



RICARDO ANTONIO FRANCO LAPIN ATUI

**AVALIAÇÃO *IN VIVO* DA PROFUNDIDADE DE DESMINERALIZAÇÃO
DA DENTINA HUMANA COM DIFERENTES TEMPOS DE
CONDICIONAMENTO
COM ÁCIDO FOSFÓRICO**

GUARULHOS
2005



RICARDO ANTONIO FRANCO LAPIN ATUI

**AVALIAÇÃO *IN VIVO* DA PROFUNDIDADE DE DESMINERALIZAÇÃO
DA DENTINA HUMANA COM DIFERENTES TEMPOS DE
CONDICIONAMENTO
COM ÁCIDO FOSFÓRICO**

Dissertação apresentada à Universidade Guarulhos
para obtenção do título de Mestre em Odontologia,
Área de Concentração Dentística.

1º Orientador: Prof. Dr. Saulo Geraldeli

2º Orientador: Profa. Dra. Cristiane Mariote Amaral

GUARULHOS
2005

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Saulo Geraldeli	_____
Prof. Dr. Leonardo Eloy Rodrigues Filho	_____
Prof. Dr. José Augusto Rodrigues	_____

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, **Antonio e Eugenia**, por me darem a oportunidade de estudar, por me encorajarem a seguir até o fim, fazendo assim este momento possível.

À minha esposa **Priscilla**, pelo apoio e compreensão nas minhas horas de ausência.

Ao meu filho **Henrique**, meu maior incentivo a continuar lutando.

AGRADECIMENTOS

Aos Professores Doutores Camillo Anauate Neto e André Ricardo Paoli do Carmo, pela confiança e grande incentivo ao início da carreira acadêmica e na realização do Curso de Mestrado.

Ao Meu Orientador Prof. Dr. Saulo Geraldeli, por acreditar em mim, pelo apoio incondicional, por sofrer comigo nos momentos difíceis que este trabalho nos proporcionou, por ser muito mais meu amigo que orientador. Você merece toda minha admiração e respeito.

À Profa. Dra. Magda Feres, Coordenadora do Programa de Mestrado Acadêmico em Odontologia da UnG, pela grande sensatez e coerência na condução do curso e especialmente para comigo e meu orientador.

Aos Professores do Mestrado em Dentística, Profa. Dra. Cristiane Mariote Amaral e Prof. Dr. Jose Augusto Rodrigues, pela amizade, incentivo e por estarem sempre com boa vontade de compartilhar seus conhecimentos.

Aos Professores do Mestrado Acadêmico da UnG, pelos seus ensinamentos.

Aos Meus Colegas do Curso de Mestrado, pela convivência sempre feliz durante estes 2 anos

À todos que trabalham comigo na ODONTRAT, por todo suporte dado por vocês, principalmente na minha ausência.

À Dra. Patrícia Bendazolli e ao Curso de Especialização em Ortodontia da UnG, pela incessante indicação de pacientes para a realização da pesquisa.

Aos Pacientes, que foram fundamentais para a realização deste trabalho.

Aos Departamentos de Materiais Dentários da Universidade de São Paulo e da FOP - UNICAMP, pela gentileza em ceder seus laboratórios e equipamentos.

Ao Departamento de Patologia da Universidade de São Paulo, pela utilização das dependências no processamento das amostras.

À FAPESP, pelo apoio financeiro essencial para a realização do trabalho.

Ao Departamento de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de São Carlos, na pessoa do Prof. Alberto Moreira e do Sr. Marco Antonio Militão de Lima Prieto, pela providencial colaboração na realização da Microscopia Eletrônica de Varredura.

Ao Sr. Adriano Mandeli, pela análise estatística do trabalho

À Universidade Guarulhos, pela oportunidade de realizar o Curso de Mestrado Acadêmico em Dentística.

A *DEUS* pelo dom da vida.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	1
2. PROPOSIÇÃO	6
3. MATERIAIS E MÉTODOS	7
3.1 ASPECTOS ÉTICOS	7
3.2 AMOSTRA	7
3.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	8
3.4 PROCEDIMENTOS CLÍNICOS	9
3.5 PROCEDIMENTO DE EXODONTIA E CORTE DOS DENTES	14
3.6 PROCEDIMENTOS DE FIXAÇÃO, FRATURA E RECOBRIMENTO METÁLICO DOS ESPÉCIMES	15
3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA	19
4. RESULTADOS	20
4.1 ASPECTOS MORFOLÓGICOS DA DENTINA VITAL DESMINERALIZADA	26
5. DISCUSSÃO	32
6. CONCLUSÕES	42
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
ANEXOS	48

RESUMO

O objetivo deste estudo foi testar a hipótese nula de que o aumento do tempo de condicionamento ácido não aumenta a profundidade da desmineralização da dentina vital. Foram selecionados pacientes com dentes pré-molares indicados para exodontia por razões ortodônticas. Cada dente recebeu dois preparos de Classe I, sendo um na fóssula mesial e o outro na distal, com 3mm de profundidade distribuídos de acordo com os grupos: Controle 20s (n=25), Experimento1-05s (n=13) e Experimento2-80s (n=12). As cavidades foram condicionadas com ácido fosfórico a 37%, lavadas e mantidas úmidas. A fixação da dentina condicionada foi iniciada pela inserção de uma bola de algodão embebida em solução fixadora (glutraldeído/fosfato de sódio). Uma proteção da cavidade com resina evitou a contaminação pela saliva e/ou sangue. Após a exodontia, o tampão de resina foi removido e o dente imerso em solução fixadora, seguido da desidratação em álcool e do ponto crítico com hexametildisilazana. Após a fratura, os mesmos foram metalizados para posterior observação em microscopia eletrônica de varredura (MEV). Medidas da profundidade da desmineralização foram obtidas na dentina intertubular. Os dados obtidos foram submetidos a Análise de Variância com um fator fixo (tempo) em três níveis (5, 20 e 80 segundos) e teste C de Dunnett. As médias obtidas foram: 2,10 μ m (5s), 2,81 μ m (20s) e 3,47 μ m (80s). Os resultados rejeitaram a hipótese nula, pois o tempo de condicionamento aumenta a profundidade da desmineralização dentinária. Conclui-se que houve diferença estatística significativa ($\alpha=5\%$) do tempo de 5s quando comparado aos tempos de 20 e 80s.

Palavras – Chave: desmineralização dentinária, ácido fosfórico, dentina.

ABSTRACT

The aim of this study was to test the null hypothesis that an increase in the acid etching time with phosphoric acid did not increase the depth of demineralization of vital dentin. Patients with premolars to be extracted for orthodontic reasons were selected. Each tooth received two Class I cavity preparations in both mesial and distal pit with 3 mm depth and they were randomly assigned to the following groups: Control/20s (n=25); Experimental 1 – 5s (n=13) and experimental 2 – 80s (n=12). Cavities were etched with 37% phosphoric acid, washed and kept moist. The etched dentin fixation started with the insertion of a cotton pellet embedded in 2.5% glutaraldehyde solution. Cavity was protected from saliva and blood contamination by a layer of composite. Followed extraction, the resin protection was removed and the tooth was immersed in fixative, followed by dehydration in alcohol critical point made in hexametildisilazane. After tooth's fracture, they were sputtered for posterior evaluation in scanning electron microscopy (SEM). Measurements of the depth of demineralization were taken at the intertubular dentin. Data were submitted to One-way ANOVA with one fixed factor (time) in three levels (5, 20 and 80 s) and C-Dunnnett's test. Mean values were: 2.1 μ m (5s), 2.81 μ m (20s) and 3.47 μ m (80s). The results reject the null hypothesis as the acid time increases the depth of dentin demineralization. We concluded that there was a statistical difference ($\alpha=5\%$) from 5s group when compared to 20 and 80s groups.

Key words: dentin demineralization, phosphoric acid, dentin

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A busca por uma interação definitiva com a estrutura dentária é sem dúvida o grande desafio da Dentística Restauradora. A preocupação com a união principalmente à dentina já é antiga, uma vez que a união ao esmalte através da utilização do condicionamento ácido é considerada eficiente e duradoura (Nakabayashi & Pashley, 2000).

Dentro da odontologia adesiva contemporânea, os sistemas que estabelecem a união ao esmalte e dentina podem ser classificados em uma, duas e três etapas, dependendo de como se realiza a aplicação do ácido, do *primer* e da resina adesiva, bem como da interação desse material com o substrato dental (Meerbeek *et al.*, 2001; Tay & Pashley, 2002). Em comum, as estratégias e o material utilizado visam estabelecer uma interface de união duradoura com a estrutura dental.

A aplicação do ácido fosfórico é a primeira etapa do processo adesivo quando são empregados sistemas para o condicionamento do esmalte e da dentina, quer sejam eles de frasco único ou de múltiplos frascos (Meerbeek *et al.*, 2003; Gregoire *et al.*, 2003; Carvalho *et al.* 2003). O efeito provocado pelo ácido inicia-se pela remoção da camada de esfregaço criada durante a realização do preparo cavitário (Prati *et al.*, 1995; Perdigão *et al.*, 1996), leva ao aumento do diâmetro dos túbulos (Carvalho *et al.*, 1996), desmineraliza a dentina intra e intertubular (Eliades *et al.*, 1997), deixando uma rede úmida e microporosa de fibrilas de colágeno (Meerbeek *et al.*, 1992; Pashley *et al.*, 1993).

O contato direto do ácido com a estrutura de dentina pode também alterar a conformação do colágeno. Este fato estaria associado tanto com a ocorrência da desnaturação, que é a perda da integridade morfológica, quanto com o seu colapso, que é a perda do espaço interfibrilar (Okamoto *et al.*, 1991; Eliades *et al.*, 1997; Eliades *et al.*, 1999). Nota-se também que, pelo menos *in vitro*, o colapso e a desnaturação são processos que ocorrem separadamente no momento em que se faz o uso do agente condicionador ácido. Outra consequência da aplicação do agente ácido sobre a dentina é o aumento na permeabilidade do substrato, tanto no sentido da saída de fluido dentinário (Pashley *et al.*, 1981), quanto na entrada de monômeros e de outros produtos.

Como se sabe, a permeação dos agentes adesivos é de crucial importância na obtenção de uma boa adesão dentinária (Pashley *et al.*, 1993).

A profundidade da desmineralização da dentina provocada pela ação do agente condicionador é um assunto de grande interesse no processo adesivo. De acordo com Perdigão (1995) e Perdigão *et al.* (1996), a profundidade da desmineralização da dentina humana *in vitro* é dependente do espessante, utilizado no agente condicionador. O condicionador que contém o espessante à base de sílica não desmineraliza a dentina tão profundamente ($1,30 \pm 0,28\mu\text{m}$), quando comparado aos agentes que contêm espessantes à base de polímeros ou sem espessantes ($3,2 \pm 1,03 \mu\text{m}$). Segundo os autores, quando a dentina condicionada pelo ácido fosfórico é observada em microscopia eletrônica de varredura, três camadas são determinadas: 1) uma camada superficial com material residual, que pode ser uma camada de esfregaço residual ou colágeno desnaturado; 2) uma camada intermediária e 3) uma área mais profunda mostrando hiatos submicrométricos com cristais minerais esparramados e algumas fibrilas colágenas dispostas ao acaso.

Já para Uno & Finger (1996), a profundidade da desmineralização da dentina *in vitro* estaria relacionada tanto à agressividade do ácido quanto ao tempo de condicionamento. Com o tempo de condicionamento de 30 segundos, o ácido oxálico desmineralizou $6\mu\text{m}$ e o ácido fosfórico $15\mu\text{m}$.

A ação dos agentes condicionadores na desmineralização da dentina é limitada pela capacidade tampão exercida pelos cristais de hidroxiapatita (Wang & Hume, 1988; Camps & Pashley, 2000). Entretanto, o limite de profundidade e o padrão de desmineralização proporcionados pelos diferentes ácidos são, reconhecidamente, variáveis (Perdigão *et al.*, 1996; Marshall *et al.*, 1997; Marshall *et al.*, 1998; Kato & Nakabayashi, 1998). Se por um lado o período de aplicação dos ácidos não é suficiente para promover alterações significantes na estabilidade da matriz de dentina, por outro, pode ser o bastante para determinar uma desmineralização tão profunda deste substrato, que mesmo mantendo-se os espaços interfibrilares, os monômeros resinosos não seriam capazes de infiltrarem-se nos mesmos (Eick *et al.*, 1993; Eick *et al.*, 1997).

O preenchimento incompleto desta rede de colágeno desmineralizada e microporosa com o adesivo resulta na presença de uma

zona fragilizada dentro da camada híbrida e entre a camada híbrida e a dentina íntegra (Meerbeek *et al.*, 1992; Sano *et al.*, 1994; Sano *et al.*, 1995, Spencer & Swafford, 1999; Tay *et al.*, 2000, Wang & Spencer, 2003). Esta zona é considerada como um ponto fraco capaz de reduzir a resistência da união, especialmente quando o tempo de aplicação é excedido (Hashimoto *et al.*, 2000; Hashimoto *et al.*, 2002; Sano *et al.*, 1994). Outros autores demonstram que tal região, mesmo quando avaliada após o condicionamento ácido excessivo, teria pouco efeito na resistência de união. Por outro lado observaram também que houve um aumento na nano-infiltração e que isto seria um achado importante no que diz respeito à estabilidade hidrolítica tanto da resina quanto do colágeno desprotegido (Paul *et al.*, 1999).

Quando consideramos o tempo de aplicação do agente ácido sobre a dentina, temos que avaliar o tamanho da área que está sendo condicionada. Assim, em preparos maiores o risco de um condicionamento excessivo se torna implícito.

Estudos realizados *in vivo* são importantes porque trazem resultados representativos da realidade clínica, mesmo que alguns fatores não sejam totalmente controlados (McGuckin *et al.*, 1991; Ferrari & Garcia-Godoy, 2002). Diversos tipos de animais já foram usados em pesquisas sobre a resistência de união aos substratos dentais e na morfologia das interfaces adesivas (Tyler *et al.*, 1987; Pashley *et al.*, 1988; Gray & Burgess, 1993). Contudo, avaliações da resistência de união, qualidade da camada híbrida, os aspectos morfológicos e estruturais, degradação/longevidade, etc, deveriam ser feitos em dentina humana vital, pois estruturalmente, a dentina de animais difere da humana (Stewart *et al.*, 1990).

Os aspectos da profundidade da desmineralização e da resistência de união com ensaios de microtração da dentina condicionada tem sido avaliados, *in vitro*, considerando-se diferentes tempos de condicionamento (Perdigão & Lopes, 2001; Hashimoto *et al.*, 2002), a liberação de cálcio após a aplicação do ácido em concentrações diferentes (Jacobsen *et al.*, 2000), assim como a profundidade de desmineralização e o pH (Marshall *et al.*, 1997). Por outro lado, a análise dos mesmos aspectos na dentina vital ainda são praticamente inexistentes na literatura.

Dentre as várias dúvidas e fatores relativos ao estabelecimento e a permanência da união entre um adesivo e a dentina humana, pelo menos duas ainda necessitam de uma melhor compreensão do processo quando realizado *in vivo*: qual seria a profundidade de desmineralização mais adequada e se os monômeros de resina presentes nos adesivos preenchem completamente toda a zona previamente desmineralizada pelo ácido fosfórico. Esta última, no entender de Armstrong *et al.*, (2001) ainda necessita de maiores comprovações.

Como demonstrado por Hashimoto *et al.*, (2002), o tempo de condicionamento ácido da dentina não vital tem um efeito marcante no aumento da profundidade de desmineralização, estando diretamente relacionada com o tempo de aplicação do ácido fosfórico que, quanto maior, leva à uma significativa redução na resistência de união ao substrato dentinário (Hashimoto *et al.*, 2000). Por outro lado, existe também diversidade entre os valores de profundidade de desmineralização em dentina quando obtidos em microscopia eletrônica de varredura (Uno & Finger, 1996; Perdigão & Lopes, 2001; Perdigão, 1995).

É razoável supor que a dentina humana em sua condição não vital desempenhe uma ação diferente quando comparada a uma condição vital, frente à ação de agentes condicionadores. Isto porque, sendo o substrato vivo, outros fatores poderão estar exercendo uma ação no sentido de reduzir a capacidade do ácido. Resposta para tal tipo de pergunta depende, em grande parte, de um método para observar o estado real da dentina vital condicionada e suas potenciais conseqüências imediatas para o processo adesivo (Tittley *et al.*, 1995).

Ainda que a literatura apresente uma quantidade considerável de estudos *in vitro* sobre a variação do tempo de aplicação do ácido fosfórico sobre a dentina, esta é relativamente escassa quando a pergunta é repetida sob a óptica da dentina vital, quer no que diz respeito à micromorfologia da dentina condicionada, quer quanto aos seus efeitos na resistência de união.

Assim, julga-se oportuno estabelecer um caminho seguro que possa observar os efeitos de agentes ácidos sobre a dentina vital e correlacionar os achados com dados obtidos em dentina não vital.

