarem estabelecendo interações químicas através da ligação de hidrogênio durante o mecanismo de adesão (EL FENINAT; ELLIS; SACHER; STANGEL, 2001).

Por muito tempo defende-se a eficácia do condicionamento por 15s em dentina(PASHLEY; TAY; BRESCHI; TJADERHANE *et al.*, 2011). No entanto, existe uma abordagem de que o tempo reduzido de aplicação de ácido fosfórico pode gerar melhores resultados(GORACCI; RENGO; EUSEPI; JULOSKI *et al.*, 2013; OSORIO; AGUILERA; OTERO; ROMERO *et al.*, 2010; SARDELLA; DE CASTRO; SANABE; HEBLING, 2005; STAPE; WIK; MUTLUAY; AL-ANI *et al.*, 2018).

Devido às particularidades de cada produto, é importante testar diferentes marcas comerciais de ácido fosfórico in vitro.

O presente estudo mostrou que houve mudanças estruturais na a morfologia do substrato dentinário para a maioria dos ácidos quando aplicados por 15s em comparação a 3s sendo a diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$), com exceção para o ácido UD que apresentou valores próximos com 3 e 15s de condicionamento.

A morfologia variou de acordo com diferentes tempos e diferentes marcas comerciais com concentrações próximas, concordando com relatos anteriores, mostrando uma maior densidade tubular para os ácidos DP e IV, indicando que geraram uma maior desmineralização.(PIMENTA; PENIDO; CRUZ RDE; ALVES, 2010). O modelo parcialmente desmineralizado pelos tempos de 3s em especial do ácido de ação controlada UD sugere possuir cristalitos de apatita remanescentes que podem atuar como modelos para a deposição mineral (LIU; SETHURAMAN; WU; NANCOLLAS *et al.*, 1997), isto pode ser atribuído a mesma lógica de quando se reduz drasticamente a concentração de H_3PO_4 , a qual percebe-se à remoção incompleta de cristais de apatita intrafibrilar, se a acidez do condicionador for reduzida pela redução da concentração de ácido fosfórico até um certo ponto(LI; ZHU; MA; WANG *et al.*, 2016), ou na nosso estudo reduzir o tempo convencional de 15 s para 3s, é teoricamente possível desmineralizar seletivamente os minerais extrafibrilares e manter os minerais intrafibrilares pelo menos parcialmente intactos. Entendemos que com 15s os cristais de apatita intrafibrilar são completamente removidos.

Outro ponto importante é que com o condicionamento por mais tempo, gera uma desmineralização mais acentuada e isso faz com que a difusão completa do monômero de resina, especialmente os que apresentam alto peso molecular, seja limitado à dentina desmineralizada(PASHLEY; TAY; BRESCHI; TJADERHANE *et al.*, 2011), resultando na formação de uma zona de dentina desmineralizada mais fraca e não impregnada no fundo da camada híbrida(CARDENAS; SIQUEIRA; BANDECA; COSTA *et al.*, 2018). A espessura da camada híbrida pode ser considerada um indicador da profundidade da desmineralização da dentina, sem levar em consideração a área superficial de dentina dissolvida irreversivelmente por ataque ácido(PERDIGÃO; LOPES, 2001).

Nossos resultados mostram que para todos os ácidos houve uma diminuição do conteúdo residual de Ca a medida que se aumenta o tempo condicionamento de 3 para 15s, podendo estar desta forma, relacionado com a profundidade de desmineralização encontrada. Nós entendemos que existe uma relação entre o conteúdo de cálcio residual após o condicionamento e uma melhor eficácia da união adesiva, pois os monômeros do sistema adesivo contendo 10-MDP vão interagir com íons Ca para garantir uma união química além da micromecânica. De um modo geral, quanto menor o potencial acídico dos condicionadores, seja por menos tempo ou menor concentração, resultam em conteúdos residuais de Ca maiores e maior resistência de união(LI; ZHU; MA; WANG *et al.*, 2016).

