

DANIELLA DE OLIVEIRA DA SILVA

**EFEITOS DO PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO PRESENTE EM COLUTÓRIOS
NA ADESÃO DE ADESIVOS UNIVERSAIS À SUPERFÍCIE DENTINÁRIA E
NAS PROPRIEDADES FÍSICO-MECÂNICAS DE RESINAS COMPOSTAS**

*EFFECTS OF HYDROGEN PEROXIDE IN MOUTHWASHES ON THE
ADHESION OF UNIVERSAL ADHESIVES TO THE DENTINARY SURFACE
AND ON THE PHYSICAL-MECHANICAL PROPERTIES OF COMPOSITE
RESINS*



Tese apresentada à Universidade Ceuma,
para Defesa no Doutorado em Odontologia
na área de Odontologia Integrada

São Luís

2023

DANIELLA DE OLIVEIRA DA SILVA

**EFEITOS DO PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO PRESENTE EM COLUTÓRIOS
NA ADESÃO DE ADESIVOS UNIVERSAIS À SUPERFÍCIE DENTINÁRIA E
NAS PROPRIEDADES FÍSICO-MECÂNICAS DE RESINAS COMPOSTAS**

*EFFECTS OF HYDROGEN PEROXIDE IN MOUTHWASHES ON THE
ADHESION OF UNIVERSAL ADHESIVES TO THE DENTINARY SURFACE
AND ON THE PHYSICAL-MECHANICAL PROPERTIES OF COMPOSITE
RESINS.*



Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Odontologia da Universidade CEUMA
para defesa no Doutorado em Odontologia

Área de Concentração: Odontologia Integrada

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Fabiana Suelen Figuerêdo de Siqueira
Co-Orientador: Prof. Dr. Andres Felipe Millan Cardenas

São Luís

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (UNICEUMA) Universidade Ceuma
Processamento técnico Catalogação na fonte elaborada pela equipe de Bibliotecárias:

Alice Beatriz Mendes dos Santos –13/639
 Gleice Melo da Silva - CRB13/650
 Jarina Santos Serra - CRB 13/953
 Michele Alves da Silva - CRB 13/60

S586e Silva, Daniella de Oliveira da.

Efeitos do peróxido de hidrogênio presente em colutórios na adesão de adesivos universais à superfície dentinária e nas propriedades físico-mecânicas de resinas compostas. / Daniela de Oliveira da Silva. – São Luís: UNICEUMA, 2023.

59.; il.

Tese (Doutorado) – Curso de Odontologia. Universidade CEUMA, 2023.

1. Peróxido de hidrogênio. 2. Adesivos dentários 3. Resinas compostas. I. Siqueira, Fabiana Suelen Figueredo de (Orientadora) III. Tavares, Rudys Rodolfo de Jesus (Coordenador) III. Título.

CDU: 616.314

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Alice Santos CRB13/639

Proibida a reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio eletrônico ou mecânico, inclusive através de processos xerográficos, sem permissão expressa do Autor. (Artigo 184 do Código Penal Brasileiro, com a nova redação dada pela Lei n.8.635, de 16-03-1993)

Universidade Ceuma - UNICEUMA
Pró-Reitoria de Pós-Graduação, Pesquisa e Extensão
Doutorado em Odontologia

FOLHA DE APROVAÇÃO

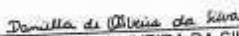
Tese apresentada e defendida por Daniella de Oliveira da Silva

E aprovada pela comissão julgadora em

05 / 06 / 2023

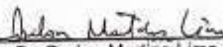
 UNIVERSIDADE CEUMA - UNICEUMA
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
NÍVEL DOUTORADO

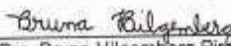
Folha de aprovação da Tese **DANIELLA DE OLIVEIRA DA SILVA** defendida e aprovada pela Comissão Julgadora em
05/06/2023


DANIELLA DE OLIVEIRA DA SILVA
Discente

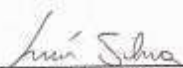

Dr. Edilausson Moreno Carvalho
1º Examinador


Dra. Gisele Rodrigues da Silva
2º Examinador


Dr. Darlon Martins Lima
3º Examinador


Dra. Bruna Hilgemberg Pirlo
4º Examinador


Dr. Andres Felipe Millan Cardenas
Presidente da Comissão


Prof. Dr. Luis Cláudio Nascimento da Silva
Pró-Reitor de Pós-Graduação e Pesquisa
Universidade CEUMA

AGRADECIMENTOS

A minha família pelo apoio, confiança e paciência. Não existem palavras que possam descrever todo o respeito, admiração que tenho pelos meus pais. São os meus exemplos de força, determinação, superação e coragem. Tudo o que eu tenho e sou é por causa da luta de vocês para que eu pudesse ter a melhor educação possível, melhor vida possível. Meus irmãos, Rafaella e Rubens Junior, pelo companheirismo, apoio e incentivo. Os pequenos gestos, as frases de incentivo, as risadas foram essenciais.

Aos meus amigos pela amizade, apoio e sorrisos. Obrigada por estarem do meu lado mesmo quando estava muito ocupada, estressada ou sumida.

A esta universidade, seu corpo docente, direção e administração pela oportunidade da concretização de um objetivo mesmo depois de passarmos por uma pandemia.

A professora Fabiana Siqueira pelo desenvolvimento desta pesquisa, pela disponibilidade, paciência e pela coragem de assumir a minha orientação, faltando dois anos para encerrar o prazo de qualificação e defesa do doutorado e sem projeto por causa da pandemia. Serei eternamente grata. Muito obrigada por tudo.

Ao professor Andres Cardenas por sempre ser solícito, pela paciência e por também embarcar nesta coorientação com um prazo mínimo para fazer tudo.

A minha turma de doutorado. O apoio e união foi fundamental para que a caminhada tenha sido mais leve e prazerosa mesmo passando pelo isolamento, distância e todos os percalços devido a pandemia.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, muito obrigada.

*“Somos o que pensamos. Tudo o que somos surge com nossos pensamentos.
Com nossos pensamentos, fazemos o nosso mundo.”*

Buda

SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas.....	7
Lista de Tabelas	8
Lista de Figuras.....	9
Resumo/Palavras-chave.....	10
Abstract/Key-words	12
1. Introdução	14
2. Capítulo 1.....	18
3. Capítulo 2.....	38
4. Considerações finais	56
Referencias.....	57
Anexos.....	58

LISTA DE ABREVIATURAS

PH - Peróxido de hidrogênio
HP - Hydrogen peroxide
 μ TBS - Microtensile bond strength
NL - Nanoleakage
DC - Degree of conversion
OX - OX-19 mouthwash
SS - Safe Smile mouthwash
ER - Etch-and-rinse
SE - Self-etch
LED - Light-emitting diode
C - Cohesive
A - Adhesive
M - Mixed
SEM - Scanning electron microscope
MPa - Mega pascal
Ra - Rugosidade superficial
CP - Corpo de prova
VHN - Dureza de Vickers

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Capítulo 1 - Materiais, composição e modo de aplicação	31
Tabela 2 - Capítulo 1 - Médias e desvios padrão de μ TBS para grupos OX	32
Tabela 3 - Capítulo 1 - Médias e desvios padrão de μ TBS para grupos SS	32
Tabela 4 - Capítulo 1 - Médias e desvios padrão de nanoinfiltração para OX.....	32
Tabela 5 - Capítulo 1 - Médias e desvios padrão de nanoinfiltração para SS.....	33
Tabela 6 – Capítulo 1 - Médias e desvios padrão do grau de conversão para OX	33
Tabela 7 – Capítulo 1 - Médias e desvios padrão do grau de conversão para SS.....	33
Tabela 1 - Capítulo 2 - Composição e tipo de partículas das resinas compostas Opallis e Z350	50
Tabela 2 - Capítulo 2 - Composição e porcentagem do PH do SS e OX.....	51
Tabela 3 - Capítulo 2 - Médias e desvios padrão da dureza Vickers	52
Tabela 4 - Capítulo 2 - Médias e desvios padrão da rugosidade	53
Tabela 5 - Capítulo 2 - Médias e desvios padrão da alteração de cor	54

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Capítulo 1 - Modo de fratura para grupos OX	34
Figura 2 - Capítulo 1 - Modo de fratura para grupos SS	34
Figura 3 - Capítulo 1 - Imagens de nanoinfiltração para os grupos.....	34

Silva DO. Efeitos do peróxido de hidrogênio presente em colutórios na eficácia de união de adesivos universais na superfície de dentina e esmalte [Tese de Doutorado em Odontologia]. São Luís. Universidade CEUMA em Associação com a Universidade Federal de Uberlândia; 2023.

RESUMO

O peróxido de hidrogênio (PH) é uma substância amplamente estudada na Odontologia, utilizada como agente antisséptico e antibacteriano, além de ser utilizado para clareamento dental. Os pacientes cada vez mais tem o requisito estético como sua primeira opção, e por isso o mercado tem lançado produtos de livre venda com concentração de PH que pode variar de 0,75% a 3%, como os enxaguantes bucais. No entanto, há necessidade de que se avalie esses tratamentos não supervisionados e de uso contínuo pois podem ser prejudiciais aos pacientes já que existem não foram estudados se o uso contínuo pode afetar a interface adesiva ou as propriedades físicas, mecânicas e ópticas das restaurações em resina composta já presente no meio bucal. Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito do uso contínuo de enxaguantes bucais à base de peróxido de hidrogênio na eficácia de adesão de adesivos universais à superfície dentinária e nas propriedades físicas das resinas compostas. Na primeira parte do estudo, 384 terceiros molares humanos foram tratados com enxaguantes bucais à base de PH, Safe Smile e OX-19, por 1, 7, 15 e 30 dias, e então restaurados com adesivos universais Scotchbond Universal e Âmbar Universal. A resistência de união por microtração, nanoinfiltração e grau de conversão dos dentes restaurados foram avaliados. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de três fatores e teste de Tukey ($\alpha=0,05$) para cada propriedade avaliada. Os resultados mostraram que mesmo em baixas concentrações, o uso contínuo e prolongado de um enxaguante bucal à base de PH afeta a resistência de união por microtração e grau de conversão dos adesivos universais na dentina. Na segunda parte do estudo, foi avaliado o efeito dos enxaguantes bucais à base de PH na rugosidade superficial, dureza de Vickers e alteração de cor das resinas compostas. 240 amostras de resinas

compostas, Opallis e Z350, foram divididas em 24 grupos experimentais de acordo com a aplicação de dois colutórios à base de PH, Safe Smile e OX-19, por 1, 7, 15 e 30 dias. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de três fatores e teste de Tukey ($\alpha = 0,05$) para cada propriedade avaliada. Os resultados mostraram que o uso prolongado de enxaguantes bucais com PH aumenta a rugosidade superficial e diminui a dureza de Vickers das resinas compostas, mas não afeta sua cor. Portanto, o uso contínuo de enxaguantes bucais à base de PH deve ser monitorado para evitar comprometer a adesão de restaurações compostas à dentina.

Palavras-chave: Peróxido de hidrogênio; Antissépticos Bucais; Adesivos dentinários; Resinas compostas; Rugosidade superficial; Dureza; Cor; Materiais Dentários.

Silva DO. Effects of hydrogen peroxide in mouth washes on the effectiveness of universal adhesives on the surface of dentin and enamel [PhD thesis in Dentistry]. São Luís. CEUMA University in association with Federal University of Uberlândia; 2023.

ABSTRACT

Hydrogen peroxide (HP) is a widely studied substance in Dentistry, used as an antiseptic and antibacterial agent, as well as for teeth whitening. Patients increasingly prioritize aesthetic requirements, and therefore, the market has launched over-the-counter products with HP concentrations ranging from 0.75% to 3%, such as mouthwashes. However, the need to evaluate the effects of unsupervised and continuous use of these products arises, as it can be harmful to patients since it has not been studied whether continuous use can affect the adhesive interface or the physical, mechanical, and optical properties of composite resin restorations already present in the oral environment. This study aimed to evaluate the effect of continuous use of HP-based mouthwashes on the efficacy of universal adhesives bonding to dentin surfaces and on the physical properties of composite resins. In the first part of the study, 384 human third molars were treated with HP-based mouthwashes, Safe Smile and OX-19, for 1, 7, 15, and 30 days, and then restored with Scotchbond Universal and Ambar Universal universal adhesives. Microtensile bond strength, nanoleakage, and degree of conversion of restored teeth were evaluated. Data were subjected to a three-way analysis of variance (ANOVA) and Tukey's test ($\alpha = 0.05$) for each evaluated property. The results showed that even at low concentrations, the continuous and prolonged use of an HP-based mouthwash affects the microtensile bond strength and degree of conversion of universal adhesives in dentin. In the second part of the study, the effect of HP-based mouthwashes on the surface roughness, Vickers hardness, and color change of composite resins was evaluated. 240 samples of Opallis and Z350 composite resins were divided into 24 experimental groups according to the application of Safe Smile and OX-19 HP-based mouthwashes for 1, 7, 15, and 30 days. Data were subjected to a

three-way analysis of variance (ANOVA) and Tukey's test ($\alpha = 0.05$) for each evaluated property. The results showed that prolonged use of HP-based mouthwashes increases the surface roughness and decreases the Vickers hardness of composite resins, but does not affect their color. Therefore, continuous use of HP-based mouthwashes should be monitored to avoid compromising the adhesion of composite restorations to dentin.

Key-words: Hydrogen peroxide; Mouthwashes; Dentin-Bonding Agents; Composite resins; Surface roughness; Hardness; Color; Dental Materials .

