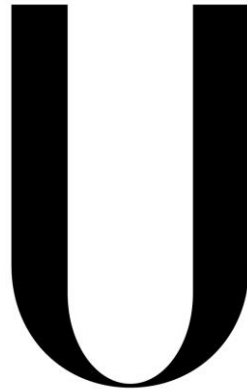


Universidade de Lisboa
Faculdade de Medicina Dentária



LISBOA

UNIVERSIDADE
DE LISBOA

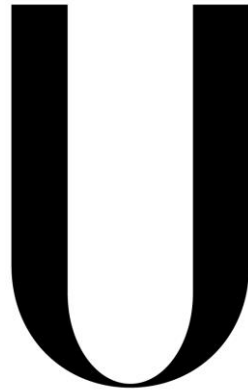
**Nanoinfiltração na Variação do
Protocolo de Sistemas Adesivos Etch &
Dry e Etch & Rinse**

Filipa Isabel Lopes de Oliveira

Mestrado Integrado em Medicina Dentária

2014

Universidade de Lisboa
Faculdade de Medicina Dentária



LISBOA

UNIVERSIDADE
DE LISBOA

**Nanoinfiltração na Variação do
Protocolo de Sistemas Adesivos Etch &
Dry e Etch & Rinse**

Filipa Isabel Lopes de Oliveira

Dissertação orientada por:
Mestre Ana Catarina Coito
Co-orientador: Professor Doutor Alexandre Cavalheiro

Mestrado Integrado em Medicina Dentária
2014

Não me digas o muito que trabalhas; fala-me antes do muito que fazes.
(James Ling)

Agradecimentos

À Mestre, Catarina Coito pela disponibilidade e competência com que orientou a minha dissertação, bem como a motivação e entusiasmo.

À Professora Manuela Lopes, por todo o tempo disponibilizado, ajuda e persistência. Obrigada.

Ao Professor Doutor Alexandre Cavalheiro, pela disponibilidade e ajuda prestada.

Aos meus pais, por tudo o que me proporcionaram, os valores que me transmitiram bem como apoio e presença constante.

Ao José e ao meu filho, em especial, por todo o apoio constante e por me proporcionarem após horas de trabalho momentos de descontração, que faz tudo valer a pena.

At last, but not least, ao meu irmão, pela sua compreensão e admiração.

Lista de Abreviaturas

E.D. – Etch and Dry

E.R. – Etch and Rinse

MEV – Microscópio electrónico de varrimento

MET – Microscópio electrónico de transmissão

CSE – Clearfil SE Bond

SBU – Scotchbond Universal

SM – Scotchbond Multipurpose

SMED – Adesivo Scotchbond Universal, adesivo de 1 passo aplicado em modo *etch-and-dry*, segundo instruções do fabricante;

CMED – Clearfil SE Bond, adesivo de 2 passos aplicado em modo *etch-and-dry*, segundo instruções do fabricante;

SMER – Adesivo Scotchbond Universal, aplicado como adesivo de 2 passos em modo *etch-and-rinse*, segundo instruções do fabricante;

CMER – Clearfil SE Bond, aplicado como adesivo de 3 passos em modo *etch-and-rinse*, variação às instruções do fabricante;

SAED – Adesivo Scotchbond Universal + adesivo Scotchbond Multipurpose em modo *etch-and-dry* de 2 passos;

SAER – Adesivo Scotchbond Universal + adesivo Scotchbond Multipurpose em modo *etch-and-rinse* de 3 passos;

Bis-GMA – Bisfenol A glicidil metacrilato

HEMA – 2-hidroxietil metacrilato

MMPs – Metaloproteinases da matriz

VCP – Copolímero Vitrebond

kV – Kilovolt

µm – Micrómetro

nm – Nanómetro

mm – Milímetro

Cm - Centímetros

pH – Potencial hidrogeniónico

TBS – Teste adesivo de resistência à tração (Tensile Bond Strengths)

µTBS – Teste adesivo de resistência à microtração (Microtensile Bond Strengths)

Min. – Minutos

h – Horas

° C – Graus celsius

% - Por cento

Resumo

Objetivos: Avaliar, através de um estudo *in vitro*, os padrões de nanoinfiltração existentes em dois sistemas adesivos e suas variações do protocolo, observadas ao microscópio electrónico de varrimento (MEV).

Tipo de estudo: Estudo *in vitro*.

Materiais e Métodos: A amostra deste estudo consistiu em 12 dentes molares humanos livres de cárie (N=12). Foram preparados 12 espécimes abrangendo a dentina média e divididos aleatoriamente por 6 grupos (n=2). Aplicaram-se 2 sistemas adesivos diferentes: Clearfil™ SE Bond (Kuraray), Scotchbond™ Universal (3M ESPE), tendo sido todos os espécimes restaurados com o compósito Filtek™ Buk Fill (3M ESPE). O sistema adesivo Scotchbond Universal foi aplicado em modo *etch and dry* (grupo SBUED) e *etch and rinse* (grupo SBUER) segundo as instruções do fabricante e com variações do protocolo quando a este foi adicionado o adesivo Scotchbond Multipurpose (3M ESPE) quer em modo *etch and dry* (grupo SAED) e *etch and rinse* (grupo SAER). O sistema adesivo Clearfil SE Bond foi aplicado em modo *etch and dry* segundo as instruções do fabricante (grupo CSED) e com variações no protocolo em modo *etch and rinse* (grupo CSER). Os espécimes foram impregnados com nitrato de prata amoniacal (50% wt; pH=9,5) durante 24h e na solução reveladora durante 8h sob luz fluorescente. A penetração de nitrato de prata amoniacal na interface adesiva foi observada ao microscópio electrónico de varrimento com detector de electrões retrofundidos com uma aceleração de voltagem 15 Kv.

Resultados: A presença, o padrão e a extensão da nanoinfiltração variam consoante os sistemas e estratégia adesiva usadas. O sistema adesivo SBU obteve a menor quantidade de nanoinfiltração nos grupos SAED e SAER e maiores no grupo SBUER. A menor quantidade de nanoinfiltração foi obtida no grupo CSED, dentro dos seis grupos testados.

Conclusões: A performance dos adesivos testados demonstrou ser dependente da estratégia adesiva usada. O adesivo de dois passos CSE parece providenciar um melhor selamento quando aplicado em modo *etch and dry* e o mesmo parece acontecer no adesivo universal de um passo SBU.

Palavras-chave: Nanoinfiltração, Sistema adesivo, Adesivos de condicionamento total, Adesivos autocondicionantes, Adesivos universais.

Abstract

Purpose: Evaluate through a *in vitro* study, the nanoleakage patterns existing in two bonding systems and their variations of the protocol, observed under the scanning electron microscope (SEM).

Study Design: In vitro study

Materials and Methods: The sample for this study consisted of 12 human molar teeth caries free (N=12). 12 specimens were prepared covering the deep dentin and randomly divided into 6 groups (n=2). We applied two different adhesive systems: Clearfil™ SE Bond (Kuraray), Scotchbond™ Universal (3M ESPE), all specimens were restored with composite Filtek™ Buk Fill (3M ESPE). The adhesive system Scotchbond Universal was applied in etch and dry (group SBUED) and etch and rinse (SBUER) mode according to the manufacturer's instructions and with variations of the protocol when was added the adhesive Scotchbond Multipurpose both in etch and dry (group SAED) and etch and rinse (SAER) mode. The adhesive system Clearfil SE Bond, was applied in etch and dry mode according to the manufacturer's instructions (group CSED) and with variations in the protocol in etch and rinse mode (group CSER). The specimens were impregnated with amoniactal silver nitrate (50% wt; pH=9,5) during 24h and in the developing solution during 8h under fluorescent light. The amoniactal silver nitrate penetration was observed under scanning electron microscope with backscattered in 15Kv acceleration voltage.

Results: The presence, pattern and extension of nanoleakage varie depending on the adhesives systems and the strategys used. The adhesive system SBU showed the lowest amount of nanoleakage in SAED and SAER groups and incresead in the SBUER group. The lowest amount of nanoleakage was obtained in group CSED, within the six tested groups.

Conclusions: The performance of the adhesives tested proved to be dependente on the adhesive strategy used. The two-step adhesive CSE seems to provide a better seal when applied in *etch and dry* mode and the same seems to happen in the one step universal adhesive SBU.

Key-words: Nanoleakage, adhesive system, etch and rinse adhesives, etch and dry adhesives, universal adhesives.

Índice

Agradecimentos.....	i
Lista de Abreviaturas.....	ii
Resumo.....	iv
Abstract.....	v
Índice Geral.....	vi
Índice de Figuras.....	vii
Índice de Tabelas.....	ix
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Adesão dentária.....	1
1.2 Adesão à dentina.....	1
1.3 Sistemas adesivos.....	3
1.3.1 Etch and Rinse.....	4
1.3.2 Etch and Dry.....	5
1.4 Nanoinfiltração.....	8
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	10
2.1 Desenho do estudo.....	10
2.2 Preparação dos dentes.....	10
2.3 Distribuição de grupos.....	12
2.4 Preparação das amostras.....	13
2.5 Técnica impregnação com nitrato de prata.....	16
2.6 Preparação dos espécimes para MEV.....	17
3. RESULTADOS.....	19
4. DISCUSSÃO.....	24
5. CONCLUSÃO.....	29
6. Referências bibliográficas.....	x
7. Anexos.....	xxiv

Índice de Figuras

Figura 1: Dente montado no suporte acrílico.....	10
Figura 2: Micrótomo de tecidos duros.....	10
Figura 3: Sistema adesivo Clearfil SE Bond™.....	12
Figura 4: Sistema adesivo Scotchbond Universal™.....	12
Figura 5: Espécime recoberto com 2 camadas de verniz das unhas.....	16
Figura 6: Polimento com discos de papel abrasivo de carbetto de silício.....	18
Figura 7: Microscópio electrónico de varrimento.....	18
Figura 8: Micrografias FESEM da interface resina-dentina com SBU-E.D. Ampliação final: A. X 200; B. X 2,500. C – Compósito; CA – Camada de adesivo; CH – Camada híbrida; T – Prolongamentos de resina.....	19
Figura 9: Micrografias FESEM da interface resina-dentina com CSE-E.D. Ampliação final: A. X 200; B. X 2,500. CA – Camada de adesivo; CH – Camada híbrida; T – Prolongamentos de resina.....	20
Figura 10: Micrografias FESEM da interface resina-dentina com SBU-E.R. Ampliação final: A. X 200; B. X 2,500. C – Compósito; CA – Camada de adesivo; CH – Camada híbrida; T – Prolongamentos de resina.....	21
Figura 11: Micrografias FESEM da interface resina-dentina com CSE-E.R. Ampliação final: A. X 200; B. X 2,500. CA – Camada de adesivo; CH – Camada híbrida; T – Prolongamentos de resina.....	21
Figura 12: Micrografias FESEM da interface resina-dentina com SBU+SM-E.D. Ampliação final: A. X 200; B. X 2,500. CA – Camada de adesivo; CH – Camada híbrida; T – Prolongamentos de resina.....	22
Figura 13: Micrografias FESEM da interface resina-dentina com SBU+SM-E.R. Ampliação final: A. X 200; B. X 2,500. CA – Camada de adesivo; CH – Camada híbrida; T – Prolongamentos de resina.....	23
Figura 14: Espécime após restauração montado num suporte acrílico.....	xxiv
Figura 15: Corte do espécime em 2 metades idênticas num micrótomo.....	xxiv
Figura 16: Impregnação dos espécimes com nitrato de prata amoniacal.....	xxiv
Figura 17: Imersão dos espécimes na solução fotográfica reveladora.....	xxv
Figura 18: Resina epoxi autopolimerizável SampleKwick™ Acrylic System, Buehler Ltd.....	xxv
Figura 19: Espécimes embebidos na resina acrílica.....	xxv

Figura 20: Desidratação dos espécimes em imersões de graus ascendentes de etanol.....	xxvi
Figura 21: Espécimes montados num suporte de alumínio com fita de carbono recobertos com uma camada de suspensão de prata coloidal de secagem rápida.	xxvi
Figura 22: Revestimento em ouro-paládio com E-5100 <i>Sputter-coater</i> (<i>Ex-Polaren</i>).....	xxvi

Índice de Tabelas

Tabela 1: Fabricante, composição e lote do adesivo, ácido e compósito usados.....	11
Tabela 2: Técnica de aplicação dos sistemas adesivos Scotchbond™ Universal e Clearfil™ SE Bond segundo as instruções do fabricante.....	xxvii

INTRODUÇÃO

A sociedade atual surge hoje em dia com elevadas exigências estéticas, tornando-se essencial, a dentisteria operatória acompanhar estes altos padrões estéticos.

Cada vez mais com uma abordagem conservadora, a dentisteria adesiva assume um papel determinante, tornando-se num tema apetecível para investigação (Perdigão, J. 2007).

Os conceitos convencionais de preparação cavitária introduzidos no início do século passado têm vindo a mudar drasticamente, devido a uma filosofia cada vez mais conservadora possível graças à capacidade de adesão dos novos materiais restauradores aos tecidos dentários duros (Perdigão & Ritter 2003).

ADESÃO DENTÁRIA

A adesão é definida como a formação de uma ligação adesiva, que consiste na união de dois substratos. Os adesivos dentários são soluções de monómeros de resina, que ligam-se tanto ao material restaurador como ao substrato dentário após polimerização dos monómeros (Perdigão, J. 2007).

O objectivo principal de uma restauração adesiva é alcançar uma adaptação íntima entre o material restaurador e o substrato dentinário (Baier, R. E. 1992). Este objectivo é mais difícil de alcançar na dentina devido à sua composição, mais húmida, mais dinâmica e mais orgânica que o esmalte (Asmussen, E. & Uno, S. 1992).

ADESÃO À DENTINA

A adesão à dentina tem-se tornado num dos maiores desafios da dentisteria restauradora. O conteúdo predominantemente orgânico, a estrutura tubular da dentina, a presença de prolongamentos odontoblásticos dentro dos túbulos, a variabilidade do grau de mineralização do substrato e o fluxo do fluido do interior para o exterior torna a adesão à dentina extremamente difícil de alcançar (Swift, E. J., Jr. *et al.* 1995).

