

**UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO**

**Flávia Maria Giusti**

**EFEITO DA ASSOCIAÇÃO DO  
HIPOCLORITO DE CÁLCIO E ÁCIDO  
FOSFÓRICO NA RESISTÊNCIA DE UNIÃO  
ENTRE DENTINA E RESINA COMPOSTA**

Passo Fundo

2015

**Flávia Maria Giusti**

**EFEITO DA ASSOCIAÇÃO DO  
HIPOCLORITO DE CÁLCIO E ÁCIDO  
FOSFÓRICO NA RESISTÊNCIA DE UNIÃO  
ENTRE DENTINA E RESINA COMPOSTA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia da UPF, para obtenção do título de Mestre em Odontologia – Área de Concentração em Clínica Odontológica, sob orientação da prof<sup>a</sup> Dra. Paula Benetti e coorientação do prof. Dr. Bruno Carlini Jr.

Passo Fundo

2015

Folha reservada para  
Ata de aprovação da Banca Examinadora

Observação:

Mantenha esta página no seu arquivo, imprimindo-a.  
Após, faça a substituição pela Ata de aprovação fornecida  
pela Secretaria para manter a correta numeração do seu  
trabalho.

CIP – Catalogação na Publicação

---

G538e Giusti, Flávia Maria  
Efeito da associação do hipoclorito de cálcio e ácido  
fosfórico na resistência de união entre dentina e resina  
composta / Flávia Maria Giusti. – 2015.  
62 p. : il. ; 21 cm.

Dissertação (Mestrado em Odontologia) –  
Universidade de Passo Fundo, 2015.  
Orientador: Prof. Dr. Bruno Carlini Jr.

1. Odontologia. 2. Resinas compostas. 3. Dentina.  
4. Ácido fosfórico. 5. Hipoclorito de cálcio. I. Carlini  
Jr., Bruno, orientador. II. Título.

CDU: 616.314-089.27

---

Catálogo: Bibliotecária Jucelei Rodrigues Domingues - CRB 10/1569

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho que foi fruto de muito esforço ao meu Deus, a minha família, em especial minha mãe Maria que nunca mediu esforços para me apoiar, me incentivar e principalmente me acompanhar nas idas e vindas a Passo Fundo, sem ela com certeza minhas viagens não seriam tão alegres.... Não posso deixar de mencionar meu irmão Rafael que foi sempre meu apoio, meu porto seguro... e ao meu anjo da guarda, meu pai Luiz (*in memoriam*) que foi meu maior incentivador dos estudos e de cursar odontologia... Ao meu namorado Djalma que sempre foi muito compreensivo, todo meu carinho e apreço.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço muito a minha família por todo o suporte e apoio ao longo dessa jornada.

Não posso deixar de agradecer a todos do programa de pós-graduação da Universidade de Passo Fundo, principalmente o prof. Álvaro e a prof. Marcia pela oportunidade, a Fabi e todos os demais professores do programa. Quero em especial agradecer a minha querida professora Paula Benetti, que me ajudou muito na execução deste trabalho, sempre muito dedicada e prestativa e ao prof. Bruno que idealizou esta pesquisa. Também quero agradecer a ajuda do Tiago no laboratório de pesquisa, a Luciane representante da FGM em Chapecó e região que cedeu parte dos materiais utilizados na pesquisa e a todos que de uma forma ou outra contribuíram e estiveram presentes nesses dois anos de curso. Agradeço também a Capes pelo auxílio financeiro por meio de concessão de bolsa de estudos.

## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS .....	8
LISTA DE FIGURAS .....	9
LISTA DE ABREVIATURAS .....	10
RESUMO.....	11
ABSTRACT.....	12
1. INTRODUÇÃO.....	13
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1 Condicionamento ácido – desmineralização .....	16
2.2 Condicionamento com hipoclorito de sódio .....	18
2.3 Condicionamento com hipoclorito de cálcio .....	24
2.4 Teste de estratégia para redução de etapas clínicas .....	25
3. PROPOSIÇÃO .....	26
4. MATERIAIS E MÉTODOS .....	27
4.1 Seleção e preparo dos dentes.....	27
4.2 Inclusão dos dentes .....	27
4.3 Secção coronária .....	28
4.4 Preparo da superfície da dentina .....	29
4.5 Procedimento restaurador.....	30
4.6. Obtenção dos corpos de prova.....	31
4.7. Teste de resistência adesiva por microtração .....	32
4.8 Análise estatística.....	32
4.9 Análise do padrão de fratura em estereomicroscópio.....	33
4.10 Análise da superfície de dentina em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	
5. RESULTADOS .....	33
6. DISCUSSÃO .....	37
7. CONCLUSÕES .....	41
8. REFERÊNCIAS .....	42
APÊNDICE.....	46
ARTIGO A SER SUBMETIDO* .....	47

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Descrição dos grupos, concentração e técnica utilizada. ....	29
Tabela 2 - Dados de resistência adesiva à microtração (MPa), análise estatística e modo de falha. ....	35

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Análise descritiva dos resultados de resistência adesiva.....	35
Figura 2 –	
Figura 3 -	

## LISTA DE ABREVIATURAS

**DES** - desproteinização  
**RU** - resistência de união  
**NaOCl** – hipoclorito de sódio  
**Ca(OCl)<sub>2</sub>** – hipoclorito de cálcio  
**EM** - Estéreo microscópio  
**s** - segundos  
**min** - minutos  
**mm** - milímetros  
**SBMU** - Scotchbond multipurpose  
**PB** - Prime & Bond  
**CES** - Clearfil Liner Bond SE  
**COND** – condicionamento ácido  
**A35** – ácido fosfórico 35%  
**A35Ca10** – ácido fosfórico 35% e hipoclorito de cálcio 10% - 2 etapas  
**A35+Ca10** – ácido fosfórico 35% associado ao hipoclorito de cálcio 10% - 1 etapa  
**A35+Ca20** – ácido fosfórico 35% associado ao hipoclorito de cálcio 20% - 1 etapa  
**A35+Ca30** – ácido fosfórico 35% associado ao hipoclorito de cálcio 30% - 1 etapa  
**A10+Ca10** – ácido fosfórico 10% associado ao hipoclorito de cálcio 10% - 1 etapa  
**A10+Ca20** – ácido fosfórico 10% associado ao hipoclorito de cálcio 20% - 1 etapa  
**A10+Ca30** – ácido fosfórico 10% associado ao hipoclorito de cálcio 30% - 1 etapa

## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do pré-tratamento da dentina com hipoclorito de cálcio ( $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ ) associado ao ácido fosfórico na resistência de união à resina composta. Para isso 56 molares humanos íntegros foram selecionados. A porção coronária dos dentes foi cortada e os dentes foram divididos em 8 grupos conforme concentração de substâncias (para ácido fosfórico= 35% ou 10% e para  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  = 10%, 20% ou 30%) e associação das substâncias em etapa única (+) ou em duas etapas, como segue:  $A_{35}$ ;  $A_{35}\text{Ca}_{10}$ ;  $A_{35}+\text{Ca}_{10}$ ;  $A_{35}+\text{Ca}_{20}$ ;  $A_{35}+\text{Ca}_{30}$ ;  $A_{10}+\text{Ca}_{10}$ ;  $A_{10}+\text{Ca}_{20}$  e  $A_{10}+\text{Ca}_{30}$ . Os dentes preparados foram restaurados com sistema adesivo Ambar (FGM) e resina composta. As amostras foram seccionadas em barras de  $1\text{mm}^2$  de área de secção transversal, que foram submetidas ao ensaio de microtração, em máquina universal de ensaios a  $0,5\text{ mm/min}$ , até a fratura. Os dados (MPa) foram analisados por Kruskal-Wallis e Dunn ( $\alpha=0,05$ ). Os grupos que tiveram a dentina tratada com o protocolo de desmineralização convencional ( $A_{35}$  –  $30,2\text{ MPa}$ ) e desproteíntização em duas etapas ( $A_{35}\text{Ca}_{10}$  –  $19,3\text{ MPa}$ ) apresentaram os maiores valores de resistência de união, sendo similares estatisticamente ( $p>0,05$ ). Os demais grupos apresentaram menores valores de resistência de união e foram estatisticamente semelhantes entre si. Portanto conclui-se que a associação do ácido fosfórico com o hipoclorito de cálcio foi efetiva no grupo em que utilizou as concentrações  $A_{35}\text{Ca}_{10}$  e  $A_{35}+\text{Ca}_{10}$ .

**Palavras-chave:** hipoclorito de cálcio; desproteíntização; desmineralização; dentina; resistência de união.

## ABSTRACT<sup>1</sup>

The aim of this study was to evaluate the effect of pretreatment of dentin with calcium hypochlorite (Ca (OCl) 2) associated with the phosphoric acid on the bond strength of composite resin. For this fifty six sound human molars were selected. The coronal portion of the tooth was cut and the teeth were divided into 8 groups according to the substances concentration (phosphoric acid to 35% or 10% and Ca (OCl) 2 = 10%, 20% or 30%) and association of substances single (+) or step in two steps, as follows: A35; A35Ca10; A35 + Ca 10; A35 + CA20; A35 + CA30; A10 + Ca 10; A10 + A10 + CA20 and CA30. The prepared teeth were restored with adhesive system Ambar (FGM) and composite resin. The samples were sectioned into beams 1mm<sup>2</sup> cross sectional area, which were submitted to microtensile test in universal testing machine at 0.5 mm / min until failure. The data (MPa) were analyzed by Kruskal-Wallis and Dunn ( $\alpha = 0.05$ ). The groups that were treated with the dentin demineralization conventional protocol (A35- 30.2 MPa) and deproteinized in two steps (A35Ca10 - 19.3 MPa) had the highest bond strength values, with similar statistically ( $p > 0, 05$ ). The other groups had lower bond strength values were statistically similar. Therefore it is concluded that the combination of phosphoric acid with calcium hypochlorite was effective in the group that used the A35Ca10 and A35 + Ca10 concentrations.

**Keywords:** calcium hypochlorite; deproteinization; demineralization; dentin; bond strength.

---

<sup>1</sup> Effect of the association of calcium hypochlorite and phosphoric acid on the dentin-resin bond strength.