1. INTRODUÇÃO

O peróxido de hidrogênio (PH) é uma substância amplamente estudada na Odontologia, sendo utilizada tanto como agente antisséptico e antibacteriano quanto para realizar o clareamento dental.^{1,2} O PH quando utilizado em baixa concentração, apresenta função antisséptica e antibacteriana, apresenta amplo espectro contra bactérias gram-positivas e gram-negativas, além de esporos bacterianos, vírus e leveduras.³ O PH em alta concentração (10% a 40%) em materiais odontológicos são utilizados apenas com finalidade para clareamento dental. Sabe-se que em alta concentração o PH penetra no dente produzindo radicais livres que quebram macromoléculas de pigmentos em moléculas menores que saem por difusão dos dentes, resultando no clareamento dental.⁴

Na busca pela estética a restauração direta dos dentes é um dos tratamentos mais comuns no consultório odontológico. Com isso aumenta o uso de materiais restauradores que agregam eficácia mecânica e estética na prática clínica.⁵ Os materiais de eleição são adesivos dentinários e resinas compostas para procedimentos restauradores diretos.

A eficácia e a longevidade da interface adesiva determinam o sucesso clínico das restaurações de resina composta, por isso a escolha de um adesivo é tão importante.⁶ Sua função é promover uma eficaz adesão a estrutura dental e que tenha resistência a aguentar todas as forças físico mecânicas que esse material possa sofrer na cavidade bucal.^{6,7} São utilizados em restaurações diretas, indiretas, pinos estéticos, próteses adesivas e colagem de braquetes ortodônticos. Os adesivos universais podem ser utilizados em vários tipos de substratos além da possibilidade por ser usados tanto no modo condicionamento total (condicionamento e enxague), considerado o padrão ouro apesar de ter uma maior sensibilidade na técnica devido ao seu maior número de passos, quanto no modo autocondicionante, graças ao número reduzido de etapas de aplicação e flexibilidade.^{6,7} Com essas possibilidades de materiais adesivos é de suma importância o dentista ter conhecimento sobre o mecanismo de seus diversos tipos.

As resinas compostas desempenham um papel significativo na odontologia restauradora contemporânea como resultado do crescente desejo

por restaurações esteticamente agradáveis e que preserve ao máximo a estrutura remanescente do dente.⁸ As resinas compostas além de sofrerem com forças mastigatórias na boca, forças induzidas por estresse, placa e impactos bacterianos, bem como os efeitos de alimentos e bebidas,⁵ devem recuperar esteticamente a estrutura dental. Vale lembrar que esse material desenvolve esse papel eficazmente garantindo uma longevidade desse tratamento restaurador. Com a evolução das resinas compostas, existe uma variedade de marcas comerciais com diferentes composições. Um dos fatores que influencia na escolha é o tamanho da sua partícula de carga. A escolha entre esses materiais dependerá da situação clínica, preferências do profissional e evidências de estudos clínicos. Dentre as possibilidades existem as resinas compostas nanohíbridas e nanoparticuladas. Essas resinas têm na sua composição partículas inorgânicas com medida menor que 100 nanômetros.^{8,5} O tamanho e a composição das partículas de carga mostraram que são fatores a serem considerados pois influencia na rugosidade, manchamento e contração de polimerização das restaurações^{8,5} que são quesitos bastante relevantes tanto para o dentista quanto para o paciente.

Os pacientes cada vez mais buscam por dentes alinhados e brancos, e por isso o mercado tem lançado produtos de livre venda com concentração de PH que pode variar de 0,75% a 3% na modalidade de autoaplicação, podendo ser tanto para tratamento periodontal quanto para clareamento dental.^{1,9} como os enxaguantes bucais. Esses agentes normalmente atuam no controle químico de biofilmes cariogênicos e possuem ação terapêutica remineralizadora^{10,11}, mas também são utilizados com finalidade estética com fins clareadores. A composição dos enxaguantes bucais varia de acordo com o fabricante e a finalidade, podendo conter água, agentes microbianos, sais, conservantes e, em alguns casos, álcool.¹²

No entanto, esses tratamentos não supervisionados e de uso contínuo podem interferir na durabilidade dos tratamentos restauradores já que existem poucos estudos que avaliem se o uso contínuo pode afetar a interface adesiva ou as propriedades físicas, mecânicas e ópticas das restaurações em resina composta já presente no meio bucal.

Portanto, este estudo tem como objetivo avaliar o impacto do uso contínuo de enxaguantes bucais contendo PH na adesão dentinária e nas propriedades físicas e mecânicas da resina composta.

2.CAPÍTULO 1

ARTIGO 1

Article submitted for publication in The Journal of Adhesive Dentistry

Effects of hydrogen peroxide present in mouthwashes on bonding efficacy of universal adhesives to dentin surface

ABSTRACT

Purpose: To evaluate the effects of the repeated use of hydrogen peroxide (HP)-based mouthwashes on the bonding efficacy of universal adhesives for bonding to dentin surfaces.

Material and methods: In this study, 384 human third molars were divided into 48 experimental groups according to the application of two HP-based mouthwashes for 1, 7, 15, and 30 days. The adhesives included Scotchbond Universal and Ambar Universal adhesives, and the adhesive strategies were etch-and-rinse and self-etch. Additionally, for each mouthwash protocol, one group without mouthwash and another group which underwent in-office bleaching were used as positive and negative controls, respectively. Teeth were treated separately in each mouthwash protocol, and after that, they were restored and tested for their microtensile bond strength (μ TBS), nanoleakage (NL), and degree of conversion (DC). The data were subjected to a three-way analysis of variance (ANOVA) and Tukey's test ($\alpha = 0.05$) for each evaluated property.

Results: A significant decrease in the μ TBS was observed for both mouthwashes (15 and 30) relative to the negative control group ($p = 0.0001$). However, both groups showed higher μ TBS values than those for the in-office bleaching group ($p < 0.0001$). Regarding the NL, a significant increase in the NL values was observed for both mouthwashes (30) when compared to the negative control group ($p < 0.01$). Moreover, both mouthwash (15 and 30) groups showed lower NL to dentin values when compared to in-office bleaching ($p < 0.01$).

Conclusion: Even at low concentrations, the continuous and prolonged use of an HP-based mouthwash affects the μ TBS and DC values and leads to an increase in the NL of the universal adhesives in the dentin.

Keywords: Universal adhesives; Bond strength; Whitening Agent; Nanoleakage; Degree of conversion.

INTRODUCTION

Over the last few years, the increased demand for dental bleaching treatments has triggered research to elucidating the efficacy of bleaching techniques.^{3,5,40} Dental bleaching use hydrogen peroxide (HP) as common active ingredient in different concentrations that can be applied directly to the dental structure.^{3,13} Due to the low molecular mass, HP molecules can by penetrates rapidly through enamel and dentin porosities^{21, 26, 28} breaking the weak bonds between chromogenic molecules and organic matrix into smaller, less complex, and lighter molecules resulting dental bleaching.²⁷

There are three fundamental approaches of dental bleaching: dentist-supervised home bleaching; in-office bleaching; and mass market products, also known as over-the-counter products.^{12,13} These products are a low-cost alternative for white discolored teeth without dentist supervision.¹²⁻¹⁴ Usually contain low levels of HP (0.75% - 3%) that are self-applied to the teeth via strips, paint-on products, toothpastes, or mouthwashes products and they commonly require daily applications for several weeks.²²

In this context, mouthwashes are very popular oral hygiene agents because could act to chemically control cariogenic biofilms and have remineralizing therapeutic properties. Due to the increased concern of patients in recent years about dental esthetics, the number of mouthwash products containing HP has risen significantly.²⁵ One of them is a mouthwash with 1.5% HP Safe Smile (SS) from FGM for daily use, and OX-19 (OX), also from FGM with 0.75% HP.

However, according to the American Dental Association, these unsupervised treatments can be harmful for patients in cases of abuse or use in nonindicated cases.¹ Additionally, it is well-known from the literature the detrimental effects caused by previous applications of HP in high concentration during tooth whitening on the post-bonding to the enamel and dentin are also

well-known.^{22,23} It is believed that reactive oxygen species residues left from the bleaching gels could interfere with the monomer infiltration into the etched dentin and/or inhibit polymerization.^{23,37} However, to the extent of the author's knowledge, the effects of HP-based mouthwashes on dentin bonding with repeated use has not been adequately studied.

Therefore, this *in vitro* study evaluated the effect of repeated use of the HP present in two HP-based mouthwashes on the bonding efficacy of universal adhesives to dentin surfaces. The null hypotheses to be tested were that the accumulation of HP after use of mouthwash would not influence 1) the dentin bond strength; 2) the silver nitrate uptake to the dentin interface; and 3) the *in situ* degree of conversion (DC) in the adhesive interface formed with the dentin.

MATERIAL AND METHODS

Tooth selection and preparation

In this study, 384 third molars were considered for examination. The teeth were collected according to the guidelines of the Ethics Committee of the local university (#4.935.775). They were disinfected in 1% thymol and stored in distilled water until use.

The third occlusal crowns of the human molars were removed under water cooling, and a diamond saw was used on a cut machine (Isomet, Burhler, Lake Bluff, IL, USA) to obtain a flat dentin surface. The occlusal portion surrounding the enamel was removed with a diamond bur (#3195; KG Sorensen, Barueri, SP, Brazil) in a high-speed handpiece with water cooling. The enamel-free, exposed dentin surfaces were further polished on wet #600-grit silicon carbide paper for 60s to standardize the smear layer.

Experimental design and groups

After preparation, the specimens (n = 8 per group) were randomly assigned to 48 experimental groups as follows: mouthwash protocol with OX or SS for 1, 7, 15, and 30 days; adhesive: 1- Scotchbond Universal [SBU - 3M Oral Care, St Paul, MN, USA] or 2- Ambar APS Universal (AMB - FGM, Joinville, SC, Brazil); and adhesive strategy: etch-and-rinse (ER) or self-etch (SE). Additionally,

for each mouthwash protocol, a group without a mouthwash protocol and a group with application of Whiteness HP 35% were used as negative and positive control groups, respectively.

Mouthwash protocols

The teeth were distributed according to the experimental groups and were immersed separately in 15 mL of SS or OX for 30s daily according to the manufacturer instruction's.¹⁷ For OX was diluted at a 1:20 ratio (for example, 50 ml of OX to 1 L of water). In both mouthwashes, the pH solutions were monitored and renewed daily.

Bleaching procedure

The dentin substrates were bleached with an in-office agent (Whiteness HP 35%, FGM) following the manufacturer's instructions. One drop of a thickener and three drops of HP were mixed using a spatula until a uniform gel was formed. The gel was applied on the surfaces of the specimens and left for 15 min; then, the specimens were washed thoroughly and dried gently. This procedure was repeated three times. After the last application, the specimens were placed in an individual receptacle with distilled water and stored at 37°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) for 7 days. The bleaching procedure were performed for 3 weeks being one session each week.

Restorative procedure and resin-dentin microtensile bond strength (μTBS)

After respective treatment, all specimens were rinsed, and the dentin surface were kept slightly moist. Then, the adhesive systems were applied according to the manufacturer's instructions (Table 1). After the bonding procedures, a restoration with a composite resin (Opallis, shade A2, FGM) was constructed on the bonded surfaces in two 2 mm increments, totaling 4 mm, individually light-cured with an LED unit set at 1200 mW/cm² (Valo, Ultradent) for 20s.

They were stored in distilled water at 37°C for 24h, and then were sectioned into mesio-distal and buccal-lingual areas across the bonding interface using a cutting machine (Isomet, Buehler, Lake Bluff, IL, USA) to obtain resin-

dentin sticks with a cross-sectional area of approximately 0.8 mm² as measured by a digital caliper (Digimatic Caliper, Mitutoyo, Tokyo, Japan).

After 24h, the bonded beams were attached to a notched Geraldelli jig with a cyanoacrylate adhesive, and were stressed under tension (Kratos Dinamometros, Cotia, São Paulo, Brazil) at 0.5 mm/min until failure. The bond strengths were calculated by dividing the load at failure by the cross-sectional bonding area.

All of the fractured bonded sticks were analyzed using a digital microscope at 100x (Olympus SZ40, Tokyo, Japan), and the failure modes were classified as follows: (1) cohesive ([C] failure exclusive within resin composite or dentin), (2) adhesive ([A] failure at the resin-dentin interface), and (3) mixed ([M] failure inside any of the bonded substrates).

The bonded beams were divided as follows: three bonded beams per tooth and from each experimental condition group were tested after 24h of water storage to evaluate the nanoleakage (NL) test, and the rest of the bonded beams were tested after 24h of water storage to evaluate the microtensile bond strength (μ TBS).

Nanoleakage (NL)

For this test, three bonded sticks per tooth were selected from each experimental group not used in the μ TBS test. The sticks were placed in ammoniacal silver nitrate in darkness for 24h, rinsed thoroughly in distilled water, and then immersed in a photo-developing solution for 8h under fluorescent light to reduce the silver ions into metallic silver grains within the voids along the bonded interface.

Subsequently, the specimens were polished down with 2500-grit silicon carbide paper; then, they were ultrasonically cleaned, air dried, mounted on stubs, and coated with carbon-gold (MED 010, Balzers Union, Balzers, Liechtenstein), and the resin-dentin interfaces were analyzed using a field-emission scanning electron microscope (SEM) operating in the secondary electron mode (SSX-500, Shimadzu, Tokyo, Japan). Three SEM images of each specimen were captured, and the relative percentages of NL along the adhesive and hybrid layers were evaluated.

