

U. PORTO



**FACULDADE DE
MEDICINA DENTÁRIA**
UNIVERSIDADE DO PORTO

Integridade da camada de adesivo em diferentes áreas topográficas
da dentina, utilizando sistemas de adesão
total-etching e self-etching

2010

Maria Gracinda Ferreira Pereira de Macedo

Aluna de Mestrado Integrado em Medicina Dentária
Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto
Rua Dr. Manuel Pereira da Silva, 4200-393 Porto Portugal
Endereço electrónico: macedogracinda@gmail.com

Índice

Resumo.....	4
Introdução.....	5
Materiais e Métodos	6
<i>Adesivos.....</i>	6
<i>Amostra.....</i>	9
• Fase 1.....	9
- <i>Corte das amostras.....</i>	9
- <i>Protocolo de aplicação dos adesivos.....</i>	10
- <i>Protocolo de preparação para observação ao MEV.....</i>	11
• Fase 2.....	12
- <i>Primeiro corte das amostras.....</i>	12
- <i>Protocolo de aplicação dos adesivos.....</i>	12
- <i>Segundo corte das amostras</i>	12
- <i>Protocolo de preparação para observação ao MEV.....</i>	14
<i>Visualização ao MEV.....</i>	15
Resultados.....	16
• Fase 1.....	16
- <i>Avaliação visual.....</i>	16
<i>Grupo 1 e 2 – Adesivo Total-etching.....</i>	16
<i>Grupo 3 e 4 – Adesivo Self-etching.....</i>	18
- <i>Avaliação de espectros atômicos.....</i>	19
<i>Grupo 1 e 2 – Adesivo Total-etching.....</i>	20
<i>Grupo 3 e 4 – Adesivo Self-etching.....</i>	23
• Fase 2.....	30
<i>Grupo 1 – Adesivo Total-etching, duas camadas</i>	30
<i>Sub-grupo 1A – Dentina JAD.....</i>	30
<i>Sub-grupo 1B – Dentina média.....</i>	32
<i>Sub-grupo 1C – Dentina JP.....</i>	33
<i>Grupo 2 – Adesivo Total-etching, uma camada</i>	34
<i>Sub-grupo 2A – Dentina JAD.....</i>	34
<i>Sub-grupo 2B – Dentina Média.....</i>	35
<i>Subgrupo 2C – Dentina JP</i>	36
<i>Grupo 3 – Adesivo Self-etching, duas camadas</i>	37
<i>Sub-grupo 3A – Dentina JAD.....</i>	37
<i>Sub-grupo 3B – Dentina média.....</i>	37
<i>Sub-grupo 3C – Dentina JP.....</i>	38

<i>Grupo 4 – Adesivo Self-etching, uma camada.....</i>	<i>38</i>
<i>Sub-Grupo 4A – Dentina JAD.....</i>	<i>38</i>
<i>Sub-Grupo 4B – Dentina média</i>	<i>39</i>
<i>Sub-grupo 4C – Dentina JP.....</i>	<i>39</i>
Discussão	41
Conclusão.....	46
Referências	47

Integridade da camada de adesivo em diferentes áreas topográficas da dentina, utilizando sistemas de adesão *total-etching* e *self-etching*

Resumo

Introdução: A medicina dentária moderna tem apresentado cada vez mais exigência estética e mecânica dos materiais restauradores. Têm surgido novos produtos, com novas formas de aplicação, e cada vez mais simplificadas para satisfazer as necessidades clínicas. Cabe muitas vezes ao clínico seleccionar qual será a forma mais adequada para cada situação. Estes produtos aparecem muitas vezes aconselhados à utilização de uma camada única ou dupla consoante o tipo de adesivo. **Objectivos:** Determinação da importância da aplicação de uma segunda camada de material adesivo sobre a superfície dentinária utilizando dois tipos de adesivos, um auto-condicionado e outro de condicionamento total. **Métodos:** Foram utilizadas secções longitudinais e transversais de coroas de terceiros molares humanos hígidos. Procedeu-se a análise visual por microscopia electrónica de varrimento, de constituição atómica e medição da espessura de camada adesiva, nas superfícies dentinárias, após aplicação de uma ou duas camadas de um adesivo Self-etching ou um adesivo Total-etching. **Resultados:** As amostras com duas aplicações de adesivo, apresentam camadas adesivas mais uniformes, abrangentes e de maior espessura, relativamente às amostras com uma aplicação, tanto no caso do adesivo Total-etching como Self-Etching. **Conclusão:** Os dados obtidos qualitativamente nesse estudo consubstanciam a importância da aplicação de uma segunda camada de adesivo.

Palavras-Chaves: Adesivos dentinários, MEV, Espessura de camada adesiva

Abstract

Introduction: Contemporary dentistry demands dental materials with great aesthetics and mechanical rehabilitate. Modern dental adhesives have different indications and application methodology. The dental professional has to select not only the appropriated material, but also the proper application protocol. The application of two adhesive layers had been indicated by research and manufactures. **Objective:** Determine the importance of the application of a second adhesive layer on the dentin surface, with two adhesive systems, a self-etching and a total-etching. **Methods:** Longitudinal and transversal sections of caries-free human extracted third molar had been analysed by scanning electronic microscopy, atomic constitution and measure of the adhesive layer thickness, after the application of a single or double layer of one of the adhesives systems. **Results:** The adhesive layers of the samples with double application are more uniform, complete and thick, than the ones with single application, in both adhesive systems. **Conclusion:** The qualitative analyses of this study support the importance of a double adhesive application for resin materials in dental practice.

Key-words: Dental Adhesives, SEM, Adhesive layer thickness

Introdução

A microrretenção de materiais resinosos à superfície dentária é um aspecto muito abordado em artigos científicos e um dos aspectos fundamentais da Medicina Dentária moderna ¹⁻⁴. Estão descritos diferentes métodos adesivos para materiais dentários, consequência da complexidade e heterogeneidade da superfície dentária ^{5, 6}. Os paradigmas em que se baseiam esses métodos são por vezes não coincidentes, cabendo ao clínico seleccionar qual o mais adequado para cada situação. Os dois métodos preponderantes actualmente dividem-se em adesivos com condicionamento ácido da superfície e lavagem (*total-etching*) e auto-condicionantes (*self-etching*). O que distingue essencialmente os dois métodos é respectivamente a remoção da *smear-layer* ou a sua modificação ¹.

Existe abundante publicação científica no sentido de expor a superior eficácia de cada método conforme as características da superfície dentária, o material escolhido e a situação clínica ⁷. Vários modelos laboratoriais foram desenvolvidos no sentido de isolar estes factores e estudá-los. A utilização do adesivo a diferentes profundidades da camada dentinária é apontada como um dos factores importantes para a escolha do método adesivo ^{5, 8}.

Existem vários factores que condicionam a correcta cobertura da superfície preparada para adesão, relacionados com a técnica clínica, características dos materiais e propriedades da superfície dentária condicionada ^{2, 9}.

A integridade marginal de uma restauração dentária é essencial para o seu sucesso a longo prazo ^{1, 7, 10}. A existência de lacunas e falhas pode condicionar a recidiva da patologia cariosa por infiltração ^{1, 10, 11}. O adesivo reconhecidamente contribui para o selamento marginal das restaurações, garantindo um contacto íntimo entre esta e a superfície dentária ^{3, 12, 13}.

A integridade e continuidade da camada adesiva por toda a superfície a qual o material irá aderir são, portanto, necessárias para garantir a melhor retenção micromecânica e um eficaz selamento marginal ¹⁴.

Na prática clínica quotidiana a aplicação do adesivo é preconizado em camada única ou várias camadas ¹⁵.

Nas instruções de aplicação de diversos fabricantes de adesivos dentários existe a recomendação quer para a aplicação de uma camada quer a aplicação de duas camadas consecutivas do produto. Estudos demonstram que a aplicação

de uma segunda camada garante uma cobertura mais completa dos túbulos dentinários e portanto uma melhor adesão e selamento periférico da restauração 9, 16, 17.

O objectivo deste ensaio laboratorial é a determinação da importância da aplicação de uma segunda camada de material adesivo sobre a superfície dentária utilizando dois tipos de adesivos, um auto-condicionado e outro de condicionamento total. Pretende-se avaliar, através de observação directa por microscopia electrónica, a presença de lacunas e descontinuidades na camada adesiva em aplicação única ou dupla. Pretende-se ainda pesquisar a existência de diferenças significativas conforme o adesivo é aplicado na dentina próxima da junção amelo-dentinária, em profundidades intermédias, ou na dentina justa-pulpar.

As hipóteses nulas iniciais são:

- a aplicação de uma segunda camada de adesivo é útil no sentido de garantir uma camada adesiva mais contínua e uniforme.
- A aplicação de adesivo à dentina mais próxima da polpa é menos eficaz devido à maior pressão hidrostática dos túbulos dentinários.
- A utilização de adesivos auto-condicionantes (self-etching) dos não apresenta diferenças significativas em relação ao método de condicionamento total (total-etching).

Materiais e Métodos

Este trabalho foi desenvolvido em duas fases. Na primeira foi estudada a integridade da camada adesiva sobre a dentina utilizando dois tipos diferentes de adesivos dentinários (total etching e self-etching), utilizando em cada uma delas as hipóteses de aplicação de uma camada simples ou dupla. Na segunda fase foi observada a espessura da camada de adesivo em cada uma das regiões topográficas da dentina (Junção amelo-dentinária, dentina média e dentina justa-pulpar).

Adesivos

Neste estudo qualitativo foram utilizados dois adesivos, Prime & Bond NT[®] da Dentsply DeTrey (figura 1) do tipo total-etching em conjunto com ácido fosfórico 37% (figura 2) e o AdheSE[®] Vivadent Ivoclar (figura 3) do tipo self-etching. Os

adesivos foram aplicados sobre as amostras segundo as instruções de cada fabricante. Os sistemas adesivos utilizados foram submetidos a polimerização através da utilização de um fotopolimerizador tipo LED (light emitted diode) (EasyLight, R&S®) (figura 4).

A composição química dos componentes utilizados está descrita na Tabela I.



Figura 1-Ácido fosfórico a 37% - utilizado para condicionamento da superfície dentinária em conjunto como adesivo total-etching.

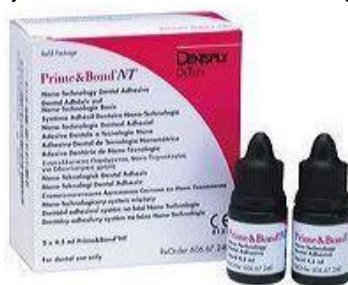


Figura 2- Prime & Bond NT® da Dentsply de Trey - adesivo total-etching .



Figura 3- AdheSE® Vivadent Ivoclar - adesivo self-etching.



Figura 4 – Fotopolimerizador LED EasyLight (R&S®)

Nome do adesivo	Fornecedor	Tipo	Composição química
Prime & Bond NT®	Dentsply DeTrey	Total-etch	Resinas Di- e Trimethacrilato
			PENTA (dipentaerythritol penta acrylate monophosphate)
			Nanofiltros – Dióxido de silício amorfo
			Fotoiniciadores
			Estabilizadores
AdheSE®	Vivadent Ivoclar	Self-etch	Hidrofluoreto de cetilamina
			Acetona (solvente)
			Primer
			Acrilato de ácido fosfônico
			Bis-acrilamida
			Água
			Iniciadores
			Estabilizadores
			Bond
			Dimetacrilato
Hidroxietil metacrilato(HEMA)			
Dióxido de silício altamente disperso			
Iniciadores			
Estabilizadores			

Tabela I – Composição química dos sistemas adesivos utilizados

Amostra

- **Fase 1**

- *Corte das amostras*

Utilizaram-se 24 terceiros molares hígidos, seccionados na zona cervical e no terço oclusal da coroa, de forma a obter-se um cilindro com exposição de dentina na sua superfície superior. (Figura 5)

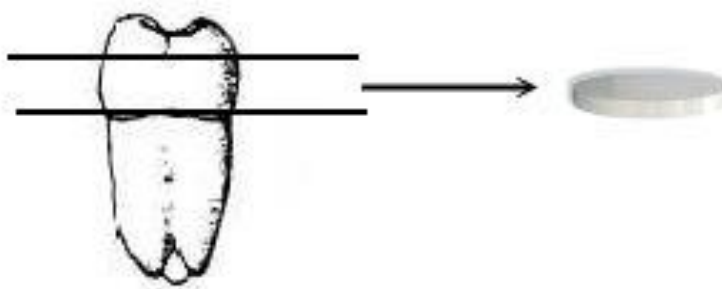


Figura 5 – Esquema dos cortes das amostras na Fase 1



Figura 6 – Corte das amostras

A amostra foi dividida em 4 grupos de seis dentes:

Grupo 1 - Protocolo de aplicação de total-etching com aplicação de duas camadas de adesivo

Grupo 2 - Protocolo de aplicação de total-etching com aplicação de uma camada de adesivo

Grupo 3 - Protocolo de aplicação de self-etching com aplicação de duas camadas de adesivo

Grupo 4 - Protocolo de aplicação de self-etching com aplicação de uma camada de adesivo

- Protocolo de aplicação dos adesivos

Utilização do adesivo Total- etching: Prime & Bond NT[®] da Dentsply deTrey

Aplicação de uma camada (Grupo 2)

Colocação do ácido fosfórico a 37% sobre a superfície dentinária exposta durante 15 segundos. Lavagem da superfície durante 60 segundos para completa remoção do ácido.

Leve secagem com jacto de ar sem desidratar a dentina. Aplicação do adesivo, leve vaporização com jacto de ar. Fotopolimerização durante 20 segundos.

Aplicação de duas camadas (Grupo 1)

Todos os passos são iguais aos de uma camada e fez-se mais uma aplicação do adesivo e de seguida polimerizou-se (durante 20 segundos).

Utilização do adesivo Self- etching: AdheSE[®] Vivadent Ivoclar

Aplicação de uma camada (Grupo 4)

Aplicou-se o primer durante 10 segundos e evaporou-se o solvente com um vigoroso jacto de ar (30 segundos).

De seguida aplicou-se o adesivo, vaporizou-se levemente com jacto de ar e fotopolimerizou-se durante 20 segundos.

Aplicação de duas camadas (Grupo 3)

No grupo 3 aplicou-se uma segunda camada de adesivo, seguida de leve vaporização com jacto de ar e fotopolimerizou-se durante 20 segundos.

- Protocolo de preparação para observação ao MEV

Fixaram-se as amostras em suportes de alumínio com cola Araldite® e foi-lhes colocada, na superfície que não se pretendia observar, fita de carbono. Posteriormente realizou-se a sua metalização com ouro. Observaram-se ao Microscópio Electrónico de Varrimento (MEV) para se verificar a integridade da camada adesiva.



Figura 7 – Aparelho de metalização das amostras para MEV (FineCoat, JEOL®)



Figura 8 – Agrupamento das amostras no respectivo suporte para visualização ao MEV

O MEV utilizado para visualização da amostragem (FESEN – JEOL® JSM 6301F) é de alta definição, permite a obtenção de imagens tanto em electrões secundários (SE) com em retro-difundidos (BE) e está acoplado a um sistema de captação de imagem digital (OXFORD INCA Energy 350). Permite ainda a análise composicional semi-quantitativa das amostras através de um sistema de energia de dispersão de superfícies (EDS).

- **Fase 2**

- *Primeiro corte das amostras*

Utilizaram-se 8 terceiros molares hígidos, seccionados na zona cervical e no terço oclusal da coroa, de forma a obter-se um cilindro com exposição de dentina na área oclusal do dente (base superior), a semelhança da Fase 1.

- *Protocolo de aplicação dos adesivos*

O protocolo foi idêntico ao da Fase 1.

- *Segundo corte das amostras*

Realizaram-se cortes longitudinais dos elementos dentários para visualização da espessura da camada adesiva nas diferentes áreas topográficas da dentina: Junção amelo-dentinária (JAD), dentina média (DM) e dentina justa-pulpar (DJP).

Após o protocolo de aplicação dos adesivos os elementos dentários foram revestidos por uma película plástica e inseridos em resina Epoxi (Epofix® da Struers) permitindo a secção longitudinal de cada uma das amostras em micrótomo. Marcaram-se as linhas de corte e seccionaram-se perpendicularmente ao maior eixo do dente. Os cortes efectuaram-se: ao nível da dentina que se encontrava a 1mm da JAC; próximo da zona da polpa (visível pela superfície apical da amostra); na dentina média, aproximadamente equidistante da zona DJP e da JAC, no fragmento da amostra resultante dos dois primeiros cortes.

Desta metodologia resultaram 24 amostras que se dividiram por 4 grupos e cada um deles em 3 subgrupos.

