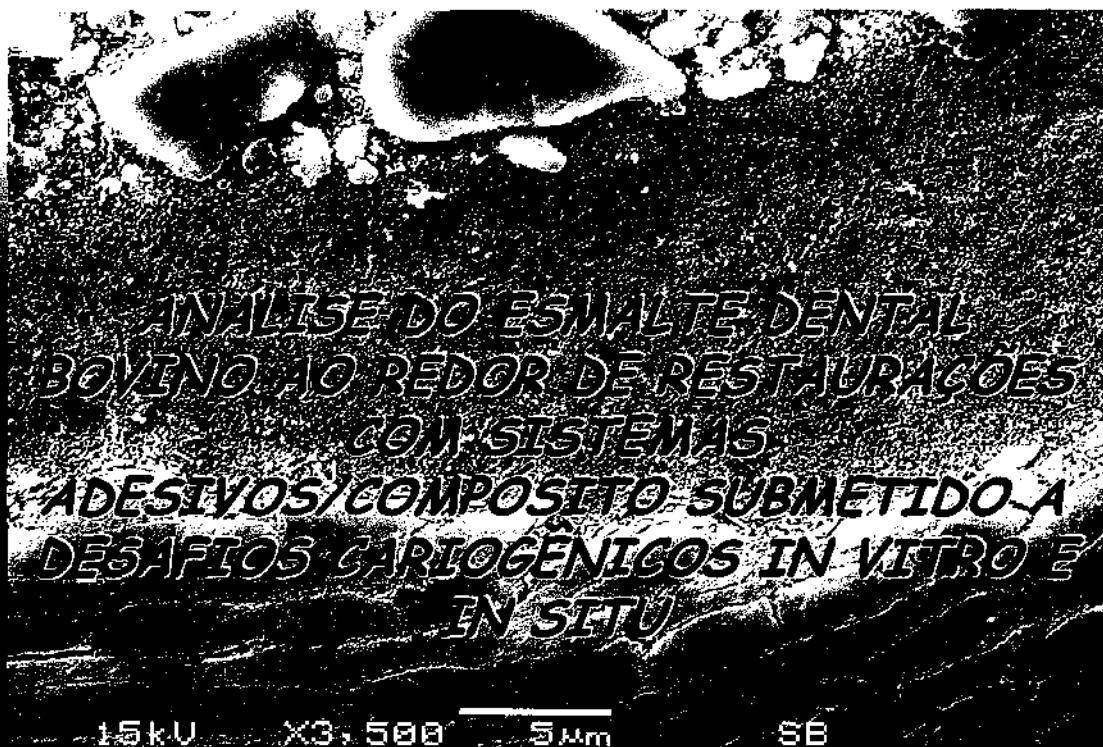


Cristiane Franco Pinto
Cirurgiã-dentista



Dissertação apresentada à Faculdade de
Odontologia de Piracicaba, da Universidade
Estadual de Campinas, para obtenção do título de
Mestre em Clínica Odontológica- Área
de Dentística.

PIRACICABA

2006

i

BIBLIOTECA CENTRAL
DESENVOLVIMENTO
COLEÇÃO
UNICAMP

Cristiane Franco Pinto
Cirurgiã-dentista

**ANÁLISE DO ESMALTE DENTAL BOVINO
AO REDOR DE RESTAURAÇÕES COM
SISTEMAS ADESIVOS/COMPÓSITO
SUBMETIDO A DESAFIOS
CARIOGÊNICOS IN VITRO E IN SITU**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Odontologia de Piracicaba, da Universidade
Estadual de Campinas, para obtenção do título de
Mestre em Clínica Odontológica - Área
de Dentística.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Giannini
Banca Examinadora:
Prof. Dra. Josimeri Hebling Costa
Prof. Dr. Marcelo Giannini
Prof. Dr. Reginaldo Bruno Gonçalves

Este exemplar foi devidamente corrigido,
de acordo com a resolução CCPG 036/83.

CPG, 11 / 09 / 2006

Marcelo Giannini

Assinatura do Orientador

PIRACICABA

2006

III



UNIDADE	BC
ABR. CHAMADA	TI UNICAMP
	P658a
V	EX
TOMBO BC/	70084
PROC./	6-123-06
C	☐ D ☒ K
PREÇO	11.00
DATA	25-9-06

BIB ID: 387214

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
Bibliotecário: Marilene Girello – CRB-8ª. / 6159

P658a Pinto, Cristiane Franco.
Análise do esmalte dental bovino ao redor de restaurações com sistemas adesivos/compósito submetido a desafios cariogênicos *in vitro* e *in situ*. / Cristiane Franco Pinto. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2006.

Orientador: Marcelo Giannini.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Fluoretos. 2. Brometos. 3. Cáries dentárias. 4. Esmalte dentário. I. Giannini, Marcelo. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

(mg/fop)

Título em Inglês: Analysis of bovine dental enamel around restorations with adhesives systems/composites submitted to a cariogenic challenge *in vitro* and *in situ*

Palavras-chave em Inglês (Keywords): 1. Fluorides. 2. Bromides. 3. Dental caries. 4. Dental enamel

Área de Concentração: Dentística

Titulação: Mestre em Clínica Odontológica

Banca Examinadora: Josimeri Hebling Costa, Marcelo Giannini, Reginaldo Bruno Gonçalves

Data da Defesa: 28-07-2006

Programa de Pós-Graduação: Clínica Odontológica



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de MESTRADO, em sessão pública realizada em 28 de Julho de 2006, considerou a candidata CRISTIANE FRANCO PINTO aprovada.

Marcelo Gianni

PROF. DR. MARCELO GIANNINI

Josimere Hebling

PROFa. DRa. JOSIMERE HEBLING COSTA

Reginaldo Bruno Gonçalves

PROF. DR. REGINALDO BRUNO GONCALVES

Dedicatória ... à Dêus

A fê é capaz de mover montanhas... eu sempre acreditei no dom superior... e é a Ele que dedico

todo meu trabalho de todo coração...

Obrigada meu Deus, por me carregar no colo todas as vezes que precisei...

Dedico também...

*Aos meus pais que com tanto carinho e amor não mediram esforços para eu estar aqui. Mesmo
diante de tantas dificuldades me fizeram prosseguir e vencer...Obrigada de todo coração... eu amo muito*

vocês...

Agradeço de coração...

À minha mãezinha, Sueli, que com seu jeito carinhoso e guerreiro, me ensinou a lutar por todos os meus sonhos.

Ao meu paizão, Nico, pelo apoio incondicional aos meus projetos e por nunca deixar que nada me faltasse mesmo nos momentos mais difíceis.

Ao meu querido irmão, Adriano, que apesar de todas as dificuldades, sei que sempre torceu pelo meu sucesso, e sempre esteve orgulhoso de minhas conquistas.

À minha cunhada Cris, que sempre me deu apoio e forças para continuar.

Aos meus avós, Angelina e Olívio, e minha avó Cida porque são a base de tudo que eu sou.... além de serem as pessoas que mais se orgulham de mim!

Ao meu avô Sebastião que embora não esteja mais entre nós, está em meu coração dando força nessa minha batalha.

Agradeço com muito carinho...à uma pessoa muito especial

Ao meu noivo Eduardo, que em todos os momentos esteve ao meu lado, não deixando desistir nunca. Todos os momentos de sofrimentos e alegrias estão guardados em nossos corações...Tenho muito orgulho pois você é uma pessoa muito corajosa e muito correta em tudo que faz. Te admiro cada vez mais pelo seu entusiasmo e esforço, por isso você é para mim um exemplo de como alcançar o que se quer ter.

Quero apenas te agradecer e dizer que te amo infinitamente...

Agradecimento especial..

Ao Prof. Dr. Marcelo Giannini por ter me dado a oportunidade de trabalharmos juntos desde a iniciação científica. O Sr. é exemplo de responsabilidade e dignidade em tudo que faz. Seu exemplo fez com que ser docente fosse meu objetivo maior. Obrigada por todo meu engrandecimento pessoal e profissional.

Agradecimentos

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba- UNICAMP, nas pessoas do seu Diretor, Prof. Dr. Thales Rocha de Mattos Filho, e do Diretor Associado Prof. Dr. Mario Fernando de Góes, pela oportunidade de realização deste Curso de pós-graduação.

Ao Prof. Dr. Pedro Luís Rosalen, Coordenador do Curso de Pós-graduação da FOP-UNICAMP e ao Prof. Dr. Roger Willian Fernandes Moreira, Coordenador do Curso de Pós-graduação em Clínica Odontológica, pela atenção prestada.

À Fundação de Amparo à pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão de Bolsa Mestrado (Processo # 04/05317-3).

À Profa. Dra. Gláucia Maria Bovi Ambrosano, pelas análises estatísticas, por toda sua ajuda e pela atenção em todas as horas nas quais precisei. Obrigada pela oportunidade de aprender com você.

À Adriana Franco Paes Leme, por todas as ajudas prestadas. Obrigada por me mostrar que trabalho e dedicação tornam as nossas vitórias ainda mais especiais.

Ao Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS) pela utilização Laboratório de Microfabricação (Processo # 3252). Agradeço aos responsáveis pelo Laboratório de Microfabricação Dr. Ângelo Luís Gobbi e Maria Helena, pela disposição em me ajudar.

À Profa. Dra. Cinthia Pereira Machado Tabchoury, pela utilização do laboratório de Bioquímica Oral para realização das análises em microscopia de luz polarizada.

Ao Laboratório de Melhoramento de Plantas do CENA-USP, e a funcionária Inês Franco Possignolo, pelo auxílio na irradiação das amostras.

Ao centro de Microscopia Eletrônica de Varredura da FOP-UNICAMP e aos funcionários Adriano e Eliene, por toda a paciência que tiveram em me ensinar e me auxiliarem nas análises microscópicas.

À todos os meus voluntários, sem os quais esse trabalho não se concretizaria.

Aos Professores da minha banca de qualificação, Profa. Dra. Giselle Maria Marchi Baron, Profa. Dra. Regina Maria Pupin Rontani e Prof. Dr. Pedro Duarte Novaes, pelas sugestões que contribuíram com o enriquecimento deste trabalho.

Aos Professores da área de Dentística, Prof. Dr. Flávio H. B. Aguiar, Profa. Dra. Giselle Maria Marchi Baron, Prof. Dr. José Roberto Lovadino, Prof. Dr. Luís Alexandre Maffei Sartini Paulillo, Prof. Dr. Luiz André Freire Pimenta e Prof. Dr. Luís Roberto Marcondes Martins, pelos ensinamentos e aprimoramento do meu conhecimento em Dentística.

Aos funcionários da Área de Dentística, Paula Crazy, Fernandinha, Pedro Justino e Mônica, pela ajuda e companhia indispensáveis em todos esses anos juntos.

Aos meus queridos amigos e irmãos que conquistei no Mestrado, Cecília e Rodrigo. Vocês ficarão para sempre em meu coração. Obrigada por tudo!

Às minhas queridas amigas do Minter Larissa, Lorena e Mônica. Foi muito gratificante conhecer e receber pessoas especiais como vocês.

Agradeço também aos meus novos colegas de mestrado, Cláudia, Fernanda, André Mineiro, Léo e Thiago. E aos veteranos....do doutorado, Ana Paula, César, Déa, Larissa, Van Ruiva, Van Loira, Vanessinha, Ricardinho, Teca, Marcelo Santista, André carioca.

À Débora pelas ajudas e palavras de apoio, por ter me proporcionado uma verdadeira amizade, que esse laço continue durante todo nosso convívio e que nossa amizade continue para sempre.

Aos meus queridos orientadores de iniciação científica, Rogério e Vanessinha, por todas as experiências e ensinamentos que me passaram, muito obrigada, foi uma satisfação trabalhar com vocês.

À minhas queridas amigas Patty, Nana e Ale que sempre se preocuparam comigo. A minha amiga Pri que mesmo distante acompanhou meu crescimento. Vocês são muito especiais para mim.

À minha querida vózinha adotiva D. Luiza, por todo apoio e orgulho que a senhora sempre teve de mim.

À minha madrinha Luzia e ao meu padrinho Henrique, pelos ensinamentos religiosos e pessoais, mesmo distantes sei que vocês oram muito por mim.

Aos meus queridos amigos de graduação, dos quais guardo ótimas lembranças, Luís Henrique, Lília, Lu Pupo, Paola e Regina, por todos os momentos de quais passamos juntos.

A todos que direta ou indiretamente me ajudaram na conclusão deste trabalho, muito obrigada de coração...

“Depois de algum tempo você aprende a diferença, a sutil diferença entre dar a mão e acorrentar a alma. E você aprende que amar não significa apoiar-se, e que companhia nem sempre significa segurança. Descobre que leva-se anos para construir confiança e apenas segundos para destruí-la, e que você pode fazer coisas em um instante, das quais se arrependerá pelo resto da vida. Aprende que verdadeiras amizades continuam mesmo a longas distâncias. E que o que importa não é o que você tem na vida mas quem você tem na vida. E que bons amigos são a família que nos permitiram escolher. .. Aprende que as circunstâncias e os ambientes têm influência sobre nós, mas nós somos responsáveis por nós mesmos. Começa a aprender que não se deve comparar com os outros, mas com o melhor que se pode ser. Descobre que se leva muito tempo para se tornar a pessoa que quer ser, e que o tempo é curto. Aprende que, ou você controla seus atos ou eles o controlarão, e que ser flexível não significa ser fraco ou não ter personalidade, pois não importa quão delicada e frágil seja uma situação, sempre existem dois lados. Aprende que heróis são pessoas que fizeram o que era necessário fazer, enfrentando as conseqüências. Aprende que paciência requer muita prática. Descobre que algumas vezes, a pessoa que você espera que o chute quando você cai, é uma das poucas que o ajudam a levantar-se. Aprende que a maturidade tem mais a ver com os tipos de experiência que se teve e o que você aprendeu com elas, do que com quantos aniversários você celebrou. Aprende que há mais dos seus pais em você do que você supunha. Aprende que nunca se deve dizer a uma criança que sonhos são bobagens, poucas coisas são tão humilhantes e seria uma tragédia que elas acreditassem nisso. Aprende que o tempo não é algo que se possa voltar atrás. Portanto, plante seu jardim e decore sua alma, ao invés de esperar que alguém lhe traga flores. E você aprende que realmente pode suportar...que realmente é forte, e que pode ir muito mais longe depois de pensar que não se pode mais. E que realmente a vida tem valor e que você tem valor diante da vida!”

William Shakespeare

Sumário

Resumo	1
Abstract	3
1 Introdução	5
2 Revisão de Literatura	9
2.1 Esmalte dental	9
2.1.1 Composição	9
2.1.2 Estrutura morfológica	10
2.1.3 Propriedades físicas	12
2.2 Adesão ao esmalte dental	13
2.2.1 Histórico dos sistemas adesivos	13
2.2.2 Mecanismo de união ao esmalte dental	14
2.2.3 Sistemas adesivos convencionais	15
2.2.4 Sistemas adesivos autocondicionantes	17
2.3 Cárie dental	19
2.3.1 Declínio e polarização da doença cárie	20
2.4 Materiais restauradores e seu poder cariostático	21
2.5 Ciclagem de pH – estudos <i>in vitro</i>	22
2.6 Desafios cariogênicos – estudos <i>in situ</i>	24
3 Proposição	27
4 Materiais e Métodos	29
4.1 Estudo <i>in situ</i>	29
4.1.1 Delineamento do estudo	29
4.1.2 Obtenção e secção das amostras	29
4.1.3 Preparos cavitários	30
4.1.4 Esterilização dos fragmentos dentais	31
4.1.5 Restaurações e grupos experimentais	32
4.1.6 Fase clínica	35
4.1.6.1 Preparo do dispositivo intra-oral palatino	36
4.1.6.2 Fase experimental	38
4.1.7 Análise através da Microdureza Knoop	38

4.1.8 Análise em Microscopia de Luz Polarizada (MLP)	40
4.1.9 Análise em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	41
4.1.10 Análise estatística	43
4.2 Estudo <i>in vitro</i>	44
4.2.1 Delineamento do estudo	44
4.2.2 Preparo das amostras e restaurações	45
4.2.3 Restaurações e grupos experimentais	45
4.2.4 Ciclagem de pH	48
4.2.5 Análise através de Microdureza Knoop	49
4.2.6 Análise em Microscopia de Luz Polarizada (MLP)	50
4.2.7 Análise em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	50
4.2.8 Análise estatística	50
5 Resultados	53
5.1 Estudo <i>in situ</i>	53
5.1.1 Porcentagem de Volume Mineral	53
5.1.2 Microscopia de Luz polarizada	55
5.1.3 Microscopia Eletrônica de Varredura	57
5.2 Estudo <i>in vitro</i>	61
5.2.1 Porcentagem de Volume Mineral	61
5.2.2 Microscopia de Luz polarizada	62
5.2.3 Microscopia Eletrônica de Varredura	66
6 Discussão	75
7 Conclusão	83
Referências	85
Anexos	109

Resumo

Componentes anticariogênicos e antibacterianos como fluoreto (F^-) e brometo (Br^-) têm sido introduzidos nos sistemas adesivos na tentativa de melhorar a longevidade clínica das restaurações. No entanto, estes componentes não foram avaliados frente a altos desafios cariogênicos. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito destes novos adesivos no esmalte dental em duas condições de desafio cariogênico. Estudo *in situ*: Estudo cruzado e cego foi realizado em 2 fases de 14 dias. Voluntários ($n=14$) utilizaram dispositivos intra-orais contendo 4 blocos de esmalte bovino com preparos cavitários e restaurações com sistemas adesivos autocondicionantes/resina composta: 1) Clearfil SE Bond (SE) ou 2) Clearfil Protect Bond (PB/com F^- e Br^-)/Clearfil AP-X. Os voluntários gotejaram solução de sacarose a 20% sobre os blocos de esmalte, 8 vezes ao dia e usaram dentífrício fluoretado 3 vezes ao dia. Estudo *in vitro*: Dez blocos de esmalte dental bovino com preparos cavitários e restaurações com os sistemas adesivos/resina composta: 1) SE; PB; Single Bond (SB) e One-up Bond F (OF/ com F^-)/Clearfil AP-X. As amostras foram submetidas à ciclagem de pH por 8 dias, simulando desenvolvimento de cárie. Após os desafios cariogênicos, as amostras foram analisadas através de microdureza Knoop (MHN) (transformado em % volume mineral), microscopia de luz polarizada (MLP) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). A análise estatística foi realizada através de ANOVA em parcela subdividida e teste de Tukey para a % volume mineral (*in situ* e *in vitro*); teste t de Student para MLP *in situ*; ANOVA one-way e teste de Tukey para MLP *in vitro* ($p<0,05$). Os resultados da % volume mineral *in situ* mostraram uma menor perda mineral para o adesivo PB quando comparado ao SE na primeira profundidade (20 μm) em todas as distâncias das restaurações. Não houve diferença estatística significativa para a análise em MLP, porém as imagens mostraram diferentes padrões de formação da lesão de cárie. As MEV mostraram que o esmalte adjacente ao adesivo SE apresentou maior desmineralização interprismática

quando comparado ao PB, porém a morfologia da interface de união apresentou um padrão semelhante. Para o estudo *in vitro*, não houve diferença estatística significativa para a % volume mineral, mas a MLP mostrou uma menor extensão da lesão de cárie para o esmalte adjacente ao adesivo PB. As imagens de MEV mostraram menor desmineralização interprismática para o esmalte restaurado com o adesivo PB. Os resultados mostraram que o adesivo PB promoveu menor desmineralização do esmalte adjacente à restauração o qual foi submetido a alto desafio cariogênico, sugerindo ter potencial para o controle de desenvolvimento de lesões de cárie adjacentes à restauração.

Abstract

Anticariogenic and antibacterial components such as fluoride (F^-) and bromide (Br^-) have been introduced to adhesive systems to improve the clinical longevity. However, these components were not evaluated in high cariogenic challenge. Thus, the aim of this study was to evaluate the effect these adhesive systems on enamel in two conditions of cariogenic challenge. Study *in situ*: A crossover and blind study was performed in two phases of 14 days. Volunteers ($n=14$) wore intra-oral appliance containing four bovine enamel blocks with cavity preparations and restorations with self-etching primers/composite resin: (1) Clearfil SE Bond (SE) or (2) Clearfil Protect Bond (PB/ with F^- and Br^-)/Clearfil AP-X. The volunteers dropped 20% sucrose solution 8x/day and used fluoridated dentifrice 3x/day. Study *in vitro*: ten bovine enamel blocks with cavity preparations and restorations with adhesives systems/composite resin: 1) SE; 2) PB; Single Bond (SB) and One-up Bond F (OF/ with F^-)/Clearfil AP-X. The specimens were submitted to an 8 days pH-cycling regimen simulating caries development. After cariogenic challenge enamel was evaluated to detect caries lesions to cross-sectional microhardness (transformed in volume % mineral), polarized light microscopy (PLM) and scanning electronic microscopy (SEM). The statistical analysis were made through split-plot ANOVA and Tukey test to volume % mineral (*in situ* and *in vitro*), Student t test to PLM *in situ* ; one-way ANOVA and Tukey test to PLM *in vitro* ($p<0,05$). The results of *in situ* volume % mineral show the lower mineral loss than adhesive PB when compared with SE in first depth (20 μ m) in all distances of restoration. However, the PLM analysis did not show statistical differences, but the SEM images showed different caries lesion development. The SEM was observed higher interprismatic enamel demineralization in blocks restored with adhesive SE than PB and the resin-enamel interfaces showed similar morphology. To the *in vitro* study, the volume % mineral did not shows statistical difference; however PLM showed lower caries lesion extension to adhesive PB.

The SEM images showed lower demineralization to interprismatic enamel restored with adhesive PB. The results showed that adhesive PB promoted lower enamel demineralization when submitted to high cariogenic challenge, suggesting a potential to control caries lesion development around restorations.

1 Introdução

Os materiais restauradores têm sido desenvolvidos para restabelecer a função e a estética das estruturas dentais perdidas ou acometidas por cárie, fraturas ou traumas. O estabelecimento de cárie recorrente ao redor de restaurações pode ocorrer em função do risco do indivíduo à doença e/ou falta de selamento marginal proporcionada pela restauração (Bauer & Henon, 1984; Ruyter, 1992). Sabe-se que o índice de cárie pode aumentar em populações industrializadas devido ao alto consumo de sacarose (Loesche, 1985; Burt, 1993; Sheiman, 1993, 2001) e que as cáries recorrentes têm sido uma das principais razões para o insucesso das restaurações adesivas (Kidd *et al.*, 1992).

Sistemas adesivos podem ser utilizados através da técnica do condicionamento ácido prévio ou pelo uso de sistemas denominados de autocondicionantes. Entretanto, pouco se sabe a respeito do efeito dos sistemas restauradores no controle da cárie dental. A falta ou a perda da adesão aos tecidos dentais produz os primeiros danos ao elemento dental restaurado, pois ocorre o comprometimento do selamento marginal da restauração. A partir da infiltração marginal, facilita-se o desenvolvimento de cárie recorrente, que pode ocorrer na superfície e/ou na parede interna da cavidade (Asmussen *et al.*, 1998). A união ao esmalte dental pela técnica do condicionamento com ácido fosfórico (30 a 40%) por 15 segundos tem sido descrita como efetiva e com alta longevidade. O ácido altera a superfície do esmalte (Gwinnett *et al.*, 1971; Silverstone *et al.*, 1975), aumentando a energia de superfície e permitindo que uma resina fluida (adesivo) possa infiltrar-se nas porosidades formadas (Gwinnett, 1967; Buonocore *et al.*, 1968).

Nos sistemas autocondicionantes, o *primer* funciona como condicionador dental, infiltrando-se ao mesmo tempo nas estruturas dentais. A habilidade dos sistemas adesivos que empregam *primers* autocondicionantes em promover união efetiva e duradoura ao esmalte dental tem sido um tópico controverso dentro da Odontologia Restauradora (Shimada *et al.*, 2003b). Tal

controvérsia tem sido atribuída a menor “agressividade” dos monômeros ácidos quando comparados ao ácido fosfórico. Apesar da menor “agressividade” dos sistemas adesivos autocondicionantes, alguns estudos têm demonstrado valores de resistência de união similares aos com prévio condicionamento ácido (Perdigão *et al.* 1997; Cardoso *et al.*, 2002; Ibarra *et al.*, 2002; Shimada *et al.* 2002b, 2003b;; Hashimoto *et al.*, 2003). Hanning *et al.* (2002) descreveram o mecanismo de união ao esmalte para os sistemas de união autocondicionantes e relataram que a interação entre o substrato e o adesivo ocorre no nível nanométrico.

Alguns sistemas adesivos apresentam fluoreto e, mais atualmente, brometo em sua composição. A introdução de fluoreto está relacionada com a importância desse componente durante os processos de des- e remineralização (Featherstone *et al.*, 1986). Segundo Çehreli *et al.* (2003), os adesivos autocondicionantes são capazes de produzir efeito antibacteriano *in vitro* em dentina. Outro estudo (Itota *et al.*, 2002) mostrou que a combinação de adesivos e materiais restauradores contendo fluoretos, podem ser utilizados para inibir cáries secundárias. Estudos *in vitro* (Nagamine, 1997; Ten Cate & Van Duimim, 1995) mostraram que materiais contendo fluoreto são efetivos para inibição de cárie secundária. Além disso, outras pesquisas mostraram que o fluoreto pode inibir o metabolismo de muitos microorganismos (Hamilton & Bowden, 1988), reduzindo o transporte de açúcar, a atividade glicolítica e tolerância ácida de muitas espécies Gram-Positivas (Marsh & Bradshaw, 1990).

O brometo foi inserido na molécula do monômero de um adesivo com a finalidade de atuar como componente antibacteriano, principalmente em bactérias causadoras da cárie dental, como *Streptococcus mutans* (Imazato *et al.*, 1994, 1998, 1999, 2001, 2003). Diante disso, é importante avaliar a atividade antibacteriana destes adesivos contendo brometo na presença de bactérias através de estudos *in situ*.

Como os elementos químicos fluoreto e brometo têm sido adicionados aos adesivos autocondicionantes, estudos avaliando a efetividade desses elementos diante de desafios cariogênicos são necessários para determinar se a

utilização destes materiais pode ser realizada com segurança, garantindo a eficácia clínica.

2 Revisão de literatura

2.1 Esmalte dental

2.1.1 Composição

As principais características do esmalte dental foram descritas entre 1940 e 1960, mostrando que este tecido apresenta características peculiares que o diferencia dos demais tecidos do corpo humano. O esmalte é o tecido mais duro e mineralizado do corpo humano (Gwinnett, 1992). Além disso, corresponde a uma substância que protege a coroa dentária, dando forma e contorno, e consistindo, principalmente, de material inorgânico (96%) e de pequena quantidade de substância orgânica e água (4%) (Sharawy & Yager, 1989). O principal componente inorgânico é a apatita, que pode se apresentar na forma de hidroxiapatita, fluorapatita e carbonatoapatita (Gwinnett, 1992).

A mineralização ou maturação do esmalte começa nos primeiros estágios da formação do tecido (Crabb, 1959). A partir de estruturas denominadas de centros de nucleação forma-se um material cristalino (Ronnholm, 1962). Este material cristalino é composto por cristais que apresentam dimensões microscópicas e são denominados de cristalitos (Frank & Sognnaes, 1960). Estes cristalitos são embebidos em uma matriz orgânica que compõem cerca de 1% em volume do esmalte maduro (Estoe, 1963). A matriz orgânica é composta em menos da metade de seu conteúdo, cujas unidades protéicas como a enamulina aparece em maior quantidade (Ten Cate, 1994).

O volume de material orgânico aumenta significativamente durante o processo de mineralização da coroa dentária. Os ameloblastos produzem uma grande quantidade de matriz orgânica nas primeiras fases de desenvolvimento. Com o processo de maturação do tecido, a matriz orgânica é gradativamente

substituída por material inorgânico (Gwinnett, 1992). Desta forma, no esmalte maturado as porções mais externas passam a apresentar um maior grau de mineralização em relação às porções mais internas (Crabb & Darling, 1960).

Dentre os constituintes orgânicos, a água é encontrada em maior quantidade (mais de 4% em volume). Aproximadamente 25% do volume de água está ligado aos cristalitos e é provavelmente associada à matriz orgânica (Carlstrom *et al.*, 1963).

2.1.2 Estrutura morfológica

As unidades formadoras do esmalte dentário são denominadas de prismas e seguem desde a junção amelo-dentinária até a superfície do dente. Quando submetidos a uma secção transversal, os prismas de esmalte se assemelham a um padrão denominado de buraco de fechadura (Meckel *et al.*, 1965). Os prismas são formados pela parte central denominada de “corpo” que medem em média 5 μm , e pela “cauda”, sendo que se estende do corpo à cauda, medindo, aproximadamente, 9 μm de comprimento (Meckel *et al.*, 1965).

Os prismas seguem um trajeto tortuoso nos dois terços internos do tecido do esmalte até alcançar um alinhamento paralelo no terço mais externo. Esta mudança mais ou menos regular na direção dos prismas seria uma adaptação funcional, minimizando o risco de fraturas durante o ato mastigatório. São formadas bandas claras e escuras quando na presença de luz visível, devido à disposição dos prismas e são conhecidas como bandas de Hunter-Schreger (Osborn, 1965; Gwinnett, 1992).

O esmalte dental possui uma camada de, aproximadamente, 30 μm sem prismas, ocorrendo em 70% dos dentes permanentes e em todos os decíduos, pois nem todos os prismas atingem a superfície do esmalte (Gwinnett, 1967). Esta camada aprismática encontra-se mais comumente em fóssulas,

fissuras e região cervical na dentição permanente, entretanto nos decíduos recobre toda a coroa (Ripa *et al.*, 1966).

Os cristalitos estão dispostos em um padrão tri-dimensional no interior de cada prisma de esmalte (Scott & Wyckoff, 1952; Lyon & Darling, 1957). A inclinação média dos cristalitos é de, aproximadamente, 18° relativos ao longo eixo do prisma, podendo variar entre 0°-70°. No limite entre os prismas adjacentes há uma diferença marcante na angulação dos cristalitos, que confere um aumento localizado de espaço e material orgânico na região periférica dos prismas referida como bainha do prisma (Gwinnett, 1966a, 1966b). Esta característica confere um aumento na permeabilidade (Poole *et al.*, 1963), e acredita-se que é nessa região que o processo carioso tem início (Gray & Francys, 1963).

Outra característica do tecido são as linhas incrementais de Retzius. Estas são formadas porque os ameloblastos em sua atividade funcional passam por períodos ativos de secreção e por períodos de repouso (Sharaway & Yaeger, 1989; Gwinnett, 1992).

As lamelas de esmalte representam estruturas importantes observadas no esmalte. Consistem de matéria orgânica, com poucos conteúdos minerais, que podem penetrar em dentina. O fenômeno conhecido como tufos de esmalte se origina no limite amelo-dentinário e avança dentro do esmalte. São formados por prismas de esmalte e substância interprismática hipocalcificados. Observam-se também, estruturas denominadas fusos de esmalte, que são extensões dos túbulos dentinários que passam através da junção amelo-dentinária para dentro do esmalte (Ten Cate, 1994; Sharaway & Yaeger, 1989; Gwinnett, 1992).

O esmalte dental bovino apresenta-se como um substrato adequado para substituir o esmalte dental humano, em pesquisas científicas, por possuir um padrão de orientação dos prismas de esmalte semelhante ao esmalte humano (Reis *et al.*, 2004).

2.1.3 Propriedades Físicas

A composição e estrutura do esmalte conferem propriedades físicas peculiares a este tecido. Devido ao alto conteúdo inorgânico, a dureza do esmalte, expressa em relação à deformação, varia entre 200 a 500 Knoop, tratando-se, portanto, de um tecido extremamente duro. Essa variação pode ser atribuída aos diferentes planos do esmalte utilizados nos testes de dureza (Cadwell *et al.*, 1957).

O esmalte apresenta um alto módulo de elasticidade e uma resistência à tração relativamente baixa fazendo com que ele apresente características de friabilidade (Tyldesley, 1950). Como a dentina é um substrato resiliente, as forças mastigatórias são dissipadas por este tecido, o que faz com que ele proteja o esmalte. Sendo assim, os dentes são capazes de absorver e dissipar as forças mastigatórias e ter uma flutuação térmica durante toda a vida (Ten Cate, 1994; De Góes, 2001).

O esmalte dental funciona como uma membrana semipermeável (Darling *et al.*, 1961), permitindo a passagem de água e fluídos bucais, mas impedindo a passagem de moléculas de alto peso molecular (Poole *et al.* 1963). Por possuir um alto conteúdo inorgânico, o esmalte possui translucidez. Na região cervical, possui menor espessura, sendo a coloração da dentina mais evidente, mostrando-se branco-amarelado. Nas regiões de maior espessura possui coloração branco-acinzentada. Nas áreas incisais, tem tonalidade azulada devido à dupla camada de esmalte. Alterações durante o processo de desenvolvimento e maturação do esmalte ou ataques cariosos podem produzir alterações localizadas da opacidade do esmalte, resultando em lesões de cor branca (Sharaway & Yaeger, 1989; Gwinnett, 1992).

2.2 Adesão ao esmalte dental

A literatura mostra que a união ao esmalte é um procedimento consolidado e clinicamente estável (Nakabayashi & Pashley, 1998; Kugel & Ferrari, 2000), ao contrário da dentina, que por ser substrato complexo devido a sua estrutura heterogênea, dificulta sua adesão. Portanto, o processo de união vem se aprimorando principalmente para tentar melhorar a qualidade da adesão à dentina, sendo fundamental o conhecimento da evolução da adesão à dentina para o entendimento do mecanismo de ação sobre o esmalte.

2.2.1 Histórico dos sistemas adesivos

O químico Oscar Hagger, foi o pioneiro no desenvolvimento de um ácido glicerofosfórico dimetacrilato que se aderiria à dentina (Hagger, 1951, 1952). Clinicamente, foi aplicado pelos pesquisadores Kramer e McLean (1952). Os autores relataram a formação de uma camada com alguns micrômetros de espessura identificada com o auxílio de corantes histológicos, somente na interface entre resina e a dentina.

Devido ao sucesso obtido na adesão ao esmalte condicionado (Buonocore *et al.*, 1955), tentou-se o mesmo procedimento em dentina (Buonocore *et al.* 1956), não obtendo os mesmos resultados. Isto ocorreu devido às resinas da época apresentarem pobres características de molhamento da superfície. Portanto, os monômeros eram aplicados diretamente sobre a lama dentinária, resultando em baixos valores de resistência de união (5 MPa). Diante deste fato, ácidos fosfatados de ésteres de metacrilato foram desenvolvidos na tentativa de melhorar a união à dentina, marcando a evolução dos sistemas adesivos dentinários. Estudos mostraram que seria necessária a modificação ou remoção total da lama dentinária (Tao *et al.*, 1988; Watanabe *et al.*, 1990; Watanabe & Nakabayashi, 1993; Toida *et al.*, 1995).

Pashley *et al.* (1988) mostraram que a lama dentinária é lentamente dissolvida nos fluidos bucais e rapidamente em meio ácido. Então, em 1979, Fusayama *et al.* sugeriram o uso do ácido fosfórico condicionando, simultaneamente, esmalte e dentina, removendo a lama dentinária, ficando conhecida como “técnica do condicionamento ácido total”.

Este novo conceito de adesão levou, aproximadamente, 10 anos para ser aceito (Erickson 1989, Van Meerbeek *et al.*, 1992; Tay *et al.* 1994 a, b; 1996, a, b, c). Nakabayashi *et al.*, em 1982, descreveu o primeiro sistema adesivo com sucesso em dentina através da técnica de condicionamento ácido total. Utilizou a resina 4-META/metilmetacrilat-tri-*n*-butil borano (MMA-TBB) e cloreto férrico a 3% em ácido cítrico a 10% (solução 10:3) como condicionador do esmalte e dentina. Além de remover a lama dentinária, este procedimento condicionava o tecido dentinário em cerca de 5 µm de profundidade. Verificou-se que os monômeros resinosos podiam penetrar em profundidade na dentina desmineralizada e polimerizar em volta das fibrilas colágenas, formando a estrutura denominada “camada híbrida”. Esta camada foi descrita como um selador da dentina prevenindo a hipersensibilidade e cáries secundárias (Nakabayashi *et al.*, 1991).

2.2.2 Mecanismo de união ao esmalte dental

Gwinnett e Buonocore (1965) foram os primeiros a descrever a união ao esmalte, afirmando que ocorria a penetração e polimerização dos monômeros resinosos entre espaços dos cristalitos de hidroxiapatita criados pelo ataque ácido.

Retief *et al.* (1976) mostraram que na superfície do esmalte não condicionada não ocorria a infiltração dos monômeros, ao contrário das condicionadas. A união ao esmalte também está relacionada às características dos monômeros resinosos como a viscosidade (Fan *et al.*, 1975). Ten Cate *et al.* (1977) mostraram que monômeros de baixa viscosidade apresentavam uma

infiltração tanto no esmalte intra-prismático quanto no inter-prismático, já os de alta viscosidade apenas atingiam o esmalte inter-prismático.

O mecanismo pelo qual os monômeros interagem com o substrato do esmalte dental ocorre através de uma seqüência de fenômenos relacionados entre si. Este processo inicia-se com o condicionamento ácido do esmalte, promovendo um aumento dos espaços inter e intra-prismáticos proporcionando a infiltração dos monômeros resinosos (Silverstone, 1975). A lavagem com água removendo o ácido e seus subprodutos faz com que ocorra um acréscimo de energia de superfície do esmalte. Isto resulta do processo de dissolução seletivo dos prismas do esmalte, aumentando a área de superfície do esmalte e, conseqüentemente, sua energia livre. Contribui então, para a quebra da tensão superficial do líquido monomérico e a formação de um menor ângulo de contato com a superfície do esmalte, resultando em um melhor umedecimento deste substrato (Jendresen *et al.*, 1981). Após a aplicação do adesivo, os monômeros são prontamente absorvidos por capilaridade para o interior das micro-porosidades criadas pelo ataque ácido. Os cristais de hidroxiapatita são envolvidos por estes monômeros e, através de um processo de polimerização *in situ*, forma-se uma zona híbrida, conhecida como “camada híbrida” (Gwinnett & Matsui, 1967; Silverstone *et al.*, 1975, Kanemura *et al.*, 1999; Shinci *et al.*, 2000; Shimada *et al.*, 2002 a, b; Shimada & Tagami, 2003). A principal forma de união do esmalte aos materiais restauradores é através dessas retenções micro-mecânicas (Retief, 1978).

2.2.3 Sistemas adesivos convencionais

Segundo todas as propriedades e mecanismos de união ao esmalte, já descritos anteriormente, a melhor alternativa para a adesão em esmalte seria com adesivos contendo monômeros hidrófobos de alto peso molecular, sem aditivos como solventes ou água. Mas clinicamente isto não é possível, já que temos que

levar em consideração a dentina. Portanto, os sistemas adesivos atuais têm apresentado características hidrófilas (Carvalho *et al.*, 2004).

Para a união dos sistemas adesivos convencionais a dentina deve estar úmida. Isso porque, durante o condicionamento ácido, a dentina peri- e inter-tubular é desmineralizada e as fibrilas colágenas são expostas (Pashley *et al.*, 1981,1993). Esta técnica é conhecida como técnica úmida de hibridização e está associada à técnica do condicionamento ácido total. Deve ser realizada para que não ocorra o colapso das fibrilas colágenas e, conseqüentemente, a falha da união (Nakabayashi & Pashley, 1998).

Portanto, a técnica úmida é preconizada tanto para adesão em esmalte quanto em dentina, devido ao processo descrito anteriormente e às características hidrófilas dos sistemas de união. A umidade deixada no esmalte não afeta adversamente a união a este tecido (Moll *et al.*, 2002), ao contrário, melhora sua compatibilidade com os atuais sistemas de união.

Diante disso, surgiram os sistemas atuais convencionais de união aos substratos, que utilizam a técnica de condicionamento ácido total. Podem apresentar dois ou três passos para a sua aplicação. Ambos sistemas utilizam um condicionamento prévio do substrato, geralmente ácido fosfórico a 30-40%. Após a lavagem e secagem dos substratos, no sistema de 3 passos aplica-se o *primer*, que é constituído por monômeros hidrófilos e um solvente orgânico (água, álcool ou acetona). Sendo que a dentina é responsável pela formação da camada híbrida para posterior infiltração dos monômeros hidrófobos. Em seguida, aplica-se o adesivo, constituído de monômeros hidrófobos, infiltrando-se no substrato, sendo responsável pela copolimerização com o material restaurador.

Nos sistemas simplificados, os componentes hidrófilos do *primer* e hidrófobos do adesivo estão balanceados quimicamente e reunidos em um único frasco. Ambos os sistemas convencionais de dois e três passos proporcionam adequada união ao esmalte (Van Meerbeek *et al.*, 2003).

2.2.4 Sistemas adesivos autocondicionantes

Para tentar minimizar a dificuldade em manter a dentina com uma umidade ideal, desenvolveu-se um sistema de união que não necessitava de condicionamento ácido do esmalte e dentina. Outra vantagem foi a técnica de aplicação dos sistemas adesivos melhorando as propriedades da união, pois evitaria assim, o colapso das fibrilas colágenas (Watanabe *et al.*, 1990 e Watanabe, 1992). Este novo sistema baseava-se em uma solução aquosa de Fenil-P a 20% em HEMA a 30% para adesão em esmalte e dentina, conhecida então, como sistema 20P-30H, mostrando como seria o processo de união à dentina coberta pela lama dentinária (Watanabe, 1992; Watanabe *et al.*, 1994; Toida *et al.*, 1995; Nakabayashi & Saimi, 1996).

