

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA RESTAURADORA
CURSO DE ODONTOLOGIA

Gabriela Simões Teixeira e Janaína Weber Mion

**35% PHOSPHORIC ACID MODIFIED BY AVAILABLE PRIMERS
MAY PRESERVE BOND STRENGTH ON LONG TERM**

Santa Maria, RS, Brasil
2016

Gabriela Simões Teixeira e Janaína Weber Mion

**35% PHOSPHORIC ACID MODIFIED BY AVAILABLE PRIMERS MAY
PRESERVE BOND STRENGTH ON LONG TERM**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Graduação em Odontologia, área de concentração em Odontologia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do **Grau de Cirurgião-Dentista**

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Henrique Susin

Co-orientadora: Clecila Müller

Santa Maria, RS
2016

Gabriela Simões Teixeira e Janaína Mion

**35% PHOSPHORIC ACID MODIFIED BY AVAILABLE PRIMERS MAY
PRESERVE BOND STRENGTH ON LONG TERM**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Graduação em Odontologia, área de concentração em Odontologia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do **grau de cirurgião-dentista**

Aprovado em 29 de junho de 2016:



Alexandre Henrique Susin, Dr.
(Presidente/Orientador)



Luana Severo Alves, Dr.^a (UFSM)



Bruno Lopes Silveira, Dr. (UFSM)

Tathiane Larissa Lenzi, Dr.^a (UFSM)
Suplente

Santa Maria,
Junho/2016.

AGRADECIMENTOS – Gabriela Simões Teixeira

À *minha família*, pelos valores ensinados e pelo apoio incondicional em todas as minhas escolhas.

À *minha mãe, Isabel*, de maneira especial. Obrigada por ter sido muito mais que mãe, és minha melhor amiga e mais fiel cúmplice. Obrigada por enfrentar o mundo ao apoiar minhas decisões e por ter largado tudo quando precisei, sendo meu alicerce em todas as dificuldades. Todas as minhas conquistas são por ti, e para ti. Sem você, nada mais faria sentido. Para ti, todo meu amor e gratidão.

Ao *meu irmão, Gustavo*, todo o meu orgulho e admiração. Obrigada por ter sido o melhor exemplo que eu poderia ter. És minha maior inspiração.

Ao *meu avô, Neri*, por ser a pessoa mais batalhadora e íntegra que já conheci. Obrigada por todos os valores passados, pela disposição em fazer todas as vontades de teus netos e, principalmente, pelo carinho imensurável que tens conosco. Serei sempre a tua princesinha, e o senhor, o meu ídolo.

Aos *meus amigos*, pelo companheirismo e positivismo. Obrigada pelos conselhos dados, mesmo quando estavam longe, e por todos os momentos divertidos que me faziam esquecer de todos os problemas. Com as doses de alegria que vocês me proporcionam a vida se torna mais fácil. Em especial à *Janaína*, que no meu coração, nunca deixará de ser a minha dupla.

À *nossa co-orientadora, Clecila*, minha gratidão por ti é inefável. Obrigada pela paciência inesgotável e pela generosidade em dividir todos teus conhecimentos conosco, desde as monitorias. Se um dia eu tiver co-orientados, quero representar a eles o mesmo que você representa para mim. Te tornastes uma grande amiga e inspiração.

À *Raquel Cristine Silva Barcelos*, pela produção dos ácidos usados neste trabalho e pela disponibilidade em sempre colaborar com o grupo do professor Susin.

Ao nosso *professor orientador, Alexandre Henrique Susin*, pelo empenho em tornar nosso trabalho possível. Obrigada pela paciência, pela confiança depositada, por todos os ensinamentos compartilhados e, principalmente, por ter me proporcionado as melhores oportunidades que tive durante a graduação. Foi uma honra ser sua aprendiz.

À todos os *professores do Curso de Odontologia da Universidade Federal de Santa Maria*, o meu muito obrigada por cada conhecimento compartilhado e pela disponibilidade, tanto nas aulas teóricas quanto nas práticas. Obrigada por me tornarem Cirurgiã-dentista, lembrarei sempre de todos com muita gratidão.

AGRADECIMENTOS – Janaína Weber Mion

Primeiramente, acima de tudo e todos, agradeço à minha mãe *Dilaine* por ter me concebido a vida, desde então me cuidando, ensinando e apoiando com o maior amor que pode existir. A minha gratidão e amor por ti é eterno e imensurável, obrigada por tudo.

À *Deus*, por ter me proporcionado força, persistência e fé, fazendo-me acreditar que eu posso realizar os meus sonhos. Obrigada por atender meus pedidos.

À minha família, *Ari, Getúlio e Marilene*, estes junto à minha mãe são a base de tudo, que me trouxeram até este exato momento. Foram os responsáveis pelas grandes oportunidades que tive durante a vida. Obrigada *Getúlio* por ser meu pai e meus avós por serem meus segundos pais. A minha conquista de hoje é por vocês, sou feliz por vocês.

Ao meu amor *Ricardo*, por entrar na minha vida e completar a minha felicidade fazendo-me enxergar a vida com mais leveza e ser uma pessoa melhor. Mesmo longe, a distância não impede o amor, e sim faz perceber o quão verdadeiro é o sentimento. Obrigada por estar ao meu lado e me apoiando neste momento.

Aos *amigos*, pelos momentos incríveis divididos. A amizade fortalece a alma nos fazendo ser mais caridosos e ter mais cumplicidade com o outro. Lembrarei de todos como irmãos.

À *Gabriela*, minha companheira da faculdade, minha eterna dupla que divide este trabalho comigo, e com o tempo se tornou minha amiga. Foram muitos momentos que compartilhamos, crescemos juntas durante a faculdade, sabemos as dificuldades e qualidades uma da outra, com isso, sempre estamos ajudando uma à outra. Obrigada *Gabi*, por estar ao meu lado na reta final, encerrando esta fase como deve ser, com sucesso e a sensação de que tudo valeu à pena.

Ao meu orientador *Alexandre Susin*, pela oportunidade de elaborar este trabalho. Tu és um professor exemplar. Obrigada pelos ensinamentos e paciência durante este período.

À co-orientadora *Clecila*, pelo apoio, companheirismo e dedicação durante a execução deste trabalho.

À *Raquel Cristine Silva Barcelos*, pela produção dos ácidos usados neste trabalho e pela disponibilidade em sempre colaborar com o grupo do professor *Susin*.

Aos *docentes* junto à *Universidade Federal de Santa Maria* pelos ensinamentos adquiridos nesta universidade, onde me apaixonei pela Odontologia, e que tive momentos maravilhosos que nunca esquecerei.

RESUMO

ÁCIDO FOSFÓRICO MODIFICADO POR PRIMERS PODE PRESERVAR A RESISTÊNCIA ADESIVA AO LONGO DO TEMPO

AUTOR: Gabriela Simões Teixeira e Janaína Weber Mion

ORIENTADOR: Prof. Dr. Alexandre Henrique Susin

CO-ORIENTADORA: Clecila Müller

O objetivo deste estudo foi investigar o efeito imediato e a longo prazo da resistência de união à dentina de adesivo universal no modo de condicionamento ácido total, usando ácido fosfórico 35% modificado pela adição de primers disponíveis no mercado. Trinta terceiros molares humanos hígidos foram divididos de forma randomizada em 3 grupos, de acordo com o ácido condicionante usado: PA1 – ácido fosfórico (sem alteração), PA2 – ácido fosfórico com 10% de Scotchbond Multi Purpose Primer e PA3 – ácido fosfórico com 10% de Vitro Fill LC Primer. O sistema adesivo utilizado foi o Single Bond Universal (3M ESPE, St Paul, MN, USA), com aplicação no modo de condicionamento ácido total. Restaurações com resina composta foram realizadas e seccionadas, a fim de se obter palitos, que seriam submetidos ao teste de microtração (μ TBS), metade das amostras foram testadas após 24 horas e a outra metade após 6 meses de armazenamento em água destilada. Os dados foram analisados por variações de normalidade e igualdade, usando Kolmogorov–Smirnov e submetidos a análise de variância de um fator em nível de significância de 5%. O teste de Tukey foi aplicado para múltiplas comparações. Os dados mostraram que PA1 e PA2 não tiveram diferenças estatísticas, enquanto o PA3 afetou significativamente a resistência adesiva. O ácido fosfórico 35% modificado por 10% de Vitro Fill LC Primer mostrou que acréscimo significativo na resistência de união a longo prazo. A adição de primer no ácido fosfórico 35% não interferiu no aspecto esperado da dentina condicionada.

