



CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO, PESQUISA E EXTENSÃO
CURSO DE MESTRADO EM ODONTOLOGIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM DENTÍSTICA

**INFLUÊNCIA DA VARIAÇÃO DO TEMPO DE
APLICAÇÃO DO ÁCIDO FOSFÓRICO NA MORFOLOGIA
E ESPESSURA DA INTERFACE ADESIVA EM DENTINA
VITAL**

ADRIANO DA SILVA PEREIRA SAPATA

1º Orientador: Prof. Dr. Saulo Geraldini
2º Orientador: Prof. Dr. José Augusto Rodrigues

Guarulhos
2006

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.



ADRIANO DA SILVA PEREIRA SAPATA

**INFLUÊNCIA DA VARIAÇÃO DO TEMPO DE
APLICAÇÃO DO ÁCIDO FOSFÓRICO NA MORFOLOGIA
DA INTERFACE ADESIVA EM DENTINA VITAL**

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: Prof. Dr. José Augusto Rodrigues

GUARULHOS
2006

Ficha Catalográfica
Elaborada pela Biblioteca Central da Universidade Guarulhos

S243i na	Sapata, Adriano da Silva Pereira Influência da variação do tempo de aplicação do ácido fosfórico morfologia da interface adesiva em dentina vital. / Adriano da Silva Pereira Sapata. – Guarulhos, SP: Universidade Guarulhos, 2006. 58 p. : il.; 30 cm 1 – Orientador: Prof. Dr. Saulo Geraldeli 2 – Orientador: Prof. Dr. José Augusto Rodrigues Dissertação (Mestrado) – Universidade Guarulhos. 1. Camada híbrida. 2. Ácido fosfórico. 3. Dentina vital CDD 21. ed.
617.634	

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Francisco e Marilda, por todo o amor demonstrado não só neste momento de alegria, mas durante todos os dias da minha vida. Por serem exemplos de fé e perseverança.

À minha esposa Glaurem, minha fortaleza, meu grande amor. Por toda paciência, dedicação, auxílio e por ser minha maior incentivadora.

Ao meu irmão André, minha cunhada Cristina e meu amado sobrinho Rafael, por fazerem parte da minha vida e saber que posso contar com vocês em todos os momentos.

À minha sogra Miriam e meus cunhados Glauciane, Glauber, Renata por todo o incentivo demonstrado nestes dois anos.

AGRADECIMENTOS

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

Ao Meu Orientador Prof. Dr. Saulo Geraldeli, por ter se tornado neste dois anos de convivência um exemplo a ser seguido, não só como professor, mas principalmente como pessoa. Obrigado por todo incentivo, paciência, dedicação e amizade. Sem a sua dedicação incansável este trabalho não seria possível.

A Prof^a. Dr^a. 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.

Ao Departamento de Materiais Dentários da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo em nos ceder a utilização da cortadeira de precisão Labcut 1010 e de suas dependências.

Ao Departamento de Dentística da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, na pessoa da Prof^a. Dr^a Adriana Bona Matos, pela gentileza em ceder seus laboratórios e nos viabilizar a utilização da máquina polidora automática Buehler (Projeto FAPESP 03/12182-4).

Ao Departamento de Patologia da Faculdade de Odontologia 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 Laboratório de Luz Síncrotron, pela providencial colaboração na realização da Microscopia Eletrônica de Varredura.

Aos Professores do Mestrado em Dentística, Prof^a. Dr^a. Cristiane Mariote Amaral e Prof. Dr. Jose Augusto Rodrigues, por todos os ensinamentos e incentivo durante este período.

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

À minha companheira e dupla Kátia, pela convivência, amizade e lutas vencidas.

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

Ao Prof. Dr. Carlos Eduardo Francci, por todas as oportunidades que tem me oferecido na área acadêmica e por ter sido uns dos meus primeiros incentivadores.

Ao meu grande amigo Prof. Cláudio Sato, não sei como agradecer tão grande confiança depositada em tão pouco tempo. Obrigado!

Ao amigo Marcos Kiriata, por estar sempre disposto a ajudar e por ser uma pessoa em quem eu posso realmente confiar.

A todos os professores do Curso de Especialização em Ortodontia da UnG, por todos os pacientes indicados, sem este valioso auxílio seria impossível realizar o presente trabalho.

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

Ao Sr. Adriano Mandelli, pela análise estatística do trabalho.

A Cíntia, Adriana e Fernanda pela ajuda constante durante esses dois anos.

À família Geraldeli: Gisele, Julia e Laura por toda atenção, carinho e paciência nas horas que estivemos juntos.

Ao Grupo Free por todo apoio e incentivo que todos do grupo, sem distinção, demonstram para comigo.

RESUMO

Este estudo avaliou as características morfológicas (CM) e a espessura da camada híbrida (ECH) após diferentes tempos de aplicação do ácido fosfórico em dentina humana vital: Após a aprovação pelo CEP da UnG, dezoito dentes pré-molares indicados para exodontia por razões ortodônticas foram selecionados. Sob anestesia e isolamento absoluto, cada dente recebeu três cavidades, uma na face vestibular, outra na oclusal e outra na lingual, com 3mm de profundidade cada. Estas foram distribuídas nos grupos: Controle 20s (n=18), Experimento1- 05s (n=18) e Experimento2- 80s (n=18). As cavidades foram condicionadas com ácido fosfórico a 37%, lavadas e mantidas úmidas. O adesivo Prime & Bond *NT* (Dentsply) foi aplicado de acordo com as recomendações do fabricante. Uma resina composta micro-híbrida (Esthet-X Dentsply) foi inserida em camadas de 1,5 mm cada e fotopolimerizadas por 30s. Após a exodontia, foram os mesmos imersos em solução fixadora de glutaraldeído (72h). A desidratação foi realizada pela imersão em concentrações ascendentes de álcool (20, 30, 50, 70, 90, 96 e 100%); seguida pela secagem em hexametildisilazana. Os dentes foram seccionados ao meio e uma das metades foi embebida em resina epóxica, polida em lixas de granulação 240, 400, 800 e 1000, seguido do emprego de feltro associado às pastas de granulação 1, 0,5 e 0,03 μ m em uma polidora automática. Uma vez metalizadas, as metades contendo as três cavidades foram avaliadas em microscopia eletrônica de varredura (MEV). Medidas da ECH e suas principais características morfológicas foram obtidas. Os dados para ECH foram submetidos à Análise de Variância com dois fatores fixos (face e tempo) em três níveis (5, 20, 80 s) e ao teste C de Dunnett. As médias obtidas para a ECH foram: 2,90 μ m (5s), 3,54 μ m (20), 5,43 μ m (80). Os resultados demonstraram que houve diferença estatisticamente significativa ($\alpha=5\%$) para o tempo de 80s quando comparado aos tempos de 5 e 20s. A camada híbrida nos tempos de 20 e 80s mostrou um aspecto reticular severo quando comparados ao de 5s. Conclui-se que o aumento do tempo de aplicação do ácido fosfórico sobre a dentina vital aumenta a espessura da camada híbrida e altera a morfologia superficial da mesma.

Palavras – Chave: Camada híbrida, ácido fosfórico, dentina vital.

ABSTRACT

This study evaluated the morphology characteristics (MC) and the hybrid layer thickness (HLT) after different phosphoric acid etching times applied on human vital dentin. Once been approved by the Institutional Review Board, eighteen premolars indicated for extraction based on orthodontic reasons were selected. Under anesthesia and rubber dam, each tooth received a 3 mm cavity preparation on buccal, occlusal and lingual surfaces. They were allocated on the following groups: Control 20 s (n=18), Experimental 1- 05s (n=18) and Experimental 2 – 80 s (n=18). Cavities were acid etched with 37% phosphoric acid, washed and kept moist. The adhesive Prime & Bond *NT* (Dentsply) was applied according to the manufacturer's instructions. A micro-hybrid composite resin (Esthet-X Dentsply) was inserted in layers of 1,5 mm thick each and light cure for 30 s. Following the extraction, teeth were immersed in glutaraldehyde fixative (72h). Samples were dehydrated by submerging in ascending grade of ethanol (20, 30, 50, 70, 90, 96, and 100%) followed by drying on hexamethyldisilazane. Each tooth was sectioned in two halves and one was embedded in epoxy resin, polished with 240, 400, 800 and 1000 silicon papers, followed by the of soft tissue in fine diamond paste of 1, 0,5 and 0,03 μ m grit on an automatic machine. After being sputtered, halves having the three cavities were evaluated on scanning electron microscopy (SEM). Measurements of the HLT and their relevant morphological characteristics were taken. Data were submitted to two-way ANOVA (face and time) in three levels (5, 20 and 80s) and C-Dunnett's test. HLT mean values were: 2,90 μ m (5s), 3,54 μ m (20), 5,43 (80). Results shown that there was a difference statistically significant ($\alpha=5\%$) to the 80s when compared to the 5 and 20s. The hybrid layer in the 20 and 80s show a severe reticular morphology compared to the 5s. it was concluded that increasing the phosphoric acid time application on vital dentin increase the thickness of the hybrid layer and variation on its superficial morphology.

Key words: hybrid layer, phosphoric acid, dentin, *in vivo*

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	1
2. PROPOSIÇÃO	7
3. MATERIAIS E MÉTODOS	8
3.1 Aspectos Éticos	8
3.2 Amostra	8
3.3 Delineamento Experimental	9
3.4 Procedimentos Clínicos	11
3.5 Preparo das Amostras para Microscopia Eletrônica de Varredura	15
3.5.1 Fixação e Secção Longitudinal	15
3.5.2 Desidratação	17
3.5.3 Embebição	18
3.5.4 Polimento	20
3.5.5 Desmineralização e Desproteínização	22
3.5.6 Recobrimento Metálico	22
3.5.7 Avaliação em Microscopia Eletrônica de Varredura	22
3.6 Avaliação Morfológica	24
3.7 Análise Estatística	24
4. RESULTADOS	25
5. DISCUSSÃO	40
6. CONCLUSÕES	49
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50
ANEXOS	55

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Restaurar com perfeição áreas de um órgão que foram perdidas por doença ou trauma tem sido, em grande parte, resultado da grande evolução ocorrida na ciência humana e tecnológica. Hoje, caminhamos para que a “restauração” destas áreas seja em função do emprego de células indiferenciadas que irão depositar as mesmas estruturas destruídas, dando assim um caráter biológico na recuperação das áreas perdidas (Shi et al., 2005).

Não obstante a estes relevantes avanços na ciência, o profundo conhecimento dos biomateriais e das técnicas de preparo e restauração empregadas rotineiramente no âmbito da clínica odontológica, representa o fundamento para lograr êxito na longevidade da restauração no meio bucal.

A adesão aos tecidos dentais é um assunto de grande interesse nos dias atuais, todavia, os estudos sobre adesão não são tão recentes como poderíamos imaginar. Um dos primeiros trabalhos sobre a obtenção da união ao substrato dental nos remete ao ano 1952. Neste, Kramer e McLean observaram a interação do dimetracrilato do ácido glicerosfosfórico (GPDM) com a superfície dentinária, formando uma camada muito semelhante ao que hoje conhecemos como camada híbrida (Kramer&McLean, 1952).

Posteriormente em 1955 Buonocore propôs o uso do ácido fosfórico sobre o esmalte para tornar este mais receptivo ao fenômeno da adesão (Buonocore, 1955; Van Meerbeek, 1998; Swift *et al.*, 1995) melhorando significativamente a retenção dos materiais restauradores. Desta forma, a odontologia adesiva introduziu uma nova mentalidade que revolucionou os conceitos relativos à realização dos preparos cavitários tornando-os mais

conservadores, além de contribuir significativamente para os procedimentos preventivos (Van Meerbeek, 1998; Perdigão & Lopes, 1999). Esta nova abordagem proporcionou novas possibilidades restauradoras para a odontologia (Ibsen *et al.*, 1991).

Entretanto, a adesão à dentina não é tão simples e previsível como já observado no substrato de esmalte (Lopes *et al.*, 2002). Vários são os fatores que contribuem para esta imprevisibilidade, dentre os quais, podemos destacar à composição da dentina onde se detecta a presença de 70% de conteúdo inorgânico, 18% de conteúdo orgânico e 12 % de água em peso (Marshall 1993; Marshall *et al.*, 1997; Katchburian & Arana, 1999).

Na medida em que esta dentina é tratada superficialmente com um agente de caráter ácido, tal como o fosfórico a 37%, torna-se paulatinamente carente de minerais, rica em proteínas (colágeno) e intrinsecamente úmida (Brännström & Nordenvall, 1977).

Esta rede de colágeno agora exposta, desmineralizada e úmida atua como uma barreira desfavorecendo a penetração de adesivos fluídos que apresentam, essencialmente, características hidrofóbicas (Rider *et al.*, 1977; Torney, 1978). Este fato foi claramente observado em vários trabalhos das décadas de 70 e 80 (Fusayama *et al.*, 1979; Van Dijken & Horstedt, 1986; Asmussen & Munksgaard, 1988), realizados tanto em dentina vital como em não-vital.

Nesta época, a grande preocupação quanto à retenção mecânica e ao selamento dentinário por parte do material restaurador sedimentava-se exclusivamente na penetração dentro dos túbulos dentinários. Provavelmente, isto foi uma consequência dos resultados favoráveis obtidos

com a união ao esmalte e da crença de que o mesmo poderia acontecer na dentina (Buonocore *et al*, 1956).

Não obstante, em 1982, Nakabayashi *et al.*, estiveram entre os primeiros autores a relatarem altos valores de resistência de união à dentina (18MPa) com emprego de um condicionador, o ácido cítrico a 10% como agente capaz de desmineralizar superficialmente a dentina (3-6 μ m), associado ao uso de monômeros resinosos. Como discutido pelos autores, os monômeros com grupamentos hidrofílicos e hidrofóbicos, tal como o 4-META, foram os responsáveis pela capacidade de permear a rede colágeno exposta e, uma vez polimerizados, estabelecerem retenção micromecânica do adesivo à superfície dentinária (Nakabayashi, 1982; Nakabayashi *et al.*,1992; Pashley & Carvalho, 1997).

Esta zona de dentina infiltrada por resina foi, pela primeira vez, denominada de “*hybrid layer*” ou camada híbrida (Nakabayashi *et al.*,1982) que, por definição, pode ser descrita como uma estrutura mista constituída de fibrilas colágenas envolvidas por resina e hidroxiapatita (Perdigão & Ritter, 2001; Erickson, 1989; Inokoshi *et al.*, 1990; Pashley, 1990). Outra denominação já proposta, tal como zona de interdifusão resina-dentina, surgiu em razão das observações ultramorfológicas desta camada realizadas principalmente por Van Meerbeek *et al.*,(1993).

A retenção mecânica obtida pela formação desta camada híbrida conjuntamente com os “*tags*” ou filamentos resinosos e as ramificações laterais, podem então ser consideradas, em essência, a base da adesão à dentina na moderna odontologia (Pashley *et al.*, 1993). Dessa forma, a camada híbrida desempenha um papel fundamental no processo adesivo em

relação ao selamento das restaurações e diminuição da microinfiltração (Walshaw & McComb, 1996; Ferrari *et al*, 2000), na redução da sensibilidade pós-operatória (Walshaw & McComb, 1996) e na melhoria na retenção do material restaurador em razão do aumento na resistência de união ao esmalte e à dentina (Prati *et al.*,1991; Davidson *et al.*; 1993, Harada *et al.*, 1998).