2. PROPOSIÇÃO

OBJETIVO

Objetivo geral

Avaliar os aspectos micromorfológicos da interface adesiva em dentina humana permanente vital íntegra.

Objetivos específicos

1. determinar os aspectos micromorfológicos da interface adesiva em função da variação do tempo de aplicação do ácido fosfórico. A hipótese nula a ser testada é a de que a morfologia independe do tempo de condicionamento.
2. determinar a espessura da camada híbrida em função da variação do tempo de aplicação do condicionamento ácido. A hipótese nula a ser testada é a de que a espessura independe da variação do tempo de aplicação do ácido fosfórico.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

MÉTODO

Amostra

Foram utilizados 24 pré-molares íntegros, superiores e inferiores (N=24), com indicação para exodontia por motivos terapêuticos (indicação ortodôntica) de pacientes oriundos do curso de Especialização em Ortodontia da Universidade Guarulhos (UnG) e de clínicas odontológicas privadas. Previamente ao início, o projeto foi avaliado e mediante parecer favorável do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Guarulhos (inserir o número do parecer, vem como no final da tese, inserir uma cópia do mesmo no capítulo AnexosUnG) aprovado para realização. Os pacientes foram informados dos propósitos e procedimentos do estudo e o termo de consentimento livre e esclarecido foi obtido antes do início da realização dos mesmos.

A impossibilidade da realização de isolamento absoluto do campo operatório e a variação anatômica das raízes que dificultasse a exodontia foram utilizados como critérios de exclusão. Os fatores de inclusão foram: indivíduos de ambos os sexos, idade entre 13 e 30 anos, ausência de doença geral ou bucal pregressa, bem como a ausência de lesões de cárie ou periapicais.

Delineamento Experimental e Procedimentos Clínicos

Cada dente recebeu três preparos cavitários sendo um na superfície vestibular, um na oclusal e outro na lingual, realizados por apenas um operador. Os tempos de aplicação do ácido fosfórico de 5, 20 e 80s foram serão distribuídos nos preparos de acordo com o que está proposto na Tabela I. Cada preparo cavitário foi realizado e restaurado individualmente.

Previamente aos procedimentos restauradores, uma radiografia periapical de diagnóstico foi realizada a fim de permitir uma avaliação do aspecto geral do dente a ser extraído.

A anestesia do elemento dental foi efetuada mediante a aplicação de solução anestésica loco-regional (Cloridrato de Lidocaína 2% associada à Norepinefrina 1:50.000 -Lidostesim – DFL, lote e data de validade), seguido pela profilaxia com pedra pomes/água e escova de Robinson, estando esta

adaptada ao contra-ângulo e do micro-motor (Kavo). A seguir foi realizado o isolamento absoluto do campo operatório.

Tabela 1 – Distribuição das rodadas e dos tempos em suas respectivas faces para a aplicação do sistema adesivo

	Dente	Condição	Vestibular	Oclusal	Palatina
PMS	1 (AS01)	3	V (20)	O(80)	P(5)
	2(AS02)	2	V(80)	O(5)	P(20)
	3(AS03)	1	V (5)	O(20)	P(80)
	4(AS04)	4	V (5)	O(20)	P(80)
	5(AS05)	6	V(20)	O(80)	P(5)
	6(AS06)	5	V (80)	O(5)	P(20)
PMS	7(AS07)	8	V (80)	O(5)	P(20)
	8(AS08)	7	V(5)	O(20)	P(80)
	9(AS09)	9	V(20)	O(80)	P(5)
	10(AS10)	12	V(20)	O(80)	P(5)
	11(AS11)	11	V(80)	O(5)	P(20)
	12(AS12)	10	V(5)	O(20)	P(80)
PMI	13(AS13)	14	V(80)	O(5)	P(20)
	14(AS14)	13	V(5)	O(20)	P(80)
	15(AS15)	15	V(20)	O(80)	P(5)
	16(AS16)	18	V(20)	O(80)	P(5)
	17(AS17)	16	V(5)	O(20)	P(80)
	18(AS18)	17	V(80)	O(5)	P(20)
PMI	19	22	V(5)	O(20)	P(80)
	20	21	V(20)	O(80)	P(5)
	21	19	V(5)	O(20)	P(80)
	22	24	V(20)	O(80)	P(5)
	23	20	V(80)	O(5)	P(20)
	24	23	V(80)	O(5)	P(20)

O preparo cavitário foi executado nas faces oclusal, vestibular e lingual/palatal com uma ponta diamantada tronco-cônica de borda arredondada (3131,KG Sorensen) montada em uma caneta de alta rotação (Kavo) e sob refrigeração abundante. As cavidades tinham aproximadamente 2,5 a 3 mm de profundidade (parede pulpar), 2,5 mm no sentido vestibulo-lingual e 2,5 mm no sentido méso-distal. **Está conduta teve o objetivo de padronizar a profundidade das cavidades (média/profunda)” Saulo essa justificativa cabe aqui”.** Uma

sonda periodontal milimetrada foi utilizada como guia para a mensuração das dimensões. Não foi realizado nenhum tipo de bisel nas margens do preparo.

Na seqüência era realizada a limpeza da cavidade preparada com um detergente aniônico fraco (Tergensol, Inodon, Rio Grande do Sul, Brasil, lote e prazo de validade).

O ácido fosfórico a 37% (Condicionador Dental Gel, Dentsply, lote e prazo de validade) era aplicado, inicialmente, sobre um bloco de papel para verificar a fluidez e a consistência do mesmo, para evitar que durante sua aplicação ocorresse o extravazamento e posterior penetração para o interior da cavidade inviabilizando, assim, o corpo-de-prova. Por meio de um rigoroso controle da aplicação, o gel foi cuidadosamente dispensado sobre esmalte cavosuperficial do preparo e lá permaneceu durante 15 segundos. A seguir, o gel foi aplicado sobre a dentina e, tal como para o esmalte, permaneceu o mesmo durante o período pré-estabelecido nos grupos controle (20s) ou experimento (5s e 80s).

Na seqüência, o gel ácido foi lavado durante 20 s com jato de ar/água. O excesso de água do campo operatório foi, inicialmente, removido com o auxílio de uma gaze seca e esterilizada. Um sugador cirúrgico, acoplado a uma cânula de aspiração, serviu de aspirador para remover a umidade do ângulo cavosuperficial e da cavidade mantendo-a úmida... A secagem do preparo foi realizada com uma cânula de endodontia, de modo que o esmalte se apresentasse branco e opaco e a dentina com aspecto brilhante para que fosse mantida a umidade dentinária, porém sem excesso de umidade.

Duas camadas do adesivo resinoso Prime & Bond *NT* (Dentsply), um adesivo de frasco único, que preconiza a remoção total da smear layer foram aplicadas de modo que todas as paredes do preparo fossem adequadamente penetradas pelo mesmo. A superfície da dentina permaneceu assim por 20 segundos. O solvente presente no adesivo (acetona) foi removido com breves jatos de ar por no máximo 5 segundos. Antes da fotoativação, toda a cavidade apresentou um aspecto brilhante, evidenciando que não houve falta do adesivo. Esta camada de adesivo foi então fotoativada durante 20 segundos com uma unidade emissora de luz visível (Optilight Plus, Gnatus) e intensidade de 600 mW/cm² aferida com um radiômetro (qual?). Uma camada de ±2mm de

um forrador cavitário adesivo (Protect Liner F, Kuraray, lote e prazo de validade) foi aplicada na parede pulpar.

A cavidade foi restaurada com a resina composta micro-híbrida (Exthet-X, Dentsply) pela técnica incremental horizontal em camadas de ± 1 mm de espessura até o completo preenchimento do preparo cavitário. Cada camada foi então polimerizada pela mesma unidade emissora de luz visível.

Ao final da realização da última cavidade, o isolamento absoluto do campo operatório era cuidadosamente removido, seguido da sindesmotomia, apreensão, luxação e avulsão do elemento dental. Preferência foi dada para a utilização de uma alavanca do tipo Seldin reta, evitando desta maneira sobrecarregar a interface adesiva com a apreensão do fórceps.

Uma vez o dente extraído, os tecidos periodontais adjacentes a este eram removidos e um corte era feito na junção cimento/esmalte separando a raiz da coroa dental. Esta, enfim, era profusivamente imersa em solução fixadora de glutaraldeído a 2,5%.

Preparo do dente para a observação da morfologia da interface

Finalizado o período de armazenagem a coroa dental será agora fixada sobre a superfície da resina acrílica do tubo de PVC de forma que a interface adesiva fique paralela em relação à mesma este foi preso no suporte metálico em L e este na cortadeira de precisão (Isomet 1000, Buehler). Um corte no sentido vestibulo-lingual, passando pelas pontas das cúspides foi feito no centro das restaurações proporcionando duas metades, além de expor a interface adesiva.

Preparo da Amostras para Microscopia Eletrônica de Varredura

Uma das metades obtidas após o corte de cada dente será processada para a observação da interface adesiva em microscopia eletrônica de varredura (MEV).

Inicialmente, fizemos a imersão das metades em solução fixadora de glutaraldeído a 2,5% em 0,1 M de cacodilato de sódio pH 7,4 durante 12 horas a uma temperatura de 4°C. Após esta etapa da fixação, as metades foram lavadas com 20 ml de solução tampão de cacodilato de sódio a 0,2 M pH 7,4 com 3 trocas a cada 20 minutos, seguido da lavagem em água destilada por 5 minutos.

Desidratação:(de quem é esse protocolo, nós temos uma referência, eu modifiquei para o da Patricia)

Foi realizada pela imersão em concentrações crescentes de álcool (20%, 30%, 50%, 70%, 90% por 10 minutos, trocando a solução a cada 5 minutos; 96% por 30 minutos, trocando a solução a cada 15 minutos; 100% por 60 minutos, trocando a solução a cada 30 minutos). Terminada a etapa da desidratação, os mesmos foram imersos em solução de parte iguais de HMDS (Hexametildisilazana) e álcool 100% por 10 minutos, seguido da imersão em HMDS durante 10 minutos (Perdigão et al., J Biomed Mater Res 1995, 29:1111-1120) e então colocadas sobre um filtro de papel, cobertos com um tampa de vidro e mantidas à temperatura ambiente durante 12 horas.

Embebição

Sobre a base do dispositivo plástico para embeber amostras (cilindro para embebição Buehler), os espécimes foram posicionados de modo que as interfaces adesivas permanecessem em contato com a base do dispositivo plástico. Um anél metálico confeccionado de matriz para amalgâma, com diâmetro de 8 mm e altura de 5 mm manteve cada espécime, isolando-o em relação ao vizinho. Este foi fixado sobre a base do dispositivo plástico com uma cera pegajosa aplicada com instrumentos tipo PK Thomas nas extremidades dos mesmos, tomando cuidado para evitar excesso de cera por debaixo do corpo de prova. As partes laterais da base e a porção interna do cilindro para embebição foram então vaselinadas.

Uma resina epóxica de baixa viscosidade (Epo-Thin, Buehler) foi manipulada de acordo com as recomendações do fabricante e preencheu primeiramente, os anéis metálicos contendo os espécimes, seguido pelo completo preenchimento do dispositivo. O anel para embebição permaneceu na câmara de vácuo por 5 minutos. O conjunto espécime/tubo/resina epóxica ficou em uma capela durante o período recomendado pelo fabricante a fim de completar a polimerização da resina. Após a polimerização, removeu-se a base do cilindro aplicando uma espátula 36 posicionada entre a base do cilindro e a lateral do anel. Com um martelo de madeira removeu-se o cilindro de resina contendo os corpos de prova.

Polimento:

Os moldes de resina contendo as interfaces adesivas foram adaptados e apertados ao suporte metálico para polimento na máquina polidora automática. O polimento foi realizado com uma lixa de granulação 240 (Buehler) aplicada

por 30 segundos a uma velocidade de 150 rpm, pressão de 20 libras e refrigeração contínua com água corrente. Esta etapa foi necessariamente ser repetida até que a dentina, a interface adesiva e a resina composta fossem expostas. Tal fato era monitorado com o auxílio de um microscópio de luz e aumento de 35 vezes. Depois, o desgaste da superfície continuou com o emprego das lixas de granulação 400, 600, 800 e 1200 por 30 segundos cada e com a mesma velocidade e pressão indicadas previamente.

O polimento final foi efetuado com pasta para polimento de granulação 1 μ m por um minuto em um pano ultra-fino, seguido das pastas de granulação 0,5 e 0,03 μ m, ambas durante 5 minutos, mantendo-se a rotação de 150 rpm e pressão de 20 libras. Novamente, uma avaliação da presença ou não de resina epóxica ou resíduos sobre a interface adesiva foi criteriosamente feita, esta deveria se apresentar como uma linha extremamente polida entre a resina composta e a dentina.

Os moldes foram posicionados na cortadeira de precisão (Isomet 1000, Buehler) e submetidos à cortes feitos em toda a extensão dos mesmos à uma profundidade de 2 mm em relação à superfície. Antes porém, a superfície da interface adesiva foi protegida com um papel limpo e fita adesiva.

Ao pressionar individualmente cada espécime, foi possível removê-lo do interior do anél metálico e da resina circunjacente. Este foi ser armazenado e identificado em um tubo de plástico apropriado.

Cada espécime em seu tubo recebeu uma solução de álcool à 100%, seguido de um banho em ultra-som durante 5 minutos para remover eventuais resíduos. Depois, o mesmo foi desmineralizado em solução de HCl 1N por 30 segundos, seguido da lavagem com água deionizada durante 3 minutos e desproteínizado em NaOCl 2% por 10 minutos.

Para completar, o espécime foi lavado com água deionizada, seco durante 12 horas e posicionado com uma fita adesiva em suporte metálico previamente identificado para avaliação em microscopia eletrônica de varredura. Uma camada de tinta de prata condutora (EMS) foi aplicada nas bordas da resina epóxica e do suporte metálico e do corpo de prova, porém sem atingir a área a ser observada em MEV; a fim de facilitar a deposição de metais durante a cobertura do espécime, bem como de sua avaliação em MEV.

O recobrimento metálico foi feito durante 90 segundos e 20 mA. (Devo colocar que foi feito na patologia da usp)

Os espécimes foram avaliados quanto à morfologia da interface, espessura da camada híbrida e prolongamento resinoso em microscopia eletrônica de varredura (Low Vacuum JSM - 5900 LV, Laboratório de Luz Síncrotron, Campinas, SP, Brasil) com aumentos variando de 1000 a 40.000 vezes. As fotomicrografias obtidas foram utilizadas para avaliar as características morfológicas da interface adesiva provocadas pelo condicionamento ácido na dentina vital íntegra.

3.1 – ASPECTOS ÉTICOS

Pelo fato implícito de que o estudo envolveria seres humanos, o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexos 1 e 2), bem como o projeto de pesquisa, foram avaliados e aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Guarulhos (Projeto nº 208 – Anexo 3).

3.2 – AMOSTRA

Foram selecionados pacientes do sexo masculino e feminino, saudáveis, que possuíam pré-molares superiores ou inferiores íntegros, com indicação para exodontia por razões ortodônticas (Figura 1). A idade variou entre 14 e 26 anos e a procedência foi do curso de Especialização em Ortodontia da Faculdade de Odontologia da Universidade Guarulhos, bem como de profissionais de clínicas privadas.

Foram considerados itens de exclusão do estudo:

- Dentes que, radiograficamente, apresentassem lesão de cárie;
- Dentes com aspecto radiográfico indicando a presença de espessamento da lâmina dura e/ou lesão periapical;
- Dentes com resposta negativa ao teste de vitalidade pulpar;
- Impossibilidade de instalação de isolamento absoluto.



Figura 1 – Exemplo de um dente pré-molar íntegro indicado para exodontia por motivos ortodônticos

3.3 – DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O fator avaliado neste estudo foi o **tempo de condicionamento ácido** em três níveis. As unidades experimentais foram 25 pré-molares superiores e inferiores íntegros e a variável de resposta a **profundidade de desmineralização** da dentina, avaliada quantitativamente. Os grupos avaliados foram:

- **Grupo Controle – Condicionamento com ácido fosfórico à 37% por 20 segundos (H_3PO_4 20s):** vinte e cinco preparos cavitários oclusais extensos (n=25) (Figura 2) distribuídos aleatoriamente em uma das fóssulas oclusais, mesial ou distal;



Figura 2 – Exemplo de um dente com os dois preparos realizados com a finalidade de demonstrar o potencial de aproveitamento da superfície oclusal na distribuição das cavidades para os grupos controle e experimento

▪ **Grupo Experimento 1 – Condicionamento com ácido fosfórico à 37% por 05 segundos (H₃PO₄ 05s):** treze preparos cavitários (n=13) distribuídos de acordo com a aleatoriedade do grupo controle para as fósulas oclusais (Figura 2).