## 1. INTRODUÇÃO

A técnica do condicionamento ácido visa remover a camada de *smear layer* oriunda do preparo cavitário, remover parcialmente o mineral e expor as fibrilas colágenas da superfície de dentina. Nessa técnica, a adequada adesão entre resina composta e dentina é alcançada pela penetração e polimerização dos monômeros adesivos no interior da rede de fibras, formando uma camada híbrida (MONTAGNER *et al.*, 2014). Para isso, é necessário manter a dentina úmida para preservar espaços entre as fibras e prevenir que elas colabem. No entanto, apesar de oferecer resistência adesiva imediata adequada, a técnica é sensível à umidade do substrato, que pode sofrer variações conforme o operador. Além disso, o colágeno exposto pelo condicionamento ácido pode sofrer a ação de enzimas proteolíticas que degradam o colágeno ao longo do tempo diminuindo a longevidade da união adesiva (TOLEDANO *et al.*, 2009; SAURO *et al.*, 2009; MONTAGNER *et al.*, 2014).

Em busca de soluções para evitar a degradação da interface adesiva a técnica de desproteção (DES) da superfície da dentina, sugerida por Pratti em 1995, está sendo estudada. Vários autores aperfeiçoaram esta técnica utilizando diferentes tempos e concentrações de hipoclorito de sódio (NaOCl). Esta técnica apresenta vantagens como melhor penetração dos monômeros resinosos quando comparada a técnica *etch and prime*, aumento da energia de superfície e eliminação do passo do método de secagem com discos de papel. Além disso, a

desproteínoização é de fácil execução e apresenta um bom selamento da interface. Apesar dos benefícios, esta técnica apresenta algumas limitações como: formação de ácidos graxos que interferem na polimerização dos sistemas adesivos, tempo de aplicação longo (1 a 45 mim) e limitação quanto a concentração de NaOCl, em torno de 10 e 12% (BONDAN *et al.*, 2009; DUARTE e SILVA., 2007; SPAZZIN *et al.*, 2008; SAURO *et al.*, 2009).

Como alternativa ao NaOCl, Balbinott (2009) propôs a utilização do hipoclorito de cálcio,  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ . O autor comparou os resultados de resistência de união entre resina composta e dentina submetida às técnicas de desproteínoização com NaOCl 5% e com  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  a 10% aplicado durante 15 s. Ambas as substâncias demonstraram valores médios de resistência a união semelhantes estatisticamente ao grupo controle. Concluíram que a desproteínoização com  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  constitui-se em uma técnica promissora para o protocolo de união resina e dentina. Este produto possui íons cálcio na composição, não produz ácidos graxos a partir de íon Sódio, seus valores de resistência de união, tempo de aplicação e concentração tornam a técnica viável clinicamente (BALBINOTT *et al.*, 2009; BONDAN *et al.*, 2009; COSTA 2012; FERREIRA, 2012).

O método de desproteínoização com  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  foi desenvolvido na Faculdade de Odontologia da Universidade de Passo Fundo (FOUPF) e tem se mostrado promissor (BALBINOTT *et al.*, 2009; BONDAN *et al.*, 2009; COSTA 2012; FERREIRA, 2012). O método da desproteínoização da dentina interpõe um passo adicional no protocolo de união da resina à dentina condicionada. Aplica-se o ácido fosfórico, seguido de lavagem e secagem, aplicação do hipoclorito e nova lavagem

e secagem para finalmente ser aplicado o sistema adesivo. A desmineralização da dentina e a remoção da malha de colágeno são realizadas em dois passos (TOLEDANO *et al.*, 2009; SAURO *et al.*, 2009). Com o objetivo de simplificar a técnica, foi idealizado um protocolo de associação do ácido fosfórico e do  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ , a fim de permitir que a remoção da parte mineral e orgânica da superfície da dentina ocorra concomitantemente.

Portanto, o presente estudo propõe a avaliar a resistência de união resina/dentina mediante técnica de desproteinização simplificada, em aplicação concomitante de ácido fosfórico e  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ , em diferentes concentrações, sobre a dentina previamente a aplicação do sistema adesivo.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

A adesão dentária pode ser definida como uma atração molecular entre duas superfícies em contato, promovida pela força de atração interfacial de diferentes moléculas. Este fenômeno pode ocorrer por meio de mecanismos físicos, mecânicos ou químicos ou ainda pela combinação desses, sendo que sempre que um agente adesivo for utilizado para unir dois materiais e se solidificar durante esta união, o processo é denominado união adesiva (DELLA BONA, 2009).

A presença da *smear layer* criada durante o preparo cavitário pode ter um efeito adverso na adesão dentinária e sua remoção pelo condicionamento ácido é aconselhável. Entretanto, o tratamento da dentina com ácidos pode causar um colapso das fibrilas colágenas expostas dificultando a penetração de monômeros adesivos nesta superfície (TOLEDANO *et al.*, 1999).

### 2.1 Condicionamento ácido – desmineralização

O condicionamento ácido da superfície da dentina é utilizado para expor por completo a matriz de colágeno da dentina. Esta superfície após a lavagem com água deve ser mantida úmida para a rede de colágeno permanecer expandida, criando uma condição favorável para

que os monômeros resinosos hidrofílicos infiltram na rede de colágeno, formando a camada híbrida (CARVALHO *et al.*, 1999). Esta desmineralização da matriz de colágeno resulta em uma superfície de dentina desnaturada com cristais de apatita na base da rede de colágeno e ocasionalmente minerais interfibrilares remanescentes que podem proteger as fibrilas colágenas. O excesso de água ao redor das fibrilas colágenas e na base da camada dentinária desmineralizada pode impedir a completa infiltração e polimerização dos monômeros resinosos. Esta condição pode resultar na degradação da matriz de colágeno exposta e comprometer a longevidade da adesão da resina ao substrato dentinário (SAURO *et al.*, 2009).

Montagner *et al.* (2014) mostram que os sistemas adesivos perdem sua adesão a dentina ao longo do tempo, e existe um consenso que a degradação da camada híbrida está relacionada com a diminuição da resistência adesiva. A resistência adesiva diminui após 100 dias ou 6 meses de envelhecimento, mas não diminui a zero pois a resistência adesiva se mantém parcialmente mesmo após o armazenamento em água. Essa diminuição da resistência de união está relacionada com a hidrólise da matriz de colágeno da camada híbrida combinada com a degradação dos polímeros hidrofílicos dos sistemas adesivos.

Além dos fatores citados, o mecanismo de degradação do colágeno ao longo do tempo envolve a atividade de enzimas proteolíticas, como as metaloproteinases (MMPs) e catepsinas encontradas na dentina coronária e radicular. As enzimas são as responsáveis pela degradação da matriz de colágeno da camada híbrida. Como a integridade da matriz de colágeno é essencial para a preservação em longo prazo da resistência de união, a inibição ou inativação das

enzimas da dentina é necessária para tornar durável a união entre resina composta e o dente. Os sistemas adesivos utilizados atualmente perdem sua resistência adesiva à dentina, devido à hidrólise da matriz de colágeno na interface de união, e muitas são as alternativas para inibição da ação dessas enzimas (TJADERHANE *et al.*, 2013).

Tanto o adesivo como a degradação do colágeno vem sendo considerados a maior causa de falhas na união adesivo-dentina, tanto pela combinação de efeitos da degradação hidrolítica dos componentes resinosos após a absorção de água como pela degradação das fibrilas colágenas expostas (CECCHIN *et al.*, 2012).

A fim de superar os desafios da técnica de desmineralização convencional, a desproteção ofereceria o benefício de obtenção de superfícies dentinárias com maior permeabilidade e energia de superfície, conferindo adesão direta à porção mineral (SABOIA *et al.*, 2002). Além disso, a influência do operador no desenvolvimento do protocolo de adesão seria menor, pois elimina o passo de remoção do excesso de umidade e manutenção do colágeno expandido.

## **2.2 Desproteção com hipoclorito de sódio**

O mecanismo de adesão dentinária para a maioria dos sistemas adesivos é baseado na desmineralização da dentina e infiltração do agente adesivo no interior da rede de colágeno exposta, com formação da camada híbrida. Os procedimentos de adesão dentinária apresentam limitações, especialmente em relação à formação da camada híbrida. Procedimentos alternativos, como a desproteção (DES) vêm sendo

estudados para melhorar a adesão da resina à dentina (BASEGGIO *et al.*, 2008).

A dissolução das fibrilas colágenas expostas utilizando solução de NaOCl foi proposta como um procedimento adjunto à técnica do condicionamento ácido, para melhorar a molhabilidade do substrato e facilitar a infiltração inter e intratubular dos monômeros resinosos (PRATTI *et al.*, 1995; MAIOR *et al.*, 2007). Além disso, com a remoção parcial das fibrilas colágenas a degradação seria reduzida.

Correr *et al.* (2005), relatam que a dissolução das fibrilas colágenas após a aplicação da solução desproteinizante como o NaOCl, pode resultar numa melhor difusão do agente adesivo e aumento da permeabilidade dentinária, diminuindo a presença de fendas marginais nas restaurações.

Segundo Ravishanker e Chaitanya (2012), o NaOCl vem sendo utilizado como um procedimento adjunto da técnica adesiva convencional para promover a remoção parcial da matriz de colágeno exposto após o condicionamento ácido, melhorando a umidade do substrato dentinário e facilitando a penetração intertubular do sistema adesivo para que resulte em restaurações com maior longevidade clínica. Além disso, promove a exposição e ampliação da rede de túbulos dentinários favorecendo a adesão.

### 2.2.1 Tipo de adesivo

Silva *et al.* (2006) compararam a eficiência da técnica de desmineralização com a DES da dentina utilizando NaOCl a 10%,

aplicado por 1min, sobre a resistência de união da dentina à três sistemas adesivos: Scotchbond Multipurpose (SB, 3M/ESPE), Prime-Bond (PB, Dentsply) e Clearfill SE Bond (CF, Kuraray). Nenhuma diferença significativa entre os tratamentos dentinários foi encontrada quando o sistema adesivo utilizado foi o SB. Contudo, houve aumento da resistência de união após DES com NaOCl utilizando o sistema PB e redução dos valores após a DES com o sistema CF. A presença de acetona no sistema adesivo PB poderia contribuir para esse resultado, pois a alta difusão do solvente junto com a alta capacidade de deslocamento da água contribuem para o melhor contato do PB com a dentina desproteïnizada.