Em razão destas características citadas anteriormente, foi possível ao material adesivo abranger diferentes procedimentos preventivos e restauradores e, sobretudo, de caráter mais conservador e com reforço da estrutura dental (Walshaw & McComb, 1996).

A visualização da interface resina-dentina em microscopia eletrônica de varredura permite que características ou alterações morfológicas possam ser identificadas. Além disso, é possível que extensão da infiltração do sistema adesivo para o interior da dentina inter e intra-tubular sejam mensuradas quando variações da técnica restauradora são aplicadas (Uno & Finger, 1996).

Em termos de resistência de união à dentina, notoriamente em relação aos trabalhos realizados *in vitro*, o tempo de 15s para o condicionamento ácido da dentina tem sido preconizado na literatura como um tempo padrão (Pioch *et al.*, 1998; Hashimoto *et al.*, 2002). Seguindo na direção relativamente oposta, o tempo de 5s também têm sido avaliado em testes de resistência de união por ensaios de cisalhamento e mostram não haver diferença estatisticamente significativa quando comparado com os tempos de 15 e 30s (Abu-Hanna & Gordan, 2004). Neste estudo, a espessura da camada híbrida também foi avaliada. Observou-se que, para o tempo de 5

segundos a espessura foi de 1 a 2 μm , opondo-se de forma expressiva às espessuras dos tempos de 15 e 60s que foram, respectivamente, 2 a 6 e 2,5 a 6 μm .

É rotineiramente aceito que a espessura da camada de interdifusão resinosa ou camada híbrida, está diretamente relacionada com a profundidade da zona de dentina desmineralizada onde, *in vitro*, valores de até 10 μm tem sido relatados (Uno & Finger, 1996; Hashimoto *et al.*, 2000; Abu-Hanna *et al.*, 2004). A profundidade da desmineralização se mostra dependente da variação do tempo de aplicação do ácido fosfórico tanto *in vitro* como *in vivo* (Atui, 2005).

Walshaw & McComb (1995) sugeriram que a presença de microespaços dentro das porções próximas à camada de adesivo ou nas regiões mais profundas da camada híbrida obtidas *in vivo* quando condicionadas durante 15s, aponta para o fato de que a penetração total pelo adesivo poderia não ocorrer sob condições clínicas. Partindo desta premissa e aliado aos achados de Oliveira *et al.*(2002) e Wang & Spancer (2004) para observações da espessura da camada híbrida *in vitro*, é plausível admitir que o aumento no tempo de condicionamento leva a um aumento na espessura da camada híbrida.

É importante lembrar que, embora seja a utilização do ácido fosfórico uma estratégia cientificamente suportada, existe ainda um consenso por parte de diversos autores, de que o adesivo não conseguiria infiltrar em toda extensão da camada de dentina desmineralizada (Kiyomura, 1987; Pashley, 1992; Sano *et al.*, 1994).

Diante disso, poder-se-ia especular que uma possível redução no tempo de aplicação do ácido fosfórico levaria a presença de uma faixa de colágeno desmineralizada não infiltrada pelo sistema adesivo muito pequena ou até ausente. Por outro lado, mas com o mesmo raciocínio, ela seria ainda maior quando da aplicação do gel ácido em períodos maiores, embora isto ainda não tenha sido medido em dentina vital. Esta possibilidade ganha fundamento quando observamos que existe, por várias razões, uma dificuldade de infiltração dos monômeros na dentina (Sano *et al.*, 1995).

Na presença de uma menor espessura de dentina vital desmineralizada dependente ou não do tempo de aplicação do ácido fosfórico, poderá existir uma maior facilidade para a penetração do adesivo. A consequência disto seria a possibilidade de obter uma camada híbrida com morfologia mais uniforme e constante.

2. PROPOSIÇÃO

Avaliar os aspectos morfológicos e a espessura da camada híbrida na dentina vital íntegra em função da variação do tempo de aplicação do ácido fosfórico.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 – Aspectos Éticos

Pelo fato 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 SISNEP/42 – Anexo 3). Antes dos atendimentos clínicos, os participantes foram informados dos propósitos do estudo e quais procedimentos restauradores seriam realizados. Mediante a leitura e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido, era então iniciada a etapa clínica.

3.2 – Amostra

Foram selecionados 18 pré-molares íntegros, superiores e inferiores (n=18), com indicação para exodontia por motivos terapêuticos (indicação ortodôntica, Figura 1) de pacientes oriundos do curso de Especialização em Ortodontia da Universidade Guarulhos (UnG) e de clínicas odontológicas privadas. Os fatores de inclusão foram: indivíduos do gênero masculino e feminino, idade entre 11 e 28 anos, ausência de doença geral ou bucal pregressa, bem como a ausência de lesões de cárie ou periapicais.

A impossibilidade da realização de isolamento absoluto do campo operatório e a variação anatômica das raízes que dificultasse a exodontia representavam os critérios de exclusão.



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

3.3 – Delineamento Experimental

Cada dente recebeu três preparos cavitários que foram executados por um único operador previamente treinado, na superfície vestibular, oclusal e lingual/palatina (Figura 2).



Figura 2 – Fotografias de um dente pré-molar. a) Preparo realizado na face oclusal; b) Preparo realizado na face palatina; c) Preparo realizado na face vestibular

Com o objetivo de não incorrer no erro de repetir um determinado tempo de aplicação do gel do ácido fosfórico sempre na mesma cavidade, optamos pela elaboração de três condições nas quais os tempos de 5, 20 e 80 segundos fossem distribuídos nas superfícies vestibular, oclusal e lingual de modo direcionado (Tabela 1).

Tabela 1. Condições elaboradas para distribuição dos tempos (s) relativos às superfícies dos dentes

	Superfícies		
	Vestibular	Oclusal	Lingual
Condição 1	5	20	80
Condição 2	80	5	20
Condição 3	20	80	5

Para o total de 18 dentes do estudo, as três condições da Tabela 1 foram sorteadas aleatoriamente em três rodadas com seis dentes cada. Com isto foi possível obter a distribuição dos tempos e das superfícies que iriam receber os preparos cavitários com homogeneidade (Tabela 2).

Tabela 2 – Distribuição das rodadas e sorteio das condições considerando os tempos em suas respectivas faces para a aplicação do sistema adesivo.

	Dente	Condição	Vestibular	Oclusal	Palatina
1.Rodada PMS	1	3	20	80	5
	2	2	80	5	20
	3	1	5	20	80
	4	1	5	20	80
	5	3	20	80	5
	6	2	80	5	20
2.Rodada PMS	7	2	80	5	20
	8	1	5	20	80
	9	3	20	80	5
	10	3	20	80	5
	11	2	80	5	20
	12	1	5	20	80
3.Rodada PMI	13	2	80	5	20
	14	1	5	20	80
	15	3	20	80	5
	16	3	20	80	5
	17	1	5	20	80
	18	2	80	5	20

PMS= Pré- molares superiores

PMI= Pré-molares inferiores

3.4 – Procedimentos Clínicos

Previamente aos procedimentos restauradores, uma radiografia periapical de diagnóstico foi realizada a fim de permitir uma avaliação do aspecto geral do dente a ser incluído no estudo. Cada preparo cavitário foi realizado e restaurado individualmente.

A anestesia do elemento dental foi efetuada mediante a aplicação de solução anestésica loco-regional (Cloridrato de Lidocaína 2% associada a Norepinefrina 1:50.000 -Lidostesim – DFL), 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 (Figura 3).



Figura 3 – Isolamento absoluto do campo operatório de um pré-molar superior previamente à realização dos procedimentos clínicos.

O preparo cavitário foi executado nas faces oclusal, vestibular e lingual/palatal com uma ponta diamantada tronco-cônica de extremidade arredondada (3131,KG Sorensen) montada em uma caneta de alta rotação (Kavo) e sob refrigeração abundante (Figura 4a).



Figura 4 – a) Detalhe da ponta tronco-cônica com borda arredondada; b) Determinação *in situ* da profundidade do preparo cavitário com a utilização da ponta diamantada; c) Utilização da sonda milimetrada para verificação da profundidade do preparo.

Em termos de dimensões cavitárias, estabelecemos como medidas prévias 2,5 a 3 mm de profundidade, 2,5 mm de largura que, em suma, eram advindas da própria ponta diamantada e extensão de 3 a 3,5 mm no sentido méso-distal (Figura 4b). Esta conduta teve o objetivo de padronizar a posição da parede pulpar em uma dentina média à profunda.

Uma sonda periodontal milimetrada (Hu-Friedy) foi utilizada como guia para a mensuração das dimensões (Figura 4c). Ressalta-se que não foi realizado nenhum tipo de bisel nas margens do preparo (Figura 5a).

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



Figura 5 – a) Preparo finalizado na face oclusal de um pré-molar superior, nota-se que não foi realizado nenhum tipo de bisel nas margens do preparo; b) Gel do ácido fosfórico a 37% utilizado para a realização do condicionamento da dentina vital dos dentes pré-molares.

O ácido fosfórico a 37% (Condicionador Dental Gel, Dentsply) (Figura 5b) era aplicado, inicialmente, sobre um bloco de papel para verificar a fluidez e a consistência do mesmo. Esta conduta tinha por finalidade evitar que durante sua aplicação no esmalte, ocorresse o extravasamento e posterior penetração para o interior da cavidade inviabilizando, assim, a utilização do dente no estudo.

O gel foi dispensado sobre esmalte cavosuperficial do preparo e lá permaneceu durante 15 segundos (Figura 6a). A seguir, o gel foi aplicado sobre a dentina e o mesmo permaneceu durante o período pré-estabelecido nos grupos controle (20s) ou experimento (5s e 80s) (Figura 6 b e c).

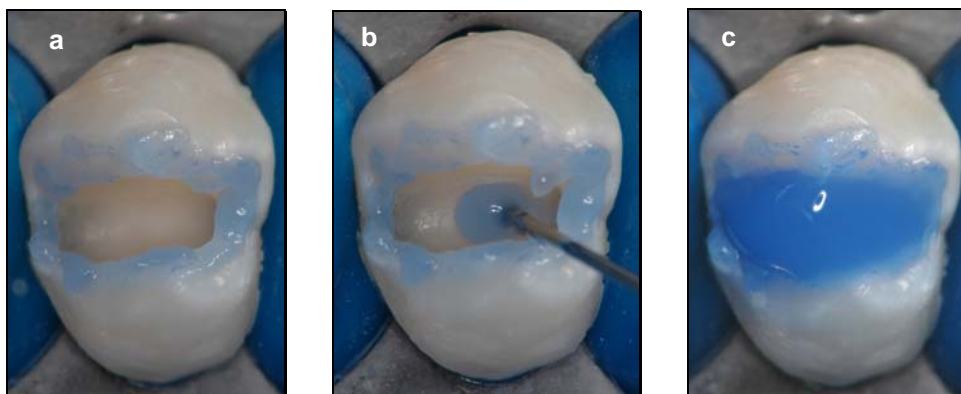


Figura 6 – Aplicação do gel de ácido fosfórico à 37% sobre esmalte e dentina do preparo cavitário. a) ácido fosfórico aplicado sobre todo o esmalte cavosuperficial (visão oclusal); b) início da aplicação do gel sobre a parede pulpar; c) preenchimento de toda a cavidade preparada com o gel de ácido fosfórico.

Na seqüência, o gel ácido foi lavado durante 20s 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 (Figura 7a e b).

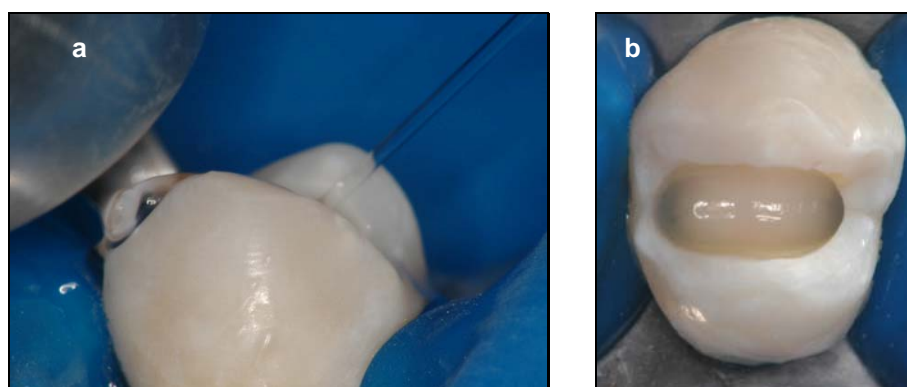


Figura 7 – a) Remoção do gel do ácido fosfórico a 37% com jato de água e sugador cirúrgico; b) Superfície dentinária umedecida localizada na parede pulpar do preparo e aspecto esbranquiçado do esmalte cavosuperficial condicionado.

Como preconizado pelo fabricante, duas camadas do adesivo resinoso Prime & Bond *NT* (Dentsply, Brasil), um adesivo de frasco único que preconiza a remoção total da *smear layer*, foram aplicadas até que todas as

paredes do preparo fossem adequadamente molhadas pelo mesmo (Figura 8a e b).

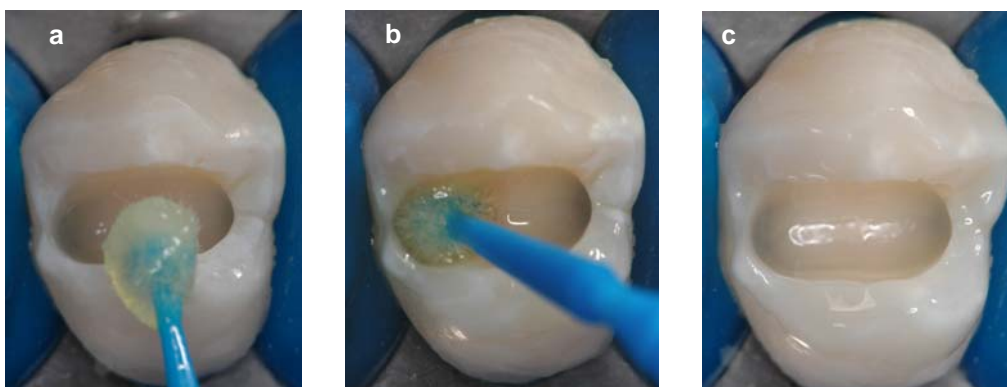


Figura 8 – Aplicação do sistema adesivo com auxílio de um pincel descartável: a) Sobre superfície de esmalte cavo superficial; b) Sobre a superfície dentinária; c) Aspecto brilhante de toda a cavidade após aplicação do adesivo.

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 deveria apresentar um aspecto brilhante denotando que não houve falta do adesivo sobre a superfície da dentina (Figura 8c).

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/cm^2 aferida com um radiômetro (Gnatus). Uma camada de $\pm 2\text{mm}$ de um forrador cavitário adesivo (Protect Liner F, Kuraray) foi aplicada na parede pulpar (Figura 9) para facilitar o corte no processamento para microscopia eletrônica de transmissão que será realizado em um estudo posterior.



Figura 9 – Sequência clínica da aplicação da resina de baixa viscosidade sobre a parede pulpar.