Palavras-chave: Dentina. Força de Adesão. Ácido Fosfórico. Adesivo Universal.

ABSTRACT

35% PHOSPHORIC ACID MODIFIED BY AVAILABLE PRIMERS MAY PRESERVE BOND STRENGTH ON LONG TERM

AUTHOR: Gabriela Simões Teixeira e Janaína Weber Mion
ADVISOR: Prof.Dr. Alexandre Henrique Susin
CO-ADVISOR: Clecila Müller

The aim of this study was to investigate the effect of immediate and on long term dentin bond strength of a universal adhesive in the mode of etch-and rinse, using as conditioner 35% phosphoric acid modified by addition of current primers. Thirty humans' non carious third molars were randomly assigned to 3 groups according acid etching used: PA1 - Phosphoric acid (no modification), PA2- Phosphoric acid added 10% of Scotchbond Multi Purpose Primer and PA3- Phosphoric acid added 10% of Vitro Fill LC Primer. The adhesive system used is the Single Bond Universal (3M ESPE, St Paul, MN, USA), on the mode of etch-and rinse. Composite resin restorations were built and sectioned to obtain bonded sticks to be subjected to microtensile (μ TBS) testing, one half of the samples were tested after 24 hrs and the other half after 6 months of distilled water – long term. The data were analyzed for normality and equal variances using Kolmogorov–Smirnov and submitted to one-way ANOVA at significance level of 5%. Tukey' s test was applied for multiple comparisons. The data showed that PA1 and PA2 did not have statistic differences, while PA3 positively affected the bond strength. The 35% PA modified by 10% of Vitro Fill LC primer showed to be a way to increase bond strength on long term, but addition of primers in the 35% PA gel did not interfere on the expected conditioned aspect of dentin.

Keywords: Dentin. Bond Strength. Phosphoric acid. Universal adhesive.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 MANUSCRITO CIENTÍFICO	11
2.1 Abstract.....	13
2.2 Introduction.....	14
2.3 Materials and Methods.....	16
2.4 Results.....	20
2.5 Discussion.....	21
2.6 Legend List.....	24
2.7 References.....	24
3 CONCLUSÃO	27
4 REFERÊNCIAS	28
ANEXO A – Normas do periódico <i>Journal of Applied Oral Science</i>	29
ANEXO B – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa.....	38

1. INTRODUÇÃO

Adesão em seus princípios

O sucesso de Buonocore, em 1955, da adesão em resina através do condicionamento ácido do esmalte, o levou a experimentar o mesmo em substrato dentinário, porém não obteve bons resultados. Após esse advento, Fusayama decidiu condicionar toda a cavidade com ácido fosfórico 40%, a fim de simplificar a adesão em esmalte e dentina. Entretanto, mais uma vez houve uma desmineralização excessiva do substrato dentinário. Isso pode ser explicado pelo fato de que, ao contrário do que se sabe atualmente, naquele tempo não se tinha conhecimento sobre o colapso das fibras colágenas³.

O objetivo da inserção de sistemas adesivos nas restaurações é de alcançar o selamento e uma justa adaptação entre o material restaurador e o substrato dentinário. No entanto é difícil de se atingir a condição ideal, visto que a dentina contém uma significativa quantia de material orgânico e água, enquanto o esmalte é composto por mais de 90% do peso de hidroxiapatita⁴. Em virtude disso, a adesão em dentina se torna muito mais complexa que em esmalte.

Em razão disso, as fábricas tem desenvolvido adesivos compatíveis com ambiente úmido. Monômeros polimerizáveis no sistema adesivo, a mistura de colágeno, água residual e cristais de hidroxiapatita formam a camada híbrida que liga o material restaurador ao substrato dentinário⁴. Esses novos sistemas adesivos interagem com o substrato dental por meio de duas estratégias distintas: *etch-and-rise*, no qual a smear layer é removida previamente a aplicação do adesivo, e *self-etch*, onde a smear layer permanece na cavidade. Além disso, essas estratégias podem ser classificadas de acordo com o número de passos requeridos⁵.

Nos dias de hoje, com os avanços na composição dos agentes adesivos e com o aperfeiçoamento do tratamento em dentina, a adesão em substrato dentinário se tornou muito mais forte que antigamente³. Alterações nas formulações dos adesivos mediante a inclusão de monômeros hidrofílicos e acídicos, somado a solventes, torna as soluções adesivas mais compatíveis com a umidade dentinária, resultando numa melhora significativa na eficácia da adesão imediata da maioria dos sistemas adesivos atuais⁵. Do mesmo modo, houve também uma melhoria na hibridização da dentina e a criação de tags resinosos, reduzindo assim as microinfiltrações e irritações pulpares³.

A nova geração de sistemas adesivos simplificados, também conhecidos como universais ou *multimode*, podem ser utilizados tanto como *self-etching* quanto *etch-and-rise*. Ademais, também seriam eficazes tanto em dentina desmineralizada úmida, quanto em seca, derrubando assim a fase crítica da lavagem e secagem do passo de condicionamento ácido². Todavia, mesmo com esse avanço, sabe-se que mesmo utilizando a estratégia *self-etch*, nem sempre os monômeros conseguem penetrar em toda a profundidade da dentina desmineralizada¹.

Considerando que os adesivos *self-etch* condicionam e simultaneamente infiltram monômeros no substrato, o ácido fosfórico também pode ser alterado quimicamente a fim de acrescentar a função de transportar primers, que são encontrados nos sistemas adesivos atuais. Por conseguinte, a força de adesão ao substrato dentinário pode aumentar, através da redução do número de fibras colágenas desprotegidas e expostas.

Assim, o objetivo desse estudo era avaliar o efeito imediato e a longo prazo da força de adesão à dentina do adesivo Universal no modo *etch-and-rise*, usando ácido fosfórico 35% modificado pela adição de primers atuais.

2. MANUSCRITO CIENTÍFICO

Os resultados obtidos para este trabalho de conclusão de curso apresentam-se sob a forma de um manuscrito científico, o qual se encontra aqui estruturado, a fim de facilitar o entendimento do assunto. Os itens Materiais e Métodos, Resultados, Discussão e Referências, encontram-se inclusos no manuscrito.

35% phosphoric acid modified by available primers may preserve bond strength on long term.

Gabriela Simões Teixeira: Undergraduate Student, Federal University of Santa Maria, Santa Maria, RS, Brazil.

Janaína Weber Mion: Undergraduate Student, Federal University of Santa Maria, Santa Maria, RS, Brazil.

Clecila Muller: Post-graduate Student in Dental Sciences, Federal University of Santa Maria, Santa Maria, RS, Brazil.

Alexandre Henrique Susin: Professor, Department of Restorative Dentistry, Federal University of Santa Maria, Santa Maria, RS, Brazil.

Correspondent author:

Gabriela Simões Teixeira

Rua Venâncio Aires, 1230, 407, 97010-000, Santa Maria, RS, Brazil

Fone: +55-55-99580022

E-mail: gabisimoesteixeira@gmail.com

ABSTRACT

Purpose: To investigate the effect of immediate and on long term dentin bond strength of a universal adhesive in the mode of etch-and-rinse, using 35% phosphoric acid modified by current primers.