No que diz respeito a rugosidade dentinária, nossos achados mostram um aumento da mesma quando utilizado maiores tempos de condicionamento; com exceção do grupo UD, pois este apresentou características similares nos tempos de 3 e 15 s. A rugosidade da dentina por ter um menor conteúdo mineral do que o esmalte, após o condicionamento resta uma menor quantidade de mineral para ser lavado. Outra diferença estrutural é a presença de fibras colágenas tipo I; que podem encolher após a secagem ao ar após o condicionamento e mascarar as características da superfície rugosa(NANCI; TEN CATE, 2013), este fator prejudicaria o processo de adesão uma vez que interferiria na infiltração dos monômeros resinosos. Essa é uma das possíveis razões para uma melhor resistência adesiva dos materiais de resina ao esmalte, em vez da dentina(ZAFAR; AHMED, 2015).

O aumento da rugosidade da dentina após condicionamento ácido é necessário para aumentar o ângulo de contato e favorecer a molhabilidade do substrato. Isso é obtido pelo condicionamento ácido. Todavia, em excesso, prejudica a adesão, devido à profundidade de desmineralização. Sendo assim optar por ácidos que geram uma menor rugosidade parece ser uma vantagem pois mudança nas propriedades da superfície em resposta ao tempo de condicionamento é relacionada a variações químicas e estruturais do tecido duro dental, como conteúdo mineral, quantidade de fibras de colágeno expostas e devem ser consideradas a fim de aprimorar os resultados clínicos(ZAFAR; AHMED, 2015).

A dentina é composta por dois substratos diferentes, fibras de colágeno com baixa energia superficial e hidroxiapatita, com alta energia superficial.

Após o condicionamento ácido, a energia superficial é diminuída pois ocorre a perda mineral pela demineralização e conseqüentemente há exposição das fibras colágenas (TOLEDANO; OSORIO; PERDIGAO; ROSALES *et al.*, 1999).

Um aumento significativo na molhabilidade é observado tanto na dentina superficial quanto na profunda após o condicionamento, o que certamente é algo positivo pois a extensão em que uma gota do adesivo molhará a superfície dentinária depende das interações químicas entre o líquido e o substrato, desde que na medida certa, portanto deve-se levar em consideração a ação capilar e rugosidade da dentina (TOLEDANO; OSORIO; PERDIGAO; ROSALES *et al.*, 1999; WENZEL, 1936).

De fato o condicionamento ácido produz um aumento na molhabilidade da dentina devido ao aumento da rugosidade da superfície da dentina e à abertura e ampliação dos túbulos dentinários (TOLEDANO; OSORIO; PERDIGAO; ROSALES *et al.*, 1999), entretanto deve-se ter cuidado com a super exposição de fibras de colágeno ocasionadas por um aumento na profundidade desmineralizada e conseqüentemente na rugosidade conforme mostra nossos resultados.

Isto é um problema porque com uma maior a profundidade de desmineralização, os monômeros resinosos não conseguirão infiltrar completamente em toda essa extensão, ocasionando assim um GAP entre a dentina demineralizada a camada híbrida formada e também com essa super exposição das fibras de colágeno as quais desidratarão sendo colapsadas com maior facilidade, diminuindo a infiltração do monômero resinoso e prejudicando a adesão. O fato de gerar uma desmineralização menos acentuada, evitando o sobre-condicionamento é uma vantagem, pois previamente a aplicação de monômeros de resina, é importante manter as microporosidades dentro da matriz de colágeno desmineralizada, pois quando a água é evaporada, as fibrilas de colágenos flexíveis formam ligações de hidrogênio interpeptídicas de forma relativamente rápida, isto gera o colapso da matriz e ocasiona uma barreira impermeável a qual irá prejudicar a ideal infiltração dos monômeros resinosos (LI; ZHU; MA; WANG *et al.*, 2016).

O sobre-condicionamento acontece quando gera uma profundidade em que os monômeros resinosos não serão capazes de se infiltrar na dentina desmineralizada.