A cavidade foi restaurada com uma resina composta micro-híbrida (Exthet-X, Dentsply) pela técnica incremental oblíqua inserida em camadas de ± 1 mm de espessura até o completo preenchimento do preparo cavitário (Figura 10). Cada camada foi então fotoativada pela mesma unidade emissora de luz visível.

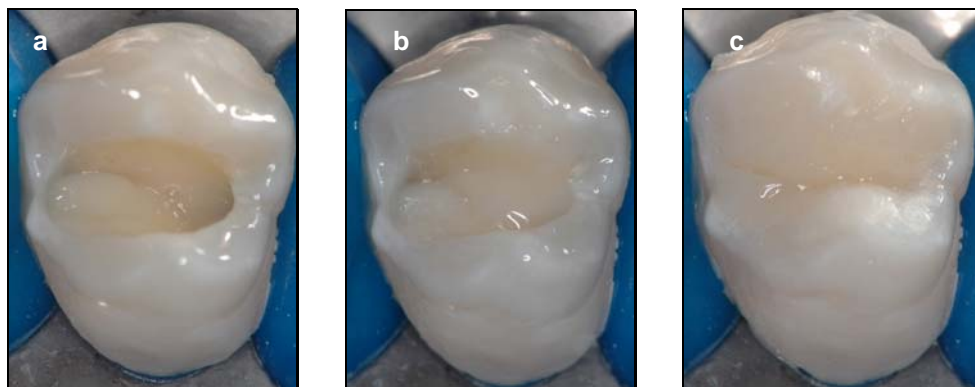


Figura 10 – Confeção da restauração pela técnica incremental em resina microhíbrida: a) Inserção do primeiro incremento; b) Inserção do segundo incremento c) Restauração realizada.

Ao final da realização da última restauração, 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 (Figura 11).

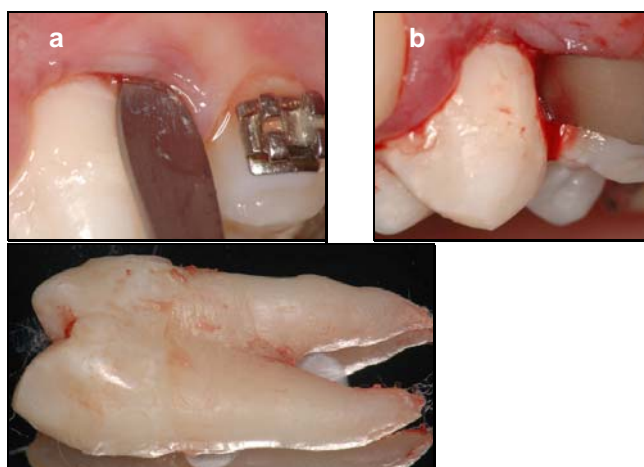


Figura 11 – Exodontia do elemento dental: a) Sindesmotomia realizada com espátula n°. 7; b) Luxação do elemento dental com uso da alavanca Seldin reta; c) Elemento dental após o procedimento de exodontia.

3.5 – Preparo da Amostras para Microscopia Eletrônica de Varredura

3.5.1. Fixação e Secção Longitudinal

Uma vez o dente extraído, os tecidos periodontais adjacentes a este foram removidos e um corte com um disco diamantado dupla face para corte externo e interno (KG Sorensen) era realizado 1 mm abaixo da junção cimento/esmalte, separando a raiz da coroa dental. Esta, enfim, foi profusivamente imersa em solução fixadora de glutaraldeído a 2,5% durante 72 h (Figura 12a).

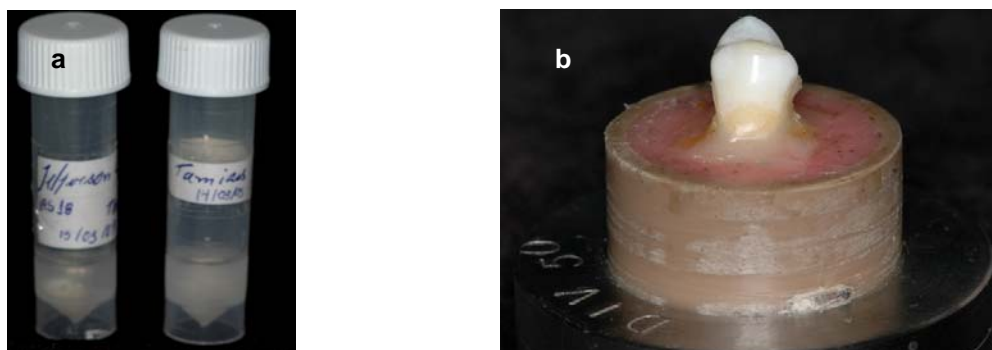


Figura 12 – a) Coroa imersa em solução fixadora de glutaraldeído a 2,5% com a respectiva identificação; b) Coroa de um pré-molar estabilizada com cera pegajosa sobre tubo de PVC antes do corte vestibulo-lingual para expor a interface adesiva.

Finalizado este primeiro período de fixação, a coroa dental foi então estabilizada sobre a superfície da resina acrílica do tubo de PVC com uma cera pegajosa (Barbosa) de forma que a ponta de cúspide vestibular ficasse paralela à superfície da resina acrílica do tubo (Figura 12b). O conjunto dente/tubo de PVC foi preso no suporte metálico em L e este na cortadeira de precisão (Labcut 1010 – Extec Corp, Enfield, CT, USA) (Figura 13a).

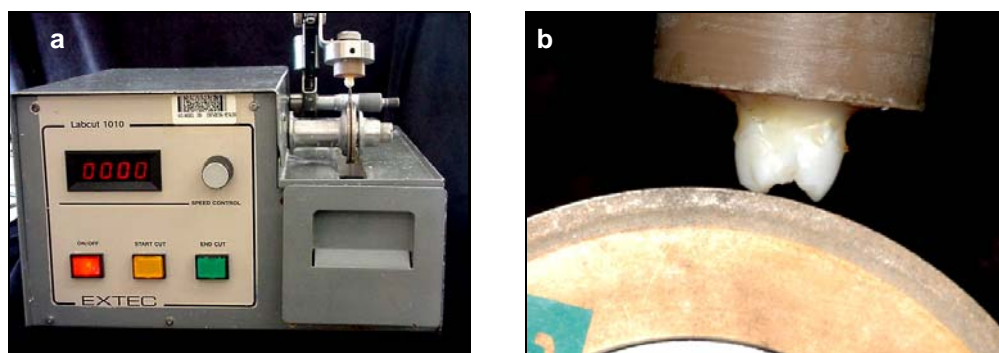


Figura 13 – a) Conjunto dente/tubo de PVC preso na cortadeira de precisão Labcut 1010; b) Detalhe do dente posicionado para o corte vestibulo-lingual, passando pelas pontas de cúspides.

Um corte no sentido vestibulo-lingual, passando pelas pontas das cúspides (Figura 13b), foi feito no centro das restaurações proporcionando

duas metades, além de expor a interface adesiva das três restaurações (Figura 14).



Figura 14 – Metades de um pré-molar superior que foram seccionadas para posterior processamento e observação em MEV.

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

A fixação das metades foi finalizada pela imersão em mais 72 h em solução fixadora de glutaraldeído a 2,5% em 0,1 M de cacodilato de sódio pH 7,4 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.

3.5.2. – Desidratação

A desidratação foi realizada pela imersão em concentrações crescentes de álcool do seguinte modo: 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 (Diagrama 1), trocando a solução a cada 30 minutos (protocolo realizado de acordo com o Departamento de Patologia da USP). Terminada a etapa da desidratação, as mesmas foram imersas 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*, 1995) e então colocadas sobre um filtro de papel, cobertas com um tampa de vidro e mantidas à temperatura ambiente durante 12 horas.

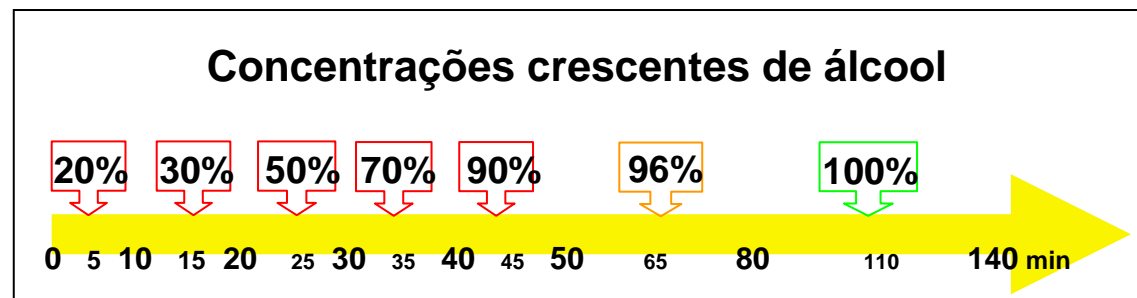


Diagrama 1 – Concentrações de álcool e seus respectivos tempos para a desidratação dos corpos-de-prova.

3.5.3. – Embebição

Sobre a base do dispositivo plástico para embebição de amostras (Sample Kup, Buehler), as metades foram posicionadas de modo que as interfaces adesivas permanecessem em contato com a base cilíndrica do dispositivo. Cada base foi capaz de acomodar três metades simetricamente distribuídas sobre a mesma (Figura 15).

A cera ainda em seu estado fluido foi coletada por um dos instrumentos do tipo PK Thomas e gentilmente aplicada em pelo menos três pontos equidistantes localizados na periferia da metade em contato com a base do cilindro. Uma vez solidificada, a cera proporcionou a estabilização necessária ao posterior preenchimento do cilindro com resina epóxica.

Para evitar extravasamento da cera por debaixo da metade, esta foi mantida em contato com a base do cilindro pela pressão moderada do dedo indicador da mão esquerda.

Um anel metálico com diâmetro de 8 mm e altura de 5 mm foi confeccionado a partir de uma matriz para amálgama. Este anel teve como objetivo conter somente uma das metades isolando-a das outras e do restante do cilindro. Posteriormente, ela também viabilizou a remoção somente da metade, de forma independente, em relação ao restante do cilindro de resina (Figura 15).



Figura 15 – Metades estabilizadas na base do dispositivo para embebição de amostras e isoladas uma das outra pelo uso do anel metálico.

As partes laterais da base e a porção interna do cilindro de plástico para embebição foram então revestidas com vaselina sólida com o intuito de facilitar a remoção da resina epóxica contendo os corpos-de-prova.

Uma resina epóxica de baixa viscosidade (Epo-Thin Resin, Buehler, USA) foi manipulada de acordo com as recomendações do fabricante. Primeiramente, optamos por preencher os anéis metálicos contendo as metades, para a seguir preencher por completo o dispositivo. O cilindro para embebição permaneceu na câmara de vácuo por 5 minutos na busca da remoção de eventuais bolhas geradas pela manipulação do material (Figura 16).

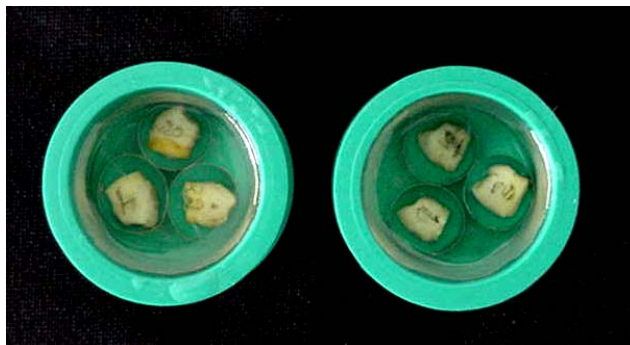


Figura 16 – Metades de dentes pré-molares embebidas com resina epóxica nos cilindros para embebição.

O conjunto corpo-de-prova/cilindro/resina epóxica ficou em uma capela, a fim de completar a polimerização. Ao final desta, removeu-se primeiro a base do cilindro aplicando uma espátula 36 posicionada entre a base do mesmo e o corpo do cilindro. Por fim, com um martelo de madeira removeu-se o cilindro de resina contendo os corpos-de-prova (Figura 17).

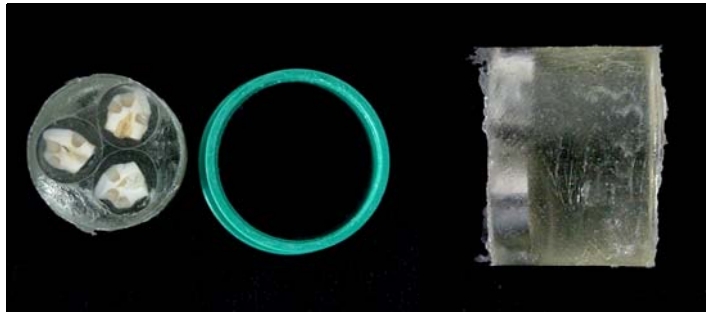


Figura 17 – Visão frontal e lateral do conjunto cp/cilindro/resina epóxica após sua remoção do cilindro de embebição.

3.5.4 – Polimento

Previamente ao polimento das interfaces adesivas, seis cilindros foram posicionados em uma base metálica e firmemente fixados na mesma. A base contendo os cilindros foi acoplada na máquina polidora automática (Buehler, USA). O polimento foi iniciado com uma lixa de granulação 240 (Silicon Carbide Grinding Paper, Buehler, USA), aplicada por 30 segundos a uma velocidade de 150 rpm, pressão de 20 libras e refrigeração contínua com água corrente (Figura 18).



Figura 18 – a) Máquina polidora automática Buehler; b) Cilindros posicionados na base metálica previamente à realização do polimento.

Para assegurar uma adequada exposição da interface adesiva, repetiu-se o desgaste na lixa de granulação 240 até que fosse possível observar, com a mesma característica de brilho superficial, a interface

adesiva, a dentina e a resina composta. Com o auxílio de um microscópio de luz, ajustado ao aumento de 35 vezes, realizou-se a observação das características citadas anteriormente que, uma vez visualizadas, indicava a necessidade do polimento com lixas de granulações menores.

O polimento da interface adesiva continuou com o emprego das lixas de granulações 400, 600, 800 e 1200 por 30 segundos cada, utilizando a mesma velocidade e pressão indicadas acima. Como de praxe, o conjunto corpo-de-prova/resina epóxica foi então lavado e, para iniciar o polimento em uma outra granulação, a superfície de polimento deveria apresentar o máximo de brilho quando observada ao nível do microscópio ótico.

O polimento final foi efetuado, primeiro, com pasta para polimento de granulação $1\mu\text{m}$ por um minuto em um pano ultrafino (Polishing Cloth, Buehler, USA), seguido pela mesma observação em microscópio ótico utilizada no polimento anterior. Na seqüência, efetuou-se o polimento com pastas de granulação 0,5 e $0,03\mu\text{m}$, 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 sendo que a mesma deveria se apresentar como uma linha extremamente polida entre a resina composta e a dentina.

Os cilindros contendo as metades foram posicionados na cortadeira de precisão (Labcut 1010 – Extec Corp, Enfield, CT, USA) e submetidos a cortes feitos em toda a extensão dos mesmos a 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 (Figura 19a).



Figura 19 – a) Cilindro de resina epóxica posicionado na cortadeira de precisão; b) Metades embebidas que foram removidas do interior do anel metálico e da resina circunjacente.