Materials and Methods: Thirty humans' non carious third molars were randomly assigned to 3 groups according acid etching used: PA1 - Phosphoric acid (no modification), PA2 – Phosphoric acid added 10% of Scotchbond Multi Purpose Primer and PA3 – Phosphoric acid added 10% of Vitro Fill LC Primer. The adhesive system used is the Single Bond Universal (3M ESPE, St Paul, MN, USA), in the mode of etch-and-rinse. Composite resin restorations were built and sectioned to obtain bonded sticks to be tested on microtensile (μ TBS). One half of the samples were tested after 24 hrs and the other half after 6 months kept in distilled water. The data were analyzed for normality and equal variances using Kolmogorov–Smirnov and submitted to one-way ANOVA at significance level of 5%. Tukey's test was applied for multiple comparisons.

Results: The data showed that PA1 and PA2 did not have statistical differences, while PA3 positively affected the bond strength.

Conclusion: The 35% PA modified by 10% of Vitro Fill primer showed to be a way to increase bond strength on long term. The addition of primers in the 35% PA gel did not interfere on conditioned aspect of dentin.

Keywords: Dentin. Bond Strength. Phosphoric acid. Universal adhesive.

INTRODUCTION

Dental adhesives have been highly modified through the years and adhesive restorations have been developed in several aspects concerning materials and techniques^{2,12,22}. The mechanism of hybrid layer formation as proposed by Nakabayashi in 1982¹⁵, allow the incorporation of new knowledge in adhesive protocols and aroused new perspectives in resin composite restorations.

A complex interface between dental wall and resin composite retain the composite resin restoration into the cavity through a micro retentive mechanism and chemical bonds between adhesive and cavity walls. Micro-retentions and surface energy alterations of the cavity walls are provided by conditioners and leave the cavity propitious to receive the dental adhesive^{1,24}.

It is expected that resin-dentin interface be efficiently stable and sealed^{4,8,23,26}. Conditioned dentin should be completely impregnated by adhesive monomers^{14,19,24} but as it is known, the dentin interface presents different micro structural regions, such as: resin-infiltrated dentin, poorly-infiltrated dentin, exposed dentin and partially demineralized dentin¹¹. Thus, on long term, the unprotect collagen fibrils will be hydrolytically and enzymatically degraded^{13,26}.

As etch-and-rinse adhesives are not totally effective to infiltrate deeply inside the conditioned dentin,unprotected collagen fibrils are exposed to the degradation over time^{2,9} and consequently the restoration may be lost²⁶. It has been demonstrated that, even with the use of self-etch adhesives, the deep of demineralized dentin and the monomer impregnation are not necessarily in tune and a non-impregnated and unprotected zone of collagen fibrils may occur at the base of the hybrid layer³.

Based in the principles of self-etch adhesives, that etch and simultaneously impregnate the substrate with polymerizable monomers, the phosphoric acid gel used previously to the conventional adhesives may be chemically altered with previous and controlled addition of primers of current available adhesives, in order to protect the deep collagen fibrils in the conditioned dentin and to promote higher results in dentin bond strength.

Thus, the effect of phosphoric acid as conditioner and carrier of monomeric contents could be evaluated through studies of dentin bond strength performed on early and on long term as a reasonable test to verify the efficacy of chemical changes.

Based on the above, the aim of this study was to evaluate the effect of immediate and on long term dentin bond strength of a universal adhesive in the mode of etch-and-rinse, using a 35% phosphoric acid modified by addition of current primers, as conditioner.

The null hypothesis of this study was that modified 35% phosphoric acid would not increase, on early and on long term, the dentin bond strength.

MATERIAL AND METHODS

Modified phosphoric acid conditioners preparation:

Five ml of 35% phosphoric acids gel (Santa Maria, RS, Brazil) with pH of 0.5 was prepared in a pharmacologic laboratory with pro-analysis (p.a.) phosphoric acid (PA), inert thickening agent and distilled water. Commercially available primers in different concentrations were added in the 35% PA in order to produce three types of 35% PA modified. (Table 1)

pH corrections

The pH of the solution was evaluated with a pH meter Q400-A (Quimis Apar Cient Ltd. Diadema, Brazil). In case of pH was higher than 0.5, p.a. PA was added until to keep the pH stable at 0.5 (± 0.1). Each prepared PA gel was identify with a different inert dye

After modified 35% PA to be prepared it was stored in plastic syringes at room temperature until to be used in this study.

Tooth selection and preparation

This study was performed using human extracted teeth and it was approved by a local Ethics Committee. Thirty humans' non carious third molars were cleaned and stored in distilled water at room temperature until the use in this study. In order to expose the occlusal dentin, the teeth were transversally sectioned at the mid-third using a diamond saw disc in a cut machine Labcut 1010 (Extac Corp. Enfield, CT, USA) under copious water cooling. The exposed dentin was submitted to the 600-grit silicon-carbide paper in a circular polishing machine during 30 seconds to remove any irregularities and standardize smear layer.

The teeth were randomly assigned to 3 groups according acid etching used, as described in the table 1. Materials used in this study are described in the table 2.

Table 1. Experimental groups

Group	Conditioner	n
PA 1	Phosphoric acid p.a., water and thickening agent; blue dye.	10
PA 2	Phosphoric acid p.a., water and thickening agent; Modifier:(Scotchbond Multi Purpose Primer) 10% in volume of solution of 2 hydroxyethyl methacrylate; polyacrylic acid; benzoyl peroxide); green dye	10

PA 3	Phosphoric acid p.a. water and thickening agent; Modifier:(Vitro Fil LC Primer) 10% in volume of solution of 2 hydroxyethyl methacrylate; polyacrylic acid; itaconic acid; red dye.	10
------	--	----

Table 2. Material name, description, manufacturer, composition and batch number

Material (batch number)	Manufacturer	Composition	Batch Number
Single Bond Universal Universal Adhesive	3M ESPE, St. Paul, MN, USA	10-MDP, HEMA, silane, dimethacrylate resins, Vitrebond™ copolymer, filler, ethanol, water, initiators	582957
Scotchbond Multipurpose (Primer)	3M ESPE, St. Paul, MN, USA	2-hydroxyethyl methacrylate; polyacrylic acid; benzoyl peroxide	N190766BR
Vitro Fill LC (Primer)	DFL Indústria e Comércio Ltda (Rio de Janeiro, Brazil)	2-hydroxyethyl methacrylate; polyacrylic acid; itaconic acid	12060935
FILTEK Z350 Nanohybrid resin composite	3M ESPE, St Paul, MN, USA	Bis-GMA, UDMA, TEGDMA, Bis- EMA, silica, zirconia, initiators	N348519BR

*10-MDP: 10-methacryloxydecyl dihydrogen phosphate; HEMA: 2-hydroxyethyl methacrylate; Bis-GMA: bisphenol A glycol dimethacrylate, Bis-EMA: bisphenol A ethyl dimethacrylate, TEGDMA: Triethylene glycol dimethacrylate, UDMA: Urethane dimethacrylate.

Bonding and restorative procedures

Dentin surfaces were etched with phosphoric acid PA 1, PA 2 or PA 3 for 20 s, according studied groups; rinsed with air-water spray during 5 seconds and dried with absorbent paper. One layer of adhesive SBU (St. Paul, MN, USA) was actively applied for 20 s; gently air dry for 5 s and photo cured for 10 s using a Blue Phase LED Unit (Ivoclar Vivadent Corp., Shaan, Liechtenstein) , with a power density of 800 mW/cm².

Restorations of 6.0 mm high of resin composite (Filtek Z350 - shade A2E) (St Paul, MN, USA) were built in three layers, each one photo cured for 20 s. The restored teeth were stored in distilled water at 37°C for 24 h before testing.