Basseggio *et al.*, (2008) e Aguilera *et al.* (2011) avaliaram *in vitro* a influência da DES na resistência de união à restaurações de resina composta. Os autores observaram um efeito negativo na resistência de união quando utilizados sistemas adesivos a base de álcool ou água, enquanto que adesivos a base de acetona apresentam melhor habilidade para deslocar a água e conseqüentemente se difundir no substrato, aumentando o contato do monômero com a estrutura intertubular irregular da dentina submetida à DES pelo NaOCl. Cecchin *et al.* (2010) avaliaram a influência da aplicação do hipoclorito de sódio e EDTA na resistência de união de sistemas adesivos autocondicionantes à dentina. Os autores concluíram que o NaOCl aumenta a resistência de união, portanto, pode ser utilizado como solução irrigadora em endodontia sem prejuízo à adesão da dentina à restauração subsequente.

### 2.2.2 Tempo de aplicação

Sauro *et al.* (2009) estudaram a eficácia da solução de NaOCl a 12% sobre a DES da superfície da dentina após o condicionamento ácido para remoção das fibrilas colágenas, num tempo clínico de 120 segundos e 10 minutos de aplicação. Através da microscopia eletrônica, foi observado que no período de 2 minutos a remoção da matriz de colágeno foi parcial. Após o período de 10 minutos foi detectado restos da matriz de colágeno na superfície, sendo que a completa DES foi verificada após um tempo de 45 min de aplicação do NaOCl. Portanto a completa DES da dentina condicionada é inatingível num período clínico de 2 min.

Embora a obtenção de uma superfície de dentina completamente desproteïnizada seja inviável clinicamente (45 min), vários autores têm relatado o benefício de aumento da resistência de união imediata e de manutenção da integridade da interface adesiva ao longo do tempo com remoção parcial do colágeno, obtida em um tempo reduzido de aplicação (ARIAS *et al.*, 2004; GANESH *et al.*, 2005; SAURO *et al.*, 2009).

### 2.2.3 Veículo: gel vs líquido

Existe uma semelhança na resistência de união entre resina e a dentina tratada pela técnica de desmineralização e pela desproteïnização, utilizando gel de NaOCl a 10% ou solução líquida de NaOCl a 10% (ARIAS *et al.*, 2004; GANESH *et al.*, 2005). Porém, Arias *et al.*, 2004 mostraram que o sistema adesivo Gluma One Bond apresentou melhores

valores de resistência adesiva quando utilizada a solução de NaOCl em comparação com o gel.

#### 2.2.4 Condição de umidade da dentina

Spazzin *et al.* (2009) avaliaram a influência da DES e condição de umidade da dentina na resistência de união à resina. Quatro diferentes condições foram testadas: sistema adesivo aplicado a dentina seca, dentina desproteínizada com NaOCl 10% por 60 s sendo o sistema adesivo aplicado a dentina úmida, e desproteínização sendo o sistema adesivo aplicado a dentina seca. Foi utilizado o adesivo PB e os dentes foram restaurados com resina composta. Os autores relataram que um dos fatores potencialmente associados com a perda de qualidade e diminuição da espessura da camada híbrida é a secagem excessiva da dentina que resulta no colapso das fibras colágenas. Outro fator importante é o tipo de adesivo, pois adesivos a base de acetona apresentaram um melhor desempenho quando o colágeno foi removido e o substrato dentinário seco.

#### 2.2.5 Limitações da técnica DES com NaOCl

Apesar dos potenciais vantagens da DES em relação à desmineralização convencional, alguns resultados ainda são controversos sobre o real benefício da técnica em relação ao aumento da resistência adesiva e longevidade da interface.

Yui *et al.* (2009) avaliaram a resistência de união de restaurações de resina composta mediante a remoção ou não do colágeno dentinário bovino. Os resultados obtidos no estudo mostraram que a

remoção parcial do colágeno com a aplicação de NaOCl a 10% por 1 min diminuiu significativamente a resistência adesiva entre resina e dentina.

Vários autores aperfeiçoaram a técnica de desproteíntização com NaOCl e observaram que é uma técnica de fácil execução, apresenta boa penetração dos monômeros resinosos e bom selamento marginal. Apesar dos benefícios, a técnica apresenta algumas limitações como: formação de ácidos graxos, subprodutos que formam uma película que interferem na polimerização dos sistemas adesivos, tempo de aplicação longo para efetividade (45 min) e limite de concentração entre 10 e 12% (BONDAN et al., 2009; DUARTE e SILVA, 2007; SPAZZIN et al., 2008; SAURO et al., 2009).

Devido às limitações da utilização do NaOCl, outras substâncias oxidantes vêm sendo estudadas para a técnica de desproteíntização, com especial destaque no presente estudo: o  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ . A DES com  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  mostrou resultados semelhantes aos obtidos com a desproteíntização com o NaOCl e desmineralização (técnica convencional), sendo uma técnica promissora para o protocolo de união resina e dentina. O  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  apresentou valores de resistência de união semelhantes a técnica convencional e da desproteíntização, tempo e concentração utilizados tornam a técnica viável, não apresenta toxicidade e possui íons cálcio na composição (BALBINOTT *et al*, 2009; BONDAN *et al*, 2009; COSTA 2012; FERREIRA, 2012).

### 2.3 Desproteínização com hipoclorito de cálcio

Dutta *et al.* (2012) compararam os efeitos do NaOCl e  $\text{Ca(OCl)}_2$  nas concentrações de 5% e 10% para ambos, na capacidade de dissolução de fibras colágenas, utilizando tecido muscular bovino. Pode-se observar que após o tempo de 60 min de imersão nenhuma diferença estatística foi encontrada na dissolução tecidual. Contudo, nos primeiros 35 minutos, a solução de NaOCl dissolveu o tecido mais rapidamente que a solução de  $\text{Ca(OCl)}_2$ .

Balbinott (2009) avaliou a eficiência da aplicação de NaOCl a 5% e  $\text{Ca(OCl)}_2$  a 10% como substâncias desproteínizantes da dentina, com aplicação em tempo reduzido e clinicamente viável (15 s). O autor comparou a resistência de união da resina à dentina após DES com NaOCl, DES com  $\text{Ca(OCl)}_2$  e desmineralização convencional (ácido fosfórico 37). Os resultados revelaram que a dentina submetida à DES com  $\text{Ca(OCl)}_2$  apresentou valores de resistência de união semelhantes ao condicionamento ácido e que a DES com NaOCl apresentou menores valores que os demais grupos testados. Portanto, há um potencial melhoramento da técnica DES com a utilização do  $\text{Ca(OCl)}_2$  em relação à resistência de união.

Costa (2012) avaliou *in vitro* a eficácia de tratamentos de superfície de dentina desproteínizada na união com o sistema adesivo Prime & Bond 2.1 (PB, Dentsply). Foi possível observar que as técnicas de desmineralização e de desproteínização, tanto com NaOCl quanto com  $\text{Ca(OCl)}_2$  ambos a 10% durante 15s, ofereceram valores de resistência de união semelhantes. Em microscopia eletrônica de

varredura (MEV), foi possível verificar remanescentes esparsos de fibrilas colágenas na superfície da dentina, indicando que ocorreu remoção parcial da malha de colágeno. Portanto, mesmo a remoção do colágeno sendo parcial, não há efeito deletério da DES na resistência de união imediata em relação ao condicionamento ácido.

Procurando o aprimoramento da técnica, Bondan (2009) verificou a influência do EDTA sobre a resistência de união da interface resina e dentina após tratamento com  $\text{Ca(OCl)}_2$ . Os resultados demonstraram não haver aumento da resistência de união entre dentina e resina com a utilização do EDTA após a aplicação do  $\text{Ca(OCl)}_2$ , descartando a necessidade do uso da substância no protocolo adesivo.

#### **2.4 Teste de estratégia para redução de etapas clínicas**

O método da DES da dentina interpõe um passo adicional no protocolo de união da resina à dentina condicionada. O presente estudo visou buscar um protocolo para condicionamento da dentina que buscou viabilizar a técnica de desproteinização da dentina por meio da otimização do tempo de trabalho do cirurgião dentista. Portanto, o presente estudo propôs a associação do ácido fosfórico ao  $\text{Ca(OCl)}_2$  em aplicação sobre a dentina para união com resina composta.

### 3. PROPOSIÇÃO

Este estudo teve o objetivo de avaliar o efeito do tratamento da dentina com aplicação única de  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  associado ao ácido fosfórico na resistência de união à resina composta.

Os objetivos específicos do estudo foram:

1. Comparar os resultados de resistência adesiva da técnica de aplicação de ácido fosfórico e  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  em etapa única com técnica convencional de desmineralização com ácido fosfórico e com a desproteinização realizada em duas fases (ácido fosfórico, seguido de  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ ). A hipótese testada (H1) é de que todos os protocolos testados proporcionam valores de resistência adesiva semelhantes.

2. Avaliar a influência da associação para aplicação em etapa única do ácido fosfórico e  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ , em diferentes concentrações, testando a hipótese (H2) de que quando uma das substâncias associadas está em maior concentração do que a outra há maior a resistência adesiva entre dentina e resina.

## **4. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 Seleção e preparo dos dentes**

Por utilizar dentes humanos, o projeto foi encaminhado ao comitê de ética da Universidade de Passo Fundo (UPF) sob parecer de número 631.046, aprovado em 30/04/2014. O banco de dentes da Faculdade de Odontologia da UPF forneceu 56 terceiros molares humanos íntegros. Os dentes foram limpos por meio de curetas periodontais (Mcall, Golgran, São Paulo, SP, Brasil) e jateamento com bicarbonato (Jet Sonic Plus, Gnatus, Ribeirão Preto, SP, Brasil). Os dentes foram armazenados em água destilada à temperatura ambiente por 24 hs.

