Universidade Estadual de Campinas
Faculdade de Odontologia de Piracicaba

VANESSA GALLEGO ARIAS
Cirurgiã - Dentista

Determinação do número de dentes, palitos e influência da localização dos palitos na dentina para o ensaio de microtração.

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, para a obtenção do título de Doutor em Clínica Odontológica, na área de Dentística.

Orientador: Prof. Dr. Luiz André Freire Pimenta

Co-orientadora: Profa. Dra. Gláucia Bovi Ambrosano

Piracicaba
2007

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA

BIBLIOTECA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

Bibliotecário: Marilene Girello – CRB-8ª. / 6159

Arias, Vanessa Gallego.

Ar41d **Determinação do número de dentes, palitos e influência da localização dos palitos na dentina para o ensaio de microtração. / Vanessa Gallego Arias. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2007.**

Orientadores: Luiz André Freire Pimenta, Gláucia Bovi Ambrosano.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Adesivos dentinários. 2. Dentina. I. Pimenta, Luiz André Freire. II. Ambrosano, Gláucia Bovi. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. IV. Título.

(mg/fop)

Título em Inglês: Determination of sample size, plot size and beams location on the dentin surface for microtensile test method

Palavras-chave em Inglês (Keywords): 1. Dentin-bonding agents. 2. Dentin

Área de Concentração: Dentística

Titulação: Doutor em Clínica Odontológica

Banca Examinadora: Roberta Tarkani Basting, André Luiz Fraga Briso, André Figueiredo Reis, Guilherme Elias Pessanha Henriques, Gláucia Bovi Ambrosano

Data da Defesa: 16-02-2007

Programa de Pós-Graduação: Clínica Odontológica

UNICAMP

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de DOUTORADO, em sessão pública realizada em 16 de Fevereiro de 2007, considerou a candidata VANESSA GALLEGO ARIAS aprovada.

PROFa. DRa. GLAUCIA MARIA BOVI AMBROSANO

PROF. DR. ANDRÉ FIGUEIREDO REIS

PROF. DR. ANDRÉ LUIZ FRAGA BRISO

PROFa. DRa. ROBERTA TARKANY BASTING HÖFLING

PROF. DR. GUILHERME ELIAS PESSANHA HENRIQUES

2007.22824

Dedicatória

A Deus,

"É impossível proceder ao infinito na série dos seres que se geram sucessivamente. Deve-se admitir, por isso, que existe um ser necessário que tenha em si toda a razão de sua existência, e do qual procedam todos os outros seres. A este chamamos de DEUS."

(S. Tomás de Aquino)

Aos meus pais, **José Arias e Werleide B. Gallego Arias,** *sinônimo de amor, caráter, honestidade, união e família. Dedico todas as conquistas da minha vida, pois todos os momentos de desânimos, vocês foram a minha força, nos de tristeza, o meu conforto, nos momentos que precisei de força, vocês foram minha fortaleza e nas alegrias e conquistas, foram meus maiores fãs. AMO VOCÊS!!!!!*

Ao meu Marido, namorado e companheiro **Roberto Pecorari**, *por me fazer feliz e apoiar meus sonhos, demonstrando amor, companheirismo, dedicação, paciência e compreensão. A conquista de hoje não é somente minha, mas sim nossa. Assim, tenho a certeza que se não te amasse tanto assim, talvez não visse flores por onde vim e vivesse na escuridão. Obrigada por existir em minha vida.*

À minha vovó **Zaira** *e vovô* **Silvestre** *(em memória), por me ensinarem a importância do amor e união, para a obtenção de felicidade.*

À minha querida e amada irmã **Vivi,** *por ser essa pessoa tão especial, meiga, amiga , que sempre me apoiou em tudo.*

À tia **Nica**, *tia* **Amélia** *e a querida prima* **Sônia** *por torcerem tanto por mim.*

Ao meu querido **Lucas**, *que apesar de ainda não ter nascido, sinto você a cada segundo e te amo a cada suspiro. Você já é a luz da minha vida.*

TE AMO DEMAIS!!!!

Agradecimentos especiais

AO meu orientador **Luiz André F. Pimenta** *por ter colaborado na minha formação, acreditando em mim.*

À minha Co-orientadora e amiga **Gláucia M. B. Ambrosano,** *por ser essa pessoa tão especial, humilde, amiga, honesta e meiga. Minha ligação com você vai além do profissional, acredito em você como pessoa, mulher, mãe, professora. Obrigada por tornar possíveis todos os meus sonhos, mostrando-me a estrada a ser percorrida, orientando as dificuldades a serem superadas, ensinando a melhor forma de percorrê-la. Obrigada por acreditar em mim.*

Agradecimentos

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba FOP_UNICAMP, em nome do seu Diretor, **Francisco Haiter Neto.**

Ao coordenador de pós-graduação **Mario Alexandre Coelho Sinhoreti** e a coordenadora pós-graduação de clínica Odontológica **Renata Cunha Matheus Rodrigues Garcia.**

À **CAPES** pelo suporte financeiro, viabilizando o desenvolvimento da pesquisa.

Aos **professores da Dentística**, por terem dividido seus conhecimentos e experiências, orientando de maneira objetiva e humana a arte de ensinar.

Aos da Banca de qualificação, **Flávio Baggio Aguiar, Flávia M. Flório e Simonides Consani**, por contribuírem com a correção da tese.

Às professoras **Roberta H. Basting** *e* **Flávia M. Flório**, *pela a oportunidade de trabalho e a confiança depositada em mim nesta nova estrada a ser seguida, na Faculdade de Odontologia São Leopoldo Mandic.*

Aos **amigos de pós-graduação** *que aprendi a conviver e reconheci amigos verdadeiros, que serão mantidos sempre em evidência no meu coração.*

Às amigas **Patfú, Mônica, Dani, Loci, Liana, Susana, Anali e Daia,** *pelo o apoio e os momentos inesquecíveis da nossa casa.*

"Os amigos verdadeiros são aqueles que vêm compartilhar a nossa felicidade quando chamamos e a nossa tristeza sem serem chamados."

Aos **funcionários** *da Faculdade e do Departamento, pelas ajudas tão importantes do dia a dia, pois só através de um trabalho em equipe que conseguimos alcançar nossos objetivos individuais. Obrigada pela convivência.*

Aos **alunos** *de graduação, com os quais aprendi que ensinar é se dedicar, entender, escutar, dividir e trocar experiência de vida. Também aprendi muito com todos vocês.*

Obrigada a todos que passaram pela minha vida deixando alguma marca. A vida é feita desses momentos especiais.

RESUMO

Os objetivos deste trabalho foram determinar o número ótimo de dentes (tamanho da amostra), número de palitos (tamanho da parcela) e a influência da localização dos palitos na dentina para o ensaio de Microtração. Foram utilizados 80 dentes bovinos, os quais apresentaram as superfícies vestibulares coronárias desgastadas, para a exposição dentinária. Os dentes foram divididos, aleatoriamente, em dois grupos (n=40). Os sistemas adesivos utilizados foram o Single Bond (SB- G1) e Tyrian SPE /One Step Plus (TY- G2). Os dentes foram restaurados com resina composta Filtek Z-250, formando um bloco com dimensões de 4 mm de largura, 6 mm de comprimento e 4 mm de altura, sendo posteriormente seccionados em cortadeira metalográfica, obtendo-se palitos com aproximadamente 0.8 mm^2 de área de interface adesiva (dente/resina), totalizando 12 palitos por dente. Os palitos foram fixados a uma máquina Universal de Ensaio para a obtenção dos valores de união, em MPa, com velocidade de avanço de 0,5mm/min. A partir do delineamento inteiramente ao acaso, com 40 repetições por sistema adesivo e 12 palitos por dente, a análise de variância foi realizada e os cálculos das respectivas médias e desvios-padrão. Para a determinação do número de repetições (dentes), o poder do teste foi calculado em função do número de dentes. Adicionalmente, diferentes tabelas foram obtidas através da simulação da variação entre as médias dos grupos, adotando-se 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40% de variação inter-grupos. Também foi estipulado o Coeficiente de Variação do experimento, ou variação intra-grupos, em 10, 20 e 30% e o mesmo procedimento, citado acima, foi realizado. Para a determinação do número de palitos por dente (tamanho da parcela), 12 diferentes simulações (tamanhos) foram criados a partir dos valores originais, através da exclusão aleatória de 1 palito a cada vez que a ANOVA foi realizada até a

permanência de apenas 1 palito por dente. O ponto de máxima curvatura modificado, proposto por Méier & Lessman (1971) foi calculado. Adicionalmente, a mesma metodologia foi aplicada, utilizando-se 20 e 10 dentes por grupo. Já para a análise da região dentinária foi aplicada a Análise de Variância em parcela subdividida e teste de Tukey, para a verificação das possíveis diferenças regionais e suas interações. Os resultados demonstraram que a utilização de 6 dentes por grupo apresentou um poder de 88%. Entretanto, este número pode variar em função do CV e da diferença entre as médias dos grupos. Já para o tamanho ideal de parcela obtido foi de 7 palitos por dente, independente do número de unidades experimentais. Com relação à localização dos palitos na dentina, os resultados demonstraram diferença estatística entre os palitos nas diferentes linhas (p=0,005) e entre as colunas (p=0,00001). Também houve a interação entre sistema adesivo e linha (p=0,019). O teste de Tukey demonstrou que tanto para o sistema adesivo SB quanto para o TY os melhores resultados foram encontrados nos palitos centrais. Concluiu-se o número mínimo de dentes foi de 6 com 7 palitos por dente, utilizando os palitos centrais da área de união.

Palavras-chaves: Dentina, Microtração, Sistema de união, número de repetições e tamanho da parcela.

ABSTRACT

The objectives of this study were to determine the ideal number of teeth (sample size), number of beams per tooth (plot size) and the influence of the beams location on the dentin surface for microtensile testing-MT. Eighty bovine teeth were selected and the dentin was flat exposed. The teeth were randomly divided in two groups (n=40), using the adhesive systems: Single Bond (SB- G1) and Tyrian/One Step Plus (TY- G2). A "crown" was done with composite resin Filtek Z-250, presenting 4 mm width, 6 mm length and 4 mm high. The specimens were sectioned, at a metalographic machine, in 12 beams with 0,8mm^2 area interface (dentin/resin). The beams were attached in a Universal Machine and the MT was performed (0.5mm/min) and the bond strength values expressed in MPa. Using the study design random model, with 40 repetitions per group and 12 beams per tooth, the one-way ANOVA was applied and the means and standard deviation were obtained. To determine the optimal sample size, the power's test was calculated. Additional values were simulated decreasing the difference between the groups means, using 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 and 40% (inter-tooth variability). Different CV were used (10, 20 and 30%) and the same procedures describes above were performed. For the analysis of the plot size, 12 different experimental unit sizes were created from the original values by excluding randomly 1 beam every time when one-way ANOVA was performed until only 1 beam per tooth was left, using 40, 20 and 10 teeth per group (EU). The experimental coefficients of variation (CV_{exp}) were calculated and a regression function was estimated. The maximum curvature point was calculated from the formula proposed by Meier & Lessman (1971). For the dentin region, the Split pot analysis and Tukey's test were applied to analyze the regional influence and the possible interactions. The results demonstrated that using 6 teeth, the

power arranged 88%. But this number may variety depending CV and the means between groups. The optimal plot size was obtained with 7 beams per tooth independently of the EU. The regional analysis demonstrated statistical significant differences between rows (p=0.005) and columns (p=0.00001). The interaction between adhesive system and rows was statistical significant (p=0.019). The Tukey's test demonstrated that highest bond strength values were to the central beams for both adhesive systems. The conclusion of the study was the optimal sample size was 6 teeth per group, presenting 7 beams per tooth, using the central beams.