Ao final do corte, pela simples pressão de um dedo sobre a superfície protegida do corpo-de-prova foi possível separar, individualmente, cada metade embebida, do interior do anel metálico e da resina circunjacente (Figura 19b). Para facilitar o posterior manuseio das metades embebidas, estas foram armazenadas em potes de plástico devidamente identificados.

3.5.5 – Desmineralização e Desproteção

Cada espécime armazenado em seu pote recebeu uma solução de álcool à 100%, seguido por um banho em ultra-som durante 5 minutos para remover eventuais resíduos do polimento. Depois, o mesmo foi desmineralizado em solução de HCl 1N por 30 segundos seguido da lavagem com água deionizada durante 3 minutos para a remoção superficial do conteúdo mineral adjacente à interface adesiva. Com o mesmo intuito, uma imersão em NaOCl 2% por 10 minutos proporcionou a desproteção da área, ou seja, a remoção também superficial dos componentes orgânicos.

3.5.6 – Recobrimento Metálico

Para completar, o espécime foi lavado com água deionizada, seco durante 12 horas e estabilizado com uma fita adesiva sobre um suporte metálico previamente identificado.

Uma camada de tinta de prata condutora (EMS) foi aplicada nas bordas da resina epóxica, do suporte metálico e do corpo-de-prova, porém sem atingir a área a ser observada em microscopia eletrônica de varredura (MEV). A presença da prata condutora traz, em essência, uma maior facilidade para a deposição de metais durante o recobrimento do corpo-de-prova pelo ouro/paládio, bem como para a emissão dos elétrons durante a observação em MEV. O recobrimento metálico foi feito durante 90 segundos e 20 mA (Figura 20).



Figura 20 – Corpo-de-prova após recobrimento com ouro/paládio para observação em MEV.

3.5.7 – Avaliação em Microscopia Eletrônica de Varredura

As interfaces adesivas foram avaliadas considerando os aspectos micromorfológicos da interface, a espessura da camada híbrida nos diferentes tempos de condicionamento bem como as características morfológicas dos prolongamentos resinosos, quando observados em microscopia eletrônica de varredura (Low Vacuum JSM - 5900 LV, Laboratório de Luz Síncrotron, Campinas, SP, Brasil). Os aumentos empregados variaram de 80 a 20.000 vezes.

Para uma melhor padronização das medidas a serem obtidas na dentina intertubular, foram selecionadas e fotografadas cinco regiões da camada híbrida onde os túbulos dentinários estivessem perpendiculares à mesma (Figura 21a).

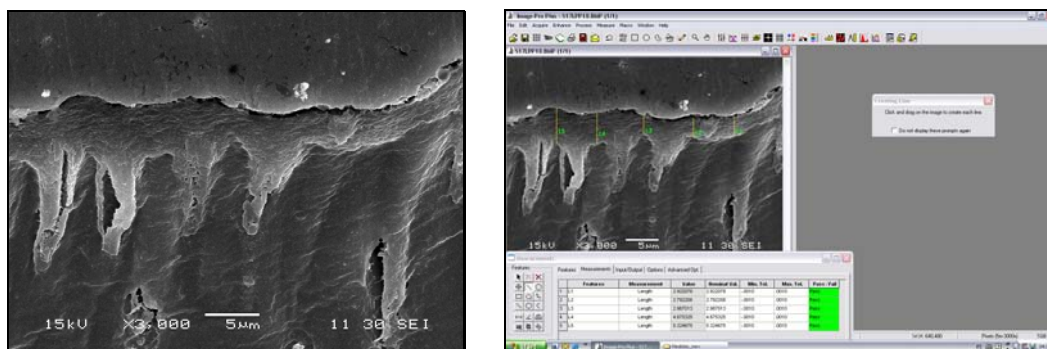


Figura 21 – a) Fotografia da interface adesiva que foi condicionada previamente por 80 s, demonstrando padrão não uniforme; b) Imagem do software Image Pro Plus adquirida da tela do computador demonstrando a obtenção das medidas da espessura da camada híbrida obtida em microscopia eletrônica de varredura. As medidas foram realizadas na faixa intertubular

Ao constatar um padrão não-uniforme da espessura da camada híbrida no momento em que se percorria a interface, decidido foi que seria importante a realização de cinco medidas da espessura da camada híbrida em cada uma das fotos (Figura 21b). Isto teve razão de ser a fim de evitar

que, involuntariamente, incorresse no erro de medir sempre uma região mais espessa ou mais fina. Na obtenção das medidas da espessura da camada híbrida em micrometros foi utilizado o software Image Pro Plus (versão 4.5, MEDIA CYBERNETICS Inc.) (Figura 21b).

Previamente a mensuração da cada espessura realizou-se a calibração do programa levando em consideração a barra de medidas localizada na parte inferior de cada imagem (Figura 21a). Esta conduta teve o objetivo de permitir que medidas precisas da espessura da camada híbrida fossem obtidas em cada imagem. Os valores individuais obtidos foram digitados em uma planilha apropriada e posteriormente tratados estatisticamente.

3.6 – Avaliação Morfológica

Os aspectos micromorfológicos relacionados à interface adesiva e aos filamentos resinosos foram avaliados em diferentes aumentos para observar as diferenças existentes em função da variação do tempo de aplicação do ácido fosfórico.

3.7 – Análise Estatística

Para a análise estatística dos dados referentes a espessura da camada híbrida, decidiu pela aplicação da Análise de Variância ($\alpha=0,05$ e $\alpha=0,1$) com medidas repetidas e dois fatores fixos (tempo + face) em três níveis (5, 20 e 80 segundos) completamente cruzadas e teste C de Dunnett para observar as diferenças entre os níveis. Para a análise estatística foi empregado o programa SPSS para o Windows versão 11.5 (SPSS Inc., Chicago, IL).

4. RESULTADOS

Os preparos cavitários resultaram em um total de 54 cavidades que estavam distribuídas nos 18 dentes pré-molares selecionados e restaurados. Cinco fotos foram obtidas de cada cavidade o que totalizou 270 fotografias. Em cada uma, 5 medidas da espessura da camada híbrida foram obtidas em um total de 25 medidas por face, totalizando 1350 medidas.

A Tabela 3 apresenta, para cada fator de estudo, (superfície do dente a receber o preparo e o tempo de aplicação para o ácido fosfórico) o tamanho da amostra obtida, totalizando 18 dentes que receberam preparos nas superfícies Vestibular, Oclusal e Lingual.

Tabela 3 – Tamanho da Amostra por Fator considerado no estudo

Fator	Descrição do Fator	N
Superfície do Dente	Vestibular (M)	18
	Oclusal (O)	18
	Palatal (P)	18
Tempo (s)	5	18
	20	18
	80	18

Neste estudo utilizou-se o delineamento por blocos incompletos uma vez que nem todas as combinações de tempo e superfície foram efetuadas. Contudo, foi possível obter a distribuição dos tempos em todas as superfícies e, acima de tudo, o dente recebendo todos os grupos experimentais.

O objetivo desta conduta se baseou em duas premissas. A primeira, diz respeito ao potencial da utilização das superfícies que compõem os dentes pré-molares (vestibular, oclusal e lingual) para estudar os fenômenos decorrentes de variações nas técnicas ou procedimentos restauradores. A outra, em minimizar o efeito do viés da face em que estas técnicas ou procedimentos fossem realizados.

Foi evidenciado pela Análise de Variância (Tabela 4) que não houveram diferenças estatisticamente significantes, ao nível de 5 %, tanto

para o fator face do dente ($p = 0,839$) quanto para a interação face*tempo ($p = 0,473$).

Tabela 4 – Análise de Variância com medidas repetidas para os fatores tempo, preparo e interação (tempo*preparo).

Fator	Soma dos Quadrados	GL	Quadrado Médio	F	Sig
FACE DO DENTE	19,061	2	9,530	,177	,839
TEMPO	1590,300	2	795,150	14,737	,000
FACE*TEMPO	193,680	4	48,420	,897	,473
Resíduo	2428,033	45	53,956		

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

As médias para a espessura da camada híbrida e os erros-padrão em seus diferentes níveis dentro do fator tempo estão na Tabela 5.

Tabela 5 – Médias da espessura da camada híbrida (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	2,90	0,04	2,81	2,99
20	3,54	0,07	3,30	3,59
80	5,43	0,11	5,20	5,66

Diante da evidência de que o efeito do fator “face do dente” na espessura da camada híbrida não apresentou significância, decidiu-se por aplicar a Análise de Variância com medidas repetidas apenas para o fator tempo.

Quando realizada a Análise de Variância (Tabela 6) para comparar as médias dos valores da espessura da camada híbrida entre os 3 níveis do fator tempo, este demonstrou haver diferença estatisticamente significativa ao nível de 1% de significância ($p < 0,001$) entre as médias.

Tabela 6 – Análise de Variância com medidas repetidas para o fator tempo.

Fator	Soma dos Quadrados	GL	Quadrado Médio	F	Sig.
Tempo	1590,300	2	795,150	15,356	,001
Resíduo	2640,774	51	51,780		

O gráfico 1 demonstra o intervalo de confiança para as médias relativas aos tempos de aplicação do ácido fosfórico onde se pode observar a diferença entre as mesmas.

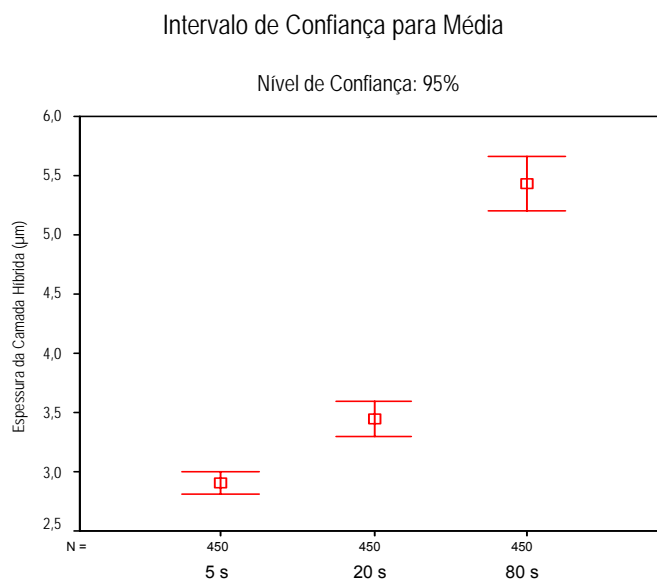


Gráfico 1 – Gráfico do intervalo de confiança para as médias relativas à espessura da camada híbrida em função da variação do tempo de aplicação do ácido fosfórico

Os gráficos 2, 3 e 4 mostram a variação na espessura da camada híbrida, medida em micrômetros, ao longo da extensão compreendida pela presença de túbulos dentinários perpendiculares à camada adesiva para os níveis 5, 20 e 80s do fator tempo, respectivamente.

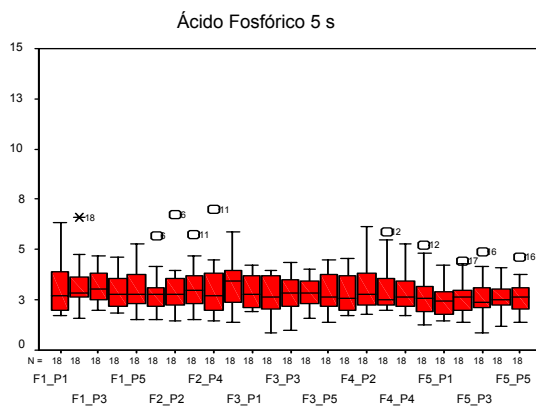


Gráfico 2 – Box Plot da espessura da camada híbrida obtida em micrometros para o tempo de 5 segundos

A presença de “outliers”, que nos gráficos está caracterizada por circunferências e asteriscos, indica uma medida genuína, porém, a mesma representa um valor da espessura da camada híbrida que está além da maioria dos valores obtidos.

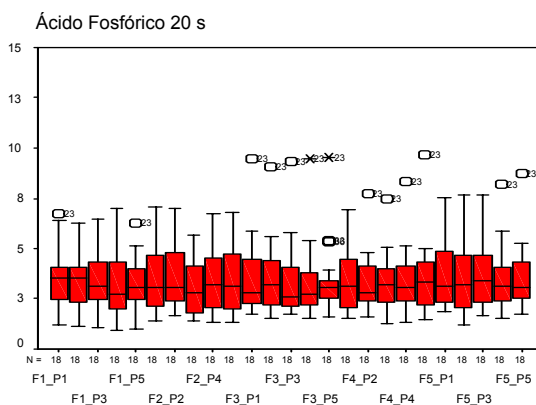


Gráfico 3 – Box Plot da espessura da camada híbrida obtida em micrometros para o tempo de 20 segundos

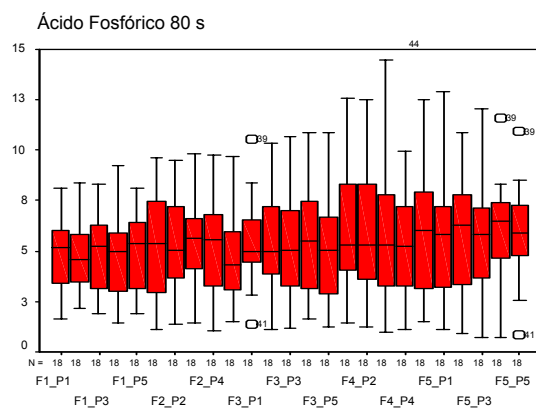


Gráfico 4 – Box Plot da espessura da camada híbrida obtida em micrometros para o tempo de 80 segundos

Com base nos testes de igualdade de variância de Levene (Tabela 7)

e Mauchly (Anexo 4) foi detectada heterocedasticidade em várias posições. 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 8).

Tabela 7 – Teste de Levene para avaliar a igualdade das variâncias

	F	Df1	Df2	Sig.
F1_P1	1,738	2	51	,186
F1_P2	1,010	2	51	,371
F1_P3	6,261	2	51	,004
F1_P4	5,377	2	51	,008
F1_P5	6,278	2	51	,004
F2_P1	7,576	2	51	,001
F2_P2	4,504	2	51	,016
F2_P3	3,108	2	51	,053
F2_P4	2,118	2	51	,131
F2_P5	2,825	2	51	,069
F3_P1	3,921	2	51	,026
F3_P2	3,930	2	51	,026
F3_P3	5,086	2	51	,010
F3_P4	7,611	2	51	,001
F3_P5	4,115	2	51	,022
F4_P1	10,215	2	51	,000
F4_P2	9,313	2	51	,000
F4_P3	7,319	2	51	,002
F4_P4	5,443	2	51	,007
F4_P5	6,499	2	51	,003
F5_P1	5,964	2	51	,005
F5_P2	7,794	2	51	,001
F5_P3	3,474	2	51	,039
F5_P4	5,788	2	51	,005
F5_P5	4,460	2	51	,016

Na Tabela 8 o Teste C de Dunnett demonstra que existem diferenças significativas ao nível de 5% de significância entre os tempos de 80s em relação aos de 5s e 20s. Por outro lado, o mesmo também demonstra que não houve diferenças significativas entre os tempos de 5s e 20s.