Microtensile bond strength test

The restored teeth were longitudinally sectioned to produce specimens in form of sticks with cross section of 1.0 mm², using a diamond saw disc in a Labcut 1010 (Extec Corp. Enfield, CT, USA) under water cooling.

One half of the samples were tested after 24 hrs and the other half after 6 months. On both cases the samples were kept in distilled water at 37°C until to be tested.

The specimens were bonded on the devices with cianoacrylate and the tests were performed in an EMIC DL 1000 (Instron Brazil Ltd, S.J. Pinhais, Brazil), at 1 mm/m of velocity.

Following disruption, the failures were analyzed at 30x magnification and classified as adhesive, cohesive in resin, or cohesive in dentin.

Additionally, illustrative images in scanning electron microscopy (Stereomicroscopy, Calls Zeiss, Germany) were obtained from occlusal slice of dentin treated with PA. Three 1.0mm of thickness occlusal slices were took off from mid third of the tooth, polished in a under running water with a 600-grit silicon carbide paper and dry. Subsequently, each slice of dentin was conditioned with PA1, PA2 or PA3 for 20 s. The specimens were washed with air-water spray for 10 s and dried with absorbent paper for 10 s. Fixation was made in glutaraldehyde 2.5% in 0.1 M sodium-cacodilate buffer for 3 hs and the chemical dry process was performed in ascending degrees of ethanol (25%, 5 m; 50%, 5 m and 100% 10 m). The samples were gold sputtered in a Denton-Vaccum Desk II Sputer Coater (Denton Vaccum Inc., Moorestown, NJ, USA) and observed under SEM in a Jeol A 110 (Jeol Corp., Tokyo, JP) in 13000(x) of magnification.

Statistical Analysis

The data were checked for normality and equal variances using Kolmogorov–Smirnov and submitted to one-way ANOVA at significance level of 5%. Tukey’s test was applied for multiple comparisons.

RESULTS

The Kolmogorov-Smirnov test showed the data into a normal curve of variance and a one-way ANOVA at 5% of significant level shows that PA1 and PA2 did not have statistic differences, while PA3 positively affected the bond strength on early and at long term. Mean of bond strength as well as standard deviation are summarized in the table 3.

Failures mode predominantly was adhesive, followed by cohesive in resin on both tested times. Mode of failures cohesive in dentin were less found. Table 4.

Table 3. Mean microtensile bond strength in MPa, (SD) on early and on long term of storage

Conditioner	Bond Strength in MPa (SD) early	Bond Strength in MPa (SD) long term
PA1	32.10 (4,81) ^{aA}	30.50(6,7) ^{aA}
PA2	31.49 (8.1) ^{aA}	27.93(4,55) ^{aA}
PA3	39.33 (11.69) ^{bB}	38.77(8,29) ^{bB}

*The same small letter in line indicate no statistical differences. Different capital letter in columns indicate statistic significant difference ($\alpha 0.05$)

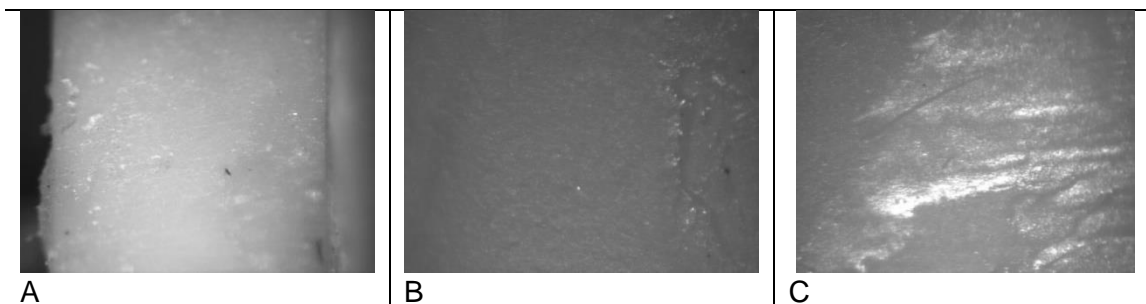
Table 4. Distribution of failure types (%) on early and on long term of storage.

		A	CD	CR
Early	PA1	60	-	40
	PA2	56	-	44
	PA3	65	-	35
Long Term	PA1	70	10	20
	PA2	60	15	25
	PA3	70	-	30

*Abbreviations: A= failure adhesive; CD= failure cohesive in dentin and CR= failure cohesive in resin

Images obtained from failure adhesive (A), that was the most predominant, failure cohesive in dentin (B) and failure cohesive in resin (C) (Figure 1).

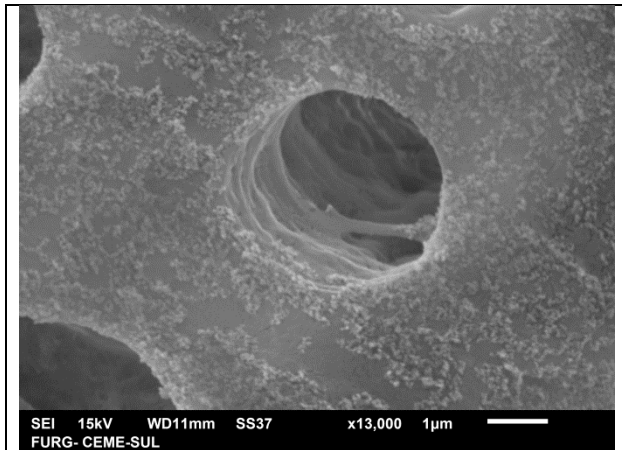
Figure 1 - Images of failures



*Legends: A= failure adhesive; B= failure cohesive in dentin and C= failure cohesive in resin

Images obtained from adhesive dentin surface conditioned with modified 35% PA proved that studied conditioners were effective to prepare the dentin surface to hybrid layer formation (Figure 2).

Figure 2 – Image of alterations produced from conditioner at adhesive dentin surface



DISCUSSION

Dentin bonded interface is a critical site of composite resin restoration due the complex micromorphology of dentin, *i.e.*, presence of moisture, protein and dentinal tubules. Frequently, previous dentin conditioner, as PA gel could promote some prejudices to a restoration since a prolonged etch or excessive drying in dentin could negatively affect the bond strength, sealing and longevity of restoration⁵.

In this study we analyze the effect of addition of different concentrations of primers in a 35% PA gel in order to evaluate the effects on microtensile bond strength on early and on long term using a universal adhesive on etch-and-rinse mode. PA2 conditioner had added 10% of SBMP in volume, while the PA3 conditioner had 10% of Vitro Fill LC Primer. The results shown that PA3 was effective to increase the bond strength on early and at long term, while PA2 had not significantly differences on bond strength, comparatively to PA1 (no modification), thus, rejecting partially the null hypothesis of this study. The three versions of 35% PA gel produced for the purpose of this study were effective on dentin demineralization as well as commercially available 35-37% PA, since it attended the role of dentin demineralizer such as: free of smear layer and smear plugs, demineralized and exposed collagen fibrils²¹(Figure 2). The mode of failure predominantly found was adhesive followed by failures cohesive in resin. It is in accordance with studies of Tedesco et al, 2013¹⁰.

The SBU uses mainly MDP and HEMA in its chemical formulation. The MDP is an etching monomer because to the presence of a dihydrogenphosphate in the molecule that has high capability to produce stable ionic bonds with salts of calcium¹⁶. Since the presence also of HEMA as a “native” component in the SBU, the addition of this molecule in the 35%PA should not promote prejudices to the formed hybrid layer.