A penetração incompleta dessa rede de colágeno desmineralizado, pode resultar em uma zona delicada dentro da camada híbrida e entre a dentina inalterada, deixando assim ser suscetível à degradação contínua, o que certamente será prejudicial pois favorecerá a nanoinfiltração.

Os cristais de hidroxiapatita (HA) que se formaram nas superfícies das paredes tubulares sob a camada desmineralizada atuam como núcleos de sementes para iniciar a formação do cristal de HA, que oclui os túbulos dentinários, sendo uma vantagem para futuros processos de remineralização(WU; MEI; LI; CAO *et al.*, 2015). Assim, a matriz de colágeno aprisiona os íons minerais pode induzir uma futura formação mineral, uma vez que a matriz de colágeno é muito fortalecida quando as fibrilas de colágeno são suportadas por cristalitos de apatita intra-fibrilar(LI; ZHU; MA; WANG *et al.*, 2016).

A dentina é composta por 30% vol de proteína, predominantemente na forma de fibrilas de colágeno tipo I, 50% em volume de minerais e 20% em volume de fluido à base de água. A fase mineral que reforça a fase orgânica é conceitualmente dividido em: 1) minerais interfibrilares que estão ligados a superfície da fibrila e separam as fibrilas de colágeno mineralizadas umas das outras e 2) minerais intra-fibrilares que são formados inicialmente dentro dos espaços entre as hélices triplas do colágeno e eventualmente se estendem para os espaços entre as microfibrilas(VAN MEERBEEK; YOSHIHARA; YOSHIDA; MINE *et al.*, 2011).

Levando-se em consideração que minerais interfibrilares representam 67%, enquanto os minerais intra-fibrilares representam apenas 25 a 30% do conteúdo mineral total na matriz de dentina(KINNEY; HABELITZ; MARSHALL; MARSHALL, 2003), é claro a importância da relação das propriedades mecânicas das fibras de colágeno com o grau de mineralização do substrato . Embora os minerais intrafibrilares não possam ser identificados usando MEV, eles contribuem substancialmente para a mecânica propriedades da dentina(LI; ZHU; MA; WANG *et al.*, 2016).

O condicionamento dentinário, mesmo que por pouco tempo, pode levar a mudanças suficientes em sua morfologia. Uma extensa desmineralização da dentina intertubular faz com que as fibras de colágeno colapsem e os cristais de fosfato de cálcio precipitem e, portanto, forma uma camada protetora que pode não possibilitar esta área ser completamente impregnada pelo primer adesivo e pelo monômero resinoso(GATEVA; GUSYISKA; STANIMIROV; KABAKTCHIEVA *et al.*, 2016).

Foi questionado a relevância clínica destes achados ao utilizar o ácido de ação controlada UD, entretanto, o estudo em questão foi realizado em esmalte e em tempo mínimo de 15 segundos(WILSON; LIEN; LEE; DUNN, 2017), no nosso estudo realizamos o condicionamento na dentina e por tempos menores e também mostramos o impacto desta menor taxa de desmineralização na força de união e na nanoinfiltração e concluímos que esta diferença no gradiente de desmineralização pode sim afetar os resultados clinicamente. Importante ressaltar que o problema com tempos de condicionamento muito longos ou o potencial de desmineralização dos condicionadores não é a somente a profundidade de desmineralização, mas também as mudança na morfologia da superfície dentinária diferentes padrões de condicionamento, tais como a rugosidade da superfície e concentração de Cálcio, que são extremamente relevantes para a adesão micromecânica.