Grupo 1 - Protocolo de aplicação de total-etching com aplicação de duas camadas de adesivo

- Sub-grupos 1A – Dentina JAD

- 1B - DM

- 1C - DJP

Grupo 2 - Protocolo de aplicação de total-etching com aplicação de uma camada de adesivo

Sub- grupos 2A- Dentina JAD

2B - DM

2C - DJP

Grupo 3 - Protocolo de aplicação de self-etching com aplicação de duas camadas de adesivo

Sub- grupos 3A- Dentina JAD

3B - DM

3C - DMJ

Grupo 4 - Protocolo de aplicação de self-etching com aplicação de uma camada de adesivo

Sub- grupos 4A- Dentina JAD

4B - DM

4C – DJP

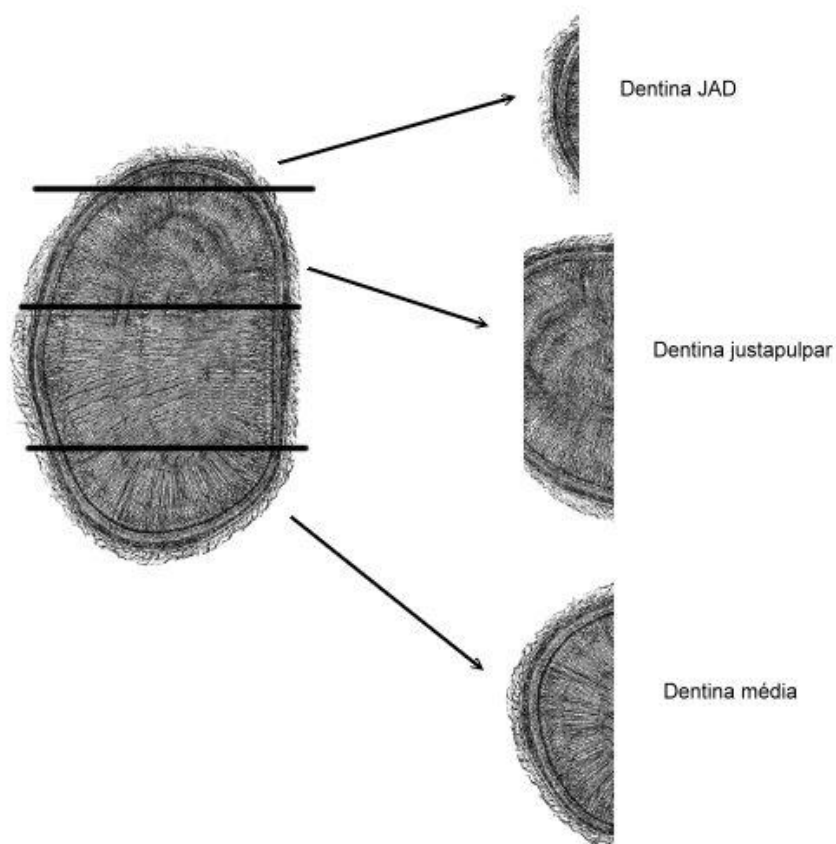


Figura 9 – Esquema dos cortes das amostras na Fase 2

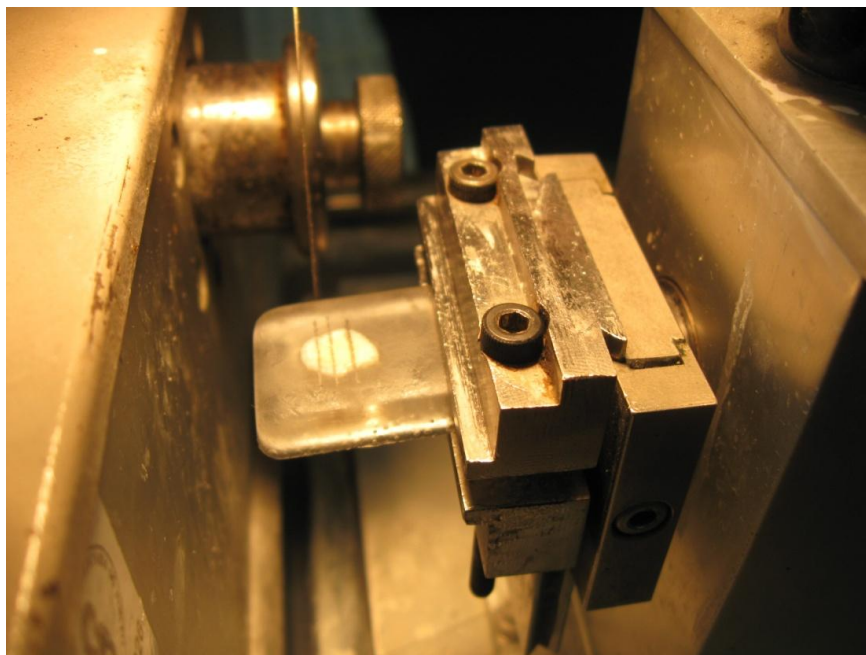


Figura 10 – Corte das amostras na Fase 2. É visível a marcação das 3 zonas de corte

- Protocolo de preparação para observação ao MEV

Fixaram-se os elementos em suportes de alumínio com fita de carbono em que cada um continha 6 elementos agrupados dois a dois referentes ao mesmo sub-grupo.

Foi feito um mapeamento das amostras para que fosse fácil identificar a sua localização na observação no MEV.

Após esta etapa, metalizaram-se as amostras e posteriormente procedeu-se à visualização ao MEV.



Figura 11 – Disposição das amostras para visualização no MEV

Visualização ao MEV

As amostras foram observadas em ampliações que variaram entre as 200x e as 5000x, em SE e BE. A observação em BE permitiu a identificação de áreas constituídas por números atômicos diferentes, comparativamente à observação em SE. Executaram-se os espectros constitucionais das amostras em análise, quando assim se achou pertinente.



Figura 12 – MEV (FESEN – JEOL[®] JSM 6301F/OXFORD INCA Energy 350)

Resultados

- **Fase 1**

- *Avaliação visual*

Após visualização das primeiras amostras através do SEM realizou-se uma captura de imagens seleccionadas de forma a por à prova os objectivos a que nos submetemos.

Grupo 1 e 2 – Adesivo Total-etching

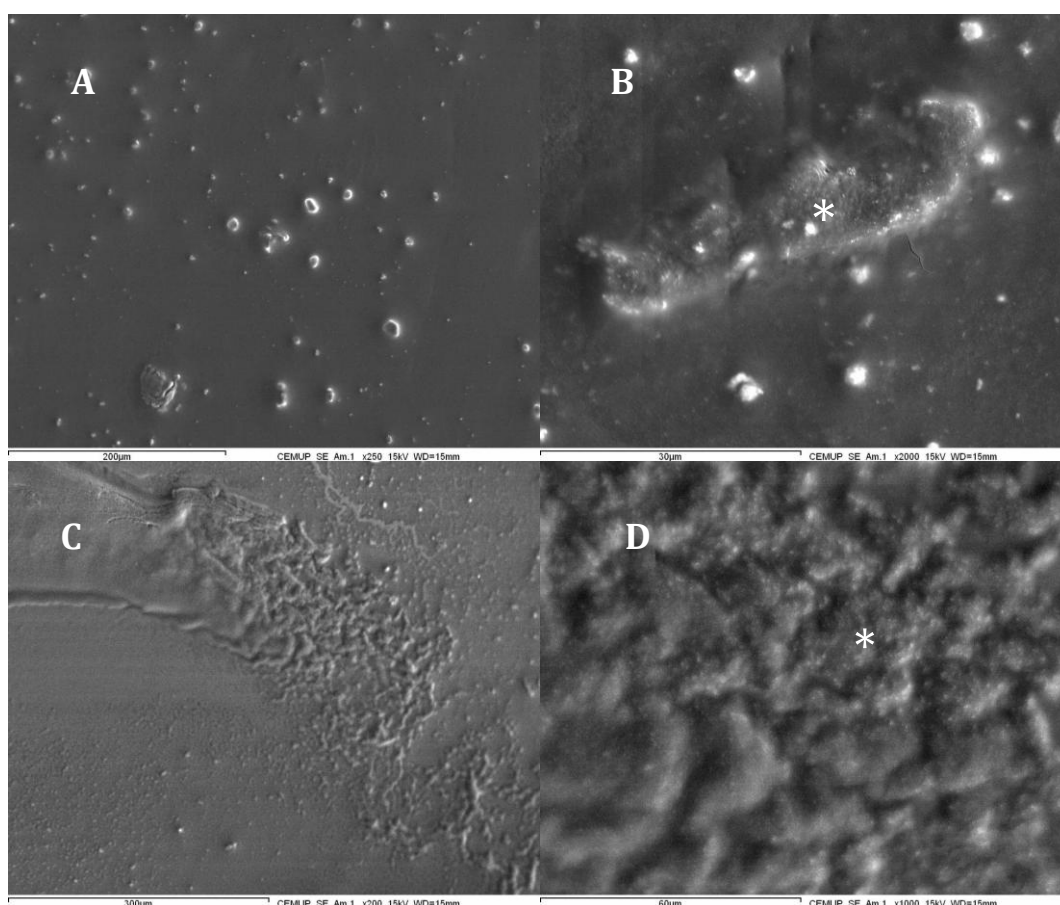


Figura 13 – Análise do Grupo 1 - Aplicação de duas camadas de um adesivo do tipo total-etching - Prime e Bond NT[®] da Dentsply DeTrey, após ataque ácido com ácido fosfórico a 37%) (A) – ampliação de 250x (B)- ampliação de 2000x (*)pormenor de um aglomerado de partículas de carga. (C)- Outra zona da amostra 1 ampliação de 200x (D)- ampliação 1000x (*) mostrando a textura da camada adesiva num local de acúmulo de partículas de carga.

No Grupo 1 (correspondente a aplicação de duas camadas de um adesivo do tipo total-etching – Prime&Bond NT[®] da Dentsply DeTrey) observou-se uma camada de adesivo que recobria a superfície dentinária quase totalmente

(Figura 13). Esta apresentava uma textura irregular em algumas áreas, que pensa haver acúmulo de matriz inorgânica constituinte do adesivo.

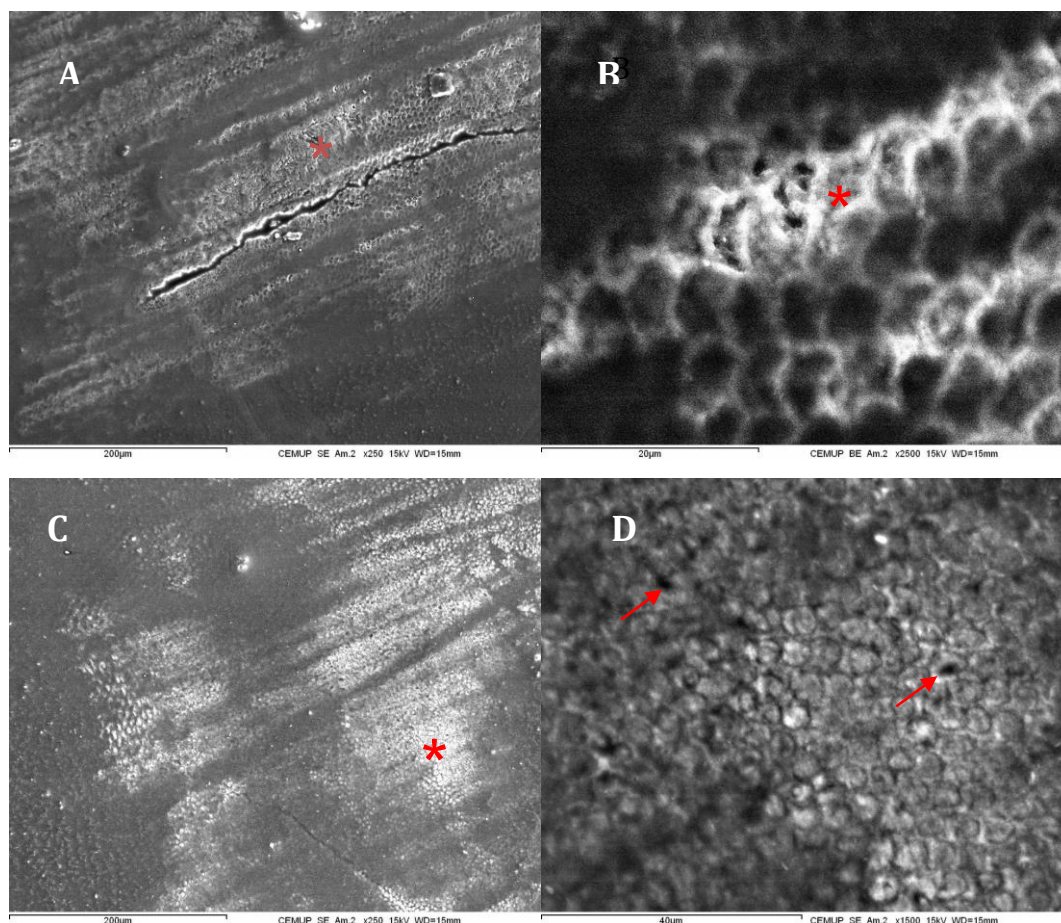


Figura 14 – Análise do Grupo 2 - Aplicação de uma camada de um adesivo do tipo total-etching - Prime e Bond NT® da Dentsply DeTrey ,após ataque ácido com ácido fosfórico a 37%) (A) – ampliação de 250x (*)área sem camada adesiva (B)- ampliação de 2500x (*)pormenor dos túbulos dentinários expostos.análise em BE (*) área sem camada adesiva (C)- ampliação de 250x (D) – ampliação de 1500x (seta) pormenor da exposição dos túbulos dentinários.

No Grupo 2 (correspondente a aplicação de uma camada do mesmo adesivo aplicado no Grupo 1) verificaram-se áreas de grande dimensão com ausência de camada adesiva, (Figura 14) sendo possível a observação da anatomia tubular da dentina nesses locais.

Ao efectuarmos a captação da imagem microscópica em BE verificaram-se áreas com diferente número atômico (Figura 14-B), que consolidavam a hipótese da ausência da camada de adesivo, nas zonas com número atômico menor (menos cromáticas).

Grupo 3 e 4 – Adesivo Self-etching

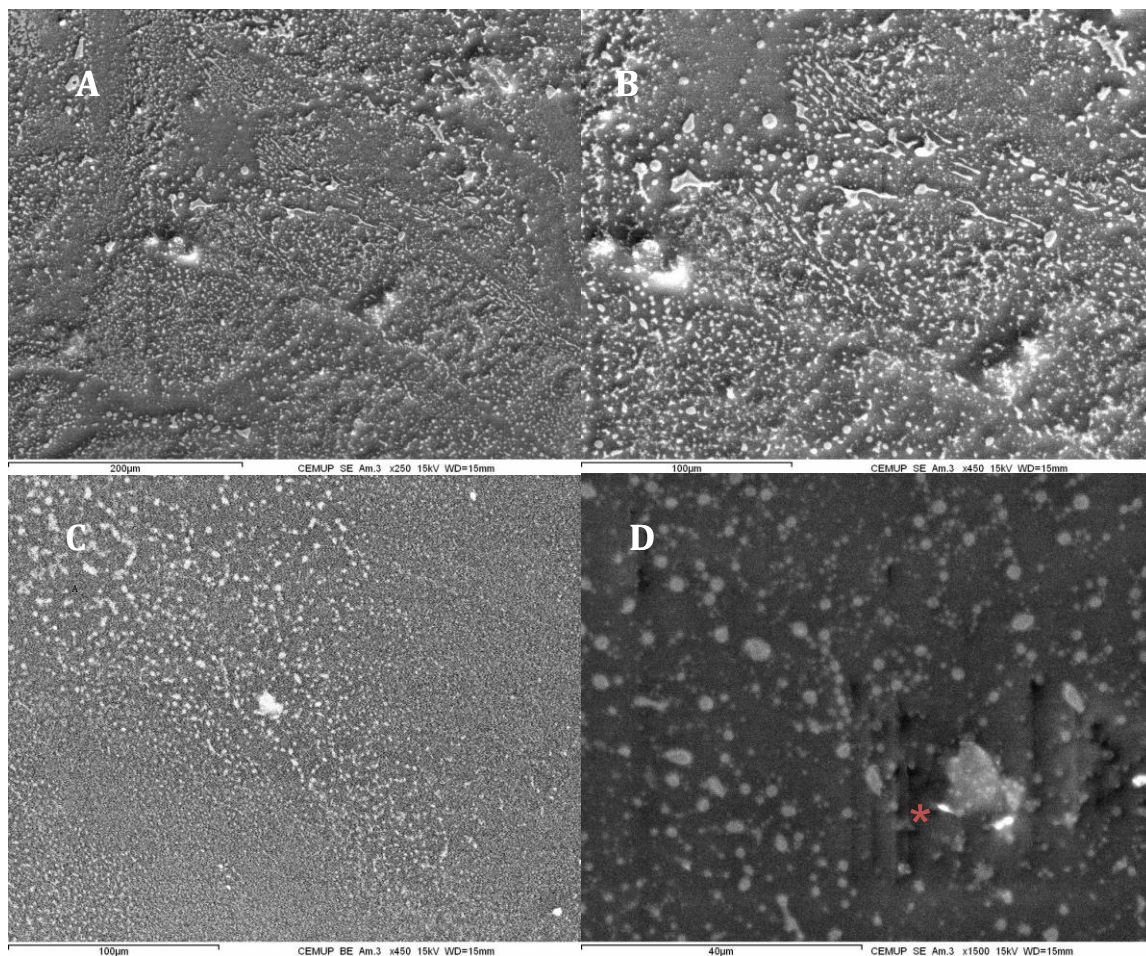


Figura 15 – Análise do Grupo 3 - aplicação de duas camadas de um adesivo do tipo self-etching - AdheSE[®] Vivadent Ivoclar (A) – ampliação de 250x (B) - ampliação de 450x (C) - ampliação de 450x, análise em BE para se verificar as diferenças de número atômico entre os componentes da camada adesiva (D) – ampliação de 1500x (*) - pormenor da descontinuidade da camada adesiva e das partículas de carga e gotículas de água incorporadas na camada adesiva

No Grupo 3 as amostras não apresentaram descontinuidades de grandes dimensões na camada adesiva, contudo observam-se em alguns locais pequenas lacunas (assinalada com (*) na Figura 15-D).