▪ **Grupo Experimento 2 – Condicionamento com ácido fosfórico à 37% por 80 segundos (H₃PO₄ 80s):** doze preparos cavitários (n=12) distribuídos de acordo com a aleatoriedade do grupo controle para as fósulas oclusais (Figura 2)

Composição do Condicionador Dental Gel – Dentsply

Água	Dióxido de Silicose	
Ácido Fosfórico 37%	Surfactantes	Corante Azul

3.4 – PROCEDIMENTOS CLÍNICOS

Inicialmente, uma radiografia periapical de diagnóstico foi obtida a fim de permitir uma avaliação do aspecto geral de cada dente a ser extraído. Caso existisse algum fator que impedisse o ato cirúrgico, o paciente seria excluído do estudo e encaminhado para a área de melhor atendimento. Dentro da mesma conduta clínica, frio e calor foram aplicados na superfície vestibular para checar o estado de vitalidade pulpar. Uma profilaxia foi realizada com pedra pomes e água e taça de borracha em baixa rotação.

A anestesia do elemento dental foi efetuada mediante a aplicação do anestésico Mepivacaína 2% DFL (Epinefrina 1:100,000, lote 0211c14, val.11/2005), seguido pelo isolamento absoluto do campo operatório (Figura 3). Caso não fosse possível a instalação do mesmo, o paciente seria excluído da pesquis

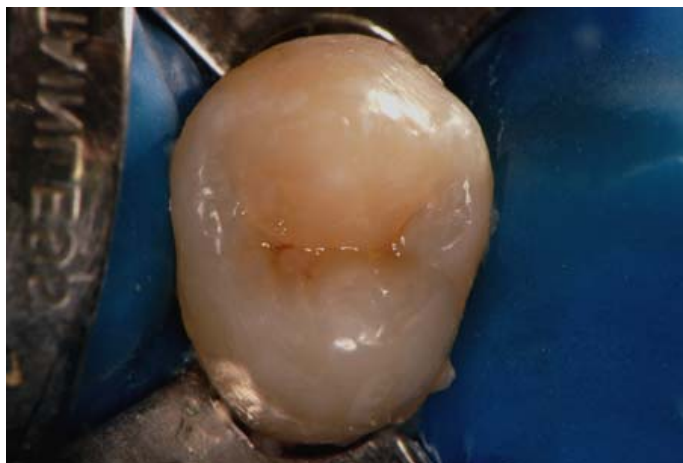


Figura 3 – Isolamento do campo operatório de um pré-molar superior previamente à realização da delimitação da superfície oclusal prévia ao preparo cavitário

Previamente à realização dos preparos cavitários e a fim de facilitar a realização dos mesmos, a superfície oclusal foi delimitada em duas metades, uma mesial e outra distal. Para isto, foi aplicada e polimerizada, no sentido vestibulo-lingual, uma resina (Top Dam, FGM) (Figura 4). É importante lembrar que este material se destina, na clínica odontológica, à proteção da gengiva durante a realização de clareamentos dentais. Desta maneira, ela atuou tanto na indicação do local a serem realizadas as cavidades oclusais, como um guia para limitar a extensão dos preparos.

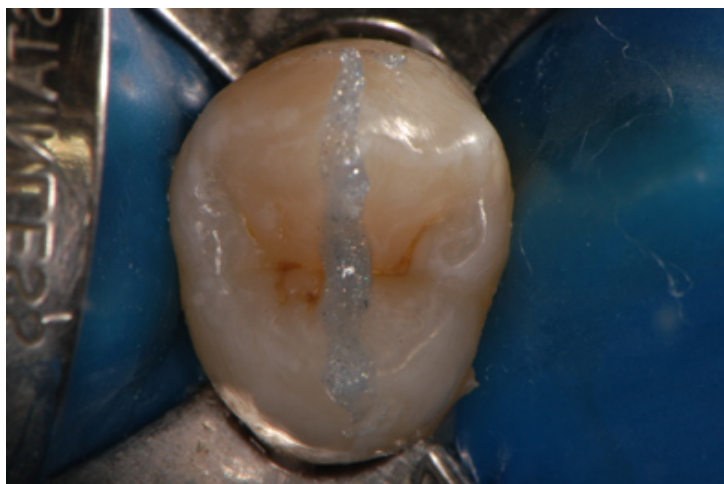


Figura 4 – Delimitação da superfície oclusal de um pré-molar superior com a resina Top Dam, a fim de limitar a extensão dos preparos nas fóssulas oclusais

De acordo com o sorteio realizado previamente à realização dos preparos, uma das cavidades foi designada para o grupo controle e a outra para um dos grupos experimentos.

Cada preparo foi efetuado com uma ponta diamantada (Komet Brasseler – 845, Figuras 5a - b) adaptada a uma caneta de alta rotação e refrigeração abundante. A parede pulpar do preparo foi posicionada ± 3 mm abaixo da crista marginal mesial ou distal. Tal profundidade foi verificada e determinada tanto pela calibração prévia da ponta diamantada (Figuras 6a - b), quanto pelo uso de uma sonda periodontal milimetrada posicionada no interior da cavidade atingindo a parede pulpar.

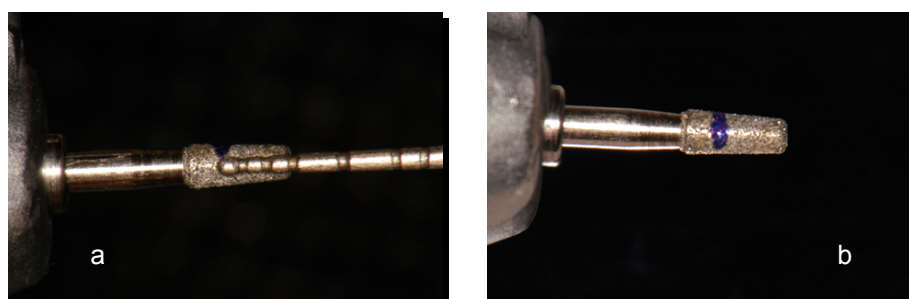


Figura 5 – a) Delimitação da ponta diamantada com o auxílio de uma sonda periodontal milimetrada; b) Ponta diamantada demarcada com a utilização de uma caneta para retroprojeção;

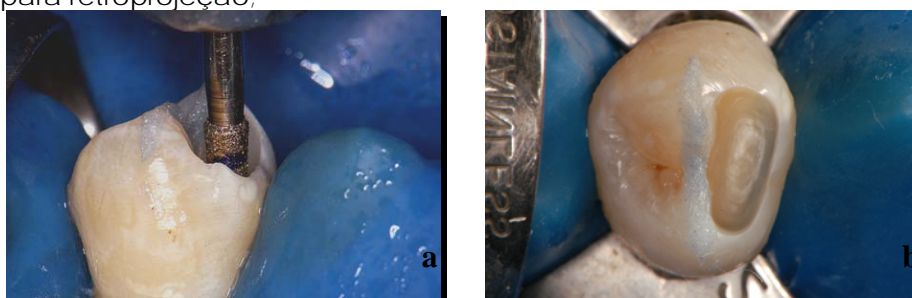


Figura 6 – a) Determinação *in situ* da profundidade do preparo cavitário com a utilização da ponta diamantada previamente calibrada; b) Preparo finalizado na fóssula oclusal mesial

O gel do ácido fosfórico à 37% (Condicionador Dental Gel, Dentsply, lote 56895, val. 09/2006) (Figura 7) foi aplicado, inicialmente, sobre um bloco de papel para verificar a fluidez e a consistência do mesmo. Com esta manobra prévia pudemos evitar que, durante a aplicação inicial sobre o esmalte cavosuperficial, ocorresse o extravasamento inadvertido para o interior da cavidade antes do início da contagem do tempo de condicionamento sobre a dentina. Cada preparo foi realizado e tratado com o gel do ácido fosfórico isoladamente, ou seja, primeiro executou-se um e depois o outro.



Figura 7 – Gel do ácido fosfórico à 37% (Condicionador Dental Gel – Dentsply) utilizado para a realização do condicionamento da dentina vital dos dentes pré-molares

Por meio de um rigoroso controle da aplicação do gel com a seringa e para um melhor controle do tempo, o mesmo foi cuidadosamente dispensado sobre esmalte cavosuperficial do preparo e, a seguir, foi estendido à dentina localizada na parede pulpar e toda a cavidade (Figura 8a-c).

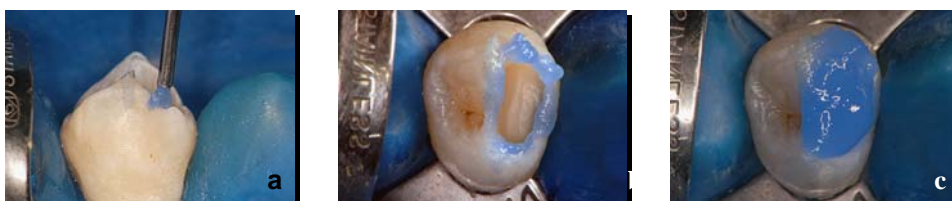


Figura 8 – Aplicação do gel de ácido fosfórico à 37% (Dentsply). a) início da aplicação do gel sobre o esmalte cavosuperficial (visão por vestibular); b) ácido fosfórico aplicado sobre todo o esmalte cavosuperficial (visão oclusal); c) preenchimento de toda a cavidade preparada com o gel de ácido fosfórico.

Uma vez no interior da cavidade, o gel foi mantido inerte durante os períodos de aplicação estabelecidos nos grupos controle (20 s) e experimento (5 ou 80 s). Na seqüência, o mesmo foi lavado durante 15 segundos com jato de água (Figura 9a).

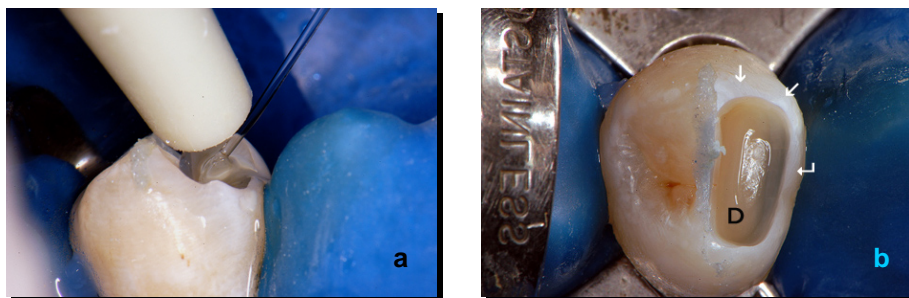


Figura 9 – a) Remoção do gel do ácido fosfórico à 37% com jato de água e sugador cirúrgico; b) Aspecto da dentina úmida (D) antes da fixação. Observe o esmalte cavosuperficial condicionado (setas) com a presença do aspecto esbranquiçado

O excesso de água do campo operatório foi, inicialmente, removido com o auxílio de um sugador cirúrgico e uma gaze seca e esterelizada (Figura 9b). O excesso de água do interior da cavidade foi removido com uma bola de algodão levemente umedecida, evitando a desidratação e colapso das fibras colágenas desmineralizadas presentes na dentina condicionada.

A fixação do substrato condicionado pelo ácido fosfórico se iniciou pela inserção de uma pequena bola de algodão umedecida em solução fixadora de glutaraldeído a 2,5% em tampão fosfato de sódio pH 7,4 no interior do preparo cavitário (Figura 10a). O excesso de solução fixadora presente no esmalte cavosuperficial e na porção superior da bola de algodão foi, sucessivamente, removido pela aplicação de bolas de algodão secas. Isto permitiu que o esmalte se apresentasse seco e apto à penetração da resina de baixa viscosidade (Figura 10b-c).



Figura 10 – a) inserção da bola de algodão umedecida em solução fixadora de glutaraldeído à 2,5% no interior do preparo cavitários; b) início da remoção, com uma bola de algodão seca, do excesso de solução fixadora remanescente no esmalte cavosuperficial condicionado (visão por vestibular); c) visão por oclusal da remoção do excesso da solução fixadora presente na porção superior da bola de algodão

Somente sobre o esmalte, uma fina camada desta resina de baixa viscosidade (Revolution – Kerr, val. 06/2005) foi aplicada e fotopolimerizada por 20 segundos (Figuras 11 e 12).

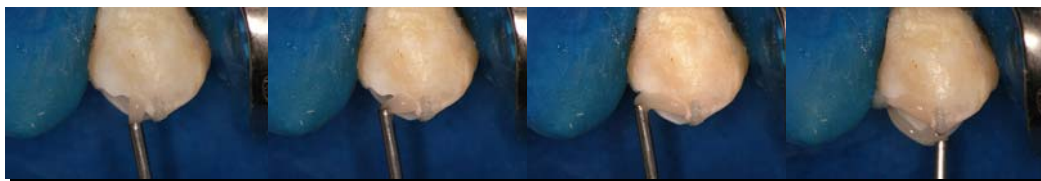


Figura 11 – Seqüência clínica da aplicação da resina de baixa viscosidade sobre o esmalte cavosuperficial condicionado. Primeira etapa da confecção do tampão protetor de resina



Figura 12 – Vista oclusal da resina de baixa viscosidade aplicada sobre toda a extensão do esmalte cavosuperficial. Notar a presença da bola de algodão previamente embebida em solução fixadora dentro da cavidade

Subseqüentemente, uma “capa” de resina microhíbrida (Esthet-X–Dentsply, val. 11/2005) foi depositada sobre a resina de baixa viscosidade fechando a abertura remanescente do preparo, estabelecendo o seu isolamento em relação ao meio bucal. Esta estratégia permitiu a manutenção do estado condicionado da dentina vital *in situ*. Ao mesmo tempo, a barreira impediu a contaminação da cavidade por saliva ou sangue durante a exodontia (Figura 13).



Figura 13 – a-b) Confecção do tampão protetor em resina microhíbrida sobre a resina flowable para o isolamento total da cavidade; c) dente com os dois tampões protetores já realizados.

3.5 – PROCEDIMENTOS DE EXODONTIA E CORTE DOS DENTES

O isolamento absoluto foi retirado e procedeu-se então a remoção do elemento dental. Nesta etapa, todos os procedimentos cirúrgicos preconizados foram realizados, ou seja, sindesmotomia, apreensão, luxação, avulsão e sutura, sem danos ao paciente (Figura 14). Este, após receber as recomendações pós-operatórias, foi liberado e instruído a retornar dentro de uma semana para a remoção da sutura.



Figura 14 – Exodontia do elemento dental após a realização dos procedimentos clínicos de preparo cavitário, aplicação do ácido fosfórico e confecção do tampão de resina.

Após a exodontia, cada dente recebeu um corte 2mm abaixo da junção cimento-esmalte, separando a raiz da coroa. Sobre a nova área exposta pelo corte anterior, um sulco perpendicular ao assoalho pulpar e no sentido mesiodistal foi realizado com um disco diamantado (Disco Diamantado Dupla-Face – DEDECO) (Figura 15). Posteriormente à completa fixação do dente, o sulco veio a facilitar a fratura do dente em duas metades. É importante ressaltar que este sulco não atingiu a parede pulpar do preparo.



Figura 15 – Dente cortado a 2mm da junção cimento-esmalte e realização do sulco no sentido mesio-distal para facilitar a fratura em duas metades

A seguir, o tampão de resina foi removido das duas cavidades e o dente foi mantido dentro de um tubo plástico, imerso em solução fixadora (Figura 16).



Figura 16 – a) Remoção do tampão de resina com o auxílio de um instrumento manual; b) visão oclusal dos preparos cavitários após a remoção do tampão de resina. Notar a bola de algodão unida a resina; c) dente imerso em solução fixadora

3.6 – PROCEDIMENTOS DE FIXAÇÃO, FRATURA E RECOBRIMENTO METÁLICO DOS ESPÉCIMES.

Os dentes permaneceram imersos na solução fixadora de glutaraldeído a 2,5% em 0,1M de cacodilato de sódio pH 7,4 durante sete dias, a uma temperatura de 4°C. Finalizada a etapa de fixação, os dentes foram lavados com 20ml de solução tampão de cacodilato de sódio a 0,2M pH 7,4 com trocas a cada 20 minutos, seguido da lavagem em água destilada por 1 minuto.

A desidratação foi realizada pela imersão dos dentes em concentrações crescentes de álcool (25% por 20 minutos, 50% por 20 minutos, 75% por 20 minutos, 95% por 30 minutos e 100% por 60 minutos). Terminada a etapa da desidratação, foram os mesmos imersos em solução de HMDS (Hexametildisilazana, Ted Pella) por 10 minutos. Em seguida, os dentes foram colocados sobre um filtro de papel, cobertos com um tampa de vidro e mantidos à temperatura ambiente durante 12 horas (Bray *et al.*, 1993; Perdigão *et al.*, 1995).

Com o intuito de observar a desmineralização provocada pelo ácido fosfórico em contato com a dentina da parede pulpar dos dois preparos, realizamos uma fratura no longo eixo do dente. Para isto, foi utilizado um cinzel posicionado no sulco previamente realizado na porção radicular do dente (Figura 17).