In situ degree of conversion (DC)

For this test, three bonded sticks per tooth from each experimental group not used in the μ TBS and NL tests were wet-polished, ultrasonically cleaned, and positioned in the micro-Raman equipment (XploRA ONE™ Raman microscope, HORIBA Scientific, New Jersey, NY, USA). This equipment was calibrated internally for zero using the silicon standard sample provided by the manufacturer. The Raman microscope was configured with the following settings: a 680-nm diode laser, 100x objective lens, 600-lines/mm grating centered between 400 and 2000 cm^{-1} , 100 mW of power, 3 μm of spatial resolution, 1 cm^{-1} of spectral resolution, and 25s of accumulation time (three co-additions). The spectra were captured at the adhesive-dentin interface at three random sites per bonded stick within the hybrid layer in intertubular-infiltrated dentin, and the values were averaged for statistical purposes. The spectra of the non-polymerized adhesives were captured as references. The ratios of the aliphatic and aromatic peak intensities at 1639 cm^{-1} and 1609 cm^{-1} , respectively, in the cured and uncured adhesives were used for the DC calculation.

Statistical analysis

The mean μ TBS (Mpa), Nanoleakage (NL), and DC (%) values of all bonded sticks from the same tooth were averaged for statistical purposes; thus, the experimental unit was a tooth. Prematurely failed specimens were included in the tooth mean for statistical analysis. The value attributed to these specimens was arbitrary and corresponded to approximately half of the minimum bond strength measured.^{31 32} In this study, the value was 4.0 MPa .

All data were initially submitted to the Kolmogorov-Smirnov test to verify that the data had a normal distribution, and the Bartlett test was used to determine equality of the variance. After these confirmations, the μ TBS to dentin values for the OX and SS, as well as the NL and DC to dentin values for the OX and SS, were subjected to a three-way analysis of variance (adhesive, strategy, and groups) and Tukey's test for the pairwise comparison. All analyses were performed at a significance level of 5% ($\alpha = 0.05$) using SigmaPlot version 11.0 (Systat Software, San Jose, CA, USA).

RESULTS

Resin-dentin interface evaluation

The majority of the specimens can be classified as having adhesive/mixed failures (97%). A low percentage of cohesive failures (1%) and premature failures (2%) are observed in the dentin for all adhesives and adhesive strategies (Figure 1 and 2). Regarding the μ TBS, the cross-product interactions are not significant, nor are they the main factor in the adhesives ($p = 0.87$ and $p = 0.68$, respectively) and strategies ($p = 0.82$ and $p = 0.56$, respectively) for OX and SS. However, the primary factor group is considered as statistically significant (Table 2 and 3; $p = 0.0001$ for OX and $p = 0.00001$ for SS). A significantly lower μ TBS-to-dentin value is observed when the in-office bleaching is applied relative to all of the other groups (Table 2 and 3). When OX and SS are evaluated, the application of OX or SS once (OX1/SS1) or seven days (OX7/SS7) does not affect the μ TBS to the dentin when compared to the negative control group ($p > 0.32$; Table 2 and 3). In contrast, a significant decrease in the μ TBS to the dentin is observed for OX15/SS15 and OX30/SS30 when compared to the negative control group ($p = 0.0001$). However, both groups show higher μ TBS to dentin values than in the group with in-office bleaching ($p < 0.0001$; Table 2 and 3).

NL evaluation

Regarding the NL, the cross-product interactions are not significant, nor are they the main factor in the adhesives ($p = 0.92$ and $p = 0.88$, respectively) and strategies ($p = 0.89$ and $p = 0.78$, respectively) for OX and SS (Table 4 and 5). However, the primary factor group is considered as statistically significant (Table 4 and 5; $p = 0.001$ for OX and $p = 0.0001$ for SS). Significant and higher NL values in the resin-dentin interfaces is observed when in-office bleaching is applied relative to all of the groups (Table 4 and 5). When the OX and SS are evaluated, the application of OX or SS once (OX1/SS1), seven days (OX7/SS7), or 15 days (OX15/SS15) does not affect the NL values at the resin-dentin interfaces when compared to the negative control group ($p > 0.55$). However, a significant increase in the NL values in the resin-dentin interfaces is observed for the OX30/SS30 groups when compared to the negative control group ($p < 0.01$).

Nevertheless, the OX30/SS30 groups show lower NL values at the resin-dentin interfaces when compared to the group with in-office bleaching ($p < 0.01$; Table 4 and 5). Some images of the NL of different experimental conditions are shown in Figure 3.

In situ DC evaluation for OX and SS

Regarding the DC, the cross-product interactions are not significant, nor are they the main factor in the adhesives ($p = 0.37$ and $p = 0.48$, respectively) and strategies ($p = 0.54$ and $p = 0.61$, respectively) for the OX and SS (Table 6 and 7). However, the primary factor group is considered as statistically significant (Table 6 and 7; $p = 0.0001$ for OX and $p = 0.0001$ for SS). Significant and lower in situ DC values are observed when in-office bleaching is applied in comparison with all of the other groups (Table 6 and 7). When the OX and SS are evaluated, the application of OX or SS once (OX1/SS1) or seven days (OX7/SS7) does not affect the in situ DC to dentin values when compared to the negative control group ($p > 0.38$). However, a significant decrease in the in situ DC to dentin values is observed at 15 days (OX15/SS15) or 30 days (OX30/SS30) when compared to the negative control group ($p < 0.0001$). Furthermore, the OX30/SS30 groups showed higher in situ CD values for dentin when compared to the in-office bleaching group ($p < 0.0001$; Tables 6 and 7).

DISCUSSION

The use of HP in dentistry is not new. HP is frequently used in dental offices during bleaching procedures. However, several studies have demonstrated that the bonding properties to dental tissues can be compromised by previous bleaching treatments, particularly when the restoration is performed immediately after bleaching.^{35, 38} This occurs owing to the presence of oxygen and free radicals released from the HP that might remain trapped inside the dental structure and inhibit the polymerization of the adhesives.^{16, 23} These areas of lower polymerization can be attributed to incomplete adhesive polymerization, but also to excess solvent and water not removed in the solvent evaporation step, and/or the incomplete penetration of the monomers into the dentin.¹¹ These problems cause the formation of a porous zone, and this porosity (within the adhesive and/or hybrid layer) may lead to crack initiation and a consequent lack

of bonding, as reflected by the reduced bond strength values observed in the present study for the in-office group in comparison with the negative control group.^{4, 8, 39}

In addition, the presence of HP molecules has been associated with undesirable morphological alterations and changes in the composition of dentin²⁴ and could be associated with a decrease in the mechanical properties of the dentin substrate¹⁰, thereby jeopardizing the bond strength values even more when in-office bleaching is applied.

However, these results occur when HP is used at higher concentrations.^{4, 6} The mouthwashes evaluated in the present study contained 0.75% (OX) and 1.5% (SS) of HP in their composition, that is, less than 5% of the HP concentration commonly used during in-office bleaching. Nevertheless, when a lower HP concentration is used in the mouthwashes, the cumulative effect of the frequency of use could have a deleterious effect on the bonding properties. To the best of our knowledge, no previous studies have evaluated the effects of the repeated use of low-concentration HP mouthwashes on the bonding properties of dentin.

Using the OX and SS once (OX1/SS1) or seven days (OX7/SS7) did not result in any deleterious effects on the bond strength, NL, or DC values when compared to the negative control group, leading the authors to partially reject all null hypotheses.

It is known that teeth have cytoplasmic extensions of the odontoblasts, dentinal fluid, and enzymes that could prevent or hinder the penetration of HP molecules through the dentinal tubules^{15,20, 36}, especially at lower concentrations. Additionally, several studies have demonstrated that the OH⁻ molecule is very unstable and rapidly decomposes into oxygen and water, a process catalyzed by an enzyme system present in almost all tissues and body fluids.⁷ Thus, the authors of the present study hypothesized that, owing to the lower concentration as associated with the reduced contact time (one and seven days), there was not enough HP in both groups (OX and SS) to jeopardize the DC between the adhesives. Therefore, there were no voids to be filled with silver nitrate, and no damage was observed to the bond strength.

However, when a consecutive and prolonged application time of both mouthwashes was evaluated, as in the OX15/SS15 and OX30/SS30 groups, a significant difference was observed. Considering the continuous application of the mouthwashes, an explanation for these findings may be the greater presence of residual oxygen on the surface dentin, which may compete with the propagation of vinyl free radicals generated during the photoactivation of the adhesive. This is associated with a higher amount of OH⁻ molecules diffused inside the interprismatic spaces in the dentinal tubules, thereby hampering the DC.^{8, 23, 30}

In contrast to in-office bleaching when all amounts of HP are applied at once, it seems that these protocols (OX15/SS15 and OX30/SS30 groups) make the dentin a peroxide/oxygen reservoir, promoting a constant oxygen liberation, and inhibiting the polymerization of resins that cure via a free-radical mechanism.³⁴ Moreover, they interfere in the resin infiltration, contributing to the increase in NL and decrease in bond strength, leading the authors to partially accept all null hypotheses. However, although the OX15/SS15 and OX30/SS30 groups contributed to lower bonding properties, the harm was less than when in-office bleaching was applied.

Regarding the protocol application, universal adhesives were developed to allow their uses in different strategies, as required by the clinical situation.⁴¹ The results of the present study showed that, independent of the etching mode, a similar bond strength is found for ER relative to that of the SE strategy for all groups evaluated; this is in agreement with previous reports in the literature.^{19, 33} It is a fact that the ER strategy is still considered the gold standard for archiving the bond strength, but the high sensitivity, risk of over-etching or under-rinsing, and possibility of excessively moisturizing or drying the dentin are disadvantages of this protocol.⁹ In contrast, SE strategies do not require a separate acid etching step or post-rinse moisture control; therefore, they are considered as less technique-sensitive.²⁹ In addition, SE adhesives are claimed to have other advantages, such as a reduced working time in the patient's mouth, and a reduced postoperative sensitivity.¹⁸ At any rate, several studies demonstrate good results in long-term bonding from both strategies.

In summary, the results of the present study show that the continuous and prolonged use of mouthwash (15 or 30 days) can affect the bonding properties of universal adhesives to dentin. However, further studies are required to evaluate the effects of long-term water storage.

CONCLUSION

Even at low concentrations, the continuous and prolonged use of mouthwashes containing HP may affect the DC of the universal adhesives in dentin, as well as their bond strength and NL.

ACKNOWLEDGMENT

The authors are grateful to the Universidade CEUMA and Universidade Federal do Maranhão for the support provided. This study was performed by Daniella de Oliveira da Silva as partial fulfillment of his doctoral degree at the Universidade CEUMA, São Luís, MA, Brazil. Thys study was partially support by National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) under grant 308286/2019-7 and the State Foundation of Support to Research, Scientific and Technological Development of Maranhão from the State Government of Maranhão (FAPEMA) under grants 01811/21 and 01797/21.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Even at low concentration, the HP contains in mouthwashes of daily use could prejudice the adhesive properties of universal adhesives in dentin.

REFERENCES

1. Affairs ACoS. Tooth Whitening/Bleaching: Treatment Considerations for Dentists and Their Patients American Dental Association. Chicago, IL, 2009.
2. Attin T, Hannig C, Wiegand A, Attin R. Effect of bleaching on restorative materials and restorations--a systematic review. *Dent Mater* 2004;20:852-861.
3. Auschill TM, Schneider-Del Savio T, Hellwig E, Arweiler NB. Randomized clinical trial of the efficacy, tolerability, and long-term color stability of two bleaching techniques: 18-month follow-up. *Quintessence Int* 2012;43:683-694.
4. Barcellos DC, Benetti P, Fernandes VV, Jr., Valera MC. Effect of carbamide peroxide bleaching gel concentration on the bond strength of dental substrates and resin composite. *Oper Dent* 2010;35:463-469.
5. Bernardon JK, Sartori N, Ballarin A, Perdigao J, Lopes GC, Baratieri LN. Clinical performance of vital bleaching techniques. *Oper Dent* 2010;35:3-10.