Key-words: Dentin, Microtensile test, Adhesive systems, Sample size, Plot size.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO **1**

2 REVISÃO DE LITERATURA **5**

2.1 Adesão dentinária **5**

2.2 Teste de microtração **7**

2.3 Região dentinária **21**

2.4 Análise estatística **24**

3 PROPOSIÇÃO **30**

4 MATERIAL E MÉTODOS **31**

4.1 Ensaio de microtração **31**

4.1.1 Seleção e preparo dos dentes **31**

4.1.2 Condicionamento dentinário **34**

4.1.3 Aplicação dos sistemas de união **36**

4.1.4 Aplicação do compósito odontológico **37**

4.1.5 Obtenção dos palitos para o ensaio de microtração **38**

4.1.6 Ensaio mecânico **41**

4.2 Delineamento experimental 43

4.3 Determinação do número de repetições (dentes) 43

4.3.1 Variação inter-grupos 44

4.3.2 Variação intra-grupos 44

4.4 Determinação do tamanho da parcela (palitos) 44

4.5 Influência da localização dos palitos 48

4.6 Análise do padrão de fratura 48

5 RESULTADOS 49

5.1 Número de dentes 49

5.2 Tamanho da parcela 54

5.3 Localização dentinária 66

5.4 Padrão de fratura 69

6 DISCUSSÃO 71

7 CONCLUSÃO 79

REFERÊNCIAS 80

ANEXOS 88

1. INTRODUÇÃO

O conceito de união dentinária baseia-se na afirmativa de que o sucesso de uma união efetiva depende da penetração de monômeros por entre as fibras colágenas (Pashley *et al.,* 1992) expostas com o tratamento ácido (Buonocore *et al.*, 1956) e o encapsulamento dos cristais de hidroxiapatita na área descalcificada da dentina (Nakabayashi *et al.*, 1992), criando uma zona de resina reforçada, conhecida como camada híbrida (Nakabayashi, 1982). Entretanto, a presença de nanoinfiltração tem sido relatada nessa camada de resina-reforçada, sugerindo a presença de porosidades (Sano *et al.*, 1995).

Na tentativa de caminhos alternativos para a melhora dos valores de união, longevidade e selamento marginais, através de uma camada híbrida bem impregnada, foram lançados no mercado sistemas adesivos auto-condicionantes, com o conceito de condicionamento com monômeros ácidos, para a modificação da Smear Layer, e a impregnação resinosa concomitante à desmineralização (Nikaido *et al.,* 2002).

Para a avaliação laboratorial de diferentes sistemas adesivos, Sano *et al.* (1994a) propuseram uma metodologia, denominada como microtração, a qual avaliava a resistência de união entre os sistemas adesivos e pequenas áreas (0,8 a 1mm^2) do substrato dental (esmalte e/ou dentina), através da realização de múltiplos cortes da restauração/dente (Sano *et al*., 1994b). A utilização destas pequenas áreas de união resulta em valores de resistência elevados, apresentando uma distribuição mais uniforme do estresse devido à obtenção de uma região mais homogênea devido a um menor número de defeitos, quando comparado com área de maior dimensão, utilizadas no teste de

cisalhamento, além de apresentar, predominantemente, falhas adesivas (Pashley *et al.,* 1999; Pashley *et al.,* 1995).

Com isso, desde sua introdução, o teste de microtração (μTBS) está sendo amplamente utilizado para a análise de diferentes possibilidades no comportamento da interface de união de diferentes materiais e substratos (Pashley *et al.,* 1999; Bouillaguet *et al.,* 2001; Bedran de Castro *et al.,* 2004).

Uma das vantagens do método é a obtenção de inúmeros espécimes a partir de um único dente (Pashley *et al.,* 1999). Através deste conceito, diversos grupos de pesquisadores utilizam um número reduzido de dentes e adotam o valor de resistência à união de cada palito, ou fatia, separadamente, assumindo o palito como unidade experimental (Tanumiharja *et al,* 2000; Ogata *et al.,* 2001; Perdigão *et al.,* 2001; Hashimoto *et al.,* 2002; Nikaido *et al,* 2002; Cho & Dickens, 2004; Munk *et al,* 2005). A utilização do palito como unidade experimental, e não o dente, é apoiada no conceito em que a variabilidade entre os dentes é semelhante à variabilidade entre palitos (Pashley *et al.,* 1999). Entretanto, Loguercio *et al., em* 2005a, demonstrou que a similaridade de variabilidade entre dentes e entre palitos não é verificada.

Também é importante lembrar que o método estatístico mais aplicado nos estudos que utilizam a variável de resposta μTBS é o teste paramétrico de análise de variância, referenciado como ANOVA (El Zohairy *et al.,* 2004; Loguercio *et al.,* 2005a). Este teste estatístico assume algumas pressuposições de condições experimentais, em experimentos aleatórios, as quais devem ser verificadas e seguidas para a correta análise e, conseqüentemente, obtenção de conclusões apropriadas (Chen *et al,* 2002). Estas pressuposições baseiam-se em

uma distribuição normal da população, na homogeneidade de variâncias da população, aditividade dos efeitos e independência de erro da população (Pimentel Gomes, 1990).

A independência de erros é verificada quando as unidades experimentais são independentes. Considerando que os palitos de um mesmo dente são independentes, a pressuposição da ANOVA de independência de erro da população é violada (Loguercio *et al.,* 2005a).

Desta forma, considerar o dente como unidade experimental é de extrema importância como condição preliminar dos experimentos que utilizam a análise estatística ANOVA no método de μTBS. Porém, a literatura não apresenta uma padronização do número de dentes e número de palitos (tamanho da parcela) para o teste de microtração.

O cálculo de tamanho de amostra envolve o conhecimento de conceitos estatísticos, como erro tipo I e tipo II, a probabilidade da ocorrência destes erros, também conhecidos como o valor de alpha (α) e Beta (β), respectivamente, e o tamanho significativo do efeito do tratamento, conhecido como Delta (σ) (Moye, 2000). Já para o número de palitos por dente, um dos métodos utilizado para a determinação deste é a máxima curvatura modificada, sendo estes parâmetros importantes para a precisão experimental (Vianna *et al.,* 2002).

Outro fator importante para a utilização do teste de microtração é a região do dente em que os palitos foram analisados. Segundo Yoshikawa *et al.*, em 1999, fatores como a configuração da cavidade, sua profundidade e a técnica restauradora podem influenciar nos valores de resistência de união.

O teste de microtração tem se mostrado um teste muito utilizado, porém apresenta uma grande variabilidade em sua padronização, acarretando em um coeficiente de variação experimental variado na literatura (Cardoso *et al.,* 1998, Pashley *et. al.*, 1995; Pashley *et. al.*, 1999). Com isso, uma análise detalhada, baseada nos problemas acima relatados, é necessária para a padronização de certos parâmetros. Desta forma, a obtenção de conclusões adequadas e precisas requer um planejamento adequado, através de um delineamento de estudo cuidadoso (Hoening & Heisey, em 2001). O número de dentes por grupo (tamanho da amostra), o número de palitos por dente (tamanho da parcela) e a região dentinária do palito a ser utilizado são parâmetros importantes a serem estudados durante a fase de planejamento.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ADESÃO DENTINÁRIA

A partir de resultados promissores obtidos em esmalte, BUONOCORE *et al.*, em 1956, descreveram a primeira tentativa de adesão à dentina com resinas acrílicas, após o condicionamento ácido da superfície. Os autores utilizaram uma resina de ácido glicorofosfórico e aplicaram esta sob a superfície dentinária previamente tratada com ácido clorídrico a 7% por um minuto. Os resultados demonstraram que o pré-tratamento com o ácido dobrou os valores de resistência adesiva, quando comparado com o grupo não tratado. Entretanto, os valores de adesão diminuíram acentuadamente após a imersão em água. Os autores sugeriram que o mecanismo de adesão estava baseado em uma possível adesão química entre os constituintes da resina e a matriz orgânica dentinária.

NAKABAYASHI, em 1982, avaliou a efetividade da resina 4-META na união ao esmalte e à dentina. Foram utilizados soluções de ácido cítrico e cloreto férrico a 1% e os mesmos ácidos nas concentrações de 10% e 3%, respectivamente, por 30s, para condicionar a superfície dentinária. Após a cimentação de cilindros de resina, os mesmos foram submetidos ao teste de tração. A resistência adesiva foi de 18 MPa na dentina condicionada. A análise em microscopia eletrônica de Varredura (MEV) sugeriu que os monômeros com os grupamentos hidrófilos e hidrófobos promoviam a união por infiltração e polimerização no interior da dentina. O autor concluiu que os substratos dentais podem ser reforçados por monômeros biocompatíveis, os quais penetram nas irregularidades do substrato para a posterior polimerização.

NAKABAYASHI *et al.*, em 1992, analisaram a união *in vivo* da resina 4-META/MMA-TBB a 5% na dentina humana. Dentes indicados para a extração, devido a problemas periodontais, foram tratados com solução de ácido cítrico a 10% e cloreto férrico a 3% por 10 e 30s. Após a realização dos tratamentos, os dentes foram extraídos e levados para a análise em microscopia eletrônica de transmissão (MET). O exame microscópico revelou a formação de uma camada, denominada camada híbrida, criada pela impregnação e envolvimento das fibras colágenas e encapsulamento dos cristais de hidroxiapatita pelo agente resinoso. A união foi considerada estável e duradoura, porém, podendo apresentar falhas a longo prazo. Esta falha seria decorrente da hidrólise de peptídeos do colágeno que não teriam sido totalmente envolvidos pela resina.

PASHLEY, em 1992, relatou que o condicionamento ácido da dentina promove a remoção da "Smear Layer", permitindo a adesão direta à estrutura dentinária, diretamente dos sistemas adesivos. A ação do ácido é afetada pela presença de agentes tamponadores, como cálcio e o fosfato da apatita, mostrando maior dissolução da dentina peritubular, dando a conformação de funil à entrada dos túbulos dentinários, e menor dissolução da dentina intertubular. Assim, os ácidos apresentam um alto efeito na dentina superficial, e conforme se difundem, há o seu tamponamento, e a perda de sua eficácia. Segundo o autor, deve-se pensar no risco da desnaturação do colágeno pelos ácidos, alterando as suas dimensões, reduzindo os espaços entre as fibrilas colágenas, interferindo na subseqüente infiltração resinosa e hibridização. A zona desmineralizada apresenta uma profundidade de 5 μm na dentina, enquanto a infiltração resinosa atinge 4 μm, deixando na base da camada híbrida, uma zona não infiltrada, com o colágeno

exposto e desprotegido, susceptível a hidrólise ou a ação de enzimas bacterianas. Podendo gerar infiltração e falhas adesivas.

SANO *et al.*, em 1995, examinaram a microinfiltração na camada híbrida através de MEV e MET. Foram utilizados dentes humanos, sendo obtidos pares de discos dentinários apresentando 1-1,5mm de espessura. Os discos de dentina foram condicionados com ácido fosfórico a 10%, durante 10s, lavados e secados. Os sistemas de união utilizados foram o All-Bond 2 e o Clearfil Liner Bond Systerm, sendo restaurados com compósito odontológico e armazenados em água destilada por 24h. Os preparos para a observação das microscopias foram realizados e os resultados demonstraram que em ambos os sistemas de união houve infiltração do corante na camada híbrida, demonstrando a presença de porosidades. Os autores concluíram que é importante a determinação da localização e morfologia destas porosidades, as quais podem permitir a hidrólise do colágeno e degradação dos monômeros presentes nos sistemas de união.

2.2 TESTE DE MICROTRAÇÃO:

SANO *et al.*, em 1994a, avaliaram a relação entre a área de união dentinária com a resistência de união de materiais adesivos. A dentina foi condicionada e restaurada com os sistemas adesivos: Scotchbond Multi-Purpose, Clearfil Liner Bond 2 e Vitremer. Os dentes foram restaurados, através da confecção de uma "coroa" de compósito ou ionômero de vidro, apresentando 5 mm de altura. Fatias com espessura variando de 0,5 a 3mm foram obtidas através de cortes seriados e entalhes do tipo ampulheta foram realizados nas interfaces adesivas, apresentando de área entre 0,5 x 0,5mm a 3 x 3mm. Os espécimes foram fixados a um aparato e submetidos ao teste de microtração com velocidade de 1mm/min. Os valores de união foram

inversamente relacionados com a área adesiva apresentada. Todas as fraturas das interfaces de união foram consideradas adesivas. Os autores concluíram que este teste é capaz de mensurar valores altos de resistência de união sem que ocorressem fraturas coesivas. E também permite reduzir o número de dentes utilizados.

SANO *et al.*, em 1994b, avaliaram a relação entre a área de união dentinária com a resistência de união de materiais adesivos. O esmalte oclusal de 20 terceiros molares humanos foi removido com disco diamantado e a superfície dentinária polida com lixa abrasiva com granulação 600. A dentina foi condicionada e restaurada com os sistemas de união: Scotchbond Multi-Purpose, Clearfil Liner Bond 2 e Vitremer, seguindo as normas dos fabricantes. Os dentes foram restaurados, através da confecção de um bloco de compósito odontológico ou ionômero de vidro, apresentando 5mm de altura. Fatias com espessura variando de 0,5 a 3 mm foram obtidas, através de cortes seriados e desgastes do tipo ampulheta foram realizados nas interfaces adesivas, apresentando de área entre 0,5 x 0,5mm a 3 x 3mm. Os resultados demonstraram que houve relação entre área adesiva e os valores de união para todos os sistemas avaliados. Os valores de adesão foram inversamente relacionados com a área adesiva apresentada. Os autores concluíram que o teste de microtração é capaz de mensurar valores altos de resistência de união sem que ocorressem fraturas coesivas. Também permite reduzir o número de dentes utilizados.