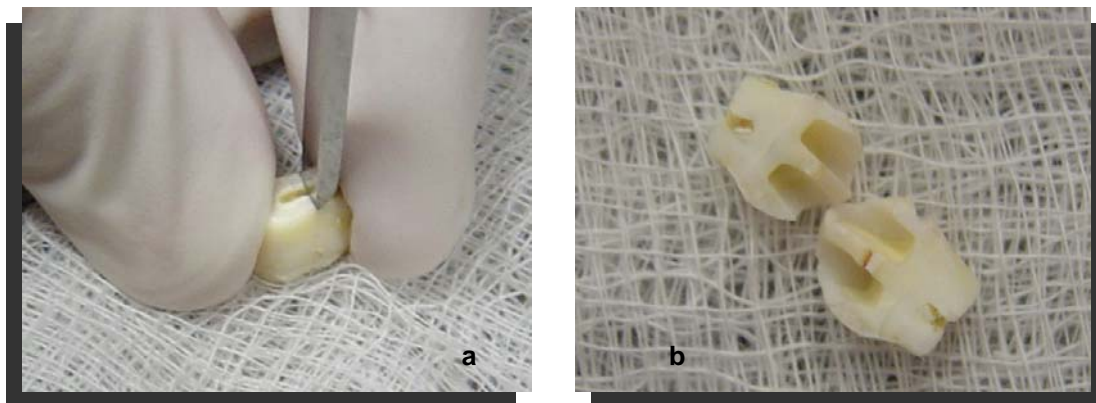


Figura 17 a) Cinzel posicionado no sulco para a realização da fratura; b) Dente fraturado em duas metades

Na seqüência do preparo para observação em microscopia eletrônica de varredura, uma das metades foi montada em um suporte de alumínio apropriado para a leitura ao microscópio eletrônico de varredura (MEV). Uma camada de prata coloidal foi aplicada ao redor do espécime com a intenção de facilitar a deposição do ouro-paládio durante o recobrimento metálico do espécime (Figura 18). Estes foram avaliados em um MEV por emissão de campo (Phillips – XL 30 FEG – DeMa - Departamento de Materiais da Universidade Federal de São Carlos)



Figura 18 – Corpos de prova com recobrimento metálico realizado e pronto para observação em microscópio eletrônico de varredura (MEV)

Para uma melhor observação do padrão da profundidade de desmineralização provocada pela ação do ácido fosfórico, optamos pela utilização de aumentos na ordem de 10.000 a 40.000 vezes. O intuito desta conduta foi de conseguir uma visualização clara e segura das estruturas desmineralizadas durante a mensuração da profundidade de desmineralização. As medidas foram realizadas na dentina intertubular condicionada, localizada na junção entre a parede pulpar e a dentina lateral fraturada (Figura 19).

Para melhor explorar toda extensão do preparo quanto à profundidade de desmineralização, selecionamos e fotografamos cinco áreas da dentina fraturada. Tendo observado um padrão de desmineralização não uniforme durante a aquisição das imagens em MEV, optamos pela realização de cinco medidas da profundidade de desmineralização em cada uma.

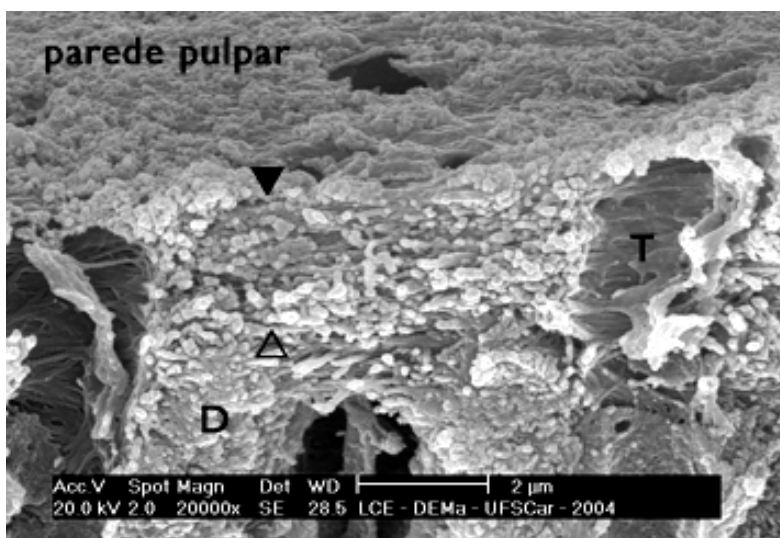


Figura 19 – Imagem de uma dentina desmineralizada na região entre parede pulpar e a dentina lateral fraturada. A região entre as setas demonstra a faixa intertubular desmineralizada e local onde as medidas da profundidade da desmineralização foram obtidas (D= dentina íntegra, T= túbulo dentinário).

Na obtenção das medidas foi utilizado um software (Image Pro Plus versão 4.5, MEDIA CYBERNETICS Inc.) que possibilitou a calibração da barra de mensuração presente na parte inferior de cada imagem, proporcionalmente ao aumento da mesma. Na seqüência, foi realizada a mensuração da faixa de dentina desmineralizada (Figura 20). As medidas obtidas foram digitadas em folha apropriada e posteriormente tratadas estatisticamente

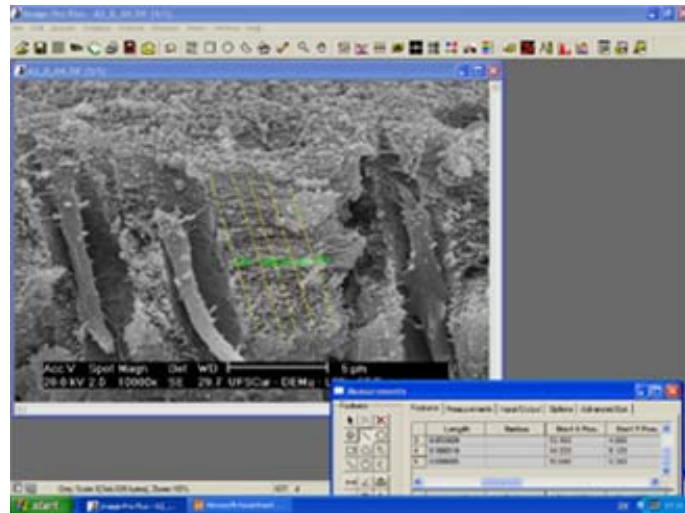


Figura 20 – Imagem do software Image Pro Plus adquirida da tela do computador demonstrando a obtenção das medidas da profundidade da desmineralização obtida em microscopia eletrônica de varredura

3.4 – Análise Estatística

Para a análise dos dados, optou-se pela aplicação da Análise de Variância ($\alpha=0,05$) com medidas repetidas e dois fatores fixos (tempo + preparo) em três níveis (5, 20 e 80 segundos) completamente cruzadas e teste C de Dunnett para observar as diferenças entre os níveis.

4. RESULTADOS

Em um total de 50 cavidades foram obtidas 250 fotos, sendo que em cada uma foram realizadas 5 mensurações que totalizam 1250 medidas da profundidade de desmineralização. Para a análise destas medidas foi empregado o programa SPSS para o Windows versão 11.5 (SPSS Inc., Chicago, IL).

A Tabela 1 apresenta para cada fator de estudo (Preparo e Tempo de Condicionamento com Ácido Fosfórico) o tamanho da amostra obtida, totalizando 25 dentes que receberam preparos na Mesial e na Distal.

Tabela 1 – Tamanho da Amostra por Fator.

Fator	Descrição do Fator	N
Preparo	Mesial (M)	25
	Distal (D)	25
Tempo (s)	5	13
	20	25
	80	12

A diferença que existe para o número de cavidades realizadas entre os grupos é decorrente do emprego de um delineamento por blocos incompletos, ou seja, prepararam-se 13 dentes com a combinação dos tempos 5s e 20s e 12 dentes com a combinação dos tempos 80s e 20s, alternando-se entre preparo Mesial e Distal para cada combinação de tempo. O tempo de 20s foi considerado o grupo controle.

O objetivo desta conduta se baseou em duas premissas. A primeira, diz respeito ao potencial da utilização da extensa área de dentina que os dentes pré-molares apresentam na sua superfície oclusal. A outra, em minimizar o efeito do viés do dente em que os preparos seriam realizados.

É possível observar pela Análise de Variância (Tabela 2) que não houve evidências estatisticamente significantes ao nível de 5 %, tanto para o fator preparo ($p = 0,794$) quanto para a interação preparo*tempo ($p = 0,835$). Em outras palavras, não existe evidências significativas de interferência da

utilização do procedimento adotado para o preparo dos corpos-de-prova (cavidade na região mesial ou distal) nos valores da profundidade da desmineralização, assim como para a combinação dos fatores preparo e tempo

Tabela 2 – Análise de Variância com medidas repetidas para os fatores tempo, preparo e interação (tempo*preparo)

Fator	Soma dos Quadrados	GL	Quadrado Médio	F	Sig
PREPARO	1,384	1	1,384	0,069	0,794
TEMPO	281,918	2	140,959	7,058	0,002
PREPARO*TEMPO	7,238	2	3,619	0,181	0,835
Resíduo	878,723	44	19,971		

Nível de Significância adotado: $\alpha = 5\%$

As médias para a profundidade de desmineralização e os erros-padrão em seus diferentes níveis dentro do fator tempo estão na Tabela 3.

Tabela 3 – Médias da profundidade de desmineralização (em micrometros) em função do tempo de aplicação do ácido fosfórico sobre dentina vital

Tempo (s)	Média	Erro Padrão	Intervalo de confiança (95%)	
			Limite Inferior	Limite Superior
5	2,10	0,24	1,61	2,58
20	2,81	0,17	2,46	3,16
80	3,47	0,25	2,97	3,98

Em virtude de não ter sido evidenciado o efeito do fator “Preparo” na profundidade de desmineralização, procedeu-se a realização da Análise de Variância com medidas repetidas apenas com o fator tempo.

Quando realizada a Análise de Variância (Tabela 4) para comparar as médias dos valores da profundidade de desmineralização entre os 3 níveis do fator tempo, este demonstrou haver evidências de diferença estatisticamente significativa ao nível de 1% de significância ($p=0,001$) entre as médias.

Tabela 4 – Análise de Variância com medidas repetidas para o fator tempo

Fator	Soma dos Quadratos	GL	Quadrado Médio	F	Sig.
Tempo	295,352	2	147,676	7,810	0,001
Resíduo	888,724	47	18,909		

Os gráficos 1, 2 e 3 mostram a variação da profundidade de desmineralização (em micrometros) ao longo da extensão cavitária (foram realizadas 25 medições ao longo da extensão cavitária) para os níveis 5, 20 e 80s do fator tempo.

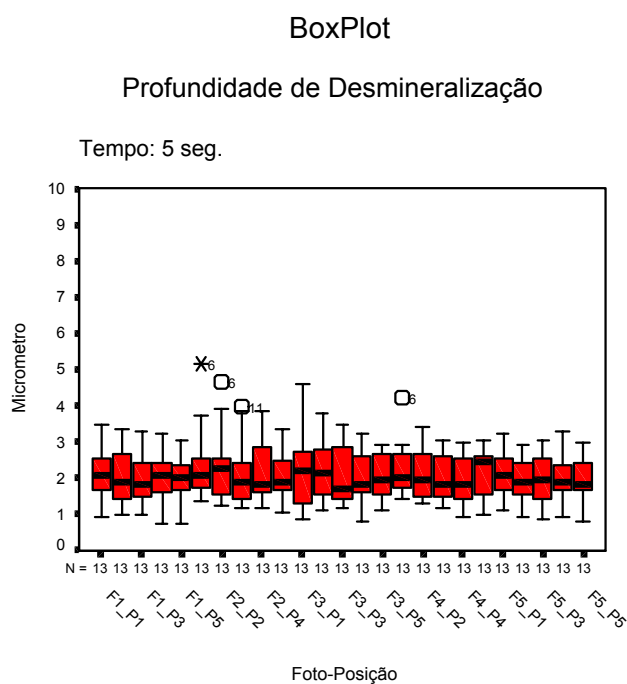


Gráfico 1 – Box Plot da profundidade da desmineralização em micrometros para o tempo de 5 segundos

A presença de “outliers”, que nos gráficos está caracterizada por circunferências e asteriscos, indica uma desmineralização excessiva, porém as medidas são genuínas.

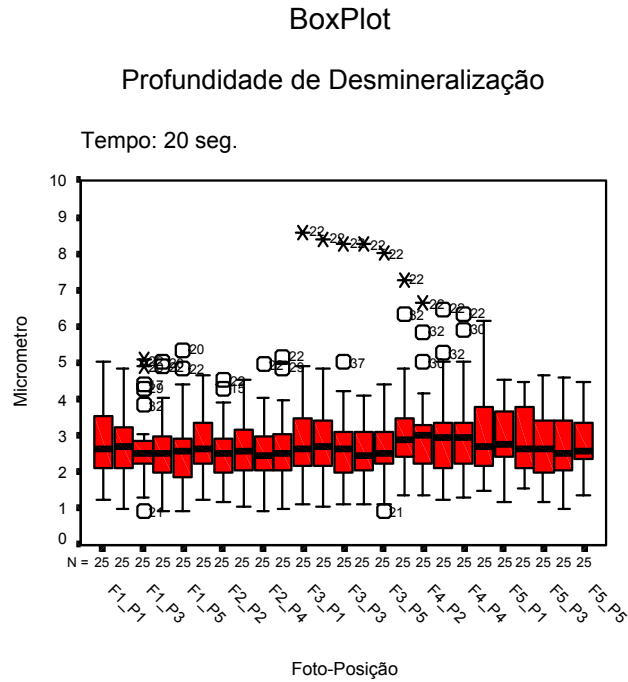


Gráfico 2 – Box Plot da profundidade da desmineralização em micrometros para o tempo de 20 segundos

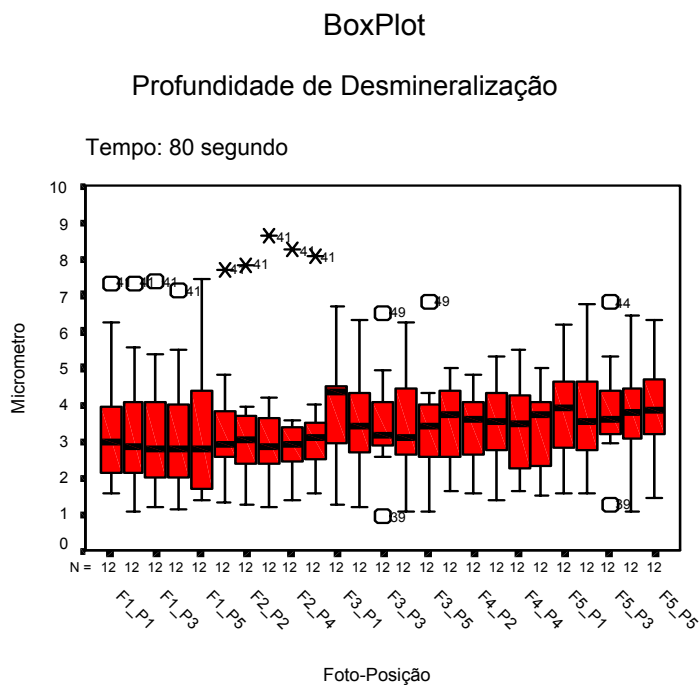


Gráfico 3 – Box Plot da profundidade da desmineralização em micrometros para o tempo de 80 segundos

Com base nos testes de igualdade de variância de Mauchly (Anexo) e de Levene foi observada heterocedasticidade em algumas posições (Tabela 5). Desta forma, para a análise de comparações múltiplas o teste adotado foi o “C de Dunnett” uma vez que este é mais adequado quando se detecta este tipo de ocorrência dentro da amostra. (Tabela 6).

Tabela 5 – Teste de Levene para avaliar a igualdade das variâncias

	F	Df1	Df2	Sig.
F1_P1	3,778	2	47	,030
F1_P2	3,241	2	47	,048
F1_P3	3,198	2	47	,050
F1_P4	3,536	2	47	,037
F1_P5	5,121	2	47	,010
F2_P1	1,154	2	47	,324
F2_P2	,903	2	47	,412
F2_P3	1,460	2	47	,243
F2_P4	,395	2	47	,676
F2_P5	,727	2	47	,489
F3_P1	,194	2	47	,825
F3_P2	,424	2	47	,657
F3_P3	,580	2	47	,564
F3_P4	,915	2	47	,408
F3_P5	1,079	2	47	,348
F4_P1	1,408	2	47	,255
F4_P2	,624	2	47	,540
F4_P3	1,130	2	47	,332
F4_P4	1,247	2	47	,297
F4_P5	2,400	2	47	,102
F5_P1	4,484	2	47	,017
F5_P2	4,885	2	47	,012
F5_P3	,956	2	47	,392
F5_P4	2,155	2	47	,127
F5_P5	3,055	2	47	,057

Na Tabela 6 o Teste C de Dunnett demonstra que existem evidências significativas ao nível de 5% de significância entre os tempos de 5s em relação aos de 20s e 80s. Por outro lado, o mesmo também demonstra que não houve evidências de diferenças significativas entre os tempos de 20s e 80s.