6. Bittencourt ME, Trentin MS, Linden MS, de Oliveira Lima Arsati YB, França FM, Flório FM, Basting RT. Influence of in situ postbleaching times on shear bond strength of resin-based composite restorations. *Journal of the American Dental Association* (1939) 2010;141:300-306.
7. Bowles WH, Burns H, Jr. Catalase/peroxidase activity in dental pulp. *J Endod* 1992;18:527-534.
8. Cadenaro M, Breschi L, Antonioli F, Mazzoni A, Di Lenarda R. Influence of whitening on the degree of conversion of dental adhesives on dentin. *Eur J Oral Sci* 2006;114:257-262.
9. Cardoso GC, Nakanishi L, Isolan CP, Jardim PDS, Moraes RR. Bond Stability of Universal Adhesives Applied To Dentin Using Etch-And-Rinse or Self-Etch Strategies. *Brazilian dental journal* 2019;30:467-475.
10. Cavalli V, Shinohara MS, Ambrose W, Malafaia FM, Pereira PN, Giannini M. Influence of intracoronar bleaching agents on the ultimate strength and ultrastructure morphology of dentine. *Int Endod J* 2009;42:568-575.
11. Chimeli TB, D'Alpino PH, Pereira PN, Hilgert LA, Di Hipólito V, Garcia FC. Effects of solvent evaporation on water sorption/solubility and nanoleakage of adhesive systems. *Journal of applied oral science : revista FOB* 2014;22:294-301.
12. da Rosa G, Maran BM, Schmitt VL, Loguercio AD, Reis A, Naufel FS. Effectiveness of whitening strips use compared with supervised dental bleaching: A systematic review and meta-analysis. *Oper Dent* 2020;45:E289-E307.
13. de Geus JL, Wambier LM, Kossatz S, Loguercio AD, Reis A. At-home vs In-office Bleaching: A Systematic Review and Meta-analysis. *Oper Dent* 2016;41:341-356.
14. Demarco FF, Meireles SS, Masotti AS. Over-the-counter whitening agents: a concise review. *Braz Oral Res* 2009;23 Suppl 1:64-70.
15. Esposito P, Varvara G, Murmura G, Terlizzi A, Caputi S. Ability of healthy and inflamed human dental pulp to reduce hydrogen peroxide. *Eur J Oral Sci* 2003;111:454-456.
16. Ferreira EA, Souza-Gabriel AE, Silva-Sousa YT, Sousa-Neto MD, Silva RG. Shear bond strength and ultrastructural interface analysis of different adhesive systems to bleached dentin. *Microscopy research and technique* 2011;74:244-250.
17. FGM. SafeSmile. 2020, 2020.
18. Giannini M, Makishi P, Ayres AP, Vermelho PM, Fronza BM, Nikaido T, Tagami J. Self-etch adhesive systems: a literature review. *Braz Dent J* 2015;26:3-10.
19. Hanabusa M, Mine A, Kuboki T, Momoi Y, Van Ende A, Van Meerbeek B, De Munck J. Bonding effectiveness of a new 'multi-mode' adhesive to enamel and dentine. *J Dent* 2012;40:475-484.
20. Hanks CT, Fat JC, Wataha JC, Corcoran JF. Cytotoxicity and dentin permeability of carbamide peroxide and hydrogen peroxide vital bleaching materials, in vitro. *J Dent Res* 1993;72:931-938.
21. Haywood VB. History, safety, and effectiveness of current bleaching techniques and applications of the nightguard vital bleaching technique. *Quintessence Int* 1992;23:471-488.

22. Joiner A. The bleaching of teeth: a review of the literature. *J Dent* 2006;34:412-419.
23. Lai SC, Mak YF, Cheung GS, Osorio R, Toledano M, Carvalho RM, Tay FR, Pashley DH. Reversal of compromised bonding to oxidized etched dentin. *J Dent Res* 2001;80:1919-1924.
24. Lewinstein I, Fuhrer N, Churaru N, Cardash H. Effect of different peroxide bleaching regimens and subsequent fluoridation on the hardness of human enamel and dentin. *J Prosthet Dent* 2004;92:337-342.
25. Maltz M. Over-the-counter preventive and therapeutic oral products. *Braz Oral Res* 2009;23 Suppl 1:4-7.
26. Marson FC, Goncalves RS, Silva CO, Cintra LT, Pascotto RC, Santos PH, Briso AL. Penetration of hydrogen peroxide and degradation rate of different bleaching products. *Oper Dent* 2015;40:72-79.
27. McEvoy SA. Chemical agents for removing intrinsic stains from vital teeth. II. Current techniques and their clinical application. *Quintessence Int* 1989;20:379-384.
28. Mena-Serrano AP, Garcia E, Luque-Martinez I, Grande R, Loguercio AD, Reis A. A single-blind randomized trial about the effect of hydrogen peroxide concentration on light-activated bleaching. *Oper Dent* 2016;41:455-464.
29. Munoz MA, Luque I, Hass V, Reis A, Loguercio AD, Bombarda NH. Immediate bonding properties of universal adhesives to dentine. *J Dent* 2013;41:404-411.
30. Nunes TG, Ceballos L, Osorio R, Toledano M. Spatially resolved photopolymerization kinetics and oxygen inhibition in dental adhesives. *Biomaterials* 2005;26:1809-1817.
31. Reis A, Grande RH, Oliveira GM, Lopes GC, Loguercio AD. A 2-year evaluation of moisture on microtensile bond strength and nanoleakage. *Dent Mater* 2007;23:862-870.
32. Reis A, Loguercio AD, Azevedo CL, de Carvalho RM, da Julio Singer M, Grande RH. Moisture spectrum of demineralized dentin for adhesive systems with different solvent bases. *J Adhes Dent* 2003;5:183-192.
33. Rosa WL, Piva E, Silva AF. Bond strength of universal adhesives: A systematic review and meta-analysis. *J Dent* 2015;43:765-776.
34. Sasaki RT, Flório FM, Basting RT. Effect of 10% sodium ascorbate and 10% alpha-tocopherol in different formulations on the shear bond strength of enamel and dentin submitted to a home-use bleaching treatment. *Operative dentistry* 2009;34:746-752.
35. Shinohara MS, Peris AR, Pimenta LA, Ambrosano GM. Shear bond strength evaluation of composite resin on enamel and dentin after nonvital bleaching. *Journal of esthetic and restorative dentistry : official publication of the American Academy of Esthetic Dentistry [et al]* 2005;17:22-29; discussion 29.
36. Soares DG, Ribeiro AP, da Silveira Vargas F, Hebling J, de Souza Costa CA. Efficacy and cytotoxicity of a bleaching gel after short application times on dental enamel. *Clin Oral Investig* 2013;17:1901-1909.
37. Souza-Gabriel AE, Vitussi LO, Milani C, Alfredo E, Messias DC, Silva-Sousa YT. Effect of bleaching protocols with 38% hydrogen peroxide and post-bleaching times on dentin bond strength. *Brazilian dental journal* 2011;22:317-321.

38. Spyrides GM, Perdigão J, Pagani C, Araújo MA, Spyrides SM. Effect of whitening agents on dentin bonding. *Journal of esthetic dentistry* 2000;12:264-270.
39. Sundfeld RH, Briso AL, De Sá PM, Sundfeld ML, Bedran-Russo AK. Effect of time interval between bleaching and bonding on tag formation. *The Bulletin of Tokyo Dental College* 2005;46:1-6.
40. Torres CR, Perote LC, Gutierrez NC, Pucci CR, Borges AB. Efficacy of mouth rinses and toothpaste on tooth whitening. *Oper Dent* 2013;38:57-62.
41. Wagner A, Wendler M, Petschelt A, Belli R, Lohbauer U. Bonding performance of universal adhesives in different etching modes. *J Dent* 2014;42:800-807.

Table 1. Materials, composition, and application mode.

Material (manufacture)	Composition	Application mode	Batch number
Scotchbond Universal (SBU; 3M, Oral Care)	10-MDP phosphate monomer, dimethacrylate resins, HEMA, methacrylate-modified polyalkenoic acid copolymer, filler, ethanol, water, initiators, silane	Etch-and-rinse (ER) strategy: 1. Apply etchant for 15 s; 2. Rinse for 15 s; 3. Air dry 2 s; 4. Apply adhesive as for the self-etch mode.	1926900596
		Self-etch (SE) strategy: 1. Apply the adhesive to the entire preparation with a microbrush and rub it in for 20 s; 2. Direct a gentle stream of air over the liquid for approximately 5 s until it no longer moves and the solvent has evaporated completely; 3. Photopolymerization for 10 s.	
Ambar Universal (AMB; FGM)	UDMA, 10-MDP, photoinitiators, co-initiators, stabilizers, inert silica nanoparticles and ethanol.	ER strategy: 1. Apply etchant for 15 s; 2. Rinse for 15 s; 3. Air dry 2 s; 4. Apply adhesive as for the self-etch mode.	121217
		SE strategy: 1. Apply two coats vigorously by rubbing the adhesive for 20 s (10 s etch); 2. Gentle stream of air for 5 s to evaporate the solvent; 3. Photopolymerization for 10 s.	

Abbreviations: 10-MDP: 10-methacryloyloxydecyl dihydrogen phosphate; HEMA: 2-hydroxyethyl methacrylate; UDMA: urethane dimethacrylate.

Table 2 - Means and standard deviations of μ TBS to dentin (Mpa) for OX experimental groups (*)

Groups		Negative control group	In-office bleaching	OX1	OX7	OX15	OX30
AMB	ER	50.6 $\pm$ 2.8 A	24.5 $\pm$ 2.9 D	49.7 $\pm$ 3.2 A	49.1 $\pm$ 1.3 A	46.0 $\pm$ 3.7 B	35.8 $\pm$ 2.9 C
	SE	49.3 $\pm$ 2.6 A	24.3 $\pm$ 2.8 D	50.5 $\pm$ 3.4 A	49.8 $\pm$ 2.2 A	45.5 $\pm$ 2.5 B	33.0 $\pm$ 2.7 C
SBU	ER	51.9 $\pm$ 3.0 A	27.1 $\pm$ 3.2 D	52.7 $\pm$ 2.9 A	50.4 $\pm$ 2.6 A	47.4 $\pm$ 2.7 B	36.5 $\pm$ 2.9 C
	SE	52.7 $\pm$ 1.6 A	26.2 $\pm$ 3.1 D	51.5 $\pm$ 2.1 A	51.3 $\pm$ 2.3 A	48.2 $\pm$ 3.2 B	34.4 $\pm$ 2.5 C

(*) Different letters means differences statistically significant between groups (Three-way ANOVA; Tukey test, $p < 0.05$).

Abbreviations: ER: Etch-and-rinse; SE: Self-etch

Table 3 - Means and standard deviations of μ TBS to dentin (Mpa) for SS experimental groups (*)

Groups		Negative control group	In-office bleaching	SS1	SS7	SS15	SS30
AMB	ER	50.2 $\pm$ 2.9 A	24.9 $\pm$ 2.4 D	51.6 $\pm$ 2.5 A	52.1 $\pm$ 3.1 A	46.0 $\pm$ 3.7 B	34.5 $\pm$ 2.1 C
	SE	48.9 $\pm$ 2.2 A	24.6 $\pm$ 2.8 D	52.0 $\pm$ 2.6 A	52.2 $\pm$ 1.3 A	45.5 $\pm$ 2.5 B	34.5 $\pm$ 1.5 C
SBU	ER	51.3 $\pm$ 2.5 A	26.3 $\pm$ 2.7 D	51.4 $\pm$ 1.7 A	47.2 $\pm$ 3.2 A	47.4 $\pm$ 2.7 B	36.7 $\pm$ 2.6 C
	SE	51.9 $\pm$ 2.0 A	24.5 $\pm$ 2.9 D	49.9 $\pm$ 2.4 A	48.5 $\pm$ 2.8 A	48.2 $\pm$ 3.2 B	36.2 $\pm$ 3.0 C

(*) Different letters means differences statistically significant between groups (Three-way ANOVA; Tukey test, $p < 0.05$).

Abbreviations: ER: Etch-and-rinse; SE: Self-etch

Table 4 - Means and standard deviations of nanoleakagel (%) for OX experimental groups (*)

Groups		Negative control group	In-office bleaching	OX1	OX 7	OX 15	OX 30
AMB	ER	5.3 $\pm$ 2.1 A	17.5 $\pm$ 2.4 C	5.9 $\pm$ 2.4 A	5.7 $\pm$ 2.3 A	7.6 $\pm$ 2.2 A	12.3 $\pm$ 2.7 B
	SE	5.1 $\pm$ 2.5 A	17.6 $\pm$ 2.8 C	6.2 $\pm$ 2.3 A	6.1 $\pm$ 2.8 A	7.2 $\pm$ 2.9 A	11.7 $\pm$ 2.4 B
SBU	ER	5.6 $\pm$ 1.9 A	17.1 $\pm$ 2.9 C	6.8 $\pm$ 2.9 A	6.4 $\pm$ 2.1 A	7.3 $\pm$ 2.6 A	11.3 $\pm$ 2.6 B
	SE	4.8 $\pm$ 2.2 A	16.1 $\pm$ 2.5 C	6.9 $\pm$ 2.1 A	5.7 $\pm$ 2.2 A	7.9 $\pm$ 2.4 A	10.6 $\pm$ 2.4 B

(*) Different letters means differences statistically significant between groups (Three-way ANOVA; Tukey test, $p < 0.05$).

Abbreviations: ER: Etch-and-rinse; SE: Self-etch

Table 5 - Means and standard deviations of nanoleakage (%) for SS experimental groups (*)

Groups		Negative control group	In-office bleaching	SS1	SS7	SS15	SS30
AMB	ER	5.5 ± 1.1 A	17.2 ± 1.8 C	5.1 ± 2.0 A	6.6 ± 2.5 A	7.7 ± 2.3 A	11.4 ± 2.1 B
	SE	5.9 ± 1.9 A	17.4 ± 1.7 C	5.6 ± 2.2 A	6.9 ± 2.6 A	7.6 ± 2.2 A	10.9 ± 2.4 B
SBU	ER	5.7 ± 0.9 A	17.2 ± 2.1 C	6.0 ± 2.5 A	5.9 ± 2.5 A	7.4 ± 2.5 A	11.2 ± 2.5 B
	SE	4.7 ± 0.9 A	15.9 ± 2.2 C	5.9 ± 2.9 A	6.0 ± 2.3 A	7.1 ± 2.3 A	10.9 ± 2.4 B

(*) Different letters means differences statistically significant between groups (Three-way ANOVA; Tukey test, $p < 0.05$).