PASHLEY *et al.,* em 1995, realizaram uma revisão de literatura sobre o ensaio de microtração, relatando o processo de adesão nos diferentes substratos, as variáveis envolvidas durante o condicionamento ácido, aplicação do "primer" e do adesivo. Segundo os autores, este ensaio apresenta como vantagens valores de união entre 20-30 MPa, para os sistemas adesivos atuais. Além dos elevados valores

de união, o padrão de fratura encontrado é, predominantemente, adesivo, com poucas fraturas coesivas. O teste permite a mensuração de valores de união exclusivamente da interface adesiva, mesmo que estas sejam pequenas áreas, permitindo inclusive a análise de superfícies irregulares. A obtenção de corpos-de-prova com uma interface de união de $1mm^2$, facilita a avaliação em microscopia eletrônica de varredura. Os autores também indicam com uma vantagem do ensaio o cálculo da média e desvio-padrão utilizando apenas um dente. Como desvantagens, os autores relatam que o método apresenta um período laboratorial intensivo, com uma técnica sofisticada, necessitando de equipamentos especiais. Também existe uma dificuldade da mensuração de valores abaixo de 5MPa. Além disso, devido as pequenas dimensões dos corpos-de-prova a desidratação dos mesmos é outro fator a ser considerado.

CARDOSO *et al.,* em 1998, avaliaram três sistemas adesivos, utilizando o teste de microtração, cisalhamento e tração. Para isso, 30 molares humanos foram embebidos em resina acrílica e 3 superfícies do mesmo dente foram expostas para a realização de cada tipo de teste. Os resultados demonstraram que todos os testes classificaram a mesma ordem para os sistemas adesivos. O teste de microtração não indicou diferenças estatísticas entre os sistemas adesivos. O teste de cisalhamento demonstrou que o sistema adesivo Single Bond apresentou resultados significativamente superior do adesivo Etch & Prime 3.0. Porém, o adesivo Scotchbond Multi-Purpose não diferiu de nenhum dos outros dois sistemas adesivos. O teste de tração encontrou os mesmos resultados do teste de cisalhamento. Os autores relataram que ao comparar os diferentes testes, o teste de microtração demonstrou os valores mais alto de médias e o menor coeficiente de variação entre os testes. Com isso, os autores concluíram que

dependendo do teste utilizado resultados diferentes podem ser encontrados.

PASHLEY *et al.,* em 1999, realizaram uma revisão de literatura com o objetivo de descrever as modificações propostas para o de ensaio de microtração, possibilitando que os pesquisadores adotem as modificações que melhor julgarem. Os corpos-de-prova do ensaio de microtração podem ser obtidos de 2 maneiras diferentes. Podendo ser confeccionados na forma de palito ou de fatia. As fatias apresentam de 0,5 a 1mm de espessura, posteriormente, as interfaces de união das fatias são desgastadas para a obtenção de áreas de união de 0,5 a $1mm^2$ de maneira a concentrar as forças de tração na interface a ser testada. A principal vantagem do ensaio é a obtenção de múltiplos corpos-de-prova de apenas um único dente. O ensaio de microtração pode ser utilizado para medir valores de união de diferentes regiões dentinárias, como a região oclusal, coronária, cervical e intrapulpar. Assim fornece subsídios para comparar dentina normal versus dentina cariada ou dentina normal versus dentina cervical esclerótica. A técnica se mostra adequada para a avaliação da durabilidade da interface de união da resina e tecidos dentais duros. Desta forma, os autores concluíram que o ensaio de microtração oferece uma maior versatilidade de técnica em relação aos ensaios convencionais. Entretanto, uma técnica mais rebuscada, proporcionando uma análise adequada da resistência de união de materiais adesivos e substratos.

TANUMIHARJA *et al.,* em 2000, avaliaram a resistência de união de sete sistemas adesivos e os respectivos padrões de fraturas. As superfícies oclusais dentinária de vinte e oito molares humanos foram expostas e os sistemas adesivos Solid Bond, EBS- Multi, PermaQuik, One Coat Bond, Gluma One Bond, Prime & Bond NT/NRC e Clearfil Liner Bond 2V aplicados. Após a aplicação dos diferentes sistemas adesivos,

blocos de resina composta, Silux Plus, foram confeccionados e cortados para a obtenção de fatias. Os resultados demonstraram que os sistemas Clearfil e PermaQuik não diferiram entre si, mas apresentaram os maiores valores de união quando comparados com os demais sistemas. Já os valores de união dos adesivos Solid Bond, EBS- Multi, One Coat Bond e Gluma One Bond não diferiram estatisticamente entre si.

Em 2001, PERDIGÃO *et al.,* analisaram o efeito de solventes e tempo re-hidratação na adesão dentinária de quatro sistemas adesivos. A metodologia utilizada dividiu sessenta molares humanos em quatro grupos. O Grupo 1 era composto pelo sistema adesivo a base de água, EBS Multi; o grupo 2 pelo sistema a base de álcool, Excite; o grupo 3 pelo sistema adesivo a base de acetona, Prime & Bond NT e o grupo 4 pelo sistema adesivo a base de álcool, Single Bond. Para grupo de sistema adesivo, foi subdividido em 5 condições umidade dentinária (dentina úmida, dentina seca, dentina re-hidratada por 5s, dentina re-hidratada por 15s e dentina re-hidratada por 30s), resultando em 3 dentes por grupo. Estes foram restaurados com a resina composta Z-250 e seccionados em palitos, resultando em 20 palitos por grupo. O ensaio de microtração foi realizado e os resultados foram analisados pela ANOVA, dois critérios. Os resultados demonstraram que ao aplicar os sistemas adesivos em dentina úmida não houve diferença estatística entre eles. Quando a dentina foi secada por 15s, os sistemas Prime & Bond NT e Excite apresentaram os menores resultados, entretanto, eles foram semelhantes entre si. O sistema Single Bond resultou em valores de resistência inferior ao adesivo EBS Multi. Porém, ao rehidratar por 30s os valores de todos os adesivos não apresentaram diferenças entre si. Os autores demonstraram que os valores de resistência dependem do tipo de solvente do sistema adesivo utilizado e do tempo de rehidratação.

HASHIMOTO *et al.*, em 2002, utilizaram as metodologias de fractografia e Espectroscopia Raman para analisar a adesão dentina-resina, utilizando técnica úmida e seca. Os palitos foram confeccionados, através da utilização de sistemas adesivos a base de acetona (One-Step e Prime & Bond NT), apresentando 5 dentes por grupo com 4 palitos por dente. O teste de microtração foi conduzido e as fraturas das superfícies de todas as amostras foram examinadas em MEV. A quantidade de resina infiltrada na camada híbrida foi calculada em Espectroscopia Raman. Os resultados demonstraram que a quantidade de resina impregnada, em dentina secada, apresentou valores inferiores (aproximadamente 50%) que em condições de umidade. Na análise fractográfica demonstrou que houve correlação entre valores de união e o padrão de fratura. Desta forma, os autores concluíram que a integridade entre o adesivo e o topo da camada híbrida apresenta um papel importante nos valores de união.

NIKAIDO *et al.,* em 2002, avaliaram a influência da ciclagem térmica e mecânica nos valores de união, utilizando-se sistemas com primer auto-condicionante. Vinte e quatro molares humanos foram utilizados e divididos em dois grupos. No grupo A, a dentina coronária foi exposta e o sistema adesivo Clearfil LinerBond 2V foi aplicado. Um bloco de resina composta de Cleaarfil AP-X foi confeccionado. No grupo B, cavidades classe I foram preparadas e restauradas com os mesmos sistemas citados acima. Os grupos A e B foram subdivididos em 4 subgrupos. A1: controle, sem ciclagem térmica e mecânica; A2: 2000 ciclos térmicos (5 e 55°C), sem ciclagem mecânica; A3: 50.000 ciclos mecânicos (50N), sem ciclagem térmica; A4: 50.000 ciclagem mecânica e 2.000 ciclagem térmica. Nos subgrupos do grupo B todos os espécimes foram ciclados termicamente (5 e 55°C). O B1: controle, sem ciclagem mecânica; B2: 10.000 ciclos mecânicos e 125 ciclos térmicos;

B3: 50.000 ciclos mecânicos e 625 ciclos térmicos e B4: 100.000 ciclos mecânicos e 1250 ciclos térmicos. No grupo A as ciclagens térmica e mecânica não alteraram os valores de união. Para o grupo B, o aumento dos ciclos térmicos e mecânico resultaram na diminuição dos valores de união. Segundo os autores, o preparo superficial, o fator C, a profundidade dentinária, o substrato dentinário e o tipo de smear layer influenciaram os valores de união após a ciclagem mecânica e térmica.

BEDRAN-DE-CASTRO *et al.,* em 2004, avaliaram o efeito a longo prazo da força de união dentinária em restaurações cervicais do tipo classe II, após a ciclagem térmica e mecânica. Para isso, 60 cavidades do tipo classe II foram preparadas em incisivos bovinos. As cavidades foram restauradas com o sistema adesivo Single Bond e a resina composta Z-250, seguindo as instruções do fabricante. Os dentes foram divididos em 2 grupos (n=30): grupo ciclado térmica e mecanicamente, apresentando 2.000 ciclos térmicos que variaram de 5 a 55°C e 100.000 ciclos mecânicos de 50N de força; e o grupo controle. Quinze dentes de cada grupo foram testados imediatamente e os outros 15 dentes de cada grupo, após 1 ano de armazenamento em água destilada deionizada. Os corpos-de-prova foram seccionados em fatias, as quais foram desgastadas resultando em um área de união de $1mm^2$. Os corpos-de-prova foram submetidos ao ensaio de microtração e os resultados analisados com a utilização do teste de Análise de Variância (ANOVA), dois critérios, e o teste de Fisher ($p<0,05$). O padrão de fratura foi analisado com a utilização da microscopia eletrônica de varredura (MEV). Os resultados demonstraram que para as amostras testadas após 24h, o grupo que sofreu ciclagem térmica e mecânica apresentou valores de união estatisticamente inferiores ao do grupo controle ($p=0,012$). Entretanto, após um ano de estocagem, não houve diferenças estatísticas entre os dois grupos. Para o padrão de fratura, o

grupo controle imediato apresentou falhas predominantemente mistas. Após a ciclagem um aumento deste tipo de falha foi verificado. Porém, após a estocagem as falhas foram predominantemente adesivas.

CHO & DICKENS, em 2004, analisaram os efeitos do conteúdo de acetona dos sistemas adesivos na espessura da camada híbrida e nos valores de união. Para isso, adesivos experimentais foram manipulados, contendo 27, 37, 47, 57 e 67% em peso de acetona e aplicados na dentina oclusal de molares humanos, apresentando 5 dentes por grupo. A espessura da camada híbrida foi analisada por imagens digitalizadas. Já os valores de união foram aferidos após 48h da confecção das amostras. Os resultados demonstraram que o aumento do conteúdo de acetona promoveu uma diminuição nos valores de união e um aumento da espessura da camada híbrida. Entretanto, o adesivo contendo 27% de acetona em peso apresentou valores de união menores que o adesivo contendo 37%. As variáveis dependentes mostraram uma correlação inversa moderada para o conteúdo de acetona. Com isso, a diminuição da concentração de acetona facilita a evaporação deste, promovendo uma melhora na integridade da adesão dentina/adesivo.

EL ZOHAIRY *et al.,* em 2004, os maiores valores de resistência à união por microtração estão relacionados com os menores valores de área de secção transversal, as quais apresentam poucos defeitos superficiais. Os autores hipotetizaram que comportamentos discrepantes estão relacionados com a forma de colagem lateral das amostras no dispositivo, apresentando dependência dos valores com a espessura de colagem. Os palitos foram seccionados em 1 mm de largura e em 3 espessuras diferentes: 1mm, 2mm e 3mm, resultando em amostras com dimensões de 1 x 1 x 10; 1 x 2 x 10; 1 x 3 x 10, apresentando 10 palitos por grupo. As amostras foram fixadas de 3 maneira diferentes: 1mm; 2mm e 3mm de largura de cada lado. A ANOVA demonstrou que

os valores aumentaram significativamente com a diminuição da espessura das amostras. Entretanto, as diferentes formas de colagem não influenciaram nos valores de união. A análise de elemento finito demonstrou diferentes padrões de tensão para o fator espessura da amostra. Porém, o mesmo não foi relatado quando se analisou o fator colagem da amostra.