Despite SBU contains MDP as functional monomer^{10,16,21} as main change comparatively to Adper Single Bond 2, its pH was altered to 2.7 as role to be used as self-etch adhesive, exempting of the previous step of PA conditioning. Theoretically monomers of primers/adhesive should permeate totally into the demineralized dentin to surround the exposed collagen fibrils. However, even so with self-etch adhesives, it is known that collagen fibrils, mainly at the bottom of hybrid layer, remain unprotected by primers/adhesives leaving regional voids where the collagen will suffer hydrolytic degradation^{3,4,10,26}.

In this study it was expected that primers contents added to 35% PA gel filled in the deep conditioned dentin in order to protect collagen fibrils. Results obtained on early leaves clear that 10% of addition of Vitro Fill LC primer promoted higher means of bond strength and also on long term. (Table 1). The obtained results suggested which the positive effects could be kept lastingly. Hanabusa et al, 2016⁷ stated that cross-linking monomer, as MDP in hybrid layer and in the adhesive layer provide strength and stability to the adhesive interface. Adhesive systems that contain cross-linking monomer, as Scotchbond Universal, frequently have HEMA added to adhesive solution as stabilizer due its capability to act as a solvent-like nature to avoid phase separation and to increase the wettability²⁷. The HEMA is a very small hydroxyester molecule with molecular weight of 130.1418 g/mol, widely used in dentistry, despite its high allergenic potential when uncured and its polymer (PolyHEMA) to be very porous and flexible²⁰. By other hand HEMA is hydrophilicity monomer and very well solvable in the adhesive's solvent with low rates of evaporation from adhesive solutions²⁰. Besides it is expected that HEMA could not be used as a demineralizing agent it may be indicated as a phosphoric acid adjuvant, as we performed in this study. Even so the modified 35% PA Vitro Fill LC to be severely washed and dried from dentin substrate before adhesive application, significant amounts of monomers should be kept surrounding deeply collagen fibrils. There are no very accurate methodologies to directly measure the amounts of HEMA, Polyacrylic and Itaconic acids remained in the deeply demineralized dentin when it is applied simultaneously with PA, but its positive effect in increase of bond strength on early and on long term cannot be disregarded.

The presence of polyacrylic and itaconic co-polimers associated in the Vitro-Fill LC' primer as well as primer might explain the better results, since polyacrylic and Itaconic

are weak acids components of several glass ionomer cements used as adhesion' co-promoters in adhesive systems^{6,18}. They serve as conditioners to the dentin and promote reactions between adhesive monomers and hydroxyapatite. They also act as proteases-protectives in order to retard metalloproteinases'effect in the unprotected collagen fibrils.

In conclusion, the controlled addition of primers in the 35% PA gel do not interfere on conditioned aspect of dentin and the 35% PA modified by 10% of Vitro Fill primer showed to be a way to increase bond strength on long term.

Legend list

1. Experimental groups
2. Material name, description, manufacturer, composition and batch number
3. Mean microtensile bond strength in MPa, (SD) on early and on long term of storage
4. Distribution of failure types (%) on early and on long term of storage.

Figure 1. Images of failures

Figure 2. Image of alterations produced from conditioner at adhesive dentin surface

REFERENCES

1. Armstrong S, Geraldeli S, Maia R, Raposo LHA, Soares CJ, Yamagawa J. Adhesion to tooth structure: a critical review of “micro” bond strength test methods. *Dent Mater.* 2010 Feb;26(2):e50–62.
2. Breschi L, Mazzoni A, Ruggeri A, Cadenaro M, Di Lenarda R, De Stefano Dorigo E. Dental adhesion review: aging and stability of the bonded interface. *Dent Mater.* 2008 Jan;24(1):90–101.
3. Carvalho RM, Chersoni S, Frankenberger R, Pashley DH, Prati C, Tay FR. A challenge to the conventional wisdom that simultaneous etching and resin infiltration always occurs in self-etch adhesives. *Biomaterials.* 2005;26(9):1035–42.
4. Carvalho RM, Manso AP, Geraldeli S, Tay FR, Pashley DH. Durability of bonds and clinical success of adhesive restorations. *Dent Mater. The Academy of Dental Materials;* 2012 Jan;28(1):72–86.
5. Frankenberger R, Krämer N, Petschelt A. Technique sensitivity of dentin bonding: effect of application mistakes on bond strength and marginal adaptation. *Oper Dent.* 2000;25(4):324–30.
6. Hamama HH, Burrow MF, Yiu C. Effect of dentine conditioning on adhesion of resin-modified glass ionomer adhesives. *Aust Dent J.* 2014;59:193–200.
7. Hanabusa M, Yoshihara K, Yoshida Y, Okihara T, Yamamoto T, Momoi Y, et al. Interference of functional monomers with polymerization efficiency of adhesives. *Eur J Oral Sci.* 2016;124(2):204–9.

8. Hashimoto M, Nagano F, Endo K, Ohno H. A review: Biodegradation of resin-dentin bonds. *Jpn Dent Sci Rev.* 2011;47(1):5–12.
9. Hashimoto M, Ohno H, Endo K, Kaga M, Sano H, Oguchi H. The effect of hybrid layer thickness on bond strength: demineralized dentin zone of the hybrid layer. *Dent Mater.* 2000 Nov;16(6):406–11.
10. Kerber Tedesco T, Fernandes Montagner A, Skupien JA, Soares FZ, Susin AH, de Oliveira Rocha R. Starch tubing: an alternative method to build up microshear bond test specimens. *J Adhes Dent.* 2013 Aug;15(4):311–5.
11. Lenzi TL, Mendes FM, de Oliveira Rocha R, Raggio DP. Effect of Shortening the Etching Time on Bonding to Sound and Caries-affected Dentin of Primary Teeth. *Pediatr Dent.* 2013 Jan;35(5):129–33.
12. Manso AP, Bedran-Russo AK, Suh B, Pashley DH, Carvalho RM. Mechanical stability of adhesives under water storage. *Dent Mater.* 2009;25(6):744–9.
13. Manuscript A. NIH Public Access. 2011;94(1):187–92.
14. Munck J De, Landuyt K Van, Peumans M. CRITICAL REVIEWS IN ORAL BIOLOGY & MEDICINE A Critical Review of the Durability of Adhesion to Tooth Tissue : Methods and Results. *J Dent Educ.* 2004;84(2):118–32.
15. Nakabayashi N, Nakamura M, Yasuda N. Hybrid layer as a dentin-bonding mechanism. *J Esthet Dent.* 1991;3(4):133–8.
16. Nakayama Y, Okazaki M, Shintani H. on Adhesive Performance of Functional Monomers. 2015;454–8.
17. Nikaido T, Nurrohman H, Takagaki T, Sadr A, Ichinose S, Tagami J. Nanoleakage in Hybrid Layer and Acid–Base Resistant Zone at the Adhesive/Dentin Interface. *Microsc Microanal.* 2015;21(05):1271–7.
18. Ozcan S, Seseogullari-Dirihan R, Uctasli M, Tay FR, Pashley DH, Tezvergil-Mutluay A. Effect of polyacrylic acid on dentin protease activities. *Dent Mat.* 2015;31:901-906.
19. Pashley DH, Carvalho R. Permeability and dentine adhesion. *J Dent.* 1997;25(5):355–72.
20. Pashley EL, Zhang Y, Lockwood PE, Rueggeberg F a, Pashley DH. Effects of HEMA on water evaporation from water-HEMA mixtures. *Dent Mater.* 1998;14(1):6–10.