Buonocore, M. G. (1955), introduziu a técnica de condicionamento ácido na adesão ao esmalte, contudo Fusayama, T. *et al.* (1979), provou que uma boa adesão

dentinária poderia ser obtida *in vivo* com condicionamento ácido antes da colocação de uma resina na superfície dentinária. O condicionamento total (esmalte e dentina) foi ainda popularizado por Bertolotti, R. (1990), permanecendo nos dias de hoje.

Com a introdução da técnica, agora conhecida como etch-and-rinse (Peumans, M. *et al.* 2005) e os desenvolvimentos recentes na química, os adesivos dentinários e as resinas compostas tornaram-se materiais mais resistentes à microinfiltração com forças adesivas que se aproximam às da adesão ao esmalte (Perdigao, J. *et al.* 2003).

O tratamento da dentina com ácidos, seguida de impregnação de monómeros hidrofílicos nos pequenos espaços criados dentro da rede de colagénio da dentina, resulta no envolvimento da resina com as fibras de colagénio e na formação de uma zona de interdifusão da resina com a dentina, que foi descrita pela primeira vez em 1982 como a camada híbrida (Nakabayashi, N. *et al.* 1982). Este selamento pode resultar numa diminuição da sensibilidade pós-operatória, melhor ajuste marginal, e pode ainda atuar como um amortecedor elástico que compensa o stress de polimerização durante a contração do compósito restaurador (Perdigao, J. *et al.* 1996).

A integridade estrutural e propriedades mecânicas das fibras de colagénio da dentina superficial e profunda desmineralizada por ácido desempenha um papel importante na determinação das forças de adesão e sua durabilidade (Nakabayashi, N. *et al.* 2004; Yang, B. *et al.* 2005; Fawzy, A. S. 2010).

Os túbulos dentinários são preenchidos com os prolongamentos de resina (*resin tags*), enquanto os canalículos ou canais laterais são preenchidos com microprolongamentos de resina (*microtags* ou *tags* laterais). Estes *microtags* são anastomoses de resina que poderão aumentar a força de adesão e assim desempenhar um papel importante em todo este processo caso estejam hibridizados. A rede tridimensional de *tags* resinosos interligados entre si poderá ser fundamental para o desenvolvimento de uma força de adesão mais forte entre a dentina e a resina adesiva, contribuindo assim para o mecanismo de microretenção mecânica (Chappell, R. P. *et al.* 1994; Ferrari, M. *et al.* 1994; Cal-Neto, J. P. *et al.* 2004). Ferrari, M. *et al.* (1994) defendiam que a infiltração de *primer* e resina na dentina peritubular e intertubular originava *microtags* com a forma de um cone invertido e que estes poderiam aumentar a retenção micromecânica.

A *smear layer* é uma camada amorfa de partículas maioritariamente composta por dentina profunda e restos dos processos odontoblásticos (Zhu, Q. *et al.* 2000) que cobre a superfície dentinária e oblitera os túbulos (Barros, J. A. *et al.* 2005).

A *smear layer* e os *smear plugs* diminuem a permeabilidade dentinária em cerca de 86% (Perdigão, J. 2002) e impedem o adesivo de interagir diretamente com o tecido dentário, impedindo o contato íntimo entre o sistema adesivo e o substrato, anulando assim um pré-requisito para a ocorrência de um processo adesivo (Lopes, G. C. *et al.* 2002).

SISTEMAS ADESIVOS

Os sistemas adesivos são os materiais responsáveis por produzir a adesão do material restaurador às estruturas dentárias. Combinando na sua composição monómeros resinosos de diferentes viscosidades e pesos moleculares, solventes orgânicos e diluentes resinosos (Oliveira *et al.* 2010). Quando os monómeros resinosos são hidrofílicos, permitem que o adesivo seja compatível com a humidade natural do substrato dentinário, caso sejam hidrofóbicos apresentam maior viscosidade e peso molecular, conferindo assim maior resistência mecânica e estabilidade ao material (Carvalho 2004).

Os sistemas adesivos foram classificados recentemente de acordo com as suas abordagens de adesão em *etch-and-rinse* ou *etch-and-dry* (Silva e Souza, M. H., Jr. *et al.* 2010).

Apesar das diferentes classificações dos sistemas adesivos, Van Meerbeek, B. *et al.* (2003), propuseram uma classificação baseada na interação dos adesivos com os substratos dentários, nomeadamente a *smear layer*, e o número de passos ou etapas: *etch-and-rinse* (dois passos e três passos), *etch-and-dry* (um passo e dois passos). Os adesivos *etch-and-rinse*, removem a *smear layer* e a hidroxiapatite superficial através de condicionamento com gel de ácido fosfórico (de concentrações variáveis entre 30-40%) e apresentam-se comercializados em sistemas de três ou de dois passos clínicos. Os adesivos *etch-and-dry*, tornam a *smear layer* permeável sem a remover completamente (Perdigão, J. 2007), consistindo em monómeros acídicos sem enxaguamento que simultaneamente condicionam e infiltram a dentina e o esmalte (Cavalheiro, A. 2004), podendo ser aplicados em dois ou um passo.

Etch-and-rinse

Os adesivos E.R. podem ser facilmente reconhecidos pelo passo inicial de condicionamento dentário com ácido ortofosfórico entre 35% a 40% (Perdigao, J. & Lopes, M. 1999; Van Meerbeek, B. *et al.* 2003).

O condicionamento com ácido ortofosfórico desmineraliza a dentina removendo a *smear layer*, promovendo a abertura dos túbulos dentinários e a exposição de uma rede de fibras de colagénio densa (Perdigao, J. *et al.* 1996).

Depois do condicionamento o ácido é removido por lavagem, seguindo-se a aplicação do *primer* e da resina adesiva separadamente nos E.R. de 3 passos, nos de 2 passos o *primer* e o adesivo encontram-se combinados no mesmo frasco necessitando apenas de uma só aplicação (Van Meerbeek, B. *et al.* 2001). Estes adesivos de dois passos surgem com o objectivo de simplificar e reduzir o número de passos clínicos, combinando o *primer* e o adesivo num único passo (Van Meerbeek, B. *et al.* 2005).

O *primer* consiste numa mistura de monómeros específicos com propriedades hidrofílicas dissolvidos em solventes orgânicos (Van Meerbeek, B. *et al.* 2005) como a acetona, o álcool e a água. O 2-hidroxietil metacrilato (HEMA) é um monómero importante que é frequentemente adicionado nas soluções do *primer*. Devido ao seu baixo peso molecular e à sua natureza hidrofílica, o HEMA promove a infiltração da resina e a re-expansão da rede de colagénio (Nakabayashi, N. & Takarada, K. 1992), melhorando assim as forças adesivas do adesivo (Carvalho, R. M. *et al.* 2003).

No sistema convencional de três passos, o *primer* deve assegurar o humedecimento suficiente das fibras de colagénio expostas e remover a água restante, preparando assim a dentina para a infiltração da resina adesiva (Van Meerbeek, B. *et al.* 2005).

Seguidamente a resina adesiva, também denominada de *bonding agent* é aplicada sobre o *primer*. Esta resina é constituída primariamente por monómeros hidrofóbicos, tais como bis-GMA (bisfenol glicidil metacrilato), UDMA (uretano dimetacrilato) e TEG-DMA (trietilenoglicol dimetacrilato) como regulador da viscosidade combinados com monómeros hidrofílicos como o HEMA (Van Meerbeek, B. *et al.* 2006). O principal papel da resina adesiva é estabilizar a camada híbrida e formar extensões de resina dentro dos túbulos dentinários, denominados de prolongamentos dentinários (*resin tags*) (Van Meerbeek, B. *et al.* 2006).

Nos sistemas adesivos *etch-and-rinse* (E.R.) de dois passos, após o condicionamento ácido a mistura de monómeros de resina (*primer/adesivo*) é dissolvida

num solvente orgânico aplicado para infiltrar a dentina condicionada (Perdigao, J. 2002). Os monómeros de resina penetram nos espaços cheios de água entre as fibras de colagénio da dentina adjacente que estavam ocupados pelos cristais de hidroxiapatite. Esta infiltração resulta num tecido híbrido composto por colagénio, resina, hidroxiapatite residual e traços de água, conhecido como a zona de interdifusão da resina com a dentina ou camada híbrida (Perdigao, J. 2007).

Kanca, J., 3rd (1992) e Gwinnett, A. J. (1992), introduziram a técnica *wet-bonding*, a qual preconiza a adesão à dentina húmida prevenindo assim o colapso das fibras de colagénio não sustentadas, uma vez que se estas forem secas excessivamente irão colapsar, inibindo a impregnação pelo *primer*. Contudo a determinação da humidade na dentina é ambígua. Têm sido descritos problemas resultantes do excesso de água (Tay, F. R. *et al.* 1996; Tay, F. R. *et al.* 1996), o qual foi denominado *overwetting phenomena* (Tay, F. R. *et al.* 1997).

Este sistema pode ainda levar a uma desmineralização demasiado profunda e inacessível à completa penetração pela resina, podendo ocasionar sensibilidade pós-operatória (Van Meerbeek, B. *et al.* 1998; Ernst, C. P. 2004) e gerar uma zona porosa sob a camada híbrida, susceptível de sofrer nanoinfiltração (Sano, H. *et al.* 1995).

Etch-and-dry

Os últimos desenvolvimentos na adesão dentária são baseados na simplificação e redução do tempo de aplicação. Estes adesivos *etch-and-dry* (E.D.) não requerem o passo em separado do condicionamento ácido, uma vez que o *primer* ácido condiciona e penetra o esmalte e dentina simultaneamente, através da infiltração e dissolução parcial da *smear layer* e hidroxiapatite para formar a zona híbrida, a qual incorpora minerais e a *smear layer* (Van Meerbeek, B. *et al.* 2003).

Os adesivos *etch-and-dry* podem ser de dois passos ou de um passo. Os de dois passos consistem na aplicação de *primer* ácido seguido da resina adesiva, por outro lado os de um passo ou *all-in-one* combinam o condicionador, o *primer* e o adesivo num só frasco (Perdigao, J. 2007).

Para além do número de aplicações os adesivos E.D. podem ainda ser subdivididos consoante o poder de desmineralização, em médio (pH>2,5), moderadamente forte (pH≈2) e forte (pH≤1) (Perdigao, J. 2007).

Os adesivos E.D. médios apenas desmineralizam a dentina muito superficialmente, aproximadamente 1 µm, deixando cristais de hidroxiapatite á volta

das fibras de colagénio, disponíveis para interações químicas adicionais (Van Meerbeek, B. *et al.* 2005).

Os adesivos com menor pH apresentam uma ação de condicionamento mais agressiva e semelhante ao ácido fosfórico (Coelho, A. *et al.* 2012).

Recentemente, vários clínicos têm mudado para os sistemas adesivos *etch-and-dry* de um passo, onde os fabricantes conseguiram incorporar todos os componentes primários de um sistema adesivo (condicionante, *primer*, resina adesiva) numa única solução (Perdigão, J. 2007). Quer o *primer* ácido dos adesivos *etch-and-dry* de dois passos quer os de um passo são compostos por misturas aquosas de monómeros ácidos funcionais, geralmente ácido fosfórico ou ésteres ácido carboxílico, com um pH mais alto do que os géis de ácido fosfórico (Pashley, D. H. & Tay, F. R. 2001). Apesar da sua facilidade de uso e técnica de baixa sensibilidade, alguns estudos têm demonstrado que diversos adesivos de um passo exibem forças adesivas relativamente mais baixas comparados com os *etch-and-dry* de dois passos (Frankenberger, R. *et al.* 2001). Como estes produtos criam camadas muito finas (Frankenberger, R. *et al.* 2001), podem ser inibidas pelo oxigénio e portanto mal polimerizados (Wang, Y. *et al.*, 2001).

Alguns estudos de sistemas adesivos E.D., têm demonstrado bons resultados clínicos nomeadamente o Clearfil SE Bond (Kuraray) o qual é um adesivo E.D. médio de dois passos, demonstrou ter valores de retenção altos em cavidades classe V não cariadas após 2 anos (Turkun, S. L. 2003) e 3 anos (Peumans, M. *et al.* 2005).

Uma das vantagens dos sistemas adesivos E.D. que tem sido mencionados é o facto de estes diminuírem a sensibilidade pós-operatória (Tay, F. R. *et al.* 2002). Contudo Perdigão, J. *et al.* (2003), não observou nenhuma diferença na sensibilidade pós-operatória entre os E.R. de três passos e o sistemas adesivos E.D.

Comparando as versões de múltiplos passos dos E.D e E.R., os adesivos E.D. de um passo tem resultado constantemente em forças adesivas mais baixas (Bouillaguet, S. *et al.* 2001; Inoue, S. *et al.* 2001; Inoue, S. *et al.* 2003). Devido à sua natureza química muito hidrofílica, os adesivos E.D. de um passo têm demonstrado atuar como membranas permeáveis, permitindo movimentos de água através da camada adesiva (Tay, F. R. *et al.* 2002).

O padrão de nanoinfiltração, *water-trees*, foi observado dentro da camada adesiva nos adesivos de um passo E.D. e são consideradas zonas onde houve incompleta remoção de água e subsequentemente incompleta polimerização das resinas (Tay, F. R. *et al.* 2002). Estas *water-trees* podem contribuir para a aceleração da degradação das

forças adesivas entre o dente-resina, uma vez que podem funcionar como canais de água (De Munck, J. *et al.* 2003; Hashimoto, M. *et al.* 2003; Tay, F. R. & Pashley, D. H. 2003).

Torii, Y. *et al.* (2002), obteve os seguintes resultados, quando dois adesivos *etch-and-dry* foram aplicados em dentina condicionada com ácido fosfórico as forças adesivas diminuiram em comparação ao grupo correspondente *etch-and-dry*. O condicionamento ácido prévio à aplicação do adesivo *etch-and-dry* pode impedir que as fibras de colagénio sejam completamente envolvidas pelos monómeros de resina levando à degradação por hidrólise e conseqüentemente diminuindo a durabilidade da adesão (Pashley, D. H. & Carvalho, R. M. 1997; Hashimoto, M. *et al.* 2002).