Nossos resultados mostram uma diferença no padrão de desmineralização da dentina condicionada por diferentes marcas comerciais e sugerem que reduzindo o tempo de condicionamento ácido para 3s ao invés de 15s como é indicado tradicionalmente, permite a formação de um substrato dentinário capaz de garantir uma boa força de união. Concordamos que este fato pode ser visto como uma alternativa para evitar a possibilidade de aumento desnecessário na desmineralização, o que causaria danos as fibras colágenas, podendo ocasionar uma impregnação incompleta do sistema adesivo e uma queda na qualidade da força de união e portanto favorecimento de nanoinfiltração e falha da restauração(GATEVA; GUSYISKA; STANIMIROV; KABAKTCHIEVA *et al.*, 2016). A possibilidade de controlar a ação do ácido evitando o sobre-condicionamento sem colocar em risco o mecanismo de adesão é um conceito atraente(WILSON; LIEN; LEE; DUNN, 2017). Sobre-condicionamento pode ocorrer quando o ácido é muito forte (maior concentração ou menor pH) ou fica no dente por muito tempo, resultando em uma sobre-exposição das fibras colágenas as quais ficariam colapsadas o que não é favorável à penetração de adesivos de resina(WILSON; LIEN; LEE; DUNN, 2017).

7. CONCLUSÃO

Conclui-se que o ácido UD possui ação controlada e gera uma desmineralização menos acentuada evitando uma sobre-exposição das fibras de colágeno.

O perfil químico da dentina condiciona pelo ácido UD mostrou uma maior regularidade em ambos os tempos testados.

Condicionando-se a dentina por 3s consegue manter um maior conteúdo residual de Cálcio em todos os ácidos testados.

O condicionamento na dentina por 3 segundos pode levar a alterações significativas em sua estrutura e ser suficiente para permitir a penetração dos monômeros adesivos melhorando os resultados de resistência de união e nanoinfiltração.

REFERÊNCIAS

BRAJDIĆ, D.; KRZNARIĆ, O. M.; AZINOVIĆ, Z.; MACAN, D. *et al.* Influence of different etching times on dentin surface morphology. **Collegium Antropologicum**, 32, n. 3, p. 893-900, 2008/09// 2008.

BUONOCORE, M. G. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. **Journal of Dental Research**, 34, n. 6, p. 849-853, 1955/12// 1955.

CARDENAS, A. F. M.; DE SIQUEIRA, F. S. F.; BANDECA, M. C.; FEITOSA, V. P. *et al.* Effect of pH and application times of a meta-phosphoric acid on resin-dentin bonding properties. **International Journal of Adhesion and Adhesives**, 74, p. 107-114, 2017.

CARDENAS, A. F. M.; SIQUEIRA, F. S. F.; BANDECA, M. C.; COSTA, S. O. *et al.* Impact of pH and application time of meta-phosphoric acid on resin-enamel and resin-dentin bonding. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, 78, p. 352-361, Feb 2018.

CARVALHO, R. M.; YOSHIYAMA, M.; TAGAMI, J.; SANO, H. *et al.* Shrinkage of demineralized dentin during preparation for sem. **Journal of Dental Research**, 75, n. (spec.), p. 390, 1996.

DUTRA-CORREA, M.; ANAUATE-NETTO, C.; ARANA-CHAVEZ, V. E. Density and diameter of dentinal tubules in etched and non-etched bovine dentine examined by scanning electron microscopy. **Archives of Oral Biology**, 52, n. 9, p. 850-855, Sep 2007.

EL FENINAT, F.; ELLIS, T. H.; SACHER, E.; STANGEL, I. A tapping mode AFM study of collapse and denaturation in dentinal collagen. **Dental Materials**, 17, n. 4, p. 284-288, Jul 2001.

GATEVA, N.; GUSYISKA, A.; STANIMIROV, P.; KABAKTCHIEVA, R. *et al.* EFFECT OF ETCHING TIME AND ACID CONCENTRATION ON MICROMORPHOLOGICAL CHANGES IN DENTIN OF BOTH DENTITIONS. **Journal of IMAB - Annual Proceeding (Scientific Papers)**, 22, p. 1099-1110, 04/19 2016.

GIANNINI, M.; MAKISHI, P.; AYRES, A. P. A.; VERMELHO, P. M. *et al.* Self-Etch Adhesive Systems: A Literature Review. **Brazilian Dental Journal**, 26, n. 1, p. 3-10, 2015/02// 2015.