Na observação das figuras referentes às amostras do Grupo 3, pode observar-se a distribuição homogênea de partículas de carga.

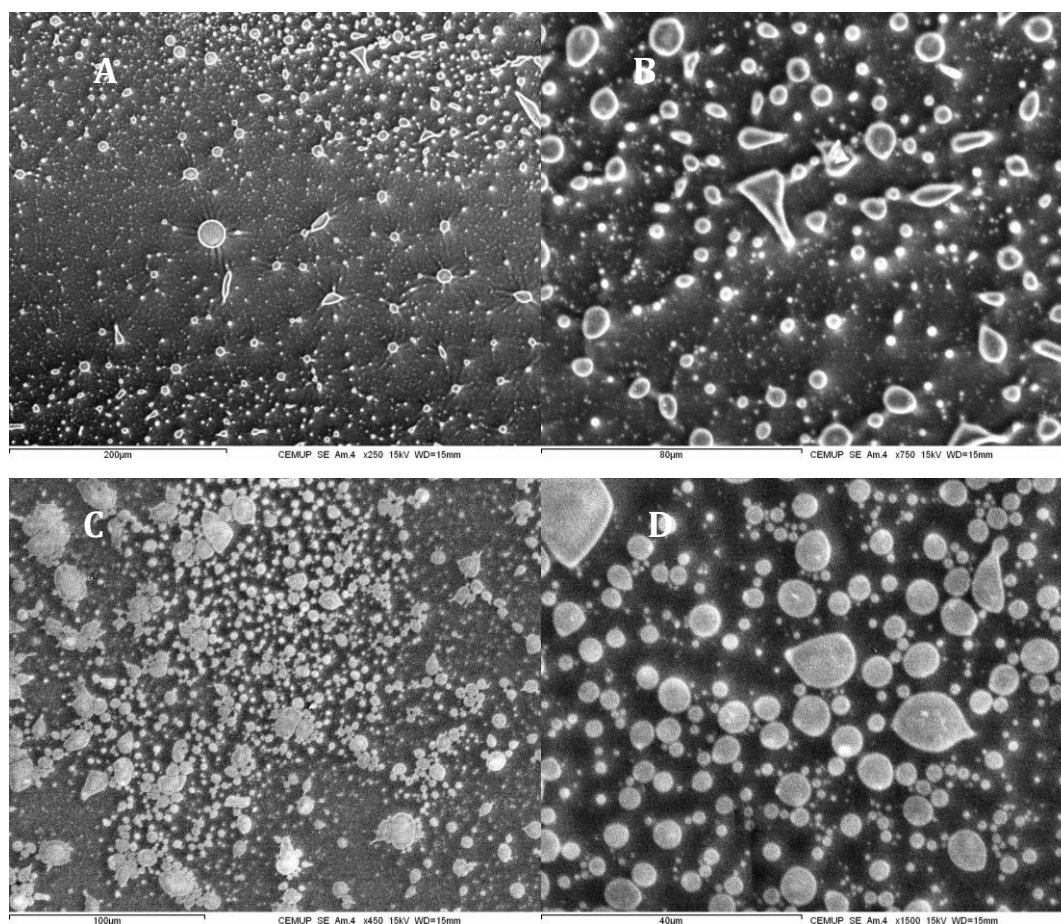


Figura 16 – Análise do Grupo 4- aplicação de uma camada de uma adesivo do tipo self-etching - AdheSE® Vivadent Ivoclar (A) – ampliação de 250x (B)- ampliação de 750x (C)- ampliação de 250x (D) – ampliação de 1500x pormenor das partículas de carga e das gotículas resultantes dos excipientes da composição do adesivo após a fotopolimerização

Tal como no Grupo 3 as amostras do Grupo 4, não apresentam descontinuidades, nem é observável o padrão da anatomia dentinária como acontecia no Grupo 2.

Contudo verifica-se a presença de estruturas goticulares de várias dimensões incorporadas na camada adesiva (Figura 16).

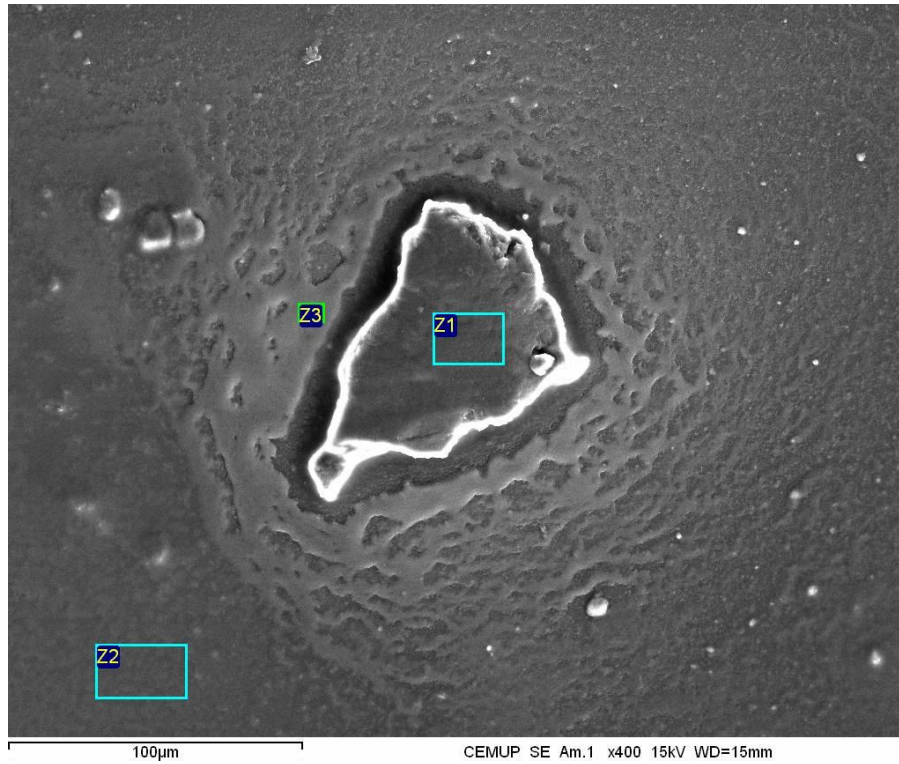
Nas imagens resultantes das amostras do Grupo 4 verificam-se gotículas de água com distribuição menos homogénea, em menores quantidades e aparentam maiores dimensões, quando comparadas com os mesmos elementos das amostras do Grupo 3 referentes à mesma ampliação (Figuras 15 e 16).

- Avaliação de espectros atómicos

Numa perspectiva de obter maior informação sobre cada estrutura observável, foram realizados alguns espectros atómicos sobre os locais que se pensam ser

lacunas ou camada adesiva. Os seguintes gráficos permitem a avaliação da quantidade de diferentes componentes atômicos em cada visualização.

Grupo 1 e 2 – Adesivo Total-etching



20

Figura 17 – Imagem do Grupo 1 – ampliação a 400x – realização de espectros atômicos de três zonas

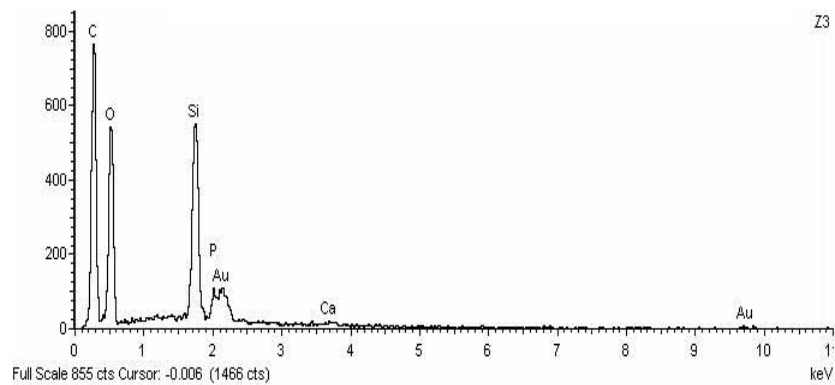


Figura 18 – Espectro atômico referente a Z1 assinalada na Figura 17

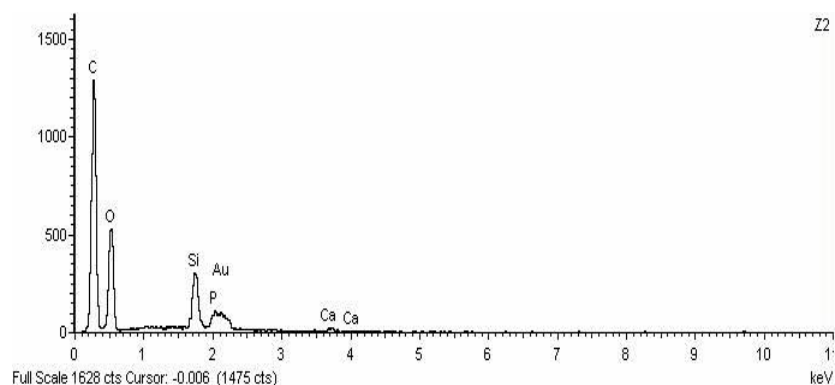


Figura 19 – Espectro atômico referente a Z2 assinalada na Figura 17

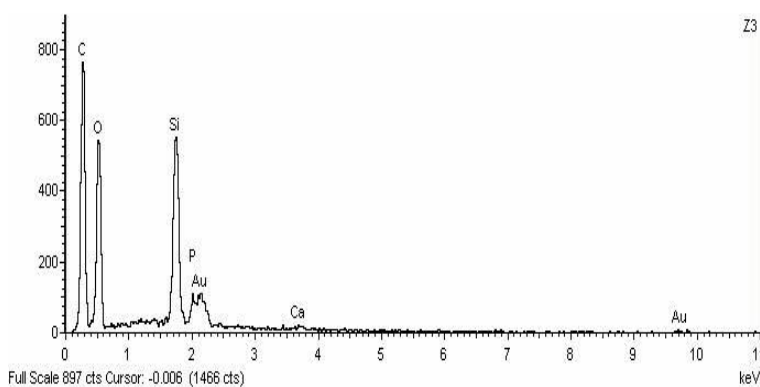


Figura 20 – Espectro atômico referente a Z3 assinalada na Figura 17

Nesta amostra do Grupo 1 os espectros atômicos sugerem que a zona Z1 e Z3 correspondam à camada adesiva, enquanto a Z2 a uma lacuna da mesma, uma vez que apresenta maior quantidade de Cálcio e menos quantidade de Silício, contudo pode também tratar-se de uma zona onde a camada adesiva se encontra menos espessa (Figuras 17, 18, 19 e 20).

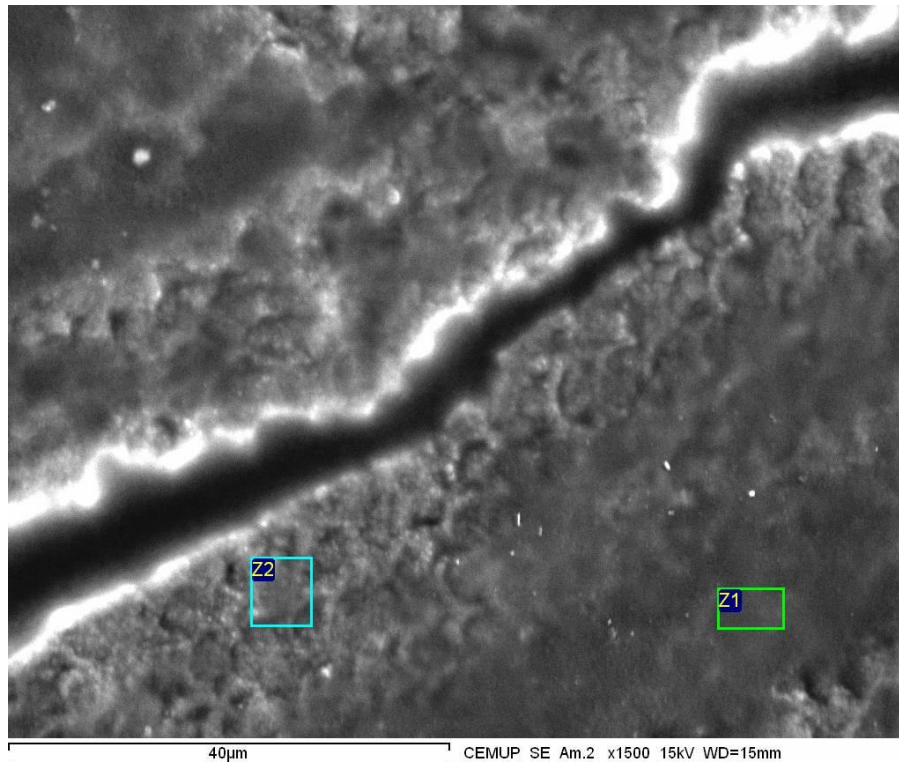


Figura 21 – Imagem do Grupo 2 – ampliação a 1500x – realização de espectros atômicos de duas zonas

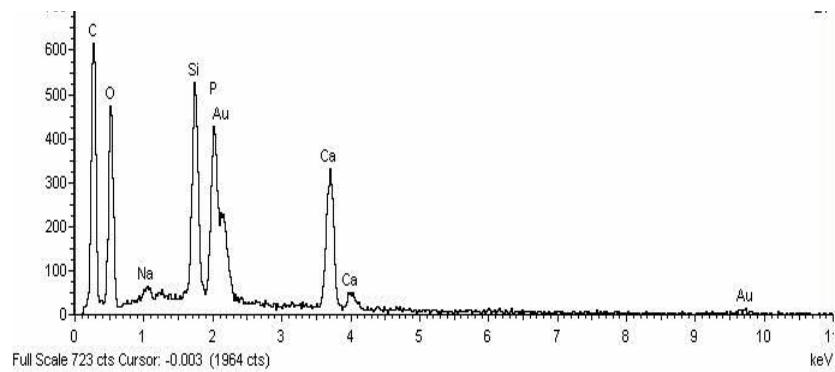


Figura 22 – Espectro atômico referente a Z1 assinalada na Figura 21

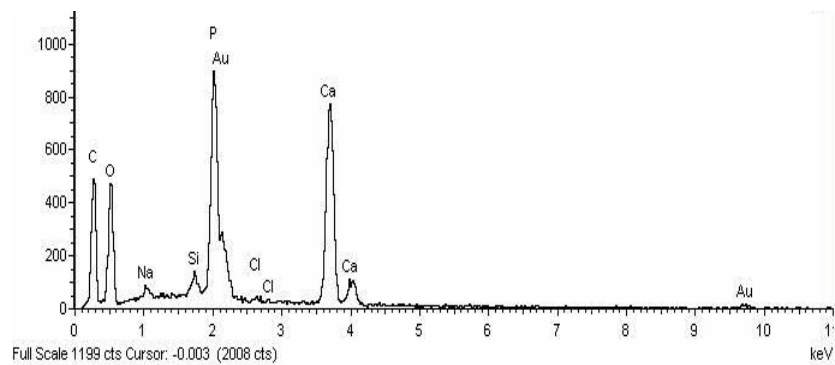


Figura 23 – Espectro atômico referente a Z2 assinalada na Figura 21

A análise da amostra do Grupo 2 revela que a zona Z2 não apresenta Silício o que é indicador da ausência de camada adesiva nesta zona, correspondendo a zona Z1 a adesivo (Figuras 21, 22, e 23).