A aplicação de uma camada de resina hidrofóbica adicional sobre os adesivos *etch and dry* de um passo tem sido sugerido como um procedimento alternativo para prevenção da sorção de água profunda (Carvalho, R. M. *et al.* 2004). Um suplemento adicional com interligações de monómeros hidrofóbicos (ex. Bis-GMA) aumenta a sua concentração dentro da camada hidrofílica, reduzindo a afinidade para a água e aumenta as suas propriedades físicas (Van Landuyt, K. L. *et al.* 2006). O efeito benéfico de conversão de um adesivo E.D. de um passo em dois passos E.D. pela aplicação de uma camada adicional de resina hidrofóbica foi provada laboratorialmente (Brackett, W. W. *et al.* 2005; Van Landuyt, K. L. *et al.* 2006), contudo pouca evidência clínica está disponível (Reis, A. *et al.* 2009).

Para os adesivos *etch-and-rinse*, as forças adesivas são derivadas quer pelos resin tags quer pela formação da camada híbrida (Pashley, D. H. *et al.* 1995), sendo os *resin tags* responsáveis, aproximadamente por um terço das forças adesivas desde que estejam hibridizados (Gwinnett, A. J. 1993). Contudo, segundo o estudo Yoshihara, K. *et al.* (2011) para os sistemas adesivos *etch-and-dry* mais recentes, as ligações químicas têm demonstrado ter um papel mais importante.

Considerando as divergências sobre a seleção da estratégia do adesivo e número de passos, alguns fabricantes lançaram sistemas adesivos mais versáteis, que incluem a opção *etch-and-rinse* (dois passos) e *etch-and-dry* (um ou dois passos). Estes materiais novos são denominados de adesivos “Universal”, “*Multi-purpose*” ou “*Multi-mode*” (Hanabusa, M. *et al.* 2012; Perdigao, J. *et al.* 2012).

Um novo adesivo indicado para usar como *etch-and-dry* ou como *etch-and-rinse* foi recentemente introduzido. O fabricante sugere que este adesivo, Scotchbond Universal Adhesive (3M ESPE), pode também ser usado com condicionamento das

margens do esmalte separadamente ou condicionamento seletivo do esmalte (Perdigao, J. *et al.* 2012).

NANOINFILTRAÇÃO

Sano, H. *et al.* (1995), descreveu um outro tipo de infiltração. Pela observação da penetração de nitrato de prata ao longo de margens sem fendas com vários sistemas adesivos, sob microscópio electrónico de varrimento (MEV) ou microscópio electrónico de transmissão (MET), descreveram um padrão de infiltração que ocorre nos espaços nanométricos à volta das fibras de colagénio da camada híbrida, a qual denominaram de nanoinfiltração. Esta representa a penetração através da camada híbrida e pode ser o resultado de uma infiltração incompleta da resina adesiva na dentina desmineralizada (Sano *et al.*, 1995).

Enquanto na microinfiltração poderemos falar em fendas na ordem dos 20 a 50 μm , na nanoinfiltração os valores rondam os 0,02 nm (Pashley, D. H. *et al.* 2002).

A nanoinfiltração é caracterizada pela permeabilização da camada híbrida a pequenos iões ou moléculas mesmo na ausência da formação detetável de falhas da interface (Prati, C. *et al.* 2005; Suppa, P. *et al.* 2005). De acordo com Prati, C. *et al.* (2005) bem como outros autores que estudaram a nanoinfiltração ,(Schneider, H. *et al.* 2000; Yuan, Y. *et al.* 2007), pensa-se que esta resulta de uma combinação de mecanismos, incluindo a infiltração incompleta dos monómeros na matriz de colagénio desmineralizada, a presença de monómeros hidrofílicos e da remoção insuficiente de solvente ou de água que permanece preso na camada híbrida. Também poderá ter origem na contração do material restaurador durante a polimerização, ou na eluição de monómeros residuais do adesivo.

Este tipo de infiltração pode permitir a penetração de produtos bacterianos e dentinários ou fluidos orais ao longo da interface, os quais podem resultar na quebra hidrolítica quer da resina adesiva ou do colagénio da camada híbrida, comprometendo a estabilidade da ligação resina-dentina (Eick, J. D. *et al.* 1997).

São as zonas microporosas nas camadas híbridas que permitem a penetração de marcadores (ex: nitrato de prata amoniacal – AgNO_3) na ausência de fendas interfaciais (Tay, F. R. *et al.* 2002; Tay, F. R. *et al.* 2004). A distribuição desses marcadores em superfícies aderidas foi apelidada de nanoinfiltração (Pashley, D. H. *et al.* 2011).

De maneira a quantificar o grau de nanoinfiltração, a penetração de nitrato de prata tem sido usada para investigação com MEV, gravando quer imagens de elétrons secundários quer elétrons retro fundidos (Sano, H. *et al.* 1995; Paul, S. J. *et al.* 1999; Li, H. *et al.* 2000).

O nitrato de prata é um excelente marcador pois os iões prata são muito pequenos e possuem uma elevada solubilidade, o que permite a preparação de soluções altamente concentradas. Se ocorrer a penetração de prata nos espaços nanométricos na camada híbrida, na ausência de fenda entre a resina composta e a dentina então está-se perante nanoinfiltração (Sano, H. *et al.* 1995).

Mais tarde um estudo em MET demonstrou que a água pode passar da dentina, à volta dos resin tags, para formar canais cheios de água que projetam-se da camada híbrida ao adesivo sobre-adjacente (Tay, F. R. *et al.* 2003; Hashimoto, M. *et al.* 2004).

Tay *et al.*, (2003) encontrou diferentes tipos de nanoinfiltração que ocorreram quando os espécimes foram envelhecidos *in vitro*. Quando estes canais cheios de água estão impregnados com prata, frequentemente parecem árvores microscópicas. Denominando-os de “árvores-de-água” (water-trees) e sugeriu que poderiam atuar como sítios potenciais para a degradação hidrolítica das ligações resina-dentina.

Este trabalho tem assim como objectivo a realização de um estudo experimental *in vitro*, para avaliar a nanoinfiltração de um adesivo universal de um passo com estratégia E.D., E.R. e ainda com uma camada adicional de resina hidrofóbica, bem como de um sistema adesivo E.D. de dois passos em modo E.D. e E.R.

MATERIAIS E MÉTODOS

Desenho do estudo

Foram selecionados 12 terceiros molares humanos, divididos por 6 grupos, cada um com 2 dentes. Os molares eram dentes recém extraídos intactos, sem lesões macroscópicas de cárie ou restaurações. Foram removidos todos os tecidos aderentes e sangue em água corrente e armazenados numa solução de Cloramina T a 0,5% por um período máximo de 6 meses (Tay, F. R. *et al.* 2005). Foram removidos os detritos dos dentes com uma cureta e limpos com uma escova profilática durante 15seg.

Preparação dos dentes

As coroas dos dentes foram unidas a suportes acrílicos com cera colante, perpendicularmente ao maior eixo do dente, tal como pode ser observado na figura 1.



Fig.1- Dente montado no suporte acrílico

Removeram-se as cúspides dos dentes com um corte perpendicular ao longo eixo do dente, para expor a dentina média, depois fez-se um corte paralelo a 2mm abaixo do primeiro com um disco de diamante (Diamond Wafering Blade -10,2cm* 0,3mm- Series 15HC, Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, USA), num micrótopo de tecidos duros (Isomet 1000 Precision Saw, Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, USA) a baixa rotação, sob refrigeração com água.



Fig.2- Micrótopo de tecidos duros

Com o objectivo de formar uma *smear layer* semelhante à que é obtida em situações clínicas, a superfície dos dentes foi polida com discos de papel abrasivo de carbetto de silício (SiC) de grão 600 grit (Buehler) durante 60 segundos sob água (Pashley, D. H. *et al.* 1988) numa máquina polidora (Struers).

Distribuiu-se aleatoriamente os espécimes por 6 grupos, e aplicou-se o adesivo de acordo com a distribuição nos respectivos grupos.

Material	Fabricante	Composição	Lote e Validade
Adesivo Clerafil SE Bond	Kuraray, Okayama, Japan	<i>PRIMER</i> : 10-MDP, HEMA, DMA hidrofílico, foto-iniciador, amina terciária aromática, água <i>BOND</i> : BisGMA, 10-MDP, HEMA, DMA hidrofóbico, foto-iniciador, amina terciária aromática, sílica coloidal silanizada	Lote: 000032 Validade: 2015-07
Adesivo do Schotchbond multipurpose	3M ESPE Seefeld, Germany	<i>BOND</i> : Bis-GMA, HEMA, aminas terciárias, foto-iniciador	Lote: N421442 Validade:2015-08
Scotchbond Universal	3M ESPE Seefeld, Germany	BisGMA, HEMA, água, etanol, silano-sílica tratado, decametileno dimetacrilato (10-MDP), 2- ácido propenóico, 2-metil, produtos de reação com 1,10-decanediol e óxido fosfórico (P ₂ O ₅), copolímero ácido acrílico e itacónico (Copolímero Vitrebond), dimetilaminobenzoato(-4), CQ (dimetilamino) metacrilato etílico, metil-etil-cetona, sílano	Lote:490251 Validade: 2014-09
Ácido Ortofosforico	3M ESPE St.Paul, MN	Ácido fosfórico (H ₃ PO ₄) a 32%, espessante, corante, água	Lote: 537103 Validade: 2015-11

32%	U.S.A.	desionizada	
Compósito Filtek Bulk Fill	3M ESPE St.Paul, MN U.S.A.	BisGMA, UDMA, bisEMA(6), Procrilat, Trifluoreto de itérbio, sílica, zircónia.	Lote: N390563 Validade: 2015/05

Tabela 1 – Fabricante, composição e lote do adesivo, ácido e compósito usados.

Distribuição das amostras nos vários grupos

Grupo SBUED – Adesivo Scotchbond Universal, adesivo de 1 passo aplicado em modo *etch-and-dry*, segundo instruções do fabricante;

Grupo CSED – Clearfil SE Bond, adesivo de 2 passos aplicado em modo *etch-and-dry*, segundo instruções do fabricante;

Grupo SBUER – Adesivo Scotchbond Universal, aplicado como adesivo de 2 passos em modo *etch-and-rinse*, segundo instruções do fabricante;

Grupo CSER – Clearfil SE Bond, aplicado como adesivo de 3 passos em modo *etch-and-rinse*, variação às instruções do fabricante;

Grupo SAED – Adesivo Scotchbond Universal + adesivo Scotchbond Multipurpose em modo *etch-and-dry* de 2 passos;

Grupo SAER – Adesivo Scotchbond Universal + adesivo Scotchbond Multipurpose em modo *etch-and-rinse* de 3 passos;



Fig. 3 e 4- Sistema adesivo Clearfil SE Bond™ e Scotchbond Universal™

Preparação das amostras nos vários grupos

Grupo SBUED: Scotchbond Universal segundo instruções do fabricante

– técnica *etch and dry*

1. A superfície oclusal foi ligeiramente seca mas mantida húmida com a utilização de uma bola de algodão húmida.
2. Utilizando o aplicador descartável, aplicou-se o adesivo em todo o substrato dentário e pressionou-se (massajando) durante aproximadamente 20 segundos.
3. Em seguida, aplicou-se um sopro de ar leve sobre o líquido, até que este deixasse de evidenciar movimento e o solvente se tivesse evaporado completamente. Começou-se a uma distância de cerca de 10 cm e a baixa pressão, foi-se aumentando a pressão à medida que se diminuía a distância até perto de 1-2 mm da superfície.
4. Polimerizou-se o adesivo durante 10 segundos a uma distância de 1-2mm da superfície, com um fotopolimerizador Elipar S10 (3M ESPE Seefeld, Alemanha).

Grupo CSED: Clearfil SE Bond segundo instruções do fabricante –

técnica *etch-and-dry*

1. A superfície oclusal foi ligeiramente seca mas mantida húmida com a aplicação de uma bola de algodão húmida.
2. Aplicou-se o primer em toda a superfície com um aplicador descartável. Aguardou-se 20 segundos.
3. Após o condicionamento do dente, evaporou-se os ingredientes voláteis com um jacto de ar leve e isento de óleo. Começou-se a uma distância de cerca de 10 cm e a baixa pressão, foi-se aumentando a pressão à medida que se ia diminuindo a distância até perto de 1-2 mm da superfície.
4. Aplicou-se o adesivo em toda a cavidade com um aplicador descartável. Deixou-se uma fina e uniforme camada de adesivo, tendo-se removido o excesso com o mesmo aplicador e usando um suave jacto de ar.
5. Polimerizou-se o adesivo durante 10 segundos a uma distância de 1-2mm da superfície, com um fotopolimerizador Elipar S10 (3M ESPE Seefeld, Alemanha).

Grupo SBUER: Scotchbond Universal segundo instruções do fabricante – técnica *etch and rinse*

1. A superfície oclusal foi ligeiramente seca mas mantida húmida com a utilização de uma bola de algodão húmida.
2. Aplicou-se um gel de condicionamento com 32% de ácido fosfórico, (Scotchbond Universal Etchant), sobre a superfície oclusal deixando atuar durante 15 segundos. Em seguida, lavou-se bem com água, e secou-se mantendo a superfície húmida com a utilização de uma bola de algodão húmida.
3. Utilizando o aplicador descartável, aplicou-se o adesivo em todo o substrato dentário e pressionou-se (massajando) durante aproximadamente 20 segundos.
4. Em seguida, aplicou-se um sopro de ar leve sobre o líquido, até que este deixa-se de evidenciar movimento e o solvente se tivesse evaporado completamente. Começando a uma distância de cerca de 10 cm e a baixa pressão, foi-se aumentando a pressão à medida que se diminuía a distância até perto de 1-2 mm da superfície.
5. Polimerizou-se o adesivo durante 10 segundos a uma distância de 1-2mm da superfície, com um fotopolimerizador Elipar S10 (3M ESPE Seefeld, Alemanha).