GOLDSTEIN, J. **Scanning electron microscopy and x-ray microanalysis**. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2003. 0306472929 9780306472923.

GORACCI, C.; RENGO, C.; EUSEPI, L.; JULOSKI, J. *et al.* Influence of selective enamel etching on the bonding effectiveness of a new "all-in-one" adhesive. **American Journal of Dentistry**, 26, n. 2, p. 99-104, Apr 2013.

GWINNETT, A. J. Moist versus dry dentin: its effect on shear bond strength. **American Journal of Dentistry**, 5, n. 3, p. 127-129, 1992/06// 1992.

GWINNETT, A. J. Altered tissue contribution to interfacial bond strength with acid conditioned dentin. **American Journal of Dentistry**, 7, n. 5, p. 243-246, 1994/10// 1994.

HANABUSA, M.; MINE, A.; KUBOKI, T.; MOMOI, Y. *et al.* Bonding effectiveness of a new 'multi-mode' adhesive to enamel and dentine. **Journal of Dentistry**, 40, n. 6, p. 475-484, 2012/06// 2012.

HASHIMOTO, M.; OHNO, H.; ENDO, K.; KAGA, M. *et al.* The effect of hybrid layer thickness on bond strength: demineralized dentin zone of the hybrid layer. **Dental Materials: Official Publication of the Academy of Dental Materials**, 16, n. 6, p. 406-411, 2000/11// 2000.

HASHIMOTO, M.; OHNO, H.; KAGA, M.; SANO, H. *et al.* Over-etching effects on micro-tensile bond strength and failure patterns for two dentin bonding systems. **Journal of Dentistry**, 30, n. 2-3, p. 99-105, 2002/02// 2002.

KINNEY, J. H.; HABELITZ, S.; MARSHALL, S. J.; MARSHALL, G. W. The importance of intrafibrillar mineralization of collagen on the mechanical properties of dentin. **Journal of Dental Research**, 82, n. 12, p. 957-961, Dec 2003.

LI, B.; ZHU, X.; MA, L.; WANG, F. *et al.* Selective demineralisation of dentine extrafibrillar minerals-A potential method to eliminate water-wet bonding in the etch-and-rinse technique. **Journal of Dentistry**, 52, p. 55-62, Sep 2016.

LIU, Y.; SETHURAMAN, G.; WU, W.; NANCOLLAS, G. H. *et al.* The Crystallization of Fluorapatite in the Presence of Hydroxyapatite Seeds and of Hydroxyapatite in the Presence of Fluorapatite Seeds. **Journal of Colloid and Interface Science**, 186, n. 1, p. 102-109, Feb 1 1997.

LIU, Y.; TJÄDERHANE, L.; BRESCHI, L.; MAZZONI, A. *et al.* Limitations in bonding to dentin and experimental strategies to prevent bond degradation. **Journal of Dental Research**, 90, n. 8, p. 953-968, 2011/08// 2011.

MARSHALL, G. W.; INAI, N.; MAGIDI, I. C. W.; BALOOCH, M. *et al.* Dentin demineralization: Effects of dentin depth, pH and different acids. **Dental Materials**, 13, n. 5-6, p. 338-343, 1997/09// 1997.

MENA-SERRANO, A.; KOSE, C.; DE PAULA, E. A.; TAY, L. Y. *et al.* A new universal simplified adhesive: 6-month clinical evaluation. **Journal of Esthetic and Restorative Dentistry: Official Publication of the American Academy of Esthetic Dentistry ... [et Al.]**, 25, n. 1, p. 55-69, 2013/02// 2013.

MUÑOZ, M. A.; LUQUE, I.; HASS, V.; REIS, A. *et al.* Immediate bonding properties of universal adhesives to dentine. **Journal of Dentistry**, 41, n. 5, p. 404-411, 2013/05// 2013.

NAKABAYASHI, N.; KOJIMA, K.; MASUHARA, E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. **Journal of Biomedical Materials Research**, 16, n. 3, p. 265-273, May 1982.