As zonas analisadas da amostra do Grupo 1, quer a mais coberta por adesivo, quer a menos coberta, têm sempre menos Cálcio e mais Silício do que as correspondentes da amostra do Grupo 2.

A zona mais coberta da amostra do Grupo 1 contém aproximadamente o mesmo Silício que a mais coberta do Grupo 2, mas níveis de Cálcio muito menores.

As diferenças de Silício entre as duas zonas na amostra do Grupo 2 são muito maiores do que as do Grupo 1, ou seja, as zonas menos cobertas da amostra do Grupo 2 são relativamente piores cobertas do que na amostra do Grupo 1. As diferenças de níveis de cálcio entre as duas zonas são menores na amostra do Grupo 2.

Grupo 3 e 4 – Adesivo Self-etching

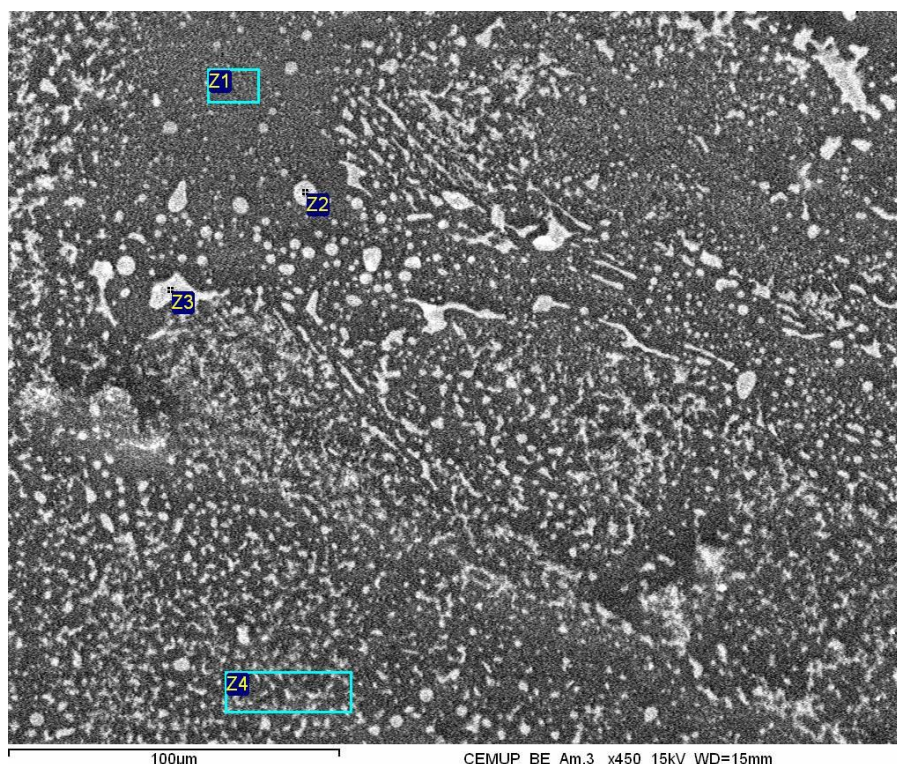


Figura 24 – Imagem da amostra do Grupo 3 – ampliação a 450x – realização de espectros atômicos de quatro zonas.

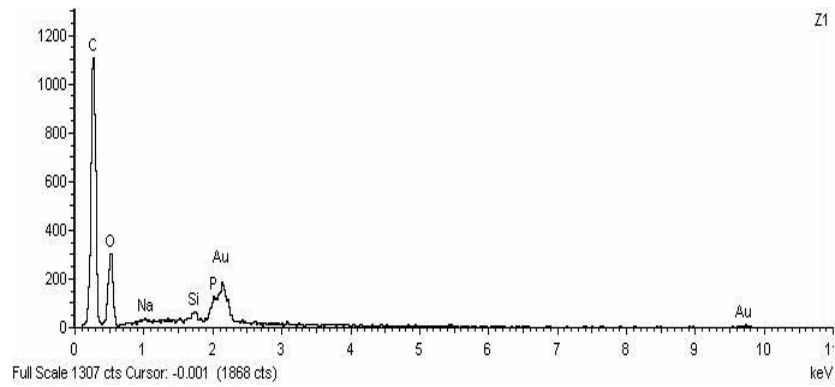


Figura 25 – Espectro atômico referente a Z1 assinalada na Figura 24

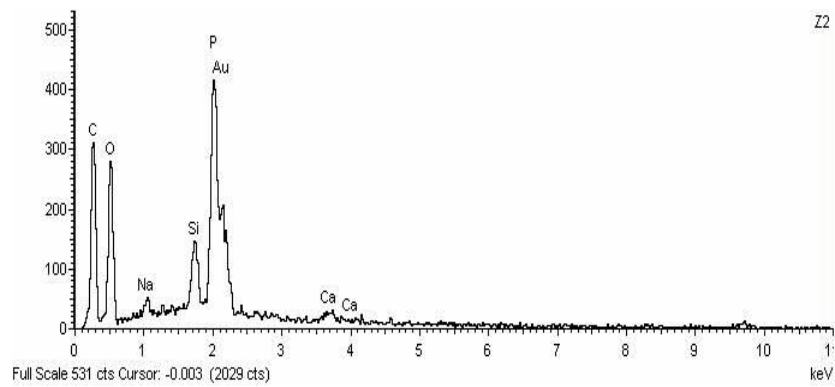


Figura 26 – Espectro atômico referente a Z2 assinalada na Figura 24

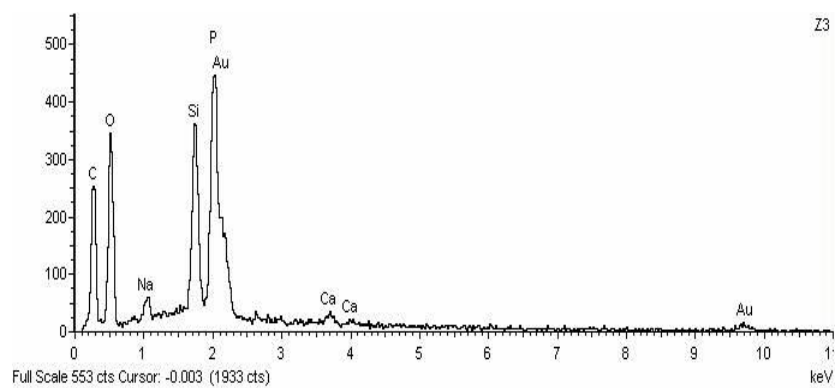


Figura 27 – Espectro atômico referente a Z3 assinalada na Figura 24

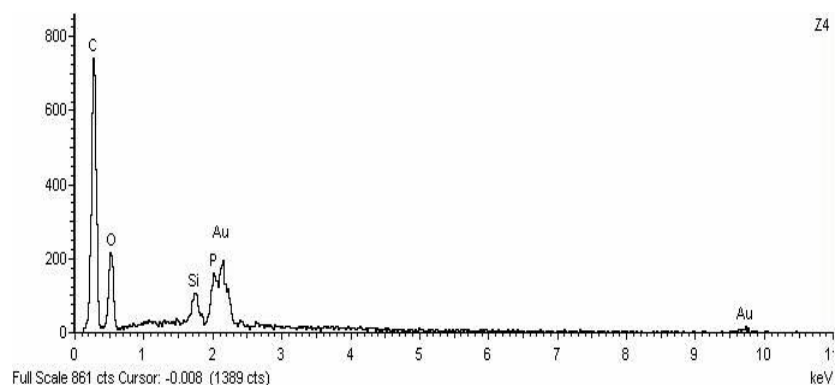


Figura 28 – Espectro atômico referente a Z4 assinalada na Figura 24

Pela análise destes gráficos, da amostra do Grupo 3 denota-se que Z1 apresenta-se como uma zona pouco rica em Silício e com poucas gotículas de água. Podendo ainda salientar-se que possui menor quantidade de Silício relativamente a Z4. A zona Z2 tal como a Z4 exhibe-se menos rica em Silício. Z3 é local com maior quantidade deste elemento (Si).

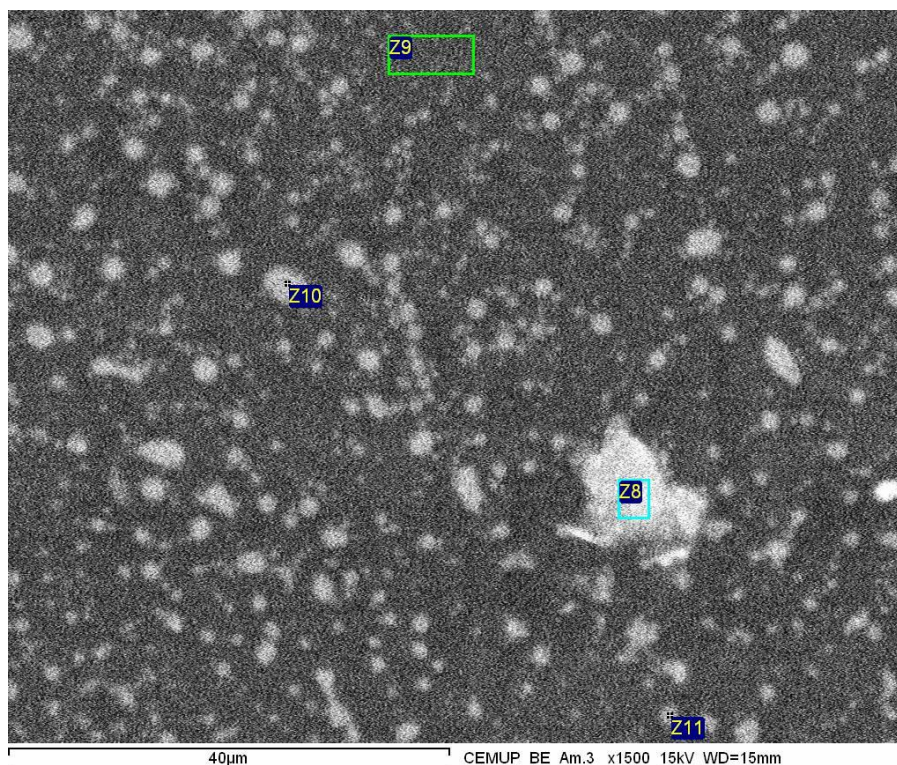


Figura 29 – Imagem da amostra do Grupo 3 – ampliação a 1500x – realização de espectros atômicos de quatro zonas.

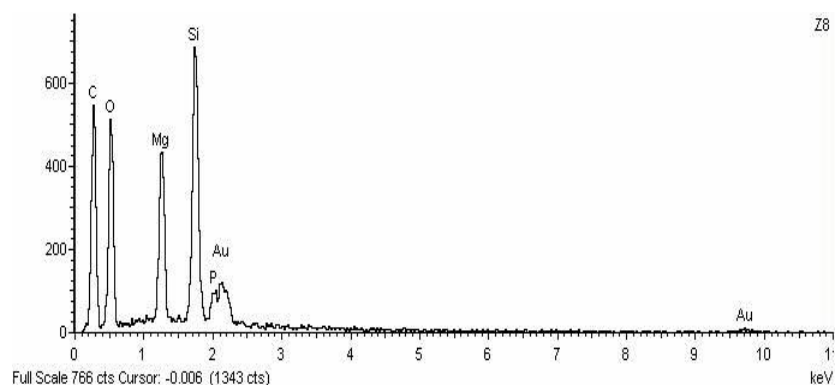


Figura 30 – Espectro atômico referente a Z8 assinalado na Figura 29

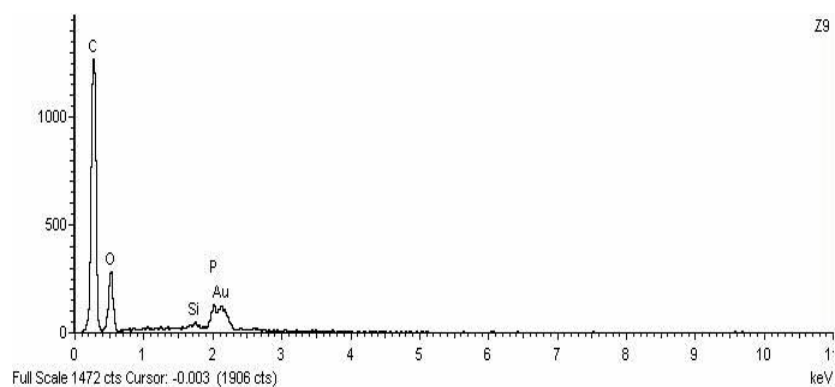


Figura 31 – Espectro atômico referente a Z9 assinalado na Figura 29

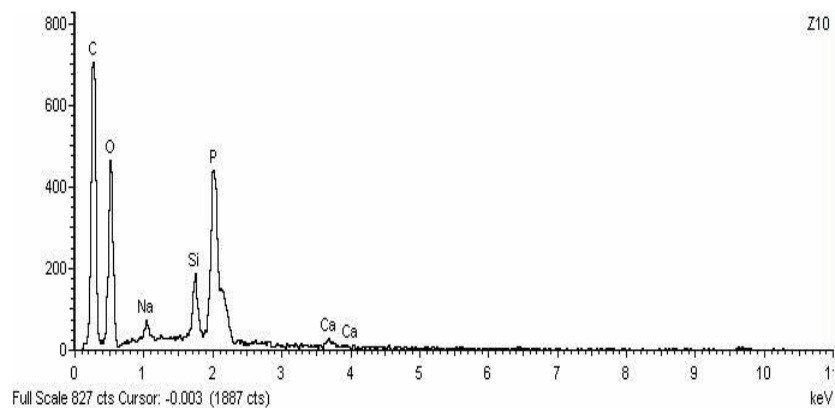


Figura 32 – Espectro atômico referente a Z10 assinalado na Figura 29

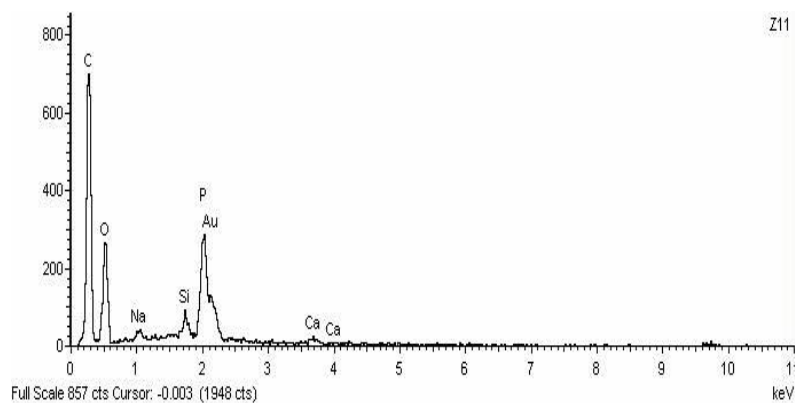


Figura 33 – Espectro atômico referente a Z11 assinalado na Figura 29

Espectros realizados neste local em que apareciam partículas mais claras quando submetidas a análise em BE relevaram Silício na sua composição mostrando que a área analisada tratava-se de camada adesiva. A zona Z8 é a que apresenta maior quantidade silício. As Z11 e Z10 apresentam apenas cálcio (Figuras 29, 30, 31 e 32).