Tabela 6 – Teste de comparações múltiplas “C de Dunnett” entre os e níveis do fator tempo (5, 20 e 80 seg.).

Tempo		Diferença entre Médias	Erro	Intervalo de Confiança 95%	
				Limite Inferior	Limite Superior
5	20	-,714(*)	,23912	-1,3300	-,0996
	80	-1,373(*)	,34628	-2,3066	-,4409
20	5	,714(*)	,23912	,0996	1,3300
	80	-,658	,35559	-1,6011	,2833
80	5	1,373(*)	,34628	,4409	2,3066
	20	,6589	,35559	-,2833	1,6011

* A diferença entre as medias é significativa ao nível de 5%

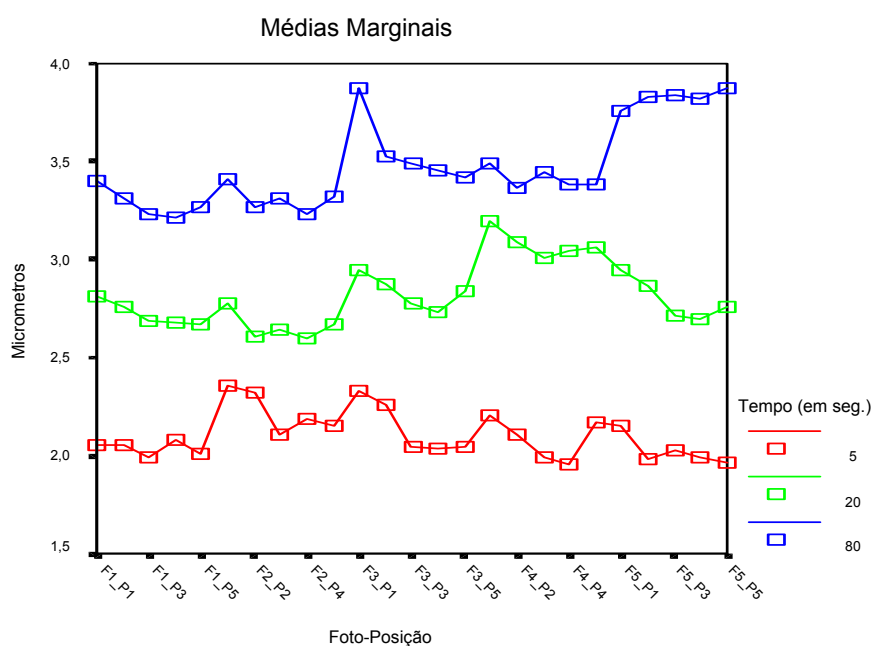


Gráfico 4 – Distribuição das médias da amostra total relativa à profundidade de desmineralização em micrometros em função da variação do tempo de aplicação do ácido fosfórico para cada imagem ao longo da extensão cavitária.

4.1 – Aspectos Morfológicos da Dentina Vital Desmineralizada

A faixa de dentina desmineralizada nos corpos-de-prova, principalmente a intertubular, apresentou características de profundidade que variaram em seu padrão de uniformidade, independente do tempo de aplicação do ácido fosfórico (Figuras 21 e 22).

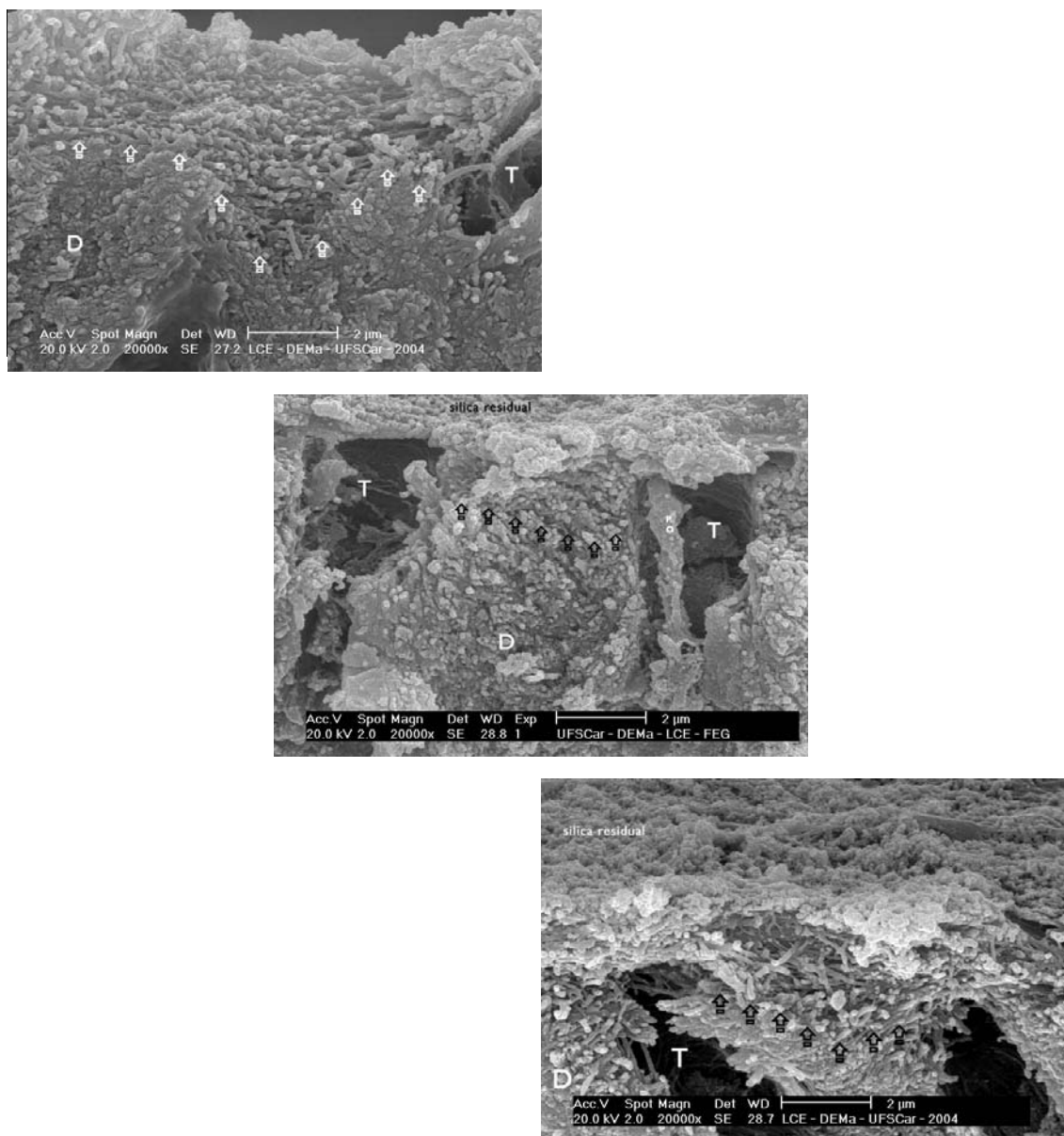


Figura 21 – Fotomicrografia dos tempos de 20, 5 e 80s mostrando a faixa de dentina intertubular com padrão de desmineralização **variável** (setas brancas e pretas). D= dentina íntegra, T= túbulo dentinário, PO= processo odontoblástico

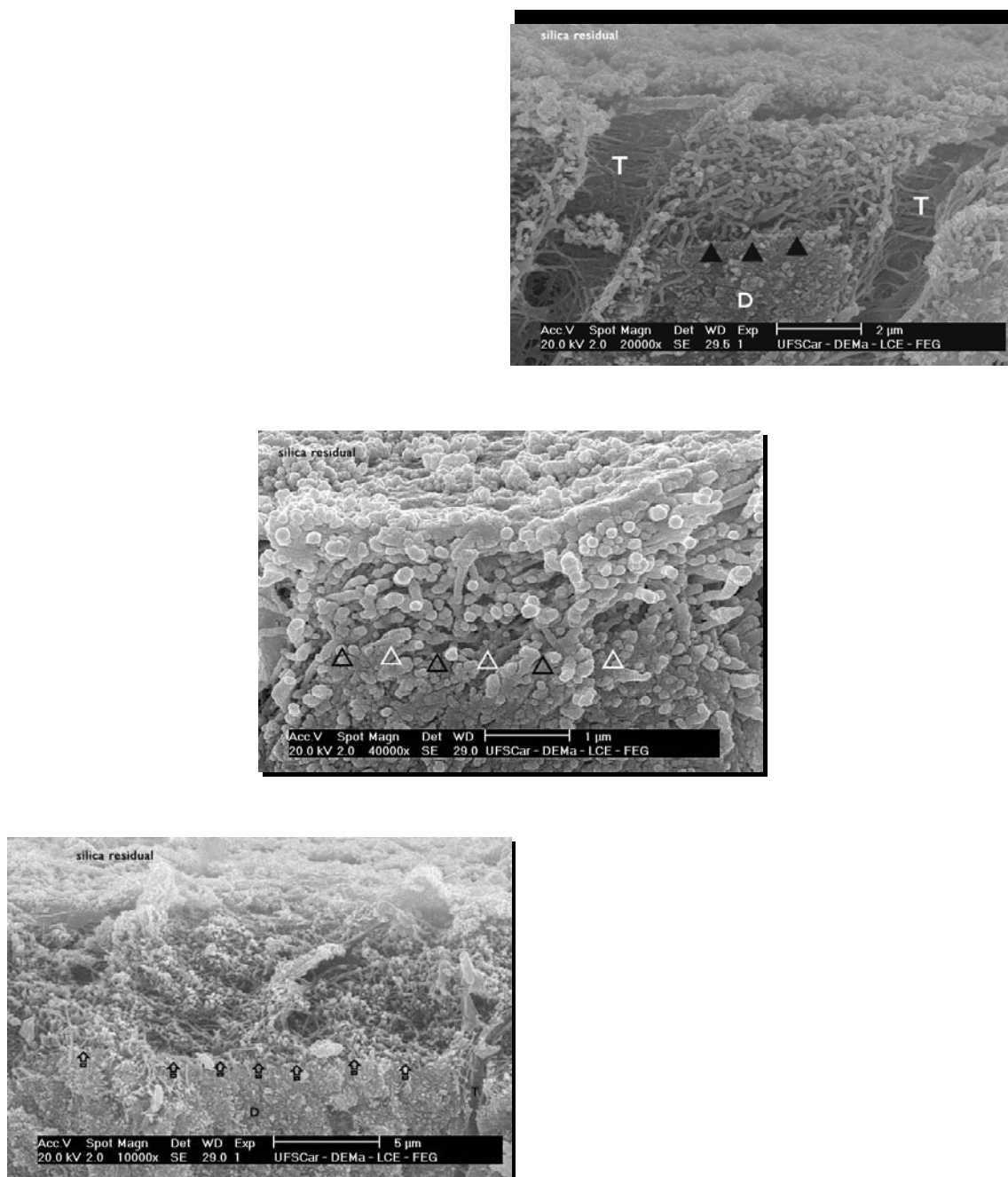


Figura 22 – Fotomicrografia dos tempos de 5, 20 e 80s mostrando a faixa de dentina intertubular com padrão de desmineralização **não variável** (setas pretas e triângulos brancos e pretos). D= dentina íntegra, T= túbulo dentinário

A Figura 23 demonstra um exemplo de profundidades de desmineralização excessivas, porém genuínas, indicando assim a presença de “outliers” dentro da amostra. Esta fotomicrografia foi obtida do corpo-de-prova D15/80s e que no Gráfico 3 está representada por asteriscos com número 41.

Observe que o aumento da fotomicrografia foi de 10.000x, a fim de possibilitar a visualização total da área desmineralizada e sua mensuração.

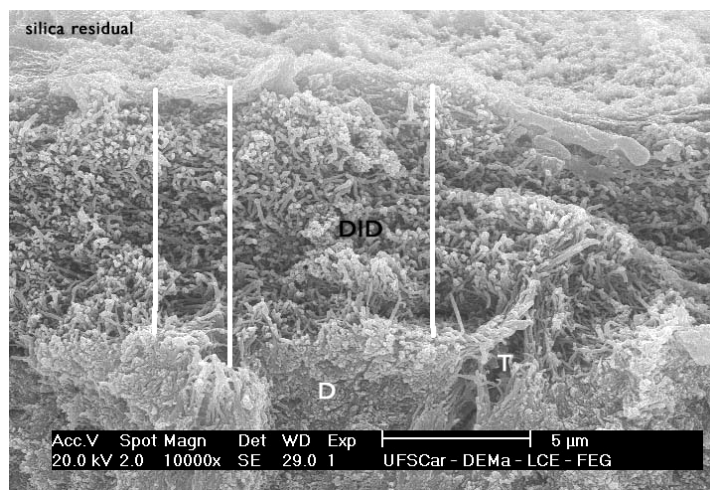


Figura 23 – Fotomicrografia demonstrando uma profundidade de desmineralização extensa em um corpo-de-prova de 80s. DID= dentina intertubular desmineralizada, D= dentina íntegra, T= túbulo dentinário

Quanto à camada residual de sílica na superfície pulpar proveniente do ácido fosfórico, esta se mostrou presente em todos os corpos de prova observados independente do tempo de aplicação, Esta camada não interferiu nas medições da profundidade de desmineralização (Figura 24).

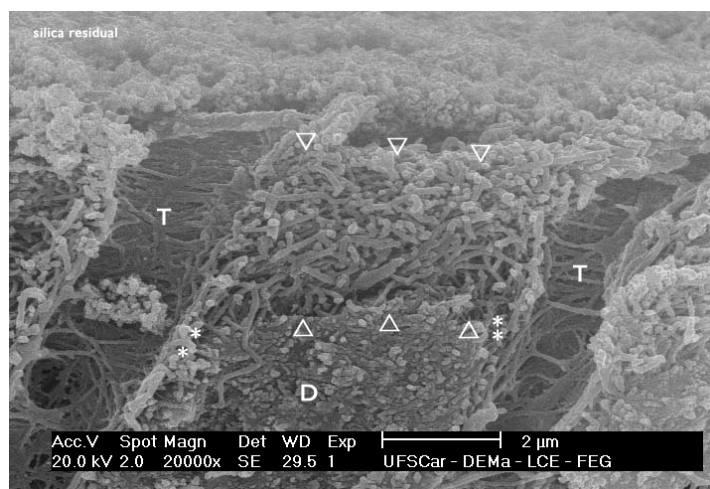


Figura 24 – Fotomicrografia em MEV demonstrando a presença de sílica residual na superfície pulpar. T= túbulo dentinário, D= dentina íntegra, *= funil, triângulos brancos= dentina intertubular desmineralizada

Outro fato a ser realçado se refere à presença, na maioria dos corpos-de-prova avaliados, do padrão de desmineralização em forma de funil para os

tempos de 20 e 80s (Figuras 25 e 26). Este aspecto de funil se apresentou junto à dentina peritubular nas proximidades dos túbulos e que o mesmo foi mais pronunciado no tempo de 80s (Figura 5).

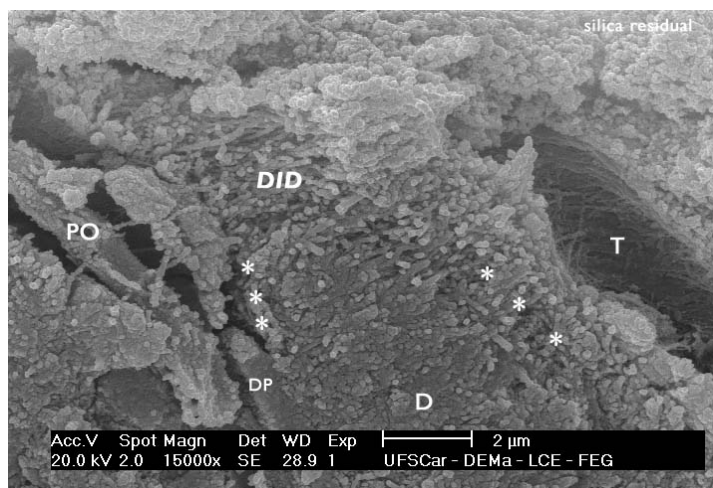


Figura 25 – Fotomicrografia em MEV demonstrando a presença do aspecto de funil causada pela ação do ácido fosfórico no tempo de 80s. D= dentina íntegra, T= túbulo dentinário, PO= processo odontoblástico, DID= dentina intertubular desmineralizada

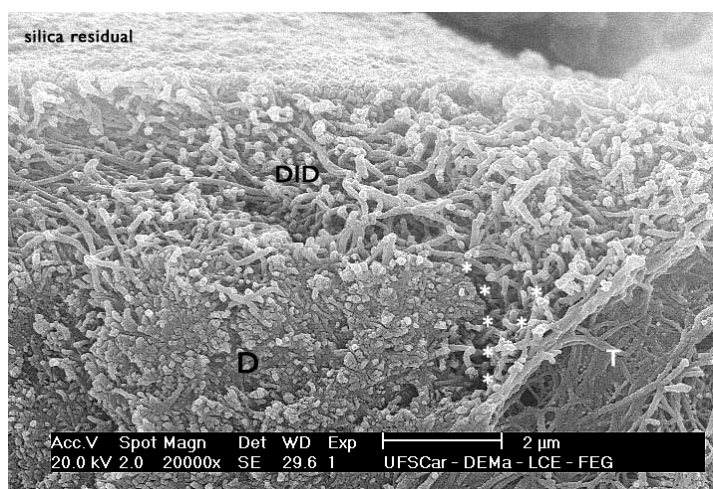


Figura 26 – Fotomicrografia em MEV demonstrando a presença do aspecto de funil causada pela ação do ácido fosfórico no tempo de 20s. D= dentina íntegra, T= túbulo dentinário, PO= processo odontoblástico, DID= dentina intertubular desmineralizada

A observação da rede de fibrilas colágenas com aspecto mais poroso foi evidente nos corpos-de-prova pertencentes aos grupos de 20s e 80s. Compare estes aspectos nas Figuras 27, 28 e 29.