LOGUERCIO *et al.,* em 2005a, compararam a variabilidade intra e inter-dente no ensaio de microtração, utilizando-se 2 sistemas adesivos. Foram utilizados 20 terceiros molares, os quais tiveram as superfícies dentinárias expostas e tratadas com os sistemas adesivos Single Bond e One Step, segundo as recomendações dos fabricantes. Um bloco de resina composta, Z-250, foi construído e, após 24h, cada dente restaurado foi seccionado nos eixos "x"e "y" para a obtenção de palitos com uma área de união de 0,8mm^2. Os dentes foram seccionados em cortadeira metalográfica sob uma velocidade de 300rpm. Os palitos foram testados em máquina Universal com uma velocidade de avanço de 0,5mm/min. O padrão de fratura de cada palito foi analisado em microscópio sob um aumento de 400 vezes. Um modelo de análise misto, considerando o adesivo como uma variável fixa, o dente como uma variável aleatória e o palito como uma co-variável, na a análise dos resultados dos valores de união. O software utilizado foi o programa SAS e o teste de Wald. Os resultados demonstraram que a variabilidade intra-dente foi maior que a variabilidade inter-dente. Com isso, os autores concluíram que os palitos de um mesmo dente não pode ser considerado como unidade experimental, uma vez que esta consideração não segue as pressuposições da ANOVA.

LOGUERCIO *et al.,* em 2005b, avaliaram a influência da região nos valores de união e a durabilidade da interface resina/dentina. Foram

utilizados 30 terceiros molares humanos tiveram a dentina exposta e todo o esmalte periférico removido. Dois sistemas adesivos (Single Bond e One-Step) foram aplicados na dentina e camadas de resina composta (Z-250) foram aplicadas para a obtenção de um bloco de resina composta. Estes dentes foram divididos em 3 grupos (n=5). O grupo A apresentou palitos com uma área de união de 0,8mm^2, os quais foram submetidos ao ensaio imediatamente após a sua confecção. No grupo B os dentes restaurados foram armazenados, durante 6 meses, antes da realização dos corte em palitos. No grupo C, as restaurações foram seccionadas em palitos, sendo estes armazenados durante 6 meses até a realização do ensaio mecânico. Nos grupos A e B, a localização dentinária dos palitos (periféricos e centrais) foi avaliada. Os valores de união foram expressos, utilizando-se um index que considera as falhas do tipo coesivas e estima os valores das falhas prematuras dos palitos. A Análise de Variância, um critério, e o teste de Tukey foram realizados (α=0,05) para a comparação entre os grupos A, B e C. Para a avaliação tempo e região dentinária, para cada sistema adesivo, foi aplicada a ANOVA, dois critérios. Os resultados demonstraram que para o sistema adesivo Single Bond, os valores do grupo A foram significantemente maior que para os grupos B e C. Já para o sistema One Step, o grupo A apresentou melhores resultados que o grupo B, o qual demonstrou maiores valores de união que o grupo C. Já para a análise da região dentinária, não houve diferença entre as regiões quando o ensaio de microtração foi realizado imediatamente após a confecção dos espécimes. Entretanto, após 6 meses de armazenagem, os palitos da região central dentinária demonstraram valores de união superiores dos palitos localizados na região periférica. Os autores concluíram que o corte e posterior armazenamento alteram os valores de união e que os valores de união são menores na periferia da dentina quando comparados com os palitos localizados na região central do dente.

MANNOCCI *et al.,* em 2004, investigaram os efeitos da densidade tubular dentinária da região radicular nos valores de adesão. Dez incisivos centrais, laterais e caninos, sem cárie, foram extraídos de três pacientes, por motivos periodontais e divididas em dois grupos. O grupo 1 foi composto por amostras do terço coronal de raízes. Já o grupo 2 foi composto por amostras do terço médio-apical das raízes dentinárias. A densidade tubular dos grupos foi analisada através de MEV e os valores de união mensurados através do ensaio de microtração. Os resultados demonstraram que os valores de união foram estatisticamente inferiores na região coronária. Já a densidade tubular foi estatisticamente superior nesta região quando comparados com o terço apical. Os resultados sugeriram que os valores elevados de adesão estão associados com as regiões de menores densidades tubulares.

MEIRA *et al.,* em 2004, avaliaram a concentração das tensões de espécimes compostos por um material uniforme durante o teste de microtração. Para isso, 80 casos foram simulados utilizando 3 modelos dimensionais, os quais variou-se a tipo de fixação do espécime no jig (1 lado ou 2 lados), tamanho (altura) da fixação dos espécimes (h= 1 ou 2,75 mm), largura do espécime (l=1,5, 2, 3, 4, e 5 mm) e o raio de curvatura do formato da ampulheta (r=0,2, 0,5, 0,7 ou 1mm). A área de união foi de $1mm^2$ para todas as amostras nas diferentes análises. O fator de concentração de tensão K_t (tensão máxima de tração/ tensão nominal de tração) foi calculado e a análise de elemento finito foi realizada. Os resultados demonstraram que o raio de curvatura é um parâmetro geométrico que apresenta uma grande influência nos valores de união (variação nos valores de K_t maiores que 47,4%). Os espécimes fixados nos dois lados reduziram a concentração de tensões. Desta forma, variações na geometria das amostras e o modo de aplicação da

força podem ser responsáveis por diferentes valores de união obtidos em ensaios de microtração.

REIS *et al.,* em 2004, compararam a força de união da dentina e esmalte humano, bovino e suíno e a micromorfologia dos diferentes substratos condicionados em MEV. Desta forma, foram utilizados 10 dentes humanos (H), 10 dentes bovinos (B) e 10 dentes suínos (S). O esmalte e a dentina dos dentes foram expostos com lixas de Carbeto de silício com granulação de 600. Os dentes foram restaurados com o sistema adesivo Single Bond e a resina composta TPH. As amostras foram seccionadas em fatias e entalhes na forma de ampulheta foram confeccionados, apresentando uma interface de união de 0,8mm^2. As fatias foram submetidas ao ensaio de microtração e os resultados foram analisados pela ANOVA e o teste de Tukey. Os resultados demonstraram diferenças estatísticas significantes entre os valores de resistência de união de esmalte e dentina. Entretanto, não houve diferenças entre os tipos de substratos (H, B e S). As MEVs revelaram semelhança no padrão morfológico dentinário das 3 espécies. Entretanto, a distribuição dos prismas dos dentes suínos se mostrou diferente dos dentes H e B. Assim, o dente bovino demonstrou um possível substituto do dente humano, tanto a dentina quanto o esmalte em ensaio de microtração.

MUNK *et al.,* em 2005, avaliaram a resistência de união de sistemas adesivos aplicados em cavidades do tipo classe I, após a ciclagem térmica. Cavidades do tipo Classe I foram realizadas em terceiros molares humanos, apresentando a área de união em dentina. Os sistemas adesivos utilizados foram Optibond FL, Clearfil Protect Bond e o iBond. Após a aplicação dos sistemas adesivos, as cavidades foram restauradas com a resina Z-100 As restaurações foram termocicladas 20.000 vezes e seccionadas em cortadeira para a obtenção de palitos. Os palitos foram então levados em máquina para a realização de

desgastes na interface adesiva para a obtenção de uma conformação cilíndrica da interface da ampulheta, apresentando uma área de 1mm^2. Os resultados demonstraram que a termociclagem não afetou a degradação mecânica e química da interface de união para os sistemas adesivos de 3 passos e 2 passos. Entretanto, o sistema adesivo auto-condicionante de passo único não foi capaz de suportas a contração de polimerização e a ciclagem térmica. Desta forma, os efeitos da utilização da termociclagem dependem do teste utilizado e, também, do sistema adesivo aplicado.

REIS *et al.,* em 2004, avaliaram a influência do tempo de estocagem e a velocidade de corte das amostras no ensaio de microtração. A superfície dentinária de 36 terceiros molares humanos foi exposta e o sistema adesivo Single Bond aplicado, conforme as recomendações do fabricante. Blocos de resina composta, Z-250 foi confeccionado, através da técnica incremental. As amostras foram armazenadas durante 10 minutos, 24 horas e uma semana, em água destilada a 37°C, antes da realização dos cortes seriados nos eixos "x"e "y", em cortadeira metalográfica para a obtenção de palitos com 0,8mm^2 de área adesiva. A velocidades de corte foram de 0,5, 1,6 e 2,6m/s. As amostram foram submetidas ao ensaio de microtração com velocidade de avanço de 0,5mm/min. E os resultados foram analisados pela ANOVA, dois fatores, com 3 níveis para o fator tempo e 3 níveis para o fator velocidade. Os resultados demonstram significância para os fatores principais e para a interação entre eles ($p<0,0001$). O maior valor de união foi verificado após uma semana de estocagem e com velocidades de cortes de 2,6m/s. O menor valor encontrado foi quando as amostras foram preparadas imediatamente após a inserção da resina composta e os cortes feitos com velocidade de 0,5m/s. Assim, os

autores concluíram que tanto a estocagem quanto a velocidade de corte são variáveis que podem afetar os valores de união.

SADEK *et al.,* em 2005, avaliaram a influência da velocidade do corte nos valores de adesão e a integridade morfológica dos espécimes de microtração, nos diferentes substratos, esmalte e dentina. Trinta terceiros molares foram utilizados e restaurados com sistema adesivo Excite e a resina composta Tetric Ceram, seguindo as recomendações dos fabricantes. Metade dos dentes utilizados apresentou o esmalte como substrato e a outra metade a dentina. Após 24h de armazenagem em água destilada, os dentes foram seccionados em palitos com área de união de $1mm^2$, em cortadeira metalográfica apresentando uma velocidade de corte de 100, 200 ou 400 rpm. Foram selecionados 5 palitos de cada grupo experimental para a análise morfológica em MEV. Devido as variâncias das amostras de dentina e de esmalte, a análise da influência da velocidade do corte foi realizada separadamente nos diferentes substratos. Os resultados demonstraram que a velocidade de corte influenciou os valores de união, em esmalte. As velocidades de 100 e 200 rpm demonstraram melhores resultados quando comparados com 400rpm, em esmalte. Já para a dentina a velocidade de corte não influenciou os valores de adesão. A análise morfológica demonstrou que a integridade da interface adesiva foi melhor para as velocidades mais baixas em esmalte. Já a dentina demonstrou uma maior integridade da interface quando comparado com esmalte. Com isso, a velocidade de corte é um fator importante a ser considerado, principalmente, quando o substrato considerado for esmalte.

YAMAGUCHI *et al.,* em 2005, avaliaram a influência da velocidade de avanço no ensaio de microtração para sistemas adesivos de dois passos. Foram utilizadas superfícies dentinárias de incisivos bovinos. Os dentes foram restaurados com os sistemas adesivos Clearfil

SE Bond e Single Bond; e a resina composta Clearfil AP-X. Os dentes foram seccionados em fatias e as inetrfaces adesivas desgastadas em formato de ampulhetas, apresentando uma área de união de 1mm^2. As amostras foram submetidas ao ensaio de microtração a uma velocidade de avanço de 0,5, 1, 5 e 10 mm/min. Os resultados foram analisados pela ANOVA, dois critérios. Os resultados demonstraram que não houve diferenças estatisticamente significativa para o fator velocidade de avanço nos diferentes sistemas de união. Entretanto, o tipo de sistema adesivo influenciou nos valores de adesão, sendo que o sistema Single Bond apresentou os melhores resultados.

2.3 REGIÃO DENTINÁRIA

De acordo com Yoshikawa *et al.*, 1999, a magnitude de falhas e valores de união depende de fatores como a configuração da cavidade, sua profundidade e a técnica restauradora. Em seu estudo, os autores sugestionaram que o Fator-C e a profundidade dentinária remanescente poderiam influenciar a resistência de união à dentina em cavidades Classe I. Molares humanos foram divididos em três grupos: superfície oclusal planificada expondo a dentina superficial (controle – Fator-C=1); cavidades tipo Classe I preparadas em dentina profunda (Fator-C=3) e superfície oclusal planificada expondo a dentina profunda (Fator-C=1). Os dentes foram restaurados com três agentes de união (Clearfil Liner Bond II/LBII; One Step/OS e Super-Bond D Liner/DL) e com o compósito Clearfil Photo Posterior. Após 24h, foram preparados para o teste de microtração. Todos os grupos demonstraram maiores valores de resistência de união à dentina superficial. Quando o fator cavitário foi aumentado, o adesivo que apresentou resultados significativamente menores foi o DL. As observações do padrão de fratura das fatias, em MEV, mostraram que aquelas com maiores valores de resistência de união exibiram mais falhas coesivas na camada híbrida. Por outro lado,

menores valores de força adesiva estavam relacionados com mais falhas no topo da camada híbrida. Alguns sistemas adesivos não se uniram adequadamente à dentina profunda, tornando-os mais susceptíveis às tensões da contração de polimerização que se desenvolvem em cavidades com altos Fator-C.