21. Perdigão J, Lambrechts P, van Meerbeek B, Tomé a R, Vanherle G, Lopes a B. Morphological field emission-SEM study of the effect of six phosphoric acid etching agents on human dentin. *Dent Mater.* 1996;12(4):262–71.
22. Perdigão J, Swift EJ, Gomes G, Lopes GC. Bond strengths of new simplified dentin-enamel adhesives. *Am J Dent.* 1999.
23. Salz U, Zimmermann J, Zeuner F, Moszner N. Hydrolytic stability of self-etching adhesive systems . 2005;7(2):2005.
24. Scherrer SS, Cesar PF, Swain M V. Direct comparison of the bond strength results of the different test methods: a critical literature review. *Dent Mater.* 2010 Feb;26(2):e78–93.
25. Tay FR, Pashley DH. Aggressiveness of contemporary self-etching systems. I: Depth of penetration beyond dentin smear layers. *Dent Mater.* 2001 Jul;17(4):296–308.
26. Tjäderhane L, Nascimento FD, Breschi L, Mazzoni A, Tersariol LS, Geraldeli S, et al. hydrolytic degradation of the hybrid layer. 2014;29(10):999–1011.
27. Van Landuyt KL, De Munck J, Snauwaert J, Coutinho E, Poitevin A, Yoshida Y, et al. Monomer-Solvent Phase Separation in One-step. 2005;183–8.

3. CONCLUSÕES FINAIS

Tomados em conjunto, os resultados apresentados neste trabalho de conclusão de curso demonstram que a adição de primers baseados em HEMA ao ácido fosfórico 35% pode ser uma maneira de aumentar a força de adesão a longo prazo.

4. REFERÊNCIAS

1. Carvalho RM, Chersoni S, Frankenberger R, Pashley DH, Prati C, Tay FR. A challenge to the conventional wisdom that simultaneous etching and resin infiltration always occurs in self-etch adhesives. *Biomaterials*. 2005;26(9):1035–42.
2. Lenzi TL, Calvo AF, Tedesco TK, Ricci HA, Hebling J, Raggio DP. Effect of method of caries induction on aged resin-dentin bond of primary teeth. *BMC Oral Health*. 2015 Jul 11;15:79.
3. Nakabayashi N, Pashley DH. *Hybridization of Dental Hard Tissues*. 1998. 130p.
4. Perdigão J, Reis A, Loguercio A. Dentin Adhesion and MMPs: A Comprehensive Review. *J Esthet Restor Dent*.. 2013;25(4):219-41.
5. Reis A, Carrilho M, Breschi L, Loguercio AD. Overview of clinical alternatives to minimize the degradation of the resin-dentin bonds. *Oper Dent*. 2013;38(4):E1-E25.

JOURNAL OF APPLIED ORAL SCIENCE

ISSN 1678-7757 *versão impressa*

ISSN 1678-7765 *versão online*

1 ESCOPO

O periódico **Journal of Applied Oral Science** tem como missão a divulgação dos avanços científicos e tecnológicos conquistados pela comunidade odontológica, respeitando os indicadores de qualidade, a fim de que seja assegurada a sua aceitabilidade junto à comunidade de pesquisadores da área em nível local, regional, nacional e internacional. Tem como objetivo principal publicar resultados de pesquisas originais e, a convite do Editor-Chefe, casos clínicos e revisões no campo da Odontologia e áreas correlatas.

Este periódico adota a licença Creative Commons CC-BY:

“Esta licença permite que outros distribuam, remixem, adaptem e criem a partir do seu trabalho, mesmo para fins comerciais, desde que lhe atribuam o devido crédito pela criação original. É a licença mais flexível de todas as licenças disponíveis. É recomendada para maximizar a disseminação e uso dos materiais licenciados.”

Não há cobrança aos autores para submissão de manuscritos e nem mesmo para processamento dos artigos (APC).

2 DAS NORMAS GERAIS

2.1 Os trabalhos enviados para publicação devem ser inéditos, não sendo permitida a sua submissão simultânea em outro periódico, seja este de âmbito nacional ou internacional. O Journal of Applied Oral Science reserva todo o direito autoral dos trabalhos publicados, inclusive tradução, permitindo, entretanto, a sua posterior reprodução como transcrição com devida citação de fonte.

2.2 Só serão recebidos para publicação, trabalhos redigidos em inglês, ficando o conteúdo dos textos, das citações e das referências sob inteira responsabilidade dos autores.

2.3 O Journal of Applied Oral Science tem o direito de submeter todos os manuscritos ao Corpo Editorial, o qual está completamente autorizado a determinar a conveniência de sua aceitação, ou devolvê-los aos autores com sugestões e modificações no texto e/ou para adaptação às regras editoriais da revista. Neste caso, o manuscrito será reavaliado pelo Editor-Chefe e Corpo Editorial.

2.4 O Journal of Applied Oral Science recebe revisões de literatura e relatos de casos clínicos apenas mediante convite do Editor-Chefe.

2.5 Os conceitos afirmados nos trabalhos publicados são de inteira

responsabilidade dos autores, não refletindo obrigatoriamente a opinião do Editor-Chefe ou Corpo Editorial.

2.6 As datas do recebimento do original e da aceitação do artigo constarão quando da publicação.

2.7 Cada autor correspondente receberá um fascículo da revista no qual seu trabalho foi publicado. Exemplares adicionais, se solicitados, serão fornecidos, sendo-lhes levado a débito o respectivo acréscimo.

2.8 Dependendo da disponibilidade dos recursos financeiros do Journal of Applied Oral Science ou dos autores, ilustrações coloridas serão publicadas a critério do Editor-Chefe.

3 CRITÉRIOS DE ARBITRAGEM

3.1 Revisão técnica: os trabalhos serão avaliados primeiramente quanto ao cumprimento das normas de publicação e documentação exigida na submissão dos manuscritos. Se não de acordo às instruções serão devolvidos aos autores para as devidas adequações antes mesmo de serem submetidos à avaliação pelos Editores Associados e revisores.

3.2 Pré-Análise: os manuscritos aprovados na revisão técnica serão submetidos aos Editores Associados para apreciação quanto à adequação ao escopo da revista. Caso o manuscrito não esteja dentro dos parâmetros esperados será devolvido ao autor correspondente pelo Editor-Chefe.

3.3 Análise de mérito e conteúdo: os artigos aprovados pelos Editores Associados serão avaliados quanto ao mérito e método científico por no mínimo dois relatores ad hoc de unidades distintas à de origem do trabalho, além do Editor-Chefe. O Editor-Chefe decidirá sobre a aceitação do manuscrito. Quando necessária revisão do original, o manuscrito será devolvido ao autor correspondente para modificação. Uma versão revisada com as alterações efetuadas deverá ser re-submetida pelos autores, que será reavaliada pelo Editor-Chefe, Editores Associados e revisores conforme a necessidade.

3.4 Após aprovação quanto ao mérito científico, os trabalhos serão submetidos à revisão final, feita por profissional autônomo indicado pela revista. O pagamento deste serviço ficará sob a responsabilidade do(s) autor(es), e os procedimentos necessários, o valor do serviço e a forma de pagamento diretamente ao profissional serão encaminhados ao autor correspondente. Nos casos de inadequação os trabalhos serão encaminhados para os autores para revisão.

3.5 Tanto os avaliadores quanto os autores, durante todo o processo de tramitação dos artigos, não são identificados pela outra parte.

3.6 Os conceitos emitidos nos trabalhos publicados serão de responsabilidade exclusiva dos autores, não refletindo obrigatoriamente a opinião do Editor-Chefe ou Corpo Editorial.

4 DA CORREÇÃO DAS PROVAS TIPOGRÁFICAS

4.1 A prova tipográfica será enviada ao autor correspondente por meio

de correio eletrônico em formato PDF para aprovação final.

4.2 O autor dispõe de um prazo de 72 horas para correção e devolução do original devidamente revisado, se necessário.

4.3 Se não houver retorno da prova em 72 horas, o Editor-Chefe considerará como final a versão sem alterações e não serão permitidas maiores modificações. Apenas pequenas modificações, correções de ortografia e verificação das ilustrações serão aceitas. Modificações extensas implicarão na reapreciação pelos assessores e atraso na publicação do trabalho.