### **4.2 Inclusão dos dentes**

Para este estudo, a porção radicular dos dentes foi incluída em resina acrílica autopolimerizável incolor (JET, Clássico, São Paulo, SP, Brasil). Os dentes foram medidos por meio de paquímetro digital e marcados na superfície radicular em 1,0 mm abaixo do limite amelocementário com caneta para retroprojeter. Em seguida, a porção coronária dos dentes foi incluída em placas de cera utilidade até a marcação feita. O longo eixo dos dentes foi posicionado perpendicularmente ao plano horizontal com o ápice radicular voltado

para cima. Cilindros de cloreto de polivinil (PVC) de 25 mm de diâmetro e 20 mm de altura foram posicionados ao redor da amostra e fixados nas placas de cera. Resina acrílica autopolimerizável incolor foi manipulada conforme as recomendações do fabricante e vertida no interior do cilindro de PVC na transição da fase arenosa para fibrilar (menos viscosa), até cobrir completamente a raiz do dente. Quando a resina atingiu a fase borrachóide, as amostras foram imersas em água à temperatura ambiente para evitar o aquecimento dos dentes. Após a completa polimerização da resina acrílica, a cera foi removida e os dentes foram limpos com água a 45 °C e gaze. Os cilindros de PVC foram removidos e os dentes foram armazenados imersos em água destilada a temperatura ambiente por 24 horas.

#### **4.3 Secção coronária**

Após a inclusão em resina acrílica, a superfície oclusal dos dentes foi seccionada a 2 mm abaixo da crista marginal com o objetivo de expor superfícies planas de dentina. Como referência, esta distância foi medida com paquímetro digital (Digital Caliper, Cosa, China) e marcada com caneta para retroprojeter. Os dentes foram posicionados em cortadora metalográfica (Struers Minitom, Copenhagen, Dinamarca), com o longo eixo perpendicular ao disco diamantado de dupla face (EXTEC, Extec Corp, Enfield, EUA) para o corte da porção coronária com uma velocidade de 300 rotações por minuto, sob irrigação com água, para remoção da porção de esmalte. Em seguida, os dentes foram abrasionados em discos de lixa de granulação 220 e 400 (Atlas, Esteio, RS, Brasil) em máquina politriz (Abramin-Struers, Copenhagen,

Dinamarca) para padronizar a superfície de dentina. A superfície de corte foi lavada com jatos de água e secada com jatos de ar para ser observada a completa remoção do esmalte oclusal. Caso fossem detectados resíduos de esmalte, os dentes eram submetidos a toda a sequência de lixas e examinado novamente, até que todo o esmalte fosse removido da superfície da dentina antes do tratamento restaurador. Os dentes seccionados foram armazenados em água por 24 horas.

#### 4.4 Preparo da superfície da dentina

Após o seccionamento das coroas, regularização com lixas e limpeza dos dentes com água destilada, foram realizados os procedimentos de tratamento de superfície. Os 56 dentes foram divididos aleatoriamente em 8 grupos para tratamento da superfície utilizando diferentes protocolos (Tabela 1).

*Tabela 1 – Descrição dos grupos, concentração e técnica utilizada.*

Grupo	Concentração (%)		Técnica
	Ácido fosfórico	Hipoclorito de cálcio	
A <sub>35</sub>	35	Não	<i>Etch and prime</i>
A <sub>35</sub> Ca <sub>10</sub>	35	10	DES 2 etapas
A <sub>35</sub> +Ca <sub>10</sub>	35	10	DES 1 etapa
A <sub>35</sub> +Ca <sub>20</sub>	35	20	DES 1 etapa
A <sub>35</sub> +Ca <sub>30</sub>	35	30	DES 1 etapa
A <sub>10</sub> +Ca <sub>10</sub>	10	10	DES 1 etapa
A <sub>10</sub> +Ca <sub>20</sub>	10	20	DES 1 etapa
A <sub>10</sub> +Ca <sub>30</sub>	10	30	DES 1 etapa

No grupo A<sub>35</sub>, a superfície dentinária foi tratada com protocolo de desmineralização convencional, utilizando solução de ácido fosfórico 35% por 15 s, lavagem com água por 30 s e remoção do excesso de água com gaze em contato por aproximadamente 5 s.

No grupo A<sub>35</sub>Ca<sub>10</sub>, a superfície dentinária foi inicialmente submetida à desmineralização com solução de ácido fosfórico a 35%, conforme descrito anteriormente. Após secagem da superfície da dentina com jatos de ar por 5 segundos, foi realizada a aplicação de Ca(OCl)<sub>2</sub> a 10% por 30s, lavagem com água por 30s, seguida de secagem vigorosa com jatos de ar por 5 segundos.

Nos demais grupos, uma associação das duas substâncias condicionadoras (ácido fosfórico e Ca(OCl)<sub>2</sub>) foi utilizada, aplicada em passo único, modificando-se somente sua concentração, conforme descrito na Tabela 1. Nesses grupos, a associação foi realizada dispensando uma gota da solução do ácido fosfórico e uma gota de solução de Ca(OCl)<sub>2</sub> em um recipiente (casulo). As substâncias foram misturadas com pincel Cavibrush (FGM, Joinville, Brasil) por 5 s, e aplicadas imediatamente na superfície dentinária, sob fricção, por 30 s. A superfície tratada foi lavada por 30 s e o excesso de água foi removido com jatos de ar por 5 s.

#### **4.5 Procedimento restaurador**

Após os diferentes condicionamentos da superfície dentinária, foram realizadas duas aplicações do sistema adesivo hidrófilo, a base de álcool e MDP (Ambar, FGM, Joinville, Brasil) com pincel (Cavibrush, FGM, Joinville, Brasil) sob fricção por 20 s, seguido de jatos de ar por

10s e polimerização por 20 s utilizando fotopolimerizador Radi-i (SDI, Austrália). Em seguida, foi realizada a restauração com resina composta microhíbrida fotopolimerizável (Opallis, FGM, Joinville, Brasil), de cor A3, em três camadas com 2 mm de espessura cada camada, utilizando espátula #1/2 (SSWhite, Duflex, São Paulo, SP), até formar uma restauração em forma de cilindro com 6 mm de altura. Cada camada foi foto ativada por 40 segundos e, ao final da restauração, cada face foi submetida a 40 de aplicação de luz.

Ao final das restaurações, os dentes foram imersos em água destilada à temperatura ambiente para armazenamento por 24 hs para a confecção das barras para teste de microtração.

#### **4.6. Obtenção dos corpos de prova**

Após o procedimento restaurador, os dentes foram seccionados na forma de barras de  $1\text{mm}^2$  de área na secção transversal e aproximadamente 6 mm de extensão (3 mm de dentina e 3 mm de resina) utilizando um disco diamantado dupla face (EXTEC, Extec Corp, Enfield, EUA) em cortadora metalográfica (Strues Minitton, Copenhagen, Dinamarca), a uma velocidade de 300 rpm e constante irrigação com água destilada. A face mesial dos dentes foi utilizada como referência para o primeiro corte, que gerou placas de aproximadamente 1 mm de espessura no sentido mésio-distal de cada dente. Em seguida, foram realizados cortes no sentido vestibulo-lingual obtendo-se os espécimes com as dimensões requisitadas para o estudo. Os espécimes fora do padrão estabelecido (sem a dimensão requisitada,

apresentando defeitos de corte ou com inclinação da interface adesiva) foram descartados.

#### **4.7. Teste de resistência adesiva por microtração**

Para o ensaio de microtração, a interface adesiva de cada espécime foi medida com um paquímetro digital, nos sentidos mesiodistal e vestibulolingual para cálculo e anotação da área, em mm<sup>2</sup>. As amostras foram fixadas em um dispositivo metálico desenvolvido para ensaios de microtração (ODEME Dental Research). Este dispositivo foi fixado a uma máquina universal de ensaios (EMIC DL 2000 – São José dos Pinhais, Brasil) dotada de célula de carga de 100 N. Os espécimes foram aderidos individualmente pelas suas extremidades, utilizando um adesivo a base de cianocrilato (Superbond – 3M, Sumaré-SP, Brasil) no longo eixo do dispositivo metálico para ensaio de microtração. O dispositivo possui uma abertura (fenda) para evitar o contato do cianocrilato com a interface adesiva, mantendo essa região livre. O ensaio de resistência adesiva foi realizado por meio da aplicação de carga de tração a uma velocidade de 0,5 mm/min, até ocorrer fratura. No momento da fratura, os valores de força (em N) foram registrados. A resistência adesiva ( $\sigma_t$ , em MPa) foi calculada dividindo a força de fratura pela área da secção transversal ( $\sigma_t=F/A$ ).

#### **4.8 Análise estatística**

Os dados de resistência de união foram analisados por Kruskal-Wallis e Dunn ( $\alpha=0,05$ ).

#### **4.9 Análise do padrão de fratura em estereomicroscópio**

As superfícies de fratura dos espécimes foram avaliadas com aumento de 40X, utilizando um estereomicroscópio (Série ZTX ZOM, Instrumento ótico Co. de Ningbo Wason Ltda, Zhejiang, China) O modo de fratura dos espécimes foi classificado em: falha coesiva em dentina (CD), coesiva em resina (CR) e adesiva (A), quando a falha inicia e propaga-se a partir da interface adesiva.

#### **4.10. Análise da superfície de dentina em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

Para a análise morfológica em MEV foi utilizada 1 amostra de cada grupo, as quais receberam o tratamento de superfície descrito anteriormente para cada grupo e foram identificadas.

Após este procedimento, as amostras foram desidratadas em graus ascendentes de etanol: 25% (30 min), 50% (30 min), 75% (30 min), 95% (30 min) e 100% (60 min). Posteriormente, foram fixadas em *stubs* e metalizadas por meio de pulverização com ouro.

As amostras foram examinadas em uma aumento de 5.000x para visualização da superfície de dentina.

### **5. RESULTADOS**

Os resultados de resistência adesiva estão apresentados na Figura 1 e descritos na Tabela 2.

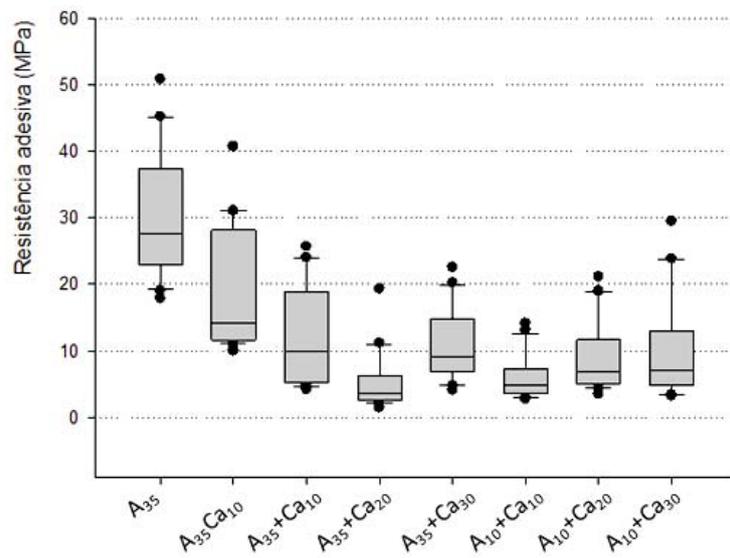


Figura 1 – Análise descritiva dos resultados de resistência adesiva.