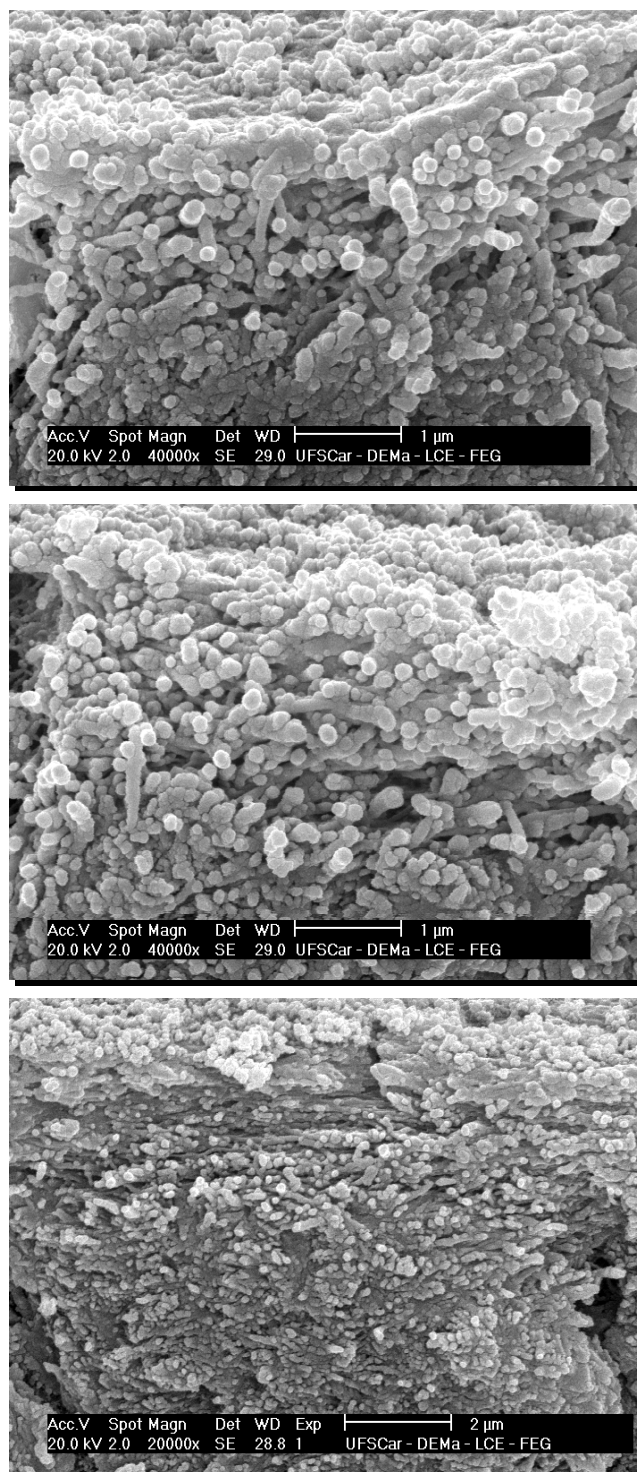


Figura 27 – Fotomicrografia em MEV mostrando a rede de fibrilas colágenas com poucos poros no tempo de 5s.

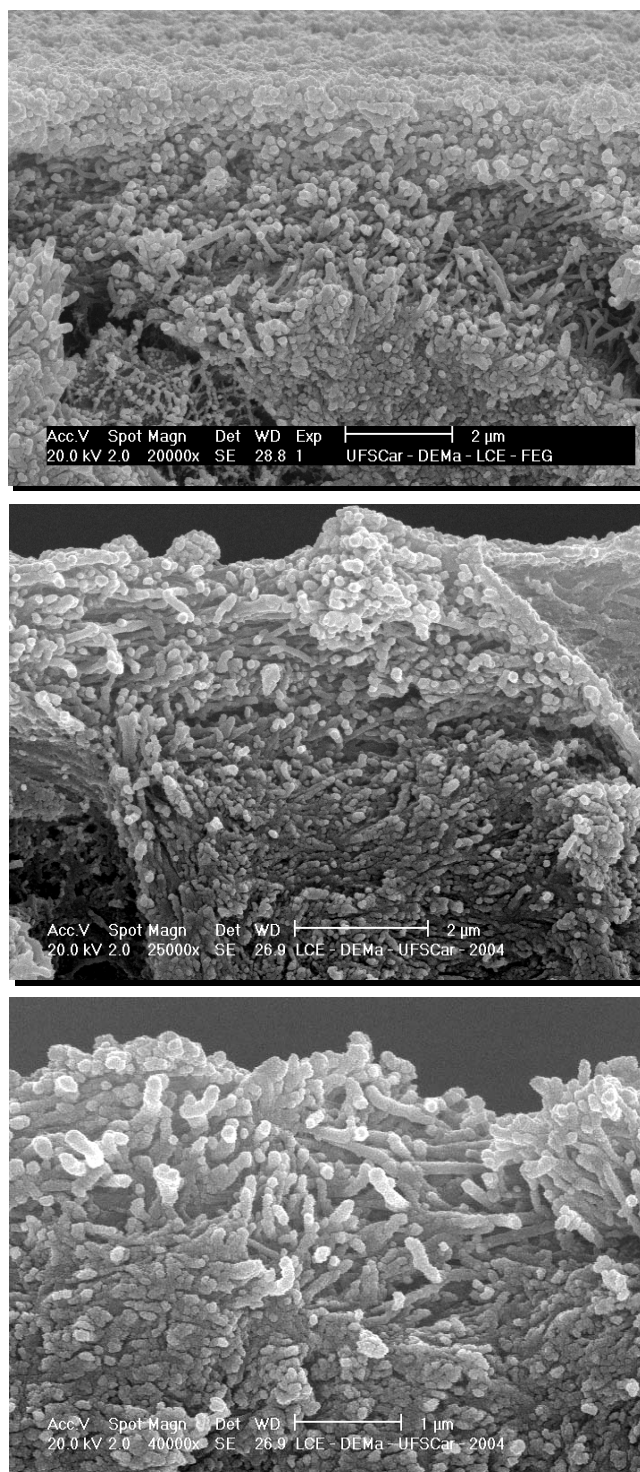


Figura 28 – Fotomicrografia em MEV mostrando o aspecto mais poroso da rede de fibrilas colágenas no tempo de 20s.

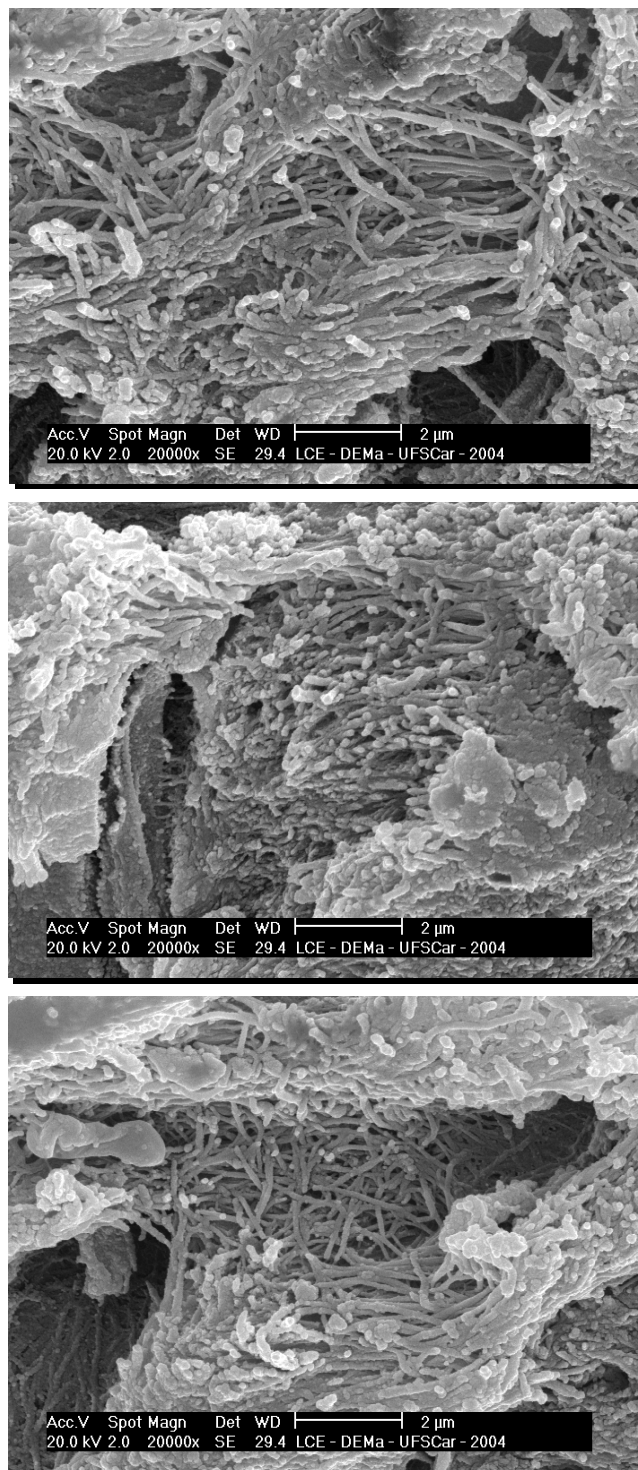


Figura 29 – Fotomicrografia em MEV mostrando o aspecto muito mais poroso da rede de fibrilas colágenas no tempo de 80s.

5. DISCUSSÃO

Considerada uma heresia por várias décadas, principalmente por conta da injúria pulpar, a aplicação do ácido fosfórico sobre o esmalte e a dentina é, ainda hoje, uma das técnicas mais utilizadas em odontologia restauradora adesiva, sejam elas diretas ou indiretas (Perdigão *et al.*, 2004; Tyas & Burrow, 2004).

Uma recente revisão sobre a longevidade de restaurações adesivas mostra que os adesivos de três etapas, ou seja, os que fazem uso do ácido fosfórico como agente condicionador de esmalte e de dentina, são considerados os materiais de eleição (“gold standard”) para comparações com outros sistemas adesivos quanto ao desempenho laboratorial e clínico (De Munck *et al.*, 2005).

O aumento da indicação clínica da técnica do condicionamento da dentina para procedimentos restauradores adesivos baseou-se em duas evidências: o estabelecimento de uma união mais efetiva ao substrato dentinário e que o condicionamento ácido da dentina não causava injúrias pulpares e sim a falha no selamento das restaurações, com grande potencial para o desenvolvimento de infiltração bacteriana (Nakabayashi & Pashley, 2000). Segundo ainda estes autores, o condicionamento ácido da dentina é um procedimento necessário para aumentar a porosidade da dentina intertubular e permitir a infiltração dos monômeros resinosos, condição esta de suma importância para a obtenção de uma boa adesão. Segundo Meerbeek *et al.*, (2003) o tratamento da dentina com ácido fosfórico remove, na parte superficial do tecido, seu conteúdo mineral em quase sua totalidade e expõe uma rede microporosa de colágeno.

Atualmente, independente do tipo de monômero ácido ou resinoso, presente nos adesivos autocondicionantes, do tipo de técnica empregada para a aplicação do sistema adesivo ou outro fator que leve a uma união com o substrato dental, parece ser o uso do ácido fosfórico o agente de escolha para a etapa inicial da desmineralização do esmalte e da dentina em procedimentos restauradores adesivos.

Um dos autores que mais estudos realizou *in vivo*, especialmente com dentes pré-molares com indicação para exodontia por motivos ortodônticos, foi

Martin Brännström (Brännström & Johnson, 1974; Brännström *et al.*, 1979; Brännström *et al.*, 1980). Muito provavelmente, ele e seus colaboradores tenham sido os primeiros a relatarem e a utilizarem um método para evitar a contaminação da superfície da dentina, após a realização de preparos cavitários, quando submetidas a tratamentos superficiais antes de serem avaliadas microscopicamente.

Nos anos 90, porém utilizando uma técnica similar a dos autores citados acima, Cagidiaco *et al.*, 1997, avaliaram a profundidade de desmineralização *in vitro* e *in vivo* com os ácidos maleico e fosfórico e não encontraram diferenças estatísticas significantes (ácido maleico e ácido fosfórico variaram de 3 - 10µm). Interessantemente, os autores obtiveram estas diferenças sem que fosse aplicado um método estatístico. Além disso, se esqueceram de mencionar que o método empregado por eles já tinha sido empregado nos trabalhos de Brännström no que tange a utilização do isolamento na tentativa de evitar a contaminação.

Nestes estudos das décadas de 70 e 90, a estratégia foi a de manter o isolamento absoluto no dente durante a exodontia a fim de evitar a contaminação pela saliva e/ou sangue. Embora seja a mesma interessante, cabem aqui algumas considerações, até porque os autores citados não apresentaram maiores detalhes sobre a realização dos procedimentos e que justificam o método que empregamos em nosso estudo.

Um ponto de grande importância no preparo de espécimes para observação da morfologia de dentina, principalmente em MEV está relacionado com o processo de fixação do substrato. Embora nada tenha sido relatado nos trabalhos citados acima, quando se faz, por exemplo, o tratamento superficial da dentina com ácido fosfórico, é imperativo que a fixação da mesma seja imediato a fim de evitar que a superfície seja alterada por fatores externos, tais como variações na umidade, contaminação por sangue e saliva, desidratação e colapso das fibrilas, etc.

Pensando nisto, o trabalho que realizamos estabelece uma estratégia inédita na proteção e fixação da dentina desmineralizada medida em que realiza esta etapa *in situ*, ou seja, no local onde o ácido fosfórico foi aplicado e removido pelo jato de água. (Figura 9). Isto foi possível, primeiro pela inserção de uma bola de algodão embebida na solução fixadora dentro do preparo

cavitário e, segundo pela proteção da mesma com resina (Figuras 10 e 12). Obviamente que a imersão do dente em solução fixadora, se deu logo após a exodontia e a remoção da proteção de resina, a fim de completar todas as etapas do processamento da amostra, antes da observação em MEV.

É plausível considerar também que, mesmo com o isolamento absoluto em posição como no caso dos trabalhos de Brännström *et al.*, 1979 e Cagidiaco *et al.*, 1997, o controle da contaminação sobre a dentina exposta pela saliva e sangue fica um tanto comprometido durante as manobras cirúrgicas de sindesmotomia, apreensão, luxação e avulsão.

Em que pese a controvérsia no aspecto da contaminação por saliva ou sangue sobre a dentina condicionada (Pashley *et al.*, 1988; van Schalwyk *et al.*, 2003), um estudo recente (Sirirungrojying *et al.*, 2004) revela a presença de saliva e uma quantidade reduzida de filamentos resinosos no esmalte após avaliação em microscopia eletrônica de varredura. Além disso, boa parte dos autores que relatam não haver diferenças nas resistências de união e outros aspectos da interface adesiva (Townsend & Dunn, 2004; Hansen & Munksgaard, 1989), concordam que é melhor evitar a contaminação já que ainda não se tem conhecimento na performance clínica desta condição.

Nesse sentido, o método utilizado em nosso trabalho para evitar a contaminação salivar da superfície de dentina condicionada através da confecção do tampão protetor com a associação de uma resina de baixa viscosidade e uma resina microhíbrida foi uma estratégia muito efetiva (Figuras 13 e 14). Conforme evidenciado, a estratégia do tampão de resina realmente evitou o contato com o meio bucal, já que não houve nenhuma alteração da morfologia da dentina desmineralizada causada pela contaminação quando os corpos-de-prova foram observados ao microscópio eletrônico de varredura (Figuras 21 a 29).

Diante dos fatos e das fotos observadas, é possível admitir, e até certo ponto concluir que o método empregado em nosso estudo demonstra uma conduta clínica segura não somente no sentido de proteger e preservar a vitalidade do tecido dentinário, mas também de iniciar o processo de fixação do substrato que está sendo avaliado, independente do tratamento superficial a ser realizado.