Grupo CSER: Clearfil SE Bond Variação às instruções do fabricante com introdução de condicionamento ácido total – técnica *etch-and-rinse*

1. A superfície oclusal foi ligeiramente seca mas mantida húmida com a aplicação de uma bola de algodão húmida.
2. Aplicou-se um gel de condicionamento com 32% de ácido fosfórico, (Scotchbond Universal Etchant), sobre a superfície oclusal deixando atuar durante 15 segundos. Em seguida, lavou-se bem com água, e secou-se mantendo a superfície húmida com a utilização de uma bola de algodão húmida.
3. Aplicou-se o *primer* em toda a superfície com um aplicador descartável. Aguardou-se 20 segundos.

4. Após o condicionamento do dente, evaporou-se os ingredientes voláteis com um jacto de ar leve e isento de óleo. Começou-se a uma distância de cerca de 10 cm e a baixa pressão, foi-se aumentando a pressão à medida que se diminuía a distância até perto de 1-2 mm da superfície.

5. Aplicou-se o adesivo em toda a cavidade com um aplicador descartável. Deixou-se uma fina e uniforme camada de adesivo, removendo-se o excesso com o mesmo aplicador e usando um suave jacto de ar.

6. Polimerizou-se o adesivo durante 10 segundos a uma distância de 1-2mm da superfície, com um fotopolimerizador Elipar S10 (3M ESPE Seefeld, Alemanha).

Grupo SAED: Scotchbond Universal + Adesivo Scotchbond multipurpose (SBU/SM ED) – técnica *etch and dry*

1. A superfície oclusal foi ligeiramente seca mas mantida húmida com a utilização de uma bola de algodão húmida.

2. Utilizando o aplicador descartável, aplicou-se o adesivo em todo o substrato dentário e pressionou-se (massajando) durante aproximadamente 20 segundos.

3. Em seguida, aplicou-se um sopro de ar leve sobre o líquido, até que este deixasse de evidenciar movimento e o solvente se tivesse evaporado completamente. Começando a uma distância de cerca de 10 cm e a baixa pressão, foi-se aumentando a pressão à medida que se diminuía a distância até perto de 1-2 mm da superfície.

4. Polimerizou-se o adesivo durante 10 segundos a uma distância de 1-2mm da superfície, com um fotopolimerizador Elipar S10 (3M ESPE Seefeld, Alemanha).

Grupo SAER: Scotchbond Universal + Adesivo Scotchbond multipurpose (SBU/SM ER) – técnica *etch and rinse*

1. A superfície oclusal foi ligeiramente seca mas mantida húmida com a utilização de uma bola de algodão húmida.

2. Utilizando o aplicador descartável, aplicou-se o adesivo em todo o substrato dentário e pressionou-se (massajando) durante aproximadamente 20 segundos.

3. Em seguida, aplicou-se um sopro de ar leve sobre o líquido, até que este deixasse de evidenciar movimento e o solvente se tivesse evaporado completamente. Começando a uma distância de cerca de 10 cm e a baixa pressão, foi-se aumentando a pressão à medida que se diminuía a distância até perto de 1-2 mm da superfície.

4. Aplicou-se o adesivo Scotchbond Multipurpose em toda a cavidade com um aplicador descartável. Deixou-se uma fina e uniforme camada de adesivo, removendo o excesso com o mesmo aplicador e usando um suave jacto de ar.

5. Polimerizou-se o adesivo durante 10 segundos a uma distância de 1-2mm da superfície, com um fotopolimerizador Elipar S10 (3M ESPE Seefeld, Alemanha).

Ao longo dos procedimentos, a intensidade da luz foi controlada periodicamente por um radiómetro – Model 100 (Demetron Research Corp., U.S.A.) De seguida foi aplicada resina composta fluida Filtek Bulk Fill (3M ESPE) num incremento de 2mm, cor U, fotopolimerizadas durante 20 segundos, segundo as indicações do fabricante.

Seguidamente todos os espécimes foram colocados em água destilada a 37° C durante 24 h numa estufa (EHRET-TK/L4105).

Técnica de impregnação com nitrato de prata amoniacal

Após 24h os dentes restaurados foram seccionados em 2 metades idênticas usando o disco diamantado com refrigeração. De seguida os espécimes foram recobertos por 2 camadas de verniz das unhas, excepto em 1mm da interface adesiva, de modo que essa região da interface fique exposta ao agente impregnante.



Fig.5- : Espécime recoberto com 2 camadas de verniz das unhas

Foi preparada uma solução aquosa de nitrato de prata amoniacal pH=9,5 a 50% por peso (Tay *et al* 2002) à qual se acrescentou uma solução de 28% de hidróxido de amónia (*Sigma Chemical Company, St Louis, MO, USA*) de modo a ajustar o pH da solução a um valor de pH de 9.5. Os espécimes de dentina foram imersos na solução aquosa de nitrato de prata amoniacal a 50% a 37° C durante 24h em recipientes protegidos da luz. Após este periodo, os espécimes foram colocados sob água corrente durante 5 minutos e imersos numa solução fotográfica reveladora (*Periomat Intra, DÜrr Dental, Bissingen, Germany*) durante 8 h sob luz fluorescente, de modo a permitir a redução dos iões de prata a grãos de prata metálicos (Tay *et al* 2002) . Seguidamente os espécimes foram lavados em água corrente durante 5 minutos. O verniz da superfície foi removido por raspagem com faca de cera.

Preparação dos espécimes para MEV

Os espécimes impregnados com nitrato de prata amoniacal, foram imersos numa solução fixadora 2,5% de glutaraldeído com 2% paraformaldeído em 0,1M de cacodilato de sódio tamponado, pH 7,4 durante 12 horas a 4 ° C. Após fixação, as amostras foram lavadas com 20ml de 0,1M de cacodilato de sódio tamponado, pH 7,4 durante 1 hora (a solução foi trocada a cada 20 min.). Em seguida as amostras foram lavadas com água destilada durante 1 minuto.

Os espécimes foram desidratados em imersões de graus ascendentes de etanol (25% por 20 minutos, 50% por 20min, 75% por 20min, 96% por 30min, e 100% por 60 minutos). Em seguida, os espécimes foram colocados numa diluição de 1:1 de etanol e hexametildisilazano (HMDS), durante 10 minutos. Logo após os espécimes foram secos por imersão (HMDS) durante 10 minutos e colocados num papel de filtro dentro de uma caixa petri para secar completamente à temperatura ambiente (Perdigao, J. *et al.* 1995).

Seguidamente os espécimes foram estabilizados com cera colante em cilindros previamente vaselinados e depois embebidos em resina epoxi autopolimerizável (SampleKwickTM Acrylic System, Buehler Ltd.). Após a polimerização a superfície de cada amostra foi polida com discos de papel abrasivo de carbetto de silício com abrasão decrescente debaixo de água, 240 grit por 30 seg. - 400 grit por 60 seg. - 600 grit por 60 seg. - 1200 grit por 60 seg. - 2500 grit por 60 seg.



Fig.6- Polimento com discos de papel abrasivo de carbeto de silício

O polimento foi assim concluído com um disco de tecido e com uma suspensão diamantada (Buehler, Ltd.) de 2 e 1 micrómetros ambos por 3 min. As amostras foram colocadas em ultra-sons num banho de 100% etanol durante 10 minutos. Seguidamente secos e desmineralizados em 0,5% de ácido fosfórico sem sílica (*Sigma Chemical Company, St Louis, MO, USA*) por 1 minuto. Os espécimes foram colocados em caixas de petri forradas com papel absorvente até secarem à temperatura ambiente.

Os espécimes pertencentes a cada grupo, foram depois montados num suporte de alumínio com fita de carbono (Ted Pella Inc). A fita de carbono exposta foi seguidamente recoberta com uma camada de suspensão de prata coloidal de secagem rápida (Ted Pella Inc.) para tornar a superfície mais condutora e impedir a acumulação de electrões dentro da câmara de MEV. De seguida, os espécimes foram revestidos em ouro-paládio com E-5100 *Sputter-coater (Ex-Polaren)* a 20mA por 3 minutos.

Os espécimes montados no suporte foram rotulados e armazenados numa caixa de armazenamento de plástico. A extensão de penetração do nitrato de prata ao longo da interface dentina/adesivo foi então observada no Microscópio Electrónico de Varrimento com um detetor de electrões retrodifundidos (FEG-SEM JEOL 7001 F, Instituto Superior Técnico da Universidade de Lisboa) com uma aceleração de voltagem de 15 Kv e distância de trabalho de 10 milímetros em ampliações de 200x e 2500x.



Fig.7- Microscópio electrónico de varrimento

RESULTADOS

Avaliação Qualitativa da Nanoinfiltração na Camada Híbrida nos diferentes Grupos

Através das imagens captadas no MEV, com detetor de electrões retrodifundidos, é possível observar o compósito, a camada de adesivo, a camada híbrida e os prolongamentos de resina originados pelos diferentes sistemas adesivos deste estudo. Quando existe a presença de nitrato de prata amoniacal, verifica-se uma maior opacidade nas imagens, contrastando assim com o resto das estruturas não impregnadas. Nas imagens ilustrativas dos resultados que se seguem, visualizam-se as camadas híbridas dos seis grupos estudados, tendo-se seleccionado as mais representativas de cada grupo.

Grupo SBUED

Na figura 8 ilustrativa dos resultados do Scotchbond Universal em modo E.D., pode observar-se que a camada híbrida demonstrou ter absorvido pouca água, uma vez que está pouco impregnada com nitrato de prata amoniacal, estando esta impregnação localizada na base da camada híbrida. A camada híbrida apresenta aproximadamente 1,2 a 1,4 μ m de espessura, tendo-se formado prolongamentos de resina hibridizados.

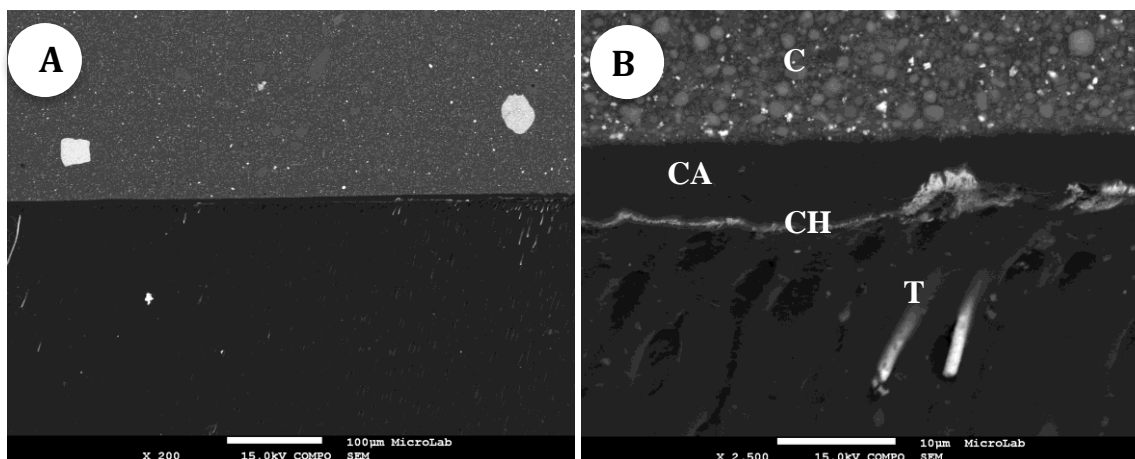


Fig. 8- Micrografias FEG-SEM da interface resina-dentina com SBU-E.D. Ampliação final: **A.** X 200; **B.** X 2,500. C – Compósito; CA – Camada de adesivo; CH – Camada híbrida; T – Prolongamentos de resina.

Grupo CSED

Na figura 9 ilustrativa dos resultados do Clearfil SE Bond em modo E.D., pode observar-se que existe pouca impregnação da camada híbrida com nitrato de prata amoniacal, pelo que terá ocorrido pouca captação de água, estando esta impregnação localizada na base da camada híbrida. A camada híbrida apresenta aproximadamente 0,9 a 1µm de espessura, tendo-se formado prolongamentos de resina hibridizados.

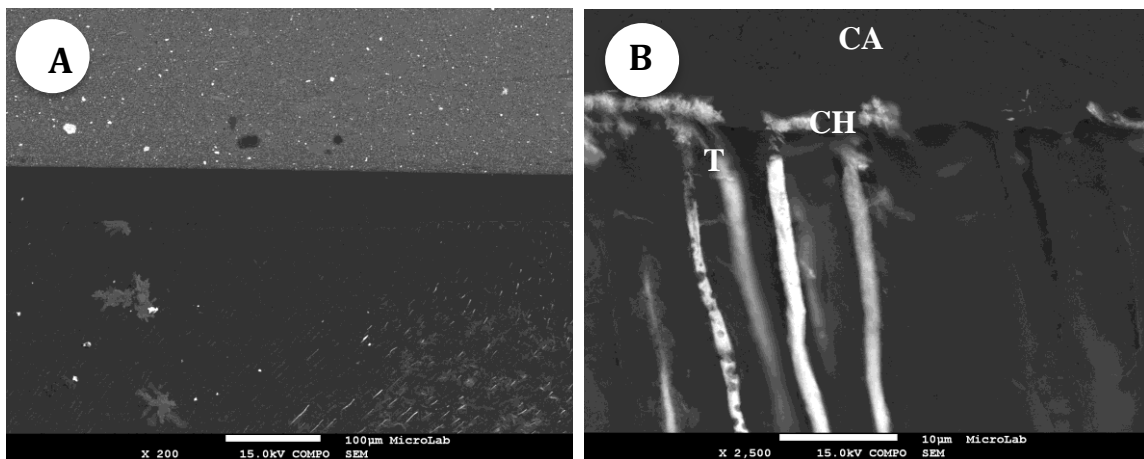


Fig. 9- Micrografias FEG-SEM da interface resina-dentina com CSE-E.D. Ampliação final: **A.** X 200; **B.** X 2,500. CA – Camada de adesivo; CH – Camada híbrida; T – Prolongamentos de resina.