Tabela 2 - Dados de resistência adesiva à microtração (MPa), análise estatística e modo de falha.

Grupo	Média	DP	Mediana	25%	75%	Análise Estatística *	Modo de Falha (%) <sup>+</sup>	
							CD	CR
A <sub>35</sub>	30,2	9,2	27,7	23,0	36,7	A	40	60
A <sub>35</sub> Ca <sub>10</sub>	19,3	9,2	14,2	11,6	27,5	AB	0	100
A <sub>35</sub> +Ca <sub>10</sub>	12,3	7,3	10,0	5,4	18,5	B	10	90
A <sub>35</sub> +Ca <sub>20</sub>	5,4	4,2	3,7	2,6	6,3	D	5	95
A <sub>35</sub> +Ca <sub>30</sub>	10,8	5,1	9,1	7,0	14,8	B	10	90
A <sub>10</sub> +Ca <sub>10</sub>	5,8	3,1	4,9	3,8	7,3	CD	0	100
A <sub>10</sub> +Ca <sub>20</sub>	8,9	5,1	6,9	5,1	11,4	CD	0	100
A <sub>10</sub> +Ca <sub>30</sub>	10,2	7,9	7,0	4,8	12,1	CD	5	95

\* Letras diferentes correspondem a diferenças estatisticamente significantes ( $p \leq 0,05$ ).

+ Modos de falha classificados em coesiva em dentina (CD), coesiva em resina (CR) e adesiva (A).

Os grupos que tiveram a dentina tratada com protocolo de desmineralização (A<sub>35</sub>- 30,2 MPa) e desproteinização em duas etapas (A<sub>35</sub>Ca<sub>10</sub>- 19,3MPa ) apresentaram maior resistência de união. Contudo, foi possível observar que não houve diferenças significativas entre o grupo com protocolo de desproteinização em duas etapas e os grupos que associaram o ácido fosfórico a 35% e o Ca(OCl)<sub>2</sub> a 10% (A<sub>35</sub>+Ca<sub>10</sub>- 12,3 MPa) e 30% (A<sub>35</sub>+Ca<sub>30</sub>- 10,8 MPa) em aplicação concomitante. Não houve diferenças estatisticamente significativas entre os demais grupos, que demonstraram os menores valores de resistência de união (entre 5,4 e 10,2 MPa).

A análise do modo de falha dos espécimes do grupo A<sub>35</sub> mostrou a fratura adesiva (60%) ligeiramente mais frequente que os demais modos de falha. Por outro lado, houve predomínio de fraturas adesivas nos grupos submetidos aos protocolos desproteinizantes.

## 6. DISCUSSÃO

Nesse estudo, foi possível observar que os grupos que tiveram a dentina tratada com protocolo de desmineralização convencional ( $A_{35}$ ) e desproteíntização em duas etapas ( $A_{35}Ca_{10}$ ) apresentaram maior resistência de união (30,2 e 19,3 MPa, respectivamente), rejeitando a primeira hipótese (H1) do estudo.

Contudo, foi observado que os grupos que associaram em etapa única a aplicação das duas substâncias,  $A_{35}+Ca_{10}$  e  $A_{35}+Ca_{30}$ , apresentaram valores de resistência de união (12,3 e 10,8 MPa, respectivamente) estatisticamente semelhantes ao grupo submetido à desproteíntização em duas etapas e maiores do que os demais grupos, rejeitando a segunda hipótese do estudo (H2). Uma possível explicação para esse resultados é que no grupo em que foi utilizada a concentração de 35% de ácido fosfórico associado a 10% e de  $Ca(OCl)_2$  houve o predomínio do ácido, sendo que pouco colágeno pode ter sido removido do substrato, que foi penetrado pelo adesivo (TOLEDANO *et al.*, 1999). Por outro lado, no outro grupo em que o ácido fosfórico a 10% e o  $Ca(OCl)_2$  30% foram associados houve o predomínio do  $Ca(OCl)_2$ , potencializando a remoção do colágeno na maior parte do substrato, expondo a porção mineral da superfície dentinária para adesão (SAURO *et al.*, 2009). O uso da solução desproteíntizante pode causar a dissolução das fibrilas colágenas expostas, melhorando o molhamento sobre o substrato e facilitando a infiltração dos monômeros resinosos (MAIOR *et al.*, 2007).

Não houve diferenças estatisticamente significativas entre os demais grupos, que demonstraram os menores valores de resistência de união (entre 5,4 e 10,2 MPa).

Os procedimentos de adesão dentinária que utilizam etapa de desproteinização apresentam limitações, especialmente em relação à formação da camada híbrida. Os adesivos a base de acetona apresentam melhor habilidade para deslocar a água e conseqüentemente se difundir no substrato dentinário, aumentando o contato do monômero com a estrutura intertubular irregular da dentina desproteinizada (BASSEGIO *et al.*, 2008). Por outro lado, o uso de um sistema adesivo a base de álcool e MDP, como utilizado nesse estudo, corroboram com a pesquisa desenvolvida por SILVA *et al.*, (2006). Este sistema adesivo promoveu uma união forte e estável, pois possui alta afinidade química à estrutura dentária devido à presença de MDP. Além da adesão micromecânica, é possível que ocorra união química, pois o MDP apresenta uma extremidade hidrofílica com alta afinidade pela estrutura dental, unindo-se quimicamente à hidroxiapatita. Na outra extremidade apresenta grupamentos com afinidade pelos monômeros resinosos funcionando como uma ponte que quimicamente incrementa o poder adesivo (HASS *et al.*, 2013).

É possível observar também que esta técnica oferece o benefício de superfícies dentinárias com maior permeabilidade e energia de superfície aumentada, o que confere maior adesão à porção mineral. Além disso, a influência do operador no desenvolvimento do protocolo de adesão é menor, pois elimina o passo de remoção do excesso de umidade e manutenção do colágeno expandido (SABOIA *et al.*, 2002). O cálcio liberado pode se unir aos grupos fosfatos do dente e dos

sistemas adesivos, formando cristais compatíveis com a estrutura dental, sem interferir na qualidade da interface (COSTA, 2012).

De acordo com Sauro *et al.* (2009), o colágeno exposto sofre influência da presença de água ao redor das fibrilas colágenas e na base da camada dentinária desmineralizada, fato que pode impedir a completa infiltração dos monômeros resinosos (ARIAS *et al.*, 2005); (BASEGGIO *et al.*, 2008). Toledano *et al.* (2009) afirmam que o colágeno não tem papel importante na qualidade do selamento marginal, bem como na adesão entre resina e dentina. Outro fator relevante diz respeito à degradação do colágeno encapsulado pelos adesivos, que está sujeito à ação das metaloproteinases endógenas (MONTAGNER *et al.* 2014). Embora Tjaderhane *et al.* (2013) recomende o uso de clorexidina para bloquear o efeito das MMPs, a remoção do colágeno pode ser uma adequada alternativa para evitar esta degradação. A eliminação do colágeno exposto pelo ácido fosfórico da área de dentina intertubular proporciona contato direto entre adesivo e cristais de hidroxiapatita parcialmente dissolvidos, fator que pode contribuir para a durabilidade da união à dentina, uma vez que elimina o risco da inadequada impregnação do colágeno pelo adesivo (BALBINOTT *et al.*, 2009); (COSTA, 2012); (RAVISHANKER & CHAITHANYA, 2012).

A análise do modo de falha dos espécimes do grupo A<sub>35</sub> mostrou semelhança de frequência de falhas nas categorias de classificação fratura adesiva (60%) e fratura coesiva de dentina (40%). Houve o predomínio de fraturas adesivas nos grupos submetidos à protocolos desproteinizantes, que obtiveram menores resultados de resistência de união em relação ao grupo de tratamento com ácido (desmineralização, *etch and prime*).

Sugere-se, por fim, a realização de pesquisas utilizando o hipoclorito de cálcio, especialmente avaliações ao longo do tempo (longevidade), uma vez que a técnica apresentou-se promissora em resultado imediato.

## 7. CONCLUSÕES

Os grupos que tiveram a dentina tratada com protocolo de desmineralização (A<sub>35</sub>- 30,2 MPa) e desproteinização em duas etapas (A<sub>35</sub>Ca<sub>10</sub>- 19,3MPa ) apresentaram maior resistência de união. Porém foi possível concluir que o melhor valor de resistência de união obtido foi no grupo que utilizou a associação de ácido fosfórico a 35% e o Ca(OCl)<sub>2</sub> a 10% (A<sub>35</sub>+Ca<sub>10</sub>- 12,3 MPa) mostrando-se efetivo na remoção do colágeno e exposição dos túbulos dentinários,

Apesar das limitações desse estudo, foi possível perceber que esta técnica pode ser viável clinicamente. Assim, buscando novos métodos de aplicação e forma de apresentação do produto será possível tornar o uso do hipoclorito de cálcio uma realidade.

## 8. REFERÊNCIAS

AGUILERA, F.S.; OSORIO, R.; OSORIO, E.; MOURA, P.; TOLEDANO, M. Bonding efficacy of na acetone based etch and rinse adhesive after dentin deproteinization. *Med oral patol oral cir bucal*, 2011.

ARIAS, V. G., BREDAN DE CASTRO, A. K. B., PIMENTA, L. A. Effects of sodium hypochlorite gel and sodium hypochlorite solution on dentin bond strength. *J Biomed Mater Res*, v. 7, n. 2, p. 339-344, 2004.

BALBINOTT, M. M. Resistência à união entre resina e dentina desproteinizada com substâncias oxidantes – Resultados Parciais. 2009. 30 f. Monografia (Especialização em Dentística) – Faculdade de Odontologia, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2009.

BASEGGIO, N.; CONSOLMAGNO, E. C.; CARVALHO, F. L. N.; UEDA, J. K.; SCHIMITT, V. L.; FORMIGHIERI, L. A.; NAUFEK, F. S. Effect of desproteinization and tubular occlusion on microtensile Bond strength and marginal microleakage of resin composite restorations. *J Appl Oral Sci*, v. 17, n. 5, p. 462-466, 2008.