O efeito da realização do preparo cavitário em diferentes locais da superfície oclusal na profundidade da desmineralização não apresentou diferenças estatísticas significantes (Tabela 2, $p=0,794$), assim como a interação preparo*tempo (Tabela 2, $p=0,350$). Com estes achados, o trabalho mostra também o que de início tínhamos como expectativa, ou seja, que a realização de preparos em dois locais da superfície oclusal acomodam adequadamente a distribuição de grupos controle e experimento e potencializa, por assim dizer, a utilização de boa parte da dentina oclusal sem que o mesmo incorra em prejuízo dos resultados. Além disso, todos procedimentos clínicos estão, de certa forma, representando o que é feito pelos odontólogos durante os procedimentos restauradores e que contribui assim para uma maior proximidade com o que se faz clinicamente.

Existem vários fatores que interferem no maior ou no menor poder de ação do ácido fosfórico na profundidade da desmineralização dentinária tais como o pH, a concentração, o espessante, o tempo de aplicação e até a forma de apresentação do agente ácido (Perdigão *et al.*, 1996; Hamid *et al.*, 1996; Marshall *et al.*, 1997; Perdigão *et al.*, 2000). Os efeitos do somatório destes fatores em um estudo passa a ser imprevisível sendo que, no nosso, os mesmos foram evitados a fim de controlar somente a ação de um único ácido sobre a dentina em função apenas do tempo de aplicação do mesmo.

Dentre os fatores acima citados que afetam a profundidade da desmineralização dentinária, o único que está sob o controle do profissional é o tempo de aplicação do ácido fosfórico e que no nosso entender, tem grande interesse na observação quando estudado em dentina, especialmente a vital.

Estudos que utilizaram diferentes marcas comerciais de ácido fosfórico, mas com concentrações similares, resultaram em diferentes profundidades de desmineralização (Perdigão *et al.*, 1996; Perdigão *et al.*, 2000). Nestes estudos, eles encontraram maiores valores de profundidade em produtos espessados com polímero ou sem espessantes. Com esta observação, decidimos pelo tratamento de todas as cavidades em todos os grupos com o mesmo gel do ácido fosfórico espessado por sílica coloidal (Condicionador Dental Gel – Dentsply). Portanto a composição do produto não foi um fator que pudesse ter influência nos resultados da profundidade de desmineralização dentinária em nosso estudo.

A profundidade de desmineralização é também um importante tópico na abordagem da adesão dentinária com o uso de sistemas adesivos de condicionamento total (Perdigão & Lopes 2001), pois o ideal é que todos os espaços deixados nesta profundidade da área de dentina desmineralizada sejam preenchidos pela resina adesiva. De grande importância também tem sido a influência que o tempo de aplicação do agente condicionador no caso o ácido fosfórico exerce na variação da profundidade da desmineralização dentinária.

No entender de Uno & Finger (1996), a profundidade da desmineralização, quando medida indiretamente em função da espessura da camada híbrida, é uma função logarítmica em relação tanto a concentração quanto a variação do tempo de aplicação do ácido fosfórico. Para eles, o condicionamento da dentina com ácido fosfórico durante 30s à uma concentração de 20% proporciona uma espessura da camada híbrida de 10µm e, conseqüentemente, a mesma profundidade de desmineralização. Consideraram também que, de uma forma indireta, a espessura da camada híbrida pode ser considerada um indicador da profundidade de desmineralização da dentina.

De uma forma semelhante, as mesmas observações foram confirmadas por Titley *et al.*, 1995 e Perdigão *et al.* 2000. Cabe aqui também considerar dois aspectos importantes obtidos pelo mesmo Titley e seus colaboradores: as resinas sem carga foram incapazes de infiltrarem-se completamente na zona colágeno desmineralizado e que ácidos mais diluídos são capazes de reduzir tanto o grau quanto a profundidade da desmineralização, sugerindo assim uma infiltração mais uniforme e completa do colágeno.

Durante a realização das imagens em microscopia eletrônica de varredura (MEV) previamente à obtenção das profundidades da desmineralização dentinária, foram detectados diferentes padrões da desmineralização que chamaram a nossa atenção (Figuras 21 e 22). Em um desses, a dentina intertubular apresentou uma desmineralização mais plana especialmente no grupo de 5s (Figura 22). No outro, em áreas localizadas adjacentes à dentina peritubular, houve a ocorrência de uma desmineralização em forma de funil (Figura 25 e 26). À semelhança do que foi observado em estudos *in vitro* (Marshall *et al.*, 1997; Perdigão *et al.*, 2000; Perdigão & Lopes,

2001) nossos achados compartilham das mesmas características morfológicas. Contudo, existiu também uma associação dessa morfologia com o tempo, sendo que a mesma foi mais constante nos corpos-de-prova condicionados por 20s e 80s.

Com base nestes padrões, nosso estudo ponderou pela seleção de cinco imagens obtidas ao longo de toda a extensão do preparo cavitário e da área fraturada. Além disso, em cada área selecionada e fotografada, cinco medidas da profundidade de desmineralização foram obtidas da dentina intertubular. Neste particular, o trabalho proposto se difere de outros que avaliaram a influência da variação do tempo de condicionamento ácido da dentina *in vitro*, tais como os realizados por Perdigão & Lopes (2001), que fizeram somente cinco medições da maior profundidade da desmineralização em toda a extensão do corpo-de-prova.

As médias da profundidade de desmineralização em micrometros obtidas na dentina vital para aplicação do ácido fosfórico nos tempos de 5s, 20s e 80s foram, respectivamente, 2,10 μ m, 2,81 μ m e 3,47 μ m (Tabela 3). Aplicando-se o teste de análise de variância nesses dados, entre os três níveis do fator tempo, este detectou haver diferenças estatísticas significantes (Tabela 4).

Para determinar as diferenças entre os níveis do fator tempo de aplicação do ácido fosfórico, foi aplicado o teste C de Dunnet, que mostrou diferenças estatisticamente significantes quando o tempo de 5s foi comparado aos tempos de 20s e 80s (Tabela 6). Em contrapartida não houve evidências de diferenças significativas para os tempos de 20s e 80s (Tabela 6).

A escolha do teste estatístico C de Dunnet (Anexo 4) foi decorrente da heterocedasticidade da amostra, fato comprovado pelo teste de Levene (Tabela 5). Este fator de desigualdade ocorreu pela presença de algumas medidas com valores de profundidade de desmineralização muito acima daqueles encontrados dentro da amostra, independente do tempo (Gráficos 1, 2 e 3).

Com base no ponto de vista das diferenças existentes na profundidade da desmineralização da dentina com o ácido fosfórico, Perdigão & Lopes (2001) avaliaram os tempos de 5, 15, 30, 45, 60 e 120s. Obtiveram então diferentes médias para a profundidade de desmineralização que variaram de

1,1µm para o tempo de 5s até 8,1µm para o tempo de 120s, mostrando que a variação do tempo de aplicação do ácido fosfórico tem diferenças estatisticamente significantes. Estes achados não só corroboram os resultados do trabalho de Uno & Finger (1996), como também aqueles encontrados por e Wang & Spencer (2004).

Ainda que não tendo como objetivo avaliar a profundidade de desmineralização, Hashimoto *et al.* (2000) e Hashimoto *et al.*, (2002) avaliaram vários tempos de condicionamento com o ácido fosfórico, e observaram que a diferença estatística prevaleceu apenas quando foram comparados os tempos de 15 e 60s com os de 120 e 180s, tanto para a espessura da camada híbrida quanto para a resistência de união. Os resultados mostram que o condicionamento excessivo da dentina levam à formação de uma zona de dentina desmineralizada dentro da camada híbrida como consequência de uma maior profundidade de desmineralização.

Apesar dos estudos terem sido realizados *in vitro* estes autores encontraram medidas da profundidade de desmineralização superiores às encontradas em nosso trabalho, principalmente para os valores de 20s e 80s. Esta discrepância pode ser consequência do espessante ou de outros modificadores introduzidos pelos fabricantes dos mesmos (Perdigão *et al.*, 2000).

A interação dos agentes condicionadores com a dentina é limitada, como por exemplo, pela ação tampão da hidroxiapatita e de outros componentes da dentina, incluindo as fibrilas colágenas colapsadas, as quais podem agir como uma barreira para a desmineralização (Camps & Pashley, 2000). Soma-se a este fato, o fluido que vem do tecido pulpar ter o potencial para a redução da penetração do ácido na dentina e ainda contribuir para a diluição do mesmo (Ciucchi *et al.*, 1995; Nakabayashi & Pashley, 2000). Assim, podemos supor que, como no presente trabalho o substrato dentinário submetido ao tratamento ácido se encontrava em seu estado vital, estes fatores podem ter tido um efeito ainda maior.

É de conhecimento que a incompleta penetração do adesivo na rede de colágeno desmineralizada, mormente pela excessiva profundidade da desmineralização dentinária em função do tempo de aplicação do ácido fosfórico, pode resultar em uma zona delicada dentro da camada híbrida

(Pashley, 1992), e entre a camada híbrida e a dentina não alterada (Perdigão & Lopes 2001; Pradelle-Plasse *et al.*, 2002; Hashimoto *et al.*, 2000). Além disso, esta camada amorfa consistindo de fibrilas colágenas desprotegidas podem ser hidrolizadas com o passar do tempo.

Dada as múltiplas condições clínicas em que recebemos os clientes para tratamentos restauradores adesivos, considera-se que não há como garantir que um sistema adesivo escolhido possa, com sucesso, infiltrar-se completamente por toda dentina desmineralizada, até por que estudos a longo prazo da durabilidade destas interfaces adesivas *in vivo* são ainda raros (Liebenberg, 1999).

Um fato peculiar observado no trabalho realizado por nós foi o comportamento apresentado pelo tempo de 5s. Neste, observamos tanto uma menor profundidade da desmineralização, quanto uma porcentagem muito pequena de desmineralização adjacente à dentina peritubular caracterizada pela forma de funil (Figuras 21 e 22) quando comparada aos tempos de 20 e 80s. Além disso, observamos também uma menor porosidade entre as fibrilas colágenas e um padrão mais uniforme da desmineralização intertubular (Figuras 22 e 23).

Interessantemente, estes aspectos nos remetem ao ano de 1980 onde Nordenvall & Brännström mostraram que, *in vivo*, o tempo de 5s resultava em uma melhor impregnação com mais filamentos resinosos do que os tempos de 60 e 120 segundos. No entender deles, não haveria razão para permitir que o ácido permanecesse sobre a dentina por períodos superiores a 5s. Há que ressaltar aqui que nesta ocasião o sistema adesivo não continha componentes hidrofílicos e que a dentina era seca com jato de ar sem a essencial preocupação de mantê-la úmida.

Mais recentemente, Abu-Hanna & Gordan (2004) mostram em um estudo de resistência de união que tempos inferiores a 15s, inclusive o de 5s, não afetaram significativamente os valores de união.

Com base nos resultados que até aqui obtivemos, é possível levantar a hipótese de que o tempo de 5s pode permitir uma melhor infiltração e conseqüente impregnação das fibrilas colágenas expostas pelo condicionamento ácido, resultando assim em uma camada híbrida mais uniforme e muito provavelmente sem a zona de dentina não desmineralizada.

Estes aspectos ainda necessitam de comprovações em estudos a serem realizados em dentina vital e em diferentes períodos de avaliação clínica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS *

Abu-Hanna A, Gordan VV. Evaluation of etching time on dentin bond strength using single bottle bonding systems. *J Adhes Dent.* 2004; 6(2): 105-10.

Kramer IRH, McLean JW. Alterations in the staining reactions of dentine resulting from a constituent of new self-polymerizing resin. *Br Dent J* 1952; 93: 150-153.

McLean JW. Bonding to enamel and dentin. *Quintessence Int* 1995; 26: 234.

Van Meerbeek B, Perdigão J, Lambrechts P, Vanherle G. The clinical performance of adhesives. *J Dent* 1998; 26: 1-20.

Kanca J 3rd, Sandrik J. Bonding to dentin. Clues to the mechanism of adhesion. *Am J Dent* 1998; 11: 154-159.

Swift EJ, Perdigão J, Heymann HO. Bonding to enamel and dentin: A brief history and state of the art, 1995. *Quintessence Int* 1995; 26: 95-110.

Lopes GC, Baratieri LN, Andrada MAC, Vieira LCC. Dental adhesion: Present state of the art and future perspectives. *Quintessence Int* 2002; 33: 213-224.

Perdigão J, Lopes M. Dentin Bonding – Questions for the new millennium. *J Adhesive Dent* 1999; 1: 191-209.

Perdigão J, May KN, Wilder AD, Lopes M. The effect of depth of dentin desmineralization on bond strengths and morphology of hybrid layer. *Oper Dent* 2000; 25: 186-194.

Marshall GWJr. Dentin: Microstructure and characterization. *Quintessence Int* 1993; 24: 606-617.

Marshall GWJr, Marshall SJ, Kinney JH, Balooch M. The dentin substrate: structure and properties related to bonding. *J Dent* 1997; 25: 441-458.

Katchburian E, Arana V. *Histologia e Embriologia oral*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1999.

Brännström M, Nordenvall KJ. The effect of acid etching on enamel, dentin and the inner surface of the resin restoration: A scanning electron microscopic investigation. *J Dent Res* 1977; 56(8): 917-923.

Rider M, Tanner AN, Kenny B. Investigation of adhesive properties of dental composite materials using an improved tensile test procedure and scanning electron microscopy. *J Dent Res* 1977; 56(4): 368-78.

Torney DL. The retentive ability of acid-etched dentin. *J Prosthet Dent* 1978; 39(2): 169-172.

* Baseado no modelo Vancouver. Abreviaturas dos periódicos em conformidade com Medline

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

Nakabayashi N, Ashizawa M, Nakamura M. Identification of resin-dentin hybrid layer in vital human dentin created *in vivo*: durable bonding to vital dentin. *Quintessence Int* 1992; 23: 135-141.

Pasheley DH, Carvalho RM. Dentine permeability and dentine adhesion. *J Dent* 1997; 25: 355-372.

Inokoshi S, Hosoda H, Harnirattisai C, Shimada Y, Hosoda H. A study on resin-impregnated layer of dentin. Part I. A comparative study on the decalcified and undecalcified sections and the application of argon ion beam etching to disclose the resin-impregnated layer of dentin. *Japanese Journal of Conservative Dentistry* 1990; 33: 427-442.

Pashley DH. Clinical considerations of microleakage. *J Endod*. 1990Feb;16(2):70-7.

Buonocore MG. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. *J Dent Res* 1955; 34(6): 8498-53.

Armstrong SR, Keller JC, Boyer DB. Mode of failure in the dentin-adhesive resin-resin composite bonded joint as determined by strength-based (uTBS) and fracture-based (CNSB) mechanical testing. *Dent Mater*. 2001; 17(3): 201-10.

Bray DF, Bagu J, Koepler P. Comparison of Hexamethyldisilane (HMDS), Peldri II and critical point drying methods for scanning electron microscopy of biological specimens. *Microsc Res Tech*. 1993; 26(6): 489-95.

Brännström M; Per-Olof G; Nordenvall KJ. The effect of some cleaning solutions on the morphology of dentin prepared in different ways: an in-vivo study. *J Dent Child*. 1979; 4: 291-95

Brännström M; Johnson G. Effects of various conditioners and cleaning agents on prepared dentin surfaces. *J Prosthet Dent*. 1974; 31: 422-430.

Brännström M, Nordenvall KJ, Glantz P-O. The effect of EDTA-containing Surface – active solutions on the morphology of prepared dentin: An in vivo study. *J Dent Res*. 1980; 59: 1127-1131.

Cagidiaco, MC, Ferrari M, Davidson, CL. Comparison of *in vivo* and *in vitro* demineralized dentin with phosphoric and maleic acid. *ASDC J Dent Child*. 1997; 64(1): 17-21.

Camps J, Pashley DH. Buffering action of human dentin *in vitro*. *J Adhes Dent*. 2000; 2(1): 39-50.

Carvalho RM, Mendonca JS, Santiago SL, Silveira RR, Garcia FC, Tay FR *et al.* Effects of HEMA/solvent combinations on bond strength to dentin. **J Dent Res.** 2003; 82(8): 597-601.

Carvalho RM, Yoshiama M, Pashley EL, Pashley DH. *In vitro* study on the dimensional changes of human dentine after demineralization. **Arch Oral Biol.** 1996; 41(4): 369-77.

Ciucchi B, Bouillaguet S, Holz J, Pashley DH. Dentinal fluids dynamics in human teeth *in vivo*. **J Endod.** 1995; 21(4): 191-94..

De Munck J; Van Landuyt K; Peumans M; Poitevin A; Lambrechts P; Braem M *et al.* A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results. **J Dent Res.** 2005; 84(2): 118-32

Eick JD, Gwinnett AJ, Pashley DH, Robinson SJ. Current concepts on adhesion to dentin. **Crit Rev Oral Biol Med.** 1997; 8(3): 306-35.