NANCI, A.; TEN CATE, A. R. **Ten Cate's oral histology : development, structure, and function**. St. Louis, Mo.: Elsevier, 2013. 9780323078467 032307846X.

OSORIO, R.; AGUILERA, F. S.; OTERO, P. R.; ROMERO, M. *et al.* Primary dentin etching time, bond strength and ultra-structure characterization of dentin surfaces. **Journal of Dentistry**, 38, n. 3, p. 222-231, Mar 2010.

PASHLEY, D. H.; TAY, F. R.; BRESCHI, L.; TJÄDERHANE, L. *et al.* State of the art etch-and-rinse adhesives. **Dental Materials**, 27, n. 1, p. 1-16, Jan 2011.

PASSOS, L. M. A.; SANTOS, S. V. d.; RODRIGUES, J. L.; GRIZA, S. *et al.* Influência da marca do condicionador ácido na resistência de união da resina composta à dentina. **Revista de Odontologia da UNESP**, 41, n. 6, p. 420-424, 2012/12// 2012.

PERDIGAO, J.; DENEHY, G. E.; SWIFT, E. J. Silica contamination of etched dentin and enamel surfaces: a scanning electron microscopic and bond strength study. **Quintessence International (Berlin, Germany: 1985)**, 25, n. 5, p. 327-333, 1994/05// 1994.

PERDIGAO, J.; LAMBRECHTS, P.; VAN MEERBEEK, B.; TOME, A. R. *et al.* Morphological field emission-SEM study of the effect of six phosphoric acid etching agents on human dentin. **Dental Materials**, 12, n. 4, p. 262-271, Jul 1996.

PERDIGÃO, J.; LOPES, M. The effect of etching time on dentin demineralization. **Quintessence International**, 32, n. 1, p. 19-26, 2001 2001.

PERDIGÃO, J.; MAY, K. N.; WILDER, A. D.; LOPES, M. The effect of depth of dentin demineralization on bond strengths and morphology of the hybrid layer. **Operative Dentistry**, 25, n. 3, p. 186-194, 2000/06//May- undefined 2000.

PIMENTA, R. A.; PENIDO, C. V.; CRUZ RDE, A.; ALVES, J. B. Morphology of the dentin on primary molars after the application of phosphoric acid under different conditions. **Brazilian Oral Research**, 24, n. 3, p. 323-328, Jul-Sep 2010.

PROENÇA, J. P.; POLIDO, M.; OSORIO, E.; ERHARDT, M. C. G. *et al.* Dentin regional bond strength of self-etch and total-etch adhesive systems. **Dental Materials: Official Publication of the Academy of Dental Materials**, 23, n. 12, p. 1542-1548, 2007/12// 2007.

PUPPIN-RONTANI, R.; TEIXEIRA, A.; SINHORETI, M.; SOBRINHO, L. Etching time evaluation on the shear bond strength of two adhesive systems in primary teeth. **Brazilian Dental Science**, 7, 08/12 2010.

SANO, H.; SHONO, T.; TAKATSU, T.; HOSODA, H. Microporous dentin zone beneath resin-impregnated layer. **Operative Dentistry**, 19, n. 2, p. 59-64, 1994/04//Mar- undefined 1994.

SARDELLA, T. N.; DE CASTRO, F. L.; SANABE, M. E.; HEBLING, J. Shortening of primary dentin etching time and its implication on bond strength. **Journal of Dentistry**, 33, n. 5, p. 355-362, May 2005.

SCHEFFEL, D. L.; HUCK, C.; SOARES, D. G.; BASSO, F. G. *et al.* Uninfiltrated Collagen in Hybrid Layers produced after Reduced Acid-etching Time on Primary and Permanent Dentin. **The Journal of Contemporary Dental Practice**, 17, n. 10, p. 861-866, Oct 1 2016.

SCHNEIDER, C. A.; RASBAND, W. S.; ELICEIRI, K. W. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. **Nature Methods**, 9, n. 7, p. 671-675, Jul 2012.