BONDAN, C. F. Influência do EDTA sobre a resistência à união entre resina e dentina após a remoção do colágeno com hipoclorito de cálcio. 2009. Monografia (Especialização em Dentística) – Faculdade de Odontologia, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2009.

BORBA, M. Comportamento mecânico de cerâmicas utilizadas na confecção de próteses parciais fixas. 2010, 170p. Dissertação (Doutorado em Materiais Dentários) - Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/23/23140>> Acesso em: 20 nov. 2014.

CARVALHO, R.M.; CIUCCHI, B.; SANO, H.; YOSHIYAMA, M.; PASHLEY, D.H. Resin diffusion demineralized dentin matrix. *Rev Odont USP*, v. 13, n. 4, p. 417-424, 1999.

CECCHIN, D.; FARINA, A. P.; GALAFASSI, D.; BARBIZAM, J.V.; CORONA, S. A.; CARLINI-JÚNIOR, B. Influence of sodium hypochlorite and edta on the microtensile bond strength of a self-etching adhesive system. *J Appl Oral Sci*, v. 18, n. 4, p. 385-389, 2010.

CECCHIN, D.; ALMEIDA, J. F. A.; GOMES, B. P.F.A.; ZAIA, A.A.; FERRAZ, C. C. R. Deproteinization technique stabilizes the adhesion of the fiberglasspost relined with resin composite to root canal. *J Bio Mat Res*, v. 100, n. 2, p. 577-583, 2012.

CORRER, G. M., ALONSO, R. C. B., PUPPIN RONTANI, R. M., CORRER SOBRINHO, L., SINHORETI, M. A. Marginal and internal adaptation of composite restorations using a resin liner on deproteinized substrate. *Acta Odontol Scandinavica*, v. 63, p. 227-232, 2005.

COSTA, Marielle Azevedo Sehn da. Influência do hipoclorito de cálcio sobre a resistência de união entre resina composta e dentina. 2012. 125 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2012.

DEDAVID, B. A., GOMES, C. I., MACHADO, G. Microscopia eletrônica de Varredura - Aplicações e preparações das amostras: materiais poliméricos, metálicos e semicondutores. *EDIPUCRS*, Porto Alegre, 60 p, 2007.

DELLABONA, A. Adesão as cerâmicas: evidências científicas para o uso clínico. Artes médicas, São Paulo, cap. 4, p. 92-132, 2009.

DUARTE, P. B. P. G.; SILVA, E. M. Nanoleakage phenomenon on desproteinized human dentin. *J Appl Oral Sci*, v. 15, n. 4, p. 285-291, 2007.

DUTTA, A.; SAUNDERS, W.P. Comparative evaluation of calcium hypochlorite and sodium hypochlorite on soft-tissue dissolution. *JOE*, v. 3, n. 8, p.1-4, 2012.

GANESH, C.; GOPIKRISHNA, V. Evaluation of nanoleakage following deproteinization of dentin using varying concentrations and application times of sodium hypochlorite solution and gel-an in vitro confocal laser scanning microscope study. *J Conserv Dent.*, v. 8, n. 1, p. 27-36, 2005.

GONÇALVES, L. S.; CONSANI, S.; SINHORETI, M. A. C.; SCHNEIDER, L. F. J.; SABOIA, V. P. A. Effect of storage and compressive cycles on the bond strength after collagen removal. *Oper Dent*, v. 34, n.6, p.681-687, 2009.

MAIOR, J. R. S.; FIGUEIRA, M. A. S.; NETTO, A. B. A. B.; SOUZA, F. B.; SILVA, C. H. V.; TREDWIN, C. J. The importance of dentin collagen fibrils on the marginal sealing of adhesive restorations. *Oper Dent*, v. 32, n.3, p.261-265, 2007.

MONTAGNER, A. F.; SARKIS-ONOFRE, R.; PEREIRA CENCI, T.; CENCI, M. S. MMP inhibitors on dentin stability: a systematic review and meta-analysis. *J Dent Res*, v. 93, n. 3, p. 733-743, 2014.

PRATTI C.; CHERSONI S & PASHLEY DH. Effect of removal of surface collagen fibrils on resin-dentin bonding. *Dental Materials* v.15, n. 5, p. 323-331, 1999.

RAVISHANKER, P.; CHAITANYA, K. In vitro evaluation of the effect of deproteinization on the marginal leakage of resin restorations using three bonding agents. *Dent Res J.*, v. 9, n.4, p. 452-459, 2012.

SABOIA, V. P.; PIMENTA, L. A.; AMBROSANO, G. M. Effect of collagen removal on microleakage of resin composite restorations. *Oper Dent*, v. 27, n. 1, p. 38-43, 2002.

SAURO, S.; MANNOCCI, F.; TAY, F. R.; PASHLEY, D. H.; COOK, R.; CARPENTER, G. H.; WATSON, T. F. Deproteinization effects of NaOCl on acid-etched dentin in clinically-relevant vs prolonged periods of application. A confocal and environmental scanning electron microscopy study. *Oper Dent*, v. 34, n. 2, p. 166-173, 2009.

SILVA, E. M.; DUARTE, P. B. P. G.; POSKUS, L. T.; BARCELLOS, A. A. L.; GUIMARÃES, J. G. A. Nanoleakage and microshear bond

strength in deproteinized human dentin. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, v. 81, n. 2, p. 336-342, 2006.

SPAZZIN, A.O.; GALAFASSI, D.; GONÇALVES, L.S.; MORAES, R.R.; JUNIOR, B.C. Bonding to wet or dry deproteinized dentin: microtensile bond strength and confocal laser micromorphology analysis. *Braz J. Oral Sci.*, v. 8, n.4, p.181-84, 2009.

TJADERHANE, L.; NASCIMENTO, F.D.; BRESCHI, L.; MAZZONI, A.; TERSARIOL, I.L.S.; GERALDELI, S.; MUTLUAY, A.T.; CARRILHO, M.R.; CARVALHO, R.M.; TAY, F.R.; PASHLEY, D.H. Optimizing dentin bond durability: control of collagen degradation by matrix metalloproteinases and cysteine cathepsins. *Dent Mat*, v. 29, p. 116-135, 2013.

TOLEDANO, M. Effect of acid etching and collagen removal on dentin wettability and roughness. *J Biomed Mater Res*, n. 47, p.198-203, 1999.

TORRES, C.R.G., ARAÚJO, M.A.M., TORRES, A.C.M. Effects of dentin collagen removal on microleakage of bonded restorations. *J Adhes Dent.*, v.6, n.1, p.33-42, 2004.

TORRES, C.R.G.; SILVA, A.P. Influência do uso de um primer na microinfiltração em dentina desproteinizada. *Rev Odont UNESP.*, v.35, n.1, p.7-13, 2006.

YUI, K. C. K.; CARA ARAÚJO, F. B.; RIBEIRO, C. F.; GONÇALVES, S. E. P.; TORRES, C. R. G. Efeito do tratamento dentinário com hipoclorito de sódio pós condicionamento ácido na resistência de adesiva de restaurações em resina composta. *Rev Odont*, v. 17, n. 34, p. 13-17, 2009.

## APÊNDICE – Parecer CEP

UNIVERSIDADE DE PASSO  
FUNDO/ PRÓ-REITORIA DE  
PESQUISA E PÓS-



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Avaliação de resistência de união, microinfiltração, MEV e EDS da interface resina e dentina tratada com CaOCl associado ao ácido fosfórico

**Pesquisador:** Bruno Carlini Júnior

**Área Temática:**

**Versão:**

**CAAE:** 30202614.8.0000.5342

**Instituição Proponente:** Universidade de Passo Fundo/Vice-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 631.046

**Data da Relatoria:** 30/04/2014

#### Apresentação do Projeto:

O projeto foi anexado na íntegra e sob forma reduzida para apreciação pelo CEP. O pesquisador apresentou o termo de doação de órgãos assinado pelo responsável pelo banco de dentes.

#### Objetivo da Pesquisa:

Avaliar o efeito da desproteção (DES) da superfície de substrato dentinário, utilizando solução de ácido fosfórico e ao hipoclorito de cálcio em diferentes concentrações, na resistência de união e infiltração marginal com resina. Será realizada caracterização da interface com análise topográfica por MEV e composição elementar (EDS).

#### Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Conforme relatado pelo pesquisador, não haverá riscos há nenhum indivíduo, uma vez que os dentes serão obtidos do Banco de Dentes da FOUPF. Os resultados obtidos após a execução do estudo poderão esclarecer sobre o melhor método de união entre dentina e resina composta.

#### Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O estudo está bem delineado. Apresenta uma metodologia concisa e adequada para alcançar os objetivos do estudo. O tamanho da amostra (número de dentes extraídos = 115) é estatisticamente adequado. O orçamento foi apresentado em detalhes e os pesquisadores declaram arcar com os custos do projeto. O cronograma prevê início da execução do projeto para

**ARTIGO A SER SUBMETIDO\***

---

Effect of calcium hypochlorite associated to phosphoric acid for  
dentin pre-bonding treatment

Giusti, F M<sup>1</sup>; Carlini Jr, B<sup>1</sup>; Benetti, P<sup>1</sup>

<sup>1</sup> University of Passo Fundo, Post-graduate Program in Dentistry,  
Passo Fundo, RS, Brazil

Corresponding author:

Benetti, Paula. Campus I, BR 285, 99001-970, Tel.: +55 54  
81141400; email: [paulabenetti@upf.br](mailto:paulabenetti@upf.br)

---

## ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of pre-treatment of dentine with  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  associated to the phosphoric acid (A) on its bond strength to composite resin. 56 caries-free human molars were selected. The coronal part of the tooth was sectioned at 2 mm below the marginal ridge to remove the enamel and expose a flat dentin surface. The teeth were divided into 8 groups for dentin pre-treatment with different concentration of the substances (A= 35% or 10%;  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  = 10%, 20% or 30%). The substances were applied in one step (+) or in two distinct steps, as follows:  $A_{35}$ ;  $A_{35}\text{Ca}_{10}$ ;  $A_{35}+\text{Ca}_{10}$ ;  $A_{35}+\text{Ca}_{20}$ ;  $A_{35}+\text{Ca}_{30}$ ;  $A_{10}+\text{Ca}_{10}$ ;  $A_{10}+\text{Ca}_{20}$  e  $A_{10}+\text{Ca}_{30}$ . After dentin treatment, teeth were restored using an adhesive system and 3mm-thick layer of composite resin. Samples were sectioned into bars with 1 mm<sup>2</sup> of cross sectional area. Specimens were submitted to microtensile bond strength test in a universal testing machine at 0.5 mm/min until fracture. Data (in MPa) were analyzed by Kruskal-Wallis and Dunn ( $\alpha = 0.05$ ). The fracture surfaces were observed and mode of failure was classified. The groups treated with conventional demineralization protocol ( $A_{35}$ - 30.2 MPa) and with the deproteinization in two steps ( $A_{35}\text{Ca}_{10}$  - 19.3 MPa) showed higher bond strength than the other groups. There was no statistically significant difference between the other groups. Most part of fractures occurred at dentin-adhesive interface. Therefore, dentin pre-treatment with 35% phosphoric acid ( $A_{35}$ ) and 10% calcium hypochlorite ( $\text{Ca}_{10}$ ) promoted an adequate bond strength and represents a clinically viable alternative to the conventional demineralization treatment.