PEREIRA *et al.,* em 1999, investigaram a influência da umidade regional nos valores de união. Foram utilizados terceiros molares humanos e divididos aleatoriamente em três grupos. No grupo I nenhuma pressão intra-pulpar foi aplicada. No grupo II foi aplicado água no interior do canal com uma pressão intra-pulpar de 15 cm de coluna de água. E no grupo III os dentes foram secados em dissecadora, durante um período de 12h. As superfícies dentinárias foram planificadas e os sistemas adesivos Clearfil Liner Bond II e One Step foram aplicados sob a mesma, seguindo as recomendações dos fabricantes. Os dentes foram restaurados com a resina composta APX e, após 24h, foram seccionados em fatias com espessura de 0,7 mm. As fatias foram subdivididas em três grupos de acordo com a espessura de dentina remanescente, sendo divididas em dentina próxima ao corno pulpar, dentina central e dentina periférica. As interfaces adesivas das fatias foram desgastadas para a obtenção de uma área adesiva de $1mm^2$, no formato de ampulheta, e levados para o ensaio mecânico. Os resultados foram analisados pela ANOVA, três critérios, e o teste de Fisher PLSD. Os resultados demonstraram que não houve diferenças estatisticamente significante nas diferentes regiões nos grupos I e II restaurados com Clearfil Liner Bond II. Entretanto, os valores de união da região próxima aos cornos pulpares foram significantemente inferiores nos grupos I e II para o sistema adesivo One Step. Já os valores do grupo III foram significativamente inferiores dos demais grupos, porém diferenças regionais não foram evidentes. Com isso, os

autores concluíram que o sistema adesivo deve ser escolhido segundo o tipo de substrato e região do dente a ser realizada a adesão, uma vez que a valores de resistência à união podem variar de acordo com umidade intrínseca, região e sistema adesivo utilizado.

BOUILLAGUET *et al.,* em 2001, estudaram as características de união *in vitro* em paredes dentinárias de cavidades do tipo classe II. Cavidades do tipo MOD foram preparadas em terceiros molares humanos, os quais foram divididos em dois grupos. O primeiro grupo foi imediatamente restaurado após a realização das cavidades. O segundo grupo, os dentes foram cortados para a obtenção de superfícies planas e analisados como no primeiro grupo. O sistema adesivo Scotchbond Multi-Purpose e a resina composta Z-100 foram utilizados. Os dentes foram seccionados no eixo mesio-distal resultados em 2 metades. A primeira metade foi seccionada verticalmente e a outra metade horizontalmente, resultando em fatias de 0,5 mm de espessura. Entalhes no formato de ampulhetas foram realizados nas fatias. Os resultados do estudo demonstraram que o grupo que apresentaram cavidades obtiveram resultados significativamente menores de união quando comparados com o grupo de superfície plana. Entretanto, dentro do grupo de superfície plana, a região não influenciou os valores de união. Os autores observaram que o uso de paredes dentinárias planas nos estudos sobre resistência de união pode superestimar os valores obtidos em cavidades preparadas e restauradas sob condições clínicas.

OGATA *et al.*, 2001, sugeriram que a direção dos túbulos dentinários pode ser a possível razão para a variação de valores de resistências à união dentro de uma cavidade. Foram investigados quatro sistemas adesivos comercialmente disponíveis: Clearfil Liner Bond II, Imperva Fluoro Bond, Single Bond e One Step. Também foi observada a micromorfologia da interface de união em MEV. Trina e seis molares

humanos foram divididos em dois grupos de acordo com a direção tubular na interface resina-dentina, paralela ou perpendicular. Os sistemas adesivos foram aplicados segundo recomendações dos respectivos fabricantes e os corpos-de-prova foram restaurados com a resina Clearfil AP-X. Após 24h de armazenamento em água, as unidades foram fatiadas paralelamente à interface de união e receberam constrições nesta interface, mantendo-a com, aproximadamente, 1,0mm^2. Foi observado que alguns grupos restaurados com túbulos paralelos à superfície apresentaram valores de resistência de união significativamente mais altos (Single Bond e One Step). Sugeriu-se que a direção dos túbulos dentinários parece ser uma variável determinante da resistência de união à dentina e que esta direção pode influenciar a capacidade de molhamento intrínseca da superfície.

2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA:

FREIMAN *et al.,* em 1978, avaliaram a importância do cálculo do Beta, probabilidade do erro tipo II e o tamanho da amostra no planejamento e interpretação em ensaios clínicos randomizados. Setenta e um ensaios clínicos foram avaliados para determinar se os pesquisadores detectaram o tamanho da amostra para promover uma alta probabilidade (>0,90) em detectar 25 por cento e 50 por cento de melhora na resposta terapêutica. Sessenta e sete das pesquisas analisadas obtiveram uma porcentagem maior que 10% de perda da resposta de 25% de melhora terapêutica entre os grupos. O mesmo risco (>10%) foi verificado para 50% das pesquisas, as quais não verificaram 50% de melhora no grupo tratado. Muitas pesquisas que não relataram diferenças estatísticas com o grupo controle utilizaram amostras inadequadas. A probabilidade de perda na detecção de melhora do grupo tratado devido tamanhos amostrais pequenos devem

ser parâmetros importantes a serem considerados durante o planejamento do experimento.

HOENING & HEISEY, em 2001, relataram a utilização abusiva do poder do teste para análise dos resultados experimentais. Segundo os autores os cálculos do poder do teste é uma estatística importante durante a fase de planejamento do experimento. Entretanto, a literatura indica o cálculo do poder do teste após a realização do teste estatístico de uma determinada hipótese ou quando os resultados entre os grupos não se mostraram significativos. A indicação do cálculo do poder após a realização do experimento para a interpretação dos resultados experimentais não é adequado. Devendo ser utilizado durante o planejamento do experimento, através de um estudo piloto.

Em 2002, CHEN *et al.,* analisaram as pressuposições da ANOVA e a análise robusta para estudos cruzados. Segundo os autores, a ANOVA é, geralmente, utilizada para analisar dados contínuos. Entretanto, a análise não apresenta erro do tipo I apropriado quando certas pressuposições são violadas. No estudo em questão, os autores, explicaram os requisitos mínimos necessários para seguir as pressuposições, validando o teste F do modelo da ANOVA em estudos cruzados. Os autores relataram que ao verificar as pressuposições, análises mais robustas da ANOVA são obtidas.

O cálculo de tamanho da amostra e tamanho da parcela é freqüente para estudos agronômicos. Assim, VIANA *et al.,* em 2002, estimaram o tamanho ótimo de parcelas em experimentos com urucum. O ensaio de uniformidade foi formatado de 12 fileiras com 12 plantas em cada fileira. Empregaram-se o método de máxima curvatura, da máxima curvatura modificado e da comparação de variâncias. A estimativa do tamanho de parcela variou com o método utilizado e com

a característica analisada. O método da máxima curvatura modificado permitiu a obtenção de estimativas mais precisas, e considerando-se que a parcela ideal deve possibilitar a avaliação eficiente de todas as características analisadas no experimento, o tamanho ideal de parcela foi de 107,2 m^2.

NETO *et al.,* em 2004, estimaram o tamanho da parcela para avaliação da produtividade de grãos de trigo, sob condições irrigadas, em sistemas de plantio direto e convencional. Cada experimento foi formado por 30 fileiras de 30 metros de comprimento, no espaço de 20 cm e densidade de 380 sementes/m^2. A colheita foi efetuada em unidades básicas (ub) de 1 metro de fileira (0,2 m^2), colhendo-se os 12 metros centrais das 24 fileiras centrais, totalizando 288 ub. O tamanho da parcela foi estimado pelos métodos de máxima curvatura, máxima curvatura modificada, comparação de variâncias e método de Hatheway. Os tamanhos de parcelas apresentaram uma grande variação em razão do método utilizado na sua estimativa. Parcelas menores, com maior número de repetições, foram mais eficientes no uso da área experimental do que parcelas maiores, com menores números de repetições. Parcelas variando entre 1,6 a 2,4m^2 de área útil possibilitaram adequada avaliação da produtividade de grãos nas diferentes condições experimentais.

AGUINIS *et al.,* em 2005, realizaram uma revisão de literatura, nos períodos de 1969 a 1998, o tamanho de efeitos considerados moderados nas variáveis categóricas da análise de regressão múltipla. A mediana observada do tamanho do efeito (f^2) foi de apenas 0,002, entretanto, 72% dos testes apresentaram um poder de 0,80 ou maior, para detectar um efeito desejado. Os resultados sugeriram a necessidade de se minimizar a influência dos artefatos, os quais produzem viéses no tamanho do efeito observado, colocando em

questionamento o uso da definição convencional do tamanho do efeito considerado moderado. Desta forma, como o efeito apresenta um impacto de magnitude, os autores alertaram os pesquisadores na necessidade de realizar a análise do poder e um planejamento adequado, durante o delineamento do estudo, com base em tamanhos do efeito desejado mais reais.

CAPLAN *et al.,* em 2005, analisaram as implicações da análise dos resultados em amostragem complexas. Em saúde pública, normalmente, utiliza como estratégia a amostragem aleatória para a identificação de fatores, que se deseja estudar. Entretanto, as análises utilizadas nestes tipos de trabalhos, geralmente, não levam em consideração o mecanismo de amostragens complexas. Ainda não está claro, se após a definição de uma estratégia, há a necessidade de um ajuste para amostras observacionais estratificadas e/ou em conglomerados. Os autores relatam que a necessidade de ajuste depende dos objetivos principais do estudo. Como regra geral, recomenda-se que quando o objetivo do estudo é estimar a magnitude da população de interesse (prevalência) ou a associação dos resultados com a exposição de um fator, é essencial um ajuste de variâncias para refletir as condições de amostragem complexa. Este ajuste tem como finalidade estimar variâncias apropriadas. Entretanto, se o objetivo do estudo é estabelecer a presença de uma associação, em estudos preliminares de condições novas ou populações em estudo, a estimativa da variância não é prioridade. Assim, o ajuste da variância para amostras complexas não é primordial, porém recomendada. Os autores descreveram diferentes tipos de delineamentos com amostragens complexas, métodos de ajustes, exemplos do efeito do ajuste e técnicas alternativas para a análise de amostragens complexas, utilizando-se o poder do teste.

SAAM *et al.,* em 2005, demonstrou o cálculo do tamanho da amostra para a análise quantitativa da placa aterosclerótica da carótida, através de imagens de ressonância magnética. Para isso um experimento aleatório duplo-cego de um agente farmacêutico experimental foi realizado, com a utilização de 20 pacientes assintomáticos placebos (controle). Os pacientes foram submetidos a 4 scanners. O poder do teste baseado nas diferentes medidas realizadas demonstrou que a seleção de 14 pacientes por grupo poderia detectar mudanças de 5% das variáveis analisadas (poder=80%, $p < 0.05$). O estudo proporcionou bases para o cálculo do tamanho da amostra para experimentos futuros sobre a quantificação da placa.

Segundo TU *et al.,* em 2005, ensaios clínicos aleaorizados são amplamente recomendados como o delineamento experimental mais importante para gerar evidências e guias para a prática diária na Medicina e Odontologia. Entretanto, nos trabalhos de Odontologia não é bem conhecido à influência dos diferentes testes estatísticos no poder do teste para a análise dos dados. Com isso, os autores realizaram diferentes simulações utilizando-se as análises muiltivariadas e univariadas para analisar o poder do teste e o tamanho de amostra necessária nos experimentos clínicos aleatorizados. Os resultados demonstraram, de maneira geral, a análise de covariância (ANCOVA) apresenta uma poder maior que os demais métodos estatísticos para demonstrar superioridade de um tratamento em relação a outro ou similaridade. Desta forma, os autores concluíram que a ANCOVA deve ser a análise utilizada para analisar diferenças em escores ou porcentagem de escores, reduzindo o erro do tipo II.

ARIAS *et al.,* em 2006, avaliaram a variabilidade intra- e inter-dente e a influência dos valores 0 no teste de microtração. Foram utilizados 80 dentes bovinos, sendo divididos, aleatoriamente, em dois

grupos (n=40), os sistemas adesivos utilizados foram o Single Bond (SB- G1) e Tyrian SPE /One Step Plus (TY- G2). Os dentes foram restaurados com resina composta Filtek Z-250. Os dentes restaurados foram seccionados, obtendo-se palitos de 0.8 mm^2 de área de interface adesiva, totalizando 12 palitos por dente. Os palitos foram fixados a uma máquina Universal de Ensaio para a obtenção dos valores de união (MPa). Os Coeficientes de Variação (CV) entre os dentes e entre os palitos foram calculados. A análise de variância foi aplicada, assumindo 4 condições diferentes, como unidade experimental: 1) os valores de cada palito, sem considerar os falhas prematuras; 2) a média do dente, sem considerar os falhas prematuras; 3) os valores de cada palito, considerando as falhas prematuras como valores 0; 4) a média do dente, considerando as falhas prematuras como valores 0. Os resultados demonstraram que o uso do dente como unidade experimental se mostrou mais apropriado, e apesar do aumento do CV ao considerar as falhas prematuras como valores 0, a desconsideração destas superestima os valores de união dos agentes adesivos.