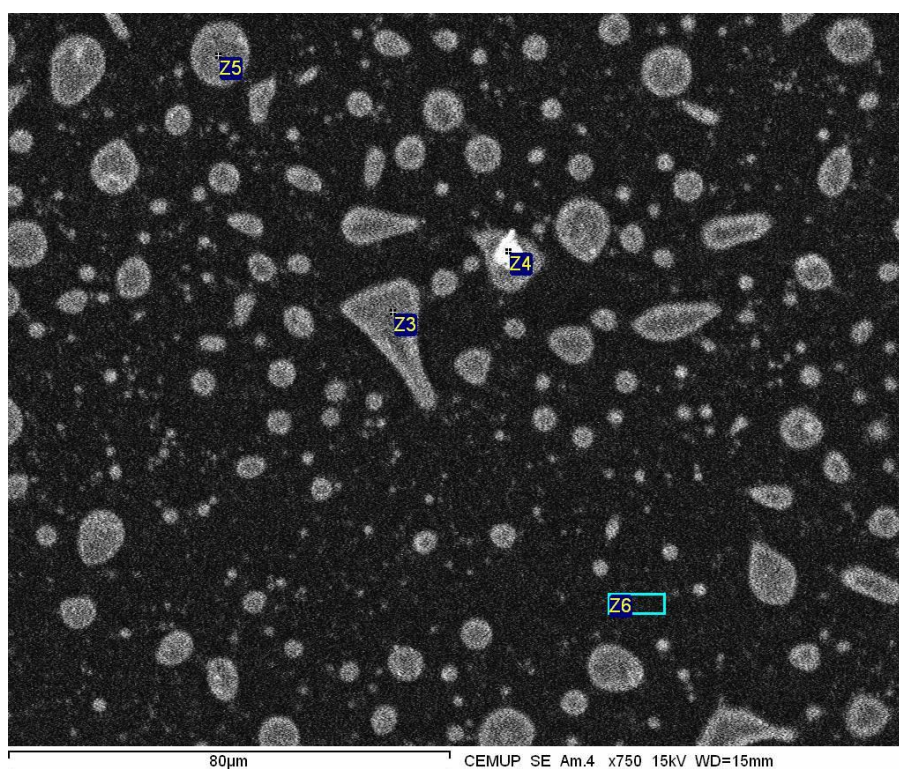


Figura 34 – Imagem da amostra do Grupo 4 – ampliação 750x. em BE, análise de espectro atômico em 4 zonas

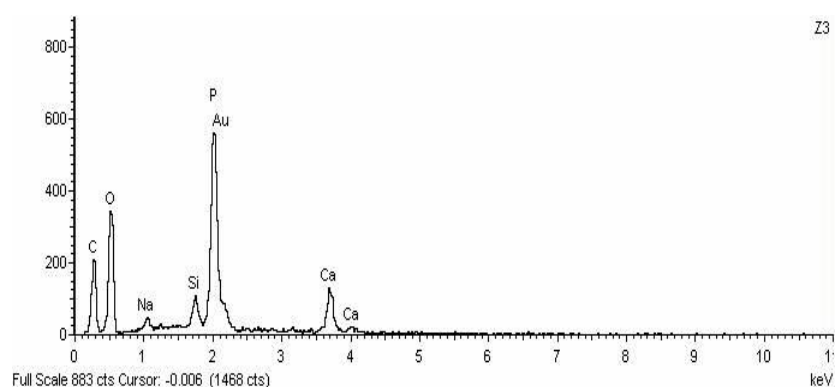


Figura 35 – Espectro atômico referente a Z3 assinalada na Figura 34

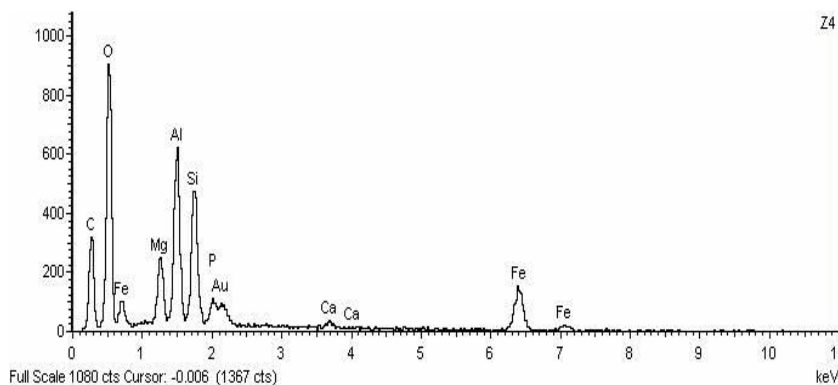


Figura 36 – Espectro atômico referente a Z4 assinalada na Figura 34

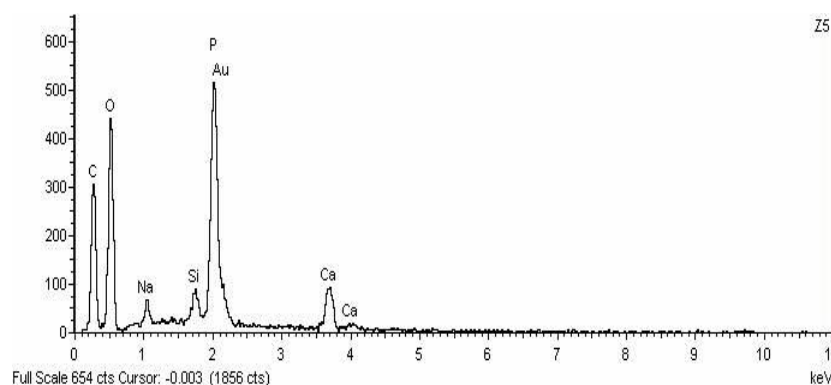


Figura 37 – Espectro atômico referente a Z5 assinalada na Figura 34

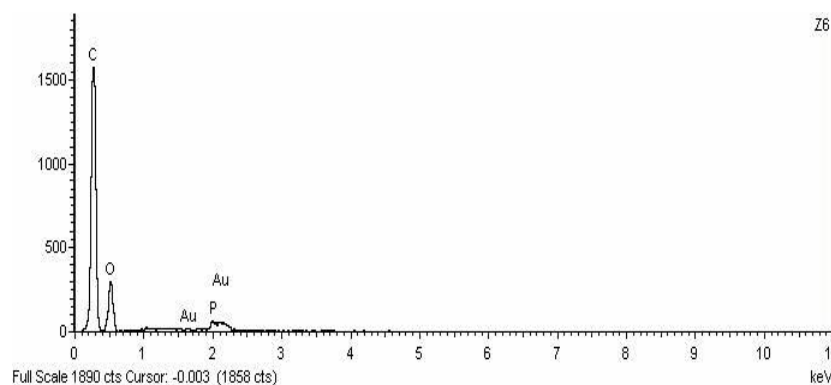


Figura 38 – Espectro atômico referente a Z6 assinalada na Figura 34

Realizados os espectros atômicos em BE verificou-se a ausência do elemento Silício em Z6, pouca quantidade do elemento em Z3 e Z5. Z4 apresentava mais quantidade do mesmo (Figuras 34, 35, 36, 37 e 38).

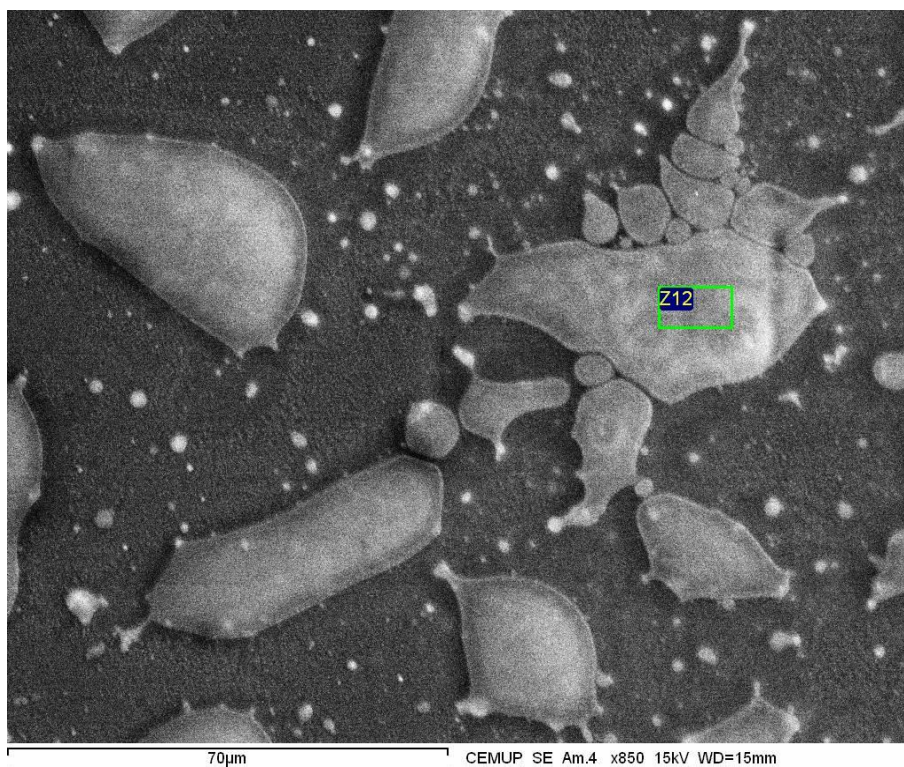


Figura 39 – Imagem da amostra do Grupo 4 – ampliação 850x análise do espectro atômico numa zona

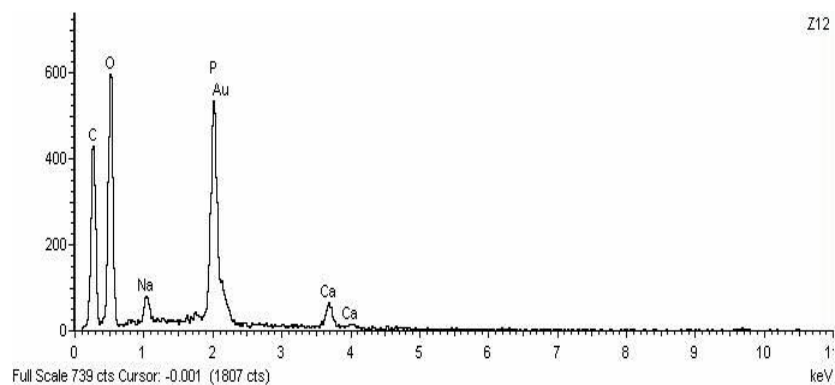


Figura 40 – Espectro atômico referente a Z12 assinalada na Figura 39

Nesta zona (Z12), não foi identificada a presença de silício o que denota que as estruturas de forma goticular são muito provavelmente porosidades resultantes de gotículas de água incorporadas na camada adesiva, excipientes do solvente do *primer*.

- **Fase 2**

Esta segunda parte do trabalho tinha como objectivo verificar a espessura da camada dentinária ao nível das 3 áreas topográficas da dentina (JAD, DM, DJP) utilizando os dois tipos de adesivos (total e self-etching) em camada única ou em camada dupla. Para tal foram capturadas imagens observadas ao MEV das quais se obtiveram os resultados a seguir expostos.

Grupo 1 – Adesivo Total-etching, duas camadas

Sub-grupo 1A – Dentina JAD

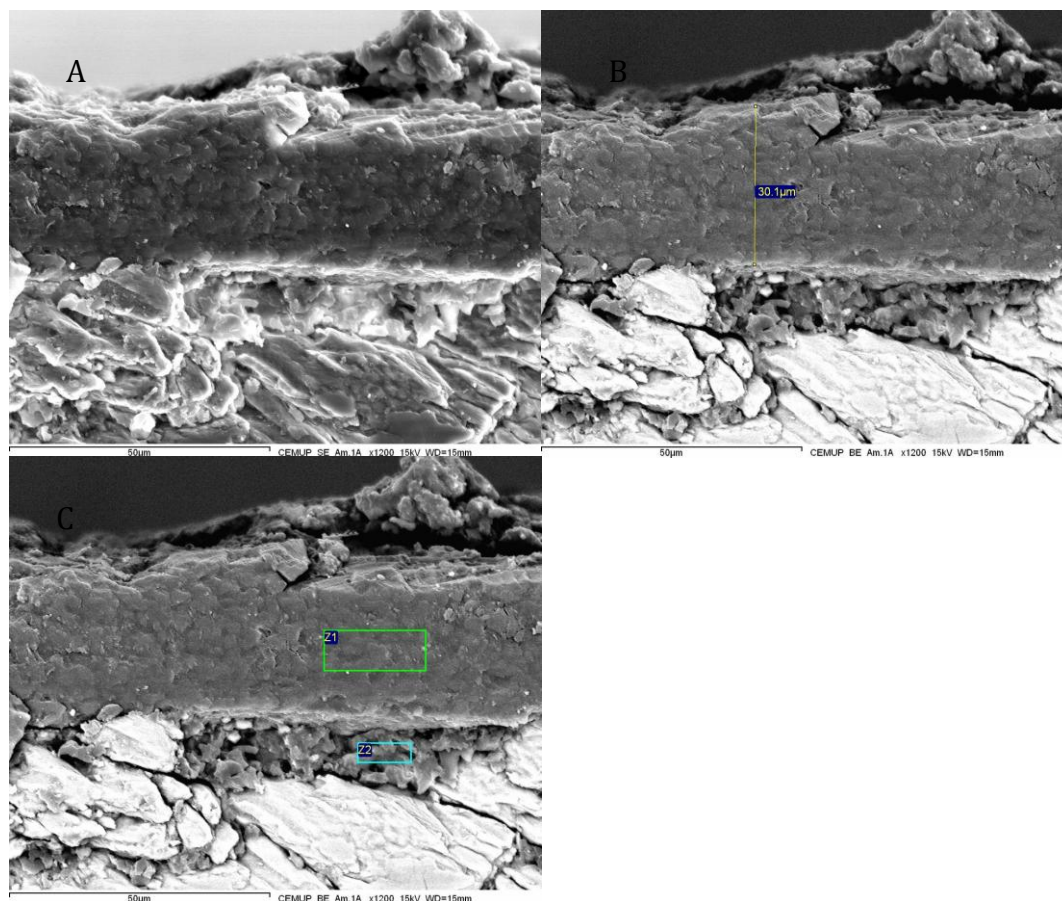


Figura 41 – Imagem da amostra do Sub- grupo 1A – ampliação a 1200x – (A) - imagem obtida através de análise de electrões secundários (SE); (B) - imagem obtida através de análise de BE, mensuração da espessura da camada adesiva (30,1µ); (C) - realização de espectros atómicos de quatro zonas

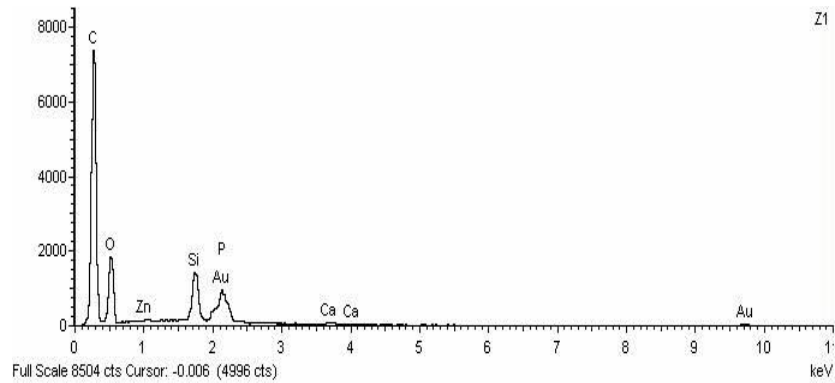


Figura 42 – Espectro atômico referente a Z1 assinalada na Figura 41

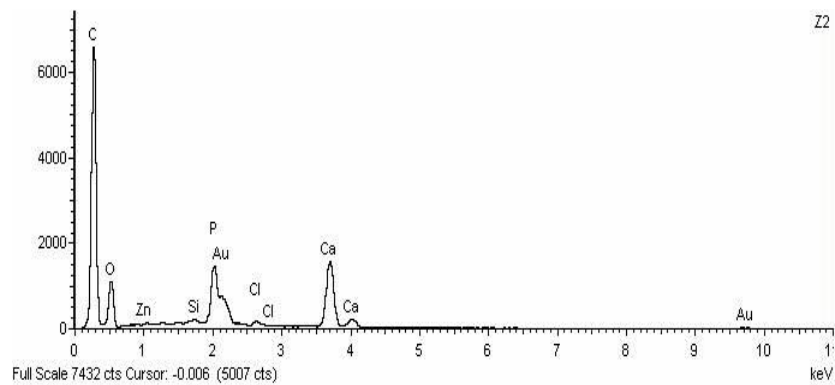


Figura 43 – Espectro atômico referente a Z2 assinalada na Figura 41

Pela análise em BE verifica-se que as zonas Z1 e Z2 são pertencentes a diferentes estruturas e apresentam diferente número atômico. Pela realização do espectro de composição química efectuada nestas duas zonas compreende-se que Z1 é uma área situada na camada adesiva e Z2 está localizado sobre tecido dentinário.