Abbreviations: ER: Etch-and-rinse; SE: Self-etch

Table 6 - Means and standard deviations of degree of conversion (%) for OX experimental groups (*)

Groups		Negative control group	In-office bleaching	OX1	OX 7	OX 15	OX 30
AMB	ER	59.39 ± 2.8 A	43.50 ± 2.1 D	63.04 ± 2.9 A	63.51 ± 3.2 A	59.10 ± 2.3 B	53.75 ± 2.3 C
	SE	60.87 ± 2.6 A	44.42 ± 2.4 D	61.58 ± 3.0 A	62.27 ± 2.7 A	58.87 ± 2.4 B	52.67 ± 1.7 C
SBU	ER	55.70 ± 2.2 A	43.23 ± 3.0 D	64.76 ± 3.6 A	63.60 ± 2.2 A	56.69 ± 2.1 B	52.49 ± 2.4 C
	SE	53.83 ± 2.1 A	44.09 ± 2.9 D	63.70 ± 3.3 A	62.29 ± 2.3 A	57.44 ± 2.3 B	53.97 ± 3.6 C

(*) Different letters means differences statistically significant between groups (Three-way ANOVA; Tukey test, $p < 0.05$).

Abbreviations: ER: Etch-and-rinse; SE: Self-etch

Table 7 - Means and standard deviations of degree of conversion (%) for SS experimental groups (*)

Groups		Negative control group	In-office bleaching	SS1	SS7	SS15	SS30
AMB	ER	64.27 ± 2.8 A	44.12 ± 2.4 D	63.18 ± 3.3 A	60.31 ± 2.5 A	56.21 ± 2.3 B	53.55 ± 1.7 C
	SE	63.10 ± 3.3 A	44.05 ± 1.9 D	62.30 ± 3.0 A	60.89 ± 2.9 A	56.40 ± 3.2 B	54.10 ± 1.1 C
SBU	ER	63.02 ± 3.2 A	43.45 ± 2.9 D	65.63 ± 2.2 A	62.44 ± 3.1 A	57.36 ± 2.6 B	53.87 ± 1.9 C
	SE	65.23 ± 2.3 A	44.35 ± 3.4 D	65.44 ± 2.1 A	61.62 ± 3.7 A	57.09 ± 2.0 B	55.91 ± 3.9 C

(*) Different letters means differences statistically significant between groups (Three-way ANOVA; Tukey test, $p < 0.05$).

Abbreviations: ER: Etch-and-rinse; SE: Self-etch

FIGURE LEGENDS

Figure 1. Fracture mode (%) for OX experimental groups. Abbreviations: ER: Etch-and-rinse; SE: Self-etch; A/M: adhesive/mixed fracture mode; C: cohesive fracture mode; PF: premature failures.

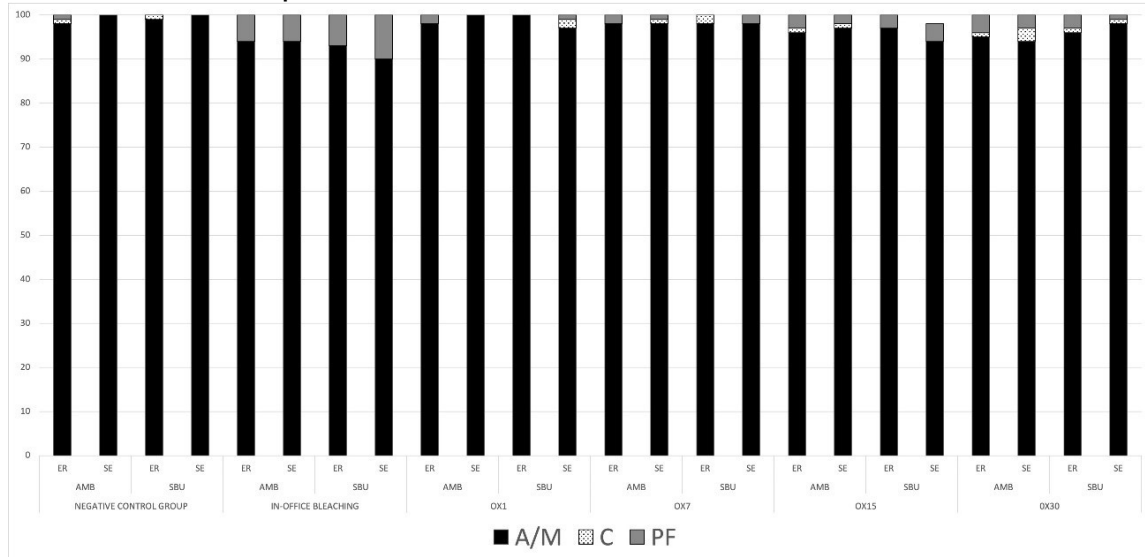


Figure 2. Fracture mode (%) for SS experimental groups. Abbreviations: ER: Etch-and-rinse; SE: Self-etch; A/M: adhesive/mixed fracture mode; C: cohesive fracture mode; PF: premature failures.

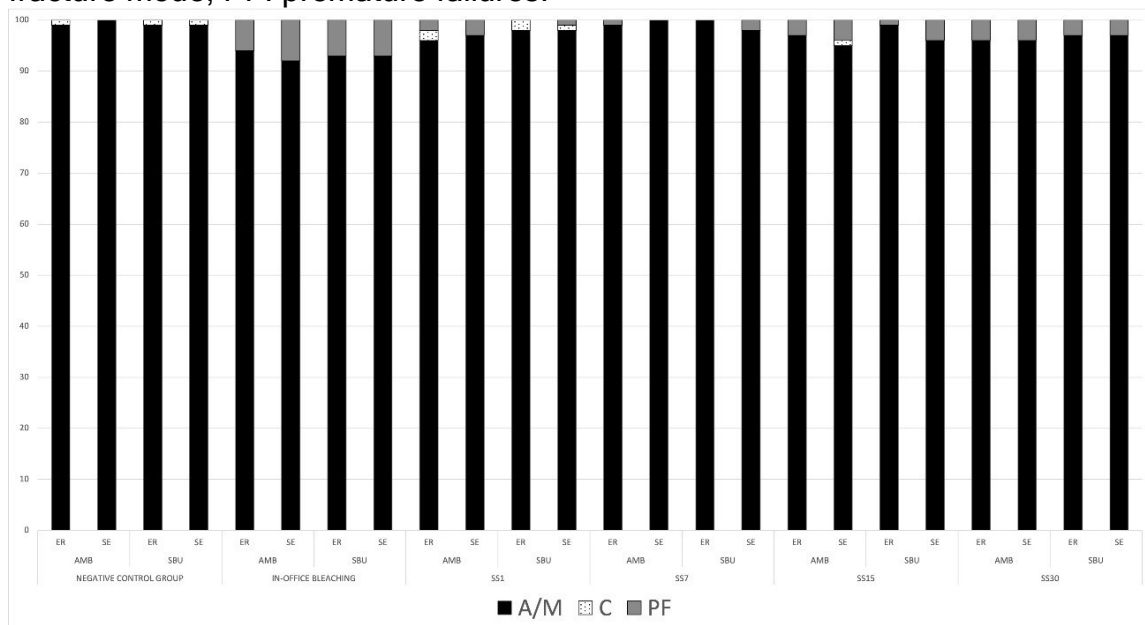
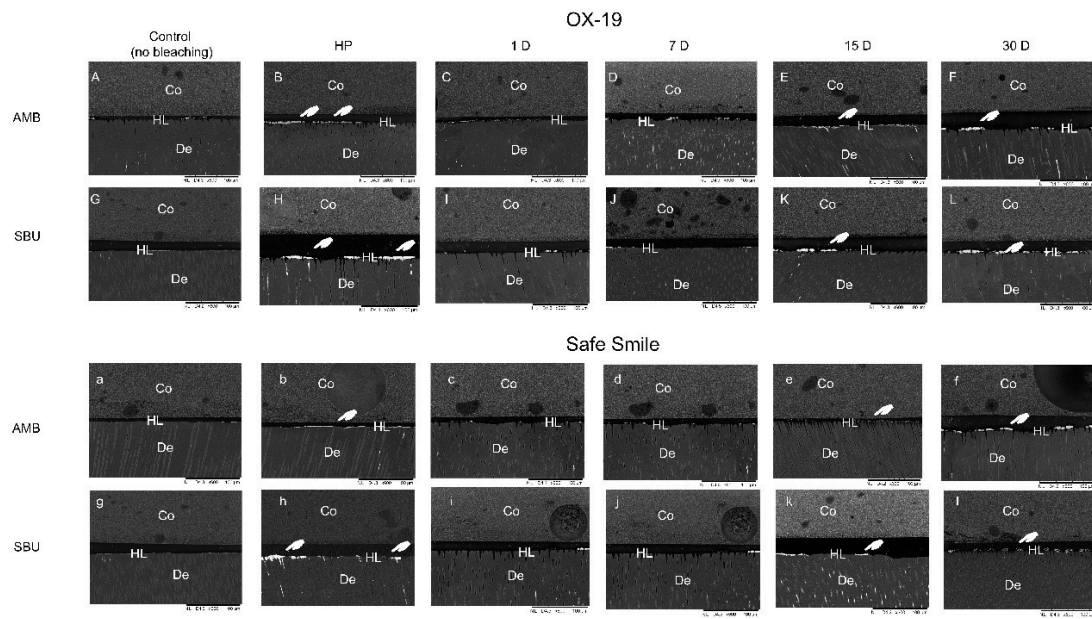


Figure 3 – Nanoleakage imagens (600x) for experimental conditions. The negative control group (hydrogen peroxide (HP)) showed a higher silver nitrate uptake occurring throughout the entire thickness of the HL (Whithe hands). A reduction of the amount of nanoleakage was observed for both adhesives in both mouthwash protocols after 1 and 7 days (1D and 7D). However, a higher amount of nitrate uptake (white hands) was observed after 15 and 30 days of OX and SS (15D and 30D)



3. CAPÍTULO 2

ARTIGO 2

Efeito do Peróxido de Hidrogênio presente em enxaguatórios bucais na Rugosidade superficial, Dureza e Alteração De Cor de resinas compostas**RESUMO**

Objetivo: Avaliar os efeitos do uso contínuo de colutórios à base de peróxido de hidrogênio (PH) na rugosidade superficial, dureza de Vickers e alteração de cor das resinas compostas.

Materiais e métodos: Neste estudo, 240 amostras de resinas compostas foram divididas em 24 grupos experimentais de acordo com a aplicação de dois colutórios à base de PH por 1, 7, 15 e 30 dias. As resinas compostas foram Opallis (nanohíbrida) e Z350 (nanoparticulada). Além disso, para cada protocolo de bochechos, um grupo controle onde não teve o bochecho e outro grupo que realizou clareamento de consultório foram usados como controles negativo e positivo, respectivamente. As amostras foram tratadas separadamente em cada protocolo de bochechos e, depois disso, foram testados quanto à dureza de Vickers (VHN), rugosidade superficial (Ra) e alteração de cor. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de três fatores e teste de Tukey ($\alpha = 0,05$) para cada propriedade avaliada.

Resultados: Um aumento significativo na Ra foi observado para ambos os bochechos (15 e 30) e ambas as resinas em relação ao grupo controle negativo ($p = 0,0001$). No entanto, ambos os grupos apresentaram valores de Ra maiores do que os do grupo de clareamento de consultório ($p < 0,0001$). Em relação a VHN, observou-se diminuição significativa nos valores de VHN para ambos os bochechos (30) da resina Opallis quando comparados ao grupo controle negativo ($p < 0,01$). Além disso, ambos os grupos de bochechos (15 e 30) apresentaram menores valores de VHN para a resina Z350 quando comparados ao controle negativo ($p < 0,01$). Não houve alteração de cor ao avaliar todas as interações.

Conclusão: O uso prolongado de enxaguante bucal com PH diminuiu a dureza de Vickers e aumentou a rugosidade superficial de resinas compostas

Palavras-chave: peróxido de hidrogênio, resina composta, dureza, rugosidade, cor.

INTRODUÇÃO

O peróxido de hidrogênio (PH) é amplamente utilizado na odontologia para reduzir a quantidade de bactérias na cavidade oral e como um agente oxidante eficaz para remoção de manchas e promover o clareamento dental.^{1,2} Como agente clareador existem três abordagens de uso: clareamento caseiro supervisionado pelo dentista; clareamento em consultório; e produtos de venda livre.^{3,4}

Esses produtos de venda livre são uma alternativa de baixo custo para se obter dentes clareados sem supervisão do dentista.³⁻⁵ Eles geralmente contêm baixos níveis de PH (0,75% - 3%) são auto aplicados pelos pacientes através de diferentes meios, como tiras, cremes dentais ou enxaguantes bucais e geralmente requerem aplicações diárias por várias semanas.⁶

Os enxaguatórios são produtos que apresentam baixo teor de PH e se popularizaram entre os pacientes que buscam a estética dental por prometer um efeito clareador e serem capazes de controlar as bactérias bucais além de possuir propriedades terapêuticas remineralizantes.¹⁻⁶ Com isso o número de produtos para bochechos contendo PH aumentou significativamente.⁷ Um deles é o colutório com 1,5% HP Safe Smile (SS) da FGM para uso diário e OX-19 (OX), também da FGM com 0,75% PH.