Tabela 8 – 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	-,545	,35382	-1,4531	,3623
	80	-2,526(*)	,49112	-3,7860	-1,2662
20	5	,54538	,353826	-,3623	1,45308
	80	-1,981(*)	,56921	-3,4409	-,5204
80	5	2,526(*)	,49112	1,2662	3,7860
	20	1,981(*)	,56921	,5204	3,4409

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

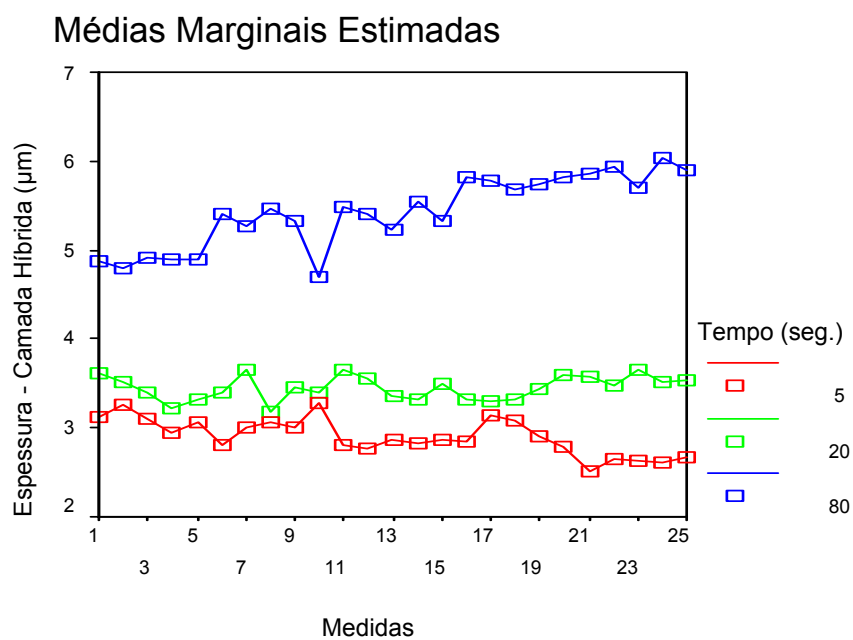


Gráfico 5 – Distribuição das médias da amostra total relativa à espessura da camada híbrida em micrometros em função da variação do tempo de aplicação do ácido fosfórico

4.1 – Aspectos Morfológicos da Camada Híbrida em Dentina Vital

Com o objetivo de observar os aspectos micromorfológicos, também foram realizadas fotografias representativas das diversas cavidades e com os diferentes tempos de aplicação do ácido fosfórico.

Em todos os corpos-de-prova examinados pudemos identificar a formação da camada híbrida independente do tempo utilizado para realizar o condicionamento ácido. Sua formação e aspectos morfológicos nos tempos de 5 e 20s (Figura 22 e 23) apresentaram um padrão de uniformidade quando comparada com o tempo de 80s (Figura 24).

O tempo de 5s apresentou uma camada híbrida nítida com aspecto reticular superficial suave, sem a presença de falhas ou porosidades no interior da mesma (Figura 25, 26).

Os filamentos resinosos eram na sua maioria curtos (2-7 μm), alternando áreas com aspecto reticular ou liso. Na embocadura dos túbulos foi evidente a forma de funil, concomitantemente com ramificações laterais estabelecendo uma ligação entre filamento resinoso e a dentina peritubular (Figura 27, 28, 29).

Os espécimes condicionados por 20s demonstraram a presença de filamentos resinosos médios em seus comprimentos na maioria das cavidades observadas. O aspecto de funil na embocadura do túbulo foi observado. Presentes também estavam numerosas ramificações laterais completamente preenchidas pelo adesivo (Figura 30, 31, 32, 33).

Um aspecto reticular mais evidente foi observado no interior da camada híbrida associado à presença de porosidades (Figura 34, 35, 36,37). Algumas áreas com falta adaptação foram encontradas no topo da camada híbrida e da camada adesiva.

As interfaces observadas no tempo de 80s demonstraram uma camada híbrida com aspecto reticular extremamente evidente (Figura 38, 39). As porosidades e as fendas intrínsecas também foram mais evidentes e em maior número (Figura 40, 41,42).

Outra característica detectada se refere à presença do aspecto reticular circundando a periferia do pescoço de alguns filamentos resinosos.

Os filamentos resinosos eram na sua maioria longos e com aspecto de funil associado às ramificações laterais (Figura 43, 44, 45).

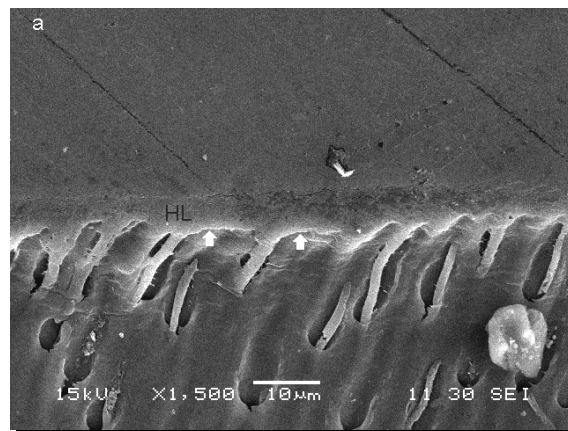


Figura 22) Fotomicrografia da camada híbrida e dos filamentos resinosos para o tempo de 5s em dentina vital demonstrando o aspecto de uniformidade.

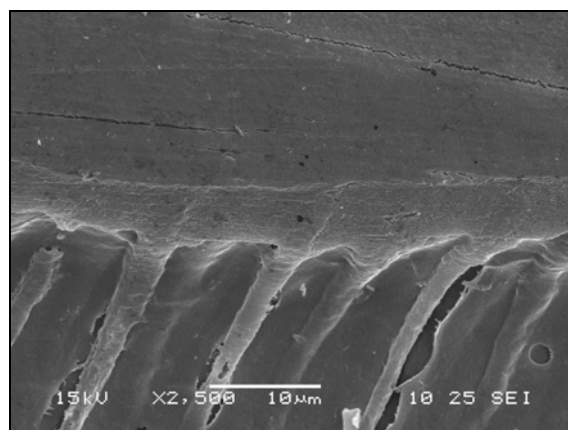


Figura 23) Fotomicrografia da camada híbrida e dos filamentos resinosos para o tempo de 20s em dentina vital demonstrando o aspecto de uniformidade.

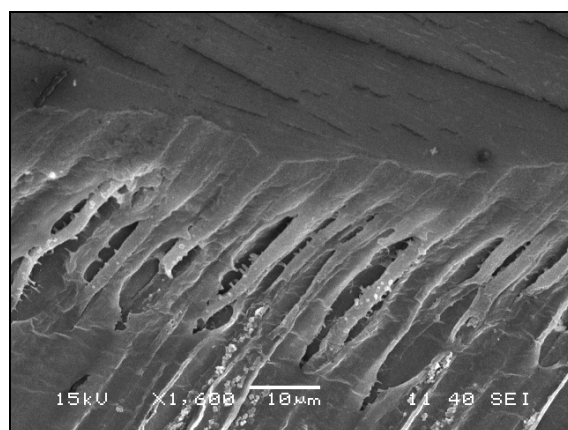


Figura 24: Fotomicrografia da camada híbrida e dos filamentos resinosos para o tempo de 80s demonstrando o aspecto não uniforme.

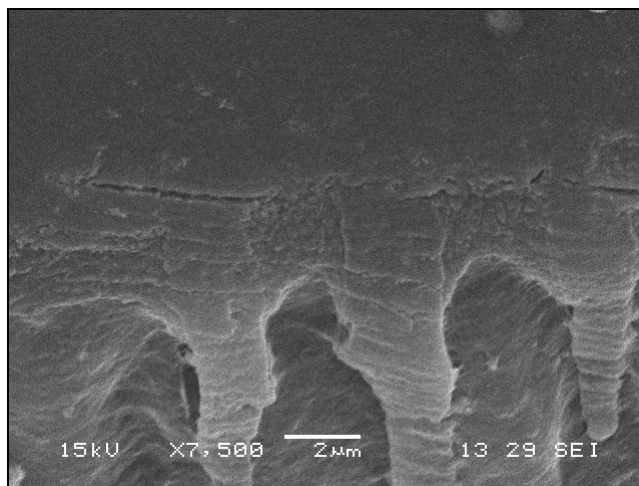


Figura 25) Fotomicrografia da camada híbrida para o tempo de 5s evidenciando o suave aspecto reticular presente em sua superfície

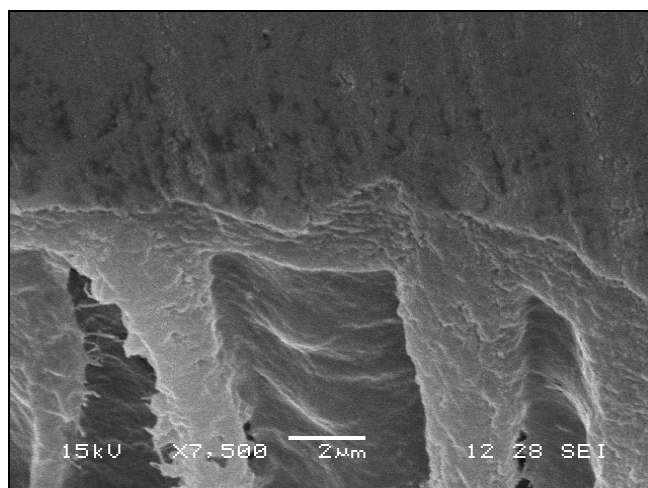


Figura 26) Fotomicrografia da camada híbrida para o tempo de 5 s evidenciando o suave aspecto reticular presente em sua superfície

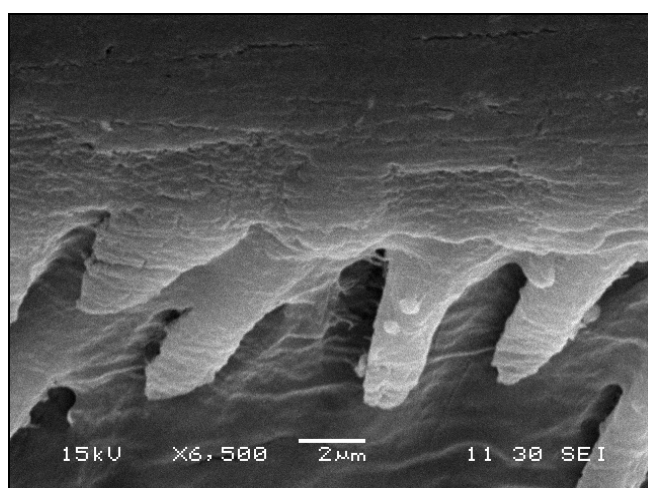


Figura 27 – Fotomicrografia da camada híbrida para o tempo de 5s evidenciando a forma de funil e ramificações laterais resinosas

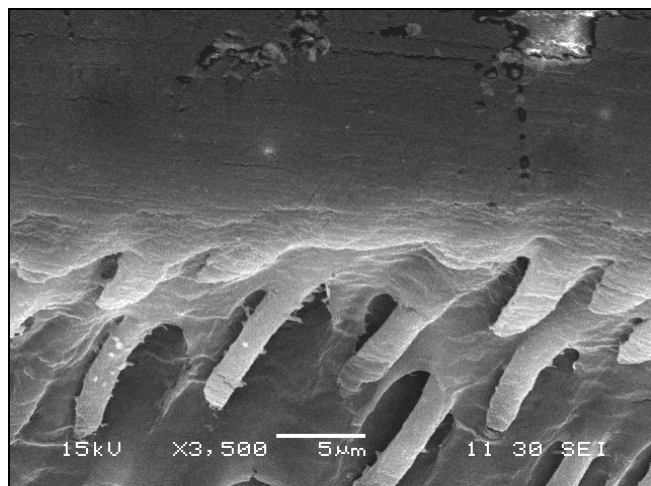


Figura 28 – Fotomicrografia da camada híbrida para o tempo de 5s evidenciando a forma de funil e ramificações laterais resinosas

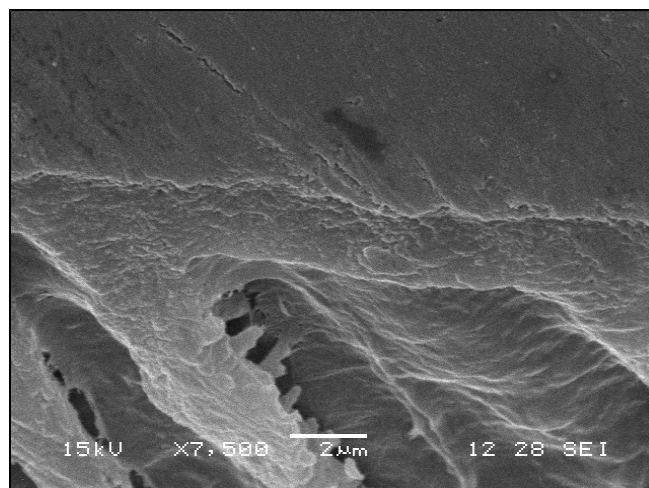


Figura 29 – Fotomicrografia da camada híbrida para o tempo de 5s evidenciando a forma de funil e ramificações laterais resinosas

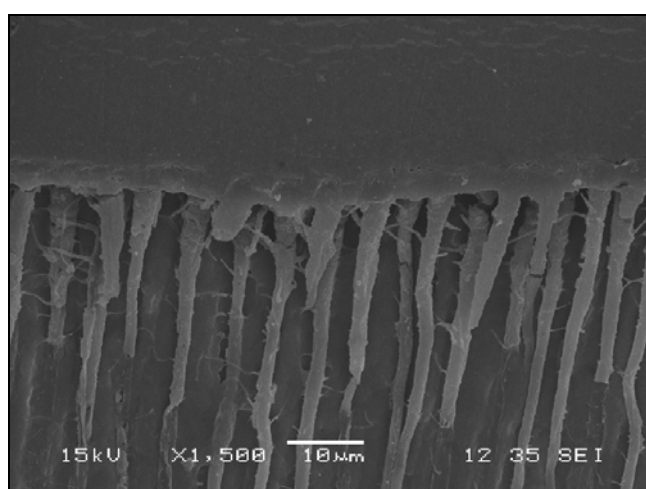


Figura 30 – Fotomicrografia das características morfológicas de uma interface adesiva para o tempo de 20 s do sistema adesivo Prime & Bond NT. Observe os prolongamentos e a ramificações laterais resultantes da infiltração do adesivo

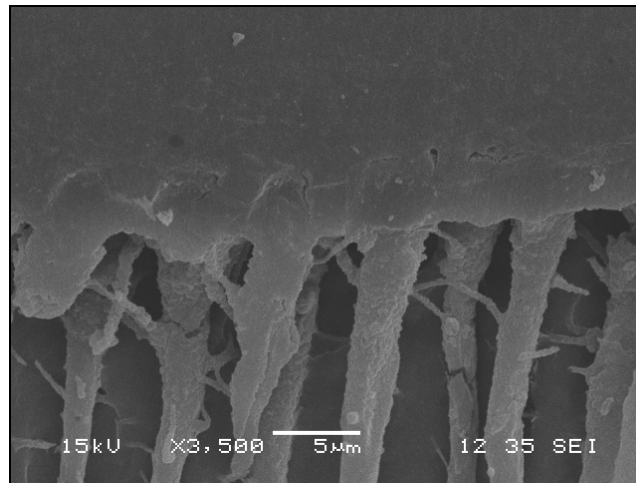


Figura 31 – Fotomicrografia das características morfológicas de uma interface adesiva para o tempo de 20s do sistema adesivo Prime & Bond *NT*. Observe os prolongamentos e a ramificações laterais resultantes da infiltração do adesivo

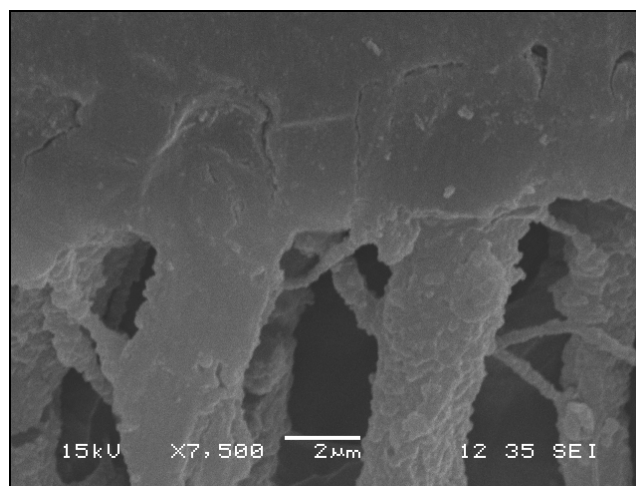


Figura 32 – Fotomicrografia das características morfológicas de uma interface adesiva para o tempo de 20s do sistema adesivo Prime & Bond *NT*. Observe os prolongamentos e a ramificações laterais resultantes da infiltração do adesivo em maior aumento.