Sub-grupo 1B – Dentina média

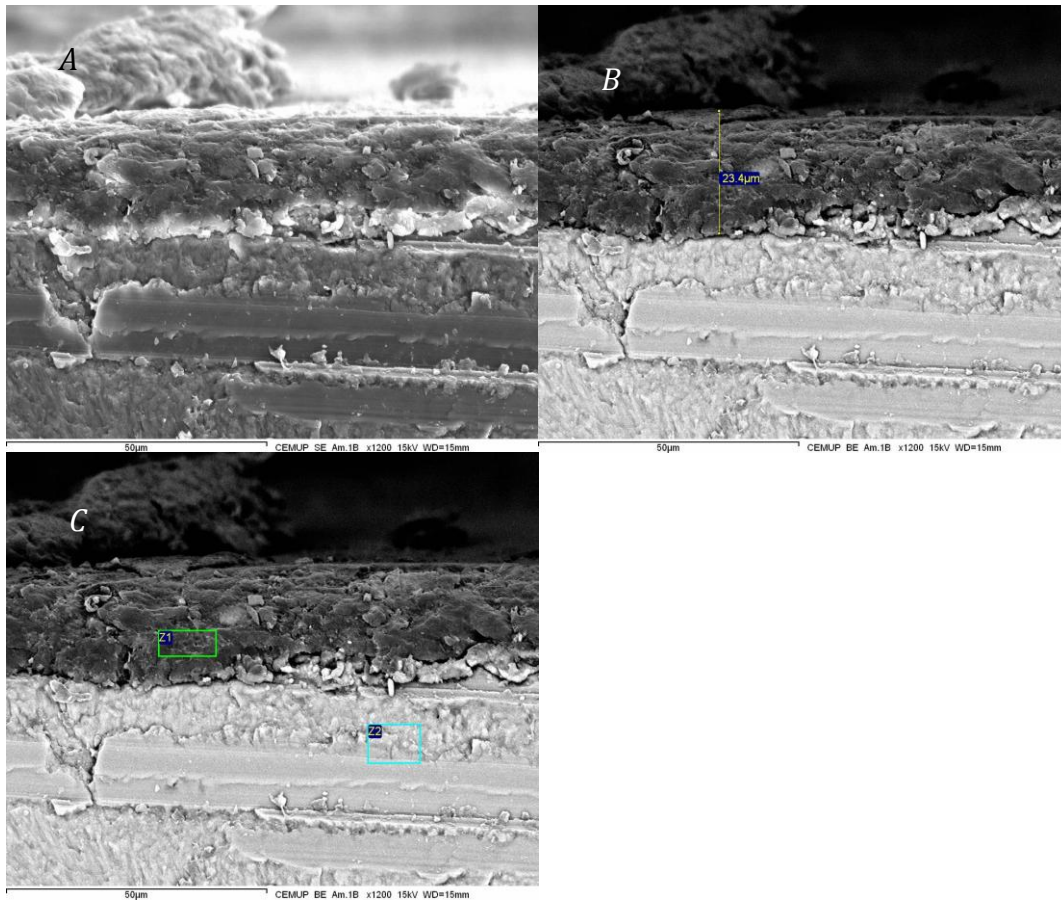


Figura 44 – Imagem da amostra do Sub-grupo 1B – ampliação a 1200x – (A) - imagem obtida através de análise de electrões secundários (SE); (B)- imagem obtida através de análise de BE , mensuração da espessura da camada adesiva (23,4µm); (C) - realização de espectros atômicos de duas zonas

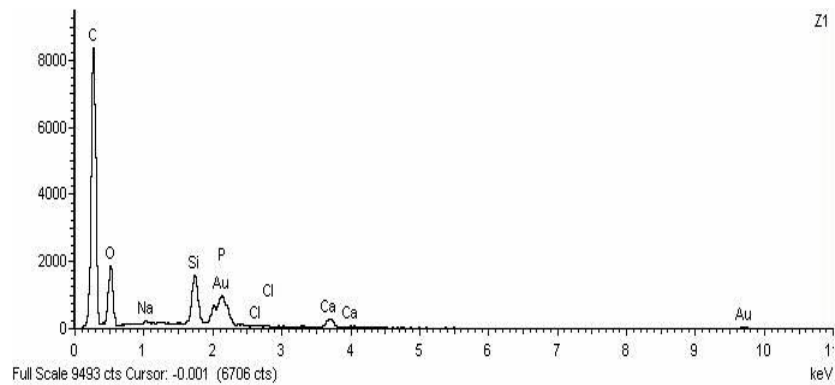


Figura 45– Espectro atômico referente a Z1 assinalada na Figura 44

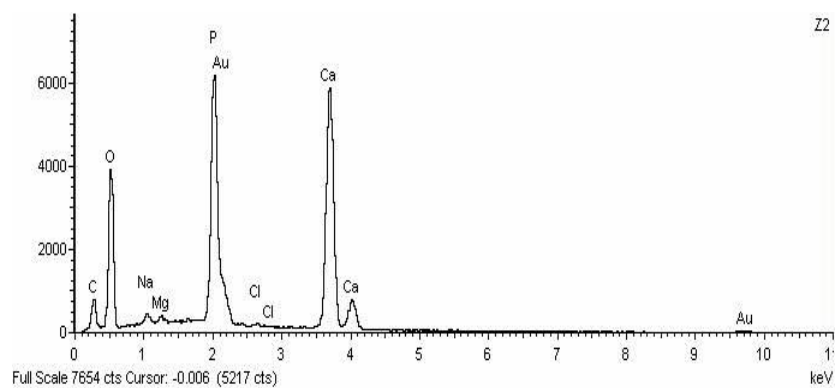


Figura 46 – Espectro atômico referente a Z2 assinalada na Figura 41

Sub-grupo 1C – Dentina JP

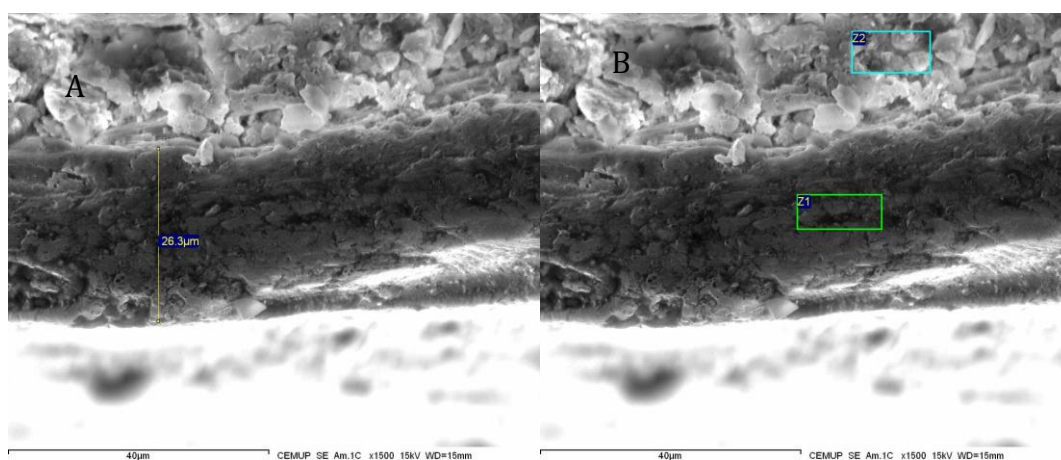


Figura 47 – Imagem da amostra do Sub-grupo 1C – ampliação a 1500x – (A) imagem obtida através de análise de BE, mensuração da espessura da camada adesiva (26,3μm); (B) - realização de espectros atômicos de duas zonas

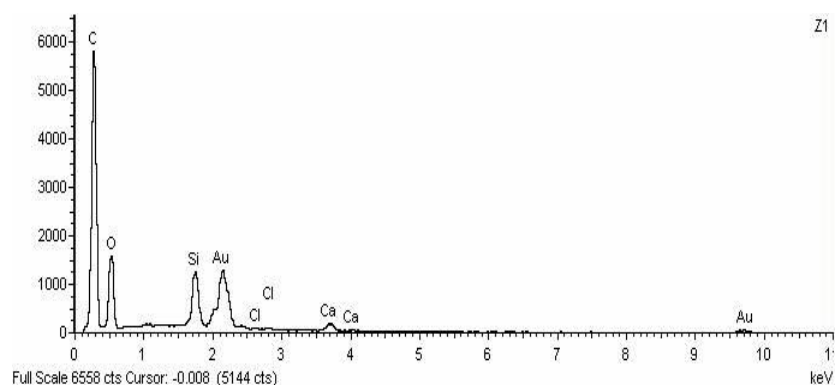


Figura 48 – Espectro atômico referente a Z1 assinalada na Figura 47

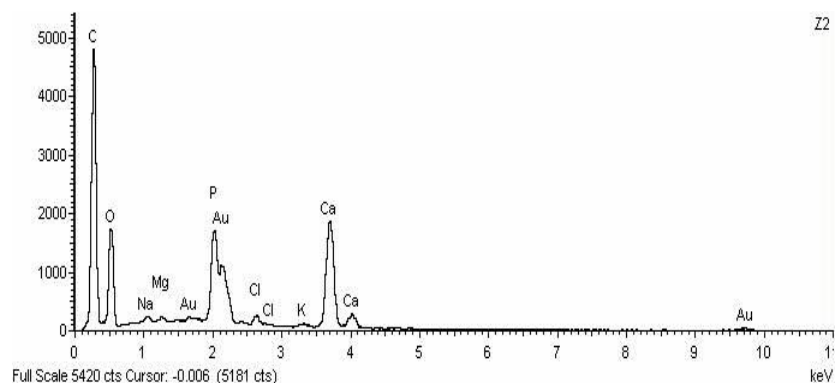


Figura 49 – Espectro atômico referente a Z2 assinalada na Figura 47

Tal como na figura 41, na figura 44 e 47 foram identificadas as zonas correspondentes à camada de adesivo e à zona de dentina. Em todas estas zonas distintas foram efectuados os espectros químicos constitucionais para que houvesse um indicador de que a estrutura visualizada fosse o adesivo dentinário.

Após identificação daquelas que seriam as zonas correspondentes à camada adesiva, procedemos à realização da medição das seguintes amostras, não realizando os espectros atômicos.

34

*Grupo 2 – Adesivo Total-etching, uma camada
Sub-grupo 2A – Dentina JAD*

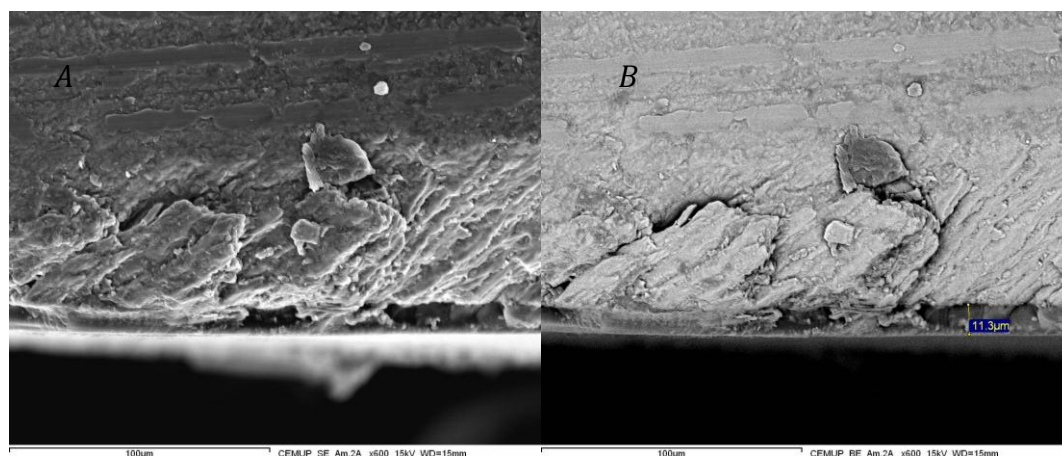


Figura 50 – Imagem da amostra do Sub-grupo 2A – ampliação a 600x – (A) imagem obtida através de análise de SE; (B) -Imagem obtida através de análise de BE, mensuração da espessura da camada adesiva (11,3µm)

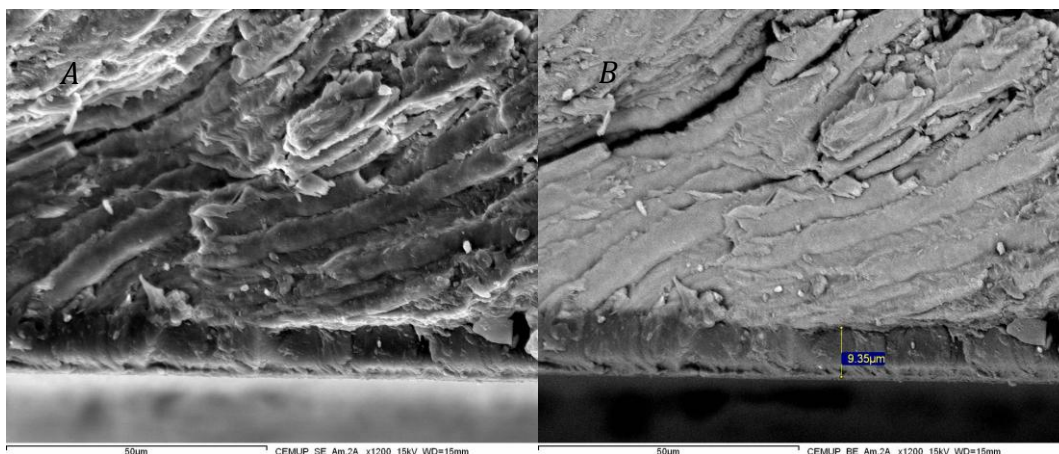


Figura 51 – Imagem da amostra do Sub-grupo 2A – ampliação a 1200x – (A) imagem obtida através de análise de SE; (B) -Imagem obtida através de análise de BE, mensuração da espessura da camada adesiva (9,35μm)

Sub-grupo 2B – Dentina Média

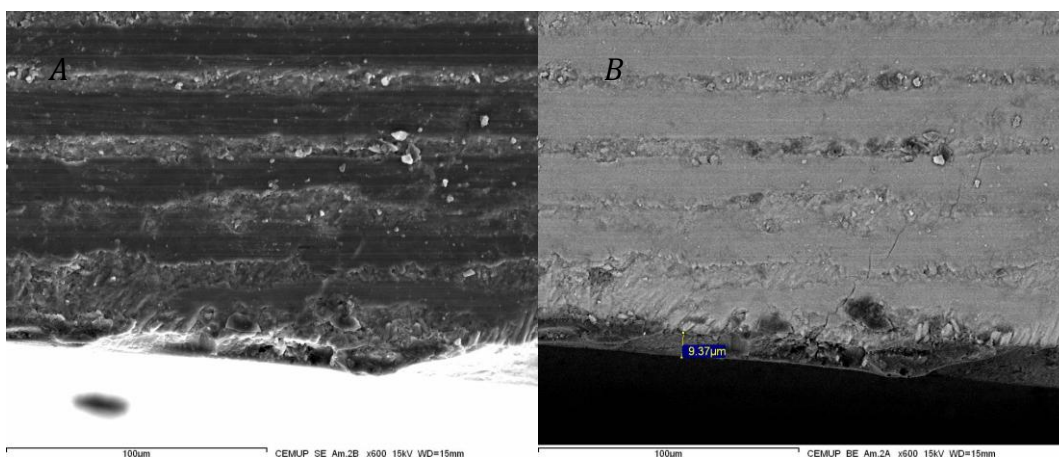


Figura 52 – Imagem da amostra do Sub-grupo 2B – ampliação a 600x – (A) imagem obtida através de análise de SE; (B) -Imagem obtida através de análise de BE, mensuração da espessura da camada adesiva (9,37μm)

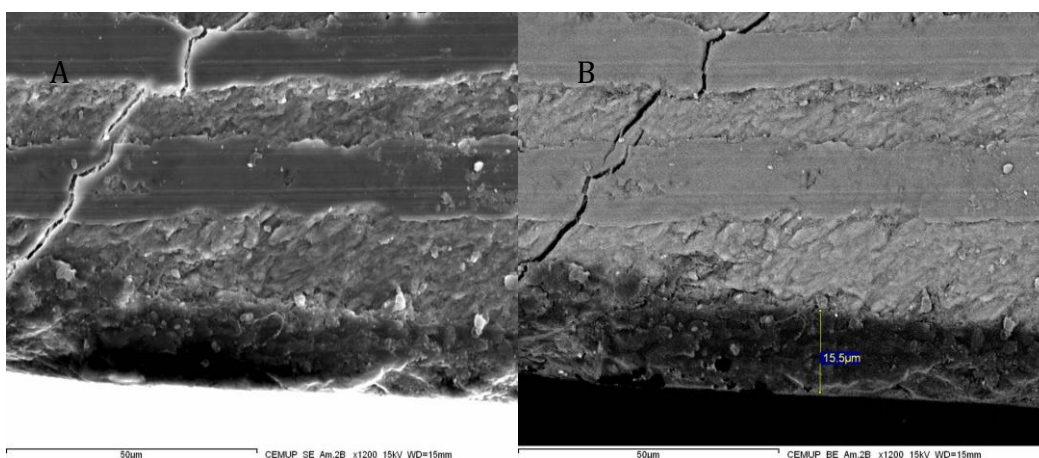


Figura 53 – Imagem da amostra do Sub-grupo 2B – ampliação a 1200x – (A) imagem obtida através de análise de SE; (B) -Imagem obtida através de análise de BE, mensuração da espessura da camada adesiva (15,5 μm)