Por outro lado, o material restaurador mais utilizados atualmente é a resina composta devido as suas propriedades estéticas e mecânicas. Então é de suma importância avaliar como esses produtos de baixa concentração podem afetar negativamente na sua eficácia.^{8,9}

Estudos sobre o efeito de PH presente nos materiais clareadores que possuem alta concentração de PH é recorrente na literatura⁷⁻¹³, sabe-se que podem atuar deteriorando gradativamente as resinas compostas principalmente na questão da rugosidade superficial e consequentemente na alteração de cor e dureza, mesmo que clinicamente aceitáveis.⁷⁻¹³ Apesar da popularização desses enxaguantes bucais contendo PH, principalmente para fins estéticos, existem poucos estudos que avaliaram a interferência do seu uso nas propriedades dos materiais restauradores, adicionalmente esses estudos estavam mais focados

em avaliar a alteração de cor das resinas compostas^{8,9} o que não investiga se propriedades físicas importantes como a rugosidade superficial e a dureza das resinas compostas são afetadas, fatores que podem prejudicar na eficiência do tratamento restaurador.

Portanto, este estudo *in vitro* avaliou o efeito do uso contínuo de PH presente em dois colutórios à base de PH na rugosidade, dureza e mudança de cor em resinas compostas. As hipóteses nulas a serem testadas são de que o acúmulo de PH após o uso contínuo do enxaguante bucal não influenciaria 1) a rugosidade; 2) dureza; e 3) mudança de cor das resinas compostas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Desenho experimental e grupos

Duas resinas compostas foram selecionadas para esse estudo: Opallis (FGM, Joinville, SC, Brasil) e Z350 [3M Oral Care, St Paul, MN, EUA) na tonalidade A2 (tabela 1). As amostras de resina composta foram distribuídas aleatoriamente em 24 grupos experimentais da seguinte forma: protocolo de bochechos com OX ou SS (tabela 2) por 1, 7, 15 e 30 dias; resina composta: 1- Opallis (FGM, Joinville, SC, Brasil); 2- Z350 (3M Oral Care, St Paul, MN, EUA). Além disso, para cada protocolo de bochechos, um grupo sem protocolo de bochechos e um grupo com aplicação de Whiteness HP 35% foram usados como grupos controle negativo e positivo, respectivamente.

Preparação das amostras de resina

Um total de 240 amostras de resina composta (n = 10 por grupo) em forma de disco (2 mm de espessura e 10 mm de diâmetro) foram preparadas usando uma matriz metálica redonda giratória removível pela parte inferior. Depois de colocar o material de resina composta dentro do molde, uma banda de matriz transparente de Mylar foi pressionada no molde para obter uma superfície lisa na resina composta e evitar a formação de uma camada inibida por oxigênio. Em seguida, as amostras de resina composta foram fotopolimerizadas através da matriz Mylar sem qualquer distância, usando uma unidade de fotopolimerização de LED ajustada para 1200 mW/cm² (Valo,

Ultradent) por 40s em ângulo reto com a superfície. A matriz era então aberta para remoção das amostras em resina composta pela parte inferior do molde.

A densidade de potência do fotopolimerizador foi verificada repetidamente durante os testes com um radiômetro (Demetron, Kerr, EUA).

Após 24 h de armazenamento, o molde foi aberto e a superfície inferior das amostras foi marcada para fazer uma distinção entre este lado e a superfície na qual os testes foram realizados. As amostras foram polidas com papel SiC ascendente de grão 800- 1000- 1500 – 1800- 2400 por 3 min para remover a resina das superfícies superior, inferior e lateral e deixar a superfície polida. As amostras foram então limpas por ultrassom em água destilada por 3 minutos e, em seguida, armazenadas em um recipiente escuro ao ar a 37 °C por 24 horas.

Protocolo do enxaguante bucal

As resinas compostas foram distribuídas aleatoriamente de acordo com os grupos experimentais e foram imersas separadamente em 15 mL de SS ou OX por 30s diariamente de acordo com as instruções do fabricante.¹⁴ Em ambos os bochechos, o pH das soluções foi monitorado e renovado diariamente.

Procedimento do clareamento

As resinas compostas foram clareadas com um agente de consultório (Whiteness HP 35%, FGM) seguindo as instruções do fabricante. Uma gota de um espessante e três gotas de PH foram misturadas com uma espátula até formar um gel uniforme. O gel foi aplicado nas superfícies dos espécimes e deixado por 15 min; em seguida, os espécimes foram lavados minuciosamente e secos delicadamente.

Este procedimento foi repetido três vezes. Após a última aplicação, os espécimes foram colocados em recipiente individual com água destilada e armazenados a 37°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) por 7 dias. O procedimento clareador foi realizado por 3 semanas, sendo uma sessão por semana.

Determinação da dureza Vickers

Por grupo, 5 amostras foram utilizadas para o teste de microdureza. A microdureza (VHM) de cada amostra foi medida na superfície superior da amostra (em contato com a ponta de fotopolimerizador), usando um penetrador Vickers (HVM 2; Shimadzu, Tóquio, Japão) com 100gf de carga e 15s de tempo

de permanência em três pontos, um central, outro 3 mm a direita e o seguinte a 3mm a esquerda do ponto central.¹⁵ O valor médio de VHM para cada superfície foi determinando pela média aritmética dos 3 valores obtidos em cada corpo de prova.

Avaliação da rugosidade da superfície

A Rugosidade superficial (Ra) superficial dos corpos de prova (CP) foi avaliada por modelo de contato utilizando-se um rugosímetro de 301, número de série 15700438 (Mitutoyo, Japão). Para realizar a medida, o equipamento possui uma ponta de diamante de alta precisão que se desloca paralelamente à superfície do CP, gerando uma curva com variação de alturas, reproduzindo com isso, exatamente os vales e picos existentes na superfície do CP.

Após obter esses dados, o rugosímetro calculou o perfil médio entre os vales e picos e gerou o valor de Ra, que é a medida mais usada para a indicação da rugosidade. O rugosímetro foi calibrado utilizando uma placa padrão em 9,50 µm para rugosidade total (Rt) e 2,95 µm para Ra, e regulado com 0,25 mm, para minimizar a interferência de ondulação da superfície e limite de medição de 1,25 mm.

Foram realizadas três leituras distribuídas sob o CP, tendo como referência sempre a mesma direção das amostras, para obter o valor de Ra de cada CP foi obtida calculando-se a média aritmética dos três valores de Ra.

Alteração de cor

Um espectrofotômetro dental (Easyshade, VITA Zahnfabrick, Bad Säckingen, Alemanha) e um fundo escuro foram usados para adquirir as coordenadas de cores CIELAB para todas as amostras compostas à base de resina (RBC). Um único profissional treinado realizou todos os procedimentos de avaliação de cor e o espectrofotômetro foi calibrado.

A determinação da cor ocorreu pela utilização dos parâmetros fornecidos pelo espectrofotômetro que indica os valores: L, (a *) e (b *), onde L representa a luminosidade variando de 0 (preto) a 100 (branco), a* e b* representam o eixo-cromático, em que a* é a medida ao longo do eixo vermelho-verde e b* a medida ao longo do eixo amarelo- azul. A avaliação da cor foi calculada através das fórmulas $\Delta ab = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$ (Commission

Internationale de l'Eclairage 1978) e $\Delta 00 = [(\Delta L/kLSL)^2 + (\Delta C/kCSC)^2 + (\Delta H/kHSH) + RT (\Delta C \cdot \Delta H/SC \cdot SH)]$.¹⁶⁻¹⁸

Análise estatística

Após confirmar a normalidade da distribuição dos dados e a igualdade das variâncias (dados não apresentados), o número de dureza Vickers (VHN), a rugosidade (Ra) e a mudança de cor ($\Delta 00$ e Δab) foram submetidos a uma análise de variância (ANOVA) de três fatores (composto vs. Substância clareadora vs. Tempo de aplicação), seguida pelo teste post hoc de Tukey ($\alpha = 0,05$). Todos os testes estatísticos foram realizados usando o software Statistica para Windows (StatSoft, Tulsa, OK, EUA).

RESULTADOS

Valores da dureza Vickers

A interação tripla, assim como as três interações duplas e o fator principal 'substância clareadora' não foram significativos ($p > 0,41$; Tabela 3). No entanto, ambos os fatores principais 'composto' e 'tempo de aplicação' foram estatisticamente significativos ($p < 0,000001$). Normalmente, os valores de VHN para Z350 foram maiores que Opallis ($p < 0,000001$). Os valores de VHN mais baixos e significativos foram observados quando o clareamento de consultório foi aplicado quando comparado a todos os outros grupos ($p < 0,000001$). Quando OX e SS foram avaliados, a aplicação de OX ou SS por um ou sete dias não afetou o VHN quando comparado ao grupo controle. Em contraste, uma diminuição significativa no VHN foi observada para Opallis quando OX ou SS foram aplicados 15 ou 30 dias e para Z350 quando OX ou SS foram aplicados 30 dias ($p < 0,000001$; Tabela 3).

Rugosidade

A interação tripla, assim como as três interações duplas e o fator principal 'substância clareadora' não foram significativos ($p > 0,48$; Tabela 4). No entanto, ambos os fatores principais 'composto' e 'tempo de aplicação' foram estatisticamente significativos ($p < 0,0000001$). Normalmente, os valores de rugosidade para Z350 foram menores que Opallis ($p < 0,0000001$). Os valores de rugosidade mais baixos e significativos foram observados quando o

clareamento de consultório foi aplicado quando comparado ao OX e SS aplicados um, sete ou 15 dias ($p < 0,0000001$). Quando avaliados OX e SS, a aplicação de OX ou SS um, sete ou 15 dias não afetou a rugosidade quando comparada ao grupo controle. Por outro lado, uma diminuição significativa na rugosidade foi observada quando OX ou SS foram aplicados por 30 dias para ambos os compósitos semelhantes ao grupo de clareamento de consultório (Tabela 4).

Alteração de cor

Não houve diferença significativa na interação tripla, assim como nas três interações duplas e em todos os fatores principais avaliados ($p > 0,29$; Tabela 5). Isso significa que, independentemente dos compósitos, substâncias clareadoras ou tempo de aplicação utilizado, nenhuma mudança da cor foi observada para ambas as medições de cor realizadas ($\Delta 00$ e Δab ; Tabela 5).

DISCUSSÃO

Existe uma grande demanda por procedimentos restauradores na odontologia clínica, sendo a resina composta um dos materiais odontológicos mais utilizados, decorrente da percepção estética mais apurada e pelos pacientes estarem mais criteriosos e observadores em relação a possíveis falhas como alteração de cor dos materiais restauradores e dos dentes.^{17,18}

Nesse âmbito, se populariza cada vez mais os produtos como enxaguantes bucais contendo PH com finalidade estética. Então é de extrema importância avaliar se o uso contínuo de enxaguantes bucais contendo PH afeta na alteração de cor, rugosidade e dureza das resinas compostas.

Ao ser avaliada em relação a VHN, a aplicação de OX ou SS uma ou sete vezes não afetou o VHN quando comparado ao grupo controle negativo, porém os grupos OX15/SS15 e OX30/SS30 da resina Opallis e o grupo OX30/SS30 da Z350 tiveram uma diminuição significativa da VHN ao ser comparada com o grupo controle negativo (baseline). VHN é uma propriedade física muito importante para a longevidade das restaurações pois a sua diminuição pode afetar na sua resistência a abrasões e a sua durabilidade.

Em estudos prévios, analisou-se a microdureza depois de duas aplicações de material clareador caseiro (15% de PH) e de consultório (40% de PH) e assim como no presente estudo os dois produtos diminuíram a dureza superficial da resina.^{21,22} Já o estudo de Taher *et al*²³ foi observado em amolecimento da superfície da resina composta após o clareamento caseiro (15% de PH).

Sabe-se que, o PH produz radicais livres irão contribuir na separação das cadeias poliméricas e na quebra das ligações duplas na estrutura da resina composta e que esses radicais livres alteram a interface monômero/carga inorgânica o que pode contribuir em microfissuras.²¹ Adicionalmente, já foi relatado que o clareamento afeta a microdureza com a aplicação prologada dos agentes clareadores.²⁴ No nosso estudo o aumento da quantidade de aplicação dos enxaguantes também contribuiu para sua redução da microdureza.

Neste estudo foi observado que após 30 aplicações do enxaguante bucal (grupos OX30/SS30) de ambas as resinas compostas apresentaram Ra similar ao grupo controle positivo (clareamento). Então o efeito acumulativo do enxaguante bucal de uso diário foi capaz de afetar a Ra. Bayraktar *et al*⁹ não observou um aumento significativo na rugosidade superficial ao avaliar o efeito dos enxaguantes bucais a base de PH para diminuir a carga viral do Covid-19 na superfície da resina composta. Essa diferença de resultado pode ter ocorrido por causa da diferença de tempo aplicado pois em nosso estudo foi avaliado por até 30 dias de uso contínuo enquanto Bayraktar *et al*⁹ avaliou até 21 dias.

Wang *et al*²⁶ observou que a resina nanoparticulada Z350 não teve alterações significativas de rugosidade superficial ao ser aplicado material clareador contendo PH. Já a resina nanohíbrida Opallis apresentou maiores alterações ao longo do tempo de aplicação do material clareador.²⁶

O tamanho e a composição das partículas de carga mostraram que são fatores a serem considerados já que sofrem influência do PH existente nos enxaguantes, mesmo que em baixa porcentagem.⁸ Neste estudo o uso contínuo demonstrou que tem poder de diminuir a dureza de Vickers além de aumentar a rugosidade gradativamente. Ao avaliar pelas variáveis resina e tempo, foi observado neste estudo que a resina nanoparticuladas (Z350) e a resina

nanohíbrida (Opallis) tiveram um aumento da rugosidade nos grupos OX30 e SS30. O uso de OX e SS um dia (OX1/SS1) e sete dias (OX7/SS7) não resultou em efeitos deletérios nos valores de Ra.