Então, começou-se o desenvolvimento dos sistemas autocondicionantes até atingir o momento atual. Novos monômeros ácidos específicos foram formulados como, 4-MET, 4-metacrilóxi-etil tri-metílico; 10-MDP, 10-metacrilóxidecil di-hidrogênio fosfato, entre outros. Estes monômeros são derivados de ácidos carboxílicos e ésteres de ácido fosf, capazes de desmineralizar e infiltrar os substratos ao mesmo tempo. Destas formulações surgiram os adesivos autocondicionantes utilizados recentemente, que podem ser classificados de acordo com o número de passos operatórios, de dois passos ou de passo único. Podem também ser classificados de acordo com seu potencial de condicionamento ácido, de acordo com os grupamentos carboxílicos ou fosfato incorporados ao monômero (Van Meerbeek *et al.*, 2001), podendo ser de agressividade alta ou moderada (Pashley & Tay, 2001; Tay & Pashley, 2001; Van Meerbeek *et al.*, 2003).

Os sistemas autocondicionantes de dois passos contêm em um frasco monômeros ácidos ou derivados, monômeros hidrófilos e água (*primer* ácido), em outro frasco, monômeros hidrófilos e hidrófobos. O condicionamento das estruturas ocorre pela ação do fosfato do monômero ácido e a co-polimerização

com a resina restauradora ocorre através do componente metacrilato (De Góes, 2001). Nessa técnica, a lavagem da superfície do substrato não é necessária, sendo que os produtos da desmineralização são incorporados e polimerizados com o agente de união (Perdigão *et al.*, 1997). Estes sistemas possuem uma agressividade moderada, seu pH está próximo a 2 (Van Meerbeek *et al.*, 2003), como exemplo temos os sistemas Clearfil SE Bond (Kuraray), Clearfil Protect Bond (Kuraray), entre outros.

Tentando simplificar ainda mais a técnica adesiva, surgiu no mercado, em 1999, o primeiro adesivo autocondicionante de passo único, cuja marca comercial era Prompt L-Pop (ESPE Dental AG, Seefeld, Germany). Os fabricantes uniram o *primer* ácido à resina adesiva resultando em uma fina camada do adesivo na união.

Estes adesivos apresentam-se em dois compartimentos, fazendo com que os fotoiniciadores, sensíveis à acidez, sejam incorporados à solução ácida apenas no momento da sua aplicação, evitando qualquer alteração antes de seu uso. Por possuírem pH menor ou igual a 1, são considerados de agressividade alta (Van Meerbeek *et al.*, 2003).

Alguns estudos têm mostrado que os adesivos autocondicionantes possuem uma menor capacidade de condicionamento em esmalte íntegro (Kanemura *et al.*, 1994; Urabe *et al.*, 1997; Pashley & Tay, 2001; Wang *et al.*, 2004). Portanto, os valores de resistência de união são menores (Kanemura *et al.*, 1999; Hara *et al.*, 1999; Perdigão & Geraldini, 2003) mostrando menor efetividade na prevenção da infiltração marginal (Summers, 1998; Heintze *et al.*, 1998). Alguns autores recomendam o desgaste do esmalte quando for utilizado o sistema autocondicionante (Barkmeier *et al.*, 1995; Kanemura *et al.*, 1999; Hanning *et al.*, 1999). Tay *et al.* (2004) afirmaram que a união aos sistemas autocondicionantes é melhorada quando a camada aprismática do esmalte é removida.

Outros estudos mostraram valores de resistência de união similares entre os adesivos convencionais e os autocondicionantes (Hashimoto *et al.*, 2003; Inoue *et al.*, 2003; De Munck *et al.*, 2003; Lopes *et al.*, 2004).

Pashley & Tay (2001) mostraram através de um estudo, a formação de uma “camada híbrida verdadeira”, medindo cerca de 100 nm de espessura para os adesivos autocondicionantes de dois passos. A camada híbrida dos adesivos condicionantes de dois passos apresenta prolongamentos de ordem nanométrica formando *microtags* (Hashimoto *et al.*, 2003; Inoue *et al.*, 2003; Van Meerbeek *et al.*, 2003).

Para os adesivos de frasco único ou “todos em um”, estudos mostram um padrão de condicionamento ácido similar àquele obtido com o ácido fosfórico (Breshi *et al.*, 1999; Pashley & Tay, 2001; Van Meerbeek *et al.*, 2003). A camada híbrida formada é morfologicamente semelhante às formadas pelos sistemas convencionais (Van Meerbeek *et al.*, 2003), medindo cerca de 1 a 2 µm de espessura, com *microtags* em toda a interface (Inoue *et al.*, 2003). Estudos mostram valores de resistência semelhantes aos dos sistemas convencionais (Miller, 2001; Pashley & Tay, 2001). Entretanto, outros estudos relatam que os valores de resistência de união produzidos por alguns sistemas adesivos autocondicionantes de passo único são inferiores em relação aos sistemas convencionais (De Munck *et al.*, 2003; Inoue *et al.*, 2003; Lopes *et al.*, 2004; Van Meerbeek *et al.*, 2003).

2.3 Cárie dental

A cárie dental, doença multifatorial (Marsh, 1995), tem seu desenvolvimento relacionado a três fatores primordiais: microbiota específica, dieta cariogênica e hospedeiro (Keys, 1962) em função do tempo. A cárie é uma doença infecciosa bacteriana causada por uma dieta rica em carboidratos, que permite o crescimento de uma microbiota e o aumento de pH e do potencial cariogênico, modificando as proporções de microrganismos acidogênicos e acidúricos (Van Houte, 1994). Estes microrganismos vão formar uma placa patogênica levando a perdas minerais do esmalte (Marsh, 1994). O desequilíbrio

entre os processos de desmineralização e remineralização no esmalte leva ao desenvolvimento de cárie (Clarkson & McKoughlin, 2000). O flúor tem sido considerado o maior responsável pela redução da prevalência de cárie dental através do controle da progressão das lesões de cárie, inibindo a desmineralização e ativando a remineralização do esmalte (Featherstone *et al.*, 1986; Clarkson *et al.*, 2000).

2.3.1 Declínio e polarização da doença cárie

A prevalência de cárie dental (nº de dentes com história pregressa de cárie), tem sido menor, particularmente em indivíduos jovens de países ocidentais (Downer, 1996; Marthaler *et al.*, 1996), incluindo o Brasil (Narvai *et al.* 1999; Marcenes *et al.*, 2001).

Essa redução é justificada pela disponibilidade de flúor em águas de abastecimento e em dentifrícios (Glass, 1982; Bratthall *et al.*, 1996; Peterson *et al.*, 1996; Downer, 1996). Em acréscimo, estão as medidas preventivas e educativas através dos serviços de saúde (FDI/ OMS, 1985; Downer, 1996), as mudanças sócio-econômicas (Nadanovsky & Sheiham, 1995), da redução no consumo de açúcar (FDI/OMS, 1985; Downer, 1996), e do impacto das mudanças ocorridas nos critérios de diagnóstico de cárie (Marcenes *et al.*, 2001).

Alguns estudos mostram a prevalência de cárie alta em alguns indivíduos citando crianças, adolescentes e adultos jovens (Stamm *et al.*, 1991; Downer, 1994; Hausen, 1997). Esta prevalência polarizada da cárie, na qual grupos restritos passaram a concentrar a incidência da doença determinou a necessidade de adoção de medidas de prevenção e controle para tais grupos (White & Eakle, 2000).

2.4 Materiais restauradores e seu poder cariostático

Frente a essa necessidade, além de medidas de prevenção e sabendo-se que os procedimentos restauradores não são capazes de curar a doença cárie (Serra *et al.* 1999), surgem no mercado materiais restauradores que tentam aumentar o poder cariostático, minimizando os riscos da recorrência da doença (Imazato & Mc Cabe, 1994).

A partir da infiltração marginal, facilita-se o desenvolvimento de cárie recorrente, que pode ocorrer na superfície e/ou na parede interna da cavidade (Asmussen *et al.*, 1998).

Devido à alta frequência de cárie recorrentes após o tratamento restaurador, principalmente, em dentina (Mijör, 1996; Wilson *et al.*, 1997), muita atenção tem sido dada ao efeito terapêutico dos materiais restauradores diretos. A remineralização pela liberação de fluoretos é representativa, mas o efeito antibacteriano é uma propriedade importante porque a inativação da bactéria representa uma estratégia direta para erradicar a causa da cárie dental (Imazato, 2003).

Alguns sistemas adesivos apresentam fluoreto e, mais atualmente, brometo na forma de MDPB em sua composição que foi sugerido por Imazato e Mc Cabe (1994). A introdução do flúor está relacionada com a importância desse componente durante os processos de desmineralização e remineralização (Featherstone *et al.*, 1986). O radical brometo foi inserido na molécula do monômero do adesivo com a finalidade de atuar como componente antibacteriano (Imazato *et al.*, 1994, 1999, 2001, 2003). Este efeito antibacteriano no adesivo ocorre através da desinfecção da cavidade e da inativação da bactéria (Imazato, 2003).

Pesquisas mostraram que o fluoreto pode inibir o metabolismo de muitos microorganismos (Hamilton & Bowden, 1988), pode reduzir o transporte de

açúcar, a atividade glicolítica e tolerância ácida de muitas espécies Gram-Positivas (Marsh & Bradshaw, 1990).

Estes estudos podem ser realizados através de ciclagens de pH, com estudos laboratoriais *in vitro* ou tentando simular fatores mais próximos ao clínico através de estudos *in situ*.

2.5 Ciclagem de pH - estudos *in vitro*

As ciclagens de pH simulam as variações dinâmicas da saturação mineral e do pH, mimetizando a ocorrência de altos desafios cariogênicos em períodos cíclicos de desmineralização e remineralização (Ten Cate & Duijsters, 1982; Herkstroter *et al.*, 1991). Nesse modelo, lesões subsuperficiais com 100 µm a 250 µm de superfície do esmalte podem ser formadas em curtos períodos de tempo, como dias ou semanas, representando de 6 a 12 meses de progressão de lesão *in vivo* (White, 1995).

O substrato dental é exposto a volumes previamente calculados de solução ácida tamponada (Featherstone *et al.*, 1986; Shinkay *et al.*, 2001), contendo quantidades conhecidas de íons cálcio, fosfato e, algumas vezes, fluoreto (Vieira *et al.*, 2005), durante um período curto – geralmente 3 a 6 horas, a depender da proposta do estudo (Ten Cate & Duijsters, 1982; Featherstone *et al.*, 1986; White, 1995). A remoção dessa solução pode ser diária ou em intervalos de tempo de alguns dias. Após o período de desmineralização, o substrato dental é transferido para uma solução remineralizante por um período superior, simulando a ação da saliva natural (Ten Cate & Duijsters, 1982).

Como se sabe do potencial cariostático do flúor, as ciclagens de pH passam por diversas modificações para tentar comprovar sua eficácia. Para a análise do efeito do fluoreto na remineralização do esmalte, a adição de fluoreto nas soluções desmineralizante e remineralizante, pode proporcionar um modelo de ciclagem eficaz na simulação do desenvolvimento de cárie (Vieira *et al.*, 2005).

Em um estudo, Ten Cate & Duijsters (1982) observaram que a adição de fluoreto nas soluções utilizadas em ciclagem de pH era capaz de paralisar a lesão de cárie. Mas o flúor pode ser utilizado de outras maneiras durante ciclagens de pH. O dentífrício fluoretado pode determinar uma menor perda mineral (Hara *et al.*, 2002) e, quando associado a bochechos de fluoreto de sódio, obtém-se uma completa proteção contra a desmineralização (Featherstone *et al.*, 1986).

Os materiais restauradores também podem conter fluoretos em sua composição, como os materiais ionoméricos e, mais recentemente, introduzidos nos sistemas adesivos (Imazato & McCabe, 1994). Os cimentos de ionômero de vidro apresentam um grande potencial cariostático quando submetidos a ciclagens de pH (Serra & Cury, 1992; Serra, 1995; Hara *et al.*, 2002). Comparações entre cimentos de ionômero de vidro modificados por resina e cimentos de fosfato de zinco sob restaurações metálicas em esmalte e em dentina radicular no desenvolvimento de cárie secundárias não mostraram diferenças estatisticamente significantes (Shinkai *et al.*, 2001). A alta liberação de fluoreto nos materiais ionoméricos pode resultar em um aumento superficial na remineralização da dentina desmineralizada (Exterkate *et al.*, 2005). Para restaurações realizadas em resina composta durante ciclagens de pH não se observaram efeito cariostático (Serra & Cury, 1992; Serra, 1995; Hara *et al.*, 2002).

Os adesivos que contêm fluoretos em sua composição provocam um efeito adicional benéfico induzido pelo fluoreto, na inibição da desmineralização em casos de microinfiltração (Ithagarun *et al.*, 2001). Estes adesivos são efetivos na prevenção da lesão de parede, mas exibem pouca inibição da lesão (Itota *et al.*, 2002). Estudos comprovam a eficácia destes adesivos na liberação de fluoretos (Hara *et al.*, 2005; Itota *et al.*, 2002), porém eles não são capazes de inibir o desenvolvimento da cárie secundária como os cimentos de ionômero de vidro (Hara *et al.*, 2005). Portanto, somente se associados a materiais restauradores que liberam fluoreto seriam capazes de promover uma inibição da cárie secundária (Itota *et al.*, 2002).

2.6 Desafios cariogênicos - estudos *in situ*

O uso de modelos intra-orais para a compreensão do equilíbrio dinâmico da desmineralização e da remineralização entre os dentes e fluidos circundantes (Koulourides & Chien, 1992) e a eficácia dos fluoretos para a prevenção da cárie (Koulourides *et al.*, 1974, Dijkman, Schuthof & Arends, 1986; Benelli *et al.*, 1993) têm assumido grande importância da comunidade científica nos últimos anos. Os achados *in vitro* poderiam ser melhor verificados pelos experimentos intra-orais considerando a complexidade do meio oral, composição da saliva, fluidos orais e placa (Council of Dental Therapeutics, 1985, Ten Cate, 1992).

Modelos *in situ* ligam os estudos laboratoriais à experiência clínica e podem ser considerados mais realistas que modelos *in vitro* (Ten Cate, 1992). Quando materiais restauradores são inseridos no meio oral, suas superfícies são também expostas aos fluidos bucais, a mudanças de pH, ao biofilme dental, ao potencial abrasivo de comidas e bebidas e à abrasão por escovação. Portanto, os modelos de estudo *in situ* podem ser utilizados como um método pré-clínico para avaliar as propriedades físicas, químicas e mecânicas dos materiais antes de sua inserção na cavidade restauradora ou para analisar seus comportamentos quando inseridos na cavidade bucal (Basting *et al.*, 2002).

A presença de sacarose é fundamental para o desenvolvimento de cárie *in situ*. A solução de sacarose a 20% apresenta maior cariogenicidade quando comparada à solução de glicose a 10% associada à frutose a 10% gotejada oito vezes ao dia. Isso ocorre devido à maior concentração de polissacarídeos extracelulares, promovendo uma maior perda mineral e, conseqüentemente, uma maior extensão da lesão de cárie (Cury *et al.*, 2000).

As frequências de exposição aos carboidratos também interferem na determinação do desafio cariogênico. Quando blocos de esmalte são expostos à sacarose a 20% 8 vezes ao dia, promovem uma menor concentração de F, P e

Ca, 3 vezes mais glucanos insolúveis e uma maior perda mineral quando comparados à frequência de 2 a 4 vezes ao dia (Cury *et al.*, 1997; Cury *et al.*, 2001). Já a sacarose a 12%, quando associada ao tratamento com dentifrício fluoretado promove uma desmineralização na frequência de 7 vezes diárias, porém quando não está associada ao dentifrício fluoretado, a partir de 3 vezes ao dia já é capaz de promover uma desmineralização no substrato dental (Duggal *et al.*, 2001). A associação de 70 µg/mL de Fe à sacarose a 20% gotejada 8 vezes ao dia, por 14 dias, é capaz de reduzir a população de *Streptococcus mutans* no biofilme formado, diminuindo o potencial cariogênico da sacarose (Percharki *et al.*, 2005).

Reproduzindo as condições orais, o uso do dentifrício fluoretado é capaz de modificar o desafio cariogênico. De acordo com Cury (2001), a eficácia do flúor é maior quanto menor a perda mineral. Desse modo, a eficiência do dentifrício fluoretado assenta-se na regularidade de escovação, uma vez que o flúor interfere na dinâmica do processo de cárie. Assim, ao mesmo tempo em que a placa dental é desorganizada periodicamente, diminuindo seu potencial patogênico, o flúor ajuda a saliva a repor os minerais perdidos ao dente (Cury, 2001).

Essa associação promove uma menor perda mineral quando comparados ao uso de dentifrícios não fluoretados (Murrer *et al.*, 1994; Nobre dos Santos *et al.*, 1998). Além disso, outro método de aplicação do flúor como a aplicação tópica de flúor é capaz de diminuir a concentração de *Streptococcus mutans* e aumentar a concentração de fluoretos no biofilme dental. Quando associados à escovação com dentifrícios fluoretados reduz ainda mais a perda mineral do esmalte dental (Paes-Leme *et al.*, 2004).

O uso de materiais restauradores que liberam fluoreto, como os cimentos de ionômero de vidro, promove um aumento na concentração de flúor no biofilme dental (Benelli *et al.*, 1993; Tenuta *et al.*, 2005) e uma menor quantidade de *Streptococcus mutans* formados (Benelli *et al.*, 1993). Observa-se, também, uma maior concentração de fluoreto ao redor de restaurações com cimentos de

ionômero de vidro (Yamamoto *et al.*, 2005, Tenuta *et al.*, 2005). A dureza ao redor de materiais ionoméricos aumenta quando comparada às restaurações em resinas compostas, sugerindo apresentarem um potencial anticariogênico (Basting *et al.*, 2002; Tenuta *et al.*, 2005), promovendo uma menor perda mineral (Yamamoto *et al.*, 2005).

3 Proposição

Os objetivos dos estudos *in vitro* e *in situ* foram:

- Analisar a quantidade de mineral ao redor de sistemas adesivos/compósitos através de Microdureza Knoop, convertendo os dados para % de volume mineral;
- Analisar a extensão da lesão de cárie ao redor de sistemas adesivos/compósitos através de Microscopia de Luz Polarizada, de modo quantitativo e qualitativo;
- Analisar, em Microscopia Eletrônica de Varredura, as características morfológicas da lesão de cárie dental ao redor das restaurações com sistemas adesivos/compósitos e observar o padrão da interface de união formado pelos sistemas adesivos.

4 Materiais e Métodos

4.1 Estudo *in situ*

4.1.1 Delineamento do estudo

- Delineamento experimental: inteiramente ao acaso em esquema fatorial 10X2X3.
- Unidades experimentais: 14 voluntários.
- Fatores em estudo:
 1. Sistemas adesivos, em 2 níveis: Clearfil SE Bond e Clearfil Protect Bond;
 2. Profundidade em relação à superfície, em 10 níveis: 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180 e 200 μm ;
 3. Distância da restauração, em 3 níveis: 60, 160 e 260 μm .
- Variáveis de resposta:
 1. Microdureza Knoop, convertida para % volume mineral;
 2. Microscopia de Luz Polarizada;
 3. Análise da morfologia da lesão de cárie formada e padrão de interface sistema adesivo/compósito.

4.1.2 Obtenção e secção das amostras

Para este estudo foram utilizados 112 incisivos bovinos, obtidos junto ao frigorífico Angelelli (Santa Teresinha – Piracicaba, SP, Brasil). Os dentes bovinos foram limpos através de raspagem para remoção de restos teciduais com curetas periodontais Duflex (SS White, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e a profilaxia foi

feita com pedra-pomes (SS White, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e água utilizando escovas de Robinson (KG Soresen, Barueri, SP, Brasil) montadas em contra-ângulo em baixa rotação (Kavo do Brasil, Joinville, SC, Brasil). Após a limpeza foram armazenados à temperatura ambiente em timol 0,1% pH 7 (Hara *et al.*, 2004), durante 30 dias para desinfecção.

Para a obtenção das amostras (dimensões 6X6 mm / Figura 1 A e 1 B) foi utilizada cortadeira de precisão (Isomet 1000, Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, EUA), discos diamantados de alta concentração (11-4243, Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, EUA) e placas acrílicas para fixação dos dentes. Os cortes (Figura 1A) das faces vestibulares foram realizados sob refrigeração constante com água deionizada e destilada (dd) para evitar trincas no esmalte.

Para obtenção da amostra na altura desejada (4 mm) foi necessária a planificação da dentina em politriz (APL-4, Arotec, Cotia, SP, Brasil). As dimensões dos blocos foram avaliadas com paquímetro digital (Starret 727-6/150, Starret, São Paulo, SP, Brasil). Ao final, foram armazenadas em recipientes plásticos fechados, cobertos com papel absorvente (Klin Sport/Klabin, Fabricante de papel e celulose, Piracicaba, SP, Brasil) umedecido com água dd e conservados em geladeira a 4°C.

4.1.3 Preparos cavitários

Preparos cavitários com dimensões de 3X3 mm (diâmetro e profundidade/ Figura 1C) foram confeccionados com pontas diamantadas esféricas 3098 (KG Sorensen, Barueri, SP, Brasil) em alta rotação (Kavo do Brasil, Joinville, SC, Brasil) e com refrigeração em máquina padronizadora de preparo cavitário (Projetada e desenhada por Marcelo Nucci- FAPESP # 99/10339-6/ Figura 1D).

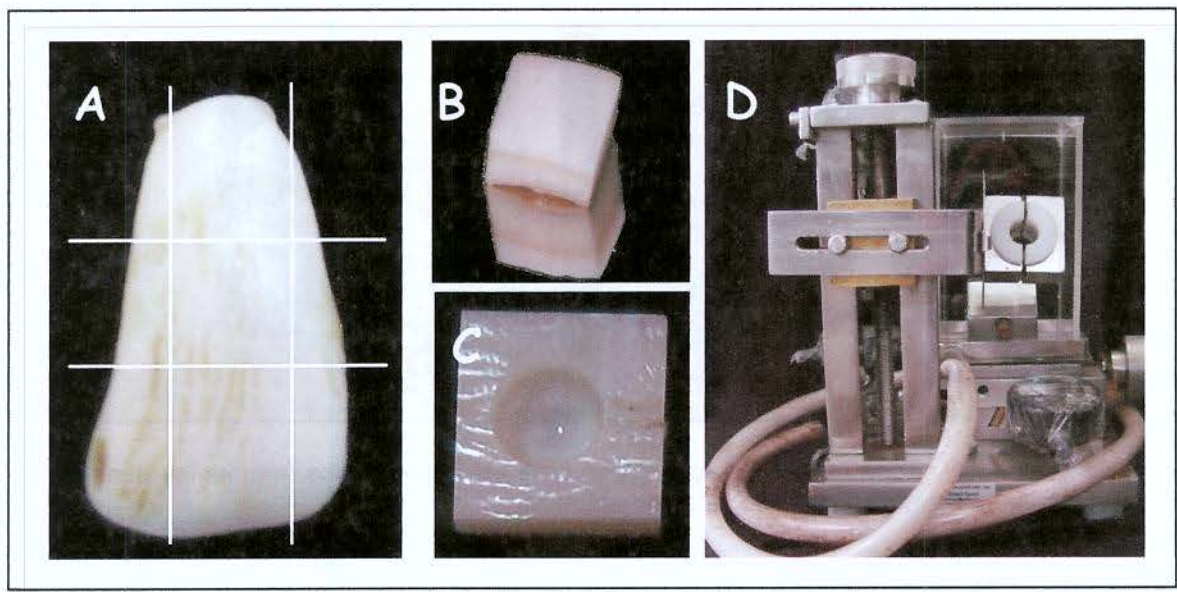


Figura 1- A- Dente bovino no qual foram realizados os cortes; B- Fragmento dental; C- Preparo cavitário (3X3 mm); D- Máquina padronizadora de preparos cavitários.

4.1.4 Esterilização dos fragmentos dentais

Os fragmentos dentais, após a realização dos preparos cavitários, foram levados ao Centro de Energia Nuclear da Agricultura (CENA – USP) para serem submetidos à radiação gama (GAMACELL 220 EXCEL, GC- 220E) (Parsell *et al.*, 1998; Edmunds *et al.*, 1988; Amaechi *et al.*, 1998) sob uma dose de 14,5 KGy (Rodrigues *et al.*, 2003) durante, aproximadamente, 15,4 horas e a temperatura da sala permaneceu constante (27°C) (Figura 2).

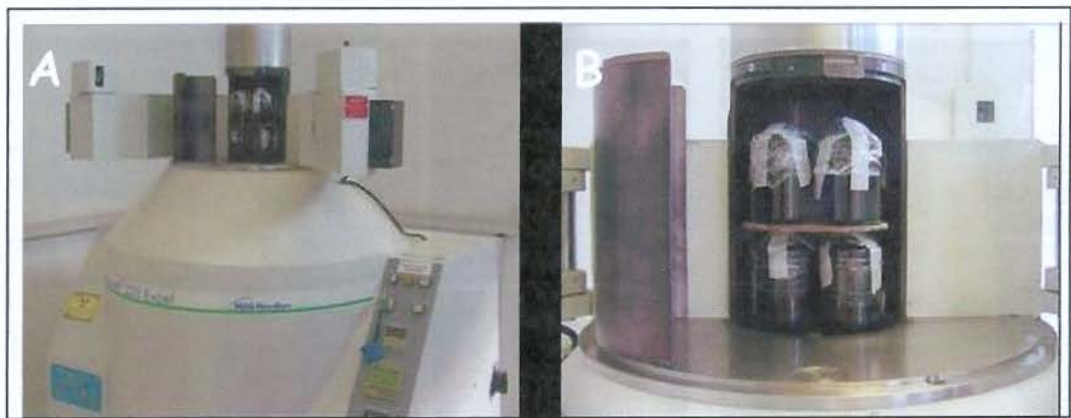


Figura 2- A - Aparelho de radiação gama para esterilização dos fragmentos dentais; B - Detalhe das amostras posicionadas no aparelho.

4.1.5 Restaurações e grupos experimentais

As cavidades foram lavadas com água e secadas com jatos de ar isento de óleo. As amostras foram aleatoriamente divididas em dois grupos experimentais. Para o grupo 1 foi utilizado o sistema adesivo Clearfil SE Bond (Kuraray Medical Inc., Kurashiki, Japão) e, para o grupo 2, foi utilizado Clearfil Protect Bond (Kuraray Medical Inc., Kurashiki, Japão) (Figura 3 A). Os sistemas adesivos foram aplicados de acordo com as instruções dos fabricantes (Tabela 1). A resina composta utilizada foi Clearfil AP-X (Kuraray Medical Inc., Kurashiki, Japão) (Figura 3 B), inserida na cavidade em dois incrementos horizontais de 1,5 mm com uma espátula de inserção nº 1 (Hu-Friedy, Chicago, IL, EUA) pela técnica incremental horizontal (Reis *et al.*, 2003; Santos *et al.*, 2004). Cada camada foi fotoativada por 40 segundos com intensidade de 550 mW/cm^2 (Curing Light XL 3000, 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA). A intensidade de luz foi verificada periodicamente com o radiômetro instalado no próprio aparelho. Em seguida, foi realizado o acabamento inicial com discos de óxido de alumínio com granulações mais grosseiras (Soflex Pop-on, 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA). Após 24 horas, foi realizado o acabamento final e o polimento das restaurações com discos seqüenciais impregnados com óxido de alumínio (Soflex Pop-on, 3M ESPE, St.

Paul, MN, EUA). Após o polimento, as margens das restaurações foram observadas em lupa estereoscópica (MEIJI 2000, MEIJI TECHNO, Tokyo, Japão) para verificar possíveis remanescentes ou excessos de material restaurador além da cavidade (Figura 4 I). As amostras foram restauradas 24 horas antes do início do experimento e permaneceram em 100% de umidade relativa (TFA, Haar-Synth-Hygro). Os sistemas adesivos selecionados para este estudo, composições, forma de aplicação, fabricante e lote estão descritos na Tabela 1 e ilustradas nas Figura 4 A a 4 H.



Figura 3- A- Adesivo Clearfil SE Bond e adesivo Clearfil Protect Bond e B- Resina composta Clearfil AP-X.

Tabela 1- Materiais utilizados no estudo *in situ*.

Abreviatura	Sistema (Fabricante)	Primer	Adesivo	nº do lote	Procedimentos
PB	Clearfil Protect Bond (Kuraray Medical Inc., Kurashiki, Okayama, Japão)	MDPB, HEMA, água,	MDP, HEMA, Bis-GMA, micropartículas, fotoiniciador, NaF	51111	a (20 s); b, c, b,e (10s)
SE	Clearfil SE Bond (Kuraray Medical Inc., Kurashiki, Okayama, Japão)	MDP, HEMA, água	MDP, HEMA, Bis-GMA, micropartículas, fotoiniciador	51247	a (20 s); b, c, b,e (10s)
APX	Clearfil AP-X (A ₃)	-	-	00832A	d, e (40s), f

Procedimentos: a, aplicação do *primer*; b, leve jato de ar; c, aplicação do adesivo; d, inserção da resina composta; e, fotopolimerização; f, polimento. (HEMA: 2-hidroxietilmetacrilato; Bis-GMA: bisfenol-A glicidil metacrilato; MDP: 10 – metacriloxidecil di-hidrogênio fosfato).

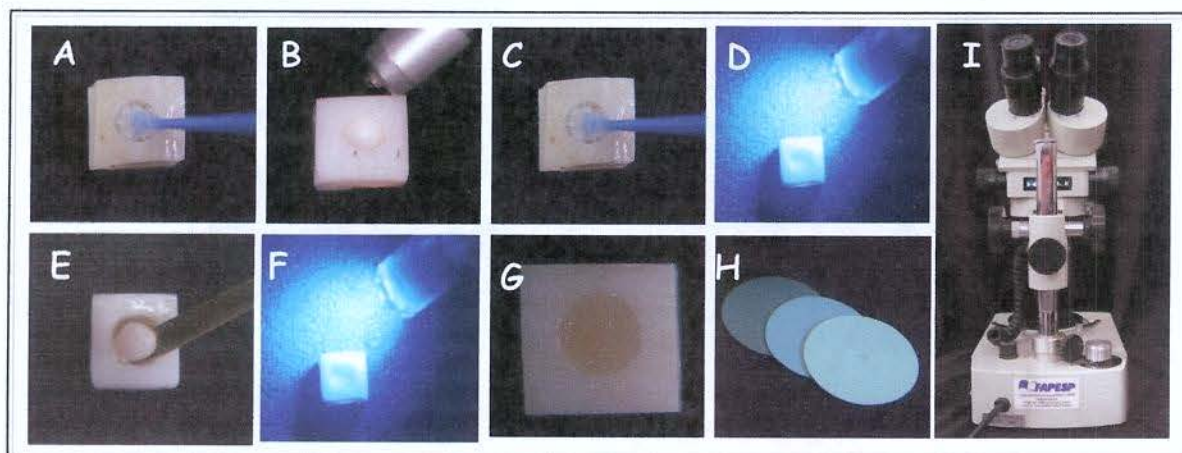


Figura 4- Aplicação dos sistemas adesivos Clearfil SE Bond e Clearfil Protect Bond. A- Aplicação do *primer* (20s); B- leve jato de ar; C- aplicação do adesivo; D- fotopolimerização (10s); E- inserção do material restaurador; F- fotopolimerização; G- restauração finalizada; H- sistema para acabamento e polimento; I- Lupa estereoscópica.

4.1.6 Fase clínica

Após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP (Processo nº 189/2004- Anexo 1), 14 voluntários adultos foram selecionados para participarem desta pesquisa. Todos os voluntários eram residentes em Piracicaba. Os critérios de seleção dos voluntários foram: 1) apresentavam bom estado de saúde geral e oral; 2) não terem utilizado antibióticos nos últimos dois meses, pois afetam a microbiota oral e, com isso, a resposta ao modelo adotado; 3) não serem fumantes; 4) não terem consumido medicamentos que afetassem o fluxo salivar.

Todas as recomendações e informações sobre os procedimentos a serem realizados durante o experimento foram impressos e entregues aos voluntários (Anexo 2), atendendo a resolução nº 196 de 10/03/1996 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde, Brasília, DF. Os voluntários assinaram o termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 3).

Os voluntários receberam recomendações e orientações por escrito: a) utilizar o dispositivo intra-oral palatino diariamente, inclusive para dormir; b) remover o dispositivo intra-oral durante as refeições ou consumo de qualquer bebida ácida, que pode levar à desmineralização (Fushida & Cury, 1999) para padronizar o desafio cariogênico, ou chá preto que pode conter flúor (Haiacibara *et al.* 2004). Porém, ao removê-lo da boca deviam conservá-lo dentro do recipiente fornecido com algodão umedecido, com o objetivo de manter as bactérias da placa viáveis e impedir o ressecamento dos blocos; c) durante o experimento utilizaram apenas o dentífrício fornecido pela pesquisadora; d) não utilizar substâncias fluoretadas ou antimicrobianas.

Os voluntários foram orientados a não escovar diretamente as amostras, mas somente a região do dispositivo em contato com o palato. Quando fossem enxaguar o dispositivo não deviam colocá-los diretamente embaixo da água. Os voluntários receberam um estojo que continha uma escova dental macia

(Advantage, P 30, Oral B, Gillette do Brasil, Manaus, AM, Brasil), um dentifrício fluoretado (Sorriso Fresh, Colgate – Palmolive Ind. e Com. Ltda., São Paulo, SP, Brasil), um frasco da sacarose a 20% e um recipiente com algodão umedecido (Figura 5), onde os voluntários conservaram o dispositivo durante as refeições.



Figura 5- Estojo fornecido aos voluntários, contendo uma escova macia, dentifrício fluoretado, solução de sacarose a 20%, estojo para armazenar o dispositivo palatino.

4.1.6.1 Preparo do dispositivo intra-oral palatino

Os voluntários tiveram sua arcada superior moldada com alginato (Jeltrate Plus, Dentsply, Mildford, DE, EUA) e os modelos foram confeccionados

em gesso pedra (Vigodent, Rio de Janeiro, RJ, Brasil). Os dispositivos intra-orais palatinos foram confeccionados em resina acrílica autopolimerizável (Jet, Clássico, São Paulo, SP, Brasil) a partir do modelo da arcada superior dos voluntários. Cada dispositivo continha quatro cavidades localizadas na região de molares, sendo 2 de cada lado, que serviram para a fixação das amostras com cera pegajosa (Horus, Dentsply, Petrópolis, RJ, Brasil). Telas plásticas foram sobrepostas individualmente em cada cavidade com resina acrílica, deixando um espaço de 1mm entre a tela plástica e a superfície do esmalte para o acúmulo do biofilme (Figura 6A a 6G).

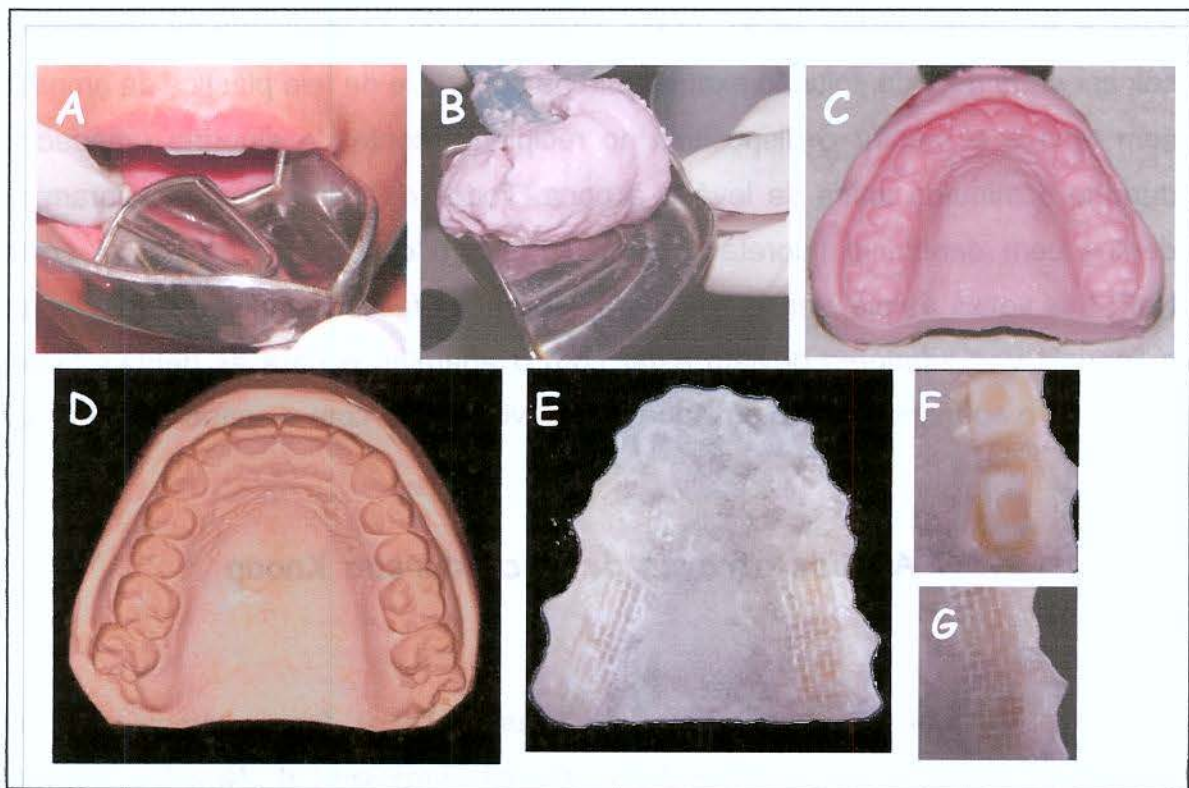


Figura 6- A- Seleção da moldeira; B- Moldagem do voluntário com alginato; C- Molde confeccionado; D- Modelo do voluntário em gesso pedra; E- Dispositivo intra-oral palatino; F- Detalhe das amostras inseridas no dispositivo com espaço de 1mm; G Detalhe da tela posicionada.

4.1.6.2 Fase experimental

O tratamento foi dividido em 2 fases de 14 dias cada, com intervalo de 10 dias entre as fases. Os voluntários utilizaram os dispositivos palatinos contendo 4 blocos de esmalte, restaurados em uma fase com sistema adesivo Clearfil SE Bond Bond (Kuraray Medical Inc., Kurashiki, Japão) e em outra com Clearfil Protect Bond (Kuraray Medical Inc., Kurashiki, Japão).

Os voluntários gotejaram solução de sacarose 20% oito vezes ao dia às 8:00, 9:30, 11:00, 14:00, 15:30, 17:00, 19:00 e 21:00. O voluntário foi orientado a colocar cada gota da solução exatamente na superfície da tela plástica da amostra sem tocá-la e manter o dispositivo no recipiente contendo algodão umedecido durante 5 minutos antes de levá-lo à boca. Todos os voluntários escovaram os dentes com dentifrício fluoretado Sorriso Fresh (Contendo 1.100 µgF/g, como NaF) três vezes ao dia, sendo que, para escovar as faces vestibulares dos dentes e linguais dos inferiores deviam estar com o aparelho e para as demais faces, retiravam o aparelho. Para o enxágue final deviam estar com o aparelho na boca.

4.1.7 Análise através de Microdureza Knoop

Ao final do experimento, as telas plásticas foram removidas com lâminas de bisturi nº 15 (Paramount, Paramount Surgimed Ltd., New Delhi, India) e, as amostras, removidas e limpas com escova e água dd. Todas as amostras foram fixadas em placas de acrílico e seccionadas em cortadeira de precisão (Figura 7A) com disco diamantado de alta concentração (11-4243, Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, EUA) na região central da restauração. As hemi-amostras foram incluídas em resina de poliestireno (Figura 7B). As superfícies das amostras seccionadas foram polidas para posterior leitura da microdureza. Foram utilizadas

lixas de Al_2O_3 de granulação 320, 600 e 1200 (Carburundum Abrasivos, Recife, PE, Brasil) em politriz elétrica e giratória (APL-4, Arotec, Cotia, SP, Brasil) sob refrigeração com água (Figura 7C). Para o polimento final foram utilizados discos de feltro (40-7618, Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, EUA) e pasta de diamante de 1 μm e $\frac{1}{4}$ μm (Arotec, Cotia, SP, Brasil). Entre os procedimentos de polimento, as amostras foram colocadas em aparelho de ultrassom (Odontoplas, São Paulo, SP, Brasil) durante 10 minutos com água destilada e deionizada (dd) para remoção das partículas de lixa e para não prejudicar o polimento seguinte. Em seguida, as amostras foram lavadas em água dd corrente e armazenadas em recipientes plásticos fechados, cobertos com papéis absorventes (Klin Sport/Klabin, Fabricante de papel e celulose, Piracicaba, SP, Brasil) umedecidos em água dd e conservados em geladeira a 4°C.