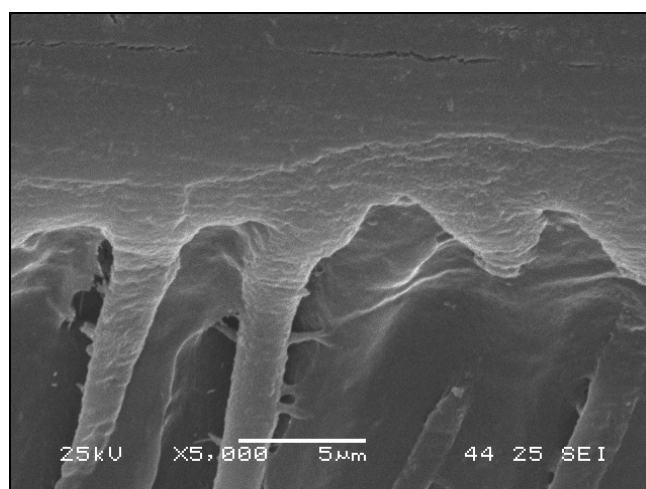


Figura 33 – Fotomicrografia das características morfológicas de uma interface adesiva para o tempo de 20 s empregando o sistema adesivo Prime & Bond *NT*. Observe os prolongamentos e a ramificações laterais resultantes da infiltração do adesivo.

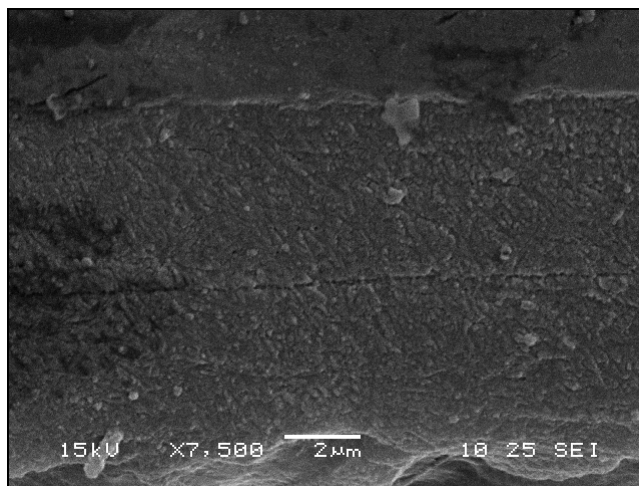


Figura 34 – Fotomicrografia das características morfológicas de uma interface adesiva para o tempo de 20 s empregando o sistema adesivo Prime & Bond *NT*. Observe o padrão reticular e porosidades na camada híbrida

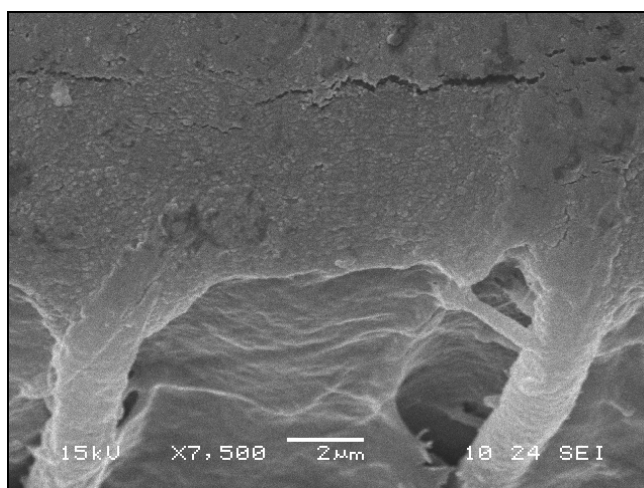


Figura 35 – Fotomicrografia das características morfológicas de uma interface adesiva para o tempo de 20 s empregando o sistema adesivo Prime & Bond *NT*. Observe o padrão reticular e porosidades na camada híbrida

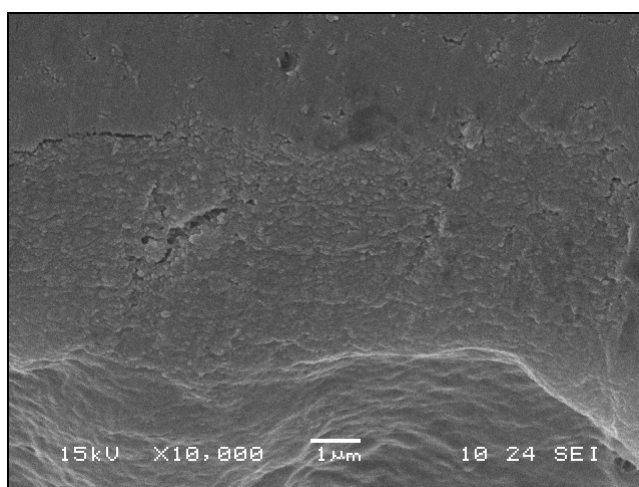


Figura 36 – Fotomicrografia das características morfológicas de uma interface adesiva para o tempo de 20 s empregando o sistema adesivo Prime & Bond *NT* onde são observadas porosidades na camada híbrida

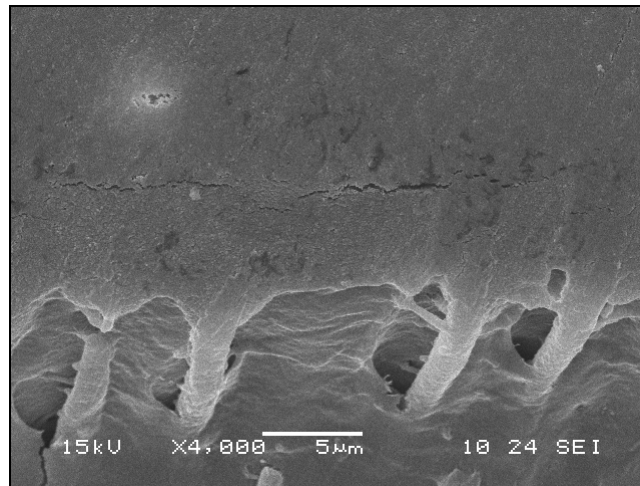


Figura 37 – Fotomicrografia das características morfológicas de uma interface adesiva para o tempo de 20 s empregando o sistema adesivo Prime & Bond *NT* onde são observadas porosidades na camada híbrida

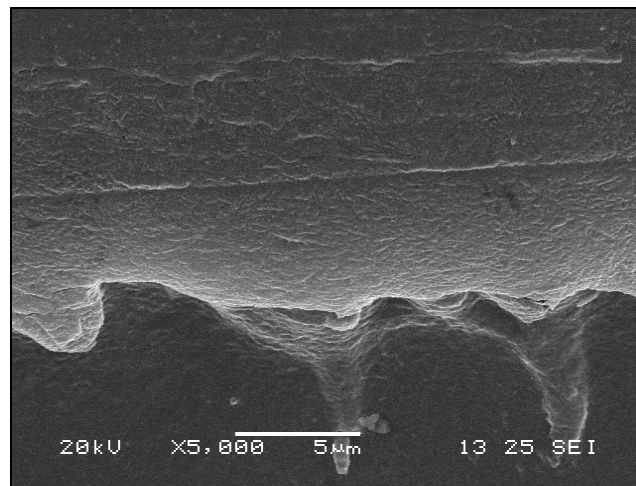


Figura 38 – Microscopia Eletrônica de Varredura de um corpo-de-prova para o tempo de 80 s que foi restaurado com Prime & Bond *NT*. Observe o aspecto reticular extremamente evidente

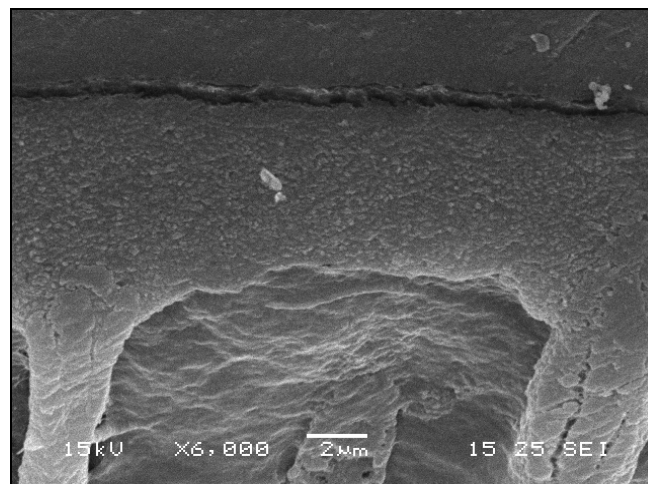


Figura 39 – Microscopia Eletrônica de Varredura de um corpo-de-prova para o tempo de 80s que foi restaurado com Prime & Bond *NT*. Observe o aspecto reticular extremamente evidente

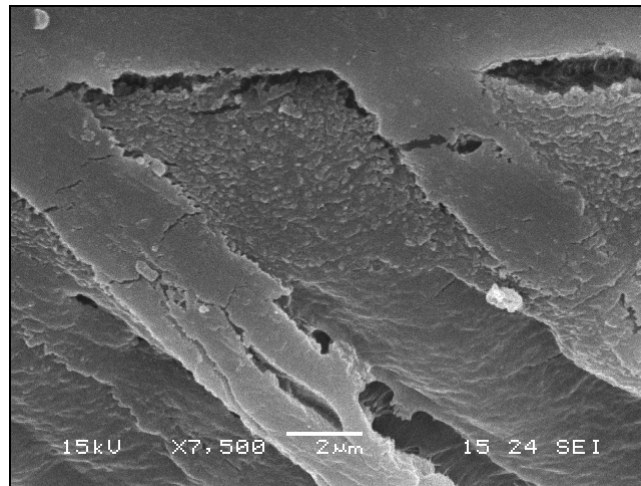


Figura 40 – Microscopia Eletrônica de Varredura de um corpo-de-prova para o tempo de 80s que foi restaurado com Prime & Bond NT. Observe o aspecto reticular extremamente evidente

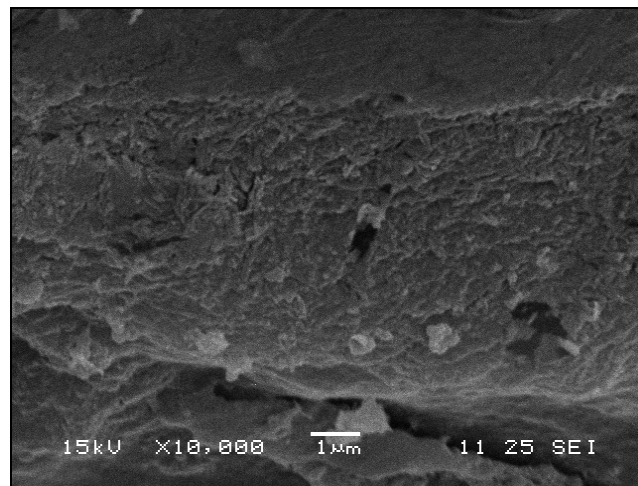


Figura 41 – Microscopia Eletrônica de Varredura de corpos-de-prova para o tempo de 80s que foi restaurado com Prime & Bond NT. Note as porosidades e fendas no interior da camada híbrida o aspecto reticular extremamente evidente

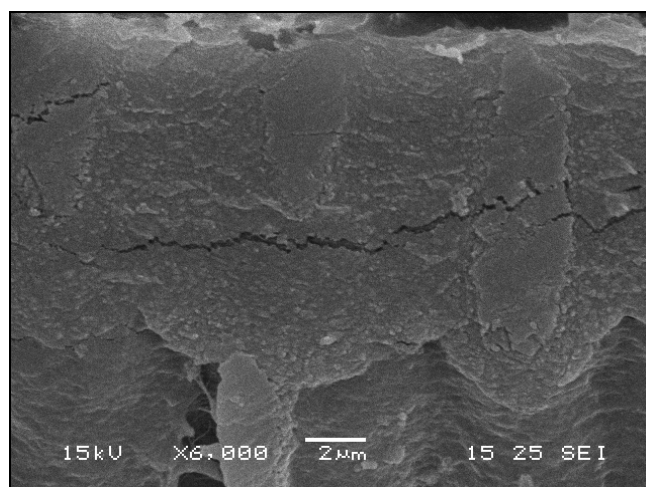


Figura 42 – Microscopia Eletrônica de Varredura de corpos-de-prova para o tempo de 80s que foi restaurado com Prime & Bond NT. Note as porosidades e fendas no interior da camada híbrida o aspecto reticular extremamente evidente

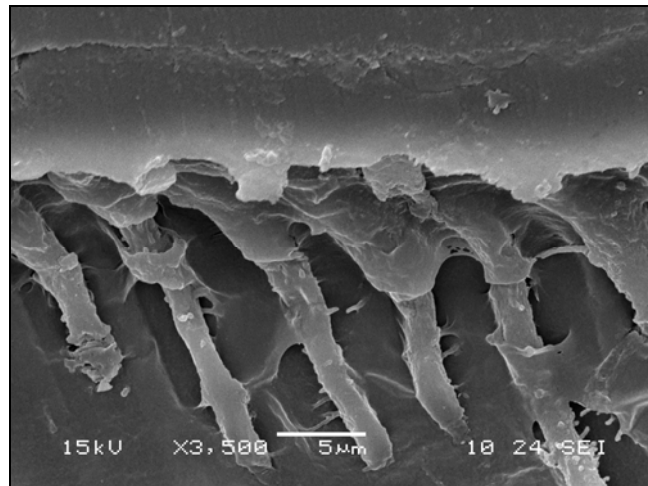


Figura 43 – Microscopia Eletrônica de Varredura de um corpo-de-prova para o tempo de 80s. Note o comprimento dos filamentos (longos) associado às ramificações laterais

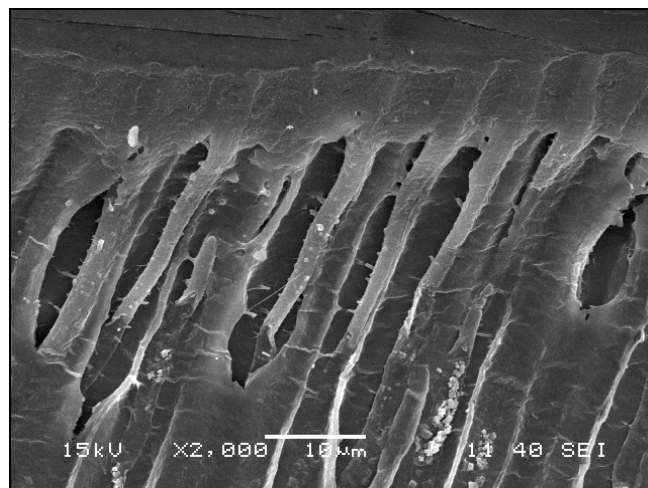


Figura 44 – Fotomicrografia das características morfológicas de uma interface adesiva para o tempo de 80 s empregando o sistema adesivo Prime & Bond NT onde são observadas o comprimento dos túbulos e suas ramificações laterais.