Ao analisar as alterações de cor sofrida pelas resinas após o uso dos enxaguantes bucais contendo PH, não houve alteração significativa. Os valores se encontram abaixo de 3,3 mostrando que se mantiveram clinicamente aceitáveis. As cores mantiveram-se com valores aproximados não importando o tempo de uso (grupos com 1, 7, 15 e 30 aplicações), tipo de enxaguante utilizado (OX ou SS) ou a resina avaliada (Opallis ou Z350).

Em estudo anterior, as alterações de cor ocorridas em resinas compostas após o uso de enxaguantes bucais por tempo prolongado (56 dias) não foi capaz de alterar a cor da resina nanohíbrida a ponto de ficarem clinicamente aceitáveis.⁸ A possibilidade de não ter havido alteração de cor entre os grupos pode ser pelo fato de os espécimes não possuírem mancha extrínseca provocada, como visto no estudo de Karadas *et al*⁸, ou devido a diferença de tempo de aplicação do enxaguante já que neste estudo a resina ficava submersa por 30s e no estudo de Karadas *et al*⁸ ficavam submersos por 4 min diários durante 56 dias.

A possibilidade de alteração de cor de uma resina pode ser relacionada com a sua matriz ou tipo de carga.⁸ Ele também analisa que as resinas nanohíbridas tem menor suscetibilidade de coloração em relação a outras resinas e tendo assim uma maior estabilidade.⁸

Resinas nanoparticuladas possuem partículas de tamanho nanométrico na sua matriz e que são principalmente agrupadas em partículas secundárias maiores.²⁷ Já as resinas nanohíbridas combinam cargas de tamanhos nanométricos e micrométricos.²⁷ Na meta-análise de Maran *et al*²⁷ não foi possível observar diferenças significativas entre as resinas compostas nanoparticuladas, nanohíbridas e híbridos nos parâmetros investigados como textura da superfície e coloração da superfície. Porém este estudo foi enfático ao observar que a maioria dos estudos incluídos mostraram algum tipo de viés, o que evidenciou a necessidade de ensaios clínicos randomizados controlados bem conduzidos.

No estudo de Savic-Stankovic²⁸ foi observado alteração de cor entre resinas híbridas e nanohíbridas após clareamento. Com isso foi possível afirmar que mesmo que o clareamento induza algumas mudanças de cor em resinas, as diferenças são menores ao comparar com as alterações de cor sofrida nos dentes após tratamento clareador e é por esse motivo que é frequentemente afirmado na prática clínica que as restaurações de resina composta não clareiam e que após procedimento clareador deve-se substituir as restaurações de resina composta para uma melhor estética.²⁸

Em suma, os resultados do presente estudo mostram que o uso contínuo e prolongado de enxaguantes bucais (15 ou 30 dias) podem afetar as propriedades de VHN e Ra das resinas compostas.

No entanto mais estudos são necessários para melhor avaliar e elucidar os efeitos a longo prazo.

CONCLUSÃO

Mesmo em baixas concentrações, o uso contínuo e prolongado de colutórios contendo PH pode aumentar a Ra além de diminuir a VHN das resinas compostas sem promover alteração de cor.

REFERENCIAS

1. Walsh LJ. Safety issues relating to the use of hydrogen peroxide in dentistry. *Aust Dent J*. 2000 Dec;45(4):257-69; quiz 289. Doi: 10.1111/j.1834-7819.2000.tb00261.x.
2. Marshall MV, Cancro LP, Fischman SL. Hydrogen peroxide: a review of its use in dentistry. *J Periodontol*. 1995 Sep;66(9):786-96. Doi: 10.1902/jop.1995.66.9.786.
3. da Rosa G, Maran BM, Schmitt VL, Loguercio AD, Reis A, Naufel FS. Effectiveness of whitening strips use compared with supervised dental bleaching: A systematic review and meta-analysis. *Oper Dent* 2020;45:E289-E307.
4. de Geus JL, Wambier LM, Kossatz S, Loguercio AD, Reis A. At-home vs In-office Bleaching: A Systematic Review and Meta-analysis. *Oper Dent* 2016;41:341-356.
5. Demarco FF, Meireles SS, Masotti AS. Over-the-counter whitening agents: a concise review. *Braz Oral Res* 2009;23 Suppl 1:64-70.
6. Joiner A. The bleaching of teeth: a review of the literature. *J Dent* 2006;34:412-419.
7. Maltz M. Over-the-counter preventive and therapeutic oral products. *Braz Oral Res* 2009;23 Suppl 1:4-7.

8. Karadas, M., Alkurt, M., & Duymus, Z. Y. (2016). Effects of hydrogen peroxide-based mouthwashes on color changes of stained direct composite resins. *J Res Dent*, 4(1), 11-16.
9. Bayraktar, Y., Karaduman, K. Ü. B. R. A., Ayhan, B., & Karsiyaka Hendek, M. (2021). The effect of SARS-CoV-2 effective mouthwashes on the staining, translucency and surface roughness of a nanofill resin composite. *Am J Dent*, 34(3), 166-70.
10. Pecho, O. E., Martos, J., Pinto, K. V., Pinto, K. V., & Baldissera, R. A. (2019). Effect of hydrogen peroxide on color and whiteness of resin-based composites. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*, 31(2), 132-139.
11. Yu H, Zhang CY, Wang YN, Cheng H. Hydrogen peroxide bleaching induces changes in the physical properties of dental restorative materials: effects of study protocols. *J Esthet Restor Dent*. 2018;30(2):E52-E60.
12. Jurema ALB, de Souza MY, Torres CRG, Borges AB, Caneppele TMF. Effect of pH on whitening efficacy of 35% hydrogen peroxide and enamel microhardness. *J Esthet Restor Dent*. 2018;30(2):E39-E44.
13. Attin T, Hannig C, Wiegand A, Attin R. Effect of bleaching on restorative materials and restorations: a systematic review. *Dent Mater*. 2004;20(9):852-861
14. FGM. SafeSmile. 2020, 2020.
15. Altmann AS, Collares FM, Leitune VC, Arthur RA, Takimi AS, Samuel SM. In vitro antibacterial and remineralizing effect of adhesive containing triazine and niobium pentoxide phosphate inverted glass. *Clin Oral Investig*. 2017;21(1):93-103
16. Luo, M. R; Cui, G; Rigg, B. The Development of the CIE 2000 Colour-Difference Formula: CIEDE 2000. *Color Research and Application*. V. 26, n.5, p. 340-350, 2001.
17. Sharma G; Wu, W; Dalal E. N. The CIEDE2000 Color-Difference Formula: Implementation Notes, Supplementary Test Data, and Mathematical Observations. *Color Research and Application*. V. 1, n. 21, p. 21-30, 2005.
18. Lee Y; Powers, J. M. Comparison of CIE Lab, CIEDE 2000, and DIN 99 color properties between various shades of resin composites. *International Journal of Prosthodontics*. V. 18, n. 2, p. 150-155, 2005.
19. Ortega, K. L., Rech, B. D. O., El Haje, G. L. C., Gallo, C. D. B., Pérez-Sayáns, M., & Braz-Silva, P. H. (2020). Do hydrogen peroxide mouthwashes have a virucidal effect? A systematic review. *Journal of Hospital Infection*, 106(4), 657-662.
20. Pecho OE, Martos J, Pinto KVA, Pinto KVA, Baldissera RA. Effect of hydrogen peroxide on color and whiteness of resin-based composites. *J Esthet Restor Dent*. 2019;31:132-139. <https://doi.org/10.1111/jerd.12443>
21. Mohammadi, N., Alavi, F. N., Rikhtehgaran, S., Chaharom, M. E. E., Salari, A., Kimyai, S., & Bahari, M. (2020). Effect of bleaching method and curing time on the surface microhardness of microhybrid composite resin. *Maedica*, 15(3), 359.
22. Kamangar SS, Kiakojoori K, Mirzaii M, Fard MJ. Effects of 15% Carbamide Peroxide and 40% Hydrogen Peroxide on the Microhardness and Color Change of Composite Resins. *J Dent (Tehran)* 2014;11:196-209
23. Taher NM. The effect of bleaching agents on the surface hardness of tooth colored restorative materials. *J Contemp Dent Pract* 2005 15;6:18-26.

24. Yikilgan İ, Kamak H, Akgul S, et al. Effects of three different bleaching agents on microhardness and roughness of composite sample surfaces finished with different polishing techniques. *J Clin Exp Dent* 2017;9:e460-e465
25. Urbano CD, Abrahão ALS, Lancellotti AC, de Menezes-Oliveira MAH, Calabrez S, de Souza Gonçalves L. Effect of mouthrinses on surface roughness and of a nanofilled restorative composite. *Braz Dent Sci* 2014; 17:92-9
26. Wang, L., Francisconi, L. F., Atta, M. T., Dos Santos, J. R., Del Padre, N. C., Gonini-Júnior, A., & Fernandes, K. B. P. (2011). Effect of bleaching gels on surface roughness of nanofilled composite resins. *European Journal of dentistry*, 5(02), 173-179.
27. Maran, B. M., de Geus, J. L., Gutiérrez, M. F., Heintze, S., Tardem, C., Barceleiro, M. O., ... & Loguercio, A. D. (2020). Nanofilled/nanohybrid and hybrid resin-based composite in patients with direct restorations in posterior teeth: A systematic review and meta-analysis. *Journal of dentistry*, 99, 103407.
28. Savic-Stankovic, T., Karadzic, B., Komlenic, V., Stasic, J., Petrovic, V., Ilic, J., & Miletic, V. (2021). Effects of whitening gels on color and surface properties of a microhybrid and nanohybrid composite. *Dental Materials Journal*, 40(6), 1380-1387.

TABELAS**Tabela 1.** Composição e tamanho das partículas das resinas compostas Opallis e Z350.

Resina composta	Composição	Tipo
Opallis	Carga inorgânica: vidro e sílica; Matriz orgânica: Bis-GMA, UDMA, TEGDMA	Nanohíbrida
Z350	Carga inorgânica: sílica e zircônia; Matriz orgânica: Bis-GMA, UDMA, TEGDMA	Nanoparticulada

Abreviações: Bis-GMA= metacrilato de bisfenol-A-glicidil; UDMA = dimetacrilato de uretano; TEGMA= dimetacrilato de trietilenoglicol.

Tabela 2. Composição e porcentagem do peróxido de hidrogênio dos enxaguantes bucais Safe Smile e OX-19 da FGM.

Enxaguante bucal	Composição	% de peróxido de hidrogênio
Safe Smile	Água, álcool, glicerina, mentol, sacarina sódica, polissorbato 20, Citrox (bioflavonóides cítricos), peróxido de carbamida	1,5%
OX-19	Água, álcool, glicerina, mentol, sacarina sódica, polissorbato 20, Citrox (bioflavonóides cítricos), peróxido de hidrogênio	0,75%

Tabela 3. Médias e desvios padrão do número de dureza Vickers (VHN) para diferentes grupos experimentais, bem como análises estatísticas (*)

	Ox19		Safe Smile	
	Opallis	Z350	Opallis	Z350
Controle	64.3 ± 3.0 Ab	70.9 ± 2.8 Aa	64.3 ± 3.0 Ab	70.9 ± 2.8 Aa
Após clareamento	54.8 ± 3.5 Cb	61.3 ± 1.6 Ca	54.8 ± 3.5 Cb	61.3 ± 1.6 Ca
Uma aplicação	65.5 ± 3.2 Ab	70.3 ± 1.9 Aa	64.8 ± 3.0 Ab	71.6 ± 2.3 Aa
Sete aplicações	62.4 ± 2.7 A,Bb	69.1 ± 1.8 Aa	62.7 ± 2.0 A,Bb	70.2 ± 2.2 Aa
Quinze aplicações	61.6 ± 2.7 Bb	69.2 ± 2.5 Aa	61.2 ± 2.1 Bb	69.3 ± 2.6 Aa
Trinta aplicações	59.3 ± 2.3 Bb	66.7 ± 1.9 Ba	58.0 ± 2.2 Bb	66.1 ± 2.0 Ba

*Diferentes letras maiúsculas (fator principal 'tempo de aplicação') ou letras minúsculas (fator principal 'composto') indicam médias estatisticamente significativamente diferentes (ANOVA de três vias e teste de Tukey; $p < 0,05$).