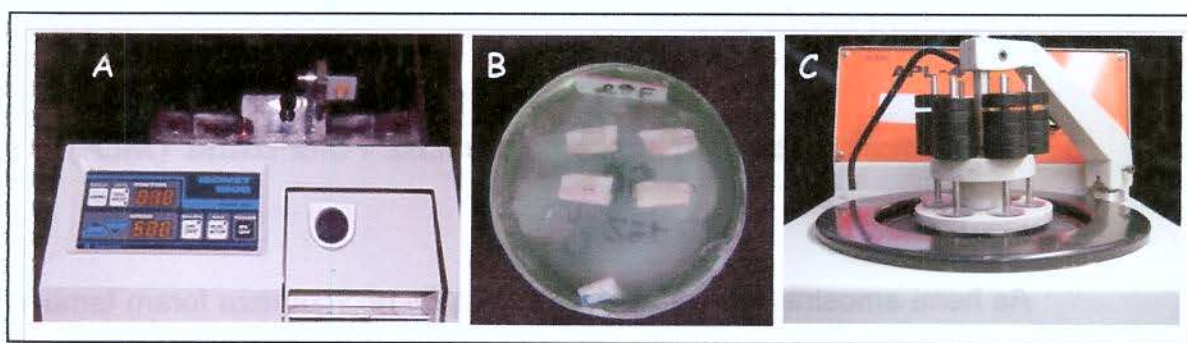


Figura 7- A- Cortadeira de precisão; B- Hemi-amostras incluídas em resina de poliestireno; C- Politriz elétrica e giratória com braço acoplado.

As mensurações de microdureza Knoop foram realizadas na região interna do esmalte nas profundidades de 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180 e 200 μm em relação à superfície do esmalte e nas distâncias de 60, 160 e 260 μm da restauração em todas as profundidades utilizando uma carga de 25 gramas durante 5 segundos (Future Tech, FM 1E, Tokyo, Japão). Os valores de microdureza Knoop foram transformados para conteúdo mineral (% volume mineral), de acordo com Featherstone *et al.* (1983), utilizando a seguinte fórmula: % volume mineral = $4,3 (\sqrt{\text{KHN}}) + 11,3$, onde KHN = microdureza Knoop.

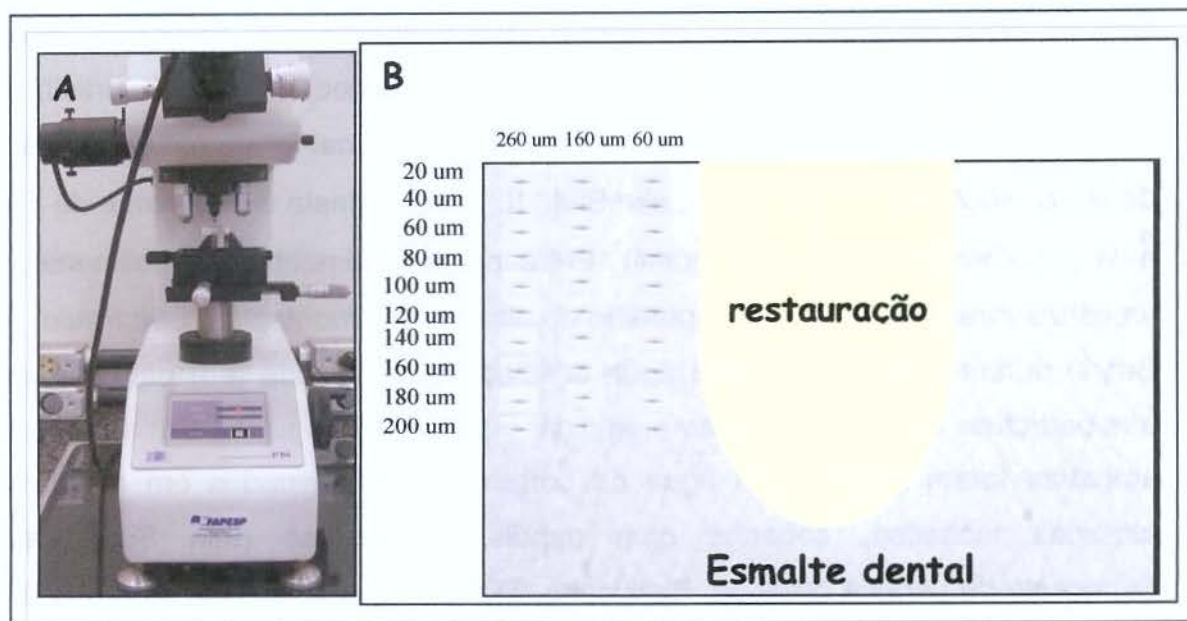


Figura 8- A- Microdurômetro com identador Knoop; B- Esquema das identações em relação à distância da superfície e da restauração.

4.1.8 Análise em Microscopia de Luz Polarizada (MLP)

As hemi-amostras utilizadas para leitura de microdureza foram também utilizadas para a análise em MLP. As amostras foram incluídas em resina de poliestireno para serem novamente seccionadas serialmente, obtendo-se fatias dentais de, aproximadamente, 400 μm de espessura. Essas amostras foram lixadas em politriz elétrica e giratória (APL-4, Arotec, Cotia, SP, Brasil) sob refrigeração com água. Foram utilizadas lixas de óxido de alumínio de granulação 600, 1200 e 2000 (Carburundum Abrasivos, Recife, PE, Brasil) até se obter a espessura final de $100 \pm 10 \mu\text{m}$ (Figura 9A), conferindo-se com um paquímetro digital (Starret 727-6/150, Starret, São Paulo, SP, Brasil). As amostras que estavam armazenadas em tubos "eppendorfs" (Figura 9B) foram então, embebidas em água, dispostas em lâminas de vidro seladas com lamínulas, e visualizadas em microscópio de luz polarizada (Leica, DMLSP, Leica Microsystems, Heerbrug, Suíça) com uma câmera acoplada (Figura 9C). As imagens foram captadas em

lentes com 20 X de aumento, sendo então, transferidas para o monitor de um computador, através do software Image-Pro Plus (Versão 4.1 para Windows, Media Cybernetics). Foram realizadas as medidas de profundidade da lesão de cárie, considerando como lesão de cárie a faixa contínua (Figura 9D), em 5 distâncias da restauração (Figura 9E), utilizando uma ferramenta de medida linear do programa de computador.

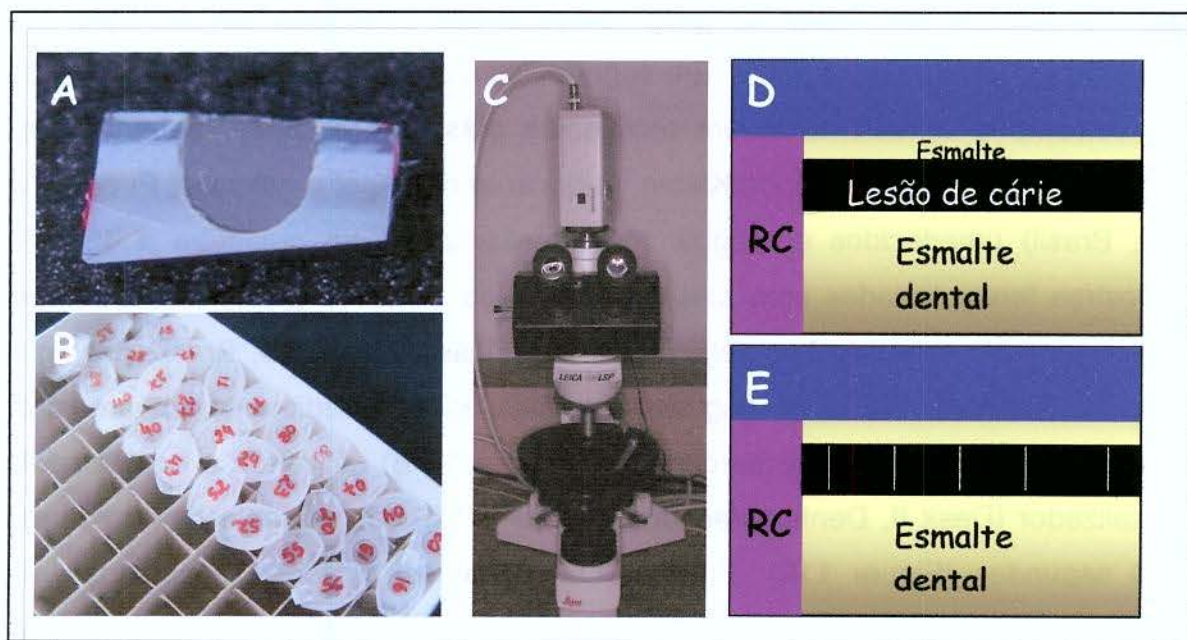


Figura 9- Fatia obtida após desafio cariogênico ($100 \pm 10 \mu\text{m}$); B- Amostras armazenadas em tubos "eppendorfs"; C- Microscópio de Luz Polarizada; D- Esquema da lesão de cárie; E- Esquema mostrando as medidas da lesão de cárie em relação à restauração. (RC=resina composta).

4.1.9 Análise em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Para a observação das amostras em MEV, foram utilizadas as metades que não foram empregadas na análise de Microdureza Knoop e MLP. As hemi-amostras foram incluídas em resina epóxica (Buehler, Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, EUA) e polidas. Foram utilizadas lixas de Al_2O_3 de granulação 320, 600 e 1200

(Carburundum Abrasivos, Recife, PE, Brasil) em politriz elétrica e giratória (APL-4, Arotec, Cotia, SP, Brasil) com auxílio de braço acoplado, sob refrigeração com água. Para o polimento final foram utilizados discos de feltro (40-7618, Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, EUA) e pasta de diamante de 6 μm , 3 μm , 1 μm e $\frac{1}{4}$ μm (Arotec, Cotia, SP, Brasil). Entre os procedimentos de polimento, as amostras foram colocadas em aparelho de ultrassom (Odontoplas, São Paulo, SP, Brasil) por 10 minutos com água dd para remoção das partículas de lixa para não prejudicar o polimento seguinte. Em seguida, as amostras foram lavadas em água dd corrente e armazenadas em recipientes plásticos fechados, cobertos com papéis absorventes (Klin Sport/Klabin, Fabricante de papel e celulose, Piracicaba, SP, Brasil) umedecidos em água dd e conservados em geladeira a 4°C. As amostras foram tratadas com plasma de argônio (Anatech LTD, Plasma Series/ Laboratório Nacional de Luz Síncrotron, Campinas, São Paulo, Brasil) por 7min sob 100 mtorr e 100 watts (Figura 10). Após este procedimento, as amostras foram cobertas com liga de ouro/paládio (Figura 11 B) utilizando o equipamento metalizador (Desk II, Denton Vacuum Inc NJ - EUA), sob corrente de 40 mA por 100 segundos (Figura 11A). Em seguida, as amostras foram observadas em microscópio eletrônico de varredura (JSM – 5600 – JEOL USA, Inc., Peabody, MA 01960 – EUA) com aceleração de voltagem de 15 KV, distância de trabalho de 10 mm e abertura das lentes objetiva (Spotsize) de 36 nm sob aumento de 150X, 1000X, 2000X e 3500X (Figura 11 C).

Realizou-se a análise da região da união esmalte/adesivo/compósito e das lesões iniciais de cárie. É importante salientar que as análises e observações foram realizadas de modo comparativo e ilustrativo, não tendo sido realizada nenhuma análise estatística.



Figura 10 – A- Aparelho utilizado para a aplicação de plasma de argônio nas amostras. B- Detalhe da amostra na câmara de vácuo.

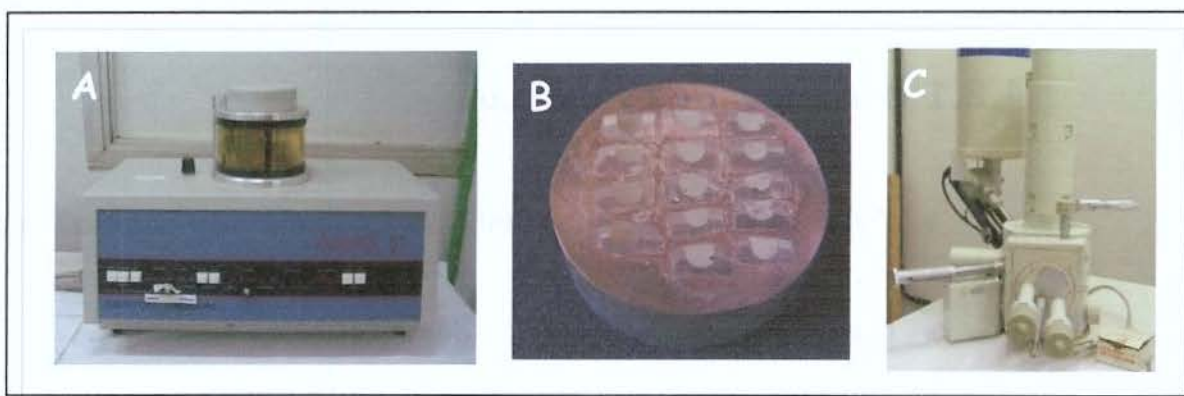


Figura 11- A- Metalizador; B- Amostras cobertas com ouro/paládio; C- Microscópio Eletrônico de Varredura.

4.1.10 Análise estatística

Os valores de % de volume mineral foram avaliados através da Análise de Variância (ANOVA) em parcela subdividida e teste de Tukey, considerando adesivos (2 níveis), profundidade em relação a superfície (10 níveis) e distância da

restauração (3 níveis) como fatores. O programa estatístico utilizado foi o SAS 8.0 (SAS Institute Inc., Cary: NC, 1999).

Os valores da extensão da lesão em MLP foram realizados através da média dos voluntários e analisados pelo Teste f, e não encontrando diferença significativa, pelo Test t de *Student* homogêneo, através do programa Microsoft Excell.

Todos os testes foram realizados com nível de significância de 5% e os valores individuais obtidos para % de Volume Mineral e MLP, estão nos anexos 4 e 6, assim como as análises estatísticas completas estão apresentadas nos Anexos 8 e 9.

4.2 Estudo *in vitro*

4.2.1 Delineamento do estudo

- Delineamento experimental: inteiramente ao acaso em esquema fatorial 10X4X3.
- Unidades experimentais: 120 dentes incisivos bovinos.
- Fatores em estudo:
 1. Sistemas adesivos, em quatro níveis: Single Bond; One-up Bond F; Clearfil SE Bond e Clearfil Protect Bond;
 2. Profundidade em relação à superfície, em dez níveis: 10, 40, 60, 80, 100, 120, 140 160, 180 e 200 μm ;
 3. Distância da restauração, em três níveis: 60, 160 e 260 μm .
- Variáveis de resposta:
 1. Microdureza Knoop, convertida para % volume mineral;
 2. Microscopia de Luz Polarizada;

3. Análise da morfologia da lesão de cárie formada e padrão de interface sistema adesivo/compósito.

4.2.2- Preparo das amostras e restaurações

Os procedimentos realizados para a obtenção das amostras e dos preparos cavitários dos dentes seguem os itens 4.1.2 e 4.1.3 descritos anteriormente para o estudo *in situ*.

4.2.3 Restaurações e grupos experimentais

As amostras foram aleatoriamente divididas nos seguintes grupos experimentais para serem restauradas (n=10): Single Bond (3 M – ESPE, St Paul, MN, EUA), Clearfil SE Bond (Kuraray Medical Inc., Kurashiki, Japão), Clearfil Protect Bond (Kuraray Medical Inc., Kurashiki, Japão) e One-Up Bond F (Tokuyama, Tokyo, Japão) (Figura 12). Os sistemas adesivos foram aplicados de acordo com as instruções dos fabricantes (Tabela 2). A resina composta utilizada foi Clearfil AP-X (Kuraray Medical Inc., Kurashiki, Japão) (Figura 3B), inserida na cavidade em dois incrementos horizontais de 1,5 mm com uma espátula de inserção nº 1 (Hu-Friedy, Chicago, IL, EUA) pela técnica incremental horizontal (Reis *et al.*, 2003). Cada camada era fotoativada por 40 segundos com intensidade de 550 mW/cm² (Curing Light XL 3000, 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA). A intensidade de luz foi verificada periodicamente com o radiômetro instalado no próprio aparelho. Em seguida, foi realizado o acabamento inicial com discos de óxido de alumínio com granulações mais grosseiras (Soflex Pop-on, 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA). Após 24 horas, foi realizado acabamento final e o polimento das restaurações com discos seqüenciais impregnados com óxido de alumínio (Soflex Pop-on, 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA). Após o polimento, as margens das restaurações foram observadas em lupa estereoscópica (MEIJI 2000, MEIJI

TECHNO, Tokyo, Japão) para verificar possíveis remanescentes ou excessos de material restaurador além da cavidade. Vale ressaltar que as amostras foram restauradas 24 horas antes do início do experimento e permaneceram em 100% de umidade relativa (TFA/ Haar-Synth-Hygro). Os sistemas adesivos selecionados para este estudo, composições, fabricante e lote estão descritos na Tabela 2. A aplicação dos sistemas Clearfil SE Bond e Clearfil Protect Bond já foram ilustrados no estudo *in situ* (Figura 4). As aplicações dos sistemas adesivos Single Bond e One-Up bond F estão ilustradas nas Figuras 13 e 14, respectivamente.



Figura 12- A- ácido fosfórico a 35%; B-Single Bond; C- One-Up Bond F; D- Clearfil SE Bond; E- Clearfil Protect Bond.

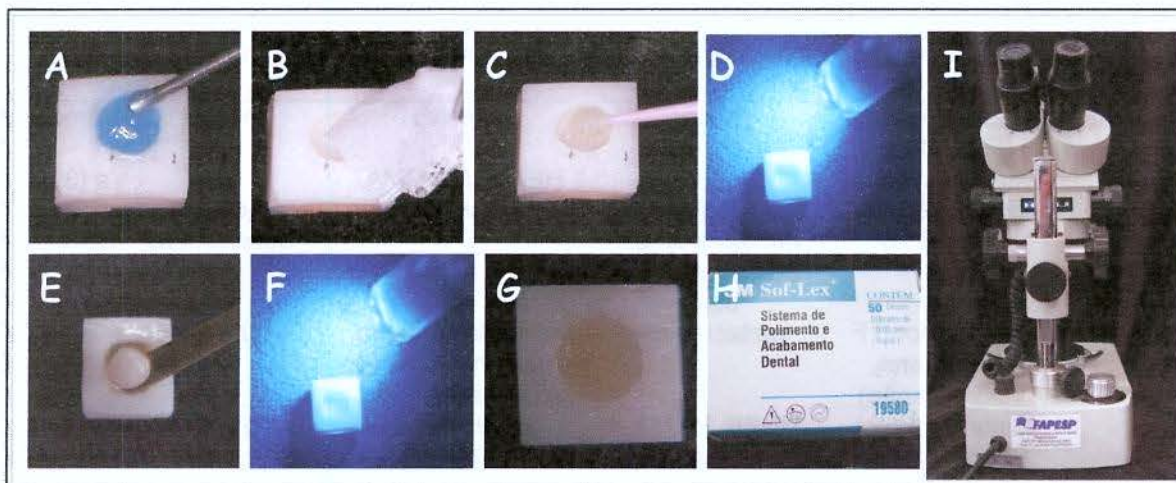


Figura 13- Aplicação do sistema adesivo Single Bond. A- Aplicação do ácido fosfórico à 35% por 30s; B- secagem; C- aplicação do adesivo; D- fotopolimerização; E- inserção do material restaurador; F- fotopolimerização; G- restauração finalizada; H- sistema para acabamento e polimento; I- Lupa estereoscópica.

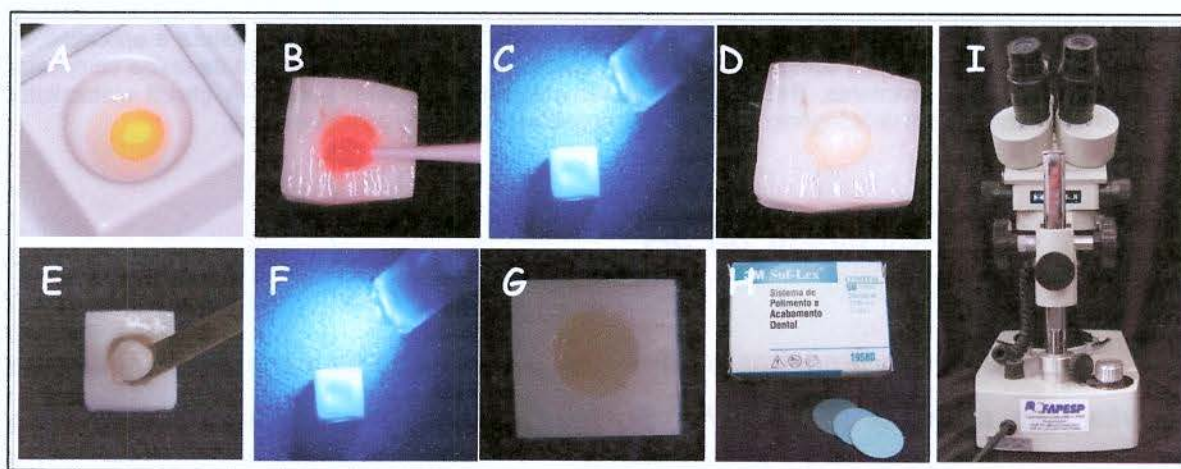


Figura 14- Aplicação do sistema adesivo One-up Bond F. A- Mistura do *bonding* A e do *bonding* B; B- aplicação do sistema adesivo; C- fotopolimerização; D- adesivo polimerizado; E- inserção do material restaurador; F- fotopolimerização; G- restauração finalizada; H- sistema para acabamento e polimento; I- Lupa estereoscópica.

Tabela 2- Materiais utilizados no estudo descrevendo o fabricante, composição, número do lote e procedimentos de aplicação conforme instruções dos fabricantes

Abreviatura	Sistema Adesivo (Fabricante)	Primer	Adesivo	nº lote	Procedimentos
SB	Single Bond (3 M –ESPE, St Paul, MN, EUA)	- gel condicionante: ácido fosfórico 35%	HEMA, Bis-GMA, PAA, etanol e água	Gel ácido:4BR adesivo:4JU	a (30s), b, c, i (20s), h, i, j
OF	One-up Bond F (Tokuyama, Tokyo, Japão)	metacrilatos	metacrilatos, água, fluoroaluminossilicato, partículas de vidro	U000734	d (20s), f, i (10s), h, i, j.
PB	Clearfil Protect Bond (Kuraray Medical Inc., Kurashiki, Okayama, Japão)	MDPB, HEMA, água	MDP, HEMA, Bis-GMA, micropartículas, fotoiniciador, NaF	51111	e (20 s); f, g, f,i (10s)
SE	Clearfil SE Bond (Kuraray Medical Inc., Kurashiki, Okayama, Japão)	MDP, HEMA, água	MDP, HEMA, Bis-GMA, micropartículas, fotoiniciador	51247	e (20 s); f, g, f,i(10s)
APX	Clearfil AP-X (A3)	-	-	00832A	h, i (40s), j

Procedimentos: a, ataque ácido; b, lavagem e secagem; c, aplicação do adesivo; d, mistura e aplicação, e, aplicação do *primer*; f, secagem com ar gentilmente; g, aplicação do adesivo; h, inserção da resina composta; i, fotopolimerização; j, polimento. (HEMA: 2-hidroxietilmetacrilato; Bis-GMA: bisfenol-A glicidil metacrilato; MDP: 10 – metacriloxidecila di-hidrogênio fosfato; PAA: copolímero do ácido polialquênico).

4.2.4 Ciclagem de pH

A área das amostras a ser exposta à indução de cárie foi determinada através fitas adesivas (3M, ESPE, St. Paul, MN, EUA) e esmalte para unhas (Colorama, Maybelline, São Paulo, SP, Brasil), mantendo uma área exposta de 17,21mm² (Figura 15). Os grupos foram submetidos à ciclagem de desmineralização-remineralização por 8 dias a 37 °C (Shinkai *et al.*, 2001). Cada ciclo foi composto por 7 horas, que compreendia imersão em solução desmineralizante e 17 horas em solução remineralizante. A solução desmineralizadora era composta por ácido acético com 2,2 mM de Cálcio (CaCl₂), 2,2 mM de fosfato (NaH₂PO₄); 50 mM de ácido acético e 1 ppm de flúor, pH 4,5 (6,25ml /mm² de área exposta). A composição da solução remineralizadora era de 1,5 mM de Cálcio, 0,9 mM de Fosfato, 0,15 M KCL, pH 7 (3,125 mL/mm²) (Shinkai

et al., 2001 modificado). A solução remineralizadora foi renovada diariamente e a solução desmineralizadora foi renovada no 4º dia do ciclo (Delbem & Cury, 2002; Paes-Leme *et al.*, 2003). Após a ciclagem de pH a superfície da amostra tinha um aspecto esbranquiçado mostrando a desmineralização do substrato (Figura 16).

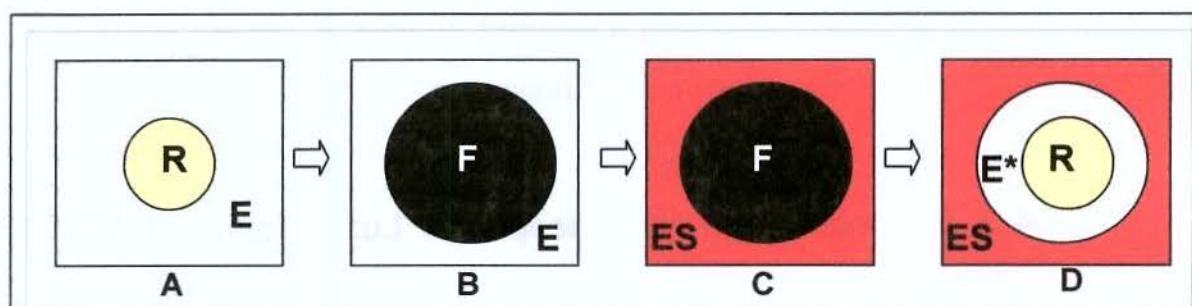


Figura 15- A- Fragmento dental restaurado; B- Fita adesiva para delimitar a área que sofrerá desmineralização; C- Aplicação do esmalte para unhas; D- Área do esmalte que será desmineralizada após remoção da fita adesiva. (R=restauração; E= esmalte dental; E*= área do esmalte desmineralizada; ES= Esmalte para unhas).

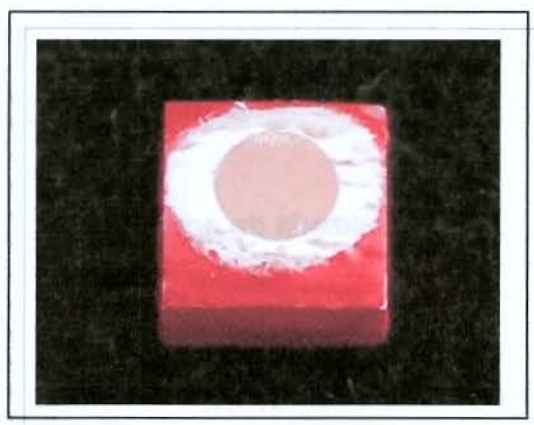


Figura 16- Amostra que foi submetida à ciclagem de pH.

4.2.5 Análise através de Microdureza Knoop

Após a ciclagem de pH, as amostras foram preparadas de acordo com o item 4.1.7, descrito anteriormente no estudo *in situ*. As mensurações de

microdureza Knoop foram realizadas na região interna do esmalte nas profundidades de 10, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180 e 200 μm em relação à superfície do esmalte e nas distâncias de 60, 160 e 260 μm da restauração em todas profundidades utilizando uma carga de 25 gramas durante 5 segundos (Future Tech, FM 1E, Tokyo, Japão). Os valores de microdureza Knoop foram convertidos para conteúdo mineral (% volume mineral), de acordo com Featherstone *et al.* (1983), utilizando a seguinte fórmula: % volume mineral = $4,3 (\sqrt{\text{KHN}}) + 11,3$, onde KHN = microdureza Knoop.

4.2.6 Análise em Microscopia de Luz Polarizada (MLP)

A análise em MLP também seguiu a mesma metodologia do item 4.1.8 do estudo *in situ*.

4.2.7 Análise em Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A análise em MEV foi realizada de acordo com o item 4.1.9 do estudo *in situ*.

4.2.7.1 Análise estatística

Os valores de % de volume mineral foram avaliados com a Análise de Variância (ANOVA) em parcela subdividida e teste de Tukey considerando adesivos (4 níveis), profundidade em relação a superfície (10 níveis) e distância da restauração (3 níveis) como fatores. O programa estatístico utilizado foi o SAS 8.0 (SAS Institute Inc., Cary: NC, 1999).

Os valores da extensão da lesão encontrados em MLP foram analisados com a Análise de Variância (ANOVA) one-way e Teste de Tukey através do programa estatístico SAS 8.0 (SAS Institute Inc., Cary: NC, 1999).

Todos os testes foram realizados com nível de significância de 5% e os valores obtidos para % de volume mineral e Microscopia de Luz polarizada estão apresentados nos anexos 5 e 7, bem como as análises estatísticas completas estão apresentadas nos Anexos 10 e 11.

5 Resultados

5.1 Estudo *in situ*

5.1.1 Porcentagem de Volume Mineral

Os dados de microdureza Knoop foram transformados em conteúdo mineral (Featherstone *et al.*, 1983).. Em relação à distância da restauração não se observou diferença estatística significativa ($p>0,05$) entre as médias; portanto, foi realizada uma média entre estas distâncias.

Os adesivos foram diferentes estatisticamente somente na profundidade de 20 μm , sendo que o uso do adesivo Clearfil Protect Bond resultou em maior % de volume mineral médio nessa profundidade. Após essa profundidade, os adesivos não apresentaram diferenças estatísticas significativas (letras maiúsculas - Tabela 3). Assim, com o aumento da profundidade, a partir de 40 μm para o adesivo PB e 60 μm para o adesivo SE, a microdureza Knoop permaneceu igual para ambos os adesivos, mostrando que o esmalte apresentava-se hígido, o que também pode ser observado no Gráfico 1.

Tabela 3- Porcentagem de volume mineral (% vol. Min) para os sistemas adesivos em função da profundidade (μm).

Profundidade (μm)	Clearfil SE Bond	Clearfil Protect Bond
	Média (des pad)	Média (des pad)
20	66,51 (9,28)Ac	77,44(7,71)Bb
40	77,55 (9,28)Ab	84,56(6,61)Aa
60	82,60 (7,42)Aa	87,74(6,15)Aa
80	85,93 (6,60)Aa	90,27(5,48)Aa
100	88,97 (5,83)Aa	90,91(4,41)Aa
120	90,66 (5,95)Aa	92,27(4,67)Aa
140	91,12 (5,45)Aa	92,82(4,38)Aa
160	92,46 (5,05)Aa	93,22(4,91)Aa
180	92,93 (4,45)Aa	92,69(4,36)Aa
200	92,24 (4,11)Aa	93,21(4,36)Aa

Letras maiúsculas indicam diferença estatística entre linhas e letras minúsculas indicam diferença estatística na coluna.

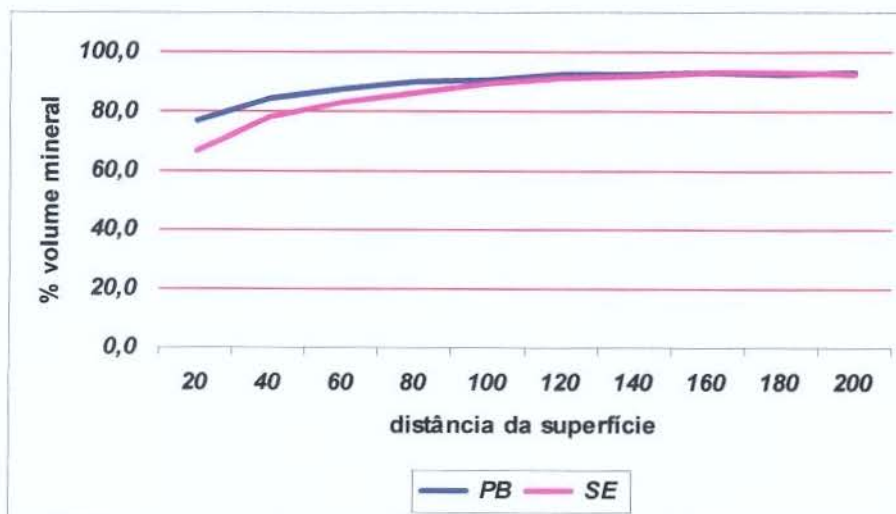


Gráfico 1- O gráfico mostra a % volume mineral em relação à distância da superfície (μm) para os adesivos Clearfil SE Bond (SE) e Clearfil Protect Bond (PB).

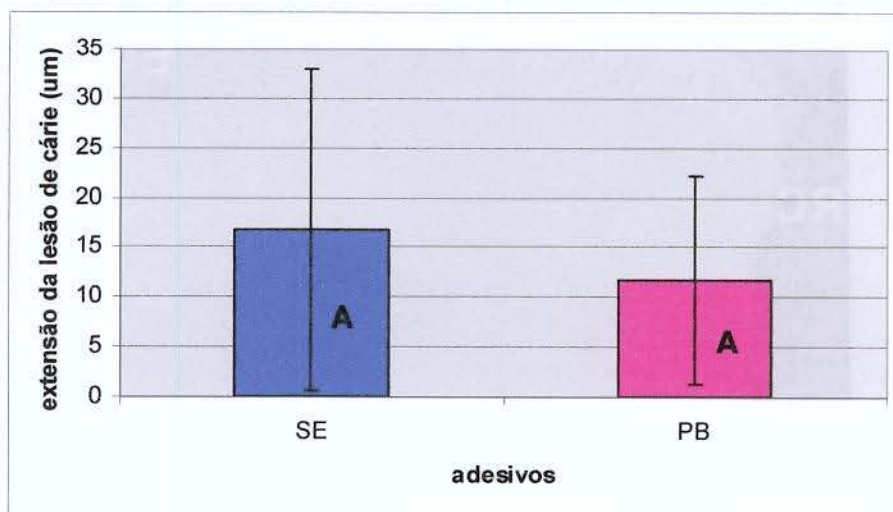
5.1.2 Microscopia de Luz Polarizada

Para os dados de MLP foram utilizadas as médias de cada voluntário. Observa-se, através da Tabela 4 e do Gráfico 2, que embora as médias tenham sido diferentes, não houve diferença estatística significativa já que a cárie não segue um padrão uniforme de desmineralização. A Figura 17 mostra as ilustrações da MLP, a Figura 17A representa o adesivo SE e a Figura 17B representa o adesivo PB.

Tabela 4- Extensão da lesão de cárie (μm) para os adesivos utilizados no experimento *in situ*.

Adesivos	Média (Desvio Padrão)
Clearfil SE Bond	16,81 (16,23) A
Clearfil Protect Bond	11,77 (10,42) A

Letras maiúsculas iguais indicam que não houve diferença estatística entre linhas.



Letras maiúsculas iguais indicam que não houve diferença estatística entre adesivos.(SE=Clearfil Se Bond, PB=Clearfil Protect Bond).

Gráfico 2- O gráfico de barras mostra as médias e desvios padrões da extensão da lesão de cárie (μm) para os adesivos Clearfil SE Bond (SE) e Clearfil Protect Bond (PB).

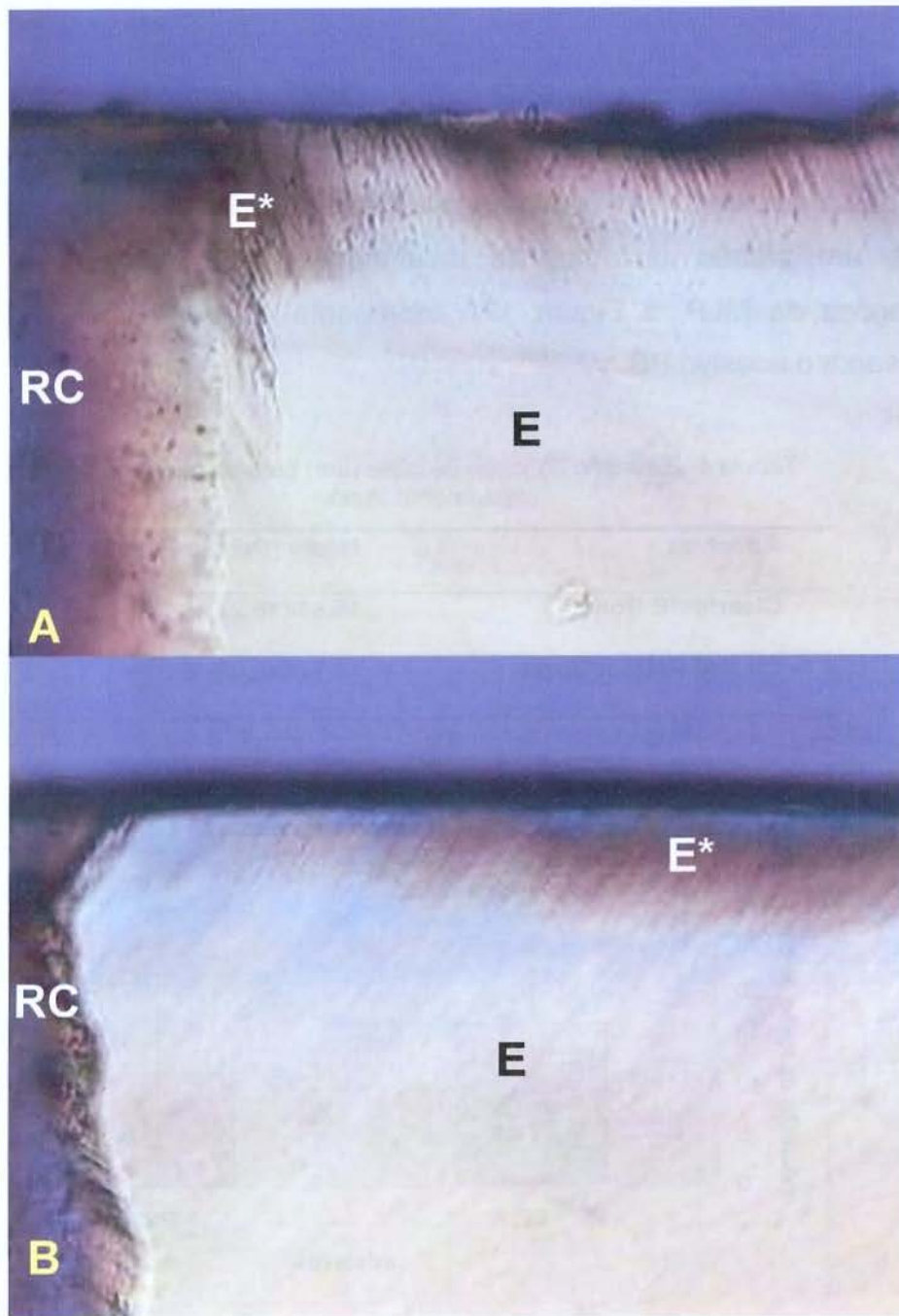


Figura 17- Microscopia de Luz Polarizada. A- Padrão de cárie formado para Clearfil SE Bond; B- Padrão de cárie formado para Clearfil Protect Bond (E*=lesão de cárie; E=esmalte; RC=resina composta).

5.1.3 Microscopia Eletrônica de Varredura

As fotomicrografias em MEV ilustram o padrão de desmineralização após o desafio cariogênico para os adesivos estudados (Figuras 18 e 19). O espécime restaurado com o adesivo SE apresenta um padrão de perda mineral mais acentuado entre os prismas de esmalte quando comparado ao adesivo PB. Os adesivos apresentam similar morfologia na região de união (Figura 20).