SCHULZE, K. A.; OLIVEIRA, S. A.; WILSON, R. S.; GANSKY, S. A. *et al.* Effect of hydration variability on hybrid layer properties of a self-etching versus an acid-etching system. **Biomaterials**, 26, n. 9, p. 1011-1018, Mar 2005.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Principles of instrumental analysis**. Cengage learning, 2017. 1305577213.

SOBRAL V, S. A. **Condicionamento dentinário para adesão: caracterização ultramorfológica**. 2014. -, Área de Medicina Dentária, Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra.

STAPE, T. H. S.; WIK, P.; MUTLUAY, M. M.; AL-ANI, A. A. S. *et al.* Selective dentin etching: A potential method to improve bonding effectiveness of universal adhesives. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, 86, p. 14-22, Oct 2018.

STRAIOTO, F. G.; NETO, A. J. F.; SOARES, C. J.; MELLO, J. J. P.-S. D. P. D. P.-G. E. E. M. Avaliação da topografia de superfície do esmalte dentário humano erupcionado em função da idade. **Proceedings of the Annual SBPqO Meeting 2005**; 22(Suppl 19): 188, 2005.

SYROP, J. Tried & True Ultra-Etch. **Dental Product Shopper**, 2, n. 6, p. 76-77, July/Aug 2008.

TARCIN, B.; GUNDAY, M.; OVECOGLU, H. S.; TURKMEN, C. *et al.* Tensile bond strength of dentin adhesives on acid- and laser-etched dentin surfaces. **Quintessence International**, 40, n. 10, p. 865-874, Nov-Dec 2009.

TOLEDANO, M.; OSORIO, R.; PERDIGAO, J.; ROSALES, J. I. *et al.* Effect of acid etching and collagen removal on dentin wettability and roughness. **Journal of Biomedical Materials Research**, 47, n. 2, p. 198-203, Nov 1999.

VAN LANDUYT, K. L.; PEUMANS, M.; DE MUNCK, J.; LAMBRECHTS, P. *et al.* Extension of a one-step self-etch adhesive into a multi-step adhesive. **Dental Materials: Official Publication of the Academy of Dental Materials**, 22, n. 6, p. 533-544, 2006/06// 2006.

VAN MEERBEEK, B.; DE MUNCK, J.; YOSHIDA, Y.; INOUE, S. *et al.* Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. **Operative Dentistry**, 28, n. 3, p. 215-235, 2003/06//May- undefined 2003.

VAN MEERBEEK, B.; PEUMANS, M.; POITEVIN, A.; MINE, A. *et al.* Relationship between bond-strength tests and clinical outcomes. **Dental Materials**, 26, n. 2, p. e100-121, Feb 2010.

VAN MEERBEEK, B.; YOSHIHARA, K.; YOSHIDA, Y.; MINE, A. *et al.* State of the art of self-etch adhesives. **Dental Materials**, 27, n. 1, p. 17-28, Jan 2011.

VARGAS, M. A.; COBB, D. S.; ARMSTRONG, S. R. Resin-dentin shear bond strength and interfacial ultrastructure with and without a hybrid layer. **Operative Dentistry**, 22, n. 4, p. 159-166, 1997/08//Jul- undefined 1997.

WAGNER, A.; WENDLER, M.; PETSCHERT, A.; BELLI, R. *et al.* Bonding performance of universal adhesives in different etching modes. **Journal of Dentistry**, 42, n. 7, p. 800-807, 2014/07// 2014.

WAKABAYASHI, Y.; KONDOU, Y.; SUZUKI, K.; YATANI, H. *et al.* Effect of dissolution of collagen on adhesion to dentin. **The International Journal of Prosthodontics**, 7, n. 4, p. 302-306, 1994/08//Jul- undefined 1994.

WANG, J. D.; HUME, W. R. Diffusion of hydrogen ion and hydroxyl ion from various sources through dentine. **International Endodontic Journal**, 21, n. 1, p. 17-26, Jan 1988.