**Keywords:** calcium hypochlorite; deproteinization;  
demineralization; dentin; bond strength.

## 1. INTRODUCTION

The conventional etching technique aims to remove the smear layer originated from the cavity preparation, partially remove mineral and expose the collagen fibrils of the dentin surface. In this technique, proper adhesion of composite resin to dentin is achieved when the adhesive monomers penetrate and polymerize within the fiber network forming a hybrid layer (Montagner et al., 2014). Adequate involvement of collagen fibrils by the resin monomers is obtained by keeping the dentin humidity to preserve spaces between the fibrils and prevent them to collapse. However, while providing adequate immediate bond strength, the technique is sensitive to the moisture of the substrate, which can vary significantly according to the operator. In addition, collagen exposed by etching can undergo the action of proteolytic enzymes (especially metalloproteinases- MMPs) which degrade collagen over time, decreasing the longevity of the adhesive bond (TOLEDANO et al., 2009; SAURO et al., 2009; MONTAGNER et al., 2014).

To prevent degradation of the bonding interface, a technique has been proposed: deproteinization of the dentin surface (DEP) (Pratti, 1995). The DEP technique consists on the dissolution of the exposed collagen fibrils applying sodium hypochlorite solution after etching the dentin surface with acid.

This treatment could improve the wettability of the substrate (increasing the surface energy), allow better infiltration of the resin monomers into the dentin (compared to etch and rinse protocol- E&R) and reduce degradation of the dentin-resin interface (partially removing

the exposed collagen fibrils) (Pratti et al, 1995; Correr et al. 2005; HIGHER et al., 2007; MAIOR et al., 2007).

Different DEP protocols have been suggested because performing this technique using sodium hypochlorite (NaOCl, as originally proposed), despite the benefits, has some limitations: (1) the formation of fatty acids, which can inhibit or reduce the polymerization of the adhesive resin, (2) requirement of long time of application (1 to 45 minutes) and (3) limitation in the concentration of NaOCl from 10 to 12% (BONDAN et al., 2009; DUARTE e SILVA., 2007; SPAZZIN et al., 2008; SAURO et al., 2009).

A promising alternative to the NaOCl for deproteinization of the dentin surface is to use calcium hypochlorite - Ca(OCl)<sub>2</sub>. This substance has the benefit of having calcium ions in the composition and do not result in formation of fatty acids, which is mainly related to the presence of sodium (BALBINOTT et al., 2009; BONDAN et al., 2009; COSTA 2012; FERREIRA, 2012). The technique requires a clinically viable application time and concentration to promote an adequate bond strength.

Regarding the adhesion, the dentin surface submitted to DEP using Ca(OCl)<sub>2</sub> or NaOCl has been proved to promote similar bond strength values compared to the surface treated with the conventional demineralization protocol (E&P) (Balbinott, 2009). Therefore, DEP using Ca(OCl)<sub>2</sub> is a promising pre-bond treatment of the dentin.

However, dentin deproteinization adds a step in the dentin-resin bonding protocol: application of phosphoric acid, followed by washing and drying (W&D), surface treatment using hypochlorite, W&D and final application of the adhesive resin. To simplify the technique, the

present study proposes to evaluate the effect of the dentin treatment using a solution containing phosphoric acid associated to  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  on the bond strength to composite resin. The study compares bond strength obtained by conventional demineralizing protocol (E&P), demineralization followed by deproteinization with  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  in two separated steps and demineralization associated to deproteinization in one step protocol. The main hypothesis tested is that all the protocols promote similar bond strength values.

## **2. MATERIALS AND METHODS**

### **2.1 Selection and preparation of the samples**

The Ethics Committee of the University of Passo Fundo - UPF (#631.046, on 04.30.2014) approved this work. Sound third human molars (n=56) were selected and cleaned using periodontal cures (Mcall, Golgran, São Paulo, SP, Brazil) and sodium bicarbonate blasting (Sonic Jet Plus, Gnatus, Ribeirão Preto, SP, Brazil). The teeth were stored in distilled water at 5°C during the study.

Each teeth was fixed to a device using acrylic resin (JET, Classic, São Paulo, SP, Brazil) to embed the root until 1.0 mm below cement-enamel junction. After inclusion in acrylic resin, the occlusal surface of the tooth was sectioned at 2 mm below the marginal ridge to remove the enamel and expose a flat dentin surface. Measurements were taken to standardize dentin thickness at 2 mm.

Dentin surfaces were grounded using 400, 500 and 600-grit sandpaper under water cooling in a polishing machine (Abramin-Struers, Copenhagen, Denmark) to standardize the smear layer and topography. Surfaces were analyzed under optical microscopy (X40) to assure complete removal of the enamel.

## 2.2 Dentin pre-bonding treatment

The prepared teeth were randomly divided into 8 groups (n = 7) for the surface treatment using different protocols (Table 1).

*Table 1 – Description of the groups, accordingly to the type and concentration of substances and the technique used.*

Group	Substances concentration (%)		Technique	
	Fosforic acid	Calcium hypochlorite	Dentin Treatment	Number of steps
A <sub>35</sub>	35	0	E&R	1
A <sub>35</sub> Ca <sub>10</sub>	35	10	DEP	2
A <sub>35</sub> +Ca <sub>10</sub>	35	10	DEP	1
A <sub>35</sub> +Ca <sub>20</sub>	35	20	DEP	1
A <sub>35</sub> +Ca <sub>30</sub>	35	30	DEP	1
A <sub>10</sub> +Ca <sub>10</sub>	10	10	DEP	1
A <sub>10</sub> +Ca <sub>20</sub>	10	20	DEP	1
A <sub>10</sub> +Ca <sub>30</sub>	10	30	DEP	1

## 2.3 Restorative procedure

After pre-treatment, two consecutive layers of adhesive resin containing MDP (Ambar, FGM, Joinville, Brazil) were applied on the dentin surface. The adhesive was applied using a microbrush (Cavibrush,

FGM, Joinville, Brazil) under friction during 20 seconds. Each layer was photoactivated for 20 sec using a light-curing unit Radi-i (SDI, Australia).

A microhybrid composite resin (OPALLIS, FGM, Joinville, Brazil) was used to build up a cylinder-shaped restoration in 3 increments of 2 mm (total height of 6 mm). Each layer was photoactivated for 40 sec and, at the end, the complete restoration was photoactivated for additional 40 sec.

At the end of the restoration, the teeth were immersed in distilled water at room temperature, to avoid dehydration.

#### **2.4 Obtainment of microbar specimens**

After the restorative procedure, the specimens were sectioned in two directions lingual-buccal and mesio-distal using a double-sided diamond disc (EXTEC, Extec Corp., Enfield, USA) attached to a cutting machine (Struers Miniton, Copenhagen, Denmark) at a speed of 300 rpm and water cooling.

Microbars with a cross-section area of 1 mm<sup>2</sup> and 6 mm long (3 mm of dentin and 3 mm of resin) were obtained. The specimens which did not reached the established standard (dimension, presenting defects or rupture of the adhesive interface) were discarded.

#### **2.5 Microtensile test**

For the microtensile test, the adhesive interface of each specimen was measured with a digital caliper in mesiodistal and

buccolingual directions to calculate the adhesive interface area (in mm<sup>2</sup>). Micro-bars were fixed to a metallic device (ODEME Dental Research) by the edges using cyanoacrylate-based resin in gel. The device has a gap to avoid the contact of the gel with the dentin-resin interface. The device containing the specimen was attached to a universal testing machine (EMIC DL 2000 - São José dos Pinhais, Brazil) capable of detecting loads until 100N. A tensile load was applied to the specimen at a cross-head speed of 0.5 mm/min until fracture. The maximum load at fracture (in N) was recorded. The bond strength ( $\sigma_t$ , in MPa) was calculated dividing the load at fracture by the cross-sectional area of the specimen ( $\sigma = F / A$ ). Results were analyzed by Kruskal-Wallis and Dunn ( $\alpha = 0.05$ ).

## **2.6 Analysis of the mode of fracture**

The fracture surfaces of the specimens were analyzed under X40 magnification using a light microscope (ZTX ZOM, Ningbo Wason Ltd., Zhejiang, China). The mode of fracture was classified as cohesive in dentin (CD), cohesive in resin (CR) and adhesive (A), when the fracture starts and propagates through the adhesive interface.

### 3. RESULTS

The bond strength values, the results of statistical analysis and the fractured surfaces evaluation are described in Table 2. Bond strength values of the group treated with the demineralization protocol (A35-30.2 MPa) were significantly higher than the other groups, but were statistically similar to the group deproteinized in two steps (A35Ca10-19,3 MPa).

Deproteinization in two steps promoted bond strength values similar to groups that associated 35% phosphoric acid and calcium hypochlorite 10% (A35 + Ca10- 12.3 MPa) and 30% (A35 + Ca30- 10.8 MPa) in a single application. There were no statistically significant differences between the other groups, which showed the lowest bond strength values (between 5.4 and 10.2 MPa).

Table 2. Microtensile bond strength (MPa), statistical analysis and failure.