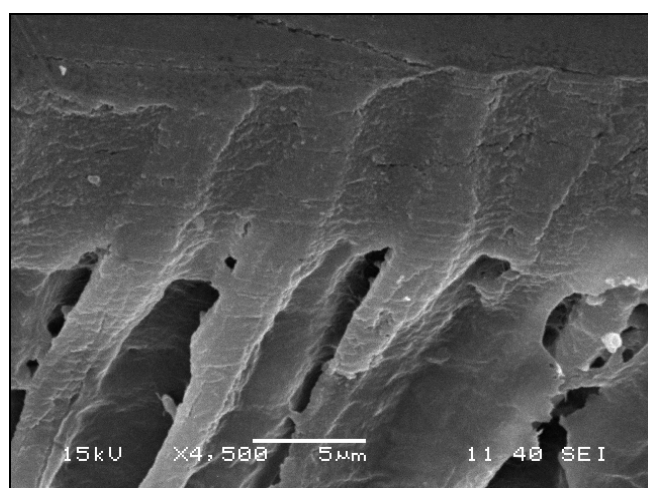


Figura 45 – Fotomicrografia das características morfológicas de uma interface adesiva para o tempo de 80 s empregando o sistema adesivo Prime & Bond NT onde são observadas o comprimento dos túbulos e suas ramificações laterais.

5. DISCUSSÃO

Diante dos diferentes aspectos envolvidos em nosso estudo, ficou claro que o efeito da realização do preparo cavitário nas faces vestibular, oclusal e lingual, bem como a interação face do dente*tempo de aplicação do ácido fosfórico não apresentaram diferenças estatísticas significantes para espessura da camada híbrida (Tabela 2 respectivamente, $p = 0,839$, $p = 0,473$).

Com estes achados, o trabalho mostra que a realização de preparos em diferentes faces do dente acomoda adequadamente a distribuição de grupos controle e experimento e potencializa, por assim dizer, a utilização de boa parte da dentina sem incorrer em prejuízo para os resultados. Além disso, todos procedimentos clínicos efetuados estão, de certa forma, representando o que é feito pelos odontólogos durante os procedimentos restauradores que contribuem assim para uma maior proximidade do que se faz clinicamente.

Sendo parte importante do procedimento restaurador que busca remover o mínimo da estrutura dental associada ao máximo de sobrevida no desempenho clínico para o material restaurador, a utilização do gel do ácido fosfórico representa o primeiro passo na busca da união ao substrato dental. Sua utilização em odontologia como agente desmineralizador superficial do substrato dental tem mais de cinquenta anos de história (Kramer & McLean, 1952; Buonocore, 1955). Desde a sua introdução no meio odontológico, busca-se o mesmo desempenho tanto em dentina como em esmalte.

Por vários anos, a aplicação do ácido fosfórico sobre os substratos dentais sustentou a condição de ser um contra-senso, principalmente por conta dos danos causados ao tecido pulpar que, efusivamente, foi apresentada por vários autores (Brännström & Vojinovic, 1976; Macko *et al.*, 1978).

A despeito disso, sua indicação em procedimentos restauradores adesivos realizados tanto em esmalte quanto dentina foi sendo cientificamente sedimentada. Isto decorreu do estabelecimento de uma união mais efetiva ao substrato dentinário e pelo fato de que o condicionamento ácido da dentina não causava injúrias pulpares, mas sim falhas no selamento das restaurações que permitiam a infiltração bacteriana e injúria pulpar

(Browne & Tobias, 1986; Hanks *et al.*, 1988; Nakabayashi & Pashley, 2000). Assim, a aplicação do ácido fosfórico sobre o esmalte e a dentina é, hoje, uma estratégia reconhecida e fundamenta o que admitimos ser odontologia restauradora adesiva, seja ela direta ou indireta (Tyas & Burrow, 2000; Perdigão *et al.*, 2004).

O tratamento superficial da dentina com um ácido é um procedimento necessário pois leva a remoção, na parte superficial do tecido, do conteúdo mineral em quase sua totalidade (Meerbeek *et al.*, 2003). Como consequência, expõe-se uma rede microporosa de colágeno que possibilita a infiltração e subseqüentemente, a polimerização dos monômeros resinosos.

A observação da interface adesiva, em especial aquilo que concerne à camada híbrida, é um assunto que tem despertado o interesse de vários pesquisadores ao longo das últimas décadas (Nakabayashi *et al.*, 1982; Walshaw & McComb., 1995), visto que ela demonstra os aspectos estruturais e morfológicos resultantes dos procedimentos realizados sobre o esmalte e a dentina. Assim, eventuais modificações nas técnicas adesivas preconizadas que conduzam a possíveis modificações na camada híbrida, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, podem ser avaliadas com confiabilidade mediante a utilização, por exemplo, da microscopia eletrônica de varredura.

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

Pelo menos do ponto de vista teórico, a profundidade da zona de dentina desmineralizada deveria ser igual à dimensão da camada híbrida, especialmente se for assumido que o adesivo tenha capacidade de infiltrar completamente os micro-espacos criados pela ação do ácido fosfórico.

No presente estudo a camada híbrida tanto para o grupo controle (20s) como para os grupos experimento (5 e 80s), apresentaram características morfológicas, tais como o aspecto reticulado de sua superfície, a presença de filamentos resinosos com ramificações laterais e a própria espessura que variou significativamente entre os grupos estudados. Estas características atestam uma grande capacidade de infiltração por parte do adesivo em levá-lo ao redor das fibras colágenas expostas pelo agente ácido, bem como para o interior dos túbulos.

A despeito destas características morfológicas presentes, o tempo de 5s demonstrou um aspecto reticular mais suave e uma maior uniformidade associada a uma menor espessura da camada híbrida ($2,90\mu\text{m}$) quando comparada aos tempos de 20s ($3,54\mu\text{m}$) e 80s ($5,43\mu\text{m}$). Estes achados são similares aos de Abu-Hanna *et al.*, 2004 que estudaram a profundidade de desmineralização e espessura da camada híbrida *in vitro* para os tempos de 5 (1- $2\mu\text{m}$), 15 (2- $6\mu\text{m}$), 30 (2,5- $6\mu\text{m}$) e 60 (6- $8\mu\text{m}$) segundos.

No nosso entender este fato sugere que a redução no tempo de aplicação do ácido e, conseqüentemente uma menor profundidade de desmineralização, pode promover uma infiltração mais uniforme e completa do adesivo. Da mesma forma haverá menor possibilidade da ocorrência da zona de colágeno desmineralizado e desprotegido que, em tese, seria prejudicial à longevidade da interface. Relatos existem dando conta de que pode haver o incompleto preenchimento da camada desmineralizada deixando cadeias peptídicas do colágeno expostas à degradação (Kiyomura, 1987; Sano *et al.*, 1994, Walshaw & McComb, 1995).

Estas características estruturais não foram visualizadas neste estudo já que a interface adesiva foi submetida a desmineralização em HCl 1N (30s), seguido da desproteinização com NaOCl 2% (10min) que, juntas, removeram todo o conteúdo mineral e orgânico adjacentes à camada híbrida.

Convém aqui especular que uma alternativa viável para detectar esta zona desprotegida seria a observação de interfaces adesivas em corpos-de-prova não desmineralizados em microscopia eletrônica de transmissão (Kiyomura, 1987; Van Meerbeek *et al.*, 1993).

Desta forma a adesão à dentina pode ser afetada por inúmeras variáveis. Algumas destas não podem ser controladas pelo operador como

por exemplo composição da dentina, idade do paciente, profundidade do preparo, direção dos túbulos, capacidade tampão da dentina; e outras que podem ser mantidas sob controle tais como o controle do campo operatório, seleção do material e tempo de aplicação do agente ácido (Mjör, 1996).

Em que pese o fato de que o tempo de 15 segundos seja adotado como padrão para a aplicação do ácido fosfórico em dentina, inclusive pela maioria dos fabricantes, nada foi feito ainda para avaliar, metodologicamente, o que a maioria dos clínicos odontólogos faz para cronometrar o tempo de aplicação do gel em suas atividades restauradoras adesivas.

A literatura sobre o assunto está baseada, na sua imensa maioria, em trabalhos laboratoriais. Nestes, como é de conhecimento geral, as variáveis são controladas. Assim, como conciliar o controle do tempo de aplicação do gel do ácido fosfórico na realização de uma restauração com resina composta de um preparo MOD? Como ter certeza de que o mesmo será aplicado de maneira uniforme e devidamente cronometrado em toda a extensão da superfície da dentina?

No presente estudo o tempo de condicionamento começou a ser cronometrado assim que o gel era aplicado na parede pulpar do preparo. Este controle do tempo e a diferença encontrada na espessura das camadas híbridas observadas (Tabela 5), confirmam que é importante controlar o tempo permanência do ácido sobre a dentina.

Pode até não ser verdade, porém, do ponto de vista clínico, existe uma grande probabilidade de que o gel permaneça por períodos maiores sobre a dentina do que se acredita ser aquilo que é recomendado como padrão e, conseqüentemente, aumentar o potencial de que ocorra a desmineralização excessiva da dentina e uma infiltração parcial do adesivo (Eick *et al.*, 1997).

No entender de Abu-Hanna *et al.*, (2004), a observação da camada híbrida se torna mais confiável quando obtida e observada em dentina vital. Os autores se justificam com base no fato de que existe uma discrepância de pelo menos de 1µm entre os valores da profundidade da desmineralização e os da espessura da camada híbrida, quando são realizados *in vitro*. Segundo os autores, isto seria uma conseqüência direta das várias etapas do processamento pelas quais são as amostras submetidas. Desta forma, o

somatório destas etapas provocaria o colapso e a contração das fibrilas colagenas inadequadamente suportadas.

Ao se considerar esta discrepância, nosso estudo procurou avaliar somente as alterações na morfologia e na espessura da camada híbrida decorrentes da variação do tempo de aplicação do ácido fosfórico em dentina vital, já que tanto este substrato quanto a variação no tempo são mais próximos da realidade clínica.

O uso do sistema adesivo de frasco único Prime & Bond *NT* a base de acetona como solvente demonstrou, em nosso estudo, ser eficaz na formação da camada híbrida quando utilizado em dentina vital, independente do tempo utilizado para o condicionamento (Figura 22, 23, 24). O adesivo foi capaz de infiltrar na rede de colágeno exposta e nos túbulos dentinários da mesma forma que em outros estudos prévios (Ferrari *et al.*, 1996; Hashimoto *et al.*, 2002).

Em termos de espessura da camada híbrida, os resultados obtidos em nosso trabalho demonstraram existir diferenças significantes quanto à variação do tempo de aplicação do ácido fosfórico sobre a dentina vital (Tabela 6). A maior espessura foi obtida para o tempo de 80s – 5,43 μ m e as menores para o tempo de 5s – 2,90 μ m e 20s – 3,54 μ m.

O grupo controle de 20s para a aplicação do ácido demonstrou média de 3,54 μ m e não apresentou diferença significativa quando comparado ao tempo de 5s, porém ambos apresentaram diferenças estatisticamente significantes para o tempo de 80s ($p < 0,01$).

Nossos resultados para a espessura da camada híbrida obtida nos tempos de 5 e 20s compartilham dos achados de Schneider *et al.*, 2000 que, ao avaliarem o adesivo Prime & Bond 2.1 aplicado em dentina vital de cinco pré-molares, obtiveram uma espessura da camada híbrida da ordem de 3,3 μ m para o tempo de 15s. Embora não tenha sido o escopo do nosso estudo, estes autores avaliaram também a espessura da camada híbrida em dentina não-vital, observando uma média de 3,1 μ m para a espessura no tempo de 15s.

Pioch *et al.*, 2001 estudaram *in vitro* a relação entre a presença ou não da pressão intrapulpar com relação à resistência de união ao cisalhamento bem como a espessura da camada híbrida. Este estudo mostrou valores da

espessura (3,5 μ m) semelhantes aos nossos quando a dentina foi condicionada por 15s. Com respeito à espessura não houve diferença estatisticamente significativa mas ocorreu uma diminuição na resistência de união quando foi simulada a pressão intrapulpar.

Isto mostra que o tempo de 5s tem condições de proporcionar a obtenção de uma camada híbrida condizente com os mesmos padrões de espessura e qualidade pertinentes aos tempos de 15 e 20s.

Por outro lado Abdalla e Garcia-Godoy (2002) encontraram uma espessura da camada em torno de 1 a 2 μ m para o adesivo Prime&Bond 2.1 quando a dentina vital foi condicionada por 15s. Essa menor espessura pode estar relacionada à idade dos pacientes selecionados para pesquisa (55 a 68 anos), a qual foi maior que a observada em nosso estudo (13 a 30 anos). Esta diferença na espessura pode demonstrar que a dentina em pacientes idosos pode ser considerada um substrato mais “ácido resistente” em função da presença de um maior conteúdo mineral (Prati *et al.*, 1999; Lopes *et al.*, 2003).

Ainda que não exista um valor exato para a profundidade da desmineralização e seu preenchimento pelo adesivo formando a camada híbrida, acredita-se que algo em torno de 1 a 2 μ m (Walshw&McComb, 1994) seria suficiente para uma ótima resistência de união. De fato, isto pode ser embasado pelo desempenho já demonstrado pelos adesivos autocondicionantes quando aplicados em dentina (Tay, 2002).

Na observação dos aspectos morfológicos da camada híbrida pertinentes ao tempo de 20s de aplicação do gel ácido, pode ser detectado a presença de um padrão reticulado mais evidente em relação ao tempo de 5s (Figuras 25, 26, 34, 35). Este padrão, no nosso entender, representa já uma ação mais marcante ou agressiva do ácido fosfórico, em função do tempo de aplicação, sobre os componentes minerais da dentina vital.

Ao mesmo tempo, a manutenção da dentina umedecida, como recomenda o fabricante, permitiu que o adesivo manifestasse sua capacidade de infiltrar por entre os espaços interfibrilares e manter a rede de colágeno sem sofrer colapso após a polimerização do material.