4.4 A inclusão de novos autores não é permitida nesta fase do processo de publicação.

Forma e preparação de manuscritos

1 APRESENTAÇÃO DO MANUSCRITO

1.1 Estrutura do manuscrito

Página de rosto (deverá ser submetida como arquivo complementar pelo sistema de submissão online da revista) que deverá conter apenas:

- O título do manuscrito em inglês.
- Os nomes dos autores na ordem direta seguido da sua principal titulação e afiliação institucional em inglês.
- Endereço completo do autor correspondente, a quem todas as correspondências devem ser endereçadas, incluindo telefone e fax bem como endereço de e-mail.

1.2 Texto

- O artigo deverá ser previamente traduzido ou revisado por empresa ou profissional autônomo que assegurem a qualidade do vernáculo. Os custos desse serviço ficarão a cargo dos autores do artigo. Autores que tenham a língua inglesa como nativa deverão apresentar declaração na qual se responsabilizam pela redação.
- Título e subtítulo, se necessário, do trabalho em inglês;
- Resumo: deverá incluir o máximo de 300 palavras, ressaltando-se no texto uma pequena introdução, objetivo, material e métodos, resultados e conclusões.
- Palavras-chave: (correspondem às palavras ou expressões que identificam o conteúdo do artigo). Para determinação das palavras-chave os autores deverão consultar a lista de assuntos do "Índex Medicus" e os Descritores em Ciências da Saúde - DeCS (consulta eletrônica pelo endereço: <http://www.decs.bvs.br/>). Deve-se usar ponto final para separar as palavras-chave, que devem ter a primeira letra da primeira

palavra em letra maiúscula. Ex: Dental implants. Fixed prosthesis. Photoelasticity. Passive fit.

- Introdução: resumo do raciocínio e a proposta do estudo, citando somente referências pertinentes. Estabelecer a hipótese do trabalho.
- Material e Métodos: o material e os métodos são apresentados com detalhes suficientes para permitir a confirmação das observações. Incluir cidade, estado e país de todos os fabricantes depois da primeira menção dos produtos, reagentes ou equipamentos. Métodos publicados devem ser referenciados e discutidos brevemente, exceto se modificações tenham sido feitas. Indicar os métodos estatísticos utilizados, se aplicável. Consultar o item 3 para princípios éticos e registro de ensaios clínicos.
- Resultados: apresenta os resultados em uma seqüência lógica no texto, com tabelas e ilustrações. Não repetir no texto todos os dados das tabelas e ilustrações, enfatizando somente as observações importantes. Utilizar o mínimo de tabelas e ilustrações possível.
- Discussão: enfatizar os aspectos novos e importantes do estudo e as conclusões resultantes. Não repetir em detalhes dados ou informações citadas na introdução ou resultados. Relatar observações de outros estudos relevantes e apontar as implicações de seus achados e suas limitações.
- Conclusão(ões): (quando houver).
- Agradecimentos (quando houver) - agradeça a pessoas que tenham contribuído de maneira significativa para o estudo. Especifique auxílios financeiros citando o nome da organização de apoio de fomento e o número do processo.
- Referências (ver item 2.3)

2 NORMALIZAÇÃO TÉCNICA

O manuscrito deve ser digitado com: espaçamento de 1,5, fonte Arial, tamanho 11, 3 cm de margem de cada um dos lados, papel A4, perfazendo um total de, no máximo, 15 páginas, incluindo ilustrações (gráficos, fotografias, tabelas etc). Os autores devem manter uma cópia do manuscrito para eventuais solicitações.

2.1 Ilustrações e Tabelas

2.1.1 As ilustrações (fotografias, gráficos, desenhos, quadros etc.), serão consideradas no texto como figuras, sendo limitadas ao mínimo indispensáveis e devem ser adicionadas em arquivos separados, numeradas consecutivamente em algarismos arábicos segundo a ordem em que aparecem no texto.

2.1.2 As fotografias deverão ser encaminhadas em cores originais, digitalizadas em formato .tif, ou .jpg, com no mínimo 300 dpi de resolução e 10 cm de largura. Essas fotos

deverão estar em arquivos separados e não inseridas no texto do Word.

2.1.3 As legendas correspondentes deverão ser claras, concisas e localizadas ao final do trabalho em forma de lista separada e precedidas da numeração correspondente.

2.1.4 As tabelas deverão ser logicamente organizadas, numeradas consecutivamente em algarismos arábicos. A legenda será colocada na parte superior das mesmas. As tabelas deverão ser abertas nas laterais direita e esquerda. As tabelas deverão ser enviadas em formato .xls.

2.1.5 As notas de rodapé serão indicadas por asteriscos e restritas ao mínimo indispensável.

2.2 Citação de autores

A citação dos autores no texto poderá ser feita de duas maneiras:

- 1) Somente numérica: "... and interfere with the bacterial system and tissue system^{3,4,7-10}". As referências devem ser citadas em ordem crescente no parágrafo.
- 2) ou alfanumérica:

- Um autor: Silva²³ (1986)
- Dois autores: Silva and Carvalho²⁵ (1987)
- Três autores: Ferreira, Silva and Martins²⁷ (1997)
- mais que três autores: Silva, et al.²⁸ (1998)
- Caracteres de pontuação tal como pontos e vírgulas devem ser colocados depois da citação numérica dos autores. Ex: Ferreira³⁸.

2.3 Referências

As Referências deverão obedecer aos requisitos "Uniform requirements for manuscripts submitted to Biomedical Journals - Vancouver", para a submissão de manuscritos a revistas biomédicas - disponível no seguinte endereço eletrônico:

http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html.

2.3.1 Toda referência deverá ser citada no texto. Elas devem ser ordenadas alfabeticamente pelo sobrenome do autor e numeradas em ordem crescente. A ordem de citação no texto obedecerá a esta numeração. As abreviaturas dos títulos dos periódicos internacionais citados deverão estar de acordo com o Index Medicus/ MEDLINE.

2.3.2 Não incluir comunicações pessoais e materiais bibliográficos sem data de publicação na lista de referências.

2.3.3 Teses, dissertações, monografias e resumos não serão

aceitos como referências.

2.3.4 Listar os nomes dos 6 primeiros autores do trabalho; excedendo este número, os 6 primeiros autores do trabalho devem ser citados, seguidos pela expressão ", et al.", que deve ser seguida por ponto e não escrita em itálico. Ex: Uhl, et al.

2.3.5 Não ultrapassar a citação de 30 referências, exceto para artigos de revisão de literatura a convite do Editor-Chefe.

Exemplos de referências:

Livro

Melberg JR, Ripa LW, Leske GS. Fluoride in preventive dentistry: theory and clinical applications. Chicago: Quintessence; 1983.

Capítulo de Livro

Verbeeck RMH. Minerals in human enamel and dentin. In: Driessens FCM, Woltgens JHM, editors. Tooth development and caries. Boca Raton: CRC Press; 1986. p. 95-152.

Artigo de periódico

Wenzel A, Fejerskov O. Validity of diagnosis of questionable caries lesions in occlusal surfaces of extracted third molars. Caries Res. 1992;26:188-93.

Artigos com mais de 6 autores:

Citam-se até os 6 primeiros seguidos da expressão " ,et al."

Parkin DM, Clayton D, Black, RJ, Masuyer E, Friedl HP, Ivanov E, et al. Childhood - leukaemia in Europe after Chernobyl: 5 years follow-up. Br J Cancer. 1996;73:1006-12.

Artigo sem autor

Seeing nature through the lens of gender. Science. 1993;260:428-9.

Volume com suplemento e/ou Número Especial

Davidsen CL. Advances in glass-ionomer cements. J Appl Oral Sci. 2006;14(sp. Issue):3-9.

Fascículo no todo

Dental Update. Guildford 1991 Jan/Feb;18(1).