Grupo SBUER

Na figura 10 ilustrativa dos resultados do Scotchbond Universal em modo E.R., pode observar-se que a camada híbrida demonstrou ter absorvido água, uma vez que está impregnada com nitrato de prata amoniacal, estando esta impregnação localizada dentro da camada híbrida. A camada híbrida apresenta aproximadamente 5,7 a 6µm de espessura, tendo-se formado diversos prolongamentos de resina hibridizados. É ainda possível observar “árvores de água” (*water-tree*) na camada híbrida.

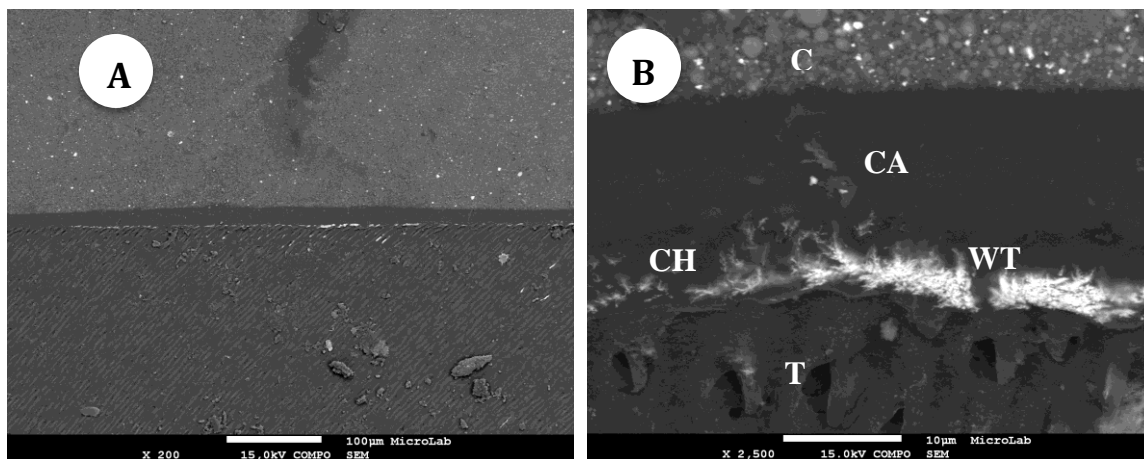


Fig. 10- Micrografias FEG-SEM da interface resina-dentina com SBU-E.R. Ampliação final: **A.** X 200; **B.** X 2,500. C – Compósito; CA – Camada de adesivo; CH – Camada híbrida; T – Prolongamentos de resina; WT – *Water-trees*.

Grupo CSER

Na figura 11 ilustrativa dos resultados Clearfil SE Bond em modo E.R., pode observar-se que a camada híbrida demonstrou ter absorvido alguma água, uma vez que há zonas que estão densamente impregnadas com nitrato de prata amoniacal contrastando com zonas de ausência de impregnação, estando esta impregnação localizada dentro da camada híbrida. A camada híbrida apresenta aproximadamente 4,8 a 5µm de espessura, tendo-se formado prolongamentos de resina hibridizados. É possível observar “árvores-de-água” (*Water-trees*) na camada híbrida.

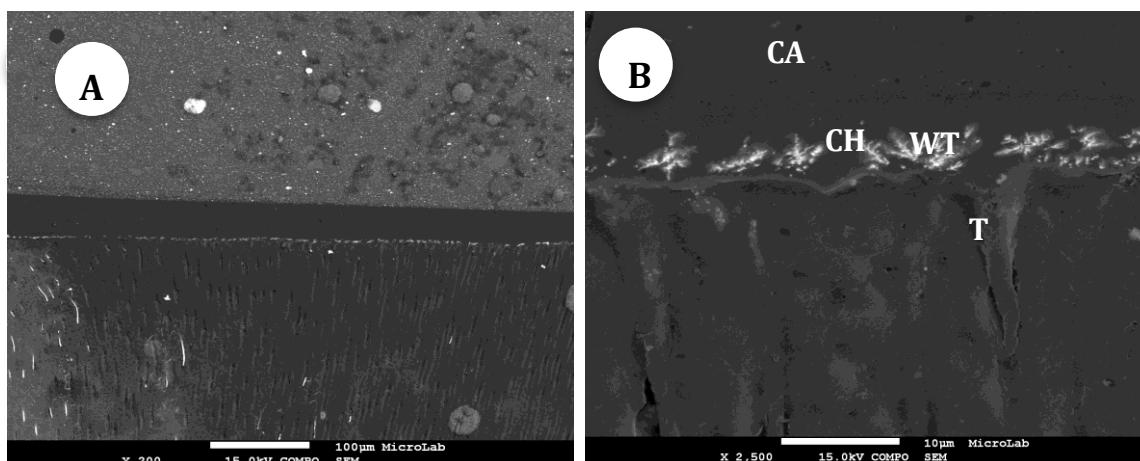


Fig. 11- Micrografias FEG-SEM da interface resina-dentina com CSE-E.R. Ampliação final: **A.** X 200; **B.** X 2,500. CA – Camada de adesivo; CH – Camada híbrida; T – Prolongamentos de resina; WT – *Water-trees*.

Grupo SAED

Na figura 12 ilustrativa dos resultados do Scotchbond Universal mais adesivo scotchbond multipurpose em modo E.D., pode observar-se que a camada híbrida demonstrou ter absorvido água, uma vez que está impregnada uniformemente com nitrato de prata amoniacal, estando esta impregnação localizada na base da camada híbrida. A camada híbrida apresenta aproximadamente 1 a 1,2 μ m de espessura, tendo-se formado prolongamentos de resina hibridizados.

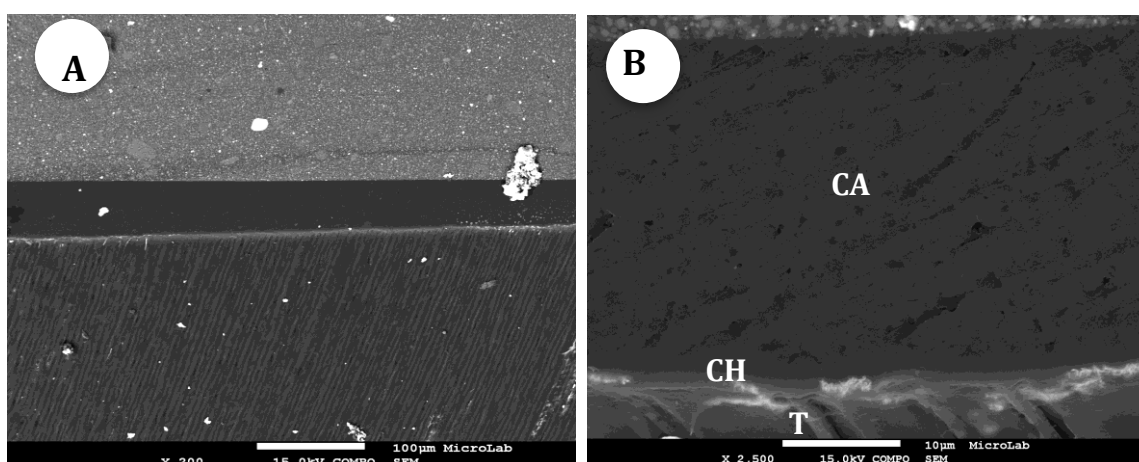


Fig. 12- Micrografias FEG-SEM da interface resina-dentina com SBU+SM-E.D. Ampliação final: **A.** X 200; **B.** X 2,500. CA – Camada de adesivo; CH – Camada híbrida; T – Prolongamentos de resina

Grupo SAER

Na figura 13 ilustrativa dos resultados do Scotchbond Universal mais adesivo scotchbond multipropose em modo E.R., pode observar-se que a camada híbrida demonstrou ter absorvido água, uma vez que está impregnada com nitrato de prata amoniacal, estando esta impregnação localizada dentro da camada híbrida. A camada híbrida apresenta aproximadamente 5,7 a 6µm de espessura, tendo-se formado poucos prolongamentos de resina hibridizados. É possível observar “árvores-de-água” (*Water-trees*) na camada híbrida.

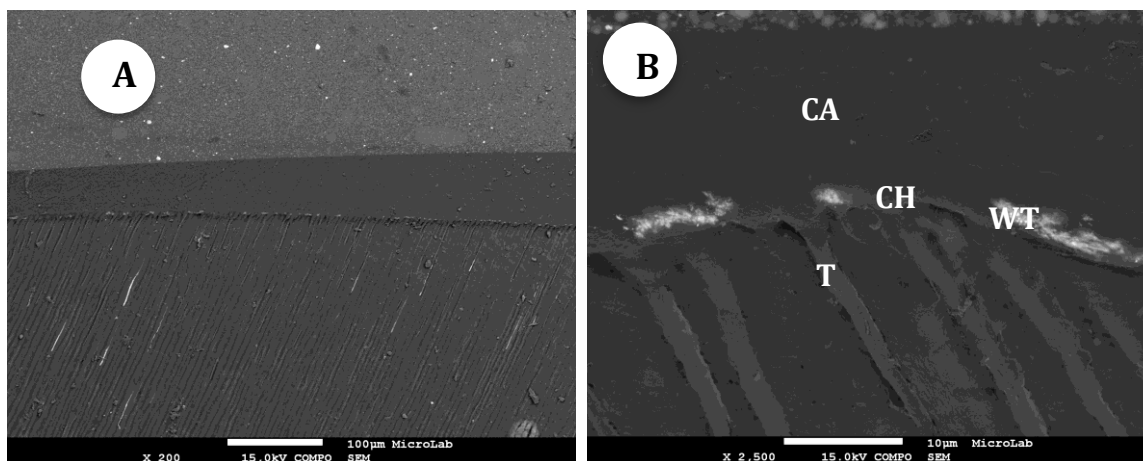


Fig. 13- Micrografias FEG-SEM da interface resina-dentina com SBU+SM-E.R. Ampliação final: **A.** X 200; **B.** X 2,500. CA – Camada de adesivo; CH – Camada híbrida; T – Prolongamentos de resina; WT – *Water-trees*.

DISCUSSÃO

Os adesivos *etch-and-dry* de um passo, estão mais associados a uma menor eficiência das forças adesivas quer para o esmalte quer para dentina do que os que envolvem múltiplos passos (Bouillaguet, S. *et al.* 2001; Frankenberger, R. *et al.* 2001; Chan, K. M. *et al.* 2003).

O SBU é um adesivo universal introduzido recentemente no mercado, surgindo assim a necessidade de realizar estudos que comprovem a sua eficácia tanto em modo E.D. como em modo E.R., tal como é indicado pelo fabricante.

O Clearfil SE Bond (CSE) é hoje em dia considerado o *golden standard* dos adesivos *etch and dry*, quer laboratorialmente quer clinicamente (Okada, H. *et al.* 2009; Hashimoto, M. *et al.* 2010). Este apresenta-se como um dos sistemas mais testados não só pelo seu estatuto como também pelos seus quinze anos de existência. Considerando que estes dois sistemas adesivos, incluem na sua composição o monómero 10-MDP e perante as diferenças entre eles, é relevante englobá-los no mesmo estudo de forma a observar os seus comportamentos a nível da nanoinfiltração.

No presente estudo foi avaliado qualitativamente os padrões de nanoinfiltração observados destes dois sistemas adesivos perante variações da estratégia adesiva, observados ao microscópio electrónico de varrimento com detetor de electrões retrodifundidos. Esta avaliação qualitativa pode ser um pouco subjectiva e difícil de realizar, contudo demonstra ter grande importância na avaliação do desempenho do processo de adesão e previsibilidade da durabilidade dos adesivos a longo prazo em ambiente oral (Ferreira 2013).

Embora se trate de um estudo *in vitro*, tentou-se reproduzir o máximo possível as condições clínicas de aplicação do material. Como tal, com o objectivo de formar uma *smear layer* semelhante à que é obtida em situações clínicas, a superfície dos dentes foi polida com discos de papel abrasivo de carbetto de silício (SiC) de grão 600 grit (Buehler) durante 60 segundos sob água (Pashley, D. H. *et al.* 1988) numa máquina polidora (Struers) e após as restaurações dos espécimes, estes foram armazenados em água destilada numa estufa 24h a 37°C, de modo permitir uma polimerização mais completa da resina composta (Arantes e Oliveira 2004) e a simular o ambiente intraoral. Contudo existe uma controvérsia entre autores, não existindo assim uma metodologia padronizada em relação às condições de armazenamento.

Para avaliar a nanoinfiltração em microscopia electrónica, de acordo com a literatura científica existente, a preparação dos espécimes devem ser feitas removendo o terço oclusal coronal bem como as raízes e seccionando o dente transversalmente com um disco diamantado de baixa velocidade sob irrigação de água, de modo a obtermos discos de dentina com aproximadamente 1mm de espessura (Perdigao, J. *et al.* 1995; Hashimoto, M. *et al.* 2004), foi também este o procedimento efetuado no nosso estudo.

Os procedimentos adesivos e restauradores dos seis grupos testados, foram todos realizados pelo mesmo operador com o objectivo de minimizar erros humanos, usando-se instruções do fabricante mais detalhadas e pormenorizadas, uma vez que foi necessário padronizar o estudo nos diferentes grupos e parâmetros.

No nosso estudo, os espécimes foram recobertos por 2 camadas de verniz das unhas, excepto em 1mm da interface adesiva, de modo a que essa região da interface fique exposta ao agente impregnante, e a restante superfície do dente isolada da impregnação com nitrato de prata, como efetuado em outros estudos (Li, H. *et al.* 2000; Tay, F. R. *et al.* 2002; Yuan, Y. *et al.* 2008) contudo atualmente certos autores defendem não haver diferenças entre a aplicação e a não aplicação deste recobrimento com verniz (Munoz, M. A. *et al.* 2013) não se verificando unanimidade na literatura científica.

A performance do adesivo universal e do Clearfil SE Bond usado neste estudo parece estar dependente da estratégia adesiva usada.