Eick JD, Robinson SJ, Chappell RP, Cobb CM, Spencer P. The dentinal surface: its influence on dentinal adhesion. Part III. **Quintessence Int.** 1993; 24(8): 571-82.

El Feninat F, Ellis TH, Sacher E, Stangel I. Moisture-dependent renaturation of collagen in phosphoric acid etched human dentin. **J Biomed Mater Res.** 1998; 42(4): 549-53.

Eliades G, Palaghias G, Vougiouklakis G. Effect of acidic conditioners on dentin morphology, molecular composition and collagen conformation *in situ*. **Dent Mater.** 1997; 13(1): 24-33.

Eliades G, Vougiouklakis G, Palaghias G. Effect of dentin primers on the morphology, molecular composition and collagen conformation of acid-demineralized dentin *in situ*. **Dent Mater.** 1999; 15(5): 310-7.

Ferrari M, Garcia-Godoy F. Sealing ability of new generation adhesive-restorative materials placed on vital dentin. **Am J Dent.** 2002; 15: 117-28.

Gray S, Burgess. *In vivo* and *in vitro* comparison of dentin bonding agents. **J Dent Res.** [Abstr 1547].1993; 72: 381.

Gregoire G, Joniot S, Guignes P, Millas A I. Dentin permeability: self-etching and one-bottle dentin bonding systems. **J Prosthet Dent.** 2003; 90(1): 42-9.

Hamid A, Sutton W, Hume WR. Variation in phosphoric acid concentration and time and HEMA diffusion through dentin. **Am J Dent.** 1996; 9(5): 211-4.

Hansen EK, Munksgaard EC. Saliva contamination vs. Efficacy of dentin-bonding agents. **Dent Mater.** 1989; 5(5): 329-33.

Hashimoto M, Ohno H, Endo K, Kaga M, Sano H, Oguchi H. The effect of hybrid layer thickness on bond strength: demineralized dentin zone of the hybrid layer. **Dent Mater.** 2000; 16(6): 406-11.

Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Sano H, Tay FR, Ogushi H *et al.* Over-etching effects on micro-tensile bond strength and failure patterns for two dentin bonding systems. **J Dent.** 2002; 30(2-3): 99-105.

Jacobsen T, Soderholm KJ, Garcea I, Mondragon E. Calcium leaching from dentin and shear bond strength after etching with phosphoric acid of different concentrations **Eur J Oral Sci.** 2000; 108(3): 247-54.

Kato G, Nakabayashi N. Effect o phosphoric acid concentration on wet-bonding to etched dentin. **Dent Mater.** 1996; 12(4): 250-5.

Liebenberg WH. Probationary adhesive dentistry. **J Can Dent Assoc.** 1999; 65(4): 582-4

Marshall GW Jr, Inai N, Wu-Magidi IC, Balooch M, Kinney JH, Tagami J *et al.* Dentin demineralization: effects of dentin depth, pH and different acids. **Dent Mater.** 1997; 13(6): 338-43.

Marshall GW Jr, Wu-Magidi IC, Watanabe LG, Inai N, Balooch M, Kinney JH *et al.* Effect of citric acid concentration on dentin demineralization, dehydration, and rehydration: atomic force microscopy study. **J Biomed Mater Res.** 1998; 42(4): 500-7.

McGuckin RS, Tao L, Thompson WO, Pashley DH. Shear bond strength of Scotchbond *in vivo*. **Dent Mater.** 1991; 7(1): 50-3.

Meerbeek B, Inokoshi S, Braem M, Lambrechts P, Vanherle G. Morphological aspects of the resin-dentin interdiffusion zone with different dentin adhesives systems. **J Dent Res.** 1992; 71(8): 1530-40.

Meerbeek B, De Munk J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P *et al.* Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. **Oper Dent.** 2003; 28(3): 215-35.

Meerbeek B, Vargas M, Inoue S, Yoshida Y, Peumans M, Lambrechts P *et al.* Adhesives and cements to promote preservation dentistry. **Oper Dent.** (Suppl) 2001; 119-44.

Nordenvall JK; Brännström M. In vivo resin impregnation of dentinal tubules. **J Prosthet Dent.** 1980; 44(6): 630-37.

Nakabayashi N, Pashley DH. **Hibridização dos Tecidos Dentais Duros.** São Paulo: 2000.

Okamoto Y, Heeley JD, Dogon IL, Shintani H. Effects of phosphoric acid and tannic acid on dentine collagen. **J Oral Rehabil.** 1991; 18(6): 507-12.

Pashley DH, Ciucchi B, Sano H, Horner JA. Permeability of dentin to adhesives agents. **Quintessence Int.** 1993; 24(9): 618-31.

Pashley DH, Michelich V, Kehl T. Dentin permeability: effects of smear layer removal. **J Prosthet Dent.** 1981; 46(5): 531-7.

Pashley EL, Tao L, Mackert JR, Pashley DH. Comparison of in vivo vs. in vitro Bonding of Composite Resin to the Dentin of Canine Teeth. **J Dent Res.** 1988; 67(2): 467-70.

Pashley DH. The effects of acid etching on the pulpodentin complex. **Oper Dent.** 1992; 17(6): 229-42.

Paul SJ, Welter DA, Ghazi M, Pashley D. Nanoleakage at the dentin adhesive interface vs microtensile bond strength. **Oper Dent.** 1999; 24(3): 181-8.

Perdigão J, Anauatte Netto C, Carmo AR, Lewgoy HR, Cordeiro HJ, Dutra-Correa M, et al. Influence of acid etching and enamel beveling on the 6-month clinical performance of a self-etch dentin adhesive. **Compend Contin Educ Dent.** 2004; 25(1): 33-4, 36-8, 40 passim, quiz 46-7

Perdigão J, Lopes M. The effect of etching time on dentin demineralization. **Quintessence Int.** 2001; 32: 19-26.

Perdigão J, Lambrechts P, Meerbeek B, Tome AR, Vanherle G, Lopes AB. Morphological field emission-SEM study of the effect of six phosphoric acid etching agents on human dentin. **Dent Mater.** 1996; 12(4): 262-71.

Perdigão J. **An Ultra-morphological study of human dentine exposed to adhesive systems.** [Thesis]: Leuven, 1995.

Perdigão J, May Jr KN, Wilder Jr AD, Lopes M. The effect of depth of dentin demineralization on bond strengths and morphology of the hybrid layer. **Oper Dent.** 2000; 25(3): 186-94.

Prati C, Ferrieri P, Galloni C, Mongiorgi R, Davidson CL. Dentine permeability and bond quality as affected by new bonding systems. **J Dent.** 1995; 23(4): 217-26.

Pradelle-Plasse N, Wenger F, Colon P. Effects of conditioners on dentin permeability using an impedance method. **J Dent.** 2002; 30(5): 251-7.

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

Sano H, Yoshiyama M, Ebisu S, Burrow MF, Takatsu T, Ciucchi B *et al.* Comparative SEM and TEM observations of nanoleakage within the hybrid layer. **Oper Dent.** 1995; 20(4):160-7.

Schalwyk V, Botha FS, van der Vyver PJ, de Wet FA, Botha SJ. Effect of biological contamination on dentine bond strength of adhesive resins. **SADJ**. 2003; 58(4) :143-7.

Sirirungrojying S, Hayakawa T, Saito K, Meguro D, Nemoto K, Kasai K. Bonding durability between orthodontic brackets and human enamel treated with megabond self-etching primer using 4-META/MMA-TBB resin cement. **Dent Mater J**. 2004; 32(3): 251-7

Spencer P, Swafford JR. Unprotected protein at the dentin-adhesive interface. **Quintessence Int**. 1999; 30(7): 501-7.

Stewart BL, Harcourt JK, Tyas MJ. Determination of adhesive bond strength to dentin. A new method. **Aust Dent J**. 1990; 35(5): 454-8.

Tay FR, Pashley DH. Dental Adhesives of the Future. **J Adhes Dent**. 2002; 4(2): 91-103.

Tay FR, Carvalho RM, Yiu CK, King NM, Zhang Y, Agee K *et al*. Mechanical disruption of dentin collagen fibrils during resin-dentin bond testing. **J Adhes Dent**. 2000; 2(3): 175-92.

Titley K, Chernecky R, Maric B, Valiquette N, Smith D. The morphology of the demineralized layer in primed dentin. **Am J Dent**. 1995; 7(1): 22-6.

Townsend RD, Dunn WJ. The effect of saliva contamination on enamel and dentin using a self-etching adhesive. **J Am Dent Assoc**. 2004; 135(7): 895-901.

Tyas MJ; Burrow MF. Adhesive restorative materials: a review. **Aust Dent J**. 2004; 49(3): 112-21

Tyler M, Charbeneau G, Dennison J. *In vivo* and *in vitro* tensile bond strength of glass-ionomer cements. [Abstr 48]: **J Dent Res**. 1987; 66: 112.

Uno S, Finger WJ. Effects of acidic conditioners on dentine demineralization and dimension of hybrid layers. **J Dent**. 1996; 24(3): 211-6.

Wang JD, Hume WR. Diffusion of hydrogen ion and hydroxyl ion from various sources through dentine. **Int Endod J**. 1988; 21(1):17-26.

Wang Y, Spencer P. Hybridization efficiency of the adhesive/dentin interface with wet bonding. **J Dent Res**. 2003; 82(2): 141-5.

Wang Y, Spencer P. effect of acid etching time and technique on interfacial characteristics of the adhesive-dentin bond using differential staining. **Eur J Oral Sci**. 2004; 112: 293-99.

Anexo 1**Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para pacientes menores de 18 anos**

As informações contidas neste, foram fornecidas pelo Dr. Adriano da Silva Pereira Sapata, Dr. Saulo Geraldeli (6464-1769, 9756-7467), objetivando firmar acordo por escrito, mediante o qual o responsável pelo menor, objeto de pesquisa, autoriza a participação do mesmo, com pleno conhecimento da natureza, dos procedimentos e riscos que submeterá o menor, com a capacidade de livre arbítrio e sem qualquer coação.

1°) Título preliminar do trabalho experimental: “Influência da Variação do Tempo de Aplicação do Ácido Fosfórico na Morfologia da Interface Adesiva em Dentina Vital”.

2°) Objetivo principal: Avaliar os aspectos micromorfológicos da interface adesiva em dentina humana permanente vital íntegra.

3°) Justificativa: Necessidade de avaliar o efeito do tempo de condicionamento ácido em dentina vital, pois os estudos in vitro não podem reproduzir todas as variáveis existentes na cavidade oral.

4°) Procedimentos: Serão selecionados pacientes com pré-molares permanentes indicados para exodontia por razões ortodônticas. Serão feitas radiografias, fotografias e profilaxia dos mesmos. Após a anestesia local, cada dente receberá três preparos cavitários e a aplicação do sistema restaurador. Em seguida, o dente será removido e armazenado em local apropriado.

5°) Desconfortos e riscos esperados: necessidade de um tempo de atendimento maior em razão da execução dos procedimentos clínicos.

6°) Benefícios para os voluntários: resolução do problema na medida em que os elementos dentais serão removidos sem custos. Agendamento de consultas para avaliação e aplicação de medidas preventivas (orientação sobre higiene bucal, profilaxia e aplicação tópica de flúor).

7°) Obrigações dos voluntários: A principal obrigação será a de comparecer às consultas nos dias agendados.

8°) Informações adicionais: os responsáveis têm a garantia que receberão respostas as suas perguntas e esclarecimento das dúvidas sobre

o estudo (riscos, benefícios, andamento e resultados) sempre que preciso. Os voluntários não serão identificados sob quaisquer circunstâncias.

9°) Retirada do consentimento: Os responsáveis têm a liberdade de retirar o seu consentimento a qualquer momento, deixando de participar do estudo.

10°) Consentimento pós-informação:

Eu, _____, certifico que, tendo lido as informações prévias e sido suficientemente esclarecido pelo responsáveis do projeto sobre todos os itens, estou plenamente de acordo com a realização do estudo autorizando o a realização da pesquisa bem como a doação elementos dentais estudados.

Guarulhos, ___ de _____ de 2004

Nome do menor: _____;

Idade: _____

Nome legível do responsável: _____

Assinatura do responsável: _____ número doRG: _____

Anexo 2**Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para
pacientes maiores de 18 anos**

As informações contidas neste foram fornecidas pelo Dr. Adriano da Silva Pereira Sapata e Dr. Saulo Geraldeli (6464-1769, 9756-7467), objetivando firmar acordo por escrito, com pleno conhecimento da natureza, dos procedimentos e dos riscos que será submetido, com a capacidade de livre arbítrio e sem qualquer coação.

1°) Título preliminar do trabalho experimental: Influência da Variação do Tempo de Aplicação do Ácido Fosfórico na Morfologia da Interface Adesiva em Dentina Vital”.

2°) Objetivo principal: Avaliar os aspectos micromorfológicos da interface adesiva em dentina humana permanente vital íntegra .

3°) Justificativa: Necessidade de avaliar o efeito do tempo de condicionamento ácido em dentina vital, pois os estudos in vitro não podem reproduzir todas as variáveis existentes na cavidade oral.

4°) Procedimentos: Serão selecionados pacientes com pré-molares permanentes indicados para exodontia por razões ortodônticas. Serão feitas radiografias, fotografias e profilaxia dos mesmos. Após a anestesia local, cada dente receberá três preparos cavitários e a aplicação do sistema restaurador. Em seguida, o dente será removido e armazenado em local apropriado.

5°) Desconfortos e riscos esperados: necessidade de um tempo de atendimento maior em razão da execução dos procedimentos clínicos.

6°) Benefícios para os voluntários: resolução do problema na medida em que os elementos dentais serão removidos sem custos. Agendamento de consultas para avaliação e aplicação de medidas preventivas (orientação sobre higiene bucal, profilaxia e aplicação tópica de flúor).

7°) Obrigações dos voluntários: A principal obrigação será a de comparecer às consultas nos dias agendados.

8°) Informações adicionais: os responsáveis têm a garantia que receberão respostas as suas perguntas e esclarecimento das dúvidas sobre

o estudo (riscos, benefícios, andamento e resultados) sempre que preciso. Os voluntários não serão identificados sob quaisquer circunstâncias.

9°) Retirada do consentimento: Os responsáveis têm a liberdade de retirar o seu consentimento a qualquer momento, deixando de participar do estudo.

10°) Consentimento pós-informação:

Eu, _____, certifico que, tendo lido as informações prévias e sido suficientemente esclarecido pelo responsáveis do projeto sobre todos os itens, estou plenamente de acordo com a realização do estudo autorizando o a realização da pesquisa bem como a doação elementos dentais estudados.

Guarulhos, ___ de _____ de 2004

Nome legível: _____

Assinatura do responsável: _____ número do RG: _____

Elaborado com base na Resolução 196/1996 do Conselho Nacional de Saúde/ Ministério da Saúde, publicada no Diário Oficial, 10/10/1996, Brasília.

ANEXO 4 – Anexos Estadísticos

General Linear Model

Within-Subjects Factors

Measure: MEASURE_1

FOTO_POS	Dependent Variable
1	F1_P1
2	F1_P2
3	F1_P3
4	F1_P4
5	F1_P5
6	F2_P1
7	F2_P2
8	F2_P3
9	F2_P4
10	F2_P5
11	F3_P1
12	F3_P2
13	F3_P3
14	F3_P4
15	F3_P5
16	F4_P1
17	F4_P2
18	F4_P3
19	F4_P4
20	F4_P5
21	F5_P1
22	F5_P2
23	F5_P3
24	F5_P4
25	F5_P5

ANEXO 5

Multivariate Tests(c)

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
FOTO_POS	Pillai's Trace	,523	1,097(a)	24,000	24,000	,412
	Wilks' Lambda	,477	1,097(a)	24,000	24,000	,412
	Hotelling's Trace	1,097	1,097(a)	24,000	24,000	,412
	Roy's Largest Root	1,097	1,097(a)	24,000	24,000	,412
FOTO_POS * TEMPO	Pillai's Trace	,881	,819	48,000	50,000	,755
	Wilks' Lambda	,310	,795(a)	48,000	48,000	,785
	Hotelling's Trace	1,608	,771	48,000	46,000	,813
	Roy's Largest Root	,981	1,022(b)	24,000	25,000	,478

a Exact statistic

b The statistic is an upper bound on F that yields a lower bound on the significance level.

c Design: Intercept+TEMPO Within Subjects Design: FOTO_POS

Mauchly's Test of Sphericity(b)

Measure: MEASURE_1

Within Subjects Effect	Mauchly's W	Approx. Chi- Square	df	Sig.	Epsilon(a)		
					Greenhouse- Geisser	Huynh- Feldt	Lower- bound
FOTO_POS	,000	1596,053	299	,000	,162	,185	,042

Tests the null hypothesis that the error covariance matrix of the orthonormalized transformed dependent variables is proportional to an identity matrix.

a May be used to adjust the degrees of freedom for the averaged tests of significance. Corrected tests are displayed in the Tests of Within-Subjects Effects table.

b Design: Intercept+TEMPO Within Subjects Design: FOTO_POS