Tabela 4. Médias e desvios padrão da rugosidade (Ra) para diferentes grupos experimentais, bem como análises estatísticas (*)

	Ox19		Safe Smile	
	Opallis	Z350	Opallis	Z350
Controle	0.14 ± 0.02 A	0.11 ± 0.02 A	0.14 ± 0.02 A	0.11 ± 0.02 A
Após clareamento	0.21 ± 0.03 B	0.17 ± 0.02 B	0.21 ± 0.03 B	0.17 ± 0.02 B
Uma aplicação	0.15 ± 0.02 A	0.11 ± 0.02 A	0.14 ± 0.02 A	0.11 ± 0.02 A
Sete aplicações	0.15 ± 0.03 A	0.13 ± 0.02 A	0.15 ± 0.02 A	0.13 ± 0.02 A
Quinze aplicações	0.15 ± 0.02 A	0.13 ± 0.02 A	0.16 ± 0.03 A	0.14 ± 0.02 A
Trinta aplicações	0.18 ± 0.03 A,B	0.15 ± 0.01 A,B	0.18 ± 0.02 A,B	0.15 ± 0.02 A,B

*Diferentes letras sobrescritas indicam médias estatisticamente significativamente diferentes (ANOVA de três vias e teste de Tukey; $p < 0,05$)

Tabela 5. Médias e desvios padrão de mudança de cor ($\Delta 00$ e Δab) para diferentes grupos experimentais, bem como análises estatísticas (*)

	$\Delta 00$				Δab			
	OX19		Safe Smile		OX19		Safe Smile	
	Opallis	Z350	Opallis	Z350	Opallis	Z350	Opallis	Z350
Após clareamento	1.3 ± 1.2	1.4 ± 0.5	1.4 ± 1.2	1.4 ± 0.5	2.3 ± 1.9	2.1 ± 1.0	2.4 ± 1.9	2.1 ± 1.0
Uma aplicação	1.4 ± 1.0	1.4 ± 0.8	1.4 ± 0.9	1.5 ± 0.8	2.2 ± 1.2	2.4 ± 1.5	1.8 ± 0.9	2.4 ± 1.5
Sete aplicações	1.4 ± 1.1	1.4 ± 1.0	1.4 ± 0.6	1.4 ± 0.8	1.9 ± 1.1	2.0 ± 1.2	1.8 ± 0.8	2.4 ± 1.5
Quinze aplicações	1.4 ± 0.9	1.4 ± 0.8	1.4 ± 0.5	1.4 ± 0.9	2.2 ± 1.1	2.1 ± 1.0	1.9 ± 0.8	2.3 ± 1.3
Trinta aplicações	1.4 ± 1.2	1.4 ± 0.7	1.4 ± 0.6	1.4 ± 0.8	2.2 ± 1.4	2.3 ± 1.4	1.97 ± 0.99	2.3 ± 1.3

*Diferentes letras maiúsculas ($\Delta 00$) ou minúsculas (Δab) indicam médias estatisticamente significativamente diferentes (ANOVA de três vias e teste de Tukey; $p < 0,05$).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso contínuo de enxaguante bucal contendo PH alterou as propriedades de união dos adesivos universais ao tecido dentinário. Também alterou as propriedades de dureza de Vickers e rugosidade superficial das resinas compostas. Os achados deste estudo sugerem que mesmo em baixa concentração, o PH presente em colutórios pode afetar negativamente no sucesso da restauração direta realizada com adesivos universais e resinas compostas.

Pela inexistência de estudos que avaliem adesivos universais e resinas compostas sob o efeito prologando do PH em baixa concentração presente em enxaguantes nas mesmas condições que foram realizados este estudo, é interessante frisar a necessidade de mais estudos para avaliar os efeitos a longo prazo nas mesmas e em outras situações clínicas.

REFERENCIAS

1. Walsh LJ. Safety issues relating to the use of hydrogen peroxide in dentistry. *Aust Dent J.* 2000 Dec;45(4):257-69; quiz 289. DOI: 10.1111/j.1834-7819.2000.tb00261.x
2. Marshall MV, Cancro LP, Fischman SL. Hydrogen peroxide: a review of its use in dentistry. *J Periodontol.* 1995 Sep;66(9):786-96. DOI: 10.1902/jop.1995.66.9.786.
3. Urban MV, Rath T, Radtke C. Hydrogen peroxide (H₂O₂): a review of its use in surgery. *Wien Med Wochenschr.* 2017;169(9-10):222-225
4. Pecho OE, Martos J, Pinto KV, Pinto KV, Baldissera RA. Effect of hydrogen peroxide on color and whiteness of resin-based composites. *J Esthet Restor Dent.* 2019;31(2):132-139
5. Karatas O, Gul P, Gundogdu M, Iskenderoglu DT. An evaluation of surface roughness after staining of applied composite resins using atomic force microscopy and a profilometer. *Microsc Res Tech.* 2020;83(10):1251-1259.
6. Cardoso GCD, Nakanishi L, Isolan CP, Jardim PDS, Moraes RRD. Bond stability of universal adhesives applied to dentin using etch-and-rinse or self-etch strategies. *Braz Dent J.* 2019;30:467-475.
7. Yamauchi K, Tsujimoto A, Jurado CA, Shimatani Y, Nagura Y, Takamizawa T, Barkmeier WW, Latta MA, Miyazaki M. Etch-and-rinse vs self-etch mode for dentin bonding effectiveness of universal adhesives. *J Oral Sci.* 2019;61(4):549-553. DOI: 10.2334/josnurd.18-0433. Epub 2019 Oct 21. PMID: 31631096
8. Maran BM, de Geus JL, Gutierrez MF, Heintze S, Tardem C, Barceleiro MO, Reis A, Loguercio AD. Nanofilled/nanohybrid and hybrid resin-based composite in patients with direct restorations in posterior teeth: a systematic review and meta-analysis. *J Dent.* 2020;99:103407. DOI: 10.1016/j.jdent.2020.103407. Epub 2020 Jun 9. PMID: 32526348.
9. Joiner A. The bleaching of teeth: a review of the literature. *J Dent.* 2006;34:412-419.
10. Karadas M, Alkurt M, Duymus ZY. Effects of hydrogen peroxide-based mouthwashes on color changes of stained direct composite resins. *J Res Dent.* 2016;4(1):11-16
11. Urbano CD, Abrahão ALS, Lancellotti AC, de Menezes-Oliveira MAH, Calabrez S, de Souza Gonçalves L. Effect of mouthrinses on surface roughness and of a nanofilled restorative composite. *Braz Dent Sci* 2014; 17:92-97
12. Karadas M, Hatipoglu O. Efficacy of mouthwashes containing hydrogen peroxide on tooth whitening. *The Scientific World Journal.* 2015;2015:783026. doi: 10.1155/2015/783026.

ANEXOS

Anexo 1

The Journal of Adhesive Dentistry GUIDELINES FOR AUTHORS

The *Journal of Adhesive Dentistry* is a peer-reviewed open access journal that publishes scientifically sound articles of interest to practitioners and researchers in the field of adhesion to hard and soft dental tissues. The Journal publishes several types of peer-reviewed original articles:

1. **Clinical and basic science research reports** – based on original research in adhesive dentistry and related topics.
2. **Review topics** – on topics related to adhesive dentistry.
3. **Short communications** – of original research in adhesive dentistry and related topics. Max. 4 printed pages, including figures and references (max. characters 18,000). High priority will be given to the review of these papers to speed publication.
4. **Focus articles** – presenting a position or hypothesis on a basic science or clinical subject of relevant related topics. These articles are not intended for the presentation of original results, and the authors of the articles are selected by the Editorial Board.
5. **Proceedings of symposia, workshops, or conferences** – covering topics of relevance to adhesive dentistry and related topics.

SUBMISSION INSTRUCTIONS

Submission via online submission service (www.manuscriptmanager.net/jadd). Manuscript texts should be uploaded as PC-word files with tables and figures preferably embedded within the PC-word document. A broad range of file formats are acceptable. No paper version required but high resolution photographs or illustrations should be sent to the editorial office (see below). Online submissions are automatically uploaded into the editorial office's reviewer assignment schedule and are therefore processed immediately upon upload.

Illustrations that cannot be sent electronically will be scanned at the editorial office so that they can be sent to reviewers via e-mail along with the manuscript to expedite the evaluation process. Resubmitted manuscripts should also be submitted in the above manner. Please note that supplying electronic versions of your tables and illustrations upon resubmission will assure a faster publication time if the manuscript is accepted.

Review/editing of manuscripts. Manuscripts will normally be reviewed by an editor-in-chief and at least two reviewers with expertise in the article's subject matter. The Journal operates a conventional double-blind reviewing policy. After review, a decision is made whether to reject the work or to continue the review process. Any works where an editor-in-chief is a contributor will be handled by one of the other two editors-in-chief. We attempt to begin the review process as rapidly as possible, and a decision is reached as soon as the reviewer's comments are received, typically within 8 to 10 weeks (double blind peer review). The publisher reserves the right to edit accepted manuscripts to fit the space available and to ensure conciseness, clarity, and stylistic consistency, subject to the author's final approval.

Adherence to guidelines. Manuscripts that are not prepared in accordance with these guidelines will be returned to the author before review.

MANUSCRIPT PREPARATION

- The Journal will follow as much as possible the recommendations of the International Committee of Medical Journal Editors (Vancouver Group) in regard to preparation of manuscripts and authorship (Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. *Ann Intern Med* 1997;126:36-47).
- **Title page.** The first page should include the title of the article (descriptive but as concise as possible) and the name, degrees, job title, professional affiliation,

contribution to the paper (e.g., idea, hypothesis, experimental design, performed the experiments in partial fulfillment of requirements for a degree, wrote the manuscript, proofread the manuscript, performed a certain test, consulted on and performed statistical evaluation, contributed substantially to discussion, etc.) and full address of all authors. Phone, fax, and e-mail address must also be provided for the corresponding author, who will be assumed to be the first listed author unless otherwise noted. If the paper was presented before an organized group, the name of the organization, location, and date should be included.

- **3-8 keywords.**
- **Structured abstract.** Include a maximum 250-word structured abstract (with headings Purpose, Materials and Methods, Results, Conclusion).
- **Introduction.** Summarize the rationale and purpose of the study, giving only pertinent references. Clearly state the working hypothesis.
- **Materials and Methods.** Present materials and methods in sufficient detail to allow confirmation of the observations. Published methods should be referenced and discussed only briefly, unless modifications have been made. Indicate the statistical methods used, if applicable.
- **Results.** Present results in a logical sequence in the text, tables, and illustrations. Do not repeat in the text all the data in the tables or illustrations; emphasize only important observations.
- **Discussion.** Emphasize the new and important aspects of the study and the conclusions that follow from them. Do not repeat in detail data or other material given in the Introduction or Results section. Relate observations to other relevant studies and point out the implications of the findings and their limitations.
- **Acknowledgments.** Acknowledge persons who have made substantive contributions to the study. Specify grant or other financial support, citing the name of the supporting organization and grant number.
- **Abbreviations.** The full form for which an abbreviation stands should precede its first use in the text unless it is a standard unit of measurement.
- **Trade names.** Generic terms are to be used whenever possible, but trade names and manufacturer should be included parenthetically at first mention.
- **Clinical Relevance.** Please include a very brief (2 sentences or 3 lines) clinical relevance statement.

REFERENCES

- **All references must be cited** in the text, according to the alphabetical and numerical reference list.
- **The reference list** should appear at the end of the article, in alphabetical and numerical sequence.
- **Do not include unpublished data** or personal communications in the reference list. Cite such references parenthetically in the text and include a date.
- **Avoid using abstracts** as references.
- **Provide complete information** for each reference, including names of all authors. If the reference is part of a book, also include title of the chapter and names of the book's editor(s).

Journal reference style:

1. Turp JC, Kowalski CJ, Stohler CS. Treatment-seeking patterns of facial pain patients: Many possibilities, limited satisfaction. *J Orofacial Pain* 1998;12:61-66.

Book reference style:

1. Hannam AU, Langenbach AE, Pock U. Computer simulations of jaw biomechanics. In: McNeill C (ed). *Science and Practice of Occlusion*. Chicago: Quintessence, 1997:187-194.

ILLUSTRATIONS

- All illustrations must be numbered and cited in the text in order of appearance.
- Submitted figures should meet the following minimum requirements:
 - High-resolution images should have a width of 83 mm and 300 dpi (for column size).
 - Graphics (bar diagrams, schematic representations, drawings) wherever possible should be produced in Adobe Illustrator and saved as AI or EPS files.
 - All figures and graphics should be separate files - not embedded in Word or Power Point documents.

Upon article acceptance, high-resolution digital image files must be sent via one of the following ways:

1. As an e-mail attachment, if the files are not excessively large (not more than 10 MB), to our production department.
2. Via online submission service (www.manuscriptmanager.net/jadd).

Line drawings – Figures, charts, and graphs should be professionally drawn and lettered large enough to be read after reduction. Good-quality computer-generated laser prints are acceptable (no photocopies); also provide electronic files (eps, ai) if possible. Lines within graphs should be of a single weight unless special emphasis is needed.

Legends – Figure legends should be grouped on a separate sheet and typed double-spaced.

TABLES

- Each table should be logically organized, on a separate sheet, and numbered consecutively.
- The title and footnotes should be typed on the same sheet as the table.

EXPANDED METHODOLOGICAL AND REPORTING

Requirements – Ethical or Institutional Review Board Approval. Clearly indicate that the study obtained appropriate approval (or a statement and explanation of why it was not required), including the name of the ethics committee(s) or institutional review board(s) and the number/ID of the approval(s). For human studies, please also add a statement that participants gave informed consent before taking part.

MANDATORY SUBMISSION FORM

The Mandatory Submission Form, signed by all authors, must accompany all submitted manuscripts before they can be reviewed for publication. Electronic submission: scan the signed form and submit as JPG, TIFF or PDF file.

PERMISSIONS & WARNERS

- By submitting an article, the author confirms that all texts, videos, and images are free of third-party rights and that the sources are cited correctly according to German citation methods. The author informs Quintessence Publishing about any copyright notices that may be required. In the event of infringement of third-party rights (copyrights, personal rights, data protection rights, etc.), the author shall indemnify the publisher against all third-party claims.
- In the case of photographs of patients or other persons, the consent of the patient or the legal representative must be obtained for the publication of the photographs on- and offline for the purposes of publication, dissemination, and making available to the public in publications of Quintessence Publishing.
- Grant support or any other indirect involvement or commercial interest must be specified.
- For clinical studies the approval of the ethics committee must be presented.

PUBLICATION FEE

After acceptance of the submitted article, a publication fee of 1250 EUR (including taxes) is charged. All information for creating the invoice must be stored on the Manuscriptmanager platform during submission.