PROPOSIÇÃO

Os objetivos deste estudo foram:

- Determinar o número mínimo de unidades experimentais (número de dentes) para a variável de resposta microtração pelo método do poder do teste.

- Determinar o tamanho ótimo de parcela experimental (número de palitos) para a variável de resposta microtração pelo método da máxima curvatura modificado.

- Avaliar a influência da localização dos palitos em dentina nos valores de adesão dos palitos, através da utilização da análise de variância em parcela subdividida.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ENSAIO DE MICROTRAÇÃO:

4.1.1 SELEÇÃO E PREPARO DOS DENTES:

Como substituto dos dentes humanos, foram selecionados 80 dentes bovinos (Reis *et al.,* 2004), recém-extraídos e armazenados em uma solução salina 0,9% contendo timol, sob refrigeração à 5°C. Estes dentes foram limpos com lâminas de bisturi n°15, montadas em um bisturi n° 3 (JON), para a remoção de restos de ligamentos periodontais e tecidos moles. O veículo utilizado para o armazenamento dos dentes foi água destilada deionizada, permanecendo em geladeira até a realização dos tratamentos superficiais.

A raiz, dos dentes bovinos, foi seccionada com discos diamantados dupla face (KG Soresen Ind. Com. Ltda, 06465-130, Barueri, SP, Brasil), em baixa rotação, sob irrigação constante, para a obtenção da região coronária, acima da junção cemento esmalte.

O esmalte vestibular dos dentes foi desgastado, em Politriz (Maxigrind, Solotest, 01328000, São Paulo, SP Brasil), empregando-se discos de lixa de carbeto de silício de granulação de número 180 com abundante irrigação, até a exposição da dentina. Durante este procedimento, a superfície desgastada foi avaliada em microscópio ótico EMZ (MEIJI TECHNO, Japão), com um aumento de 10 vezes para a verificação da remoção do esmalte vestibular. Após a exposição dentinária, foram utilizadas as lixas de granulações n°400 e 600 para o polimento e a formação da "Smear Layer" dentinária (Figura 1).

Figura 1 - Exposição dentinária vestibular.

Adicionalmente, a região palatina dos dentes foi seccionada com discos diamantados dupla face (KG Soresen Ind. Com. Ltda, 06465-130, Barueri, SP, Brasil), em baixa rotação, sob irrigação constante. Após a remoção palatina dos dentes, a espessura dentinária foi aferida com espessímetro, padronizando-se uma espessura entre 2 a 2,5 mm. Os dentes que apresentaram maior ou menor desgaste dentinário foram descartados.

A área de união da superfície dentinária foi delimitada com lápis e aferida com o auxílio de um paquímetro digital Mahr 16 ES (Carl Mahr Esseingen GmbH), apresentando uma demarcação de 6 mm de comprimento por 4 mm de largura, localizando-se 2mm acima da junção cemento-esmalte. (Figura 2).

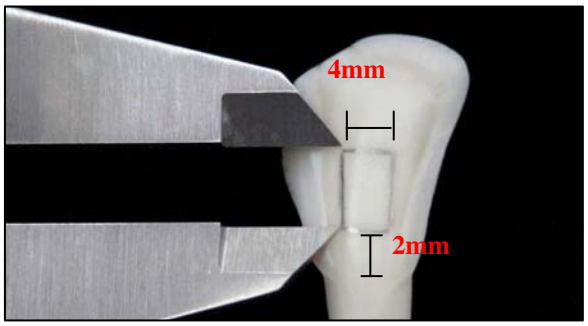

Figura 2 - Região demarcada.

Após o preparo dos dentes, estes foram distribuídos, aleatoriamente, em 2 grupos (n=40), sendo utilizados o sistema de união com condicionamento prévio, Single Bond (3M Espe, South Bend, In 466114, USA) e o sistema de união, autocondicionante, Tyrian SPE + One Step Plus (Bisco Inc., Schaumburg, IL 60193, USA) (Quadro 1).

Quadro 1- Sistemas de união utilizados no experimento e as características específicas fornecidas pelos respectivos fabricantes.

Sistema de união	*Composição*	*Fabricante*
Single Bond	HEMA, BIS-GMA, PAA, álcool e água.	3M-ESPE Dental Products.
Tyrian SPE + One Step Plus	**Monômero ácido (Tyrian):** Frasco A - álcool 20-30% Frasco B- 2-acrilamido2-metil 20-30%, ácido propanosulfônico 5-15%,BIS-GMA 40-70%, fosfato e álcool **Sistema de união (One Step Plus)** BIS-GMA 15-40%, HEMA 40-70%, acetona 1-10%, partículas de vidro.	Bisco Inc.

4.1.2 CONDICIONAMENTO DENTINÁRIO:

Single Bond:

Os corpos-de-prova do grupo G1 foram condicionados com ácido fosfórico a 37%, lote 42859, e validade até 06-2006, (Dentsply Ind. Com. Ltda, 03211602, Petrópolis, RJ, Brasil), durante 15 segundos, lavados com água destilada durante 15s e secados com papel

absorvente, tomando o cuidado para não exercer pressão sobre a superfície dentinária.

Tyrian SPE:

Para os corpos-de-prova do grupo G2, 2 gotas do frasco A foram dispensadas em um recipiente. Agitou-se 3-5s o frasco B, sendo dispensadas 2 gotas no recipiente que continha as gotas do frasco A. Realizou-se a mistura até a obtenção de homogeneidade da solução. A superfície dentinária foi secada com ar, e com o auxílio de uma esponja 2 camadas consecutivas foram aplicadas, esfregando a superfície por 15s. O excesso de monômero foi removido com esponja, fornecida pelo fabricante. Toda a superfície demarcada foi condicionada, desmineralizando uma área de 6mm X 4mm .

4.1.3 APLICAÇÃO DOS SISTEMAS DE UNIÃO:

Os sistemas de união foram aplicados com pincéis Microbrush, seguindo as recomendações dos fabricantes (Quadro 2).

Quadro 2- Modo de aplicação dos sistemas adesivos utilizados preconizado pelos respectivos fabricantes.

Sistema de união:	***Modo de aplicação:***
Single Bond	➢ *Aplicar 2 camadas consecutivas do adesivo;* ➢ *Secar levemente com ar durante 5s;* ➢ *Fotoativar por 10s.*
OneStep Plus	➢ *Agitar o frasco do adesivo durante 3-5s;* ➢ *Aplicar 2 camadas durante 15s;* ➢ *Secar levemente com ar durante 5s;* ➢ *Fotoativar por 10s.*

4.1.4 APLICAÇÃO DO COMPÓSITO ODONTOLÓGICO:

Os corpos-de-prova foram confeccionados com resina composta Filtek Z-250 na cor A2 (3M-Espe, St Paul, MN, 55144-1000, USA)(Quadro 3), através da confecção de um bloco de resina com 4 x 6mm. A resina foi aplicada em 4 incrementos de 1mm cada, com o auxílio de uma espátula n°-1. Cada incremento foi fotoativado por 40 segundos, utilizando-se o aparelho fotoativador Optilux Demetron 501 (Demetron-Kerr Danburry, CT 06810 – 4153, USA), com uma intensidade média de 670mW/cm^2. A intensidade de luz foi medida a cada 10 amostras preparadas, para a certificação da constância da intesidade.

Quadro 3- Composição do compósito odontológico utilizado.

Compósito odontológico	***Composição***	***Fabricante***	***Lote/ validade***
Filtek Z-250	Zircônia Sílica Bis-GMA UDMA Bis-EMA	3M-ESPE Dental Products.	2PW/ 02/05

Os corpos-de-prova foram armazenados em água destilada deionizada, em estufa de cultura, modelo 002 CB (FANEM Ltda), a 37°C, até serem fatiados, após 24 horas, e obtidas as áreas de união a serem submetidas ao ensaio de microtração.

4.1.5 OBTENÇÃO DOS PALITOS PARA O ENSAIO DE MICROTRAÇÃO:

Após o armazenamento, a região palatal dos dentes foi fixada com cera pegajosa (Kerr), em um suporte de acrílico, com dimensões de 5 cm x 5 cm x 1cm, para serem fixados à cortadeira metalográfica ISOMET 1000 (Buehler Ltda, Lake Bluff, IL , USA). (Figura 3).

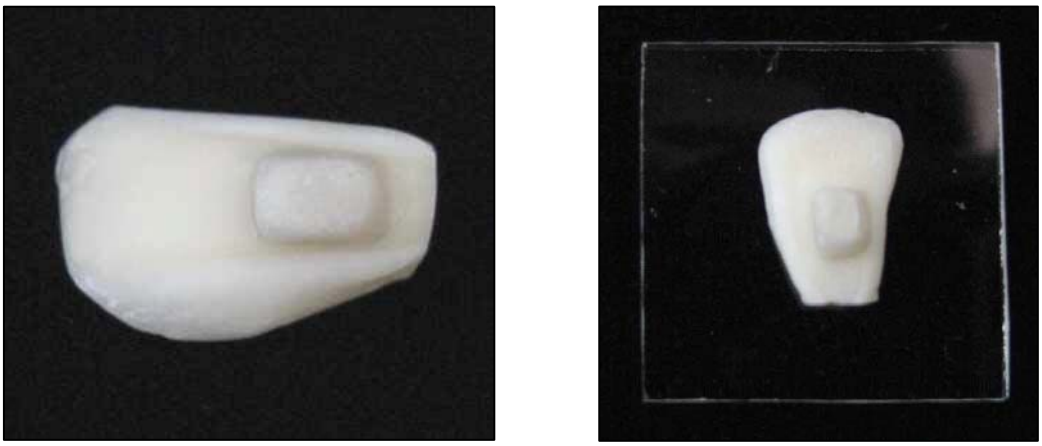

Figura 3- Vista dos corpos-de-prova fixados na placa de acrílico.

Foi utilizado o disco de diamante de alta concentração Extec (Erios), montado em cortadeira metalográfica programada na velocidade de 400 rpm sob irrigação constante com água destilada, com carga de 250g (Figura 4).

Figura 4 – Foto da cortadeira metalográfica ISOMET 1000.

Cortes seriados foram realizados nos sentidos mesio-distal e Cervico-incisal das coroas obtendo-se palitos com área de, aproximadamente, 0,8 mm^2. De cada dente foram obtidos 12 palitos.

Os palitos foram identificados por região, com canetas de retro-projetor de diferentes cores. Os dentes forneceram palitos dispostos em 3 colunas, uma central (C2) e duas colunas localizadas na extremidade mesial (C1) e distal (C3); e 4 linhas, uma linha localizada na parte superior (L1), 2 localizadas na região central da dentina desgastada (L2 e L3) e uma localizada na região inferior (L4), totalizando em 12 palitos por dente. A linhas L1, L2, L3 e L4 foram

identificadas, respectivamente, com as cores vermelha, verde, azul e preta, possibilitando localizar os palitos pertencentes as colunas e linhas, criadas durante o corte, conforme demonstrado na Figura 5.

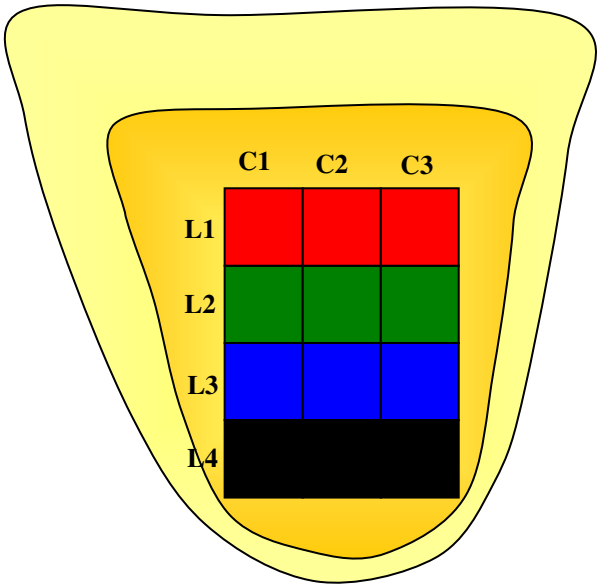

Figura 5- Identificação dos palitos nas respectivas regiões do dente.