WANG, Y.; SPENCER, P. Effect of acid etching time and technique on interfacial characteristics of the adhesive-dentin bond using differential staining. **European Journal of Oral Sciences**, 112, n. 3, p. 293-299, 2004/06// 2004.

WENZEL, R. N. RESISTANCE OF SOLID SURFACES TO WETTING BY WATER. **Industrial & Engineering Chemistry**, 28, n. 8, p. 988-994, 1936/08/01 1936.

WILSON, S. M.; LIEN, W.; LEE, D. P.; DUNN, W. J. Confocal microscope analysis of depth of etch between self-limiting and traditional etchant systems. **The Angle Orthodontist**, 87, n. 5, p. 766-773, Sep 2017.

WU, J.; ITOH, K.; YAMASHITA, T. Effect of 10% Phosphoric acid Conditioning on the Efficacy of a Dentin Bonding System. **Dental Materials Journal**, 17, n. 1, p. 21-30, 1998.

WU, X. T.; MEI, M. L.; LI, Q. L.; CAO, C. Y. *et al.* A Direct Electric Field-Aided Biomimetic Mineralization System for Inducing the Remineralization of Dentin Collagen Matrix. **Materials (Basel)**, 8, n. 11, p. 7889-7899, Nov 20 2015.

YOSHIDA, Y.; INOUE, S. Chemical analyses in dental adhesive technology. **Japanese Dental Science Review**, 48, n. 2, p. 141-152, 2012/08// 2012.

ZAFAR, M. S.; AHMED, N. J. D. m. j. The effects of acid etching time on surface mechanical properties of dental hard tissues. **Dental materials journal**, p. 2014-2083, 2015.

ANEXO A Parecer consubstanciado do CEP

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: DIFERENÇA NO PADRÃO DE DESMINERALIZAÇÃO DO ESMALTE E DENTINA USANDO DIFERENTES PROTOCOLOS DE APLICAÇÃO DE ÁCIDO FOSFÓRICO

Pesquisador: Osnara Maria Mongruel Gomes **Área Temática:**

Versão: 1

CAAE: 88913018.0.0000.0105

Instituição Proponente: Universidade Estadual de Ponta Grossa

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.672.996

Apresentação do Projeto:

DIFERENÇA NO PADRÃO DE DESMINERALIZAÇÃO DO ESMALTE E DENTINA USANDO DIFERENTES PROTOCOLOS DE APLICAÇÃO DE ÁCIDO FOSFÓRICO

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

O objetivo do presente estudo é avaliar as diferenças no padrão de desmineralização do substrato dental (esmalte e dentina) após ovcondicionamento ácido fosfórico de diferentes marcas comerciais, usando diferentes protocolos de aplicação.

Objetivo Secundário:

Avaliar a diferença morfológica dos substratos dentais (esmalte e dentina) após diferentes protocolos de aplicação de ácido fosfórico; Avaliar o padrão de condicionamento ácido no esmalte quando aplicado de maneira ativa; Avaliar o efeito do tempo de aplicação de ácido fosfórico no padrão de desmineralização da dentina.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Todos os pesquisadores estarão protegidos pelos EPIs.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações: Aprovado**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1119630.pdf	03/05/2018 14:45:47		Aceito
Folha de Rosto	folhoderostoassinada.pdf	03/05/2018 14:45:11	Osnara Maria Mongrue I Gomes	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO.doc	26/04/2018 18:42:57	Osnara Maria Mongrue I Gomes	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	bandodentesass.pdf	26/04/2018 18:42:22	Osnara Maria Mongrue I Gomes	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Justificativa_TCLE.docx	26/04/2018 18:42:02	Osnara Maria Mongrue I Gomes	Aceito
Cronograma	cronograma.docx	26/04/2018 18:41:39	Osnara Maria Mongrue I Gomes	Aceito

Situação do Parecer: Aprovado**Necessita Apreciação da CONEP:** Não

PONTA GROSSA, ____ de ____ de ____

**Assinado por: ULISSES COELHO
(Coordenador)**