A habilidade de adesão do CSE é dupla: a formação de um intertravamento micro-mecânico na superfície dentinária (Van Meerbeek, B. *et al.* 2003) e ligação química entre a molécula 10-MDP e a hidroxiapatite (Fukeygawa, D. *et al.* 2006; Van Landuyt, K. L. *et al.* 2008; Yoshihara, K. *et al.* 2010). De acordo com o conceito de adesão-descalcificação, quanto menos solúvel for o sal de cálcio da molécula acídica, mais intensa e estável é a adesão molecular à hidroxiapatite. O monómero 10-MDP é absorvido para a hidroxiapatite regularmente numa estrutura em camadas na superfície da hidroxiapatite (*nano-interaction*) (Yoshihara, K. *et al.* 2010) e ao mesmo tempo descalcifica a hidroxiapatite (Fukeygawa, D. *et al.* 2006). O sal Ca-10-MDP é um dos sais hidrolíticos mais estáveis (Van Landuyt, K. L. *et al.* 2008). Apesar da afinidade química provada entre 10-MDP e a hidroxiapatite, o sucesso laboratorial e clínico dos adesivos *etch and dry* de dois passos pode também ser resultado da presença de uma camada adesiva hidrofóbica (Reis, A. *et al.* 2008; Reis, A. *et al.* 2009).

Os resultados deste estudo demonstraram diferentes padrões de nanoinfiltração dependendo do sistema adesivo dentinário usado e da estratégia adesiva usada. A acumulação dos iões de prata, foram observados na base e dentro da camada híbrida. Esta infiltração ocorreu no interior da dentina desmineralizada e foi considerada num tipo especial de permeabilidade da dentina intertubular (Pashley, D. H. & Carvalho, R. M. 1997), a qual nos indica que o sistema adesivo não penetrou completamente na dentina desmineralizada, mas sim deixou a camada híbrida com grandes quantidades de porosidades, que posteriormente podem permitir a difusão lenta de fluídos orais ou dentinários ao longo da interface e subsequentemente hidrolisar a resina adesiva e o colagénio (Sano, H. *et al.* 1994; Sano, H. *et al.* 1995; Pashley, D. H. & Carvalho, R. M. 1997). Van Meerbeek, B. *et al.* (1993) descobriu uma transição gradual da concentração de resina na superfície dentinária desmineralizada, tendo-a denominado de *interdiffusion zone* onde a concentração de resina era maior no topo da camada híbrida e menor perto da base. Se a resina não penetrar na zona desmineralizada mais profunda, a camada enfraquecida de colagénio não infiltrada na base dessa zona pode ser susceptível à degradação hidrolítica a longo-termo (Van Meerbeek, B. *et al.* 1992). A penetração ideal de resina na camada híbrida pode nem sempre ser conseguida, devido ao teor de água residual do colagénio, colapso da rede de colagénio, infiltração incompleta de resina e/ou polimerização incompleta da resina (Eick, J. D. *et al.* 1997).

No nosso estudo os resultados da avaliação qualitativa da nanoinfiltração demonstraram, que o adesivo Scotchbond Universal (SBU) obteve resultados superiores, ou seja menos nanoinfiltração quando aplicado com a camada adicional de adesivo Scotchbond Multipurpose (SM) quer em modo *etch and dry* quer *etch and rinse*, quando aplicado em modo *etch-and-dry* os resultados foram relativamente inferiores e em modo *etch-and-rinse* foi onde obteve os piores resultados.

O Clearfil SE Bond testado em modo *etch and dry* segundo as instruções do fabricante apresentou resultados superiores, com menos nanoinfiltração do que no modo E.R.. Tal fato pode dever-se, que para além da qualidade inferior da camada híbrida, há falta de interação química entre o monómero funcional 10-MDP do Clearfil SE Bond com a hidroxiapatite, podendo esta também ser responsável por uma eficácia inferior das ligações, uma vez que a hidroxiapatite depois do condicionamento com ácido fosfórico já não está disponível por toda a parte da camada híbrida (Van Landuyt, K. L. *et al.* 2006). Dos seis grupos testados o Clearfil SE Bond em modo E.D. foi o que obteve melhores resultados. O Clearfil SE Bond tem sido constantemente referido com

elevadas forças adesivas que se aproximam dos adesivos *etch and rinse* de 3 passos (Toledano, M. *et al.* 2001; Lopes, G. C. *et al.* 2004; Van Landuyt, K. L. *et al.* 2005). Contudo um estudo de Muñoz e colaboradores realizado em 2013, demonstrou que os resultados da nanoinfiltração do Scotchbond Universal em modo E.D. e E.R. foram similares entre si, tendo estes sido inferiores aos do Clearfil SE Bond em modo E.D.

Além das qualidades superiores de condicionamento do 10-MDP, o bom desempenho deste adesivo na dentina, apesar da sua camada híbrida fina e pouca formação de prolongamentos de resina pode ser atribuído à afinidade do 10-MDP para a hidroxiapatite (Yoshida, Y. *et al.* 2004). Pashley, D. H. (1984) e Pashley, D. H. & Carvalho, R. M. (1997), demonstrou que ao remover-se a *smear layer* levava a um aumento drástico da humidade da dentina devido ao fluxo de água através dos túbulos dentinários, que podem influenciar as forças de adesão adversamente. Num estudo recente foi observado que o Peak Universal Adhesive, que é um adesivo *etch and dry* de 2 passos, como o Clearfil SE Bond, obteve resultados superiores em termos de grau de conversão do que os seus homólogos de 1 passo Scotchbond Universal (3M) e All-Bond Universal (Bisco) (Munoz, M. A. *et al.* 2013).

Alguns estudos detetaram maior grau de conversão e menor permeabilidade adesiva para os sistemas adesivos que usaram uma camada extra de resina hidrofóbica (Cadenaro, M. *et al.* 2005; Breschi, L. *et al.* 2007), qual fato observado nos grupos em que ao Scotchbond Universal adicionamos o adesivo Scotchbond Multipurpose quer em modo *etch and dry* e *etch and rinse* tendo este grupo demonstrado melhores resultados com menos nanoinfiltração, do que os 2 outros grupos onde o Scotchbond Universal foi aplicado em modo *etch and dry* e *etch and rinse*, segundo as instruções do fabricante.

A camada extra hidrofóbica de resina acrescenta monómeros hidrofóbicos à interface adesiva, a qual diminui a concentração relativa de solventes retidos e de monómeros que não reagiram na camada adesiva (Breschi, L. *et al.* 2008). Isto por sua vez, aumenta a resistência às forças de tração da interface do adesivo (Loguercio, A. D. *et al.* 2009) devido à formação de uma camada híbrida mais densa e compacta (de Andrade e Silva, S. M. *et al.* 2009), tornando-a mais resistente às forças de tração durante os testes μ TBS e menos propícia aos efeitos de degradação durante o tempo (Reis, A. *et al.* 2007; Reis, A. *et al.* 2008).

Num estudo ainda mais recente de Munoz, M. A. *et al.* (2014), obtiveram resultados que demonstraram que os valores da nanoinfiltração foram similares quando o Scotchbond Universal foi aplicado em modo E.R. e E.D., tendo estes diminuído

significativamente quando adicionada uma camada adicional de resina hidrofóbica, tal fato foi ainda mais notório na estratégia E.R.

Embora o Scotchbond Universal contenha menos 10-MDP que o Clearfil SE Bond (Yoshida, Y. *et al.* 2012), o Scotchbond Universal também contém o copolímero ácido polialquenoico. Este copolímero foi usado primariamente na composição do Vitrebond (3M ESPE), também conhecido como copolímero Vitrebond ou VCP (Mena-Serrano, A. *et al.* 2013). O copolímero ácido polialquenoico liga-se quimicamente ao cálcio da hidroxiapatite (Mitra, S. B. *et al.* 2009). Estudos clínicos tem demonstrado uma boa performance no VCP nos adesivos *etch and rinse* (Dalton Bittencourt, D. *et al.* 2005; Kubo, S. *et al.* 2006), o qual pode ser atribuído, pelo menos parcialmente, à ligação química. Para os adesivos *etch and dry*, a ligação química entre os monómeros policarboxílicos (como o VCP) e a hidroxiapatite desempenham um papel crucial nos seus mecanismos de adesão (Lin, A. *et al.* 1992; Yoshida, Y. *et al.* 2000). Mais de 50% dos grupos de carboxilo do copolímero do ácido polialquenoico são capaz de se ligarem à hidroxiapatite (Lin, A. *et al.* 1992). Os grupos de carboxilo substituem os íons de fosfato no substrato e formam ligações iônicas com o cálcio (Lin, A. *et al.* 1992).

Neste trabalho são apresentadas imagens com diferentes ampliações, contudo todas as medições da camada híbrida foram feitas sempre na ampliação 2500x.

Este estudo apresentou algumas limitações, as quais poderíamos minimizar aumentando a amostra, acrescentando outros tipos de testes, tais como microtração e observação em MET, análise dos resultados em estatística e não apenas análise qualitativa. Sendo ainda importante referir, que estes ensaios foram efetuados laboratorialmente, *in vitro*, não sendo sempre fácil extrapolar os resultados e as respectivas conclusões para o seu comportamento clínico (*in vivo*).

Assim, seria interessante no futuro analisar o comportamento destes materiais por um período de tempo mais longo e através de outros métodos de avaliação. Não menos interessante, poderiam ser realizados estudos *in vivo*, com a finalidade de se obter resultados mais próximos da realidade.

CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo laboratorial permitem concluir, apesar das suas limitações já apresentadas, que o comportamento do sistema adesivo universal de um passo o Scotchbond Universal parece depender da estratégia adesiva utilizada, comportando-se melhor em modo *etch and dry*.

Para o adesivo Scotchbond Universal quando adicionada a camada de adesivo hidrofóbica os resultados melhoraram quer em modo *etch and dry* quer *etch and rinse*.

O comportamento do Clearfil SE Bond foi superior no modo *etch and dry*.

O sistema adesivo *etch and dry* de dois passos Clearfil SE Bond originou menos nanoinfiltração na camada híbrida entre os seis grupos estudados.

O sistema adesivo universal de um passo Scotchbond Universal em modo *etch and rinse* originou mais nanoinfiltração na camada híbrida entre os seis grupos estudados.

Pode depreender-se deste estudo, não obstante as suas limitações, que a utilização do adesivo Scotchbond Universal em modo *etch and rinse*, deve ser usado com alguma precaução, devido ao risco de poder originar uma adesão comprometida, pois demonstrou ter um comportamento inferior aos outros grupos estudados.

Referências Bibliográficas

Arantes e Oliveira, S.M.S. (2004). "Mecanismos de adesão: análise de self-etching materials". Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto, Porto.

Asmussen, E. and S. Uno (1992). "Adhesion of restorative resins to dentin: chemical and physicochemical aspects." Oper Dent Suppl **5**: 68-74.

Baier, R. E. (1992). "Principles of adhesion." Oper Dent Suppl **5**: 1-9.

Barros, J. A., S. I. Myaki, J. E. Nor and M. C. Peters (2005). "Effect of bur type and conditioning on the surface and interface of dentine." J Oral Rehabil **32**(11): 849-856.

Bertolotti, R. (1990). "Total etch, total seal, total success." Dent Dimens **23**(4): 3-4, 10-11.

Bouillaguet, S., P. Gysi, J. C. Wataha, B. Ciucchi, M. Cattani, C. Godin and J. M. Meyer (2001). "Bond strength of composite to dentin using conventional, one-step, and self-etching adhesive systems." J Dent **29**(1): 55-61.

Brackett, W. W., S. Ito, F. R. Tay, L. D. Haisch and D. H. Pashley (2005). "Microtensile dentin bond strength of self-etching resins: effect of a hydrophobic layer." Oper Dent **30**(6): 733-738.

Breschi, L., M. Cadenaro, F. Antonioli, S. Sauro, M. Biasotto, C. Prati, F. R. Tay and R. Di Lenarda (2007). "Polymerization kinetics of dental adhesives cured with LED: correlation between extent of conversion and permeability." Dent Mater **23**(9): 1066-1072.

Breschi, L., A. Mazzoni, A. Ruggeri, M. Cadenaro, R. Di Lenarda and E. De Stefano Dorigo (2008). "Dental adhesion review: aging and stability of the bonded interface." Dent Mater **24**(1): 90-101.

Buonocore, M. G. (1955). "A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces." J Dent Res **34**(6): 849-853.

Cadenaro, M., F. Antonioli, S. Sauro, F. R. Tay, R. Di Lenarda, C. Prati, M. Biasotto, L. Contardo and L. Breschi (2005). "Degree of conversion and permeability of dental adhesives." Eur J Oral Sci **113**(6): 525-530.

Cal-Neto, J. P., M. S. de Miranda and K. R. Dias (2004). "Comparative SEM evaluation of penetration of adhesive systems in human dentin with a non-rinse conditioner and a self-etching primer." Braz Dent J **15**(1): 19-25.

Carvalho, R. M., J. S. Mendonca, S. L. Santiago, R. R. Silveira, F. C. Garcia, F. R. Tay and D. H. Pashley (2003). "Effects of HEMA/solvent combinations on bond strength to dentin." J Dent Res **82**(8): 597-601.

Carvalho, R. M., T. A. Pegoraro, F. R. Tay, L. F. Pegoraro, N. R. Silva and D. H. Pashley (2004). "Adhesive permeability affects coupling of resin cements that utilise self-etching primers to dentine." J Dent **32**(1): 55-65.

Carvalho, R.M. (2004). "Sistemas adesivos: Fundamentos para aplicação clínica". Biodonto **28** (1): 1-86.

Cavalheiro, A. (2004). "Effect of primer application on dentin permeability. Master Thesis. University of Iowa, Iowa.

Chan, K. M., F. R. Tay, N. M. King, S. Imazato and D. H. Pashley (2003). "Bonding of mild self-etching primers/adhesives to dentin with thick smear layers." Am J Dent **16**(5): 340-346.

Chappell, R. P., C. M. Cobb, P. Spencer and J. D. Eick (1994). "Dentinal tubule anastomosis: a potential factor in adhesive bonding?" J Prosthet Dent **72**(2): 183-188.

Coelho, A., Canta, J.P., Martins, J.N.R., Oliveira, S.A., Marques, P. (2012). "Perspetiva histórica e conceitos atuais dos sistemas adesivos amelodentinários – revisão da literatura. *Rev Port Estomatol Med Dent Cir Maxilofac* **53**(1): 39-49.