Os palitos foram armazenados em "ependorfs" contendo água deionizada, mantidos em estufa a 37° C, durante 24 horas até a realização do ensaio mecânico. Cada "ependorf" continha as 4 linhas de uma mesma coluna, para que as mesmas não fossem misturadas, totalizando 3 "ependorfs" por dente.

4.1.6 ENSAIO MECÂNICO

Cada palito foi individualmente fixado no centro do dispositivo de Bencor para a realização do ensaio de microtração.

Esse dispositivo é composto por duas partes: uma base metálica, localizada na parte inferior, que se apresenta fixada por parafusos à máquina de ensaio Universal (EMIC DL 500, São José dos Pinhais, PR, 83020-250, Brasil), e uma região superior fixada, na sua extremidade superior, à célula de carga de 5N para a realização do ensaio de microtração (Figura 6).

Figura 6- Foto do dispositivo de Bencor posicionado na máquina universal de Ensaio.

Os palitos foram aderidos ao dispositivo pelas suas extremidades utilizando-se um adesivo à base de cianoacrilato, Super Bonder gel (Henkel Loctite adesivos), de modo a posicionar a área de união perpendicularmente ao longo eixo da força de tração. Para a aceleração da reação do adesivo Super Bonder gel, foi utilizado um

monômero JET acrílico auto-polimerizante, com o auxílio de pincéis Microbrush. Este monômero foi aplicado apenas em cima da cola nas extremidades dos corpos-de-prova, tomando-se o cuidado de não deixar o líquido entrar em contato com a área de união de cada espécime colado.

Os palitos que foram perdidos durante a colagem ou durante o manuseio no ensaio foram desprezados. Entretanto, os palitos perdidos durante o corte, em cortadeira metalográfica, foram adotados como valores 0 de união.

O ensaio foi realizado em máquina de ensaio Universal (EMIC DL 500, São José dos Pinhais, PR, 83020-250, Brasil), na velocidade de 0,5mm/min. Todo o ensaio foi monitorado por um programa de computador, interligado à célula de carga de 5N na máquina Universal de Ensaio EMIC, em escala de quilograma força (kgf). O programa apresentou na tela um gráfico representativo da carga em função do deslocamento. No momento da fratura, o movimento era interrompido imediatamente e os valores expressos em kgf.

Tendo sido realizado o ensaio de microtração, as dimensões das secções da interface de união foram medidas com o auxílio de um paquímetro digital, para a obtenção dos valores reais da área de cada espécime. As áreas de união foram calculadas através da seguinte fórmula matemática:

$A = b \times L$;

Onde, b = base e L = altura.

Os valores obtidos em kgf, durante a realização do teste de microtração, foram divididos pela a respectiva área de cada espécime, obtendo-se o valor em MPa, através da fórmula abaixo:

$$R = \left(\frac{F}{A} \right) \div 9{,}8$$

Onde, R= força em MPa; F= força em kgf; A= área de união

4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente ao acaso, sendo as unidades experimentais constituídas de dentes, apresentando 40 dentes para cada grupo (repetições ou unidades experimentais), com 12 palitos por dente (parcelas).

4.3 DETERMINAÇÃO DO NÚMERO DE REPETIÇÕES (DENTES):

O valor de resistência adesiva de cada unidade experimental foi obtido através do cálculo da média dos 12 palitos, resultando em 40 valores por grupo (n=40). As médias e os desvios-padrão dos grupos experimentais foram calculados e o cálculo do poder do teste em função do número de dentes para a comparação de duas médias (G1 e G2) foi realizado através do programa estatístico SAS (SAS Institute Inc.,Cary, NC, USA).

4.3.1 VARIAÇÃO INTER-GRUPOS:

Adicionalmente, diferentes tabelas foram simuladas, adotando-se 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40% de variação entre as médias dos grupos experimentais (variação inter-grupos), sendo fixada a média do G1 (Single Bond), por ser um sistema adesivo considerado como controle em pesquisas que utilizam o fator de estudo microtração, e calculadas diferentes médias para G2 com a porcentagem de variação, acima citada.

4.3.2 VARIAÇÃO INTRA-GRUPOS:

Após a obtenção das médias simuladas (variação inter-grupos), foram simuladas diferentes variações intra-grupos, expressas pelo o Coeficiente de Variação (CV). Os CV adotados foram 10, 20 e 30%.

A análise dos dados foi realizada pelo programa estatístico SAS, o qual calculou o poder em função do tamanho das amostras nas diferentes condições estipuladas.

4.4 DETERMINAÇÃO DO TAMANHO DA PARCELA (PALITOS):

Cada dente apresentou 12 valores, sendo um para cada palito, totalizando 960 valores. Com o objetivo de criar-se um conjunto de dados com diferentes números de palitos por dente (tamanhos da parcela), realizou-se a exclusão dos mesmos através de sorteio aleatório (anexos 1).

Para a obtenção de parcela com tamanho de 11 palitos, ou valores, realizou-se a exclusão de apenas 1 palito, o qual foi previamente sorteado. Já para a obtenção de 10 palitos por parcela 2

palitos foram excluídos e assim sucessivamente até a obtenção de parcelas contendo apenas 1 palito. Com isso, diferentes tamanhos de parcelas foram criados, adotando-se n=40.

Adicionalmente, foram realizados 4 sorteios diferentes (anexo 1) para a exclusão dos palitos, com o objetivo de aumentar o número de simulações para uma maior confiabilidade e a verificação da constância dos resultados obtidos. Sendo aplicada a mesma metodologia acima citada.

A mesma metodologia empregada para 40 dentes por grupo foi aplicada utilizando-se n=20 e n=10. A alteração do número de dentes por grupo teve por objetivo a análise de possíveis variações no tamanho ideal de parcela na alteração do número de unidades experimentais, sendo estes excluídos aleatoriamente (anexo 2 e 3).

Com base em Pimentel Gomes (1990), adotou-se o modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = m + c_i + b_j + e_{ij} + d_{ijk}$$

em que Y_{ijk}= observação feitas no palito K, do adesivo i, no dente j;

m= média geral;

c_i= efeito do adesivo (i= 1, 2,..., i adesivos);

b_j= efeito de dente (j=1, 2,..., j dentes);

e_{ij} = variação entre as parcelas (dentes x adesivo)

d_{ijk}= variação entre os palitos (k= 1, 2,..., K palitos por dente)

A partir do modelo adotado, foram realizadas as análises de variâncias (ANOVA) um critério, para cada tamanho de parcela simulado, em que, foi considerado as variações entre (a) e dentro (b) das parcelas, conforme representado no quadro abaixo:

Quadro 4- Esquema de análise de variância resultante do modelo estatístico, $Y_{ijk}= m + c_i + b_j + e_{ij} + d_{ijk}$

Fonte de Variação	***GL***	***QM***	***E(QM)***
Dentes	j-1		
Adesivos	i-1		
Variação entre (dentes)- (a)	(j-1)(i-1)	V_1	$\sigma^2[1+(K-1)]\ \rho$
Variação dentro do dente (palito)-(b)	ji(K-1)	V_2	$\sigma^2(1-\rho)$

Onde,

V_1 é o quadrado médio do resíduo entre as parcelas;

V_2 quadrado médio do resíduo dentro das parcelas;

σ^2 é a variância em razão do erro dentro de parcelas;

ρ é a correlação intraclasse.

Após a realização da Análise de Variância, os valores dos respectivos QMR, para cada tamanho de parcela, foram obtidos para os cálculos dos respectivos Coeficientes de Variação Experimental (C.V.exp), conforme a expressão:

$$C.V._{exp} = 100 \frac{\sqrt{\frac{V_1}{K}}}{\overline{Y}}$$

Em que,

C.V. é o coeficiente de variação experimental;

V_1 é o quadrado médio do resíduo entre as parcelas;

K é o número de palitos da parcela;

$\overline{Y}$ é a média da parcela.

O método da máxima curvatura modificado (Méier & Lessman, em 1971) consistiu em representar a relação entre o $C.V._{exp}$ e o tamanho da parcela, com o uso da equação de regressão do tipo $y = aX^{-b}$, em que y representa o coeficiente de variação experimental, e o X o tamanho da parcela.

A partir da função de curvatura, determinou-se o valor da abscissa onde ocorre o ponto de máxima curvatura, conforme apresentado por Méier & Lessman (1971), por meio de:

$$X_{mc} = \left[\frac{A^2 b^2 (2b-1)}{(b-2)} \right]^{\frac{1}{2-2b}}$$

Em que X_{mc} é o valor da abscissa no ponto de máxima curvatura, o qual corresponde à estimativa do tamanho ótimo de parcela;

a é a constante de regressão;

b é o coeficiente de regressão.

4.5 INFLUÊNCIA DA LOCALIZAÇÃO DOS PALITOS:

Foi realizada a Análise de Variância (ANOVA), em esquema de parcela subdividida e o teste de Tukey (α= 0,05), para a verificação das possíveis diferenças regionais, entre os sistemas adesivos e suas interações. Os resultados foram analisados pelo programa SAS e SANEST.

4.6 ANÁLISE DO PADRÃO DE FRATURA

O padrão da fratura das interfaces adesivas foi avaliado em microscópio óptico EMZ (MEIJI TECHNO, Japão) com aumento de 50 vezes e classificado em quatro tipos: adesiva, coesiva em dentina, coesiva em resina e mista. A análise do padrão de fratura em função do sistema adesivo foi realizada, utilizando-se um teste não-paramétrico, o Exato de Fisher, por meio do programa estatístico SAS (SAS Institute Inc.,Cary, NC, USA).

5. RESULTADOS

5.1 NÚMERO DE DENTES

Os sistemas adesivos Single Bond e Tyrian/One step apresentaram médias (desvio-padrões) de G1=33,77 (6,51)a e G2= 19,30 (7,86)b, respectivamente. A análise estatística demonstrou que houve diferença entre os sistemas adesivos utilizados, sendo o adesivo Single Bond demonstrou os maiores resultados.

Poder do teste:

Ao utilizar-se 40 dentes por grupo o teste apresentou um poder maior que 99% e que a utilização de 6 dentes por grupo seriam suficientes para a obtenção de um poder adequado (88%), conforme demonstra a Tabela 1.

Tabela 1 - Poder do teste (%) em função do número de dentes por grupo, adotando-se α=0,05.

Número de dentes	Poder do teste (%)
2	22
3	46
4	66
5	79
6	88
7	93
8	96
9	97
10	98
11	>99
até 40	>99

A média do Sistema adesivo Single Bond foi fixada e as estimativas das médias e desvio-padrão do grupo 2 foram simuladas com o objetivo da criação de variações entre médias (G1 e G2) de 5, 10, 15 até 40%, utilizando diferentes coeficientes de variação (10, 20 e 30%), conforme demonstrado nas Tabela 2.

Tabela 2 - Médias e desvio-padrão com diferenças entre as médias de 5 até 40%, em relação à média fixada (G1), e CV variando em 10, 20 e 30%

Variação % entre as médias	Médias simuladas	DP		
		CV 10%	CV 20%	CV 30%
5	35,39	3,45	6,91	10,36
10	37,07	3,53	7,07	10,61
15	38,76	3,62	7,24	10,87
20	40,44	3,70	7,41	11,12
25	42,13	3,79	7,58	11,37
30	43,82	3,87	7,75	11,62
35	45,50	3,96	7,92	11,88
40	47,19	4,04	8,08	12,13

Ao fixar um coeficiente de variação de 10%, o poder do teste demonstrou que médias com 40% de diferença ao utilizar-se 4 dentes por grupo apresenta um poder de 97% (Tabela 3). Sendo que, a utilização de 6 dentes ou mais, o poder do teste alcançaria valores maiores que 99%. Entretanto, a medida que diminui a diferença entre as médias, o número de dentes deve ser maior para alcançar os mesmos níveis de poder do teste. Assim sendo, grupos com pequenas diferenças entre as médias, como por exemplo, 5%, mesmo com a utilização de 40 dentes por grupo o teste apresentaria um poder de apenas 57%, conforme demonstrado na tabela 3.

Tabela 3 - Poder do teste em função do número de dentes com 12 palitos por dente, alterando-se as médias entre os grupos em 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40%, apresentado um CV fixado em 10%.

Número de dentes	Variação entre as médias dos grupos							
	5%	10%	15%	20%	25%	30%	35%	40%
2	6	9	13	19	25	31	38	44
4	9	20	38	54	74	86	93	97
6	11	32	58	81	93	98	>99	>99
8	14	42	73	92	98	>99	>99	>99
10	17	52	83	97	>99	>99	>99	>99
12	20	60	90	98	>99	>99	>99	>99
14	23	68	94	>99	>99	>99	>99	>99
16	26	74	96	>99	>99	>99	>99	>99
18	29	79	98	>99	>99	>99	>99	>99
20	32	83	>99	>99	>99	>99	>99	>99
30	55	95	>99	>99	>99	>99	>99	>99
40	57	98	>99	>99	>99	>99	>99	>99

α=0,05.