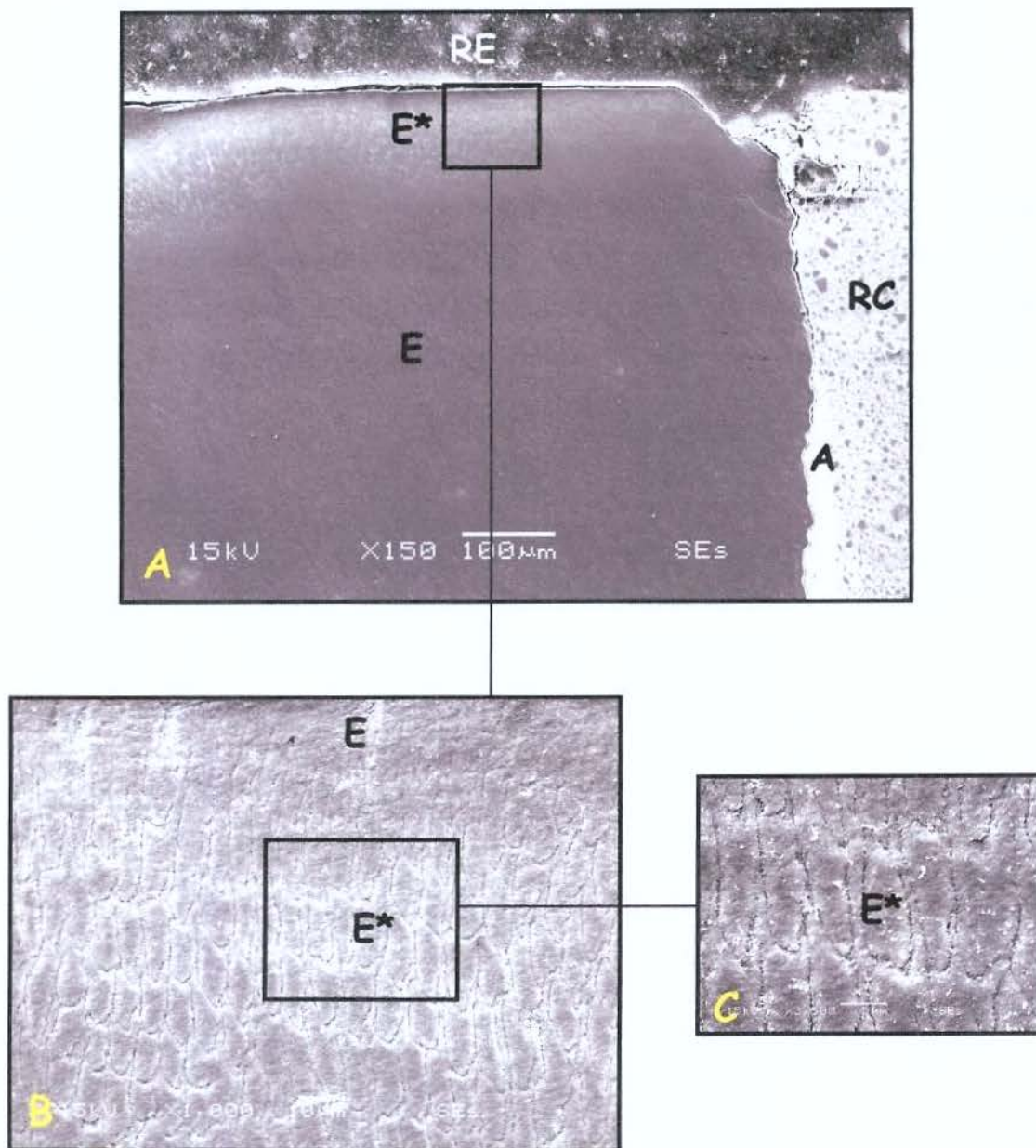


Figura 18- Adesivo SE após desafio cariogênico *in situ*; A, B e C mostram a lesão de cárie nas magnificações de 150X, 1.000X e 3.500X, respectivamente. A Figura A mostra que a lesão de cárie foi subsuperficial. (E=esmalte; E*=esmalte desmineralizado; A=adesivo; RC=resina composta, RE= resina epóxica).

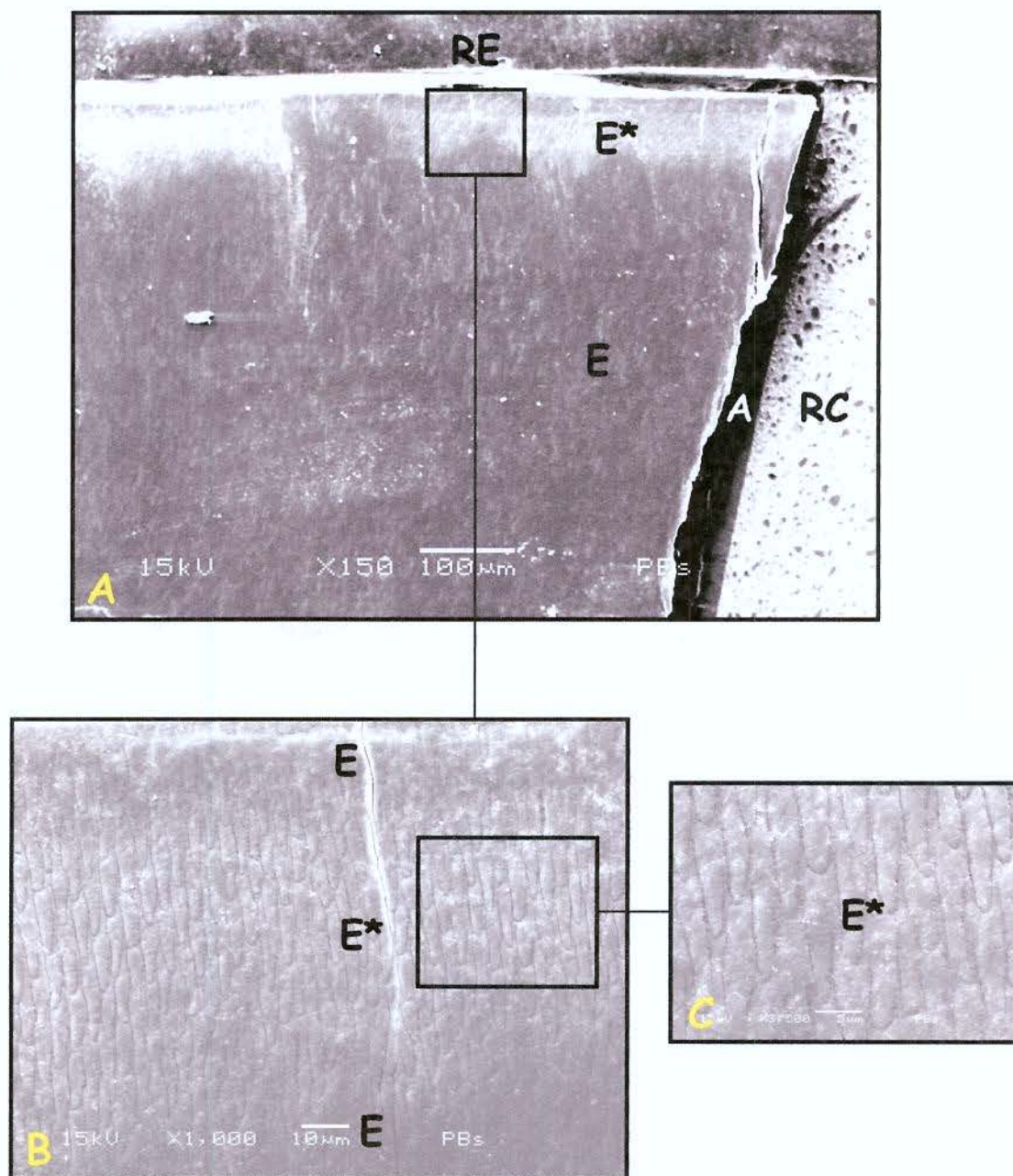


Figura 19- Adesivo PB após desafio cariogênico *in situ*; A, B e C mostram a lesão de cárie nas magnificações de 150X, 1.000X e 3.500X, respectivamente. A Figura A mostra que a lesão de cárie foi subsuperficial. (E= esmalte; E*= esmalte desmineralizado; A= adesivo; RC= resina composta, RE= resina epóxica).

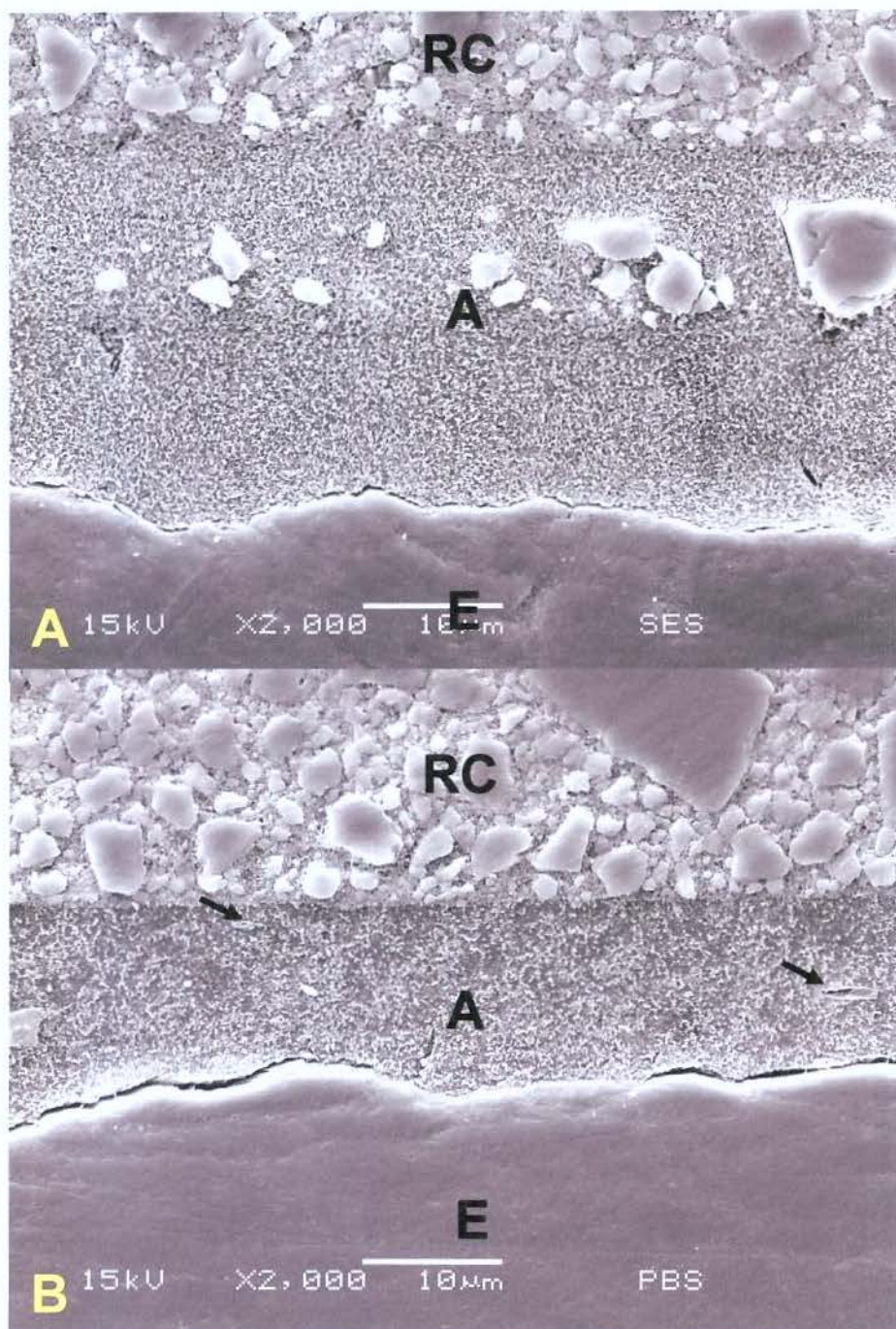


Figura 20- A- Interface esmalte/adesivo SE e resina composta (2.000X). B- Interface esmalte/adesivo PB e resina composta (2.000X). (E= esmalte; A= adesivo; CR= resina composta, setas= partículas de fuoreto).

5.2 Estudo *in vitro*

5.2.1 Porcentagem de Volume Mineral

Após a determinação da microdureza, os dados foram transformados em % de volume mineral. Em relação à distância da restauração não se observou diferença estatística significativa ($p>0,05$); portanto, foi realizada uma média entre estas distâncias. Os adesivos não apresentaram diferenças estatísticas significativas nas profundidades analisadas (letras maiúsculas- Tabela 5). Com o aumento da profundidade, a % de volume mineral permaneceu igual (letras minúsculas- Tabela 5) para os adesivos, mostrando que a partir das profundidades de 140 μm para SB, 120 μm para SE, 140 μm para PB e 80 μm para OF, o esmalte apresentava-se hígido.

Tabela 5- Porcentagem de volume mineral (% vol. Min) para os sistemas adesivos em função da profundidade (μm).

Profundidade	Single Bond	Clearfil SE Bond	Clearfil Protect Bond	One-up F
	Média (des pad)	Média (des pad)	Média (des pad)	Média (des pad)
10	26,15 (15,51) Ade	39,17 (13,72)Ad	33,74 (21,68)Ae	32,39 (23,78)Ab
40	13,46 (6,99)Ae	27,12 (22,63)Ad	20,19 (17,62)Ae	20,28 (16,73)Ab
60	14,79 (11,36)Ae	35,24 (23,87)Ad	23,55 (17,51)Ae	28,32 (23,82)Ab
80	34,43(28,86)Ad	57,0 (17,73)Ac	48,21 (23,47)Ad	55,44 (25,65)Aa
100	64,45(25,57)Ac	72,52 (18,61)Ab	64,07 (23,73)Ac	69,73 (21,41)Aa
120	83,79(14,80)Ab	82,63 (14,49)Aab	77,94 (22,87)Abc	80,10 (17,45)Aa
140	89,49(12,05)Aab	87,56 (12,83)Aa	83,76 (20,08)Aabc	86,22 (15,21)Aa
160	95,16 (10,17)Aab	91,96 (12,49)Aa	90,12 (16,52)Aab	91,41 (14,17)Aa
180	98,81(8,48)9Aa	94,06 (12,30)Aa	91,87 (16,01)Aab	93,58 (12,75)Aa
200	99,43 (8,08)10Aa	95,44 (12,31)Aa	94,92 (14,53)Aa	95,16 (11,99)Aa

Letras maiúsculas indicam diferença estatística entre linhas e letras minúsculas indicam diferença estatística na coluna. (des pad= desvio padrão)

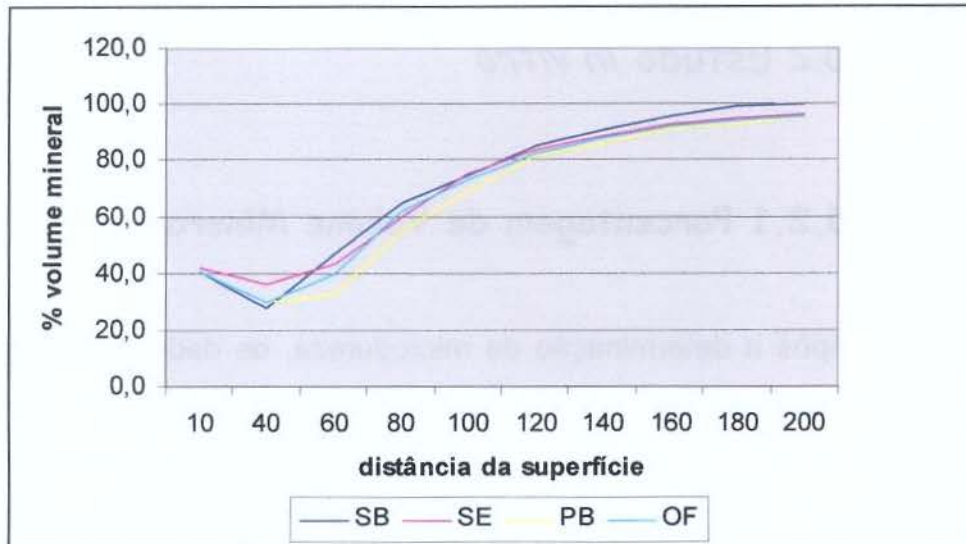


Gráfico 3- O gráfico mostra a % volume mineral em relação à distância da superfície (μm) para os adesivos Single Bond (SB), Clearfil SE Bond (SE), Clearfil Protect Bond (PB) e One-up Bond (OF).

5.2.2 Microscopia de Luz Polarizada

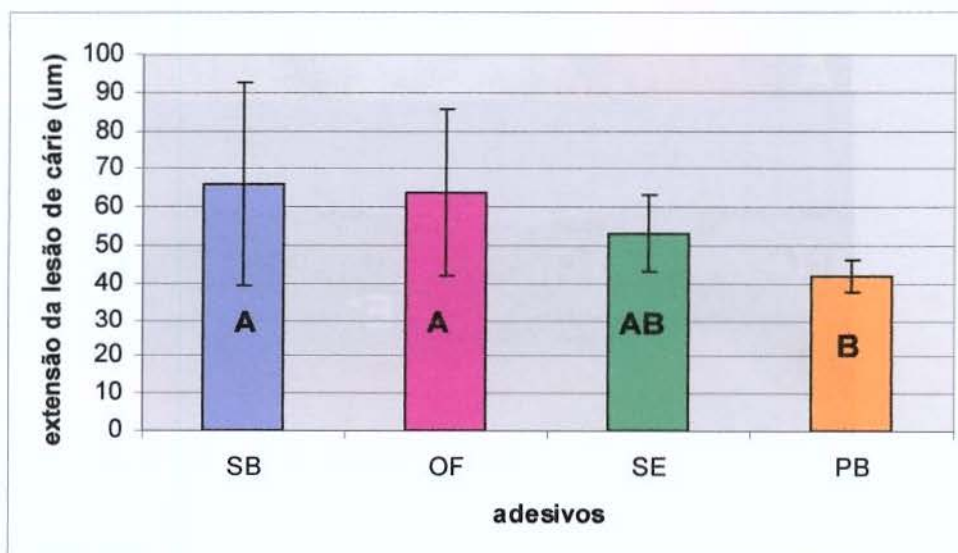
Na análise de microscopia de luz polarizada (MLP), os adesivos SB e OF apresentaram maior profundidade em relação à superfície da lesão de cárie quando comparado ao adesivo PB aplicado para restaurar as cavidades. O adesivo SE teve desempenho similar a todos sistemas estudados (Tabela 6 e Gráfico 4). Além de dados quantitativos, a MLP também forneceu dados qualitativos, ilustrados na Figura 21 e 22.

Tabela 6- Extensão da lesão de cárie (μm) dos adesivos utilizados.

Adesivos (n=número de repetições)	Média (Desvio Padrão)
Single Bond (n=7)	65,86 (26,62) A
One-Up Bond F (n=12)	63,69 (21,87) A
Clearfil SE Bond (n=10)	53,28 (10,11) AB
Clearfil Protect Bond (n=13)	42,18 (4,35) B

Letras maiúsculas diferentes representam diferenças estatísticas significativas.

Gráfico 4- O gráfico de barras mostra a extensão da lesão de cárie (μm) para os adesivos testados.



Letras maiúsculas diferentes representam diferenças estatísticas significativas. (SB= Single Bond; OF= One –up Bond F; SE= Clearfil SE Bond e PB= Clearfil Protect Bond).

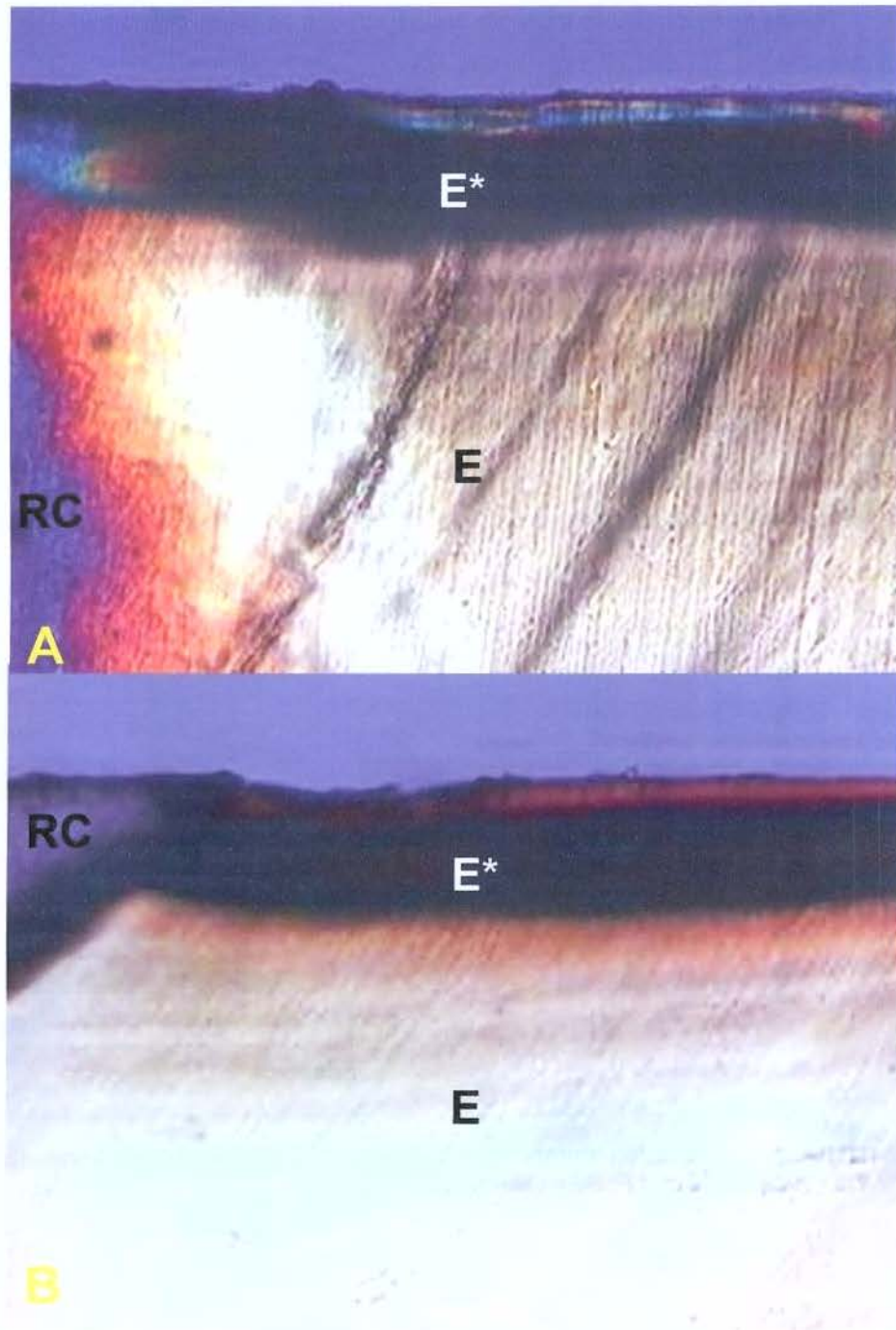


Figura 21- A- Single Bond (SB); B- One-up Bond F(OF); (E= esmalte; E*=esmalte com lesão de cárie; RC=resina composta).

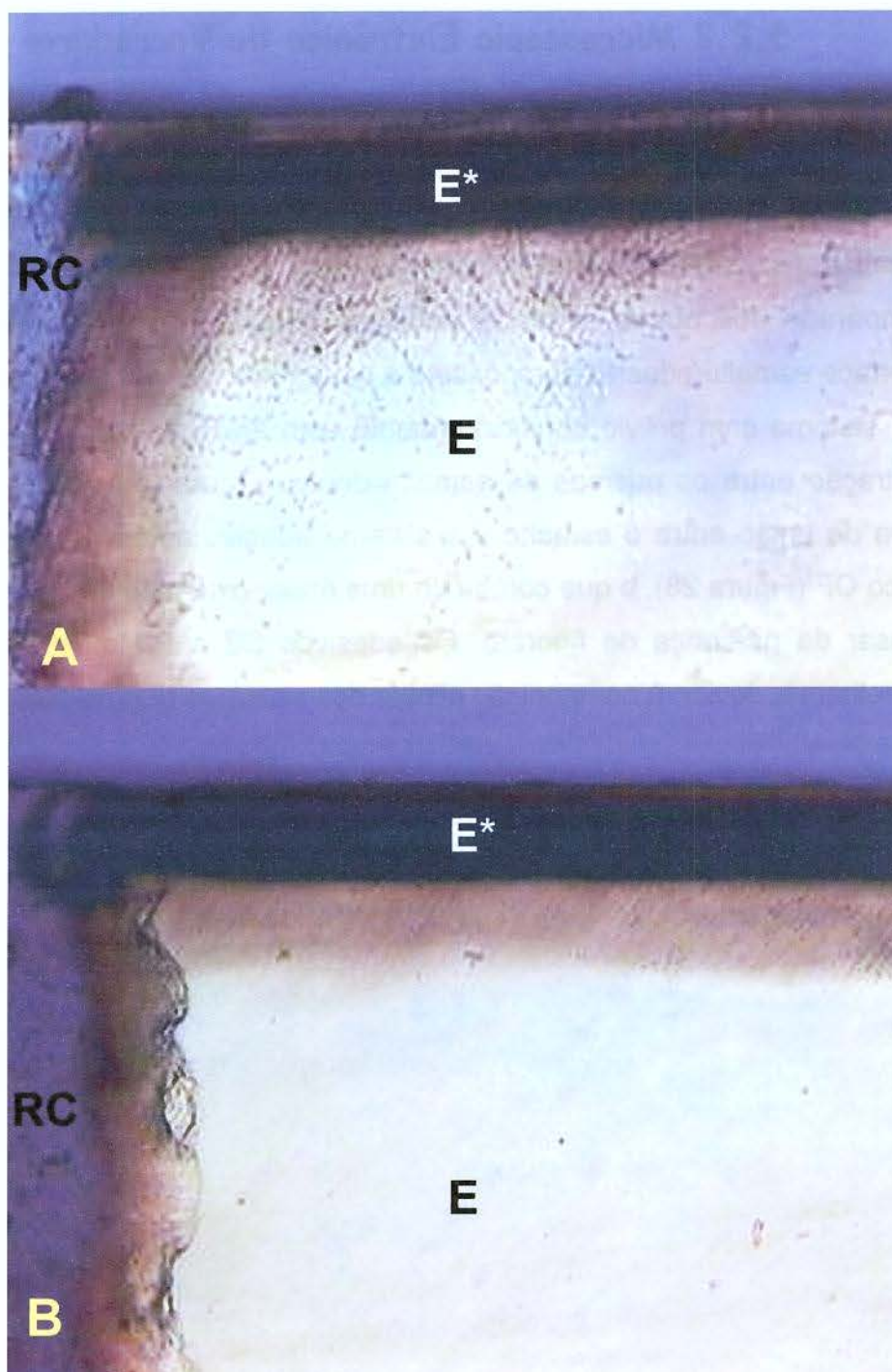


Figura 22- A- Clearfil SE Bond (SE) e B- Clearfil Protect Bond (PB) (E= esmalte; E*=esmalte com lesão de cárie; RC=resina composta).

5.2.2 Microscopia Eletrônica de Varredura

As fotomicrografias em MEV (Figuras 23 a 26) mostram as lesões de cárie formadas pelo modelo *in vitro*. O adesivo PB apresentou menor desmineralização do esmalte interprismático adjacente à restauração quando comparado aos outros sistemas adesivos (Figura 26). Observou-se também a interface esmalte/adesivo-compósito e a característica de cada adesivo. O adesivo SB, sistema com prévio condicionamento com ácido fosfórico, apresentou maior infiltração entre os prismas de esmalte dental (Figura 27). Podemos observar a falha de união entre o esmalte e o sistema adesivo autocondicionante de passo único OF (Figura 28), o que comprova uma maior extensão de cárie nesse sistema apesar da presença de fluoreto. Os adesivos SE e PB mostraram um padrão semelhante, devido à composição similar dos sistemas (Figura 29).

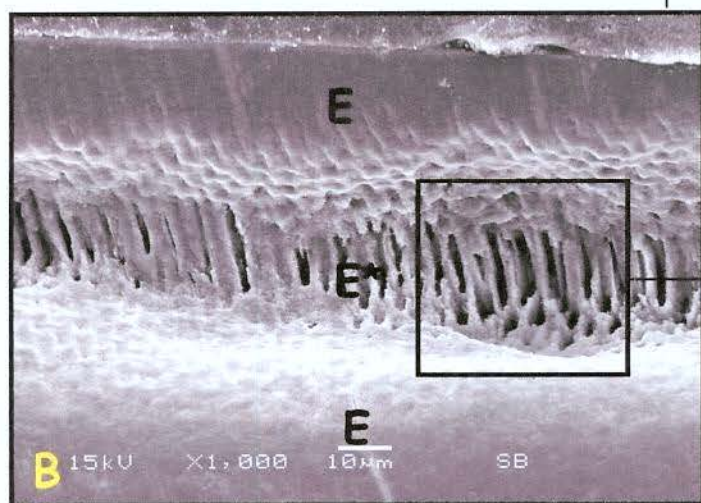
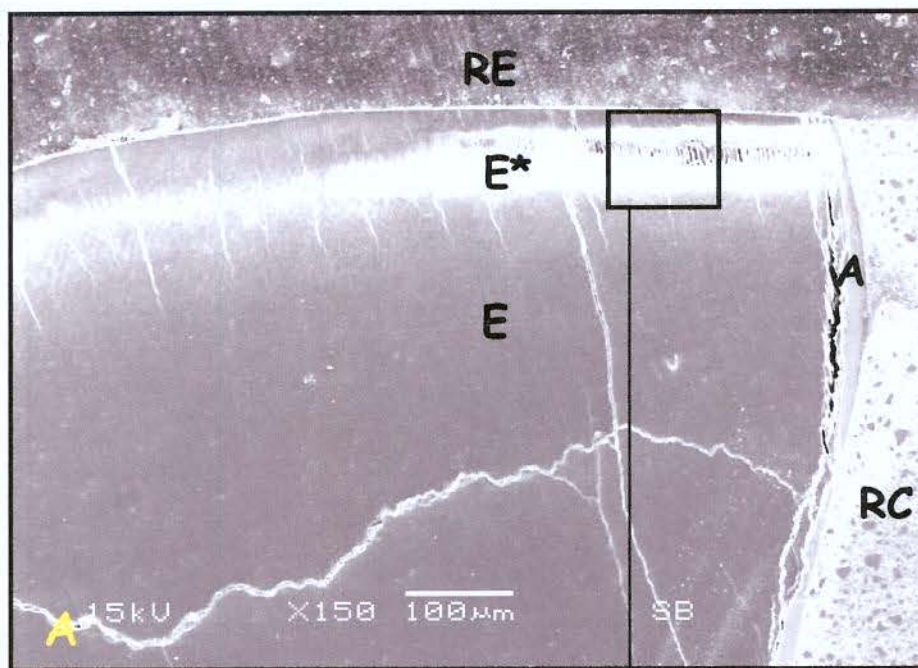


Figura 23- Adesivo SB após desafio cariogênico *in vitro*; A, B e C mostram a lesão de cárie nas magnificações de 150X, 1.000X e 3.500X. (E=esmalte; E*=esmalte desmineralizado; A=adesivo; RC=resina composta, RE=resina epóxica).

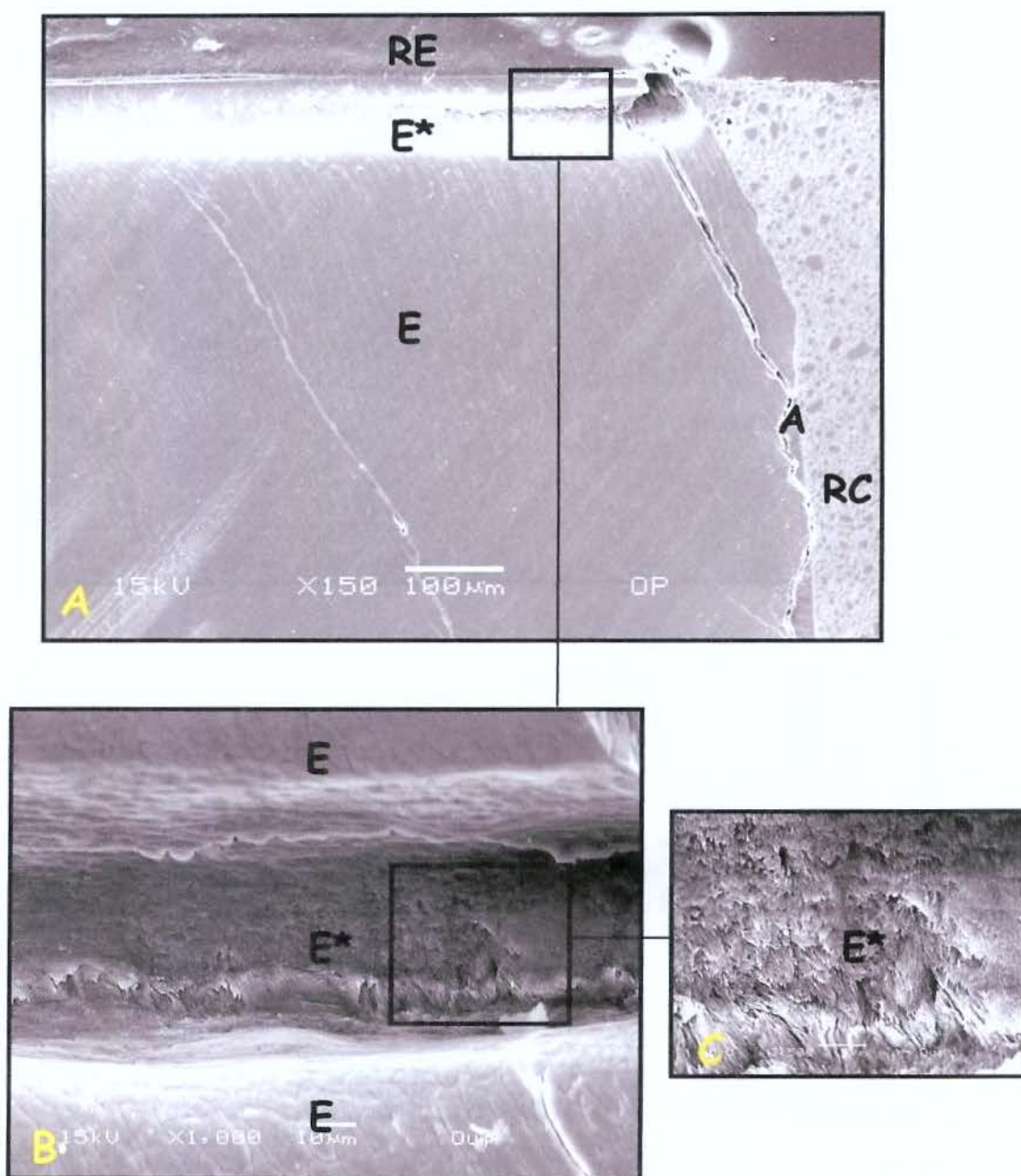


Figura 24- Adesivo OF após desafio cariogênico *in vitro*; A, B e C mostram a lesão de cárie nas magnificações de 150X, 1.000X e 3.500X. (E=esmalte; E*=esmalte desmineralizado; A=adesivo; CR=resina composta, RE=resina epóxica).

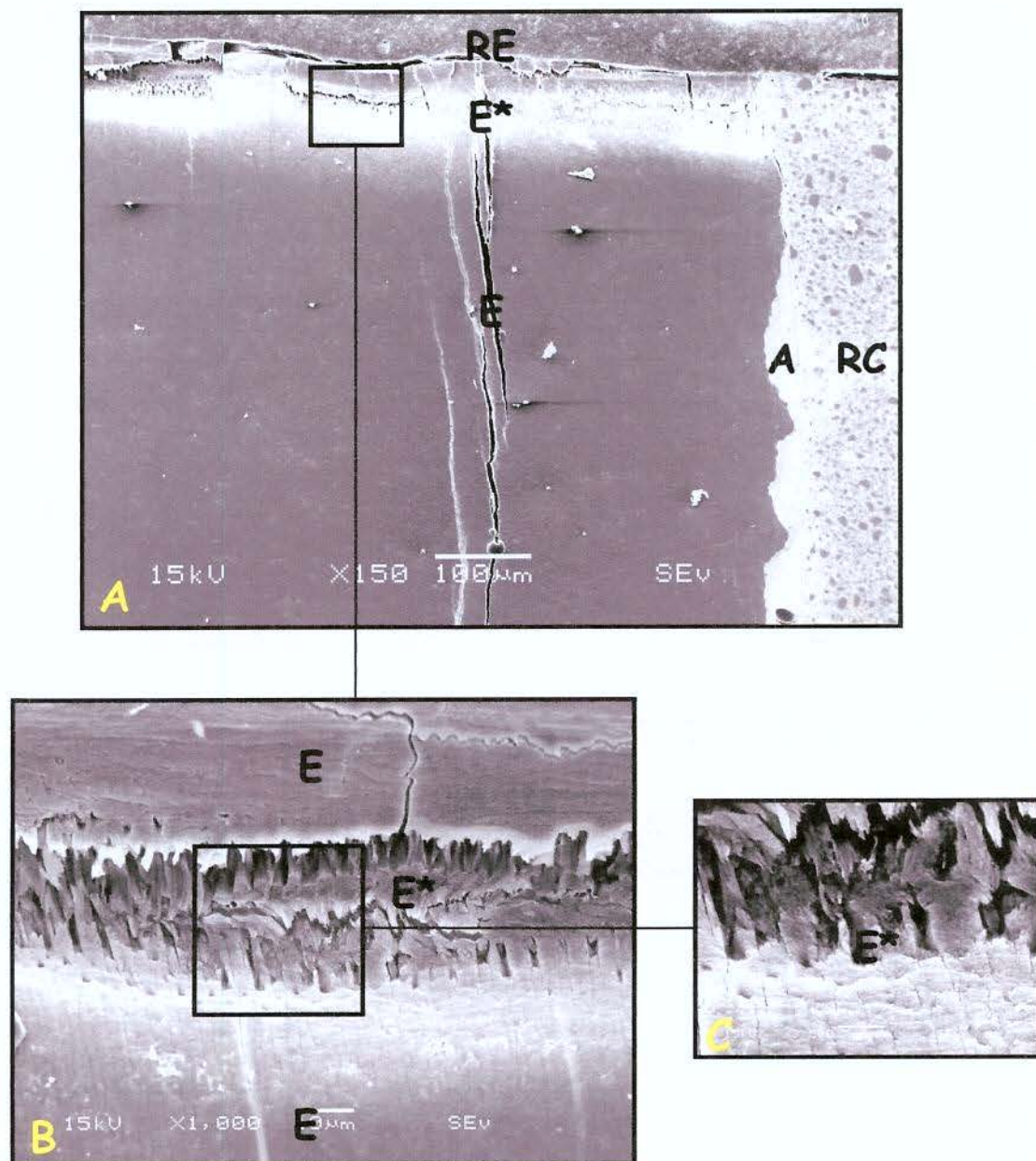


Figura 25- Adesivo SE após desafio cariogênico *in vitro*; A, B e C mostram a lesão de cárie nas magnificações de 150X, 1.000X e 3.500X. (E=esmalte; E*=esmalte desmineralizado; A=adesivo; CR=resina composta, RE=resina epóxica).

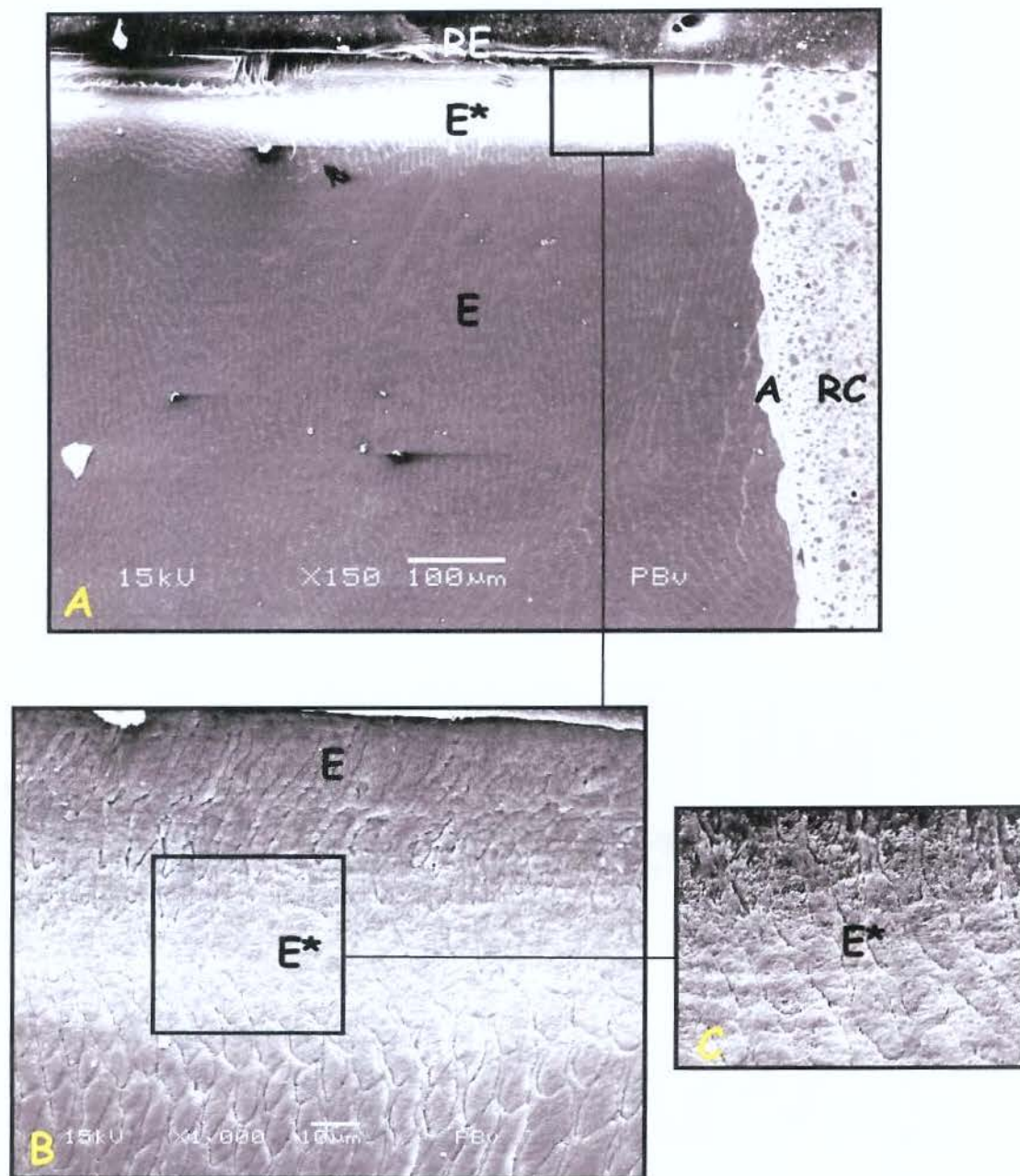


Figura 26- Adesivo PB após desafio cariogênico *in vitro*; A, B e C mostram a lesão de cárie nas magnificações de 150X, 1.000X e 3.500X. (E=esmalte; E*=esmalte desmineralizado; A=adesivo; RC=resina composta, RE=resina epóxica).