Subgrupo 2C – Dentina JP

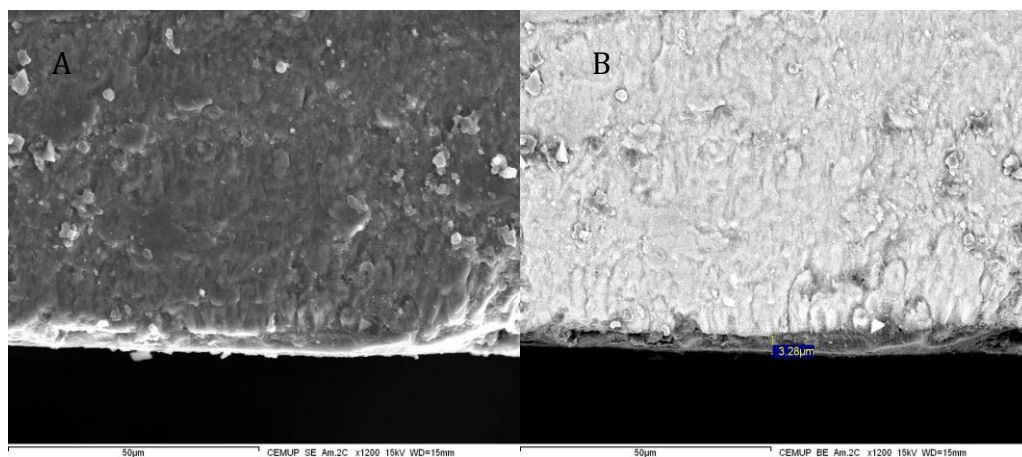


Figura 54 – Imagem da amostra do Sub-grupo 2C – ampliação a 1200x – (A) imagem obtida através de análise de SE; (B) -Imagem obtida através de análise de BE, mensuração da espessura da camada adesiva (3,28 μm)

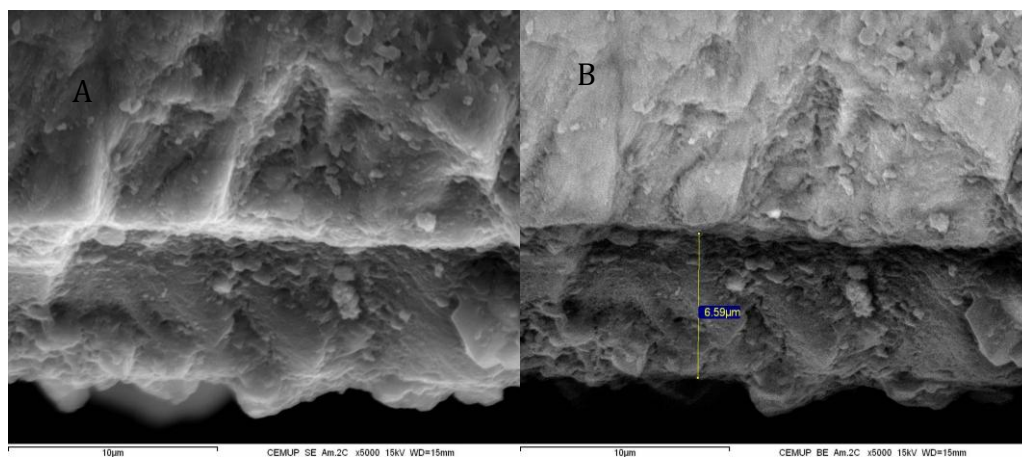


Figura 55 – Imagem da amostra do Sub-grupo 2C – ampliação a 5000x – (A) imagem obtida através de análise de SE; (B) -Imagem obtida através de análise de BE, mensuração da espessura da camada adesiva (6,59 μm)

Grupo 3 – Adesivo Self-etching, duas camadas
Sub-grupo 3A – Dentina JAD

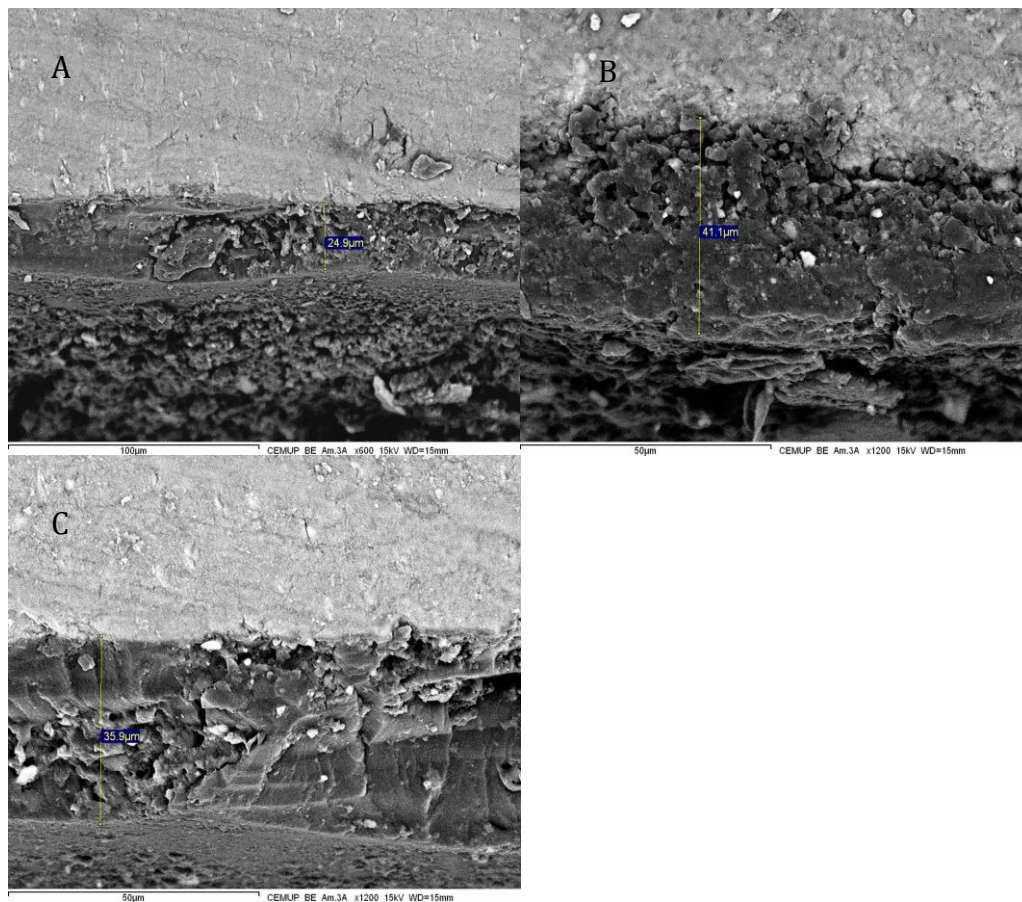


Figura 56 – Imagem da amostra do Sub-grupo 3A — (A) imagem obtida através de análise de BE, ampliação a 1200x mensuração da espessura da camada adesiva.; (B) -Imagem obtida através de análise de BE, ampliação 1200x, mensuração da espessura da camada adesiva; (C) - imagem obtida através de análise de BE, ampliação a 600x mensuração da espessura da camada adesiva (41,1 μm).

Sub-grupo 3B – Dentina média

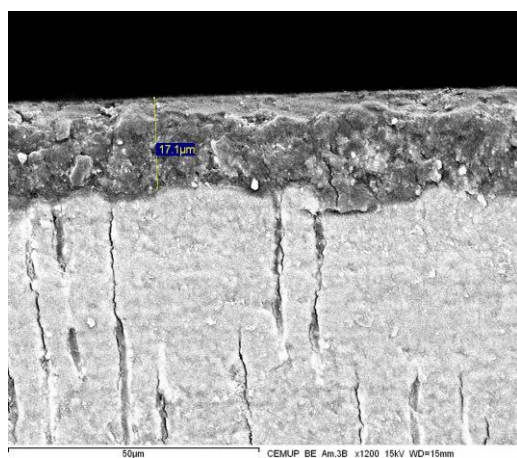


Figura 57 – Imagem da amostra do Sub-grupo 3B – ampliação a 1200x – -Imagem obtida através de análise de BE, mensuração da espessura da camada adesiva (17,1 μm)

Sub-grupo 3C – Dentina JP

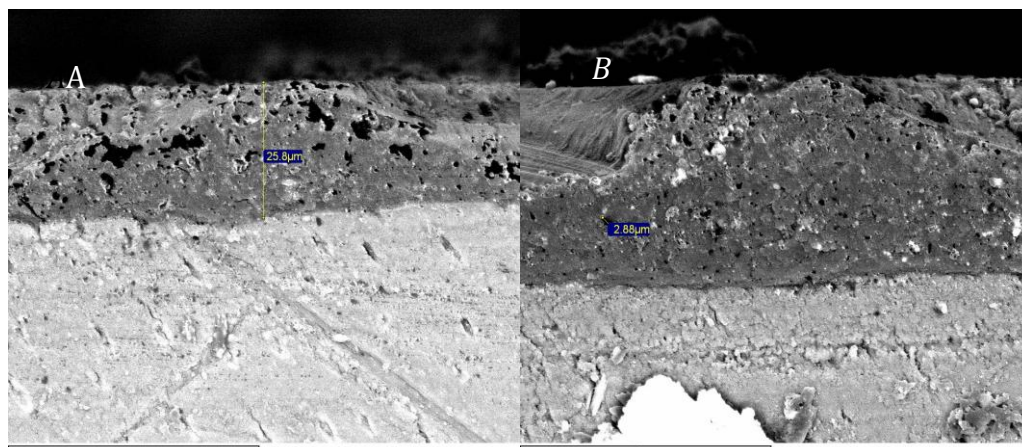


Figura 58 – Imagem da amostra do Sub-grupo 3C – ampliação a 1200x – (A) imagem obtida através de análise de BE mensuração da espessura da camada adesiva; (B) -Imagem obtida através de análise de BE, mensuração do diâmetro de um poro (2,88 μ m) incorporado na da camada adesiva (25,8 μ m).

Grupo 4 – Adesivo Self-etching, uma camada Sub-Grupo 4A – Dentina JAD

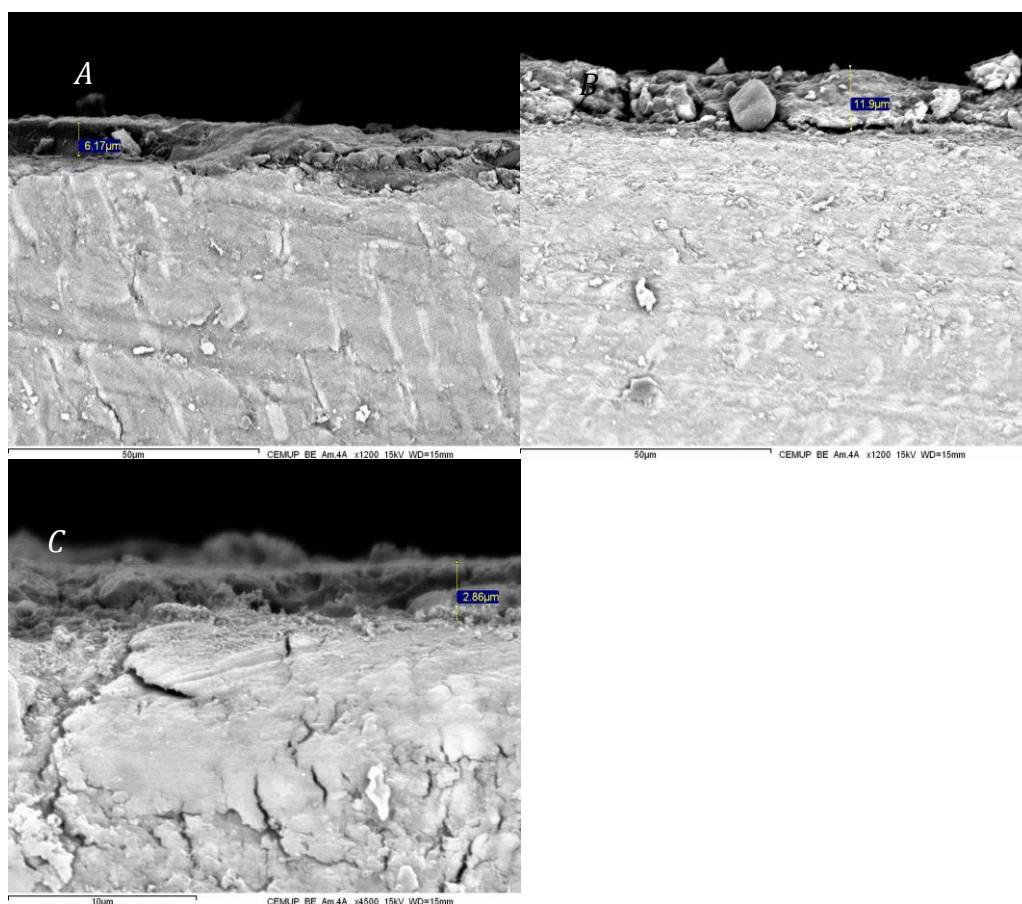


Figura 59 – Imagem da amostra do sub-grupo 4A – ampliação a 1200x – (A) imagem obtida através de análise de BE; mensuração da espessura da camada adesiva (B) -Imagem obtida através de análise de BE, mensuração da espessura da camada adesiva (11,9 μ m); (C) - ampliação a 5000x – Imagem obtida através de análise de BE; mensuração da espessura da camada adesiva (2,86 μ m).

Sub-grupo 4B – Dentina média

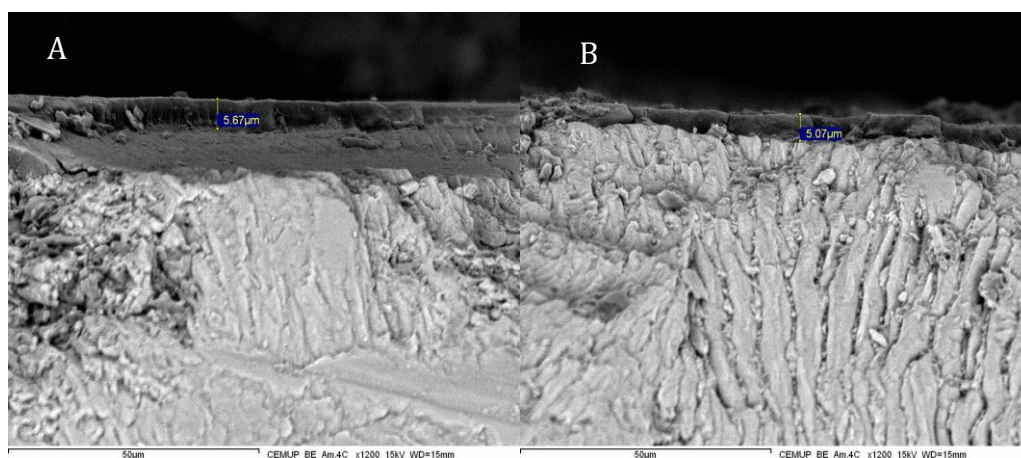


Figura 60 – Imagem da amostra do sub- grupo 4B – ampliação a 1200x – (A) imagem obtida através de análise de BE; mensuração da espessura da camada adesiva (5,56 μm) (B) -Imagem obtida através de análise de BE, mensuração da espessura da camada adesiva (5,07 μm)

Sub-grupo 4C – Dentina JP

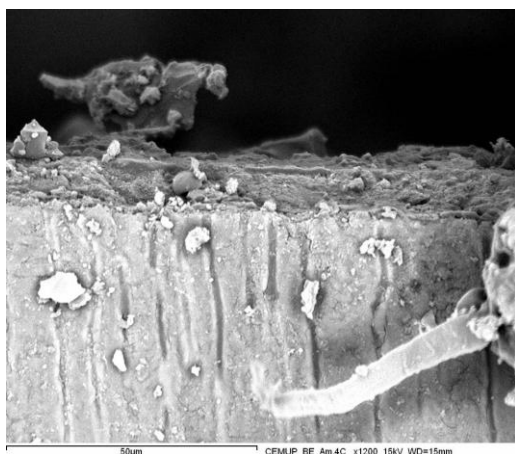


Figura 61 – Imagem da amostra do sub-grupo 4C– ampliação a 1200x – (A) imagem obtida através de análise de BE; ausência da camada de adesivo .

Após a observação das imagens obtidas e a mensuração da espessura da camada de adesivo, verificou-se que em ambos os tipos de adesivo a aplicação de uma segunda camada propiciava uma maior espessura da camada adesiva. Na primeira parte do trabalho laboratorial aquando da observação e captura das imagens através do SEM, verificou-se que as amostra 3 e 4 apresentavam estruturas com forma goticulares que levantaram a hipótese de se tratarem da formação de poros incorporados na camada de adesivo provenientes dos

excipientes do solvente do *primer*, o que se confirmou através dos cortes longitudinais das amostras 3 e 4 que permitiram a observação de lacunas na camada adesiva (Figura 58).

A tabela a seguir mostra as diferentes espessuras da camada adesiva, mensuradas nas diferentes áreas topográfica da dentina, que embora fossem recolhidas a diferentes ampliações, a escala de mensuração encontra-se adaptada a cada uma das mesmas. De salientar que por condicionalismos metodológicos não se pode fazer uma análise estatística entre quais as, a quantificação das diferenças de espessura que a camada adesiva teria em cada uma das áreas topográficas da dentina.