Dalton Bittencourt, D., I. G. Ezecelevski, A. Reis, J. W. Van Dijken and A. D. Loguercio (2005). "An 18-months' evaluation of self-etch and etch & rinse adhesive in non-carious cervical lesions." *Acta Odontol Scand* **63**(3): 173-178.

de Andrade e Silva, S. M., M. R. Carrilho, L. Marquezini Junior, F. C. Garcia, A. P. Manso, M. C. Alves and R. M. de Carvalho (2009). "Effect of an additional hydrophilic versus hydrophobic coat on the quality of dentinal sealing provided by two-step etch-and-rinse adhesives." *J Appl Oral Sci* **17**(3): 184-189.

De Munck, J., B. Van Meerbeek, Y. Yoshida, S. Inoue, M. Vargas, K. Suzuki, P. Lambrechts and G. Vanherle (2003). "Four-year water degradation of total-etch adhesives bonded to dentin." *J Dent Res* **82**(2): 136-140.

Eick, J. D., A. J. Gwinnett, D. H. Pashley and S. J. Robinson (1997). "Current concepts on adhesion to dentin." *Crit Rev Oral Biol Med* **8**(3): 306-335.

Ernst, C. P. (2004). "Positioning self-etching adhesives: versus or in addition to phosphoric acid etching?" *J Esthet Restor Dent* **16**(1): 57-69.

Fawzy, A. S. (2010). "Variations in collagen fibrils network structure and surface dehydration of acid demineralized intertubular dentin: effect of dentin depth and air-exposure time." *Dent Mater* **26**(1): 35-43.

Ferrari, M., C. M. Cagidiaco and P. N. Mason (1994). "Morphologic aspects of the resin-dentin interdiffusion zone with five different dentin adhesive systems tested in vivo." *J Prosthet Dent* **71**(4): 404-408.

Ferreira, J. (2013). "Estudo comparativo da camada híbrida, prolongamentos de resina e forças adesivas em dentina de sistemas adesivos total-etch com diferentes solventes e

sistemas adesivos self-etch". Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto, Porto.

Frankenberger, R., J. Perdigão, B. T. Rosa and M. Lopes (2001). "'No-bottle" vs "multi-bottle" dentin adhesives--a microtensile bond strength and morphological study." Dent Mater **17**(5): 373-380.

Fukegawa, D., S. Hayakawa, Y. Yoshida, K. Suzuki, A. Osaka and B. Van Meerbeek (2006). "Chemical interaction of phosphoric acid ester with hydroxyapatite." J Dent Res **85**(10): 941-944.

Fusayama, T., M. Nakamura, N. Kurosaki and M. Iwaku (1979). "Non-pressure adhesion of a new adhesive restorative resin." J Dent Res **58**(4): 1364-1370.

Gwinnett, A. J. (1992). "Moist versus dry dentin: its effect on shear bond strength." Am J Dent **5**(3): 127-129.

Gwinnett, A. J. (1993). "Quantitative contribution of resin infiltration/hybridization to dentin bonding." Am J Dent **6**(1): 7-9.

Hanabusa, M., A. Mine, T. Kuboki, Y. Momoi, A. Van Ende, B. Van Meerbeek and J. De Munck (2012). "Bonding effectiveness of a new 'multi-mode' adhesive to enamel and dentine." J Dent **40**(6): 475-484.

Hashimoto, M., J. De Munck, S. Ito, H. Sano, M. Kaga, H. Oguchi, B. Van Meerbeek and D. H. Pashley (2004). "In vitro effect of nanoleakage expression on resin-dentin bond strengths analyzed by microtensile bond test, SEM/EDX and TEM." Biomaterials **25**(25): 5565-5574.

Hashimoto, M., S. Fujita, F. Nagano, H. Ohno and K. Endo (2010). "Ten-years degradation of resin-dentin bonds." Eur J Oral Sci **118**(4): 404-410.

Hashimoto, M., H. Ohno, H. Sano, F. R. Tay, M. Kaga, Y. Kudou, H. Oguchi, Y. Araki and M. Kubota (2002). "Micromorphological changes in resin-dentin bonds after 1 year of water storage." J Biomed Mater Res **63**(3): 306-311.

Hashimoto, M., H. Sano, E. Yoshida, M. Hori, M. Kaga, H. Oguchi and D. H. Pashley (2004). "Effects of multiple adhesive coatings on dentin bonding." Oper Dent **29**(4): 416-423.

Hashimoto, M., F. R. Tay, H. Ohno, H. Sano, M. Kaga, C. Yiu, H. Kumagai, Y. Kudou, M. Kubota and H. Oguchi (2003). "SEM and TEM analysis of water degradation of human dentinal collagen." J Biomed Mater Res B Appl Biomater **66**(1): 287-298.

Inoue, S., M. A. Vargas, Y. Abe, Y. Yoshida, P. Lambrechts, G. Vanherle, H. Sano and B. Van Meerbeek (2001). "Microtensile bond strength of eleven contemporary adhesives to dentin." J Adhes Dent **3**(3): 237-245.

Inoue, S., M. A. Vargas, Y. Abe, Y. Yoshida, P. Lambrechts, G. Vanherle, H. Sano and B. Van Meerbeek (2003). "Microtensile bond strength of eleven contemporary adhesives to enamel." Am J Dent **16**(5): 329-334.

Kanca, J., 3rd (1992). "Effect of resin primer solvents and surface wetness on resin composite bond strength to dentin." Am J Dent **5**(4): 213-215.

Kubo, S., K. Kawasaki, H. Yokota and Y. Hayashi (2006). "Five-year clinical evaluation of two adhesive systems in non-carious cervical lesions." J Dent **34**(2): 97-105.

Li, H., M. F. Burrow and M. J. Tyas (2000). "Nanoleakage of cervical restorations of four dentin bonding systems." J Adhes Dent **2**(1): 57-65.

Li, H., M. F. Burrow and M. J. Tyas (2000). "Nanoleakage patterns of four dentin bonding systems." Dent Mater **16**(1): 48-56.

Lin, A., N. S. McIntyre and R. D. Davidson (1992). "Studies on the adhesion of glass-ionomer cements to dentin." J Dent Res **71**(11): 1836-1841.

Loguercio, A. D., F. Loeblein, T. Cherobin, F. Ogliari, E. Piva and A. Reis (2009). "Effect of solvent removal on adhesive properties of simplified etch-and-rinse systems and on bond strengths to dry and wet dentin." J Adhes Dent **11**(3): 213-219.

Lopes, G. C., L. N. Baratieri, M. A. de Andrada and L. C. Vieira (2002). "Dental adhesion: present state of the art and future perspectives." Quintessence Int **33**(3): 213-224.

Lopes, G. C., F. C. Marson, L. C. Vieira, A. M. de Caldeira and L. N. Baratieri (2004). "Composite bond strength to enamel with self-etching primers." Oper Dent **29**(4): 424-429.

Mena-Serrano, A., C. Kose, E. A. De Paula, L. Y. Tay, A. Reis, A. D. Loguercio and J. Perdigao (2013). "A new universal simplified adhesive: 6-month clinical evaluation." J Esthet Restor Dent **25**(1): 55-69.

Mitra, S. B., C. Y. Lee, H. T. Bui, D. Tantbiroj and R. P. Rusin (2009). "Long-term adhesion and mechanism of bonding of a paste-liquid resin-modified glass-ionomer." Dent Mater **25**(4): 459-466.

Mohan, B. and D. Kandaswamy (2005). "A confocal microscopic evaluation of resin-dentin interface using adhesive systems with three different solvents bonded to dry and moist dentin in vitro study." Quintessence Int **36**(7-8): 511-521.

Munoz, M. A., I. Luque, V. Hass, A. Reis, A. D. Loguercio and N. H. Bombarda (2013). "Immediate bonding properties of universal adhesives to dentine." J Dent **41**(5): 404-411.

Munoz, M. A., A. Sezinando, I. Luque-Martinez, A. L. Szesz, A. Reis, A. D. Loguercio, N. H. Bombarda and J. Perdigao (2014). "Influence of a hydrophobic resin coating on the bonding efficacy of three universal adhesives." J Dent **42**(5): 595-602.

Nakabayashi, N., K. Kojima and E. Masuhara (1982). "The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates." J Biomed Mater Res **16**(3): 265-273.

Nakabayashi, N. and K. Takarada (1992). "Effect of HEMA on bonding to dentin." Dent Mater **8**(2): 125-130.

Nakabayashi, N., A. Watanabe and K. Igarashi (2004). "AFM observation of collapse and expansion of phosphoric acid-demineralized dentin." J Biomed Mater Res A **68**(3): 558-565.

Okada, H., A. Sadr, Y. Shimada and J. Tagami (2009). "Micro-shear bond strength of current one-step adhesives to cementum and dentin." Am J Dent **22**(5): 259-263.

Pashley, D. H. (1984). "Smear layer: physiological considerations." Oper Dent Suppl **3**: 13-29.

Oliveira, N.A., Diniz, L.S.M., Svizero, N.R., D'Álpino, P.H., Pegoraro, C. (2010). "Dental adhesives: new concepts and clinical applications. Revista Dentística on line (19): 6-14.

Pashley, D. H. and R. M. Carvalho (1997). "Dentine permeability and dentine adhesion." J Dent **25**(5): 355-372.

Pashley, D. H., B. Ciucchi, H. Sano, R. M. Carvalho and C. M. Russell (1995). "Bond strength versus dentine structure: a modelling approach." Arch Oral Biol **40**(12): 1109-1118.

Pashley, D. H., E. L. Pashley, R. M. Carvalho and F. R. Tay (2002). "The effects of dentin permeability on restorative dentistry." Dent Clin North Am **46**(2): 211-245, v-vi.

Pashley, D. H., L. Tao, L. Boyd, G. E. King and J. A. Horner (1988). "Scanning electron microscopy of the substructure of smear layers in human dentine." Arch Oral Biol **33**(4): 265-270.

Pashley, D. H. and F. R. Tay (2001). "Aggressiveness of contemporary self-etching adhesives. Part II: etching effects on unground enamel." Dent Mater **17**(5): 430-444.

Pashley, D. H., F. R. Tay, L. Breschi, L. Tjaderhane, R. M. Carvalho, M. Carrilho and A. Tezvergil-Mutluay (2011). "State of the art etch-and-rinse adhesives." Dent Mater **27**(1): 1-16.

Paul, S. J., D. A. Welter, M. Ghazi and D. Pashley (1999). "Nanoleakage at the dentin adhesive interface vs microtensile bond strength." Oper Dent **24**(3): 181-188.

Perdigao, J. (2002). "Dentin bonding as a function of dentin structure." Dent Clin North Am **46**(2): 277-301, vi.

Perdigao, J. And A.V.Ritter (2003). "Adesão aos tecidos dentários". Odontologia Restauradora – Fundamentos e Possibilidades. Quintessence Editora-Santos Livraria Editora, São Paulo. Pag.85

Perdigao, J. (2007). "New developments in dental adhesion." Dent Clin North Am **51**(2): 333-357, viii.

Perdigao, J., S. Duarte, Jr. and M. M. Lopes (2003). "Advances in dentin adhesion." Compend Contin Educ Dent **24**(8 Suppl): 10-16; quiz 61.

Perdigao, J., P. Lambrechts, B. Van Meerbeek, M. Braem, E. Yildiz, T. Yucel and G. Vanherle (1996). "The interaction of adhesive systems with human dentin." Am J Dent **9**(4): 167-173.

Perdigao, J., P. Lambrechts, B. Van Meerbeek, G. Vanherle and A. L. Lopes (1995). "Field emission SEM comparison of four postfixation drying techniques for human dentin." J Biomed Mater Res **29**(9): 1111-1120.

Perdigao, J. and M. Lopes (1999). "Dentin bonding--questions for the new millennium." J Adhes Dent **1**(3): 191-209.

Perdigao, J., A. Sezinando and P. C. Monteiro (2012). "Laboratory bonding ability of a multi-purpose dentin adhesive." Am J Dent **25**(3): 153-158.

Peumans, M., P. Kanumilli, J. De Munck, K. Van Landuyt, P. Lambrechts and B. Van Meerbeek (2005). "Clinical effectiveness of contemporary adhesives: a systematic review of current clinical trials." Dent Mater **21**(9): 864-881.

Peumans, M., J. Munck, K. Van Landuyt, P. Lambrechts and B. Van Meerbeek (2005). "Three-year clinical effectiveness of a two-step self-etch adhesive in cervical lesions." Eur J Oral Sci **113**(6): 512-518.

Prati, C., S. Chersoni, G. L. Acquaviva, L. Breschi, P. Suppa, F. R. Tay and D. H. Pashley (2005). "Permeability of marginal hybrid layers in composite restorations." Clin Oral Investig **9**(1): 1-7.

Reis, A., M. Albuquerque, M. Pegoraro, G. Mattei, J. R. Bauer, R. H. Grande, C. A. Klein-Junior, R. Baumhardt-Neto and A. D. Loguercio (2008). "Can the durability of one-step self-etch adhesives be improved by double application or by an extra layer of hydrophobic resin?" J Dent **36**(5): 309-315.

Reis, A., P. de Carvalho Cardoso, L. C. Vieira, L. N. Baratieri, R. H. Grande and A. D. Loguercio (2008). "Effect of prolonged application times on the durability of resin-dentin bonds." Dent Mater **24**(5): 639-644.

Reis, A., R. H. Grande, G. M. Oliveira, G. C. Lopes and A. D. Loguercio (2007). "A 2-year evaluation of moisture on microtensile bond strength and nanoleakage." Dent Mater **23**(7): 862-870.

Reis, A., T. M. Leite, K. Matte, R. Michels, R. C. Amaral, S. Geraldeli and A. D. Loguercio (2009). "Improving clinical retention of one-step self-etching adhesive systems with an additional hydrophobic adhesive layer." J Am Dent Assoc **140**(7): 877-885.

Sano, H., T. Shono, T. Takatsu and H. Hosoda (1994). "Microporous dentin zone beneath resin-impregnated layer." Oper Dent **19**(2): 59-64.