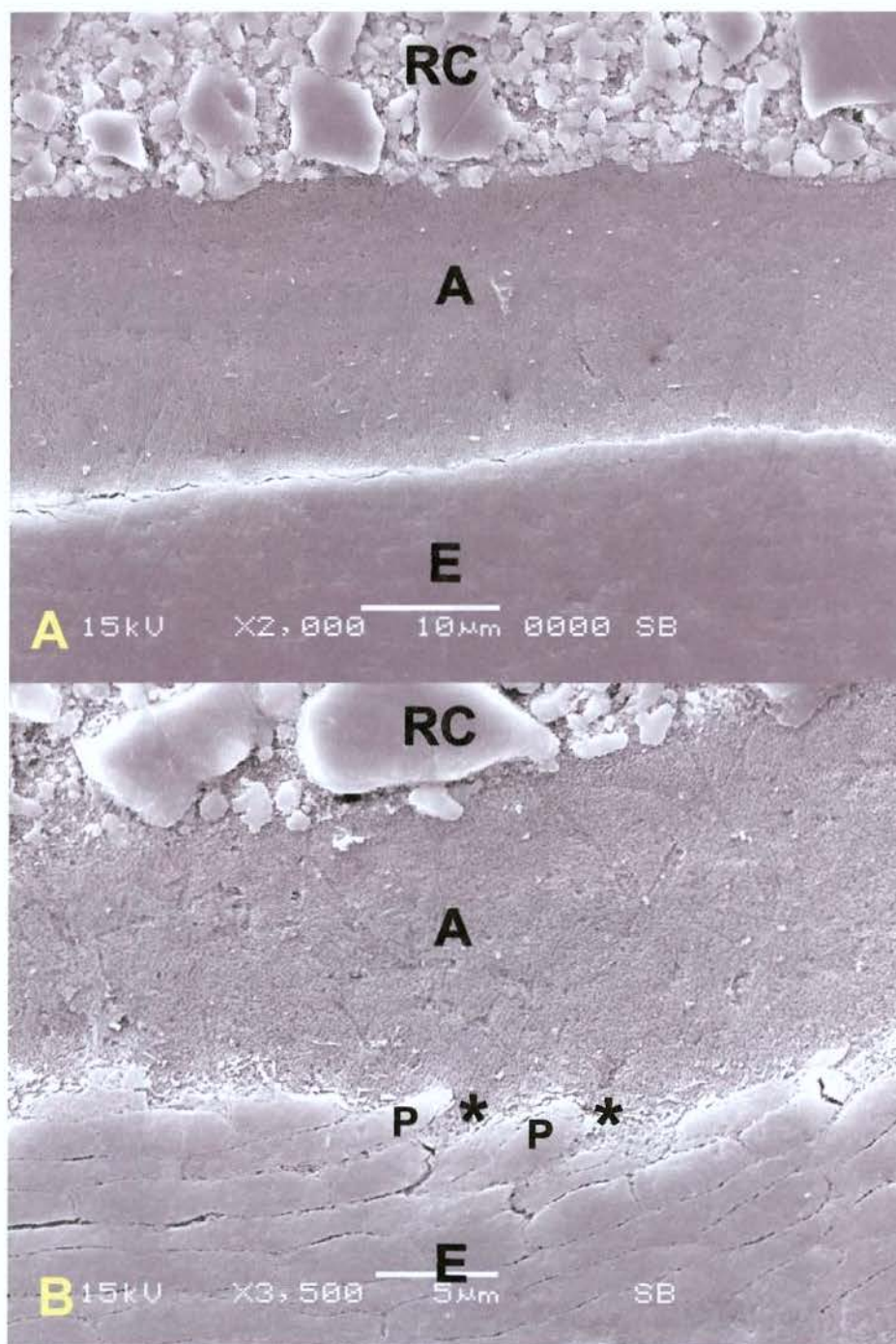


Figura 27- A- Interface esmalte/adesivo SB e resina composta (2.000X); B- Aumento de 3.500 X. (E=esmalte; A=adesivo; RC=resina composta, *= infiltração entre os prismas; P=prismas).

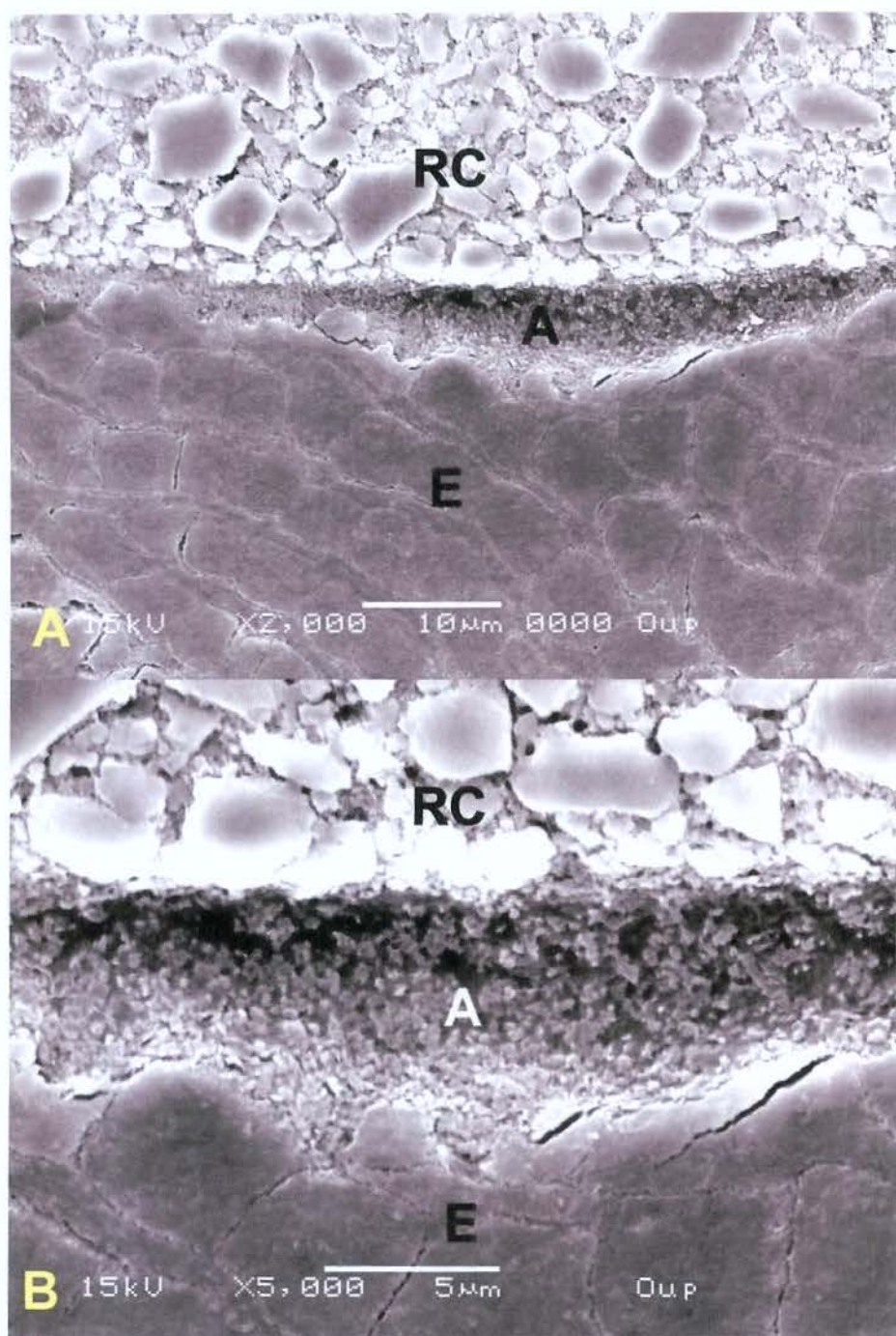


Figura 28- A- Interface esmalte/adesivo OF e resina composta (2.000X); B- Aumento de 5.000 X. (E=esmalte; A=adesivo; RC=resina composta).

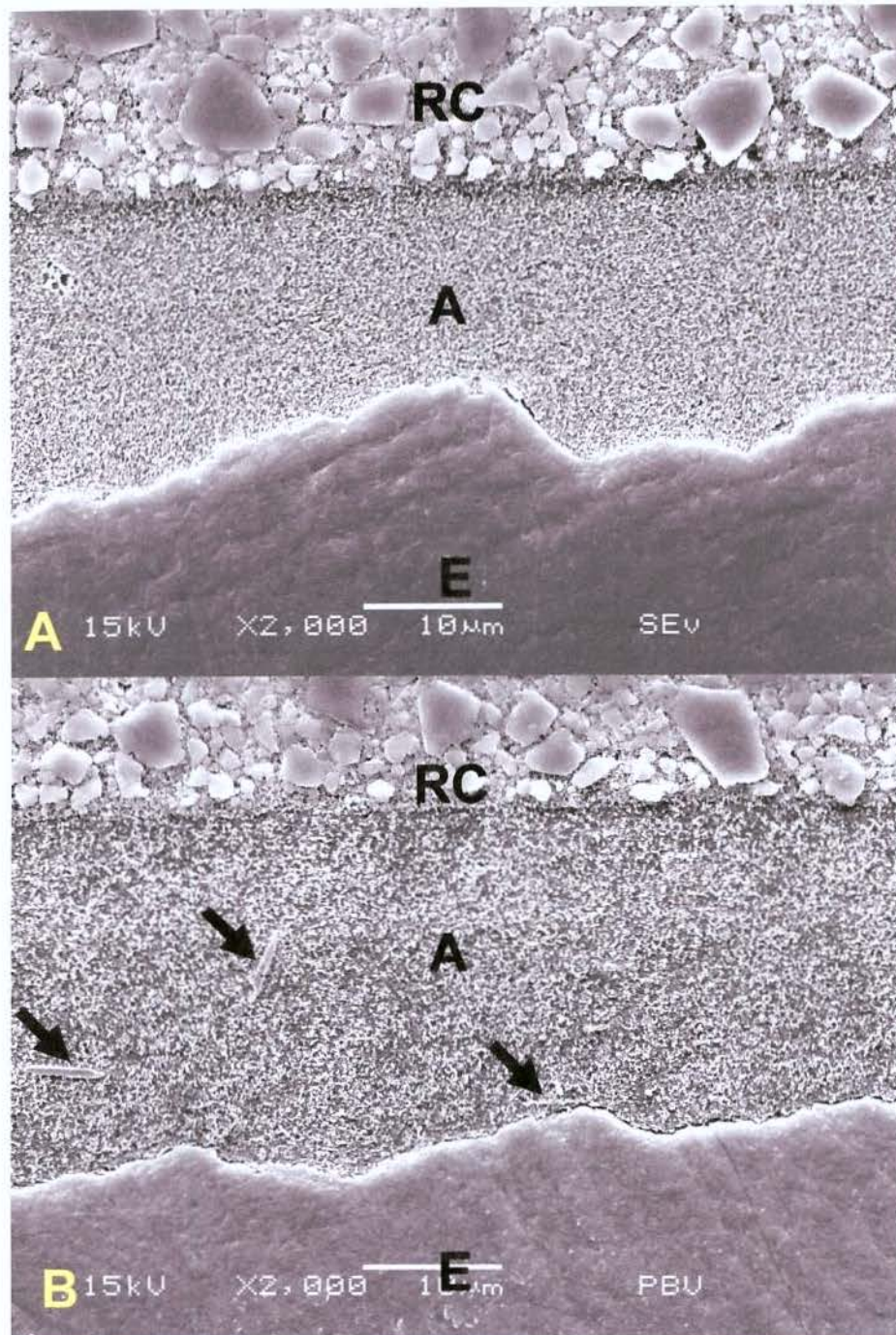


Figura 29- A- Interface esmalte/adesivo SE e resina composta (2.000X); B- Interface esmalte/adesivo PB e resina composta (2.000X). (E=esmalte; A=adesivo; RC=resina composta, setas= partículas de fluoreto).

6 Discussão

Novos materiais têm sido desenvolvidos na tentativa de inibir a formação de cárie recorrente a qual demonstra ser a maior responsável pela falha das restaurações (Imazato, 2003). Os efeitos de materiais que liberam flúor têm sido testados em muitos estudos, com evidências científicas que estes produtos podem controlar o desenvolvimento de cárie tanto *in vitro* (Serra & Cury, 1992; Serra, 1995; Hara *et al.*, 2002; Savarino *et al.*, 2004; Exterkate *et al.*, 2005;) quanto *in situ* (Basting *et al.*, 2002; Yamamoto *et al.*, 2005; Tenuta *et al.*, 2005), porém não podem evitá-la completamente (Hara *et al.*, 2005). Este efeito pode ser observado neste estudo, pois a nova formulação do adesivo PB que contém brometo e fluoreto, promoveu melhor desempenho com menor desenvolvimento da cárie dental tanto *in vitro*, quanto *in situ*, em algumas das análises realizadas.

Os resultados de % volume mineral *in situ* mostraram que a aplicação do adesivo PB promoveu menor perda mineral quando comparado ao adesivo SE, sugerindo melhor desempenho frente aos desafios cariogênicos, principalmente na camada mais superficial do esmalte (Imazato *et al.*, 2005).

A microscopia de luz polarizada (MLP) é usada para analisar a extensão da lesão de cárie em toda a superfície determinada, as zonas de inibição de cárie e lesões de parede (Hsu *et al.*, 1998; Han *et al.*, 2002; Hara *et al.*, 2005). A análise qualitativa da MLP *in situ* mostrou um padrão diferente de formação da lesão de cárie, sendo que para o adesivo PB, que contém fluoreto e brometo, a lesão formou-se mais distante da interface restauradora, prevenindo a lesão de parede (Itota *et al.*, 2002; Hara *et al.*, 2005) (Figura 17). Esses achados concordam com os resultados obtidos para a % de volume mineral. De modo quantitativo, não houve diferença estatisticamente significativa entre os adesivos para a análise de MLP. Assim, a presença de fluoretos na composição de um adesivo não garante a capacidade de produzir uma zona de inibição da cárie adjacente à restauração, de acordo com Itota *et al.* (2002), agindo apenas na

camada mais superficial e próximo à restauração, além de depender de outros fatores.

Para a obtenção das imagens em MEV foi realizada a aplicação de plasma de argônio, que promoveu uma remoção da parte orgânica, sendo que a parte inorgânica do esmalte e a resina são resistentes ao ataque dos íons de argônio, melhorando a observação da união formada pelos adesivos (Sato & Miyazaki, 2005). Embora as imagens tenham sido realizadas com finalidade ilustrativas, as características nelas encontradas puderam ser descritas. A MEV do estudo *in situ*, apresentou um padrão de superfície desmineralizada mais agressivo para o esmalte interprismático ao redor da restauração com o adesivo SE (Figura 18). Para o adesivo PB, (Figura 19) embora ocorra um padrão de formação de lesão de cárie, que em menor aumento mostra-se acentuado (Figura 19A), a desmineralização foi menor entre os prismas de esmalte. A morfologia da interface adesiva foi bastante semelhante para os adesivos. Isto devido às pequenas diferenças composicionais entre os sistemas do mesmo fabricante. Os *primers* autocondicionantes produzem um padrão de condicionamento moderado (Perdigão & Geraldini, 2003), quando comparados ao ataque com ácido fosfórico (30 a 40%). Alguns autores relatam baixos valores de resistência de união e relacionam o efeito moderado de condicionamento o fator principal dessa fraca união (Dias *et al.*, 2004). O adesivo PB apresentou partículas irregulares que sugerem ser partículas de fluoreto provenientes do NaF presente no *bond* (Figura 20B)(Reis, 2005; Tay *et al.*, 2002; Sano, 2006), no entanto, futuras pesquisas são necessárias para confirmar esta especulação.

O sistema adesivo PB apresenta fluoreto na solução do *bond* e brometo adicionado à molécula do monômero ácido MDP do *primer* (Imazato *et al.*, 1995; 1999; 2005). A atividade antibacteriana destes adesivos, segundo estudos (Imazato *et al.*, 1998, 2003b, 2005) estaria associada à acidez do *primer*. Na verdade, há uma combinação da atividade antibacteriana e da difusibilidade dos componentes (Imazato *et al.*, 2005). Um amônio quaternário CPC é um forte bactericida freqüentemente utilizado nos colutórios e dentífricos (Mandell, 1998;

Scheie, 1989). O MDPB sintetizado do dodecilmiridíneo é um análogo do CPC e pode inibir o crescimento de bactérias. É possível que o aumento de zonas de inibição da lesão de parede observadas para PB é meramente devido à quantidade de componentes ativos incluídos no *primer* (Imazato *et al.*, 1995, 1999, 2005). O mecanismo do efeito antibacteriano do componente do amônio quaternário acredita-se ser devido à ligação catiônica e hidrofílica com os componentes da parede celular que destroem a função da membrana e, subsequente, induzem ao vazamento do material citoplasmático (Scheie, 1989; Kourai *et al.*, 1994).

O fluoreto tem sido descrito na literatura como um agente anticariogênico. Uma variedade de mecanismos está envolvida no efeito anticariogênico dos fluoretos, incluindo a redução da desmineralização, o aumento da remineralização, a interferência na formação da película e biofilme dental e a inibição do crescimento bacteriano (Fejerskov & Clarkson, 1996; Featherstone *et al.*, 1994; Mukai & Ten Cate, 2002).

Através dos resultados de % volume mineral *in vitro* não se observou diferença estatisticamente significante entre os grupos testados. O Gráfico 3 mostra a % volume mineral semelhante para todos os sistemas adesivos. Houve dificuldade em mensurar o corpo da lesão, devido às características da lesão de desmineralização, tornando a superfície a ser medida, irregular. Diante disso, a extensão da lesão de cárie foi determinada também através da MLP, devido às características desta metodologia, já citada anteriormente.

Obteve-se um padrão de cárie similar aos encontrados por Gilmour *et al.* (1990), Gilmour & Edmunds (1998) e Torii *et al.* (2001) na qual podiam-se observar lesões subsuperficiais em forma de faixa contínua. As Figuras 21 e 22 da MLP ilustram o padrão de cárie dental bastantes peculiares apresentadas no estudo, enfatizando-se a superfície íntegra, o corpo da lesão de cárie e o esmalte íntegro. Portanto, podemos concluir que esse modelo de ciclagem foi bastante representativo para a formação da lesão de cárie inicial (Shinkay *et al.*, 2001). Através da MLP, observou-se diferenças que foram estatisticamente significantes

(Tabela 6 e Gráfico 4). Os adesivos SB e SE não possuem agentes anticariogênicos e antimicrobianos, e tiveram o mesmo desempenho frente ao desafio cariogênico *in vitro* não diferindo estatisticamente entre si. Já o adesivo OF apresentou uma das maiores extensões de lesão de cárie (Figura 24), apesar de possuir fluoreto em sua composição. Assim, especula-se que o desempenho do material foi devido às características do próprio adesivo (Raws, 1991; Hara *et al.*, 2005) e pelo tipo de fluoreto incorporado à partícula de carga, neste caso, partículas de fluoroaluminossilicato. O adesivo OF é considerado autocondicionante de passo único, tendo ao mesmo tempo o papel de desmineralização (ácido), infiltração (*"primer"*) e união (*"bond"*) aos tecidos dentais, o que torna o procedimento adesivo limitado. Ele promove a formação da união com uma camada híbrida permeável e pouca duradoura (Koshiro *et al.*, 2005). O fator relacionado a esse fato é que este adesivo possui muita água em sua composição, tornando a união bastante prejudicada (Yoshida & Uno, 2004) e susceptível à degradação. Os adesivos autocondicionantes de passo único agem como membranas permeáveis permitindo a passagem de água pela interface restauradora, comprometendo assim, o desempenho clínico da restauração e levando à degradação precoce da união (Tay *et al.*, 2004).

A liberação de fluoreto do adesivo contendo partículas de vidro de fluoroaluminossilicato é semelhante à liberação ocorrida pelo cimento de ionômero de vidro. Para os cimentos ionoméricos, há uma alta liberação inicial nas primeiras 24 horas, devido à liberação imediata de fluoreto das partículas de vidro quando reagem com o ácido polialcenóico durante a reação de presa (Wiegand *et al.*, 2006). Após essa alta liberação inicial, a liberação de fluoreto ocorre lentamente e a por prolongado tempo, isto ocorre quando os vidros são dissolvidos na água acidificada da matriz hidrogel (De Moor *et al.*, 1996). Mas devemos levar em consideração que no cimento de ionômero de vidro ocorre uma reação com o ácido polialcenóico, que favorece a reação e que não ocorre nos adesivos. Para os sistemas adesivos estas partículas podem ficar encapsuladas na matriz polimerizada, não sendo possível sua liberação. Apesar do adesivo OF formar

uma camada pouco permeável, que facilitaria a liberação de fluoretos, a retenção das partículas na matriz pode ter contribuído para a performance deste adesivo. Outros autores acreditam que estas partículas possam ser liberadas ao longo do tempo (Wiegand *et al.*, 2006).

O adesivo PB teve um desempenho significativo na MLP produzindo menor lesão de cárie *in vitro*. Assim, como no estudo *in situ*, não houve diferença estatística significativa entre os adesivos SE e PB. Apesar da menor formação de lesão de cárie, a influência do brometo provavelmente não ocorreu, pois o efeito de antibacteriano somente ocorre na presença de microrganismos, o que não foi simulado neste estudo. Também não observamos uma inibição da lesão de parede (Figuras 21 e 22). A interferência nos processos de desmineralização e de remineralização (Featherstone *et al.*, 1994) pode ter ocorrido em virtude da presença de partículas de fluoreto que podem ser melhor observadas nas imagens de MEV (Figura 29B) deste estudo (Reis, 2005; Tay *et al.*, 2002; Sano, 2006). Assim, muita atenção tem sido dada aos materiais contendo fluoreto, principalmente aos adesivos pela sua posição estratégica na restauração (Hara *et al.*, 2002).

Atualmente, há muitos materiais restauradores contendo fluoreto, como ionômeros de vidro, resinas modificadas por ionômero de vidro, resinas compostas e mesmo sistemas adesivos. Devido suas diferentes matrizes e mecanismo de presa, os produtos variam na capacidade de liberação de fluoreto. No entanto, as propriedades antibacterianas e cariostáticas são freqüentemente associadas com a quantidade de fluoreto liberado (Wiegand *et al.*, 2006).

As resinas compostas e sistemas adesivos podem conter fluoreto em várias formas como sais inorgânicos, vidros ou fluoreto orgânico. No entanto, não somente a quantidade de liberação de fluoreto, mas o tipo e tamanho das partículas fluoretadas, o tipo de resina e a porosidade do material podem ser importantes fatores que contribuem para a liberação de fluoreto. Essa liberação aumenta com a hidrofiliabilidade e as características ácidas dos monômeros (Wiegand *et al.*, 2006). Três diferentes abordagens para o desenvolvimento de

materiais que liberam fluoreto têm sido discutidas incluindo a adição de sais solúveis como o NaF ou SnF_2 , sistemas de carga que liberam fluoreto ou fluoreto ligado a matriz (Arends *et al.*, 1995).

A incorporação de fluoreto inorgânico, como o NaF adicionado ao adesivo PB, tem resultado no aumento da liberação de fluoretos. A dispersão dos vidros lixiviáveis ou sais solúveis de fluoretos no monômero permitem a difusão dos fluoretos solúveis em água do material para o meio local. Entretanto o fluoreto já é liberado durante a reação de polimerização seguida por uma pequena quantidade de fluoreto liberado ao longo do tempo (Wiegand *et al.*, 2006). Isso pode explicar parte do desempenho do adesivo PB, que promoveu menor perda mineral nas camadas mais superficiais. Mas especula-se que essa liberação seja muito pequena ao longo do tempo (Wiegand *et al.*, 2006). Estudos adicionais comparando a liberação de fluoretos e brometos com a extensão da lesão de cárie formada são necessários para confirmação dessa especulação.

As observações em MEV (Figuras 23 a 26) mostraram a presença de extensa desmineralização do esmalte dental, caracterizando a lesão de cárie dental incipiente. O padrão de desmineralização da superfície cariada do SE foi visualmente mais agressivo entre os prismas quando comparado ao padrão da superfície cariada para o adesivo PB, confirmando os resultados encontrados no estudo de MEV *in situ* e na MLP *in vitro*. Os adesivos SB e OF também apresentaram um padrão de desmineralização interprismático bastante acentuado. Esta comparação foi apenas ilustrativa, pois não se mediu a extensão da lesão de cárie, bem como, não se realizou análise estatística dos dados.

A posição dos prismas de esmalte, nas paredes circundantes do preparo cavitário era perpendicular, que tornou difícil a observação da formação da camada híbrida. Porém, nota-se, em maior aumento, que o adesivo SB (Figura 27B) apresenta maior infiltração dos monômeros entre os prismas de esmalte dental. Isto ocorre porque este sistema necessita de condicionamento com ácido fosfórico para remoção mineral, o que facilita a infiltração dos monômeros, além de promover formação da camada híbrida mais espessa (Perdigão & Geraldini,

2003). A técnica de condicionamento desmineraliza o esmalte e a dentina em uma profundidade de 3 a 7 μm (Perdigão et al., 1996; Hannig et al., 2002). Os trabalhos mostram uma união durável e estável ao esmalte, porém é uma técnica sensível para adesão à dentina (Tay et al., 1996b; Ferrari & Tay, 2003).

Pode-se observar uma deficiente união entre o esmalte e o sistema adesivo autocondicionante de passo único OF (Figura 28), que pode ter resultado em maior extensão de cárie nesse sistema, como já discutido anteriormente, principalmente devido à falta de selamento marginal promovido pelo adesivo. O pH desse sistema adesivo segundo informações do fabricante é aproximadamente 2,6, considerado moderado e para estrutura do esmalte não tem um potencial de ionização para condicioná-lo adequadamente.

Os adesivos SE e PB tiveram um padrão semelhante (Figura 29), devido a similar composição monomérica para ambos os materiais. Os *primers* autocondicionantes são amplamente aceitos para adesão em dentina, mas ainda existem controvérsias quanto à adesão ao esmalte (Perdigão et al., 1997; Ibarra et al., 2002; Perdigão & Geraldini, 2003). Isto ocorre, principalmente, devido aos *primers* autocondicionantes produzirem um padrão desmineralização menor que os sistemas adesivos com condicionamento ácido prévio (Perdigão et al., 1997; Hannig et al., 2002). SE e PB *primer* são compostos por um monômero ácido MDP, responsável pela simultânea desmineralização e infiltração nos substratos dentais. O pH destes *primers* tem sido descrito ser 2,0 (Pashley & Tay, 2001), enquanto o pH do ácido fosfórico a 37% é aproximadamente 0,7 (Breschi et al., 1999). A capacidade do *primer* autocondicionante em desmineralizar os substratos dentais é considerada reduzida, quando comparada com soluções ácidas mais agressivas (Perdigão et al., 1997; Pashley & Tay, 2001; Perdigão & Geraldini, 2003). Quando os adesivos autocondicionantes são aplicados curtos “tags” de resina são formados. Hashimoto et al. (2003) mostraram uma infiltração de 0,6 a 0,7 μm no esmalte, utilizando Microscopia eletrônica de transmissão.

Comparando os estudos *in situ* e *in vitro* podemos notar uma menor desmineralização para o estudo *in situ* dos espécimes restaurados. Portanto, a

cárie pode ser controlada de maneira mais eficiente, quando associada à presença de outros fatores, como a saliva, o uso de dentifrícios fluoretados (Murrer *et al.*, 1994; Nobre dos Santos *et al.*, 1998; Cury, 2001; Paes-Leme *et al.*, 2004) e ao fluoreto liberado pelo material. Além disso, através do estudo *in situ* pode-se avaliar os efeitos dos agentes antibacterianos exercidos pelo brometo e pelo fluoreto, na presença de bactérias causadoras da cárie dental (Imazato *et al.*, 1995; 1999; 2000, 2001; 2003a, 2003b; 2004; 2005; Kuramoto *et al.* 2005).

7 Conclusões

De acordo com as condições do presente estudo e com base na análise estatística aplicada aos resultados obtidos, pode ser concluído que:

- No estudo *in situ*, após os tratamentos houve uma maior % volume mineral na primeira profundidade (20µm) para o esmalte adjacente ao adesivo PB;
- Para a MLP, observou-se inibição da lesão de cárie na parede cavitária para o adesivo PB, entretanto não houve completa inibição da formação da lesão de cárie no estudo *in situ*. Para o adesivo SE a lesão de cárie formou-se no esmalte mais próximo à restauração;
- Em MEV houve maior área desmineralizada interprismática para o adesivo SE quando comparado ao PB no estudo *in situ*;
- Também no estudo *in situ*, o padrão da interface de união manteve-se semelhante por se tratar de adesivos com a similar composição monomérica e pH;
- Para o estudo *in vitro*, a % volume mineral não apresentou diferença estatística significativa entre todos os adesivos estudados;
- Houve maior extensão da lesão de cárie *in vitro* para o esmalte adjacente aos adesivos SB e OF, quando comparados ao adesivo PB em MLP. Para o esmalte adjacente às restaurações com SE não houve diferença estatística significativa entre os demais adesivos;
- As MEV do estudo *in vitro* mostram que o esmalte adjacente ao adesivo PB apresentou menor desmineralização entre os prismas de esmalte quando comparados aos demais adesivos estudados;
- Na análise das interfaces de união *in vitro* observou-se um padrão de infiltração e camada híbrida mais espessa para o adesivo SB; uma camada menos espessa para o adesivo de passo único OF e similaridade para os adesivos SE e PB;

- O adesivo PB que contém fluoreto e brometo em sua composição apresentou um desempenho relativamente melhor quando comparado aos outros adesivos estudados, tanto *in vitro* quanto *in situ*.

Referências*

Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM. Efficacy of sterilization methods and their effect on enamel demineralization. **Caries Res.** 1998; 32: 441-46.

Arends J, Dijkman GE, Dijkman AG. Review of fluoride release and secondary caries reduction by fluoridating composites. **Adv Dent Res.** 1995; 9: 367-76.

Asmussen E, Munksgaard EC. Bonding of restorative materials to dentine: status of dentine adhesives and impact on cavity design and filling techniques. **Int Dent J.** 1998; 38: 97-104.

Basting RT, Serra MC, Rodrigues JR. *In situ* microhardness evaluation of glass-ionomer/composite resin hybrid materials at different post-irradiation times. **J Oral Rehabil.** 2002; 29: 1187-95.

Bauer JG, Henon JL. Microleakage: a measure of the performance of direct filling materials. **Oper Dent** . 1984; 9: 2-9.

Benelli EM, Serra MC, Rodrigues AR. Jr, Cury JA. *In situ* anticariogenic potencial of glass-ionomer cement. **Caries Res.** 1993; 21: 280-88.

Breschi L, Perdigão J, Mazzotti G. Ultramorphology and shear bond strengths of self-etching adhesives on enamel (Abstract 2957) **J Dent Res.** 1999; 78: 475.

Buonocore MG. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. **J Dent Res.** 1955; 34(6): 849-53.

* De acordo com a UNICAMP/FOP. Baseado no modelo Vancouver. Abreviaturas dos periódicos em conformidade com Medline

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

Buonocore MG, Matsui A, Gwinnett AJ. Penetration of resin into enamel surfaces with reference to bonding. *Arch Oral Biol*. 1968; 13: 61-70.

Caldwell RC, Muntz ML, Gilmore RW, Pigman W. Microhardness studies of intact surface enamel. *J Dent Res*. 1957; 36(5): 732-8.

Cardoso PE, Sadek FT, Goracci C, Ferrari M. Adhesion testing with the microtensile method: effects of dental substrate and adhesive system on bond strength measurements. *J Adhes Dent*. 2002; 4(4): 291-7.

Carlstrom D, Glas JE, Angmar B. Studies on the ultrastructure of dental enamel. V. The state of water in human enamel. *J Ultrastruct Res*. 1963; 8: 24-9.

Carvalho RM, Carrilho MRO, Perreira LCG, Garcia FCP, Marquezini JI, Silva SMA. Sistemas adesivos: fundamentos para a aplicação clínica. *Biodonto*. 2004; 2(1): 1-89.

Çehereli ZC. Antimicrobial properties of self-etching primer-bonding systems. *Oper Dent*. 2003; 28 (2): 143-148.

Clarkson JJ, Hardwick K, Barmes D. International collaborative research on fluoride. *J Dent Res*. 2000; 79(4): 893-904.

Clarkson JJ, McLoughlin J. Role of fluoride in oral health promotion. *Int Dent J*. 2000; 50: 119-26.

Council of Dental Therapeutics. Guidelines for the acceptance of fluoride-contains dentifrices. *J Am Dent Ass*. 1985; 110: 545-56.

Crabb HS. The pattern of mineralization of human dental enamel. **Proc R Soc Med.** 1959; 52(2): 118-22.

Crabb HS, Darling AI. The gradient of mineralization in developing enamel. **Arch Oral Biol.** 1960; 2: 308-18.

Cury JA. Uso do flúor e controle da cárie como doença. *In*: Baratieri LN *et al.* **Odontologia Restauradora.** São Paulo, Santos, 2001; 33-68.

Cury JA, Francisco SB, Del Bel Cury AA, Tabchoury CP. *In situ* study of sucrose exposure, mutans streptococci in dental plaque and dental caries. **Braz Dent J.** 2001; 12(2): 101-4.

Cury JA, Rebelo MA, Del Bel Cury AA. *In situ* relationship between sucrose exposure and the composition of dental plaque. **Caries Res.** 1997; 31(5): 356-60.

Cury JA, Rebelo MA, Del Bel Cury AA, Derbyshire MT, Tabchoury CP. Biochemical composition and cariogenicity of dental plaque formed in the presence of sucrose or glucose and fructose. **Caries Res.** 2000; 34: 491-7.

Darling AI, Mortimer KV, Poole DF, Ollis WD. Molecular sieve behaviour of normal and carious human dental enamel. **Arch Oral Biol.** 1961; 5: 251-73.

De Goes MF. Materiais e técnicas restauradoras. Como escolher e aplicar os materiais dentários. *In*: Cardoso RJA, Gonçalves EAN. **Dent Laser.** São Paulo: Artes Médicas; 2001. v1, cap. 6, p. 115-31.

Delbem ACB, Cury JA. Effect of application time of APF and NaF gels on microhardness and fluoride uptake of *in vitro* enamel caries. **Am J Dent.** 2002; 15(3): 169-72.

De Moor RJ, Verbeeck RM, De Maeyer EA. Fluoride release profiles of restorative glass ionomer formulations. **Dent Mater** 1996; 12: 88-95.

De Munck J, Van Meerbeek B, Satoshi I, Vargas M, Yoshida Y, Armstrong S *et al*. Microtensile bond strengths of one- and two-step self-etch adhesives to bur-cut enamel and dentin. **Am J Dent**. 2003; 16(6): 414-20.

Dias WR, Pereira PN, Swift EJ Jr. Effect of surface preparation on microtensile bond strength of three adhesive systems to bovine enamel. **J Adhes Dent**. 2004; 6(4): 279-85.

Dijkman AG, Schuthof J, Arends J. *In vivo* remineralization of plaque-induced initial enamel lesions - a microradiographic investigation. **Caries Res**. 1986; 20: 202-8.

Downer MC. Caries prevalence in the United Kingdom. **Int Dent J**. 1994; [Suppl. 1] 365-70.

Downer MC. The caries decline: a comment in light of the UK experience. **Eur J Oral Sci**. 1996; 104: 433-5.

Duggal MS, Toumba KJ, Amachi BT, Kowash MB, Higham SM. Enamel demineralization *in situ* with various frequencies of carbohydrate consumption with and without fluoride toothpaste. **J Dent Res**. 2001; 80(8): 1721-4.

Edmunds DH, Whittaker DK, Green RM. Suitability of human, bovine, equine and ovine tooth enamel for studies of artificial bacterial carious lesions. **Caries Res**. 1988; 22: 327-36.

Erickson RL. Mechanism and clinical implications of bond formation for two dentin bonding agents. **Am J Dent**. 1989; 2 Spec No:117-23.

~~Estoe~~ JE. The Amino Acid Composition of Proteins from the Oral Tissues II. The Matrix Proteins in Dentine and Enamel from Developing Human Deciduous Teeth. **Arch Oral Biol.** 1963; 52: 633-52.

Exterkate RAM, Damen JJM, Ten Cate JM. Effect of fluoride-releasing filling materials on underlying dentinal lesions *in vitro*. **Caries Res.** 2005; 39: 509-13.

Fan PL, Seluk LW, O'Brien WJ. Penetrability of sealants: I. **J Dent Res.** 1975; 54(2): 262-4.

FDI/WHO. Changing patterns of oral health and implications for oral health manpower: Part I. **Int Dent J.** 1985; 35: 235-51.

Featherstone JDB *et al.* Enhancement of remineralisation *in vitro* and *in vivo*. In: Leach AS, Edgar WM. **Factors relating to demineralisation and remineralisation of the teeth**. Oxford: IRL Press; 1986. p. 243-50.

Featherstone JDB. Fluoride, remineralization and root caries. **Am J Dent.** 1994; 7: 271-4.

~~Featherstone~~ JDB, Ten Cate JM, Shariati M, Arends J. Comparison of artificial caries-like lesions by quantitative microradiography and microhardness profiles. **Caries Res.** 1983; 17: 385-91.

Fejerskov O, Clarkson BH. Dynamics of caries lesion formation. In: Fejerskov O, Ekstrand J, Burt BA, editors. **Fluoride in dentistry**. Copenhagen: Munksgaard; 1996. p.187-213.

Ferrari M, Tay FR. Technique sensitivity in bonding to vital, acid-etched dentin. **Oper Dent.** 2003; 28:3-8.

Frank RM, Sognnaes RF. Electron microscopy of matrix formation and calcification in rat enamel. **Arch Oral Biol.** 1960; 1: 339-48.

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.

Fushida CE, Cury JA. Estudo *in situ* da frequência de ingestão de coca-cola na erosão do esmalte-dentina e reversão pela saliva. **Rev Odontol Univ São Paulo** 1999; 13(2): 127-34.

Gilmour ASM, Edmunds DH. The polarized light microscope appearance of caries-like lesions adjacent to restored cavities in the crowns and roots of extracted human teeth. **J Oral Rehabil.** 1998; 25: 929-39.

Gilmour ASM, Edmunds DH, Dummer MH. The production of secondary caries-like lesions on cavity walls and the assessment of microleakage using an *in vitro* microbial caries system. **J Oral Rehab.** 1990; 17: 573-8.

Glass RL, editor. The first international conference on the declining prevalence of dental caries. **J Dent Res.** 1982; 61 [Spec Iss]: 1301-83.

Gray JA, Francys MD. Physical chemistry of enamel dissolution. *In*: Sognnaes RF, editor. **Mechanisms of Hard Tissue Destruction.** Washington: AAAS; 1963. p. 213-60.

Gwinnett AJ. Histologic changes in human enamel following treatment with acidic adhesive conditioning agents. **Arch Oral Biol.** 1971; 16(7):731-8.

Gwinnett AJ. Normal enamel. I. Quantitative polarized light study. **J Dent Res.** 1966a; 45(1):120-7.

Gwinnett AJ. Normal enamel. II. Qualitative polarized light study. *J Dent Res*. 1966b; 45(2):261-5.

Gwinnett AJ. Structure and composition of enamel. *Oper Dent*. 1992; Suppl 5:10-7.

Gwinnett AJ. The ultrastructure of the "prismless" enamel of permanent human teeth. *Arch Oral Biol*. 1967; 12(3): 381-8.

Gwinnett AJ, Buonocore MG. Adhesives and Caries Prevention; a Preliminary Report. *Br Dent J*. 1965; 119: 77-80.

Gwinnett AJ, Kanca J, 3rd. Micromorphological relationship between resin and dentin *in vivo* and *in vitro*. *Am J Dent*. 1992; 5(1): 19-23.

Gwinnett AJ, Matsui A. A study of enamel adhesives. The physical relationship between enamel and adhesive. *Arch Oral Biol*. 1967; 12(12): 1615-20.

Hagger O. British patent 6872299. 1952.

Hagger O. Swiss patent 278946. 1951.

Hamilton IR, Bowden GH. Effect of fluoride on oral microorganisms. *In*: Thylstrup Fejerskov O, Silverstone LM. *Fluoride in dentistry*. Munksgaard: [s.n.]; 1988, p.77-103.

Han L, Cruz E, Okamoto A, Iwaku M. A comparative study of fluoride-releasing adhesive resin materials. *Dent Mat J*. 2002; 21: 9-19.

Hannig M, Bock H, Bott B, Hoth-Hannig W. Inter-crystallite nanoretention of self-etching adhesives at enamel imaged by transmission electron microscopy. **Eur J Oral Sci.** 2002; 110(6): 464-70.

Hannig M, Reinhardt KJ, Bott B. Self-etching primer vs phosphoric acid: an alternative concept for composite-to-enamel bonding. **Oper Dent.** 1999; 24(3): 172-80.

Hara AT, Amaral CM, Pimenta LA, Sinhoreti MA. Shear bond strength of hydrophilic adhesive systems to enamel. **Am J Dent.** 1999; 12(4): 181-4.