Amostras	Espessuras observadas das camadas adesivas
<u>Amostra 1 - Prime & Bond NT® da Dentsply – duas camadas</u>	
Amostra 1A	30,1 µm
Amostra 1B	20,7 µm
Amostra 1C	23,4 µm
	26,3 µm
	56,6 µm
<u>Amostra 2 - Prime & Bond NT® da Dentsply – uma camadas</u>	
Amostra 2A	11,3 µm
	9,35 µm
Amostra 2B	15,5 µm
	9,37 µm
Amostra 2C	6,59 µm
	3,28 µm
<u>Amostra 3 - AdheSE® Vivadent Ivoclar – duas camadas</u>	
Amostra 3A	41,1 µm
	35,9 µm
	24,9 µm
Amostra 3B	17,1 µm
Amostra 3C	25,8 µm
	40,14 µm
<u>Amostra 4 - AdheSE® Vivadent Ivoclar – uma camadas</u>	
Amostra 4A	6,17 µm
	11,9 µm
	2,86 µm
	4,38 µm
	5,67 µm
Amostra 4B	10,3 µm
	5,07 µm
	28,6 µm
Amostra 4C	n/d

Tabela II – Espessuras observadas da camada adesiva nas amostras de Fase 2

Discussão

Actualmente as necessidades de utilização de uma técnica restauradora minimamente invasiva associada a uma dentisteria estética, tem vindo a exigir cada vez mais da qualidade, eficiência e simplicidade de utilização dos materiais restauradores, nomeadamente dos adesivos dentinários invariavelmente utilizados nesse tipo de restaurações, quotidianamente ^{1, 8, 18}.

Em 1955 Bounacore mostrou que a utilização de ácido ortofosfórico a 85% aumentava a retenção das resinas acrílica no esmalte, pois permitia criar microporosidades que funcionavam como áreas de microrretenção permitindo que a restauração melhor se adaptasse à cavidade ^{3, 18, 19}.

Apesar de terem sido desenvolvidos diversos adesivos dentinários, vários autores mostram que a adesão à dentina é mais complexa do que a adesão ao esmalte ¹, pois esta possui mais matéria orgânica, tem uma organização tubular que começa na parte mais superficial com menos túbulos e de menor calibre e na sua porção mais perto da polpa apresenta mais túbulos dentinários e de maior calibre. A presença de células no interior dos túbulos faz ainda com que a dentina seja um tecido vivo, e bastante mais hidratado que o esmalte, com maior flexibilidade ^{1, 3, 5}. Os túbulos possuem ainda circulação de fluidos, o que significa que a superfície da dentina preparada possui pressão hidrostática positiva, que pode ser maior na proximidade da polpa ^{5, 19}. Todas estas características tem que ser tidas em conta quando utilizamos um adesivo sobre este tecido ¹.

Um dos requisitos que se entende como fundamental para a eficácia de um adesivo é a sua capacidade de penetrar nos túbulos dentinários e nas áreas de dentina desmineralizada após o condicionamento da superfície dentária com ácido ortofosfórico (37%) ^{1, 7}. Idealmente o adesivo deve cobrir toda a superfície condicionada numa camada íntegra e contínua que permita a correcta aderência à resina composta, conduzindo geralmente a uma restauração durável e hermética, menos passível de infiltração marginal ^{1, 5}. Deste modo as restaurações podem apresentar maior resistência à tracção e maior capacidade de suportar cargas mastigatórias e oclusais.

Diversos autores têm referenciado e investigado as características mecânicas e topográficas das camadas adesivas dos vários sistemas disponíveis ^{3, 4, 6-9, 17, 20}.

Os resultados publicados afirmam que a aplicação de uma camada de adesivo, quer do tipo total-etching, após remoção da *smear layer* pelo condicionamento ácido, como do tipo self-etching, proporciona uma incompleta cobertura da superfície dentinária exposta, permitindo a visualização do padrão de aplicação do adesivo, e características mecânicas de adesão significativamente piores do que com a aplicação de duas camadas^{6, 7, 16, 17}.

A aplicação de duas camadas não é descrita como sendo garantia de uma superfície adesiva perfeitamente uniforme e completa, contudo será tendencialmente mais espessa e abrangente do que a resultante de uma aplicação^{6, 17}.

Os resultados de observação qualitativa desse estudo estão de acordo com essa informação publicada.

A análise efectuada divide-se em 3 aspectos: uma avaliação visual directa das imagens obtidas, sem qualquer quantificação; a análise por espectrometria atómica dos constituintes de algumas zonas das amostras; medição da espessura de camada adesiva, em imagens de BE.

Na análise visual procuraram-se padrões e texturas superficiais que sugerissem a qualidade da cobertura por adesivo.

A análise de espectros constitucionais atómicos foi útil na distinção entre zonas mais e menos cobertas por adesivo. O Silício está presente na constituição da parte inorgânica dos adesivos. O Cálcio é parte constituinte da dentina (hidroxiapatite). Considera-se que uma zona rica em silício é indicativa de maior cobertura por material adesivo, enquanto que uma zona rica em cálcio apresenta menor cobertura.

A medição de algumas espessuras de camada adesiva foi possível pela obtenção de imagens em BE, nas quais zonas com constituição atómica diferente (distinguidas por número atómico) surgem a intensidades de tom de cinza diferentes.

É claramente visível nas imagens de MEV das amostras em que foi aplicada uma camada de adesivo total-etching (Grupo 2) os padrões característicos de túbulos dentinários descobertos. Esse é o resultado mais explícito de todas as

amostras. Com a aplicação de duas camadas de adesivo total-etching (Grupo 1) é possível visualizar um padrão microtopográfico que sugere algumas zonas de menor cobertura por adesivo e texturas de irregularidade superficial. Não são visíveis túbulos dentinários descobertos, apenas alguns poros e artifícios provocados pela aplicação do adesivo.

Os resultados das análises de espectro atômico, confirmaram a hipótese da análise visual. Existe claramente mais cálcio e menos silício nas zonas em que se põe a hipótese de serem de dentina descoberta, e o oposto nas zonas em que se pensa ser camada adesiva. É possível encontrar uma tendência, embora não suportada por dados em quantidade suficiente, para haver uma menor diferença de qualidade de cobertura por adesivo entre as zonas melhores e piores nas amostras com duas camadas. Ou seja, as zonas mais cobertas das amostras do Grupo 2 apresentam uma presença de silício em intensidade semelhante a do Grupo 1, contudo nas zonas menos cobertas por adesivo a intensidade de cálcio é muito maior no Grupo 2 do que no Grupo 1, sendo a quantidade de silício muito menor. Isso pode indicar que a aplicação de duas camadas proporciona uma camada adesiva mais uniforme, e que mesmo as zonas menos cobertas não são de tão má qualidade como as zonas menos cobertas com uma camada. A não visualização tão clara de padrões de túbulos dentinários em qualquer zona das amostras do Grupo 1, como acontece no Grupo 2, reforça essa ideia.

Entre os grupos de amostra a que foi aplicado adesivo self-etching as diferenças não são tão explícitas. Os padrões observados por análise visual em ambos os casos não permitem a identificação de túbulos dentinários. Nas amostras do Grupo 3 é visível um padrão de pequenas gotículas incorporadas na camada adesiva, por toda superfície dentinária, e com pouca variação de tamanho. No Grupo 4 visualiza-se igualmente um padrão de gotículas, contudo maiores e com uma distribuição menos homogênea.

Não existe uma confirmação objectiva se todas estas estruturas têm a mesma proveniência nem qual é a sua constituição. Suspeita-se que essas imagens representem poros na camada adesiva, preenchidos por água, resultantes de excessos de solvente do *primer* que permanecem mesmo após a aplicação de

todo protocolo indicado pelo fabricante. A existência de poros maiores e que abrangem mais superfície dentinária com aplicação de uma camada de adesivo, pode considerar-se indicativo de pior qualidade dessa camada adesiva.

Tentou-se proceder a determinação da constituição dessas estruturas por análise dos espectros atômicos. Os resultados obtidos são inconclusivos e por vezes contraditórios. Nalgumas amostras surge uma elevada concentração de silício próximo das agregações de estruturas semelhantes a gotículas, noutras é indicada uma ausência desse componente. Isso reforça a ideia de que essas estruturas poderão ter origens diversas. De notar também que a precisão da análise de espectros atômicos pode não ter precisão suficiente para garantir que a zona analisada corresponde exactamente a essas estruturas.

Na Fase 2, pretende-se visualizar e mensurar a espessura da camada adesiva. Espera-se que uma segunda aplicação de adesivo aumente não só a cobertura da superfície, mas também a espessura da camada adesiva, já que a segunda camada sobrepõe-se e acresce à primeira.

As imagens de BE foram utilizadas para medir essa espessura, através do software do microscópio.

Tal como esperado, os grupos em que foram aplicadas duas camadas de adesivo (Grupo 1 e 3) possuem uma camada adesiva mais espessa do que os Grupos 2 e 4. As medições são em pequeno número e não permitem a análise quantitativa dessas diferenças de espessura. Contudo, empiricamente, é razoável mencionar que existe uma diferença de ordem de grandeza entre os diferentes grupos.

Foi realizada ainda uma subdivisão das amostras em subgrupos, correspondentes a dentina de diferentes áreas topográficas. O objectivo era verificar se existe alguma diferença na espessura e na integridade da camada adesiva conforme o tipo de dentina, e a maior ou menor proximidade da polpa e do esmalte.

Diversos estudos abordam a influência das características da dentina, nomeadamente a sua localização, na eficácia dos adesivos^{1, 5, 14, 19}. É sugerido que os adesivos self-etching seriam mais eficazes na dentina justa-pulpar, por diminuição do efeito de pressão hidrostática do túbulos^{6, 18, 19}. Outro factor

abordado é a influência das diferenças de microestrutura dos túbulos dentinários em várias profundidades de dentina^{1, 5, 14}.

Não foi bem sucedida a verificação de qualquer diferença óbvia nas camadas adesivas entre os subgrupos de cada Grupo da Fase 2. Uma análise quantitativa, com um número de amostras maior e portanto mais medições, seria necessária para existirem conclusões acerca disto. Poderia ser útil também a aplicação de um método para medir objectivamente a penetração do adesivo na dentina.

Não seria razoável esperar uma verificação de uma melhor camada adesiva self-etching na dentina justa-pulpar por diminuição do efeito de pressão hidrostática positiva superficial, num estudo com o desenho proposto neste caso. Os dentes obviamente já não apresentam qualquer actividade pulpar, estando fixados há demasiado tempo.

Todos os dados obtidos são de análise qualitativa, resultado de observação directa. Estão em conformidade com os achados publicados por outros autores e com o conhecimento actual do funcionamento dos adesivos de resinas compostas. São informação suficiente para indicar a realização de estudos com desenhos semelhantes, amostras maiores e validação estatística dos dados recolhidos. Podemos afirmar com alguma propriedade, mas sem conhecimento baseado em evidência estatisticamente significativa, que a aplicação de duas camadas de adesivo é não só benéfica, como essencial para um correcto selamento e adesão de restaurações dentárias directas.

A aplicação de duas camadas de adesivo na prática clínica não está muitas vezes explicitamente indicada pelos fabricantes.

Seria também importante verificar se os profissionais de Medicina Dentária compreendem a importância e pertinência da aplicação de duas camadas de adesivo e a generalização desse procedimento na sua prática clínica.

O significado clínico desses factos apurados, no sucesso e longevidade das restaurações dentárias directas de resina composta poderia também ser alvo de uma avaliação sistemática.

Conclusão

Os resultados desse estudo consubstanciam a importância da aplicação de uma segunda camada de adesivo dentário para materiais de resina composta. Tanto nas amostras Self-etching como Total-etching, a cobertura da superfície dentinária, selamento dos túbulos dentinários e espessura da camada adesiva foram superiores com a aplicação de uma segunda camada de adesivo.

Dessa maneira, a aplicação de uma segunda camada de adesivo poderá facultar uma melhor adesão dentária micromecânica às resinas compostas, um melhor selamento periférico das restaurações dentárias e uma mais completa obliteração dos túbulos dentinários.

Agradecimentos

À disciplina de Ciências e Tecnologia dos Biomateriais, na pessoa de Professor Doutor Mário Ramalho de Vasconcelos e como orientador deste trabalho de investigação, à Sra. Ana Mota, técnica de anatomia patológica que muito se empenhou para a realização do protocolo laboratorial e à Engenheira Liliana Alves, técnica de microscopia electrónica do CEMUP, ao Professor Doutor Américo Afonso por cedência das instalações do Laboratório de Anatomia Dentária da FMDUP.

Referências

- 1 – Perdigão J. New Developements in Dental Adheseion. *Dental Clin N Am* 51 (2007) 333-337.
- 2- Van Meerbeek B, Yoshida Y, Lambrechts P, Vanherle G, Duke ES, Eick JD, Robinson SJ. A TEM study of two water-based adhesive systems bonded to dry and wet dentin. *J Dent Res.* (1998) 77(1):50-9.
- 3 - Macari S, Gonçalves M, Nonaka T, Santos JM. Scanning Electron Microscopy Evaluation of the Interface of thee Adhesive systems. *Braz Dent J* (2002) 13(1): 33-38.
- 4 – Montes MA, de Goes MF, da Cunha MR, Soares AB. A morphological and tensile bond strength evaluation of an unfilled adhesive with low-viscosity composites and a filled adhesive in one and two coats.*J Dent.* 2001 Aug; 29(6):435-41.
- 5- Wang Y, Spencer P, Hager C, Bohaty B. Comparison of interfacial characteristics of adhesive bonding to superficial vesus deep dentine using SEM and satining techniques. *Journal of Dentsitry* 2006;34: 26-34.
- 6- Pashley LE, Agee Ka, Pashley DH, Tay FR. Effects of one versus two applications of an unfilled, all-in-one adhesive on dentine bonding. *Journal of Dentistry* 2002;30:83–90.
- 7- Peumnas M, kanumilli J, De Munck j, van landuyt, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Clinical effectiveness of contemporany adhseives: A systematic review of current clinical trials. *Dental Materials* 2005;21: 864-881.
- 8 – Pereira PNR, Okuda M, Sano H, Yoshikawa T, Burrow MF, Tagami J. Effect of intrinsic wetness and regional difference on dentin bond strenght. *Dental Materials* 1999;15:46-53.
- 9- Perdigão J, Geraldeli S, Hodges JS. Total-etch versus self-etch adhesive: effect on postoperative sensitivity. *J Am Dent Assoc.* 2003; 134(12):1621-9.
- 10- De Munck J, Vargas M, IrackiJ, e tal. One-day bonding effectiveness of new self-etch adhesives to bur- enamel and dentin. *Oper Dent* 2005;30:39-49.
- 11-Franlenberger R, Tay FR. Self-etch vs etch-and-rinse adhesives: effect on marginal quality of bonded resin composite restaurations. *Dental Materials* 2005;21:397-412.

- 12- Barrier RE. Principles of adhesion. *Oper Dent Suppl* 1992;5:1-9.
- 13- Ferrari M, Goracci C, Sadek F, Cardoso PEC. Microtensil bond strength tests: scanning electron microscopy evaluation of sample integrity before testing. *Eur J Oral Sci* 2002;110: 385-391.
- 14- Perdigão J, Frankenberger R, Rosa BT, Breschi L. New trends in dentin/enamel adhesion. *Am J Dent*. 2000 Nov; 13 (Spec No):25D-30D. (Abstract)
- 15- Ernsta CP, Kötter T, Victor A, Canbek K, Brandenbusch M, Willershausen B. Marginal integrity of self- and total-etching adhesives in two different application protocols. *J Adhes Dent*. 2004 Spring;6(1):25-32.
- 16- Kälin C, Paul SJ, Schärer P, Düggelein M, Mathys D, Guggenheim R
Evaluation of the interface between one-bottle bonding agents and dentin by cryopreparation and low-temperature scanning electron microscopy (LTSEM). A pilot study on perfused dentinal samples. *J Dent*. 1998;26(5-6):511-20.
- 17- Choi KK, Condon JR, Ferracane JL. The effects of adhesive thickness on polymerization contraction stress of composite. *J dent Res* 2000;79:812-7.
- 18- Van Landuyt KL, De Munck J, Snauwaert J, Coutinho E, Poitevin A, Yoshida Y et al Monomer-solvent Phase Separation in one-step self-etch Adhesives. *Journal of Dental Research* 2005;84 (2): 183-188.
- 19- Swift EJ, Perdigão J, Heymann HO. Bonding to enamel and dentin: a brief story and state of the art. *Quintessence Int* 1995;26:95-110.
- 20- Chinelatti MA, Corona SA, Borsatto MC, Ribeiro LF, Rocha RA, Palma-Dibb RG Analysis of surfaces and adhesive interfaces of enamel and dentin after different treatments. *J Mater Sci Mater Med*. 2007 18(7):1465-70. Epub 2007 Mar 27. (Abstract)