Sano, H., T. Takatsu, B. Ciucchi, J. A. Horner, W. G. Matthews and D. H. Pashley (1995). "Nanoleakage: leakage within the hybrid layer." Oper Dent **20**(1): 18-25.

Schneider, H., M. Frohlich, G. Erler, C. Engelke and K. Merte (2000). "Interaction patterns between dentin and adhesive on prepared class V cavities in vitro and in vivo." J Biomed Mater Res **53**(1): 86-92.

Silva e Souza, M. H., Jr., K. G. Carneiro, M. F. Lobato, A. Silva e Souza Pde and M. F. de Goes (2010). "Adhesive systems: important aspects related to their composition and clinical use." J Appl Oral Sci **18**(3): 207-214.

Suppa, P., L. Breschi, A. Ruggeri, G. Mazzotti, C. Prati, S. Chersoni, R. Di Lenarda, D. H. Pashley and F. R. Tay (2005). "Nanoleakage within the hybrid layer: a correlative FEISEM/TEM investigation." J Biomed Mater Res B Appl Biomater **73**(1): 7-14.

Swift, E. J., Jr., J. Perdigao and H. O. Heymann (1995). "Bonding to enamel and dentin: a brief history and state of the art, 1995." Quintessence Int **26**(2): 95-110.

Tay, F. R., A. J. Gwinnett, K. M. Pang and S. H. Wei (1996). "Resin permeation into acid-conditioned, moist, and dry dentin: a paradigm using water-free adhesive primers." J Dent Res **75**(4): 1034-1044.

Tay, F. R., J. A. Gwinnett and S. H. Wei (1996). "Micromorphological spectrum from overdrying to overwetting acid-conditioned dentin in water-free acetone-based, single-bottle primer/adhesives." Dent Mater **12**(4): 236-244.

Tay, F. R., J. A. Gwinnett and S. H. Wei (1997). "The overwet phenomenon in two-component acetone-based primers containing aryl amine and carboxylic acid monomers." Dent Mater **13**(2): 118-127.

Tay, F. R., M. Hashimoto, D. H. Pashley, M. C. Peters, S. C. Lai, C. K. Yiu and C. Cheong (2003). "Aging affects two modes of nanoleakage expression in bonded dentin." J Dent Res **82**(7): 537-541.

Tay, F. R., N. M. King, K. M. Chan and D. H. Pashley (2002). "How can nanoleakage occur in self-etching adhesive systems that demineralize and infiltrate simultaneously?" J Adhes Dent **4**(4): 255-269.

Tay, F. R. and D. H. Pashley (2003). "Water treeing--a potential mechanism for degradation of dentin adhesives." Am J Dent **16**(1): 6-12.

Tay, F. R., D. H. Pashley, N. Hiraishi, S. Imazato, F. A. Rueggeberg, U. Salz, J. Zimmermann and N. M. King (2005). "Tubular occlusion prevents water-treeing and through-and-through fluid movement in a single-bottle, one-step self-etch adhesive model." J Dent Res **84**(10): 891-896.

Tay, F. R., D. H. Pashley, B. I. Suh, R. M. Carvalho and A. Itthagarun (2002). "Single-step adhesives are permeable membranes." J Dent **30**(7-8): 371-382.

Tay, F. R., D. H. Pashley, C. Yiu, C. Cheong, M. Hashimoto, K. Itou, M. Yoshiyama and N. M. King (2004). "Nanoleakage types and potential implications: evidence from unfilled and filled adhesives with the same resin composition." Am J Dent **17**(3): 182-190.

Tay, F. R., D. H. Pashley and M. Yoshiyama (2002). "Two modes of nanoleakage expression in single-step adhesives." J Dent Res **81**(7): 472-476.

Toledano, M., R. Osorio, G. de Leonardi, J. I. Rosales-Leal, L. Ceballos and M. A. Cabrerizo-Vilchez (2001). "Influence of self-etching primer on the resin adhesion to enamel and dentin." Am J Dent **14**(4): 205-210.

Torii, Y., K. Itou, Y. Nishitani, K. Ishikawa and K. Suzuki (2002). "Effect of phosphoric acid etching prior to self-etching primer application on adhesion of resin composite to enamel and dentin." Am J Dent **15**(5): 305-308.

Turkun, S. L. (2003). "Clinical evaluation of a self-etching and a one-bottle adhesive system at two years." J Dent **31**(8): 527-534.

Van Landuyt, K. L., J. De Munck, J. Snauwaert, E. Coutinho, A. Poitevin, Y. Yoshida, S. Inoue, M. Peumans, K. Suzuki, P. Lambrechts and B. Van Meerbeek (2005). "Monomer-solvent phase separation in one-step self-etch adhesives." J Dent Res **84**(2): 183-188.

Van Landuyt, K. L., P. Kanumilli, J. De Munck, M. Peumans, P. Lambrechts and B. Van Meerbeek (2006). "Bond strength of a mild self-etch adhesive with and without prior acid-etching." J Dent **34**(1): 77-85.

Van Landuyt, K. L., M. Peumans, J. De Munck, P. Lambrechts and B. Van Meerbeek (2006). "Extension of a one-step self-etch adhesive into a multi-step adhesive." Dent Mater **22**(6): 533-544.

Van Landuyt, K. L., Y. Yoshida, I. Hirata, J. Snauwaert, J. De Munck, M. Okazaki, K. Suzuki, P. Lambrechts and B. Van Meerbeek (2008). "Influence of the chemical structure of functional monomers on their adhesive performance." J Dent Res **87**(8): 757-761.

Van Meerbeek, B., J. De Munck, Y. Yoshida, S. Inoue, M. Vargas, P. Vijay, K. Van Landuyt, P. Lambrechts and G. Vanherle (2003). "Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges." Oper Dent **28**(3): 215-235.

Van Meerbeek, B., S. Inokoshi, M. Braem, P. Lambrechts and G. Vanherle (1992). "Morphological aspects of the resin-dentin interdiffusion zone with different dentin adhesive systems." J Dent Res **71**(8): 1530-1540.

Van Meerbeek, B., H. Mohrbacher, J. P. Celis, J. R. Roos, M. Braem, P. Lambrechts and G. Vanherle (1993). "Chemical characterization of the resin-dentin interface by micro-Raman spectroscopy." J Dent Res **72**(10): 1423-1428.

Van Meerbeek, B., J. Perdigao, P. Lambrechts and G. Vanherle (1998). "The clinical performance of adhesives." J Dent **26**(1): 1-20.

Van Meerbeek, B., Vargas, M., Inou, S., Yoshida, Y., Peumans, M., Lambrechts, P. (2001). "Adhesives and cements to promote preservation dentistry". Oper Dent Suppl (6): 119-144.

Van Meerbeek, B., K. Van Landuyt, J. De Munck, M. Hashimoto, M. Peumans, P. Lambrechts, Y. Yoshida, S. Inoue and K. Suzuki (2005). "Technique-sensitivity of contemporary adhesives." Dent Mater J **24**(1): 1-13.

Van Meerbeek, B., Van Landuyt, K., De Munck, J., Inoue, S., Yoshida, Y., Perdigao, J., Lambrechts, P., Peumans, M. (2006). "Bonding to enamel and dentin". Fundamentals of Operative Dentistry. Quintessence Publishing, Illinois. Chapter 8 pag.215.

Wang, Y., Mc Mann, T.R., Spencer, P. (2001). "Morphologic and chemical characterization of the dentin/ Self-etch interface". (Abstract 1715). J Dent Res. 80 (special issue).

Yang, B., R. Adelung, K. Ludwig, K. Bossmann, D. H. Pashley and M. Kern (2005). "Effect of structural change of collagen fibrils on the durability of dentin bonding." Biomaterials **26**(24): 5021-5031.

Yoshida, Y., K. Nagakane, R. Fukuda, Y. Nakayama, M. Okazaki, H. Shintani, S. Inoue, Y. Tagawa, K. Suzuki, J. De Munck and B. Van Meerbeek (2004). "Comparative study on adhesive performance of functional monomers." J Dent Res **83**(6): 454-458.

Yoshida, Y., B. Van Meerbeek, Y. Nakayama, J. Snauwaert, L. Hellemans, P. Lambrechts, G. Vanherle and K. Wakasa (2000). "Evidence of chemical bonding at biomaterial-hard tissue interfaces." J Dent Res **79**(2): 709-714.

Yoshida, Y., K. Yoshihara, N. Nagaoka, S. Hayakawa, Y. Torii, T. Ogawa, A. Osaka and B. V. Meerbeek (2012). "Self-assembled Nano-layering at the Adhesive interface." J Dent Res **91**(4): 376-381.

Yoshihara, K., Y. Yoshida, S. Hayakawa, N. Nagaoka, Y. Torii, A. Osaka, K. Suzuki, S. Minagi, B. Van Meerbeek and K. L. Van Landuyt (2011). "Self-etch monomer-calcium salt deposition on dentin." J Dent Res **90**(5): 602-606.

Yoshihara, K., Y. Yoshida, N. Nagaoka, D. Fukegawa, S. Hayakawa, A. Mine, M. Nakamura, S. Minagi, A. Osaka, K. Suzuki and B. Van Meerbeek (2010). "Nano-controlled molecular interaction at adhesive interfaces for hard tissue reconstruction." Acta Biomater **6**(9): 3573-3582.

Yuan, Y., Y. Shimada, S. Ichinose and J. Tagami (2007). "Qualitative analysis of adhesive interface nanoleakage using FE-SEM/EDS." Dent Mater **23**(5): 561-569.

Yuan, Y., Y. Shimada, S. Ichinose and J. Tagami (2008). "Hybridization quality in cervical cementum and superficial dentin using current adhesives." Dent Mater **24**(5): 584-593.

Zhu, Q., R. Haglund, J. L. Chiou and J. W. Dean, 3rd (2000). "Effect of smear layer and direction of dentinal tubules on osteoblast adhesion to human dentin tissue." J Endod **26**(6): 318-320.

Anexos



Fig.14- Espécime após restauração montado num suporte acrílico

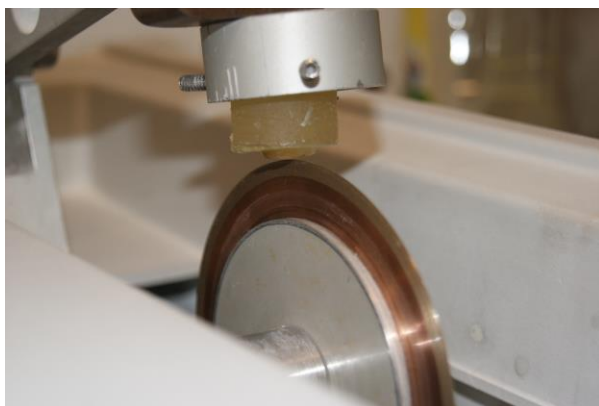


Fig.15- Corte do espécime em 2 metades idênticas num micrótomo

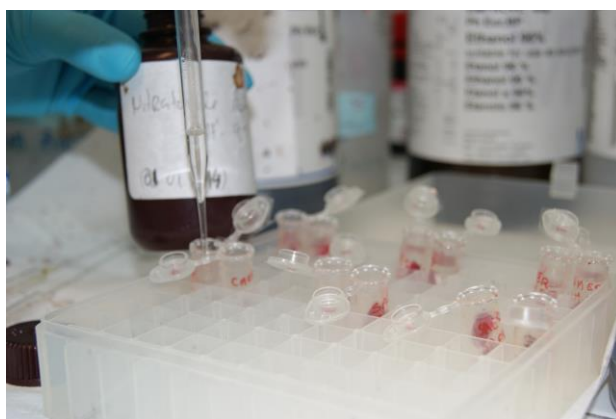


Fig.16- Impregnação dos espécimes com nitrato de prata amoniacal



Fig.17- Imersão dos espécimes na solução fotográfica reveladora



Fig.18- Resina epoxi autopolimerizável SampleKwick™ Acrylic System, Buehler Ltd.



Fig.19- Espécimes embebidos na resina acrílica



Fig.20- Desidratação dos espécimes em imersões de graus ascendentes de etanol



Fig.21- Espécimes montados num suporte de alumínio com fita de carbono recobertos com uma camada de suspensão de prata coloidal de secagem rápida



Fig.22- Revestimento em ouro-paládio com E-5100 *Sputter-coater* (Ex-Polaren)

Sistema Adesivo	Técnica
<p>Scotchbond™ Universal (3M ESPE)</p>	<p>Utilizando o aplicador descartável, aplicar o adesivo em toda a substância dentária e pressioná-lo (massajando) durante aprox. 20 segundos. Evitar o contato do adesivo com as mucosas da boca.</p> <ul style="list-style-type: none"> _ Se necessário, voltar a humedecer o aplicador descartável durante o tratamento. _ Em seguida, aplicar um sopro de ar leve sobre o líquido durante 5 segundos, até que este deixe de evidenciar movimento e o solvente se tenha evaporado completamente. _ Polimerizar o adesivo durante 10 segundos, com uma unidade comum de polimerização por luz. _ Em seguida, consoante a indicação, prosseguir o trabalho com o material pretendido, de acordo com as respectivas instruções de utilização.
<p>Clearfil™ SE Bond (Kuraray)</p>	<p><i>Primer</i>:- Colocar a quantidade necessária de PRIMER no suporte imediatamente antes da sua aplicação.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Aplicar o <i>PRIMER</i> em toda a superfície com um pincel ou microbrush. Aguardar 20 seg. - Após o condicionamento da superfície por 20 seg., evaporar os ingredientes voláteis com um jacto de ar livre de óleo.

	<p>Adesivo: - Colocar a quantidade necessária de ADESIVO no suporte imediatamente antes da sua aplicação.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Aplicar o ADESIVO em toda a superfície com um pincel ou microbrush. - Depois da aplicação, tornar a camada adesiva o mais uniforme possível, usando um jacto de ar livre de óleo. - Fotopolimerizar o ADESIVO por 10 seg. com um foto polimerizador.
--	--

Tabela 2- Técnica de aplicação dos sistemas adesivos Scotchbond™ Universal e Clearfil™ SE Bond segundo as instruções do fabricante