Hara AT, Magalhães CS, Serra MC, Rodrigues Jr AL. Cariostatic effect of fluoride-containing restorative systems associated with dentifrices on root dentin. **J Dent.** 2002; 30: 205-12.

Hara AT, Queiroz CS, Giannini M, Cury JA, Serra MC. Influence of the mineral content and morphological pattern of artificial root caries lesion on composite resin bond strength. **Eur J Oral Sci.** 2004; 112(1): 67-72.

Hara AT, Queiroz CS, Giannini M, Serra MC, Cury JA. Fluoride release and secondary caries inhibition by adhesive systems on root dentine. **Eur J Oral Sci.** 2005; 113: 245-50.

Hashimoto M, Ohno H, Yoshida E, Hori M, Sano H, Kaga M *et al.* Resin-enamel bonds made with self-etching primers on ground enamel. **Eur J Oral Sci.** 2003; 111(5): 447-53.

Hausen H. Caries prediction - state of the art. **Community Dent Oral Epidemiol.** 1997; 25: 87-96.

Hayacibara MF, Queiroz CS, Tabchoury CPM, Cury JA. Fluoride and aluminium in teas, tea-based beverages and herbal-teas. *Rev Saúde Pública*. 2004, 38(1): 100-105.

Heintze SD, Radl A, Salz U, Rheinberger V. The effectiveness of a self-etching adhesive for fissure sealings [abstract 1421]. *J Dent Res*. 1998; 77:809.

Herkströter FM, Witjes M, Arends J. Demineralization of human dentine compared with enamel in a pH -cycling apparatus with a constant composition during de- and remineralization periods. *Caries Res*. 1991; 25: 317-22.

Hsu CY, Donly KJ, Drake DR, Wefel JS. Effects of aged fluoride-containing restorative materials on recurrent root caries. *J Dent Res*. 1998; 77: 418-25.

Ibarra G, Vargas MA, Armstrong SR, Cobb DS. Microtensile bond strength of self-etching adhesives to ground and unground enamel. *J Adhes Dent*. 2002; 4(2): 415-424.

Imazato S. Antibacterial properties of resin composites and dentin bonding systems. *Dent Mat*. 2003; 19: 449-57.

Imazato S, Ebi N, Takahashi Y, Kaneko T, Ebisu S, Russell RRB. Antibacterial activity of bactericide-immobilized filler for resin-based restoratives. *Biomaterials*. 2003a; 24: 3605-9.

Imazato S, Ebi N, Tarumi H, Russell RR, Kaneko T, Ebisu S. Bactericidal activity and cytotoxicity of antibacterial monomer MDPB. *Biomaterials* 1999; 20(9): 899-903.

Imazato S, Kinomoto Y, Tarumi H, Tay FR. Antibacterial activity and bonding characteristics of and adhesive resin containing antibacterial monomer MDPB. **Dent Mat.** 2003b; 19(4): 313-9.

Imazato S, Kuramoto A, Takahashi Y, Ebisu S, Peters MC. *In vitro* antibacterial effects of the dentin primer of Clearfil Protect Bond. **Dent Mat.** 2005. No prelo.

Imazato S, McCabe JF. Influence of incorporation of antibacterial monomer on curing behavior of a dental composite. **J Dent Res.** 1994; 73(10): 1641-5.

Imazato S, Russell RRB, McCabe JF. Antibacterial activity of MDPB polymer incorporated in dental resin. **J Dent.** 1995; 23(3): 177-81.

Imazato S, Tarumi H, Ebi N, Ebisu S. Cytotoxic effects of composite restorations employing self-etching primers or experimental antibacterial primers. **J Dent.** 2000; 61-67.

Imazato S, Torii Y, Takatsuka T, Inoue K, Ebi N, Ebisu S. Bactericidal effect of dentin *primer* containing antibacterial monomer methacryloyloxydodecylpyridinium bromide (MDPB) against bacteria in human carious dentin. **J Oral Rehabil.** 2001; 28(4): 314-9.

Inoue S, Vargas MA, Abe Y, Yoshida Y, Lambrechts P, Vanherle G, *et al.* Microtensile bond strength of eleven contemporary adhesives to enamel. **Am J Dent.** 2003; 16(5): 329-34.

Itota T, Nakabo S, Iwai Y, Konishi N, Nagamine M, Torii Y. Inhibition of artificial secondary caries by fluoride-releasing adhesives on root dentin. **J Oral Rehabil.** 2002; 29: 523-7.

Itthagarun A, King NM, Wefel JS, Tay FR, Pashley DH. The effect of fluoridated and non-fluorited rewetting agents on *in vitro* recurrent caries. **J Dent.** 2001; 29: 225-73.

Jendresen MD, Glantz PO, Baier RE, Eick JD. Microtopography and clinical adhesiveness of an acid etched tooth surface. An *in vivo* study. **Acta Odontol Scand.** 1981; 39(1): 47-53.

Kanemura N, Sano H, Tagami J. Tensile bond strength to and SEM evaluation of ground and intact enamel surfaces. **J Dent.** 1999; 27(7): 523-30.

Keyes PH. Recent advances in dental research. bacteriology. **Int Dent J.** 1962; 12(4): 443-64.

Kidd EA, Toffenetti F, Mjor IA. Secondary caries. **Int Dent J.** 1992; 42: 127-32.

Koshiro K, Sidhu SK, Inoue S, Ikeda T, Sano H. New concept of resin-dentin interfacial adhesion: the nanointeraction zone. **J Biome Mater Res.** 2006; 77: 401-8.

Koulourides T, Chien MC. The ICT *in situ* experimental model in dental research. **J Dent Res.** 1992; 71: 822-8.

Koulourides T, Phantumvanit P, Munksgaard EC, Housil T. An intraoral model used for studies of fluoride incorporation in enamel. **J Oral Pathol.** 1974; 3: 185-95.

Kourai H, Hasegawa Y, Goto S, Nakagawa K. Bacterioclastic action of dodecypyridinium iodide against Escherichia coli K12W3110. **J Antibact Antifung Agents.** 1994; 22: 461-8.

Kramer IRH, Mclean JW. Alterations in the staining reactions of dentine resulting from a constituent of a new self-polymerizing resin. **Br Dent J**. 1952; 92:150-3.

Kugel G, Ferrari M. The science of bonding: from first to sixth generation. **J Am Dent Assoc**. 2000; [Suppl 20S-5S]: 131.

Kuramoto A, Imazato S, Walls AWG, Ebisu S. Inhibition of root caries progression by on antibacterial adhesive. **J Dent Res**. 2005; 84(1): 89-93.

Loesche WJ. The rationale for caries prevention through the use of sugar substitutes. **Int Dent J**. 1985; 35: 1-8.

Lopes GC, Marson FC, Vieira LC, de Caldeira AM, Baratieri LN. Composite bond strength to enamel with self-etching primers. **Oper Dent**. 2004; 29(4): 424-9.

Lyon DG, Darling AI. Orientation of the crystallites in human dental enamel (I). **Br Dent J**. 1957; 102: 483-8.

Mandell ID. Chemotherapeutic agents for controlling plaque and gingivitis. **J Clin Periodontol**. 1988; 15: 488-98.

Marcenes W, Freysleben GR, Peres MAA. Contribution of changing diagnostic criteria toward reduction of caries between 1971 and 1997 in children attending the same school in Florianopolis, Brazil. **Comm Dent Oral Epidemiol**. 2001; 29: 449-55.

Marsh PD. Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. **Adv Dent Res**. 1994; 8(2): 263-71.

Marsh PD. The role of microbiology in models of dental caries. **Adv Dent Res.** 1995; 9(3): 244-54.

Marsh PD, Bradshaw DJ. The effect of fluoride on the stability of oral bacterial communities *in vitro*. **J Dent Res.** 1990; 69: Special Issue, 668-71.

Marthaler TM, O'Mulane DM, Vrbick V. The prevalence of dental caries in Europe 1990-1995. **Caries Res.** 1996; 30: 237-55.

Meckel AH, Griebstein WJ, Neal RJ. Structure of mature human dental enamel as observed by electron microscopy. **Arch Oral Biol.** 1965; 10(5): 775-83.

Miller RA. Laboratory and clinical evaluation of a self-etching primer. **J Clin Orthod.** 2001; 35(1): 42-5.

Mjör IA. Glass-ionomer cement restorations and secondary caries: a preliminary report. **Quintessence Int.** 1996; 27: 171-4.

Moll K, Gartner T, Haller B. Effect of moist bonding on composite/enamel bond strength. **Am J Dent.** 2002; 15(2): 85-90.

Mukai Y, Ten Cate JM. Remineralization of advanced root dentin lesions *in vitro*. **Caries Res.** 2002; 36: 275-80.

Murrer RD, Decico HM, Cury JA. Efeito de dentifrício fluoretado no desenvolvimento de cárie secundária - Estudo *in situ*. **Soc Bras Pesqui Odontol.** 1994; 11: 12-8.

Nadanovsky P, Sheiham A. Relative contribution of dental services to changes in caries levels of 12-year-old children in 18 industrialized countries in the 1970s and early 1980s. **Comm Dent Oral Epid.** 1995; 331-9.

Nagamine M, Itota T, Torii Y, Irie M, Staninec M, Inoue K. Effect of resin-modified glass ionomer cements on secondary caries. **Am J Dent.** 1997; 10(4): 173-178.

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

Nakabayashi N, Nakamura M, Yasuda N. Hybrid layer as a dentin-bonding mechanism. **J Esthet Dent.** 1991; 3(4): 133-8.

Nakabayashi N, Pashley DH. **Hybridization of dental hard tissue.** Tokyo: Quintessence Publishing Co.; 1998. p. 8-9.

Nakabayashi N, Saimi Y. Bonding to intact dentin. **J Dent Res.** 1996; 75(9): 1706-15.

Narvai PC, Frazão P, Castellanos RA. Declínio na experiência de cárie em dentes permanentes de escolares brasileiros no final do século XX. **Odontologia e Sociedade.** 1999; 1(1/2): 25-9.

Nobre dos Santos M, Cury JA. Dental plaque fluoride is lower after discontinuation of water fluoridation. **Caries Res.** 1988; 22(5): 316-7.

Osborn JW. The nature of the Hunter-Schreger bands in enamel. **Arch Oral Biol.** 1965; 10(6): 929-35.

Paes Leme AF, Dalcico R, Tabchoury CPM, Del Bel Cury AA, Rosalen PL, Cury JA. Effect of fluoridated dentifrice and acidulated phosphate fluoride application on early artificial carious lesions. **Am J Dent.** 2003; 16: 91-5.

Paes Leme AF, Dalcico R, Tabchoury CPM, Del Bel Cury AA, Rosalen PL, Cury JA. *In situ* effect of frequent sucrose exposure on enamel demineralization and on plaque composition after APF application and F dentifrice use. **J Dent Res.** 2004; 83(1): 71-5.

Parsell DE, Stewart BM, Barker JR, Nick TG, Karns L, Johnson RB. The effect of steam sterilization on the physical properties and perceived cutting characteristics of extracted teeth. **J Dent Educ.** 1998; 62(3): 260-3.

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

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

Pashley DH, Tao L, Boyd L, King GE, Horner JA. Scanning electron microscopy of the substructure of smear layers in human dentine. **Arch Oral Biol.** 1988; 33(4): 265-70.

Pashley DH, Tay FR. Aggressiveness of contemporary self-etching adhesives. Part II: etching effects on unground enamel. **Dent Mater.** 2001; 17(5): 430-44.

Pecharki GD, Cury JA, Paes Leme AF, Tabchoury CPM, Del Bel Cury, AA, Rosalen PL *et al.* Effect of sucrose containing iron (II) on dental biofilm and enamel demineralization *in situ*. **Caries Res.** 2005; 39: 123-9.

Perdigão J, Geraldeli S. Bonding characteristics of self-etching adhesives to intact versus prepared enamel. **J Esthet Restor Dent.** 2003; 15(1): 32-41.

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

Perdigão J, Lopes L, Lambrechts P, Leitao J, Van Meerbeek B, Vanherle G. Effects of a self-etching primer on enamel shear bond strengths and SEM morphology. **Am J Dent**. 1997; 10(3): 141-6.

Peterson HG, Bratthall D. The caries decline: a review of reviews. **Eur J Oral Sci**. 1996; 104: 436-43.

Poole DF, Tailby PW, Berry DC. The Movement of water and other molecules through Human Enamel. **Arch Oral Biol**. 1963; 38: 771-2.

Reis AF. **Avaliação da resistência de união, nanoinfiltração e propriedades físicas de sistemas adesivos: comportamento ao longo do tempo**. [Tese]. Piracicaba: FOP/UNICAMP; 2005.

Reis AF, Giannini M, Ambrosano GMB, Chan DCN. The effects of filling technique and a low-viscosity composite liner on bond strength to class II cavities. **J Dent**. 2003; 31(1): 59-66.

Reis AF, Giannini M, Kavaguchi A, Soares CJ, Line SRP. Comparison of microtensile bond strength to enamel and dentin of human, bovine and porcine teeth. **J Adhes Dent**. 2004; 6(2): 117-21.

Rawls HR. Preventive dental materials: sustained delivery of fluoride and other therapeutic agents. **Adv Dent Res**. 1991; 5: 50-5.

Retief DH, Bischoff J, Van Der Merwe EH. Pyruvic acid as an etching agent. *J Oral Rehabil.* 1976; 3(3): 245-65.

Retief DH, Busscher HJ, de Boer P, Jongebloed WL, Arends J. A laboratory evaluation of three etching solutions. *Dent Mater.* 1986; 2(5):202-6.

Ripa LW, Gwinnett AJ, Buonocore MG. The "prismless" outer layer of deciduous and permanent enamel. *Arch Oral Biol.* 1966; 11(1): 41-8.

Rodrigues LKA, Pinto TJA, Ferrarini M, Rosalen PL, Cury JA, Santos MND. Validação de uma dose para esterilização dental usando radiação gama e análise de seu efeito na microdureza do esmalte. In: *Anais da 20ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica*, 2003 Águas de Lindóia, São Paulo: SBPqO, 2003. pag. 18. [Resumo O10].

Ronnholm E. The amelogenesis of human teeth as revealed by electron microscopy. II. The development of the enamel crystallites. *J Ultrastruct Res.* 1962; 6: 249-303.

Ruyter IE. The chemistry of adhesive agents. *Op Dent.* 1992; [Suppl 5]: 30-43.

Sano H. Factors affecting the acquisition and maintenance of the hybrid layer on dentin. In: *International American Dental Research*, 2006. IADR, Australia, Brisbane [Short communication]. Disponível em: URL: <http://www.iadr.com/> [2006 Jun 12].

Santos AJ, Giannini M, Paulillo L.A.M.S, Lovadino JR, Carvalho RM. Effect of irradiation mode and filling technique on resin/dentin bonding strength in class I cavities. *Braz Oral Res.* 2004; 18(3):260-5.

Sato M, Miyazaki M. Comparison of depth of dentin etching and resin infiltration with single-step adhesive systems. **J Dent**. 2005; 33: 475-84.

Savarino L, Breschi L, Tedaldi M, Ciapetti P, Tarabussi C, Greco M, *et al*. Ability of restorative and fluoride releasing materials to prevent marginal dentine demineralization. **Biomaterials** 2004; 25: 1011-7.

Scheie AA. Modes of action of currently known chemical anti-plaque agents other than chlorhexidine. **J Dent Res**. 1989; 68: 1609-16.

Serra MC. **Estudo in vitro do desenvolvimento de carie em esmalte adjacente a materiais restauradores contendo flúor**. [Tese]. Bauru: Faculdade de Odontologia de Bauru/ USP; 1995.

Serra MC, Cury JA. The *in vitro* effect of glass-ionomer cement restoration on enamel subjected to a demineralization and remineralization model. **Quintessence Int**. 1992; 23(2): 143-47.

Serra MC, Pimenta LAF, Paullilo LAMS, Kriger L. Capítulo. *In*: Kriger L, coordenador. **ABOPREV - Promoção de Saúde Bucal**. São Paulo: Artes Médicas; 1999. cap. 11, 201-53.

Scott DB, Wyckoff RW. The study of enamel by electron microscopy. **J Am Dent Assoc**. 1952; 44(4): 377-85.

Sharawy M, Yaeger JA. Esmalte. *In*: Braskar SN. **Histologia e Embriologia de Urban**. São Paulo: Artes Médicas; 1989. p. 51 -110.

Sheiham A. Dietary effects on dental diseases. **Public Health Nutr**. 2001, 4(2B): 569-91.

Sheiham A. Why free sugar consumption should be below 15 kg per person per year in industrialized countries: the dental evidence. **Br Dent J.** 1993; 20: 63-5.

Shimada Y, Iwamoto N, Kawashima M, Bunow MF, Tagami J. Shear bond strength of current adhesive systems to enamel, dentin and dentin-enamel junction region. **Oper Dent.** 2003b; 28(5): 585-90.

Shimada Y, Senawongse P, Harnirattisai C, Burrow MF, Nakaoki Y, Tagami J. Bond strength of two adhesive systems to primary and permanent enamel. **Oper Dent.** 2002a; 27(4):403-9.

Shimada Y, Tagami J. Effects of regional enamel and prism orientation on resin bonding. **Oper Dent.** 2003a; 28(1):20-7.

Shimada Y, Yamaguchi S, Tagami J. Micro-shear bond strength of dual-cured resin cement to glass ceramics. **Dent Mater.** 2002b; 18(5): 380-8.

Shinchi MJ, Soma K, Nakabayashi N. The effect of phosphoric acid concentration on resin tag length and bond strength of a photo-cured resin to acid-etched enamel. **Dent Mater.** 2000; 16(5): 324-9.

Shinkai RS, Cury AA, Cury JA. *In vitro* evaluation of secondary caries development in enamel and root dentin around luted metallic restoration. **Oper Dent.** 2001; 26(1):52-9. Erratum in: **Oper Dent.** 2002; 27(1): 104.

Silverstone LM, Saxton CA, Dogon IL, Fejerskov O. Variation in the pattern of acid etching of human dental enamel examined by scanning electron microscopy. **Caries Res.** 1975; 9(5): 373-87.

Stamm JW, Stewart PW, Bohannon, HM, Disney JA, Graves RC, Abernathy JR. Risk assessment for oral diseases. **Adv Dent Res.** 1991; 5: 4-17.

Summers AW, Latta MA, Ellis RW, Barkmeier WW. Microleakage of sealants placed with different enamel conditioners [abstract 197]. *J Dent Res*. 1998; 77: 130.

Tao L, Pashely DH, Boyd L. Effect of different types of smear layers on dentin and enamel shear bond strengths. *Dent Mater*. 1988; 4(4): 208-16.

Tay FR, Gwinnett AJ, Pang KM, Wei SH. Resin permeation into acid-conditioned, moist, and dry dentin: a paradigm using water-free adhesive primers. *J Dent Res*. 1996a; 75(4): 1034-44.

Tay FR, Gwinnett AJ, Pang KM, Wei SH. Structural evidence of a sealed tissue interface with a total-etch wet-bonding technique *in vivo*. *J Dent Res*. 1994a; 73(3): 629-36.

Tay FR, Gwinnett JA, Wei SH. Micromorphological spectrum from overdrying to overwetting acid-conditioned dentin in water-free acetone-based, single-bottle primer/adhesives. *Dent Mater*. 1996c; 12(4): 236-44.

Tay FR, Gwinnett AJ, Wei SH. The over wet phenomenon: an optical, micromorphological study of surface moisture in the acid-conditioned, resin-dentin interface. *Am J Dent*. 1996b; 9(1): 43-8.

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

Tay FR, Lai CNS, Chersoni S, Pashley DH, Mak YF, Suppa P et al. Osmotic blistering in enamel bonded with One-step self-etch adhesives. *J Dent Res*. 2004; 83(4): 290-5.

Tay FR, Pang KM, Gwinnett AJ, Wei SH. A scanning electron microscopic study of the extent of resin penetration into human coronal dentin following a total etch technique, *in vivo*. **Cell Mater**. 1994b; 4: 317-29.

Tay FR, Pashley DH. Aggressiveness of contemporary self-etching systems. I: Depth of penetration beyond dentin smear layers. **Dent Mater**. 2001; 17(4): 296-308.

Tay FR, Pashley DH, King NM, Carvalho RM, Tsai J, Lai SC, Marquezini L, Jr. Aggressiveness of self-etch adhesives on unground enamel. **Oper Dent**. 2004; 29(3): 309-16.

Ten Cate AR. **Oral Histology**: Development, Structure and Function. St. Louis: Mosby; 1994. p. 169-217.

Ten Cate JM, Duijsters PP. Alternating demineralization and remineralization of artificial enamel lesions. **Caries Res**. 1982; 16(3): 201-10.

Ten Cate JM, Keizer S, Arends J. Polymer adhesion to enamel. The influence of viscosity and penetration. **J Oral Rehabil**. 1977; 4(2): 149-56.

Ten Cate JM. Patient selection and appliance design in intra-oral models. **J Dent Res**. 1992; 71: 908-12.

Ten Cate JM, Van Duimem RN. Hypermineralization of dentinal lesions adjacent to glass-ionomer cement restorations. **J Dent Res**. 1995; 74(6): 1266-71.

Tenuta LMA, Ribeiro CCC, Gonçalves NCV, Cury AADB, Aires CP, Tengan C *et al*. The short-term *in situ* model to evaluate the anticariogenic potential of ionomeric materials. **J Dent**. 2005; 33: 491-7.

Toida T, Watanabe A, Nakabayashi N. Effect of smear layer on bonding to dentin prepared with bur. *J Jpn Dent Mater*. 1995; 109-16.

Torii Y, Itota T, Okamoto M, Nakabo S, Nagamine M, Inoue K. Inhibition of artificial secondary caries in root by fluoride-releasing restorative materials. *Oper Dent*. 2001; 26(1): 36-43.

Tyldesley WR. The mechanical properties of human enamel and dentine. *Br Dent J*. 1950; 269-78.

Urabe I, Inokoshi S, Suzuki T, Yamada T, Tagami J. Scanning laser microscopy and scanning electron microscopy of etched human enamel and dentin. *J Adhes Dent*. 1997; 15: 48-53.

Van Houte J. Role of microorganisms in caries etiology. *J Dent Res*. 1994; 73(3): 672-81.

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

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

Van Meerbeek B, Vargas S, Inoue S, Yoshida Y, Peumans M, Lambrechts P *et al*. Adhesives and cements to promote preservation dentistry. *Oper Dent*. 2001; [Suppl6]: 119-44.

Vieira AEM, Delbem ACB, Sasaki, KT, Rodrigues E, Cury JA, Cunha RF. Fluoride dose response in pH-cycling models using bovine enamel. **Caries Res.** 2005; 39: 514-20.

Wang H, Shimada Y, Tagami J. Shear bond stability of current adhesive systems to enamel. **Oper Dent.** 2004; 29(2): 168-75.

Watanabe I. Photocured bonding agents to ground dentin. **J Jpn Dent Mater.** 1992; 11: 955-73.

Watanabe I, Nakabayashi N. Bonding Durability of photocured phenyl-P in TEGDMA to smear layer-retained bovine dentin. **Quintessence Int.** 1993; 24(5): 335-42.

Watanabe I, Nakabayashi N, Pashley DH. Bonding to ground dentin by a phenyl-P self-etching primer. **J Dent Res.** 1994; 73(6): 1212-20.

White JM, The application of *in vitro* models to research on demineralization and remineralization of the teeth. **Adv Dent Res.** 1995; 9(3): 175-93.

White JM, Eakle WS. Rationale and treatment approach in minimally invasive dentistry. **J Am Dent Ass.** 2000; 131: 13S-19S.

Wiegand A, Wolfgang B, Attin T. Review on fluoride-releasing restorative materials- Fluoride release and uptake characteristics, antibacterial activity and influence on caries formation. **Dent Mat.** 2006 No prelo.

Wilson NHF, Burke FJT, Mjör IA. Reasons for placement and replacement of restorations of direct restorative materials by selected group of practioners in the United Kingdom. **Quintessence Int.** 1997; 28: 245-8.

Yamamoto K, Arai K, Fukazawa K, Fukui K, Nagamatsu K, Kato K *et al.* Effect of plaque fluoride released from a glass-ionomer cement on enamel remineralization *in situ*. **Caries Res.** 2005; 39: 157-60.

Yoshida E, Uno S. Voids formation along the bonding interface between a smeared dentin surface and all-in-one adhesives. **Dent Mater J.** 2004; 23(4): 643-9.



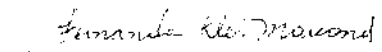
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



CERTIFICADO

O Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP certifica que o projeto de pesquisa **"Análise da microdureza do esmalte dental bovino restaurado com sistemas adesivos/composito e submetidos a desafios cariogênicos"**, protocolo nº 189/2004, dos pesquisadores **MARCELO GIANNINI e CRISTIANE FRANCO PINTO**, satisfaz as exigências do Conselho Nacional de Saúde – Ministério da Saúde para as pesquisas em seres humanos e foi aprovado por este comitê em 07/02/2005.

The Research Ethics Committee of the School of Dentistry of Piracicaba - State University of Campinas, certify that project **"Microhardness analysis of filler bovine dental enamel with adhesives /composite systems and submitted to a cariogenic challenge"**, register number 189/2004, of **MARCELO GIANNINI and CRISTIANE FRANCO PINTO**, comply with the recommendations of the National Health Council – Ministry of Health of Brazil for researching in human subjects and was approved by this committee at 07/02/2005.


Cinthia Pereira Machado Tabchoury

Secretária
CEP/FOP/UNICAMP


Jacks Jorge Junior
Coordenador
CEP/FOP/UNICAMP

Anexo 2

Instruções aos voluntários

Análise do esmalte dental bovino ao redor de restaurações com sistemas adesivos/compósito e submetidos a desafios cariogênicos in vitro e in situ.

1- O estudo será dividido em 2 etapas, sendo cada etapa de 14 dias e com um intervalo de 10 dias entre elas.

2- A água ingerida deverá ser necessariamente a de abastecimento público de Piracicaba.

3- Durante o período do experimento e 10 dias antes de cada etapa, a pesquisadora vai fornecer dentifrício fluoretado e os voluntários não utilizarão nenhum outro produto contendo flúor.

4- Os dispositivos intra-orais deverão ser utilizados todos os dias, inclusive para dormir, exceto durante as refeições e higiene oral, sendo que, nestes períodos, os aparelhos devem ser acondicionados na caixa plástica fornecida, contendo no seu interior um algodão umedecido.

5- A escovação deverá ser iniciada com o aparelho na boca somente enquanto estiver escovando a face vestibular, e sem aparelho nas demais. Deve-se realizar o bochecho final com o aparelho. O voluntário deve se comprometer a escovar somente com o dentifrício fornecido por nós e três vezes ao dia.

6- Será fornecida solução de sacarose 20% em frasco conta-gotas. O voluntário deverá gotejar sacarose oito vezes ao dia sobre as amostras, esperar 5 minutos e colocá-lo na boca. O gotejamento 8X ao dia deverá ser feito às 8:00, 9:30, 11:00, 14:00, 15:30, 17:00, 19:00 e 21:00.

Anexo 3

Termo de Consentimento livre e esclarecido

Nome do voluntário: _____

As informações contidas neste prontuário foram fornecidas por Cristiane Franco Pinto (aluna de mestrado da área de Dentística) e Prof. Dr. Marcelo Giannini (Orientador) objetivando firmar acordo escrito mediante o qual o voluntário da pesquisa autoriza sua participação, com pleno conhecimento da natureza dos procedimentos e riscos a que se submeterá, com a capacidade de livre arbítrio e sem qualquer coação.

1-Título do trabalho experimental

Análise do esmalte dental bovino ao redor de restaurações com sistemas adesivos/compósito e submetido a desafios cariogênicos *in vitro* e *in situ*.

2-Objetivo:

O objetivo desse trabalho será avaliar a utilização de diferentes sistemas adesivos em superfície de esmalte dental bovino submetido a desafios cariogênicos.

3- Justificativa:

Atualmente, os sistemas adesivos têm sido modificados para uma melhora na adesão aos tecidos dentais, mas pouco se sabe sobre os efeitos dos adesivos autocondicionante frente a desafios cariogênicos e se os componentes adicionais nos adesivos são eficazes para evitar o desenvolvimento de cárie em regiões de interface.

4- Procedimento da fase experimental:

O estudo *in situ* constituirá de duas fases de 14 dias, na qual participarão 14 voluntários adultos utilizando dispositivos intra-orais contendo blocos de esmalte bovino.

Os voluntários serão divididos em dois grupos de tratamento de 14 dias cada, os quais utilizarão os dispositivos palatinos contendo 4 blocos de esmalte, restaurados com sistema adesivo Clearfil SE Bond ou com Clearfil Protect Bond.

Os voluntários gotejarão uma solução de sacarose 20% oito vezes ao dia, simulando o desafio cariogênico. O voluntário será orientado para colocar cada gota da solução exatamente na superfície da tela plástica da amostra, sem tocá-la mantendo o dispositivo no recipiente contendo algodão umedecido, durante 5 minutos antes de levá-lo à boca.

Todos os voluntários deverão escovar os dentes com dentífrico fluoretado Sorriso Fresh três vezes ao dia, sendo que para escovar a face vestibular devem estar com o aparelho e as demais faces sem aparelho. Para o bochecho final deve estar com o aparelho na boca.

Será feito um intervalo de 10 dias entre as fases para eliminar possível efeito residual dos mesmos. Ao final de 14 dias, as amostras serão removidas e então realizadas as leituras de microdureza do esmalte em profundidade e em distância da restauração.

5- Desconfortos ou riscos esperados e benefícios

Os voluntários poderão apresentar discreta halitose durante o período experimental, o que poderá ser atenuado com adequada higiene oral bem como limpeza do dispositivo. O uso da sacarose será apenas como gotas sobre os blocos de esmalte presentes nos dispositivos intra-orais, não implicando em qualquer aumento de cárie dental nos voluntários. O dispositivo intra-oral pode causar um leve desconforto, que é semelhante ao desconforto causado por um

aparelho ortodôntico móvel. Os voluntários utilizarão durante o período da pesquisa apenas dentifrício fluoretado. Serão orientados a realizarem uma melhor higiene bucal e, além disso, eles continuarão ingerindo água de abastecimento de Piracicaba, que é fluoretada. Em adição, os voluntários são altamente conscientizados por serem estudantes de Odontologia e entenderem a importância deste trabalho. O benefício será um auxílio indireto, contribuindo para a realização deste projeto e para a ciência como um todo.

6- Forma de acompanhamento e assistência

Haverá acompanhamento quanto ao consumo de açúcar e melhora da higienização bucal. Os pesquisadores envolvidos na pesquisa estarão à disposição dos voluntários para qualquer ajuste no aparelho intra-oral a fim de minimizar qualquer desconforto.

7- Garantia de esclarecimentos

O voluntário tem garantia de que receberá resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento de qualquer dúvida quanto aos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados com a pesquisa. Também os pesquisadores assumem o compromisso de proporcionar informação atualizada obtida durante o estudo, ainda que esta possa afetar a vontade do indivíduo continuar participando. Qualquer dúvida ou problema com o dispositivo intra-oral, por favor comunicar-se com a maior brevidade possível.

Tel.: 3412-5340 (Laboratório de Dentística)

3412-5338 (Prof. Marcelo)

34135940 (Cristiane)

8- Retirada do consentimento

O voluntário tem a liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo sem prejuízo de ordem pessoal-profissional com os responsáveis com a pesquisa.

9- Garantia de sigilo

Os pesquisadores asseguram a privacidade dos sujeitos quanto aos dados confidenciais envolvidos na pesquisa.

10- Formas de ressarcimento

Como a remoção dos aparelhos deve ser feita em jejum, será oferecido um café da manhã.

11- Formas de indenização

Não há danos previsíveis decorrentes desta pesquisa.

Eu _____,
certifico que tendo lido as informações acima e suficientemente esclarecido(a) de todos os itens pela aluna de mestrado Cristiane Franco Pinto e Prof. Dr. Marcelo Giannini, estou plenamente de acordo com a realização do experimento. Assim, eu autorizo a execução do trabalho de pesquisa, exposto acima, em mim.

Piracicaba, ____ de Abril de 2004.

Nome (por extenso): _____

Assinatura: _____

1ª via: Instituição

2ª via: Voluntário

Anexo 4

Resultados da Porcentagem de Volume Mineral *in situ*

Vol.	Clearfil SE Bond									
1	Profundidades									
Dist	20	40	60	80	100	120	140	160	180	200
60	77,2	91,2	100,1	97,4	100,5	93,8	97,3	92,5	97,1	86,3
160	65,6	88,7	90,9	88,1	96,7	95,8	94,9	99,2	99,3	95,4
260	68,3	83,9	89,1	93,6	91,6	95,3	93,8	93,4	91,7	94,7
MÉDIA	70,6	88,0	93,5	93,1	96,3	95,0	95,3	95,1	96,1	92,2

2	Profundidades									
Dist	20	40	60	80	100	120	140	160	180	200
60	71,6	75,4	78,8	82,5	79,7	76,2	83,5	87,2	87,6	87,6
160	59,2	86,3	77,1	79,7	88,6	91,4	87,9	84,6	90,2	90,5
260	56,3	84,6	91,4	86,7	87,9	91,4	80,2	92,5	93,0	86,7
MÉDIA	62,8	82,3	82,7	83,0	85,5	86,7	83,9	88,1	90,3	88,3

3	Profundidades									
Dist	20	40	60	80	100	120	140	160	180	200
60	52,3	85,0	86,5	95,4	93,7	93,8	93,9	95,8	96,8	91,6
160	68,9	89,4	93,7	96,7	96,8	99,0	94,7	99,7	100,0	94,6
260	52,8	78,2	81,8	93,8	95,7	92,5	93,8	87,9	94,0	97,2
MÉDIA	58,6	84,4	87,5	95,3	95,4	95,1	94,1	94,6	97,0	94,5

4	Profundidades									
Dist	20	40	60	80	100	120	140	160	180	200
60	62,2	71,9	75,0	75,3	81,3	79,9	84,5	88,7	95,4	94,6
160	56,5	61,8	75,7	79,9	93,3	94,0	91,7	94,1	99,8	95,8
260	47,1	54,8	68,3	70,3	73,1	73,1	80,1	82,1	83,5	90,2
MÉDIA	55,3	62,8	73,0	75,1	82,6	82,3	85,4	88,3	92,9	93,5

5	Profundidades									
Dist	20	40	60	80	100	120	140	160	180	200
60	57,6	67,0	85,1	85,1	87,8	94,1	96,9	97,4	96,4	96,6
160	48,8	70,4	73,9	80,3	90,4	91,4	92,1	98,3	94,6	94,9
260	62,6	81,8	85,0	84,6	90,9	89,1	93,0	96,8	91,4	94,3
MÉDIA	56,7	73,4	81,5	83,4	89,7	91,5	94,1	97,5	94,2	95,3

6	Profundidades									
Dist	20	40	60	80	100	120	140	160	180	200
60	74,2	90,6	88,0	84,4	86,7	89,6	86,3	85,6	88,0	88,5
160	72,8	86,3	89,8	87,6	89,0	88,4	91,0	88,1	86,8	88,8
260	68,3	83,1	89,4	87,6	87,5	88,8	88,4	88,2	89,1	87,3
MÉDIA	71,8	86,7	89,1	86,6	87,7	89,0	88,6	87,3	88,0	88,2

7	Profundidades									
Dist	20	40	60	80	100	120	140	160	180	200
60	67,4	74,1	81,4	88,3	78,7	86,7	85,6	88,5	91,7	89,0
160	70,1	73,7	76,7	81,5	90,0	93,5	95,4	93,1	96,6	96,0
260	62,7	69,9	78,8	85,4	93,0	93,3	94,2	94,4	93,0	92,0
MÉDIA	66,8	72,6	79,0	85,1	87,5	91,3	91,8	92,0	93,8	92,4

8	Profundidades									
dist.	20	40	60	80	100	120	140	160	180	200
60	85,8	91,3	94,0	97,4	97,0	99,4	101,0	102,6	98,7	99,7
160	81,4	89,7	93,4	95,5	99,5	100,2	99,9	100,3	102,9	101,3
260	79,9	85,5	89,0	93,4	96,9	103,2	102,1	100,9	100,3	99,9
MÉDIA	82,4	88,9	92,2	95,4	97,8	100,9	101,0	101,3	100,7	100,3

9	Profundidades									
dist.	20	40	60	80	100	120	140	160	180	200
60	77,1	78,8	83,1	86,7	87,2	92,5	83,5	91,4	87,9	87,9
160	62,4	68,4	77,9	85,6	87,2	82,5	84,6	84,6	89,0	89,0
260	75,4	82,5	89,0	91,4	89,0	89,0	89,0	86,7	89,0	86,7
MÉDIA	72,0	76,9	83,5	88,0	87,8	88,1	85,8	87,6	88,6	87,9

10	Profundidades									
dist.	20	40	60	80	100	120	140	160	180	200
60	75,4	74,3	79,3	91,7	94,3	94,0	96,8	96,8	96,8	96,8
160	45,8	53,3	64,7	73,9	82,5	91,4	96,8	96,8	96,8	96,8
260	64,7	68,8	73,2	79,3	88,8	96,8	96,8	96,8	96,8	96,8
MÉDIA	63,4	66,2	72,7	82,0	88,7	94,1	96,8	96,8	96,8	96,8

11	Profundidades									
dist.	20	40	60	80	100	120	140	160	180	200
60	66,8	77,7	80,6	86,2	90,4	87,9	91,0	94,9	93,1	92,7
160	67,1	77,7	78,0	76,4	81,6	85,4	88,4	95,7	91,6	94,9
260	72,4	77,2	77,2	78,3	82,8	90,5	90,6	95,7	86,7	87,6
MÉDIA	68,8	77,5	78,6	80,4	85,0	87,9	90,0	95,4	90,5	91,8

12	Profundidades									
dist.	20	40	60	80	100	120	140	160	180	200
60	65,8	81,2	83,5	84,9	85,6	87,6	87,4	89,3	90,0	89,9
160	79,4	84,3	89,9	93,4	89,9	95,8	94,3	92,0	91,3	91,9
260	77,3	82,7	82,9	85,4	89,6	90,3	92,4	93,0	94,6	91,9
MÉDIA	74,5	82,7	85,5	88,0	88,4	91,3	91,4	91,5	92,0	91,9

13	Profundidades									
dist.	20	40	60	80	100	120	140	160	180	200
60	63,1	71,9	77,6	85,5	88,8	90,7	90,8	90,8	87,5	87,6
160	56,9	64,2	73,5	80,5	87,1	87,6	91,3	94,0	92,0	92,5
260	68,0	75,8	84,2	90,3	92,2	93,4	95,2	92,5	91,6	92,0
MÉDIA	62,9	70,8	78,6	85,6	89,4	90,6	92,5	92,5	90,4	90,7

14	Profundidades									
dist.	20	40	60	80	100	120	140	160	180	200
60	68,1	72,3	79,3	82,8	83,3	86,2	86,5	87,0	88,2	85,9
160	61,1	76,7	80,9	82,5	82,2	89,2	92,3	86,9	91,3	88,5
260	67,1	74,9	81,6	84,0	88,3	83,1	85,6	86,7	91,3	91,3
MÉDIA	66,9	76,9	82,4	85,1	85,9	88,5	90,5	88,7	89,8	87,2

vol.	Clearfil Protect Bond									
1	profundidades									
dist.	20	40	60	80	100	120	140	160	180	200
60	93,5	99,2	92,2	93,0	99,0	93,3	91,6	92,8	89,4	89,8
160	90,7	94,9	95,5	92,4	89,2	93,2	93,4	95,7	87,1	96,2
260	76,9	88,8	100,0	96,2	99,0	100,2	100,5	97,7	98,5	99,7
MÉDIA	85,7	93,9	95,7	93,4	95,4	95,4	95,0	95,2	91,3	94,1

2	profundidades									
dist.	20	40	60	80	100	120	140	160	180	200
60	72,3	81,5	86,6	86,8	91,6	98,9	99,6	99,7	95,7	96,3
160	75,3	78,7	83,0	88,4	88,4	98,3	97,5	95,4	95,7	95,0
260	71,1	82,2	89,9	95,1	89,9	94,6	95,2	99,6	98,4	96,9
MÉDIA	72,3	80,7	86,2	89,8	89,9	97,1	97,2	98,2	96,5	96,0

3	profundidades									
dist.	20	40	60	80	100	120	140	160	180	200
60	81,0	84,0	84,7	88,9	88,2	87,6	86,8	85,0	84,7	85,2
160	67,1	80,0	79,4	91,3	93,0	92,5	93,3	96,0	92,6	91,0
260	72,9	79,2	88,0	90,1	95,1	91,1	89,1	86,4	90,3	85,1
MÉDIA	73,1	81,0	83,8	90,0	91,9	90,3	89,5	88,0	88,9	86,6

4	profundidades									
dist.	20	40	60	80	100	120	140	160	180	200
60	71,0	86,4	94,5	99,6	99,3	93,5	94,6	95,2	95,1	96,9
160	75,5	84,7	96,8	94,8	92,5	95,6	92,5	97,5	97,4	97,4
260	70,9	85,8	87,6	96,6	94,3	96,9	99,6	99,1	98,8	99,4
MÉDIA	70,9	83,9	92,3	96,8	95,3	95,0	95,4	97,2	97,0	97,8

5	profundidades									
dist.	20	40	60	80	100	120	140	160	180	200
60	75,6	87,4	92,1	91,6	94,4	94,2	94,4	92,1	88,5	86,4
160	82,6	90,3	84,5	85,5	88,7	86,8	89,1	90,0	91,2	90,8
260	78,1	81,0	91,7	92,8	87,9	91,0	87,6	87,9	92,1	94,7
MÉDIA	78,3	86,0	89,1	89,7	90,2	90,5	89,9	89,8	90,4	90,2

6	profundidades									
dist.	20	40	60	80	100	120	140	160	180	200
60	75,4	78,5	85,0	83,4	86,5	98,6	94,0	96,1	98,3	96,0
160	65,6	73,9	77,2	85,6	85,0	92,1	94,2	94,1	93,6	94,9
260	79,5	81,0	83,6	84,7	87,1	86,5	95,4	96,2	95,4	96,1
MÉDIA	72,5	77,4	81,5	84,5	86,1	91,9	94,5	95,4	95,7	95,6

7	profundidades									
dist.	20	40	60	80	100	120	140	160	180	200
60	94,0	92,7	92,7	96,8	92,7	93,5	92,2	95,4	91,4	93,5
160	65,6	80,6	87,4	89,7	94,0	95,7	94,0	95,7	95,9	94,6
260	87,9	86,7	88,6	91,7	94,6	96,8	95,7	95,7	95,4	94,0
MÉDIA	80,2	86,4	89,5	92,6	93,8	95,3	93,9	95,6	94,2	94,0

8	profundidades									
dist.	20	40	60	80	100	120	140	160	180	200
60	91,4	92,7	92,7	97,7	97,4	100,7	98,2	102,9	98,2	98,2
160	87,9	88,3	95,4	96,8	94,0	94,0	95,4	96,8	99,7	99,7
260	87,9	93,2	99,1	98,8	99,7	100,4	101,6	101,6	96,8	96,8
MÉDIA	89,0	91,4	95,7	97,8	97,0	98,2	98,3	100,4	98,2	98,2

9	profundidades									
dist.	20	40	60	80	100	120	140	160	180	200
60	74,8	85,2	87,8	93,1	91,2	92,5	91,3	88,5	88,7	90,5
160	72,6	71,9	82,2	84,6	87,3	88,2	88,2	89,2	89,2	90,4
260	70,3	80,5	84,6	92,9	89,0	85,3	89,4	89,1	87,3	87,2
MÉDIA	72,3	78,7	84,6	89,7	89,1	88,2	89,5	88,9	88,4	89,3

10	profundidades									
dist.	20	40	60	80	100	120	140	160	180	200
60	76,2	89,0	82,5	81,2	87,9	83,7	77,4	81,4	83,7	85,4
160	58,8	76,6	86,7	95,4	88,6	94,8	97,4	91,4	92,5	94,0
260	80,6	88,1	94,0	93,5	92,7	90,2	89,5	96,8	94,0	97,4
MÉDIA	70,3	84,1	87,5	89,5	89,7	89,3	87,2	89,3	89,8	92,0

11	profundidades									
dist.	20	40	60	80	100	120	140	160	180	200
60	74,6	86,8	82,5	86,4	86,3	89,4	92,0	93,9	93,6	94,0
160	75,9	85,9	83,0	84,0	88,0	90,4	94,0	94,8	95,0	94,8
260	77,8	82,9	85,2	87,5	87,9	94,1	94,4	98,6	99,1	98,8
MÉDIA	76,0	85,1	83,3	85,7	87,3	91,2	93,4	95,6	95,7	95,7

12	profundidades									
dist.	20	40	60	80	100	120	140	160	180	200
60	83,6	89,0	90,4	92,5	92,9	92,0	91,8	91,8	92,2	92,8
160	77,1	85,7	89,1	89,8	90,7	90,5	92,6	93,8	94,0	94,0
260	78,4	87,9	89,9	92,1	92,1	92,1	94,0	94,0	94,0	94,0
MÉDIA	79,3	87,3	89,7	91,4	91,9	91,5	92,8	93,2	93,4	93,6

13	profundidades									
dist.	20	40	60	80	100	120	140	160	180	200
60	83,5	84,2	84,6	82,5	90,9	95,7	92,7	90,2	86,7	87,9
160	77,9	82,5	90,0	78,8	82,9	82,5	88,6	87,9	90,9	94,8
260	77,6	99,7	94,0	96,8	92,7	89,0	91,7	86,7	86,7	84,6
MÉDIA	79,6	88,1	89,3	85,3	88,6	88,7	90,9	88,2	88,1	88,9

14	profundidades									
dist.	20	40	60	80	100	120	140	160	180	200
60	78,1	78,1	83,5	85,6	91,4	89,5	89,7	86,7	89,0	92,7
160	75,4	68,9	76,1	88,6	82,5	93,0	87,0	84,6	84,8	85,6
260	69,9	77,1	70,9	77,9	82,1	89,0	91,4	91,4	91,4	91,4
MÉDIA	74,3	74,4	76,4	83,7	85,1	90,5	89,3	87,5	88,3	89,8

Anexo 5

Resultados da Porcentagem de Volume Mineral *in vitro*.