Group	Average (DP)	Median	25%	75%	Statistical analysis*	Failure (%) <sup>+</sup>		
						CD	CR	A
A <sub>35</sub>	30,2 (9,2)	27,7	23,0	36,7	<b>A</b>	<b>40</b>	<b>0</b>	<b>60</b>
A <sub>35</sub> Ca <sub>10</sub>	19,3 (9,2)	14,2	11,6	27,5	<b>AB</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>100</b>
A <sub>35</sub> +Ca <sub>10</sub>	12,3 (7,3)	10,0	5,4	18,5	<b>B</b>	<b>10</b>	<b>0</b>	<b>90</b>
A <sub>35</sub> +Ca <sub>20</sub>	5,4 (4,2)	3,7	2,6	6,3	<b>D</b>	<b>5</b>	<b>0</b>	<b>95</b>
A <sub>35</sub> +Ca <sub>30</sub>	10,8 (5,1)	9,1	7,0	14,8	<b>B</b>	<b>10</b>	<b>0</b>	<b>90</b>
A <sub>10</sub> +Ca <sub>10</sub>	5,8 (3,1)	4,9	3,8	7,3	<b>CD</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>100</b>
A <sub>10</sub> +Ca <sub>20</sub>	8,9 (5,1)	6,9	5,1	11,4	<b>CD</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>100</b>
A <sub>10</sub> +Ca <sub>30</sub>	10,2 (7,9)	7,0	4,8	12,1	<b>CD</b>	<b>5</b>	<b>0</b>	<b>95</b>

\* Different letters correspond to statistically significant differences (p≤0.05).

+ Failure modes classified into cohesive dentin (CD), cohesive resin (CR) and adhesive (A).

Specimens of Group A35 presented a significant higher frequency of cohesive failure (40%) than other groups, in which adhesive fracture was a predominant mode of failure.

#### **4. DISCUSSION**

In this study, group treated with conventional demineralization protocol (A35) showed higher bond strength than the other groups, but was statistically similar to the group treated with deproteinization in two stages (A35Ca10) (30.2 and 19.3 MPa, respectively), rejecting the first hypothesis (H1) of the study.

This study presented a deproteinizing protocol using calcium hypochlorite instead of sodium hypochlorite as previously described by published studies. This change allows the release of calcium, which could join to the tooth phosphate groups and adhesive systems, forming crystals compatible with the dental structure without interfering with the quality of the interface (COSTA, 2012).

The groups treated with deproteinization protocols in one-step A35+Ca10 and A35+Ca30 presented bond strength values (12.3 and 10.8 MPa, respectively) statistically similar to the group submitted to deproteinization in two stages. A potential predominance of acid in the group A35+Ca10 could explain the high bond strength values promoted by the protocol. However, few collagen fibrils may have been removed from the substrate, which was permeated by adhesive (TOLEDANO et al., 1999). On the other hand, the group A35+Ca30 present higher concentration of calcium hypochlorite available, which could enhance the collagen removal from the substrate and expose higher amount of

inorganic dentin (mineral) for adhesion (SAURO et al., 2009). The potential dissolution of the exposed collagen fibrils by the calcium hypochlorite could have improved the wetting and the infiltration of the resin monomers in the substrate, promoting clinically adequate bond strength values (MAIOR et al., 2007).

Deproteinizing techniques offers the benefit of dentin surfaces with higher permeability and increased surface energy, which gives greater adherence to the mineral of dentin. In addition, the influence of the operator on the adhesion between resin and dentin is minimized in this technique, because the removal of collagen decrease the influence of the amount of water (moisture) necessary to promote an adequate bond strength (SABOIA et al., 2002).

The exposed collagen is influenced by the presence of water around the collagen fibrils and at the base of the demineralized dentin layer, which may prevent complete infiltration of resin monomers (Arias et al., 2005; Sauro et al., 2009; Baseggio et al., 2008). In addition, the degradation of collagen over time is of major concern, because since the collagen can be subject to the action of endogenous metalloproteinases (Montagner et al. 2014).

Although Tjaderhane et al. (2013) recommended the use of chlorhexidine to block the effect of MMPs, collagen removal may be a suitable alternative to avoid this degradation. The elimination of collagen exposed by phosphoric acid of intertubular dentin area provides direct contact between adhesive and partially dissolved hydroxyapatite crystals, a factor that may contribute to the durability of the dentin-resin bonding interface (BALBINOTT et al., 2009; COSTA, 2012; RAVISHANKER, CHAITHANYA, 2012).

Bonding procedures using deproteinizing pre-treatment have some limitations, especially regarding the formation of the hybrid layer. Adhesives containing acetone have improved ability to displace water and spread into the dentin, increasing the contact of the monomer with the irregular structure of intertubular deproteinized dentin (Bassegio et al, 2008). However, previous work (Silva et al., 2006) showed that adhesive systems having alcohol as solvent and MDP, such as the one used in the present study, can provide bond values similar to the adhesives containing acetone. This adhesive system promoted a strong and stable bond, because of the high chemical affinity to tooth structure due to the presence of MDP, which could bond to the hydroxyapatite of the dentin (HASS et al., 2013).

Specimens of Group A35 presented a significantly higher frequency of cohesive failure (40%) than other groups. However, there was a predominance of adhesive fractures in the groups submitted to deproteinizing protocols, potentially related to lower bond strength values compared to the demineralized group (E&P).

Since the present study showed that demineralization protocols using phosphoric acid associated to calcium hypochlorite are promising to obtain an adequate quality of the adhesion, longer time of observation is recommended to analyze the longevity of this interface.

## **5. CONCLUSION**

Deproteinizing technique using 35% of phosphoric acid (A) and 10% of calcium hypochlorite (Ca) applied in two steps presented similar bond strength to the conventional desmineralization protocol. The

association of substances in a single application, specifically A35+Ca10 and A35+Ca30, promoted an adequate interface quality expressed by bond strength values statistically similar to the deproteinizing protocol performed in two steps. Therefore, despite the limitations of this study, the presented deproteinizing technique may be viable alternative for clinical use.

## 6. REFERENCES

ARIAS, V. G., BREDAN DE CASTRO, A. K. B., PIMENTA, L. A. Effects of sodium hypochlorite gel and sodium hypochlorite solution on dentin bond strength. *J Biomed Mater Res*, v. 7, n. 2, p. 339-344, 2004.

BALBINOTT, M. M. Resistência à união entre resina e dentina desproteínizada com substâncias oxidantes – Resultados Parciais. 2009. 30 f. Monografia (Especialização em Dentística) – Faculdade de Odontologia, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2009.

BASEGGIO, N.; CONSOLMAGNO, E. C.; CARVALHO, F. L. N.; UEDA, J. K.; SCHIMITT, V. L.; FORMIGHIERI, L. A.; NAUFEK, F. S. Effect of desproteinization and tubular occlusion on microtensile Bond strength and marginal microleakage of resin composite restorations. *J Appl Oral Sci*, v. 17, n. 5, p. 462-466, 2008.

BONDAN, C. F. Influência do EDTA sobre a resistência à união entre resina e dentina após a remoção do colágeno com hipoclorito de cálcio. 2009. Monografia (Especialização em Dentística) – Faculdade de Odontologia, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2009.

COSTA, Marielle Azevedo Sehn da. Influência do hipoclorito de cálcio sobre a resistência de união entre resina composta e dentina. 2012. 125 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2012.

DUARTE, P. B. P. G.; SILVA, E. M. Nanoleakage phenomenon on desproteinized human dentin. *J Appl Oral Sci*, v. 15, n. 4, p. 285-291, 2007.

MAIOR, J. R. S.; FIGUEIRA, M. A. S.; NETTO, A. B. A. B.; SOUZA, F. B.; SILVA, C. H. V.; TREDWIN, C. J. The importance of dentin collage fibrils on the marginal sealing of adhesive restorations. *Oper Dent*, v. 32, n.3, p.261-265, 2007.

MONTAGNER, A. F.; SARKIS-ONOFRE, R.; PEREIRA CENCI, T.; CENCI, M. S. MMP inhibitors on dentin stability: a systematic review and meta-analysis. *J Dent Res*, v. 93, n. 3, p. 733-743, 2014.

PRATTI C.; CHERSONI S & PASHLEY DH. Effect of removal of surface collagen fibrils on resin-dentin bonding. *Dental Materials* v.15, n. 5, p. 323–331, 1999.

RAVISHANKER, P.; CHAITANYA, K. In vitro evaluation of the effect of deproteinization on the marginal leakage of resin restorations using three bonding agents. *Dent Res J.*, v. 9, n.4, p. 452-459, 2012.

SABOIA, V. P.; PIMENTA, L. A.; AMBROSANO, G. M. Effect of collagen removal on microleakage of resin composite restorations. *Oper Dent*, v. 27, n. 1, p. 38-43, 2002.

SAURO, S.; MANNOCCI, F.; TAY, F. R.; PASHLEY, D. H.; COOK, R.; CARPENTER, G. H.; WATSON, T. F. Deproteinization effects of NaOCl on acid-etched dentin in clinically-relevant vs prolonged periods of application. A confocal and environmental scanning electron microscopy study. *Oper Dent*, v. 34, n. 2, p. 166-173, 2009.

SILVA, E. M.; DUARTE, P. B. P. G.; POSKUS, L. T.; BARCELLOS, A. A. L.; GUIMARÃES, J. G. A. Nanoleakage and microshear bond strength in deproteinized human dentin. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, v. 81, n. 2, p. 336-342, 2006.

SPAZZIN, A.O.; GALAFASSI, D.; GONÇALVES, L.S.; MORAES, R.R.; JUNIOR, B.C. Bonding to wet or dry deproteinized dentin: microtensile bond strength and confocal laser micromorphology analysis. *Braz J. Oral Sci.*, v. 8, n.4, p.181-84, 2009.

TJADERHANE, L.; NASCIMENTO, F.D.; BRESCHI, L.; MAZZONI, A.; TERSARIOL, I.L.S.; GERALDELI, S.; MUTLUAY, A.T.; CARRILHO, M.R.; CARVALHO, R.M.; TAY, F.R.; PASHLEY, D.H. Optimizing dentin bond durability: control of collagen degradation by matrix metalloproteinases and cysteine cathepsins. *Dent Mat*, v. 29, p. 116-135, 2013.

TOLEDANO, M. Effect of acid etching and collagen removal on dentin wettability and roughness. *J Biomed Mater Res*, n. 47, p.198-203, 1999.