A exatidão das referências é de responsabilidade dos autores.

3 PRINCÍPIOS ÉTICOS E REGISTROS DE ENSAIOS CLÍNICOS

3.1 Procedimentos experimentais em animais e humanos. O periódico Journal of Applied Oral Science endossa os princípios incorporados na Declaração de Helsinki e insiste que todas as pesquisas que envolvam seres humanos publicadas nesta Revista, sejam conduzidas em conformidade com esses princípios e com outros similares dispostos nos respectivos Comitês de Ética em Pesquisa das respectivas instituições de origem dos autores. No caso de experimentos com animais, estes devem seguir os mesmos princípios de ética envolvidos. Em experimentos que envolvam procedimentos cirúrgicos em animais, os autores devem descrever na seção de Material e Métodos evidências de que a dosagem anestésica produziu efeito adequado e por tempo necessário para a condução do ato cirúrgico. Todos os experimentos com humanos ou animais devem vir acompanhados de descrição, na seção de Material e Métodos, de que o estudo foi aprovado pelos respectivos órgãos que gerenciam a Ética em Pesquisa nas suas instituições de origem.

3.1.1 Artigos apresentando **estudos experimentais em humanos ou animais** deverão **obrigatoriamente** vir acompanhados de documento comprobatório da aprovação pelo Comitê de Ética do relatório dos **resultados enviados para publicação**.

3.2 Registros de Ensaio Clínicos - International Standard Randomized Controlled Trial Number (ISRCTN)

O periódico Journal of Applied Oral Science apóia as políticas para registro de ensaios clínicos da Organização Mundial da Saúde (OMS) e do Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas (ICMJE), reconhecendo a importância dessas iniciativas para o registro e divulgação internacional sobre estudos clínicos com acesso aberto. Sendo assim, somente serão aceitos para publicação os artigos de pesquisas clínicas que tenham recebido um número de identificação, o ISRCTN, em uma das plataformas de ensaios clínicos, validadas pelos critérios estabelecidos pela OMS e pelo ICMJE. A OMS define Ensaio Clínico como "qualquer estudo de pesquisa que prospectivamente designa participantes humanos ou grupos de humanos para uma ou mais intervenções relacionadas à saúde para avaliar os efeitos e os resultados de saúde. Intervenções incluem, mas não se restringem a drogas, células e outros produtos biológicos, procedimentos cirúrgicos, procedimentos radiológicos, dispositivos, tratamentos comportamentais, mudanças no processo de cuidado, cuidado preventivo etc."

3.2.1 Os artigos que envolvam ensaios clínicos (clinical trials)

em voluntários humanos deverão ser enviados acompanhados de dois documentos suplementares **obrigatórios**:

- checklist do CONSORT 2010 (<http://www.consort-statement.org/>)
- comprovante de número de registro da pesquisa em base que atenda às exigências da Organização Mundial de Saúde (OMS) e do Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas (ICMJE).
- Sugestões para autores brasileiros: <http://www.ensaiosclinicos.gov.br/>
- Sugestão para autores brasileiros ou de outras nacionalidades: <http://www.controlled-trials.com/> (ISRCTN) ou <http://prsinformo.clinicaltrials.gov/>).

3.3 O Editor-Chefe e o Conselho Editorial se reservam o direito de recusar artigos que não demonstrem evidência clara de que esses princípios foram seguidos ou cujos métodos empregados forem considerados inapropriados para o uso de humanos ou animais.

4 OUTRAS QUESTÕES SERÃO RESOLVIDAS PELO EDITOR-CHEFE E CONSELHO EDITORIAL

Envio de manuscritos

1 SUBMISSÃO DO TRABALHO

1.1 Os manuscritos deverão ser submetidos por meio do endereço: <http://www.scielo.br/jaos>

1.2 O arquivo original contendo o manuscrito deve ser submetido sem a identificação dos autores e afiliações. A folha de rosto deverá ser submetida como arquivo suplementar (Title page) contendo o nome dos autores, afiliações e endereço para correspondência.

1.3 As figuras devem ser submetidas como arquivos suplementares de acordo com as especificações do item 2.1 sobre forma e preparação dos manuscritos.

1.4 As tabelas devem ser preparadas em formato Excel e devem ser submetidas como arquivos suplementares.

1.5 Documentos comprobatórios de registro de ensaios clínicos e de aprovação de relatórios por Comitê de Ética deverão ser submetidos como arquivos suplementares obrigatórios.

1.6 Demais documentos, como declaração de responsabilidade pela revisão de inglês ou comprovante de realização de revisão do vernáculo por profissional ou empresa, deverão ser submetidos como arquivos

suplementares obrigatórios.

1.7 O [formulário de submissão](#), assinado por TODOS os autores, deve ser submetido como arquivo suplementar contendo o seguinte texto:

A assinatura deste formulário de submissão implica na aceitação do seguinte:

Transferência de Direitos: Considerando a aceitação do trabalho acima descrito, nós, autores, concordamos com o uso da licença Creative Commons CC-BY e transferimos para o Journal of Applied Oral Science todos os direitos, título e interesse nos direitos autorais do artigo mencionado acima. Este documento se aplica a todas as traduções do mesmo, assim como a apresentação preliminar, sob quaisquer meios de divulgação, do trabalho aceito e ainda não publicado. Se alguma mudança na autoria (ordem, acréscimo ou eliminação) ocorrer após a submissão do trabalho, um documento de concordância de todos os autores deve ser enviado para ser mantido nos arquivos do Editor-Chefe. O nome de um autor(a) somente poderá ser removido mediante solicitação do(a) mesmo(a).

Responsabilidades do autor:

Eu atesto que:

O trabalho é original e não contém dados falsificados, plagiados ou fraudulentos;

O conteúdo do trabalho não se encontra atualmente em apreciação, e nem será submetido para publicação em outro periódico, até que uma decisão final de não aceitação seja emitida por esta revista;

Eu tive uma contribuição significativa para o trabalho e estou familiarizado com os dados originais descritos no mesmo;

Eu li o trabalho por completo e assumo a responsabilidade pelo conteúdo completo da versão final que foi submetida. Entendo que se o trabalho, ou parte dele, for considerada deficiente ou fraudulenta, assumirei a responsabilidade junto com os outros autores.

Descompromisso de conflito de interesse. Todas as minhas afiliações corporativas ou institucionais e todas as fontes de apoio financeiro ao trabalho estão devidamente citadas ou mencionadas em carta anexa. Certifico que não possuo nenhum interesse comercial ou associativo que represente conflito de interesse em conexão com o trabalho submetido.

NOME: _____ ASSINATURA: _____ DATA: _____

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O projeto não apresenta pendências e pode ser aprovado.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_630862.pdf	04/04/2016 18:45:41		Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	20160404184359948.pdf	04/04/2016 18:44:33	ALEXANDRE HENRIQUE SUSIN	Aceito
Folha de Rosto	20160404184405765.pdf	04/04/2016 18:43:28	ALEXANDRE HENRIQUE SUSIN	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_tcc.docx	02/04/2016 18:15:43	ALEXANDRE HENRIQUE SUSIN	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	dispensa_tcle.pdf	28/02/2016 15:23:06	ALEXANDRE HENRIQUE SUSIN	Aceito
Declaração de Pesquisadores	termo_confidencialidade_scaner.png	28/02/2016 15:15:21	ALEXANDRE HENRIQUE SUSIN	Aceito
Brochura Pesquisa	gap.pdf	28/02/2016 15:12:57	ALEXANDRE HENRIQUE SUSIN	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	autori_institucional.pdf	28/02/2016 15:12:21	ALEXANDRE HENRIQUE SUSIN	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Av. Roraima, 1000 - prédio da Reitoria - 2º andar
 Bairro: Camobi CEP: 97.105-970
 UF: RS Município: SANTA MARIA