Single Bond										
bloco 1	10	40	60	80	100	120	140	160	180	200
60	32,4	11,3	11,3	11,3	11,3	81,6	81,8	81,8	81,4	80,6
120	11,3	11,3	11,3	11,3	68,0	68,0	76,2	74,5	75,1	84,6
260	11,3	11,3	11,3	11,3	11,3	68,9	78,4	79,3	84,6	84,6
media	18,3	11,3	11,3	11,3	30,2	72,8	78,8	78,5	80,4	83,3

bloco 2	10,0	40,0	60,0	80,0	100,0	120,0	140,0	160,0	180,0	200,0
60	11,3	11,3	11,3	11,3	53,3	62,0	63,6	71,6	90,9	95,1
120	11,3	11,3	11,3	11,3	11,3	69,6	74,3	76,7	87,9	88,1
260	11,3	11,3	11,3	11,3	59,7	65,9	76,7	90,9	96,2	96,2
media	11,3	11,3	11,3	11,3	41,4	65,8	71,6	79,8	91,7	93,1

bloco 3	10,0	40,0	60,0	80,0	100,0	120,0	140,0	160,0	180,0	200,0
60	36,9	11,3	11,3	11,3	11,3	83,1	95,7	106,6	106,6	106,6
120	11,3	11,3	11,3	11,3	61,6	93,5	96,8	101,6	102,6	102,9
260	11,3	11,3	11,3	11,3	81,2	89,7	97,7	99,7	103,2	106,3
media	19,8	11,3	11,3	11,3	51,4	88,8	96,7	102,7	104,1	105,3

bloco 4	10,0	40,0	60,0	80,0	100,0	120,0	140,0	160,0	180,0	200,0
60	11,3	11,3	11,3	11,3	72,4	83,1	92,2	99,7	104,6	104,6
120	11,3	11,3	11,3	11,3	46,4	63,2	79,5	94,0	104,9	106,3
260	11,3	11,3	11,3	80,6	72,4	86,7	99,1	100,7	104,2	104,2
media	11,3	11,3	11,3	34,4	63,7	77,7	90,3	98,1	104,6	105,0

bloco 5	10,0	40,0	60,0	80,0	100,0	120,0	140,0	160,0	180,0	200,0
60	63,6	11,3	11,3	86,7	90,7	101,0	104,6	108,1	108,1	108,1
120	49,2	11,3	11,3	74,6	89,0	96,2	97,9	97,9	99,7	99,7
260	11,3	11,3	11,3	62,1	86,7	102,9	103,6	104,6	104,6	104,6
media	41,4	11,3	11,3	74,5	88,8	100,0	102,0	103,5	104,1	104,1

bloco 6	10,0	40,0	60,0	80,0	100,0	120,0	140,0	160,0	180,0	200,0
60	11,3	11,3	11,3	11,3	63,6	56,3	71,4	94,3	92,7	92,7
120	11,3	11,3	11,3	11,3	57,9	51,1	66,3	86,1	101,0	102,9
260	11,3	11,3	11,3	11,3	60,9	77,1	86,1	91,4	98,2	91,4
media	11,3	11,3	11,3	11,3	60,8	61,5	74,6	90,6	97,3	95,7

bloco 7	10,0	40,0	60,0	80,0	100,0	120,0	140,0	160,0	180,0	200,0
60	32,5	11,3	11,3	40,3	90,9	101,9	101,9	101,9	102,9	102,9
120	36,4	11,3	11,3	34,0	97,1	97,1	103,6	104,6	104,9	105,2
260	32,0	11,3	11,3	32,9	57,7	92,2	95,4	98,2	101,3	101,3
media	33,6	11,3	11,3	35,7	81,9	97,1	100,3	101,6	103,0	103,1

bloco 8	10,0	40,0	60,0	80,0	100,0	120,0	140,0	160,0	180,0	200,0
60	37,9	11,3	40,3	78,8	91,4	95,7	92,5	92,7	92,7	92,7
120	33,8	42,4	60,9	86,3	85,2	88,6	96,2	99,7	99,1	100,7
260	42,6	31,7	47,1	82,5	89,0	98,2	100,7	101,3	101,3	102,9
media	38,1	28,4	49,5	82,5	88,6	94,2	96,5	97,9	97,7	98,8

bloco 9	10,0	40,0	60,0	80,0	100,0	120,0	140,0	160,0	180,0	200,0
60	33,2	11,3	11,3	61,6	84,6	102,9	102,9	99,7	101,3	102,9
120	44,9	11,3	11,3	53,7	76,6	94,6	101,3	101,3	111,9	111,9
260	32,4	11,3	11,3	11,3	56,3	77,7	99,4	110,7	110,7	111,9
media	36,8	11,3	11,3	42,2	72,5	91,7	101,2	103,9	108,0	108,9

bloco 10	10,0	40,0	60,0	80,0	100,0	120,0	140,0	160,0	180,0	200,0
60	29,5	11,3	11,3	29,0	59,3	90,9	91,4	101,9	102,2	102,9
120	40,6	11,3	11,3	11,3	49,9	80,2	83,3	86,7	92,7	91,4
260	48,4	24,6	30,6	49,0	86,7	94,0	94,0	96,8	96,8	96,8
media	39,5	15,7	17,7	29,8	65,3	88,4	89,6	95,2	97,3	97,0

bloco média	10,0	40,0	60,0	80,0	100,0	120,0	140,0	160,0	180,0	200,0
60	40,1	11,3	40,3	64,1	77,4	87,4	90,9	96,5	98,7	99,3
120	41,5	42,4	60,9	65,9	72,6	81,9	88,6	93,0	98,5	99,8
260	39,7	28,5	40,1	64,9	73,7	86,3	93,6	97,8	100,4	100,3
media	40,4	27,4	47,1	65,0	74,6	85,2	91,0	95,7	99,2	99,8

Clearfil SE Bond

bloco 1	10,0	40,0	60,0	80,0	100,0	120,0	140,0	160,0	180,0	200,0
60	42,6	11,3	11,3	92,2	68,7	76,6	77,1	74,0	76,6	73,9
120	36,0	44,2	44,5	68,0	69,9	71,8	70,9	68,4	66,5	67,1
260	32,1	34,9	29,2	39,7	61,1	67,9	68,0	73,1	76,2	76,4
media	36,9	30,1	28,3	66,6	66,5	72,1	72,0	71,8	73,1	72,4

bloco 2	10,0	40,0	60,0	80,0	100,0	120,0	140,0	160,0	180,0	200,0
60	48,5	11,3	11,3	47,4	66,2	69,1	80,6	81,2	86,7	89,0
120	42,0	11,3	39,6	50,5	76,2	92,2	100,0	107,4	112,7	112,7
260	36,0	11,3	37,2	64,2	80,8	91,4	96,8	106,3	106,3	106,6
media	42,1	11,3	29,4	54,0	74,4	84,2	92,5	98,3	101,9	102,8

bloco 3	10,0	40,0	60,0	80,0	100,0	120,0	140,0	160,0	180,0	200,0
60	46,7	61,1	75,9	82,7	90,5	95,4	99,7	99,7	85,6	97,1
120	11,3	11,3	11,3	33,7	78,8	89,0	95,9	102,9	102,9	102,9
260	38,9	11,3	11,3	45,5	84,0	92,2	99,7	99,7	99,7	99,7
media	32,3	27,9	32,8	54,0	84,4	92,2	98,5	100,8	96,1	99,9

bloco 4	10,0	40,0	60,0	80,0	100,0	120,0	140,0	160,0	180,0	200,0
60	52,2	11,3	59,7	45,2	81,4	82,5	94,8	94,8	97,7	97,7
120	11,3	36,1	36,6	42,7	36,9	63,0	86,1	86,1	86,7	89,7
260	41,5	26,5	25,6	34,0	52,9	82,5	87,9	90,2	92,7	93,0
media	35,0	24,6	40,6	40,6	57,1	76,0	89,6	90,4	92,4	93,5

bloco 5	10,0	40,0	60,0	80,0	100,0	120,0	140,0	160,0	180,0	200,0
60	39,8	30,2	26,0	26,0	28,7	52,7	72,8	85,6	88,6	93,2
120	34,5	39,5	11,3	57,5	69,3	87,9	87,9	109,9	118,2	118,2
260	41,8	31,8	24,9	36,4	38,9	70,3	95,4	100,7	101,3	101,3
media	38,7	33,8	20,8	40,0	45,6	70,3	85,4	98,7	102,7	104,2

bloco 6	10,0	40,0	60,0	80,0	100,0	120,0	140,0	160,0	180,0	200,0
60	47,9	11,3	11,3	47,9	78,3	89,0	98,2	98,2	101,3	101,3
120	84,6	96,2	96,2	102,2	102,6	106,3	106,6	106,6	106,6	107,7
260	40,1	11,3	11,3	73,6	94,0	96,2	98,2	101,3	102,9	102,9
media	57,5	39,6	39,6	74,6	91,6	97,2	101,0	102,1	103,6	104,0

bloco 7	10,0	40,0	60,0	80,0	100,0	120,0	140,0	160,0	180,0	200,0
60	38,2	11,3	11,3	59,7	90,7	97,7	100,4	100,7	101,0	102,9
120	38,3	11,3	11,3	55,3	89,0	102,9	107,0	101,3	102,2	105,6
260	45,7	11,3	27,8	66,3	93,2	99,7	94,0	101,3	102,2	106,3
media	40,7	11,3	16,8	60,4	91,0	100,1	100,5	101,1	101,8	104,9

bloco 8	10,0	40,0	60,0	80,0	100,0	120,0	140,0	160,0	180,0	200,0
60	33,2	11,3	40,6	59,7	80,1	82,5	89,0	98,2	98,2	102,9
120	44,4	11,3	38,0	53,3	63,6	70,9	77,1	85,6	96,8	100,7
260	41,7	31,0	39,5	51,4	63,6	68,3	74,8	91,4	95,9	97,7
media	39,8	17,9	39,4	54,8	69,1	73,9	80,3	91,8	97,0	100,4

bloco 9	10,0	40,0	60,0	80,0	100,0	120,0	140,0	160,0	180,0	200,0
60	32,2	11,3	57,1	55,5	69,6	75,4	72,8	73,0	73,1	73,9
120	32,7	55,8	61,3	66,3	60,6	68,9	61,9	68,7	85,2	80,1
260	35,5	11,3	35,5	46,4	44,5	52,9	63,6	72,4	72,4	77,1
media	33,4	26,1	51,3	56,1	58,2	65,7	66,1	71,3	76,9	77,0

bloco 10	10,0	40,0	60,0	80,0	100,0	120,0	140,0	160,0	180,0	200,0
60	36,8	64,7	78,8	77,4	92,2	95,7	93,2	94,0	94,0	96,8
120	57,3	69,6	70,4	78,8	95,1	95,4	95,1	98,2	100,7	101,0
260	11,3	11,3	11,3	50,5	74,3	92,7	81,4	87,9	90,9	91,4
media	35,2	48,5	53,5	68,9	87,2	94,6	89,9	93,4	95,2	96,4

média	10,0	40,0	60,0	80,0	100,0	120,0	140,0	160,0	180,0	200,0
60	42,5	35,2	49,0	62,9	77,1	82,9	88,6	90,6	90,8	93,5
120	45,7	50,1	51,9	64,2	76,7	86,2	90,2	94,8	99,0	99,8
260	38,1	23,9	28,7	52,8	71,7	83,0	87,0	93,2	94,8	95,9

Clearfil Protect Bond

bloco 1	10	40	60	80	100	120	140	160	180	200
60	11,3	11,3	11,3	36,9	37,2	61,8	81,6	87,9	84,6	89,0
120	11,3	11,3	11,3	43,1	60,2	78,8	94,0	98,2	98,2	86,1
260	11,3	11,3	11,3	41,5	55,7	65,9	91,4	99,7	87,9	87,9
media	11,3	11,3	11,3	40,5	51,1	68,8	89,0	95,3	90,2	87,7

bloco 2	10,0	40,0	60,0	80,0	100,0	120,0	140,0	160,0	180,0	200,0
60	41,1	11,3	11,3	11,3	72,4	92,7	92,7	97,4	97,7	101,3
120	35,2	11,3	11,3	53,7	77,9	111,9	102,9	102,9	102,9	102,9
260	43,1	39,2	54,5	84,6	94,0	96,8	96,8	100,4	100,4	100,4
media	39,8	20,6	25,7	49,9	81,4	100,5	97,5	100,2	100,3	101,5

bloco 3	10,0	40,0	60,0	80,0	100,0	120,0	140,0	160,0	180,0	200,0
60	39,5	11,3	11,3	59,2	96,8	101,9	102,2	104,2	104,6	104,6
120	29,1	11,3	11,3	46,9	78,4	98,2	104,2	104,2	104,2	104,2
260	28,2	11,3	11,3	11,3	62,6	102,9	104,2	104,6	108,1	105,6
media	32,3	11,3	11,3	39,2	79,3	101,0	103,6	104,3	105,6	104,8

bloco 4	10,0	40,0	60,0	80,0	100,0	120,0	140,0	160,0	180,0	200,0
60	34,2	11,3	60,0	92,7	102,9	101,9	101,3	102,9	106,3	109,9
120	11,3	11,3	55,7	86,7	99,1	101,6	106,3	106,6	106,6	109,9
260	37,9	32,6	44,6	75,7	86,7	92,7	99,7	106,3	106,3	106,3
media	27,8	18,4	53,4	85,1	96,3	98,8	102,4	105,3	106,4	108,7

bloco 5	10,0	40,0	60,0	80,0	100,0	120,0	140,0	160,0	180,0	200,0
60	71,6	11,3	34,4	69,6	86,7	92,7	96,8	96,8	96,8	96,8
120	49,8	49,3	57,3	69,6	84,6	89,7	98,2	100,4	100,7	101,0
260	45,0	11,3	11,3	47,4	65,3	80,6	89,0	98,2	102,9	102,9
media	55,5	24,0	34,4	62,2	78,9	87,7	94,7	98,5	100,1	100,2

bloco 6	10,0	40,0	60,0	80,0	100,0	120,0	140,0	160,0	180,0	200,0
60	44,0	34,8	46,3	55,5	48,7	45,7	51,1	63,6	60,6	60,6
120	52,0	32,9	34,4	36,0	38,0	46,7	60,9	65,9	70,9	81,6
260	11,3	32,8	35,3	37,6	45,3	51,7	62,6	66,5	68,3	80,6
media	35,8	33,5	38,7	43,0	44,0	48,0	58,2	65,3	66,6	74,3

bloco 7	10,0	40,0	60,0	80,0	100,0	120,0	140,0	160,0	180,0	200,0
60	109,9	11,3	11,3	11,3	11,3	117,3	80,6	89,3	96,8	106,3
120	11,3	11,3	11,3	62,3	84,6	85,9	93,2	102,9	104,6	108,1
260	11,3	88,3	11,3	53,3	57,6	70,5	84,2	92,2	98,8	105,6
media	44,2	37,0	11,3	42,3	51,2	91,2	86,0	94,8	100,1	106,7

bloco 8	10,0	40,0	60,0	80,0	100,0	120,0	140,0	160,0	180,0	200,0
60	39,8	47,2	11,3	11,3	11,3	52,0	52,0	67,9	70,1	71,6
120	36,7	11,3	11,3	11,3	38,6	33,8	39,2	73,2	85,6	91,4
260	37,1	11,3	11,3	11,3	42,6	33,6	37,3	37,5	39,5	48,9
media	37,9	23,3	11,3	11,3	30,8	39,8	42,8	59,5	65,1	70,6

bloco 9	10,0	40,0	60,0	80,0	100,0	120,0	140,0	160,0	180,0	200,0
60	42,2	11,3	11,3	50,2	54,3	68,3	72,4	77,9	86,1	92,7
120	36,7	11,3	36,4	54,0	69,3	77,6	85,9	88,6	90,9	99,7
260	46,2	11,3	32,9	65,3	80,6	87,0	92,7	101,3	101,3	101,3
media	41,7	11,3	26,9	56,5	68,1	77,6	83,6	89,3	92,8	97,9

bloco 10	10,0	40,0	60,0	80,0	100,0	120,0	140,0	160,0	180,0	200,0
60	11,3	11,3	11,3	56,1	63,6	59,7	76,2	85,9	93,2	102,9
120	11,3	11,3	11,3	55,7	61,9	76,2	86,7	95,7	96,8	99,7
260	11,3	11,3	11,3	45,0	54,0	62,3	64,4	84,6	84,6	87,9
media	11,3	11,3	11,3	52,3	59,9	66,1	75,8	88,7	91,5	96,8

bloco média	10,0	40,0	60,0	80,0	100,0	120,0	140,0	160,0	180,0	200,0
60	54,2	24,9	31,6	54,3	67,7	83,3	82,9	88,5	90,9	95,0
120	34,4	25,1	34,2	56,2	72,3	83,7	89,8	94,9	96,8	98,9
260	33,7	38,9	31,3	54,0	66,9	77,7	85,0	91,8	92,4	94,5
media	40,8	29,6	32,4	54,8	69,0	81,6	85,9	91,7	93,4	96,1

One-Up Bond F										
bloco 1	10	40	60	80	100	120	140	160	180	200
60	11,3	11,3	11,3	58,4	74,9	85,6	73,9	75,4	79,3	81,6
120	11,3	11,3	11,3	53,8	48,4	76,6	88,3	88,3	88,3	88,3
260	11,3	11,3	11,3	74,3	81,2	90,2	86,7	90,2	90,5	90,5
media	11,3	11,3	11,3	62,2	68,2	84,1	83,0	84,7	86,0	86,8

bloco 2	10,0	40,0	60,0	80,0	100,0	120,0	140,0	160,0	180,0	200,0
60	11,3	11,3	11,3	43,8	57,1	73,4	80,6	80,6	93,2	94,0
120	11,3	11,3	11,3	11,3	35,8	70,8	80,6	83,5	84,6	89,0
260	11,3	11,3	11,3	51,4	48,1	60,2	69,6	89,7	90,2	92,0
media	11,3	11,3	11,3	35,5	47,0	68,1	76,9	84,6	89,3	91,7

bloco 3	10,0	40,0	60,0	80,0	100,0	120,0	140,0	160,0	180,0	200,0
60	75,4	11,3	11,3	56,3	78,8	90,2	99,7	104,6	104,6	104,6
120	41,1	11,3	32,6	40,8	59,7	84,0	87,9	102,9	101,3	107,4
260	41,3	11,3	34,6	60,7	72,4	87,0	96,8	102,9	106,3	106,3
media	52,6	11,3	26,2	52,6	70,3	87,0	94,8	103,5	104,0	106,1

bloco 4	10,0	40,0	60,0	80,0	100,0	120,0	140,0	160,0	180,0	200,0
60	118,2	11,3	58,4	75,4	89,3	101,3	103,9	103,9	106,3	106,3
120	34,8	11,3	11,3	74,9	85,2	98,8	101,9	107,0	106,3	106,3
260	34,4	11,3	55,9	84,6	95,4	100,0	101,3	100,7	103,6	104,6
media	62,5	11,3	41,9	78,3	90,0	100,1	102,4	103,9	105,4	105,7
bloco 5	10,0	40,0	60,0	80,0	100,0	120,0	140,0	160,0	180,0	200,0
60	33,0	11,3	11,3	99,7	104,6	108,1	108,1	108,1	108,1	108,1
120	11,3	11,3	11,3	83,5	101,9	102,9	107,4	109,9	109,9	109,9
260	38,0	11,3	11,3	86,7	109,9	109,9	109,9	116,0	113,9	116,0
media	27,5	11,3	11,3	90,0	105,5	107,0	108,5	111,3	110,6	111,3

bloco 6	10,0	40,0	60,0	80,0	100,0	120,0	140,0	160,0	180,0	200,0
60	53,3	58,8	58,8	59,7	70,0	68,3	70,9	77,1	85,6	85,6
120	58,4	64,7	64,2	64,7	70,9	73,9	76,2	80,6	90,2	90,2
260	48,5	55,7	64,2	63,6	70,9	75,4	80,1	87,9	89,7	96,8
media	53,4	59,8	62,4	62,7	70,6	72,5	75,7	81,8	88,5	90,9

bloco 7	10,0	40,0	60,0	80,0	100,0	120,0	140,0	160,0	180,0	200,0
60	40,6	38,0	40,8	80,6	84,6	89,7	89,7	94,0	96,8	96,8
120	37,2	38,7	81,6	86,7	93,2	92,7	92,7	92,7	96,8	99,7
260	40,3	50,2	80,6	80,6	89,0	96,8	101,0	101,6	102,9	102,9
media	39,4	42,3	67,7	82,7	88,9	93,1	94,5	96,1	98,8	99,8

bloco 8	10,0	40,0	60,0	80,0	100,0	120,0	140,0	160,0	180,0	200,0
60	11,3	11,3	11,3	11,3	33,2	62,1	81,6	94,0	91,4	91,4
120	11,3	11,3	11,3	11,3	29,6	43,0	67,1	89,0	83,5	89,0
260	11,3	25,9	32,4	44,0	57,7	69,6	85,6	89,0	87,9	91,4
media	11,3	16,2	18,3	22,2	40,2	58,2	78,1	90,7	87,6	90,6
bloco 9	10,0	40,0	60,0	80,0	100,0	120,0	140,0	160,0	180,0	200,0
60	41,0	11,3	11,3	52,2	58,4	62,1	66,5	74,3	76,2	74,6
120	33,6	11,3	41,3	46,0	61,0	55,9	54,8	68,4	60,7	70,0
260	11,3	11,3	11,3	52,9	49,0	60,2	57,5	48,7	64,2	64,7
media	28,6	11,3	21,3	50,3	56,1	59,4	59,6	63,8	67,0	69,8

bloco 10	10,0	40,0	60,0	80,0	100,0	120,0	140,0	160,0	180,0	200,0
60	38,9	27,8	11,3	11,3	77,1	90,5	98,2	99,7	104,6	104,6
120	11,3	11,3	11,3	11,3	57,1	62,0	95,4	95,7	98,2	98,2
260	28,3	11,3	11,3	31,4	47,7	62,0	72,7	86,1	92,5	94,0
media	26,2	16,8	11,3	18,0	60,6	71,5	88,8	93,8	98,4	98,9

bloco média	10,0	40,0	60,0	80,0	100,0	120,0	140,0	160,0	180,0	200,0
60	56,3	29,3	34,4	62,3	75,6	84,7	88,6	92,1	95,3	95,5
120	33,3	30,3	41,4	57,9	68,9	78,6	86,8	92,7	93,1	95,6
260	32,9	30,5	43,8	65,9	75,5	83,2	87,7	93,0	95,2	96,9
media	40,8	30,0	39,9	62,0	73,3	82,2	87,7	92,6	94,5	96,0

Anexo 6

Resultados da Microscopia de luz Polarizada *in situ*

Clearfil SE Bond							
vol.	amostra	1	2	3	4	5	média
1	2	19,40	16,41	0,00	0,00	0,00	7,16
3	9	81,27	76,25	65,68	42,45	41,81	61,49
	10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	12	64,17	47,76	0,00	0,00	0,00	22,39
4	13	92,26	97,30	20,89	0,00	40,32	50,15
5	19	16,41	11,94	7,46	5,97	1,49	8,65
	20	47,78	26,90	34,32	0,00	0,00	21,80
6	21	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	22	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	23	34,32	40,29	35,85	0,00	0,00	22,09
9	35	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10	37	17,91	19,46	10,44	0,00	0,00	9,56
11	43	28,35	29,99	46,26	40,32	0,00	28,98
12	45	29,88	40,30	49,25	50,83	0,00	34,05
13	50	0,00	0,00	7,46	9,07	5,97	4,50
14	0	0	0	0	0	0	0
Clearfil Protect Bond							
vol	amostra	1	2	3	4	5	média
2	5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	8	2,98	5,97	7,60	0,00	0,00	3,31
3	10	14,99	11,94	43,28	28,39	25,37	24,79
	12	1,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,28
4	14	0,00	0,00	26,86	34,36	0,00	12,24
	15	22,38	0,00	2,98	55,24	49,25	25,97
5	18	0,00	0,00	0,00	5,97	0,00	1,19
	20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	22	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	23	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7	25	10,44	13,50	8,95	10,44	0,00	8,67
	27	43,28	32,83	41,70	38,80	34,32	38,19
9	34	21,10	0,00	0,00	0,00	0,00	4,22
10	37	37,31	40,29	43,28	16,41	28,90	33,24
11	41	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	42	0,00	48,89	49,25	0,00	0,00	19,63
13	50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	51	17,97	24,06	0,00	0,00	0,00	8,41
	49	49,26	37,30	25,30	0,00	0,00	22,37
14	53	19,40	28,50	38,80	26,06	35,30	29,61
	54	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Clearfil SE Bond		Clearfil Protect Bond	
vol.	média	vol.	média
1	7,16	2	1,65
3	27,95	3	12,53
4	50,15	4	19,1
5	15,22	5	0,59
6	7,36	6	0
9	0,00	7	23,42
10	9,56	9	4,22
11	28,98	10	33,2
12	34,05	11	9,8
13	4,50	13	10,25
14	0,00	14	14,8
média geral	16,81	média geral	11,78
desvio padrão	16,23	desvio padrão	10,43

127

Anexo 7

Resultados da Microscopia de Luz Polarizada *in vitro*

One-up Bond F

amostras	1	2	3	4	5	MÉDIA
1	79,10	86,57	80,60	91,04	85,09	84,48
2	35,82	37,31	44,78	41,79	46,27	41,19
3	67,43	58,38	81,44	88,11	83,80	75,83
4	41,79	28,36	81,44	88,11	83,80	64,70
5	96,09	103,26	100,00	102,98	104,47	101,36
6	55,22	50,75	49,25	49,25	41,79	49,25
7	56,72	53,73	52,24	58,21	59,70	56,12
8	46,27	44,80	34,36	46,27	53,73	45,09
9	82,09	88,07	90,21	81,53	68,75	82,13
10	46,27	44,80	34,36	46,27	53,73	45,09
11	26,91	28,40	43,28	40,30	25,42	32,86
12	102,99	98,51	82,09	77,61	70,15	86,27
média						63,70
desvio padrão						21,88

Single Bond

amostras	1	2	3	4	5	MÉDIA
1	88,06	104,49	105,97	98,52	103,03	100,01
2	40,30	41,79	52,24	59,70	59,70	50,75
3	53,73	43,31	43,28	58,21	59,70	51,65
4	31,34	34,33	35,82	38,83	40,30	36,12
5	97,01	109,00	113,44	105,90	104,49	105,97
6	58,23	82,10	58,21	55,22	62,97	63,35
7	50,77	53,75	58,75	50,75	52,32	53,27
média						65,87
desv pad						26,63

Clearfil Protect Bond

amostras	1	2	3	4	5	MÉDIA
1	79,10	67,16	52,24	22,39	10,45	46,27
2	53,73	43,27	52,32	40,33	46,27	47,18
3	48,13	39,26	35,13	40,30	48,59	40,71
4	0,00	46,27	67,18	62,69	44,78	44,18
5	0,00	0,00	19,40	79,12	76,12	34,93
6	55,30	47,76	46,27	43,28	43,28	47,18
7	44,78	37,31	34,33	32,84	38,81	37,61
8	31,38	26,87	58,29	54,25	63,13	46,78
9	44,88	40,30	41,79	40,30	34,33	40,32
10	40,30	43,28	40,30	43,28	44,78	42,39
11	53,73	40,30	40,30	40,30	46,27	44,18
12	0,00	0,00	19,40	79,12	76,12	34,93
13	41,79	38,81	40,30	41,79	46,27	41,79
média						42,19
Desv pad						4,36

Clearfil SE Bond

amostras	1	2	3	4	5	MÉDIA
1	64,18	71,64	67,16	67,16	68,66	67,76
2	80,60	68,66	56,74	67,16	67,16	68,06
3	44,78	40,30	40,30	37,31	34,33	39,40
4	76,12	59,72	61,21	44,78	49,25	58,22
5	46,27	44,80	46,29	44,78	52,24	46,87
6	77,67	67,18	32,84	43,28	41,79	52,55
7	62,69	59,70	49,34	38,81	37,31	49,57
8	52,24	80,61	55,24	55,24	62,69	61,20
9	47,76	44,78	47,76	47,76	44,80	46,57
10	41,79	43,28	37,31	46,27	44,78	42,69
média						53,29
desv pad						10,11

Anexo 8

Análise Estatística da % Volume Mineral *in situ*

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
adesivo	2	1 2
dist	3	1 2 3
profund	10	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
n	14	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14

Number of observations 840

Dependent Variable: mineral

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	137	54633.61157	398.78549	19.21	<.0001
Error	702	14570.64443	20.75590		
Corrected Total	839	69204.25600			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	mineral Mean
0.789455	5.188321	4.555865	87.81000

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
adesivo	1	2448.72576	2448.72576	117.98	<.0001
adesivo*n	26	10881.70824	418.52724	20.16	<.0001
dist	2	121.84164	60.92082	2.94	0.0538
adesivo*dist	2	183.17874	91.58937	4.41	0.0125
adesivo*dist*n	52	3062.99162	58.90368	2.84	<.0001
profund	9	34690.70124	3854.52236	185.71	<.0001
adesivo*profund	9	2268.75757	252.08417	12.15	<.0001
dist*profund	18	790.57526	43.92085	2.12	0.0045
adesivo*dist*profund	18	185.13150	10.28508	0.50	0.9606

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
adesivo	1	2448.72576	2448.72576	117.98	<.0001
adesivo*n	26	10881.70824	418.52724	20.16	<.0001
dist	2	121.84164	60.92082	2.94	0.0538
adesivo*dist	2	183.17874	91.58937	4.41	0.0125
adesivo*dist*n	52	3062.99162	58.90368	2.84	<.0001
profund	9	34690.70124	3854.52236	185.71	<.0001
adesivo*profund	9	2268.75757	252.08417	12.15	<.0001
dist*profund	18	790.57526	43.92085	2.12	0.0045
adesivo*dist*profund	18	185.13150	10.28508	0.50	0.9606

Tests of Hypotheses Using the Type III MS for adesivo*n as an Error Term

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
adesivo	1	2448.725762	2448.725762	5.85	0.0229

Dependent Variable: mineral

Tests of Hypotheses Using the Type III MS for adesivo*dist*n as an Error Term

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
dist	2	121.8416429	60.9208214	1.03	0.3627
adesivo*dist	2	183.1787381	91.5893690	1.55	0.2209

08:46 Wednesday, November 23,

2005 36

Least Squares Means

Adjustment for Multiple Comparisons: Tukey

adesivo	profund	mineral LSMEAN	LSMEAN Number
1	1	66.5190476	1
1	2	77.5547619	2
1	3	82.6023810	3
1	4	85.9357143	4
1	5	88.9785714	5
1	6	90.6619048	6
1	7	91.1238095	7
1	8	92.4690476	8
1	9	92.9380952	9
1	10	92.2428571	10
2	1	77.4476190	11
2	2	84.5642857	12
2	3	87.7428571	13
2	4	90.2738095	14
2	5	90.9190476	15
2	6	92.2761905	16
2	7	92.8238095	17
2	8	93.2238095	18
2	9	92.6904762	19
2	10	93.2119048	20

Least Squares Means for effect adesivo*profund

Pr > |t| for H0: LSMean(i)=LSMean(j)

Dependent Variable: mineral

i/j	1	2	3	4	5	6	7	8	9
10									
1		<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
2	<.0001		<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
3	<.0001	<.0001		0.0935	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
4	<.0001	<.0001	0.0935		0.2033	0.0004	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
5	<.0001	<.0001	<.0001	0.2033		0.9797	0.8248	0.0580	0.0112
0.1139									
6	<.0001	<.0001	<.0001	0.0004	0.9797		1.0000	0.9583	0.7413
0.9899									
7	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.8248	1.0000		0.9986	0.9567
0.9999									

8	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0580	0.9583	0.9986		1.0000
1.0000									
9	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0112	0.7413	0.9567	1.0000	
1.0000									
10	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.1139	0.9899	0.9999	1.0000	1.0000
11	<.0001	1.0000	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
12	<.0001	<.0001	0.9123	0.9982	0.0017	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
13	<.0001	<.0001	<.0001	0.9583	0.9996	0.2706	0.0812	0.0004	<.0001
0.0012									
14	<.0001	<.0001	<.0001	0.0024	0.9992	1.0000	1.0000	0.7947	0.4449
0.9096									
15	<.0001	<.0001	<.0001	0.0001	0.9201	1.0000	1.0000	0.9919	0.8890
0.9989									
16	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.1037	0.9872	0.9998	1.0000	1.0000
1.0000									
17	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0172	0.8150	0.9775	1.0000	1.0000
1.0000									
18	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0036	0.5241	0.8497	1.0000	1.0000
1.0000									
19	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0278	0.8847	0.9909	1.0000	1.0000
1.0000									
20	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0038	0.5335	0.8560	1.0000	1.0000
1.0000									
i/j	11	12	13	14	15	16	17	18	19
20									
1	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
2	1.0000	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
3	<.0001	0.9123	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
4	<.0001	0.9982	0.9583	0.0024	0.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
5	<.0001	0.0017	0.9996	0.9992	0.9201	0.1037	0.0172	0.0036	0.0278
0.0038									
6	<.0001	<.0001	0.2706	1.0000	1.0000	0.9872	0.8150	0.5241	0.8847
0.5335									
7	<.0001	<.0001	0.0812	1.0000	1.0000	0.9998	0.9775	0.8497	0.9909
0.8560									
8	<.0001	<.0001	0.0004	0.7947	0.9919	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
9	<.0001	<.0001	<.0001	0.4449	0.8890	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
10	<.0001	<.0001	0.0012	0.9096	0.9989	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
11		<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
12	<.0001		0.1440	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
13	<.0001	0.1440		0.5485	0.1449	0.0010	<.0001	<.0001	0.0001
<.0001									
14	<.0001	<.0001	0.5485		1.0000	0.8961	0.5335	0.2526	0.6379
0.2594									
15	<.0001	<.0001	0.1449	1.0000		0.9985	0.9321	0.7212	0.9657
0.7297									
16	<.0001	<.0001	0.0010	0.8961	0.9985		1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
17	<.0001	<.0001	<.0001	0.5335	0.9321	1.0000		1.0000	1.0000
1.0000									
18	<.0001	<.0001	<.0001	0.2526	0.7212	1.0000	1.0000		1.0000
1.0000									
19	<.0001	<.0001	0.0001	0.6379	0.9657	1.0000	1.0000	1.0000	
1.0000									
20	<.0001	<.0001	<.0001	0.2594	0.7297	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000

Least Squares Means

adesivo*profund Effect Sliced by adesivo for mineral

adesivo	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
1	9	27220	3024.419389	145.71	<.0001
2	9	9739.684310	1082.187146	52.14	<.0001

Least Squares Means

Adjustment for Multiple Comparisons: Tukey

Standard Errors and Probabilities Calculated Using the Type III MS for adesivo*n as an Error Term

adesivo	profund	mineral LSMEAN	LSMEAN Number
1	1	66.5190476	1
1	2	77.5547619	2
1	3	82.6023810	3
1	4	85.9357143	4
1	5	88.9785714	5
1	6	90.6619048	6
1	7	91.1238095	7
1	8	92.4690476	8
1	9	92.9380952	9
1	10	92.2428571	10
2	1	77.4476190	11
2	2	84.5642857	12
2	3	87.7428571	13
2	4	90.2738095	14
2	5	90.9190476	15
2	6	92.2761905	16
2	7	92.8238095	17
2	8	93.2238095	18
2	9	92.6904762	19
2	10	93.2119048	20

Least Squares Means for effect adesivo*profund
Pr > |t| for H0: LSMean(i)=LSMean(j)

Dependent Variable: mineral

i/j	1	2	3	4	5	6	7	8	9
10									
1		0.6113	0.0988	0.0190	0.0037	0.0015	0.0011	0.0005	0.0004
0.0006									
2	0.6113		0.9996	0.9203	0.5555	0.3327	0.2819	0.1654	0.1352
0.1818									
3	0.0988	0.9996		1.0000	0.9935	0.9410	0.9099	0.7715	0.7099
0.7992									
4	0.0190	0.9203	1.0000		1.0000	0.9998	0.9994	0.9915	0.9830
0.9942									
5	0.0037	0.5555	0.9935	1.0000		1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
6	0.0015	0.3327	0.9410	0.9998	1.0000		1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
7	0.0011	0.2819	0.9099	0.9994	1.0000	1.0000		1.0000	1.0000
1.0000									
8	0.0005	0.1654	0.7715	0.9915	1.0000	1.0000	1.0000		1.0000
1.0000									
9	0.0004	0.1352	0.7099	0.9830	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	
1.0000									