As formações dos filamentos resinosos em forma de funil evidenciaram a desmineralização da dentina peritubular, bem como a remoção do *smear*

layer e do *smear plug* desobliterando a entrada dos túbulos (Figura 22, 23, 24). As diversas formas de ramificações laterais estiveram presentes em todas as amostras observadas (Figuras 28, 31, 44).

Nas amostras condicionadas por 20 e 80s os filamentos resinosos e as ramificações laterais apresentaram-se mais evidentes nas imagens observadas (Figura 31, 44), quando comparados às mesmas estruturas no tempo de 5s (Figura 28). Embora não tenha estudado o tempo de 5s as observações de Ferrari *et al*, 1996 para os tempos de 20 e 80s corroboram com os aspectos morfológicos neste estudo.

A presença dos filamentos resinosos mais curtos observados nos espécimes condicionados por 5s tem íntima relação com uma incompleta dissolução do *smear plug* no interior dos túbulos (Figuras 27, 28). Este aspecto é decorrente do menor tempo de ação do ácido fosfórico que deixaria parte do *smear plug* e impediria a penetração mais profunda do adesivo no interior dos túbulos.

O papel dos filamentos resinosos e das ramificações laterais para a resistência de união ainda não está totalmente esclarecido, porém a presença deles pode agir favoravelmente na adesão dentinária (Ferrari *et al*, 1996, Mjör & Nordhal, 1996).

Com o intuito de prevenir a formação de uma camada de dentina desmineralizada e não protegida pelo adesivo, tem sido aventado na literatura uma diminuição no tempo de aplicação do agente ácido sobre a dentina como uma forma de atingir o objetivo acima (Walshaw & McComb., 1995; Abu-Hanna & Gordan, 2004).

O tempo de 5s para a aplicação do ácido fosfórico sobre a dentina foi, até o presente momento, somente avaliado em dentina não-vital nos quesitos de resistência de união (Abu Hanna & Gordan, 2004) e espessura da camada híbrida (Abu-Hanna *et al.*, 2004). Nestes, constatou-se que o aumento no tempo de aplicação do gel ácido proporcionou um aumento na espessura da camada híbrida mas, por outro lado, uma diminuição significativa nos valores médios da resistência de união. De acordo com as conclusões dos autores, o tempo de 5s apresentou o melhor resultado para o binômio espessura da camada híbrida (2,5µm) e resistência de união.

Ao compararmos a espessura da camada híbrida obtida no trabalho de Pioch *et al.*, 1998 para o adesivo Prime & Bond 2.0, verificamos que o tempo de 15s foi capaz de gerar na média uma espessura de 2,07 μ m que é semelhante ao que obtivemos para o tempo de 5s (2,90 μ m) embora tenhamos utilizado o Prime & Bond NT.

A profundidade da desmineralização em função do tempo foi, recentemente, avaliada em dentina vital presente na parede pulpar de preparos realizados na face oclusal (Atui, 2005). Neste estudo, a desmineralização provocada pela aplicação do ácido fosfórico a 37% (Condicionador Dental Gel, Dentsply) resultou em uma profundidade média de 2,10 μ m. De maneira geral, é possível dizer que existe grande proximidade entre os valores por nós obtidos para a espessura da camada híbrida que foi de 2,90 μ m.

Essa característica morfológica peculiar aponta para o fato de que, embora tenha existido a exposição das fibrilas colágenas, o condicionamento por um período menor desmineraliza a dentina de uma maneira menos agressiva. Posteriormente, os monômeros resinosos presentes no adesivo foram também hábeis para infiltrar e envolver o colágeno exposto dando o aspecto reticular suave à superfície da camada.

Outro aspecto que se destacou na observação das imagens foi à ausência de porosidades ou falhas no interior desta camada híbrida. Morfologicamente, isto sugere que além de uma melhor infiltração do adesivo na zona desmineralizada, o conjunto foi menos sensível, por exemplo, a não evaporação do solvente e a contração de polimerização do adesivo.

Da mesma forma a dentina condicionada por 5s resultou em uma camada híbrida mais uniforme do ponto de vista morfológico estrutural e mecânico, quando comparada com tempos de 15, 30 e 60s (Abu-Hanna & Gordan, 2004).

Quando o tempo de 80s foi avaliado, a camada híbrida apresentou-se com aspecto reticular extremamente evidente (Figura 38 e 41). No nosso entender, a razão para isto ocorrer foi fruto do maior tempo de contato do ácido fosfórico com a superfície da dentina que, invariavelmente, levou a uma efetiva e completa dissolução dos componentes inorgânicos e possivelmente uma desnaturação do colágeno .

A presença de porosidades e falhas no interior da camada híbrida apresentou-se de forma mais evidente nos tempos de 20 e 80s (Figura 31) concordando com os achados de Abu Hanna *et al* 2004 que estudaram *in vitro* a dentina condicionada por 15 e 30s, especialmente se comparados ao tempo de 5s.

É possível especular que estes aspectos são decorrentes da presença de monômeros que não polimerizaram devido à presença de oxigênio e água, e que estavam localizados em regiões profundas da camada híbrida. Como consequência esta camada híbrida caracteriza-se de forma inadequada para resistir aos desafios que estará submetida no meio bucal (Sano *et al.*, 1999; Hashimoto *et al.*, 2002; Walshaw & McComb, 1995; Abu-Hanna & Gordan, 2004).

No presente estudo a camada híbrida formada após o condicionamento com ácido fosfórico por 5s apresentou características tanto morfológicas: maior uniformidade, menor ocorrência de falhas e porosidades no interior da camada, como em relação à espessura, que indicam que este tempo pode ser benéfico.

Acreditamos que caberá ao profissional balancear o tempo de aplicação em áreas extensas de dentina para conseguir o máximo das características de uma camada híbrida de 5s. De qualquer forma, estudos como os de resistência de união e de longevidade clínica devem ser realizados com o objetivo de validar as suposições acima.

6. CONCLUSÕES

Considerando o método aplicado no trabalho e os resultados obtidos, é possível concluir que:

1. a variação do tempo de aplicação do ácido fosfórico sobre a dentina humana vital tem influência nos aspectos morfológicos da camada híbrida;
2. o aumento do tempo de aplicação do ácido fosfórico sobre a dentina humana vital aumenta a espessura da camada híbrida;
3. a diminuição do tempo de aplicação do ácido fosfórico sobre a dentina humana vital diminui a espessura da camada híbrida;
4. os tempos de 5 e 20s apresentaram características morfológicas semelhantes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS *

Atui RAF. Avaliação *in vivo* da profundidade de desmineralização da dentina humana com diferentes tempos de condicionamento com ácido fosfórico (dissertação). Guarulhos: UNG; 2004

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

Abu-Hanna A, Gordan VV, Mjor I. The effect of variation in etching times on dentin bonding. Gen Dent 2004; 52(1): 28-3.

Asmussen E, Munksgaard EC. Bonding of restorative resins to dentine: status of dentine adhesives and impact on cavity design and filling techniques. Int Dent J 1988; 38(2): 97-04.

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): 917-23.

Brännström M, Vojinovic O. Response of the dental pulp to invasion of bacteria around three filling materials. J Dent Child 1976; 43: 15-21.

Browne RM, Tobias RS. Microbial microleakage and pulpal inflammation: a review. Endod Dent Traumatol 1986; 2: 177-83.

Buonocore MG. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. J Dent Res 1955; 34(6): 848-53.

Buonocore M, Wileman W, Brudevold F. A report on a resin composition capable of bonding to human dentin surfaces. J Dent Res 1956; 35(6): 846-51.

Davidson CL, Abdalla AI, De Gee AJ. An investigation into the quality of dentine bonding systems for accomplishing a durable bond. J Oral Rehabil 1993; 20(3): 291-00.

Eick JD, Gwinnet AJ, Pashley DH, Robinson SJ. Current concepts on adhesion to dentin. Crit Rev Oral Med 1997; 8: 186-94.

Erickson RL. Mechanism and clinical implication of bond formation for two dentin bonding agents. Am J Dent 1989; 2: 117-23

Erickson RL. Surface interactions of dentin adhesive materials. Oper Dent 1992; Suppl 5: 81-94.

Ferrari M, Cagidiaco MC, Kugel G, Davidson CL. Dentin infiltration by three adhesive systems in clinical and laboratory conditions. Am J Dent 1996; 9(6): 240-44.

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

Ferrari M, Mason PN, Vichi A, Davidson CL. Role of hybridization on marginal leakage and bond strength. *Am J Dent* 2000; 13: 329-36.

Ferrari M. The micromorphologic relationship between resin and dentin in Class V restorations: An *in vivo* and *in vitro* investigation. *Quintessence Int* 1994; 25: 621-15.

Fusayama T, Nakamura M, Kurosaki N, Iwaku M. Non-pressure adhesion of a new adhesive restorative resin. *J Dent Res*. 1979; 58(4): 1364-70.

Hanks CT, Craig RG, Diehl ML, Pashley DH. Citotoxicity of dental composites and other materials in a new *in vitro* device. *J Oral Pathol* 1988; 17: 396-03.

Harada N, Yamada T, Inokoshi S, Tagami J. Tensile bond strengths and interfaces of ten dentin bonding systems. *J Med Dent Sci* 1998; 45(2): 85-96.

Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Sano H, Tay FR, Oguchi H, Araki Y, Kubota M. Over-etching effects on micro-tensile bond strength and failure patterns for two dentin bonding systems. *J Dent* 2002; 30: 99-05.

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

Ibsen R, Oullet D, Strassler H. Clinically successful dentin and enamel bonding. *Am J Dent* 1998; 2: 125-31.

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: 427-42.

Jacobsen T, Finger WJ. Morphology of coupling sites between bonding agents and dentine *in vivo* and *in vitro*. *J Dent* 1993; 21: 150-57.

Kanca J 3rd, Sandrik J. Bonding to dentin. Clues to the mechanism of adhesion. *Am J Dent* 1998; 11: 154-59.

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

Kiyomura M. Bonding strength to bovine dentin with 4-META/MMA-TTB resin: long term stability and influence of water. *J Jpn Dent Mater* 1987; 6: 860-72.

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: 150-53.

Lopes GC, Baratieri LN, Andrada MAC, Vieira LCC. Dental adhesion: Present state of the art and future perspectives. *Quintessence Int* 2002; 33: 213-24.

Macko D, Rutberg M, Langeland K. Pulpal response to the application of phosphoric acid to dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1978; 45: 930-46

Marshall GWJr. Dentin: Microstructure and characterization. *Quintessence Int* 1993; 24: 606-17.

Marshall GWJr, Marshall SJ, Kinney JH, Balooch M. The dentin substrate: structure and properties related to bonding. *J Dent* 1997; 25: 441-58.

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

Mjör IA, Nordhal I. The density and branching of dental tubules in human teeth. *J Dent Res* 1996, 75: 346 (Abstr 2628)

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: 135-41.

Nakabayashi N, Kojima K, Masuhara E. The promotion of adhesion by infiltration of monomers into tooth substrates. *J Biomed Mater Res* 1982; 16(3): 265-73.

Oliveira SSA, Marshall SJ, Hilton JF, Marshall GW. Etching kinetics of selfetching primer. *Biomaterials* 2002; 23: 4105-112.

Pashley DH, Carvalho RM. Dentine permeability and dentine adhesion. *J Dent* 1997; 25: 355-72.

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

Pashley DH. Clinical considerations of microleakage. *J Endod.* 1990; 16(2):70-77.

Perdigão J, Lambrechts P, Van Meerbeek B, Vanherle G, Lopes AL. Field emission SEM comparison of four postfixation drying techniques for human dentin. *J Biomed Mater Res* 1995; 29(9): 1111-20.

Perdigão J, Lopes M. Dentin Bonding – Questions for the new millennium. *J Adhesive Dent* 1999; 1: 191-09.

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: 186-94.

Perdigão J, Ritter AV. Adesão aos tecidos dentários. *In*: Baratieri LN, Monteiro Jr S, Andrada MAC, Vieira LCC, Ritter AV, Cardoso AC.

Odontologia Restauradora – Fundamentos e Possibilidades. São Paulo: Santos Editora Livraria; 2001. p. 83-128.

Prati C, Pashley DH, Montanari G. Hydrostatic intrapulpal pressure and bond strength of bonding systems. Dent Mater 1991; 7(1): 54-58.

Pioch T, Stotz, Buff E, Duschner, Staehle HJ. Influence of etching times on hybrid layer formation and tensile bond strength. Am J Dent 1998; 11: 202-06.

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.

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

Shi S, Bartold PM, Miura M, Seo BM, Robey PG, Gronthos S. The efficacy of mesenchymal stem cells to regenerate and repair dental structures. Orthod Craniofacial Res 2005; 8: 191-99

Spencer P, Wang Y, Walker MP, Swafford JR. Molecular Structure of Acid-etched Dentin Smear Layers – *in situ* study. J Dent Res 2001, 80(9): 1802-07

Stotz PT, Buff E, Duschner H, Staehle HJ. Influence of different etching times on hybrid layer formation and tensile bond strength. Am J Dent 1998; 11(5): 202-6.

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.

Tay FR, King NM, Chan KM, Pashley DH. How can nanoleakage occur in self-etching adhesive systems that demineralize and infiltrate simultaneously? J Adhes Dent 2002; 4(4): 255-69.

Tyas MJ, Burrow MF. Clinical evaluation of EBS Dentine bonding agent: one year results. Aust Dent J 2000; 45(2): 115-17.

Titley K, Chernecky R, Maric B, Smith D. Penetration of a dentin bonding agent into dentin. Am J Dent 1994; 7(4): 190-94.

Torney DL. The retentive ability of acid-etched dentin. J Prosthet Dent 1978; 39(2): 169-72.

Uno S, Finger WJ. Effects of acidic conditioners on dentine demineralization and dimension of hybrid layers. J Dent 1996; 24: 211-16.

Van Dijken JW, Horstedt P. In vivo adaptation of restorative materials to dentin. J Prosthet Dent 1986; 56(6): 677-81.

Van Meerbeek B, Dhem A, Goret-Nicaise M, Braem M, Lambrechts P, VanHerle G. Comparative SEM and TEM examination of the ultrastructure of the resin-dentin interdiffusion zone. *J Dent Res* 1993; 72: 495-01.

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

Walshaw PR, McComb D. Clinical considerations for optimal dentinal bonding. *Quintessence Int* 1996; 27: 619-25.

Walshaw PR, McComb D. SEM Characterization of the resin-dentin interface produced *in vivo*. *J Dent* 1995; 23: 281-87.

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^a) Consentimento pós-informação:

Eu, _____, certifico que, tendo lido as informações prévias e sido suficientemente esclarecido pelos responsáveis do projeto sobre todos os itens, estou plenamente de acordo com a realização do estudo autorizando o à 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 do RG: _____

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 pelos responsáveis do projeto sobre todos os itens, estou plenamente de acordo com a realização do estudo autorizando o à realização da pesquisa bem como a doação elementos dentais estudados.

Guarulhos, ___ de _____ de 2004

Nome legível: _____

Assinatura do responsável: _____ número do RG: _____

Anexo 3

Anexo 4

Mauchly's Test of Sphericity(b)

Measure: MEASURE_1

Within Subjects Effect	Mauchly's W	Approx. Square	Chi-df	Sig.	Epsilon(a)	Greenhouse-Geisser	Huynh-Feldt	Lower-bound
FACTOR1	,000	1418,518	299	,000	,211	,246	,246	,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: FACTOR1

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)