10	0.0006	0.1818	0.7992	0.9942	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
11	0.6267	1.0000	0.9995	0.9124	0.5402	0.3204	0.2709	0.1580	0.1290
0.1739									
12	0.0384	0.9828	1.0000	1.0000	0.9999	0.9960	0.9912	0.9496	0.9208
0.9605									
13	0.0072	0.7299	0.9995	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.9998	0.9994
0.9999									
14	0.0018	0.3794	0.9608	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
15	0.0013	0.3038	0.9247	0.9997	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
16	0.0006	0.1793	0.7953	0.9939	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
17	0.0004	0.1421	0.7254	0.9855	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
18	0.0004	0.1192	0.6703	0.9752	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
19	0.0005	0.1505	0.7431	0.9881	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
20	0.0004	0.1198	0.6720	0.9755	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
i/j	11	12	13	14	15	16	17	18	19
20									
1	0.6267	0.0384	0.0072	0.0018	0.0013	0.0006	0.0004	0.0004	0.0005
0.0004									
2	1.0000	0.9828	0.7299	0.3794	0.3038	0.1793	0.1421	0.1192	0.1505
0.1198									
3	0.9995	1.0000	0.9995	0.9608	0.9247	0.7953	0.7254	0.6703	0.7431
0.6720									
4	0.9124	1.0000	1.0000	1.0000	0.9997	0.9939	0.9855	0.9752	0.9881
0.9755									
5	0.5402	0.9999	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
6	0.3204	0.9960	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
7	0.2709	0.9912	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
8	0.1580	0.9496	0.9998	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
9	0.1290	0.9208	0.9994	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
10	0.1739	0.9605	0.9999	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
11		0.9801	0.7154	0.3661	0.2922	0.1715	0.1356	0.1136	0.1437
0.1142									
12	0.9801		1.0000	0.9981	0.9937	0.9590	0.9286	0.8989	0.9371
0.8998									
13	0.7154	1.0000		1.0000	1.0000	0.9999	0.9996	0.9989	0.9997
0.9989									
14	0.3661	0.9981	1.0000		1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
15	0.2922	0.9937	1.0000	1.0000		1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
16	0.1715	0.9590	0.9999	1.0000	1.0000		1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
17	0.1356	0.9286	0.9996	1.0000	1.0000	1.0000		1.0000	1.0000
1.0000									
18	0.1136	0.8989	0.9989	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000		1.0000
1.0000									
19	0.1437	0.9371	0.9997	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	
1.0000									
20	0.1142	0.8998	0.9989	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000

Least Squares Means

adesivo*profund Effect Sliced by profund for mineral

profund	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
1	1	2508.107143	2508.107143	5.99	0.0214
2	1	1031.801905	1031.801905	2.47	0.1285
3	1	554.914405	554.914405	1.33	0.2600
4	1	395.200476	395.200476	0.94	0.3401
5	1	79.074405	79.074405	0.19	0.6674
6	1	54.724286	54.724286	0.13	0.7206
7	1	60.690000	60.690000	0.15	0.7064
8	1	11.962976	11.962976	0.03	0.8671
9	1	1.287619	1.287619	0.00	0.9562
10	1	19.720119	19.720119	0.05	0.8299

Least Squares Means

Adjustment for Multiple Comparisons: Tukey

dist	profund	mineral LSMEAN	LSMEAN Number
1	1	74.6285714	1
1	2	82.7642857	2
1	3	85.8607143	3
1	4	88.6678571	4
1	5	90.1678571	5
1	6	91.2678571	6
1	7	91.1178571	7
1	8	92.1500000	8
1	9	91.8000000	9
1	10	91.4392857	10
2	1	69.7964286	11
2	2	79.0642857	12
2	3	83.6571429	13
2	4	86.6892857	14
2	5	89.2714286	15
2	6	91.4607143	16
2	7	92.2928571	17
2	8	93.2250000	18
2	9	93.6357143	19
2	10	93.7178571	20
3	1	71.5250000	21
3	2	81.3500000	22
3	3	86.0000000	23
3	4	88.9571429	24
3	5	90.4071429	25
3	6	91.6785714	26
3	7	92.5107143	27
3	8	93.1642857	28
3	9	93.0071429	29
3	10	93.0250000	30

Least Squares Means
Adjustment for Multiple Comparisons: Tukey

Least Squares Means for effect dist*profund
Pr > |t| for H0: LSMean(i)=LSMean(j)

Dependent Variable: mineral

i/j	1	2	3	4	5	6	7	8	9
10									
1		<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
2	<.0001		0.7495	0.0006	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
3	<.0001	0.7495		0.8906	0.1025	0.0038	0.0063	0.0001	0.0005
0.0020									
4	<.0001	0.0006	0.8906		1.0000	0.9512	0.9763	0.4974	0.7281
0.9035									
5	<.0001	<.0001	0.1025	1.0000		1.0000	1.0000	0.9990	1.0000
1.0000									
6	<.0001	<.0001	0.0038	0.9512	1.0000		1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
7	<.0001	<.0001	0.0063	0.9763	1.0000	1.0000		1.0000	1.0000
1.0000									
8	<.0001	<.0001	0.0001	0.4974	0.9990	1.0000	1.0000		1.0000
1.0000									
9	<.0001	<.0001	0.0005	0.7281	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	
1.0000									
10	<.0001	<.0001	0.0020	0.9035	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
11	0.0245	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
12	0.0742	0.3586	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
13	<.0001	1.0000	0.9946	0.0141	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
14	<.0001	0.2384	1.0000	0.9991	0.4998	0.0507	0.0756	0.0031	0.0103
0.0312									
15	<.0001	<.0001	0.5456	1.0000	1.0000	0.9989	0.9997	0.8617	0.9649
0.9958									
16	<.0001	<.0001	0.0019	0.8959	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
17	<.0001	<.0001	<.0001	0.4044	0.9970	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
18	<.0001	<.0001	<.0001	0.0538	0.7721	0.9992	0.9973	1.0000	1.0000
0.9999									
19	<.0001	<.0001	<.0001	0.0162	0.5070	0.9849	0.9667	1.0000	0.9998
0.9949									
20	<.0001	<.0001	<.0001	0.0125	0.4525	0.9763	0.9512	1.0000	0.9995
0.9912									
21	0.7453	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
22	<.0001	1.0000	0.0609	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
23	<.0001	0.6627	1.0000	0.9350	0.1423	0.0061	0.0100	0.0002	0.0009
0.0034									
24	<.0001	0.0002	0.7495	1.0000	1.0000	0.9893	0.9960	0.6903	0.8767
0.9721									
25	<.0001	<.0001	0.0554	0.9999	1.0000	1.0000	1.0000	0.9999	1.0000
1.0000									
26	<.0001	<.0001	0.0008	0.7977	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
27	<.0001	<.0001	<.0001	0.2789	0.9870	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
28	<.0001	<.0001	<.0001	0.0633	0.8052	0.9996	0.9984	1.0000	1.0000
0.9999									
29	<.0001	<.0001	<.0001	0.0947	0.8781	0.9999	0.9996	1.0000	1.0000
1.0000									

30 1.0000	<.0001	<.0001	<.0001	0.0906	0.8708	0.9999	0.9995	1.0000	1.0000
1/j 20	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1 <.0001	0.0245	0.0742	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
2 <.0001	<.0001	0.3586	1.0000	0.2384	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
3 <.0001	<.0001	<.0001	0.9946	1.0000	0.5456	0.0019	<.0001	<.0001	<.0001
4 0.0125	<.0001	<.0001	0.0141	0.9991	1.0000	0.8959	0.4044	0.0538	0.0162
5 0.4525	<.0001	<.0001	<.0001	0.4998	1.0000	1.0000	0.9970	0.7721	0.5070
6 0.9763	<.0001	<.0001	<.0001	0.0507	0.9989	1.0000	1.0000	0.9992	0.9849
7 0.9512	<.0001	<.0001	<.0001	0.0756	0.9997	1.0000	1.0000	0.9973	0.9667
8 1.0000	<.0001	<.0001	<.0001	0.0031	0.8617	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
9 0.9995	<.0001	<.0001	<.0001	0.0103	0.9649	1.0000	1.0000	1.0000	0.9998
10 0.9912	<.0001	<.0001	<.0001	0.0312	0.9958	1.0000	1.0000	0.9999	0.9949
11 <.0001		<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
12 <.0001	<.0001		0.0488	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
13 <.0001	<.0001	0.0488		0.7861	0.0018	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
14 <.0001	<.0001	<.0001	0.7861		0.9550	0.0293	0.0019	<.0001	<.0001
15 0.0722	<.0001	<.0001	0.0018	0.9550		0.9952	0.7919	0.2252	0.0890
16 0.9923	<.0001	<.0001	<.0001	0.0293	0.9952		1.0000	0.9999	0.9956
17 1.0000	<.0001	<.0001	<.0001	0.0019	0.7919	1.0000		1.0000	1.0000
18 1.0000	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.2252	0.9999	1.0000		1.0000
19 1.0000	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0890	0.9956	1.0000	1.0000	
20 <.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0722	0.9923	1.0000	1.0000	1.0000
21 <.0001	0.9999	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
22 <.0001	<.0001	0.9908	0.9895	0.0048	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
23 <.0001	<.0001	<.0001	0.9870	1.0000	0.6392	0.0031	0.0001	<.0001	<.0001
24 0.0303	<.0001	<.0001	0.0055	0.9918	1.0000	0.9689	0.5962	0.1127	0.0384
25 0.6130	<.0001	<.0001	<.0001	0.3480	1.0000	1.0000	0.9996	0.8865	0.6673
26 0.9984	<.0001	<.0001	<.0001	0.0151	0.9812	1.0000	1.0000	1.0000	0.9992
27 1.0000	<.0001	<.0001	<.0001	0.0008	0.6603	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
28 1.0000	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.2538	0.9999	1.0000	1.0000	1.0000
29 1.0000	<.0001	<.0001	<.0001	0.0001	0.3376	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
30 1.0000	<.0001	<.0001	<.0001	0.0001	0.3274	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000

i/j 30	21	22	23	24	25	26	27	28	29
1	0.7453	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
2	<.0001	1.0000	0.6627	0.0002	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
3	<.0001	0.0609	1.0000	0.7495	0.0554	0.0008	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
4	<.0001	<.0001	0.9350	1.0000	0.9999	0.7977	0.2789	0.0633	0.0947
0.0906									
5	<.0001	<.0001	0.1423	1.0000	1.0000	1.0000	0.9870	0.8052	0.8781
0.8708									
6	<.0001	<.0001	0.0061	0.9893	1.0000	1.0000	1.0000	0.9996	0.9999
0.9999									
7	<.0001	<.0001	0.0100	0.9960	1.0000	1.0000	1.0000	0.9984	0.9996
0.9995									
8	<.0001	<.0001	0.0002	0.6903	0.9999	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
9	<.0001	<.0001	0.0009	0.8767	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
10	<.0001	<.0001	0.0034	0.9721	1.0000	1.0000	1.0000	0.9999	1.0000
1.0000									
11	0.9999	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
12	<.0001	0.9908	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
13	<.0001	0.9895	0.9870	0.0055	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
14	<.0001	0.0048	1.0000	0.9918	0.3480	0.0151	0.0008	<.0001	0.0001
0.0001									
15	<.0001	<.0001	0.6392	1.0000	1.0000	0.9812	0.6603	0.2538	0.3376
0.3274									
16	<.0001	<.0001	0.0031	0.9689	1.0000	1.0000	1.0000	0.9999	1.0000
1.0000									
17	<.0001	<.0001	0.0001	0.5962	0.9996	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
18	<.0001	<.0001	<.0001	0.1127	0.8865	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
19	<.0001	<.0001	<.0001	0.0384	0.6673	0.9992	1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
20	<.0001	<.0001	<.0001	0.0303	0.6130	0.9984	1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
21		<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
22	<.0001		0.0416	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
23	<.0001	0.0416		0.8252	0.0798	0.0014	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
24	<.0001	<.0001	0.8252		1.0000	0.9198	0.4502	0.1300	0.1845
0.1776									
25	<.0001	<.0001	0.0798	1.0000		1.0000	0.9974	0.9083	0.9512
0.9473									
26	<.0001	<.0001	0.0014	0.9198	1.0000		1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
27	<.0001	<.0001	<.0001	0.4502	0.9974	1.0000		1.0000	1.0000
1.0000									
28	<.0001	<.0001	<.0001	0.1300	0.9083	1.0000	1.0000		1.0000
1.0000									
29	<.0001	<.0001	<.0001	0.1845	0.9512	1.0000	1.0000	1.0000	
1.0000									
30	<.0001	<.0001	<.0001	0.1776	0.9473	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000

dist*profund Effect Sliced by dist for mineral

dist	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
1	9	7834.939143	870.548794	41.94	<.0001
2	9	15411	1712.368893	82.50	<.0001
3	9	12235	1359.446369	65.50	<.0001

Level of dist	Level of profund	N	-----mineral----- Mean	Std Dev
1	1	28	74.6285714	10.0085466
1	2	28	82.7642857	7.9270850
1	3	28	85.8607143	5.9675877
1	4	28	88.6678571	6.0615396
1	5	28	90.1678571	5.7323031
1	6	28	91.2678571	5.6087929
1	7	28	91.1178571	5.5291854
1	8	28	92.1500000	5.2146872
1	9	28	91.8000000	4.4409709
1	10	28	91.4392857	4.3134878
2	1	28	69.7964286	10.5401694
2	2	28	79.0642857	9.8884974
2	3	28	83.6571429	8.1075835
2	4	28	86.6892857	6.4244521
2	5	28	89.2714286	4.6427049
2	6	28	91.4607143	4.8319415
2	7	28	92.2928571	3.9236159
2	8	28	93.2250000	4.6438829
2	9	28	93.6357143	4.4408219
2	10	28	93.7178571	3.4768071
3	1	28	71.5250000	9.5057731
3	2	28	81.3500000	8.2328835
3	3	28	86.0000000	7.5370689
3	4	28	88.9571429	6.7286248
3	5	28	90.4071429	5.3977312
3	6	28	91.6785714	5.8505053
3	7	28	92.5107143	5.4257506
3	8	28	93.1642857	5.1335652
3	9	28	93.0071429	4.2277679
3	10	28	93.0250000	4.6801096

Level of adesivo	Level of profund	N	-----mineral----- Mean	Std Dev
1	1	42	66.5190476	9.28306189
1	2	42	77.5547619	9.28952209
1	3	42	82.6023810	7.42154044
1	4	42	85.9357143	6.60187783
1	5	42	88.9785714	5.83661845
1	6	42	90.6619048	5.95789914
1	7	42	91.1238095	5.45410159
1	8	42	92.4690476	5.05136968
1	9	42	92.9380952	4.45836853
1	10	42	92.2428571	4.11677964
2	1	42	77.4476190	7.71176605
2	2	42	84.5642857	6.61140262
2	3	42	87.7428571	6.15586743
2	4	42	90.2738095	5.48163495
2	5	42	90.9190476	4.41760547
2	6	42	92.2761905	4.67535362
2	7	42	92.8238095	4.38138020
2	8	42	93.2238095	4.91467735
2	9	42	92.6904762	4.36185290
2	10	42	93.2119048	4.36718374

Level of adesivo	Level of dist	Level of profund	N	-----mineral-----	
				Mean	Std Dev
1	1	1	14	68.9000000	8.7620686
1	1	2	14	78.7642857	7.9674923
1	1	3	14	83.7357143	6.7610431
1	1	4	14	87.4000000	6.2076875
1	1	5	14	88.2142857	6.4788243
1	1	6	14	89.4571429	6.0813352
1	1	7	14	90.3571429	5.8835774
1	1	8	14	92.0357143	4.8743610
1	1	9	14	92.5142857	4.2639558
1	1	10	14	91.0500000	4.3778727
1	2	1	14	64.7357143	9.9639046
1	2	2	14	76.4928571	11.6360490
1	2	3	14	81.1500000	8.8672041
1	2	4	14	84.4000000	7.0246818
1	2	5	14	89.6285714	5.5287262
1	2	6	14	91.8285714	5.0077522
1	2	7	14	91.9285714	4.5616172
1	2	8	14	93.3857143	5.4766437
1	2	9	14	94.4428571	4.8419186
1	2	10	14	93.6357143	3.6337324
1	3	1	14	65.9214286	9.2636742
1	3	2	14	77.4071429	8.3946379
1	3	3	14	82.9214286	6.7533671
1	3	4	14	86.0071429	6.6875849
1	3	5	14	89.0928571	5.8137059
1	3	6	14	90.7000000	6.8454364
1	3	7	14	91.0857143	6.0878008
1	3	8	14	91.9857143	5.0361550
1	3	9	14	91.8571429	4.1440809
1	3	10	14	92.0428571	4.1733061
2	1	1	14	80.3571429	7.7840779
2	1	2	14	86.7642857	5.7068929
2	1	3	14	87.9857143	4.3041764
2	1	4	14	89.9357143	5.8577506
2	1	5	14	92.1214286	4.2486520
2	1	6	14	93.0785714	4.6143886
2	1	7	14	91.8785714	5.2566703
2	1	8	14	92.2642857	5.7175314
2	1	9	14	91.0857143	4.6563203
2	1	10	14	91.8285714	4.3762345
2	2	1	14	74.8571429	8.7346978
2	2	2	14	81.6357143	7.3107515
2	2	3	14	86.1642857	6.6600540
2	2	4	14	88.9785714	5.0087890
2	2	5	14	88.9142857	3.7317468
2	2	6	14	91.0928571	4.8085604
2	2	7	14	92.6571429	3.2984179
2	2	8	14	93.0642857	3.8393924
2	2	9	14	92.8285714	4.0139044
2	2	10	14	93.8000000	3.4478533
2	3	1	14	77.1285714	5.8501057
2	3	2	14	85.2928571	6.0680074
2	3	3	14	89.0785714	7.2085610
2	3	4	14	91.9071429	5.5284529
2	3	5	14	91.7214286	4.7950581
2	3	6	14	92.6571429	4.7082112
2	3	7	14	93.9357143	4.4392666
2	3	8	14	94.3428571	5.1361036
2	3	9	14	94.1571429	4.1353475
2	3	10	14	94.0071429	5.0987878

Anexo 9

Análise estatística Microscopia de luz Polarizada *in situ*

Teste-F: duas amostras para variâncias

	<i>Variável</i> 1	<i>Variável</i> 2
Média	16,81273	11,77818
Variância	263,5284	108,7588
Observações	11	11
gl	10	10
F	2,423055	
P(F<=f) uni-caudal	0,089462	
F crítico uni-caudal	2,97824	

Teste-t: duas amostras presumindo variâncias equivalentes

	<i>Variável</i> 1	<i>Variável</i> 2
Média	16,81273	11,77818
Variância	263,5284	108,7588
Observações	11	11
Variância agrupada	186,1436	
Hipótese da diferença de média	0	
gl	20	
Stat t	0,865401	
P(T<=t) uni-caudal	0,19854	
t crítico uni-caudal	1,724718	
P(T<=t) bi-caudal	0,397081	
t crítico bi-caudal	2,085962	

Anexo 10

Análise Estatística da % volume mineral *in vitro*

Class Level Information

Class	Levels	Values
adesivo	4	1 2 3 4
dist	3	1 2 3
profund	10	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
n	10	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

Number of observations 1200
Dependent Variable: mineral

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	227	1178196.726	5190.294	25.34	<.0001
Error	972	199054.382	204.788		
Corrected Total	1199	1377251.108			

R-Square Coeff Var Root MSE mineral Mean
0.855470 22.15414 14.31043 64.59483

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
adesivo	3	7138.1152	2379.3717	11.62	<.0001
adesivo*n	36	125407.4741	3483.5409	17.01	<.0001
dist	2	190.7993	95.3996	0.47	0.6277
adesivo*dist	6	3943.2873	657.2145	3.21	0.0040
adesivo*dist*n	72	29780.1941	413.6138	2.02	<.0001
profund	9	982518.3506	109168.7056	533.08	<.0001
adesivo*profund	27	18716.8674	693.2173	3.39	<.0001
dist*profund	18	4170.3896	231.6883	1.13	0.3151
adesivo*dist*profund	54	6331.2486	117.2453	0.57	0.9944

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
adesivo	3	7138.1152	2379.3717	11.62	<.0001
adesivo*n	36	125407.4741	3483.5409	17.01	<.0001
dist	2	190.7993	95.3996	0.47	0.6277
adesivo*dist	6	3943.2873	657.2145	3.21	0.0040
adesivo*dist*n	72	29780.1941	413.6138	2.02	<.0001
profund	9	982518.3506	109168.7056	533.08	<.0001
adesivo*profund	27	18716.8674	693.2173	3.39	<.0001
dist*profund	18	4170.3896	231.6883	1.13	0.3151
adesivo*dist*profund	54	6331.2486	117.2453	0.57	0.9944

Tests of Hypotheses Using the Type III MS for adesivo*n as an Error Term

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
adesivo	3	7138.115233	2379.371744	0.68	0.5682

Ç

Dependent Variable: mineral

Tests of Hypotheses Using the Type III MS for adesivo*dist*n as an Error Term

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
dist	2	190.799267	95.399633	0.23	0.7946
adesivo*dist	6	3943.287267	657.214544	1.59	0.1628

Least Squares Means

Adjustment for Multiple Comparisons: Tukey

adesivo	profund	mineral LSMEAN	LSMEAN Number
1	1	26.1500000	1
1	2	13.4600000	2
1	3	14.7900000	3
1	4	34.4300000	4
1	5	64.4566667	5
1	6	83.7966667	6
1	7	89.4966667	7
1	8	95.1666667	8
1	9	98.8100000	9
1	10	99.4333333	10
2	1	39.1700000	11
2	2	27.1233333	12
2	3	35.2466667	13
2	4	57.0000000	14
2	5	72.5233333	15
2	6	82.6333333	16
2	7	87.5633333	17
2	8	91.9600000	18
2	9	94.0600000	19
2	10	95.4466667	20
3	1	33.7433333	21
3	2	20.1900000	22
3	3	23.5500000	23
3	4	48.2133333	24
3	5	64.0733333	25
3	6	77.9466667	26
3	7	83.7666667	27
3	8	90.1233333	28
3	9	91.8766667	29
3	10	94.9233333	30
4	1	32.3966667	31
4	2	20.2800000	32
4	3	28.3266667	33
4	4	55.4400000	34
4	5	69.7366667	35
4	6	80.1066667	36
4	7	86.2200000	37
4	8	91.4166667	38
4	9	93.5866667	39
4	10	95.1600000	40

Least Squares Means
Adjustment for Multiple Comparisons: Tukey
Least Squares Means for effect adesivo*profund
Pr > |t| for H0: LSMean(i)=LSMean(j)

Dependent Variable: mineral									
i/j	1	2	3	4	5	6	7	8	9
10									
1		0.2061	0.4572	0.9713	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
2	0.2061		1.0000	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
3	0.4572	1.0000		<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
4	0.9713	<.0001	<.0001		<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
5	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001		0.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
6	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0001		1.0000	0.4550	0.0279
0.0146									
7	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	1.0000		1.0000	0.8772
0.7732									
8	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.4550	1.0000		1.0000
1.0000									
9	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0279	0.8772	1.0000	
1.0000									
10	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0146	0.7732	1.0000	1.0000
11	0.1621	<.0001	<.0001	1.0000	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
12	1.0000	0.0971	0.2623	0.9962	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
13	0.9049	<.0001	<.0001	1.0000	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
14	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.9946	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
15	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.9805	0.4768	0.0032	<.0001	<.0001
<.0001									
16	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0007	1.0000	0.9989	0.2297	0.0081
0.0039									
17	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	1.0000	1.0000	0.9924	0.4828
0.3484									
18	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.9767	1.0000	1.0000	0.9989
0.9944									
19	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.7064	1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
20	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.3938	1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
21	0.9926	<.0001	0.0003	1.0000	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
22	0.9999	0.9992	1.0000	0.0586	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
23	1.0000	0.7427	0.9392	0.5673	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
24	<.0001	<.0001	<.0001	0.0877	0.0075	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
25	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	1.0000	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
26	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.1121	1.0000	0.4153	0.0024	<.0001
<.0001									
27	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0002	1.0000	1.0000	0.4483	0.0271
0.0142									
28	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.9998	1.0000	1.0000	0.9453
0.8777									
29	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.9800	1.0000	1.0000	0.9986
0.9932									

30	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.5103	1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
31	0.9998	0.0003	0.0015	1.0000	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
32	1.0000	0.9990	1.0000	0.0636	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
33	1.0000	0.0323	0.1079	0.9999	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
34	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.9140	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
35	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	1.0000	0.0689	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
36	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0144	1.0000	0.8663	0.0266	0.0004
0.0002									
37	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	1.0000	1.0000	0.9215	0.2209
0.1398									
38	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.9921	1.0000	1.0000	0.9953
0.9822									
39	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.8007	1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
40	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.4565	1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
i/j	11	12	13	14	15	16	17	18	19
20									
1	0.1621	1.0000	0.9049	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
2	<.0001	0.0971	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
3	<.0001	0.2623	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
4	1.0000	0.9962	1.0000	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
5	<.0001	<.0001	<.0001	0.9946	0.9805	0.0007	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
6	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.4768	1.0000	1.0000	0.9767	0.7064
0.3938									
7	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0032	0.9989	1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
8	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.2297	0.9924	1.0000	1.0000
1.0000									
9	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0081	0.4828	0.9989	1.0000
1.0000									
10	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0039	0.3484	0.9944	1.0000
1.0000									
11		0.3139	1.0000	0.0011	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
12	0.3139		0.9783	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
13	1.0000	0.9783		<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
14	0.0011	<.0001	<.0001		0.0165	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
15	<.0001	<.0001	<.0001	0.0165		0.7386	0.0272	0.0001	<.0001
<.0001									
16	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.7386		1.0000	0.8754	0.4424
0.1887									
17	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0272	1.0000		1.0000	0.9996
0.9863									
18	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0001	0.8754	1.0000		1.0000
1.0000									
19	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.4424	0.9996	1.0000	
1.0000									
20	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.1887	0.9863	1.0000	1.0000
21	1.0000	0.9995	1.0000	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									

22	0.0002	0.9986	0.0267	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
23	0.0149	1.0000	0.3840	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
24	0.9111	<.0001	0.1687	0.9368	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
25	<.0001	<.0001	<.0001	0.9979	0.9620	0.0004	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
26	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	1.0000	1.0000	0.8309	0.0718	0.0087
0.0017									
27	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.4836	1.0000	1.0000	0.9754	0.7000
0.3875									
28	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0015	0.9941	1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
29	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0001	0.8867	1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
30	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.2697	0.9957	1.0000	1.0000
1.0000									
31	0.9991	1.0000	1.0000	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
32	0.0003	0.9989	0.0293	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
33	0.5758	1.0000	0.9987	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
34	0.0073	<.0001	<.0001	1.0000	0.0028	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
35	<.0001	<.0001	<.0001	0.1994	1.0000	0.1776	0.0011	<.0001	<.0001
<.0001									
36	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.9928	1.0000	0.9946	0.3517	0.0757
0.0200									
37	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0944	1.0000	1.0000	1.0000	0.9874
0.8888									
38	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0003	0.9371	1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
39	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.5503	0.9999	1.0000	1.0000
1.0000									
40	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.2307	0.9925	1.0000	1.0000
1.0000									
i/j	21	22	23	24	25	26	27	28	29
30									
1	0.9926	0.9999	1.0000	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
2	<.0001	0.9992	0.7427	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
3	0.0003	1.0000	0.9392	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
4	1.0000	0.0586	0.5673	0.0877	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
5	<.0001	<.0001	<.0001	0.0075	1.0000	0.1121	0.0002	<.0001	<.0001
<.0001									
6	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	1.0000	1.0000	0.9998	0.9800
0.5103									
7	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.4153	1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
8	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0024	0.4483	1.0000	1.0000
1.0000									
9	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0271	0.9453	0.9986
1.0000									
10	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0142	0.8777	0.9932
1.0000									
11	1.0000	0.0002	0.0149	0.9111	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
12	0.9995	0.9986	1.0000	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
13	1.0000	0.0267	0.3840	0.1687	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									

14	<.0001	<.0001	<.0001	0.9368	0.9979	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
15	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.9620	1.0000	0.4836	0.0015	0.0001
<.0001									
16	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0004	1.0000	1.0000	0.9941	0.8867
0.2697									
17	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.8309	1.0000	1.0000	1.0000
0.9957									
18	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0718	0.9754	1.0000	1.0000
1.0000									
19	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0087	0.7000	1.0000	1.0000
1.0000									
20	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0017	0.3875	1.0000	1.0000
1.0000									
21		0.1064	0.7213	0.0473	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
22	0.1064		1.0000	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
23	0.7213	1.0000		<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
24	0.0473	<.0001	<.0001		0.0115	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
25	<.0001	<.0001	<.0001	0.0115		0.0812	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
26	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0812		1.0000	0.2898	0.0773
0.0032									
27	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	1.0000		0.9998	0.9788
0.5034									
28	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.2898	0.9998		1.0000
1.0000									
29	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0773	0.9788	1.0000	
1.0000									
30	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0032	0.5034	1.0000	1.0000
31	1.0000	0.2844	0.9314	0.0121	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
32	0.1146	1.0000	1.0000	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
33	1.0000	0.9778	1.0000	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
34	<.0001	<.0001	<.0001	0.9969	0.9494	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
35	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	1.0000	0.9746	0.0708	<.0001	<.0001
<.0001									
36	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0095	1.0000	1.0000	0.7575	0.3687
0.0339									
37	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.9717	1.0000	1.0000	1.0000
0.9439									
38	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.1139	0.9916	1.0000	1.0000
1.0000									
39	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0146	0.7952	1.0000	1.0000
1.0000									
40	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0024	0.4498	1.0000	1.0000
1.0000									
i/j	31	32	33	34	35	36	37	38	39
40									
1	0.9998	1.0000	1.0000	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
2	0.0003	0.9990	0.0323	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
3	0.0015	1.0000	0.1079	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
4	1.0000	0.0636	0.9999	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
5	<.0001	<.0001	<.0001	0.9140	1.0000	0.0144	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
6	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0689	1.0000	1.0000	0.9921	0.8007
0.4565									

7	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.8663	1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
8	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0266	0.9215	1.0000	1.0000
1.0000									
9	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0004	0.2209	0.9953	1.0000
1.0000									
10	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0002	0.1398	0.9822	1.0000
1.0000									
11	0.9991	0.0003	0.5758	0.0073	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
12	1.0000	0.9989	1.0000	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
13	1.0000	0.0293	0.9987	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
14	<.0001	<.0001	<.0001	1.0000	0.1994	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
15	<.0001	<.0001	<.0001	0.0028	1.0000	0.9928	0.0944	0.0003	<.0001
<.0001									
16	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.1776	1.0000	1.0000	0.9371	0.5503
0.2307									
17	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0011	0.9946	1.0000	1.0000	0.9999
0.9925									
18	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.3517	1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
19	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0757	0.9874	1.0000	1.0000
1.0000									
20	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0200	0.8888	1.0000	1.0000
1.0000									
21	1.0000	0.1146	1.0000	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
22	0.2844	1.0000	0.9778	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
23	0.9314	1.0000	1.0000	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
24	0.0121	<.0001	<.0001	0.9969	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
25	<.0001	<.0001	<.0001	0.9494	1.0000	0.0095	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
26	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.9746	1.0000	0.9717	0.1139	0.0146
0.0024									
27	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0708	1.0000	1.0000	0.9916	0.7952
0.4498									
28	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.7575	1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
29	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.3687	1.0000	1.0000	1.0000
1.0000									
30	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0339	0.9439	1.0000	1.0000
1.0000									
31		0.3008	1.0000	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
32	0.3008		0.9812	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
33	1.0000	0.9812		<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
34	<.0001	<.0001	<.0001		0.0556	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<.0001									
35	<.0001	<.0001	<.0001	0.0556		0.6833	0.0057	<.0001	<.0001
<.0001									
36	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.6833		0.9999	0.4685	0.1130
0.0268									
37	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0057	0.9999		1.0000	0.9956
0.9222									
38	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.4685	1.0000		1.0000
1.0000									
39	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.1130	0.9956	1.0000	
1.0000									
40	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0268	0.9222	1.0000	1.0000

adesivo*profund Effect Sliced by adesivo for mineral

adesivo	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
1	9	351711	39079	190.83	<.0001
2	9	189569	21063	102.85	<.0001
3	9	231234	25693	125.46	<.0001
4	9	226722	25414	124.10	<.0001

The GLM Procedure

Level of adesivo	Level of profund	N	-----mineral-----	
			Mean	Std Dev
1	1	30	26.1500000	15.5119031
1	2	30	13.4600000	6.9982559
1	3	30	14.7900000	11.3697830
1	4	30	34.4300000	28.8642739
1	5	30	64.4566667	25.5742554
1	6	30	83.7966667	14.8026205
1	7	30	89.4966667	12.0515411
1	8	30	95.1666667	10.1796394
1	9	30	98.8100000	8.4855394
1	10	30	99.4333333	8.0886184
2	1	30	39.1700000	13.7228013
2	2	30	27.1233333	22.6317245
2	3	30	35.2466667	23.8758532
2	4	30	57.0000000	17.7382501
2	5	30	72.5233333	18.6102434
2	6	30	82.6333333	14.4981172
2	7	30	87.5633333	12.8399023
2	8	30	91.9600000	12.4990648
2	9	30	94.0600000	12.3010681
2	10	30	95.4466667	12.3169279
3	1	30	33.7433333	21.6809575
3	2	30	20.1900000	17.6205278
3	3	30	23.5500000	17.5156039
3	4	30	48.2133333	23.4739141
3	5	30	64.0733333	23.7351033
3	6	30	77.9466667	22.8715262
3	7	30	83.7666667	20.0842765
3	8	30	90.1233333	16.5295281
3	9	30	91.8766667	16.0144048
3	10	30	94.9233333	14.5375538
4	1	30	32.3966667	23.7869202
4	2	30	20.2800000	16.7354960
4	3	30	28.3266667	23.8238063
4	4	30	55.4400000	25.6520968
4	5	30	69.7366667	21.4127980
4	6	30	80.1066667	17.4524168
4	7	30	86.2200000	15.2112118
4	8	30	91.4166667	14.1719023
4	9	30	93.5866667	12.7537346
4	10	30	95.1600000	11.9951887

Level of adesivo	Level of dist	Level of profund	N	-----mineral-----	
				Mean	Std Dev
1	1	1	10	29.990000	16.0227234
1	1	2	10	11.300000	0.0000000
1	1	3	10	11.300000	0.0000000
1	1	4	10	35.290000	30.1304368
1	1	5	10	62.880000	30.4794211
1	1	6	10	85.850000	16.2465894
1	1	7	10	89.800000	13.6482803
1	1	8	10	95.830000	11.3835212
1	1	9	10	98.340000	8.5183723
1	1	10	10	98.910000	8.5024768
1	2	1	10	26.140000	16.1859473
1	2	2	10	14.410000	9.8346835
1	2	3	10	16.260000	15.6848972
1	2	4	10	31.640000	29.4538886
1	2	5	10	64.300000	25.1058647
1	2	6	10	80.210000	16.3075613
1	2	7	10	87.540000	13.1359727
1	2	8	10	92.310000	10.7382442
1	2	9	10	97.980000	10.4200448
1	2	10	10	99.370000	8.6570524
1	3	1	10	22.320000	14.9643874
1	3	2	10	14.670000	7.2990182
1	3	3	10	16.810000	12.2498481
1	3	4	10	36.360000	29.9265471
1	3	5	10	66.190000	23.2818217
1	3	6	10	85.330000	12.4324888
1	3	7	10	91.150000	10.0881944
1	3	8	10	97.360000	8.6085487
1	3	9	10	100.110000	6.9271527
1	3	10	10	100.020000	7.9302235
2	1	1	10	41.810000	6.8555655
2	1	2	10	23.510000	21.5972452
2	1	3	10	38.330000	27.7648479
2	1	4	10	59.370000	19.8649915
2	1	5	10	74.640000	18.7056854
2	1	6	10	81.660000	13.9829420
2	1	7	10	87.860000	11.0776251
2	1	8	10	89.940000	10.6659583
2	1	9	10	90.280000	9.9320805
2	1	10	10	92.870000	10.8716808
2	2	1	10	39.240000	21.2285029
2	2	2	10	38.660000	29.0481286
2	2	3	10	42.050000	27.8912671
2	2	4	10	60.830000	19.3951340
2	2	5	10	74.200000	18.9111372
2	2	6	10	84.830000	15.1821569
2	2	7	10	88.850000	15.1018947
2	2	8	10	93.510000	15.5180504
2	2	9	10	97.850000	15.0259960
2	2	10	10	98.300000	15.3685827
2	3	1	10	36.460000	9.6558790
2	3	2	10	19.200000	10.3935878
2	3	3	10	25.360000	10.8369943
2	3	4	10	50.800000	13.3348332
2	3	5	10	68.730000	19.6052176
2	3	6	10	81.410000	15.5948318
2	3	7	10	85.980000	13.2560091
2	3	8	10	92.430000	11.8901500
2	3	9	10	94.050000	11.4591303
2	3	10	10	95.170000	10.8599212
3	1	1	10	44.490000	28.6479183
3	1	2	10	17.240000	12.8591688
3	1	3	10	21.980000	18.2259766
3	1	4	10	45.410000	27.5148223
3	1	5	10	58.520000	32.4478316

3	1	6	10	79.400000	24.7435738
3	1	7	10	80.690000	18.4981350
3	1	8	10	87.380000	13.9598472
3	1	9	10	89.680000	14.6991156
3	1	10	10	93.570000	15.9824939
3	2	1	10	28.470000	16.2241966
3	2	2	10	17.260000	13.1459499
3	2	3	10	25.160000	19.2353379
3	2	4	10	51.930000	20.1609661
3	2	5	10	69.260000	19.9240893
3	2	6	10	80.040000	24.0584104
3	2	7	10	87.150000	21.3467276
3	2	8	10	93.860000	13.8801377
3	2	9	10	96.140000	11.0187920
3	2	10	10	98.460000	9.2668106
3	3	1	10	28.270000	15.4342368
3	3	2	10	26.070000	24.5895664
3	3	3	10	23.510000	16.7559243
3	3	4	10	47.300000	24.2278077
3	3	5	10	64.440000	17.3527583
3	3	6	10	74.400000	21.7559698
3	3	7	10	83.460000	21.8762276
3	3	8	10	89.130000	21.6306393
3	3	9	10	89.810000	21.4148157
3	3	10	10	92.740000	17.8449619
4	1	1	10	43.430000	33.2503651
4	1	2	10	20.370000	16.3935658
4	1	3	10	23.710000	20.5610987
4	1	4	10	54.870000	28.0028590
4	1	5	10	72.800000	19.7525807
4	1	6	10	83.130000	16.0081264
4	1	7	10	87.310000	14.7009788
4	1	8	10	91.170000	13.1689914
4	1	9	10	94.610000	11.4979660
4	1	10	10	94.760000	11.4713363
4	2	1	10	26.160000	17.0574324
4	2	2	10	19.380000	18.1029648
4	2	3	10	28.750000	25.9254594
4	2	4	10	48.430000	29.6061949
4	2	5	10	64.280000	23.7635949
4	2	6	10	76.060000	19.1691998
4	2	7	10	85.230000	15.9959752
4	2	8	10	91.800000	12.7360381
4	2	9	10	91.980000	14.1283639
4	2	10	10	94.800000	12.0199834
4	3	1	10	27.600000	14.9199345
4	3	2	10	21.090000	17.4460725
4	3	3	10	32.520000	26.2781616
4	3	4	10	63.020000	18.4615998
4	3	5	10	72.130000	21.7409010
4	3	6	10	81.130000	18.1166621
4	3	7	10	86.120000	16.4666532
4	3	8	10	91.280000	17.6431164
4	3	9	10	94.170000	13.7075040
4	3	10	10	95.920000	13.6599008

Anexo 11

Análise estatística da Microscopia de Luz Polarizada *in vitro*

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
adesivo	4	1 2 3 4

Number of observations 42

The GLM Procedure

Dependent Variable: compr2

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	0.00032831	0.00010944	4.72	0.0067
Error	38	0.00088023	0.00002316		
Corrected Total	41	0.00120853			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	compr2 Mean
0.271657	24.14265	0.004813	0.019935

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
adesivo	3	0.00032831	0.00010944	4.72	0.0067

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
adesivo	3	0.00032831	0.00010944	4.72	0.0067

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for compr2

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	38
Error Mean Square	0.000023
Critical Value of Studentized Range	3.79925

Comparisons significant at the 0.05 level are indicated by ***.

adesivo Comparison	Difference Between Means	Simultaneous 95% Confidence Limits	
4 - 2	0.004574	-0.000864 0.010013	
4 - 3	0.006343	0.001167 0.011519	***
4 - 1	0.006702	0.000641 0.012764	***
2 - 4	-0.004574	-0.010013 0.000864	

2	- 3	0.001769	-0.003767	0.007306	
2	- 1	0.002128	-0.004243	0.008500	
3	- 4	-0.006343	-0.011519	-0.001167	***
3	- 2	-0.001769	-0.007306	0.003767	
3	- 1	0.000359	-0.005790	0.006508	
1	- 4	-0.006702	-0.012764	-0.000641	***
1	- 2	-0.002128	-0.008500	0.004243	
1	- 3	-0.000359	-0.006508	0.0057	