Entretanto, quando o CV aumenta para 20% o número de dentes por grupo deve ser maior para a obtenção de um poder igual ou maior que 80% (Tabela 4). Com médias dos grupos diferindo em 40%, 8 dentes são necessários para a obtenção de um poder de 87%. Com uma diferença de 35% entre os grupos 10 dentes são necessários. E a medida que a diferença entre as médias diminuem, um maior número de dentes são necessários, conforme demonstrado na Tabela 4.

Tabela 4 – Poder do teste em função do número de dentes com 12 palitos por dente, alterando-se as médias entre os grupos em 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40% e um CV fixado em 20%.

Número de dentes	Variação entre as médias dos grupos							
	5%	10%	15%	20%	25%	30%	35%	40%
2	5	6	7	8	10	12	14	17
4	5	8	13	19	26	34	42	50
6	6	11	19	29	41	53	64	74
8	7	14	25	39	54	68	79	87
10	8	17	31	48	65	78	88	94
12	8	20	37	56	73	86	93	98
14	9	22	42	63	80	91	96	>99
16	10	25	48	70	86	94	98	>99
18	10	28	53	75	89	96	>99	>99
20	11	31	57	80	92	98	>99	>99
30	15	44	75	93	98	>99	>99	>99
40	18	55	86	97	>99	>99	>99	>99

α=0,05.

Em experimentos que o teste de microtração alcança 30% de CV, para que o teste apresente um poder de 80% são necessários 14 dentes por grupo, quando os grupos testados apresentarem 40% de diferença entre as médias. Sendo cada vez maior a medida que essa diferença se torna mais próxima (Tabela 5).

Tabela 5- Poder do teste em função do número de dentes com 12 palitos por dente, alterando-se as médias entre os grupos em 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40% e um CV fixado em 30%.

Número de dentes	Variação entre as médias dos grupos							
	5%	10%	15%	20%	25%	30%	35%	40%
2	5	5	5	6	7	8	9	10
4	5	6	8	11	14	18	22	26
6	5	7	11	15	21	27	34	41
8	6	9	13	20	28	36	45	54
10	6	10	16	25	34	45	55	65
12	6	11	19	29	41	53	64	73
14	6	12	22	33	47	60	71	80
16	7	14	24	38	52	66	77	86
18	7	15	27	42	57	71	82	89
20	7	16	29	46	62	76	86	92
30	9	22	42	63	80	91	96	98
40	11	28	53	76	90	97	>99	>99

α=0,05.

5.2 TAMANHO DE PARCELA

Os diferentes tamanhos de parcela adotados variaram de 1 até 12 palitos por dente, nos diferentes sorteios. A Análise de Variância foi realizada para a obtenção dos Quadrados médios do Resíduo (QRM) e as médias, para os cálculos dos CV para cada tamanho de parcela. Os resultados demonstraram que o aumento do número de palitos por dente resultou em uma diminuição nos valores do Coeficiente de Variação experimental, conforme demonstrado nas Tabelas 6 a 10.

Tabela 6- CV experimental do sorteio 1 para 40 dentes por grupo.

Palitos	QMR	Média	CV exp
1	95,21	27,74	35,16
2	111,21	26,68	27,94
3	114,57	27,17	22,74
4	112,46	27,01	19,63
5	114,09	26,79	17,82
6	104,96	27,00	15,49
7	108,77	27,46	14,35
8	111,64	26,81	13,93
9	108,16	27,45	12,62
10	109,31	27,35	12,08
11	111,56	27,30	11,66
12	112,01	27,42	11,13

Tabela 7- CV experimental do sorteio 2 para 40 dentes por grupo.

Palitos	QMR	Média	CV exp
1	118,41	28,82	37,75
2	116,12	25,30	30,10
3	113,50	27,44	22,40
4	105,52	28,80	17,83
5	115,66	28,62	16,80
6	110,32	28,61	14,98
7	115,67	27,54	14,75
8	118,18	27,41	14,02
9	112,97	27,16	13,04
10	113,10	27,70	12,13
11	111,56	27,30	11,66
12	112,01	27,42	11,13

Tabela 8- CV experimental do sorteio 3 para 40 dentes por grupo.

Palitos	QMR	Média	CV exp
1	125,95	28,38	39,53
2	102,95	26,55	27,01
3	104,58	27,60	21,38
4	113,52	27,51	19,36
5	120,67	27,21	18,05
6	105,68	27,36	15,33
7	116,09	26,99	15,08
8	109,82	26,72	13,86
9	116,02	27,61	13,00
10	110,30	27,45	12,09
11	114,66	27,54	11,72
12	112,01	27,42	11,13

Tabela 9- CV experimental do sorteio 4 para 40 dentes por grupo.

Palitos	QMR	Média	CV exp
1	79,25	26,09	34,11
2	118,43	26,52	29,00
3	116,26	27,71	22,46
4	109,63	27,11	19,31
5	111,99	27,44	17,24
6	115,71	27,20	16,14
7	115,35	27,19	14,92
8	113,02	27,46	13,68
9	110,69	27,84	12,59
10	112,38	27,29	12,28
11	114,66	27,54	11,72
12	112,01	27,42	11,13

Tabela 10- CV experimental do sorteio 5 para 40 dentes por grupo.

Palitos	QMR	Média	CV exp
1	140,27	27,24	43,47
2	99,08	26,13	26,92
3	104,54	26,08	22,63
4	108,50	28,29	18,40
5	119,62	28,04	17,43
6	111,75	27,16	15,88
7	117,15	28,18	14,51
8	114,40	26,75	14,13
9	114,39	27,57	12,93
10	109,08	27,37	12,06
11	110,71	27,33	11,60
12	112,01	27,42	11,13

As curvas dos Coeficientes de variação experimental em função do tamanho da parcela, nos diferentes sorteios, foram representadas graficamente na Figura 7.

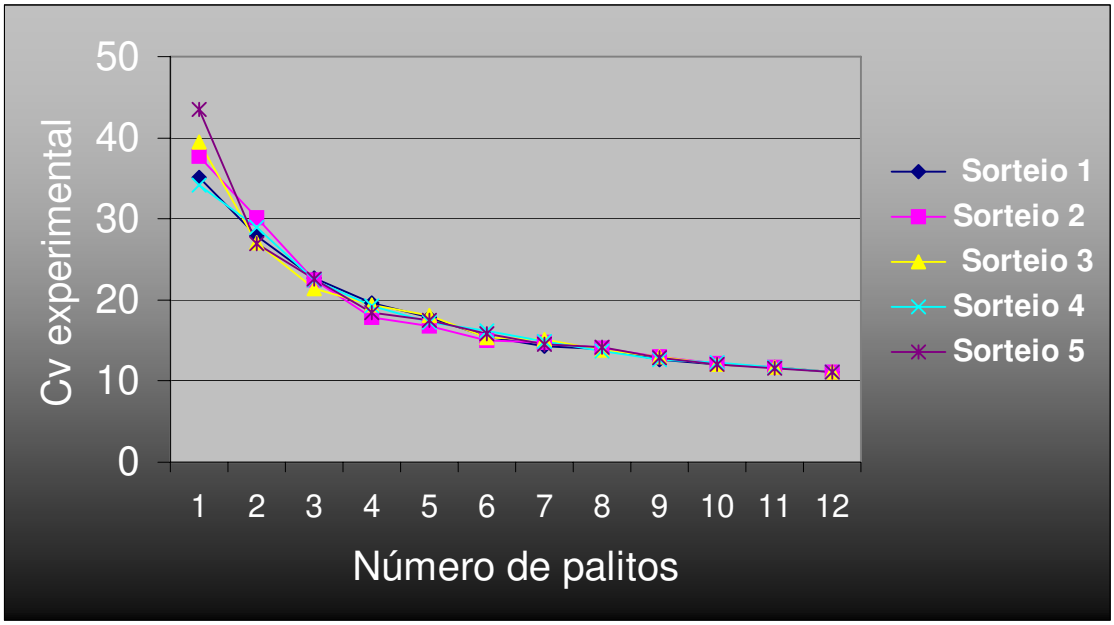

Figura 7- Curvatura dos Coeficientes de Variação Experimentais em função do número de palitos, nos diferentes sorteios, utilizando-se 40 dentes por grupo.

A equação de regressão da curvatura e o Coeficiente de determinação (R^2) foram calculados, para cada sorteio, demonstrando um R^2 elevado, variando entre 98,73 a 99,58 (Tabela 11).

O valor da abscissa onde ocorre o ponto de máxima curvatura, em cada sorteio, variou de 6,44 a 6,96 (Tabela 11). Com isso, na utilização de 40 dentes por grupo, o número mínimo de palitos por dente foi de aproximadamente 7.

Tabela 11 - Estimativa do tamanho da parcela experimental (Xc), pelo método da máxima curvatura modificado, com 40 dentes por grupo, analisadas em diferentes sorteios.

Sorteios	Regressão	R^2	Xc
1	$37,457x^{-0,4839}$	99,2	6,51
2	$38,77x^{-0,504}$	98,73	6,70
3	$38,693x^{-4989}$	99,58	6,68
4	$37,054x^{-0,4761}$	98,81	6,44
5	$40,801x^{-0,5277}$	99,29	6,96

Para 20 dentes por grupo, os mesmos procedimentos foram adotados. Sendo assim, a Análise de Variância foi realizada e os Quadrados Médios do resíduo foram calculados, conforme demonstram as Tabelas 12 a 16. Os Coeficientes de Variações experimentais foram calculados nos diferentes tamanhos de parcela, com diferentes sorteios (Tabela 12 a 16).

Tabela 12- CV experimental do sorteio 1 para 20 dentes por grupo.

Palitos	QMR	Média	CV exp
1	119,17	28,77	37,93
2	92,69	26,02	26,16
3	111,46	27,26	22,29
4	101,93	26,08	19,51
5	117,81	26,89	18,03
6	107,60	26,75	15,86
7	107,00	27,37	14,27
8	103,81	26,24	13,73
9	107,21	27,08	12,79
10	109,98	26,89	12,36
11	108,23	26,85	11,69
12	109,51	26,97	11,19

Tabela 13- CV experimental do sorteio 2 para 20 dentes por grupo.

Palitos	QMR	Média	CV exp
1	119,17	28,77	37,93
2	128,95	28,49	28,18
3	117,64	27,44	22,81
4	114,25	27,67	19,30
5	112,03	27,30	17,33
6	102,40	26,45	15,61
7	106,97	26,38	14,81
8	107,28	26,94	13,59
9	104,86	26,44	12,90
10	108,44	27,12	12,13
11	108,23	26,85	11,68
12	109,51	26,97	11,19

Tabela 14- CV experimental do sorteio 3 para 20 dentes por grupo.

Palitos	QMR	Média	CV exp
1	115,21	27,79	38,62
2	106,20	27,17	26,81
3	103,56	26,79	21,92
4	109,16	27,84	18,76
5	109,66	27,02	17,32
6	111,98	27,24	15,85
7	104,87	26,95	14,36
8	114,85	27,25	13,90
9	111,26	26,86	13,08
10	112,53	26,90	12,46
11	109,15	27,04	11,64
12	109,51	26,97	11,19

Tabela 15- CV experimental do sorteio 4 para 20 dentes por grupo.

Palitos	QMR	Média	CV exp
1	126,82	28,29	39,79
2	94,00	27,33	25,08
3	113,84	26,60	23,15
4	110,16	26,46	19,82
5	109,72	26,34	17,78
6	118,73	26,85	16,56
7	105,53	27,17	14,28
8	111,36	26,92	13,85
9	111,79	27,04	13,03
10	114,61	27,21	12,44
11	109,06	27,27	11,54
12	109,51	26,97	11,19

Tabela 16- CV experimental do sorteio 5 para 20 dentes por grupo.

Palitos	QMR	Média	CV exp
1	134,59	28,67	40,45
2	99,21	27,12	25,97
3	107,62	25,75	23,25
4	106,67	27,44	18,81
5	102,50	27,40	16,51
6	110,63	26,96	15,92
7	108,25	27,02	14,55
8	112,36	26,86	13,95
9	106,88	26,97	12,77
10	110,84	27,35	12,17
11	109,15	27,04	11,64
12	109,51	26,97	11,19

As diminuições dos Coeficientes de variação experimentam em função do tamanho da parcela, nos diferentes sorteios, foi representada graficamente na Figura 8.

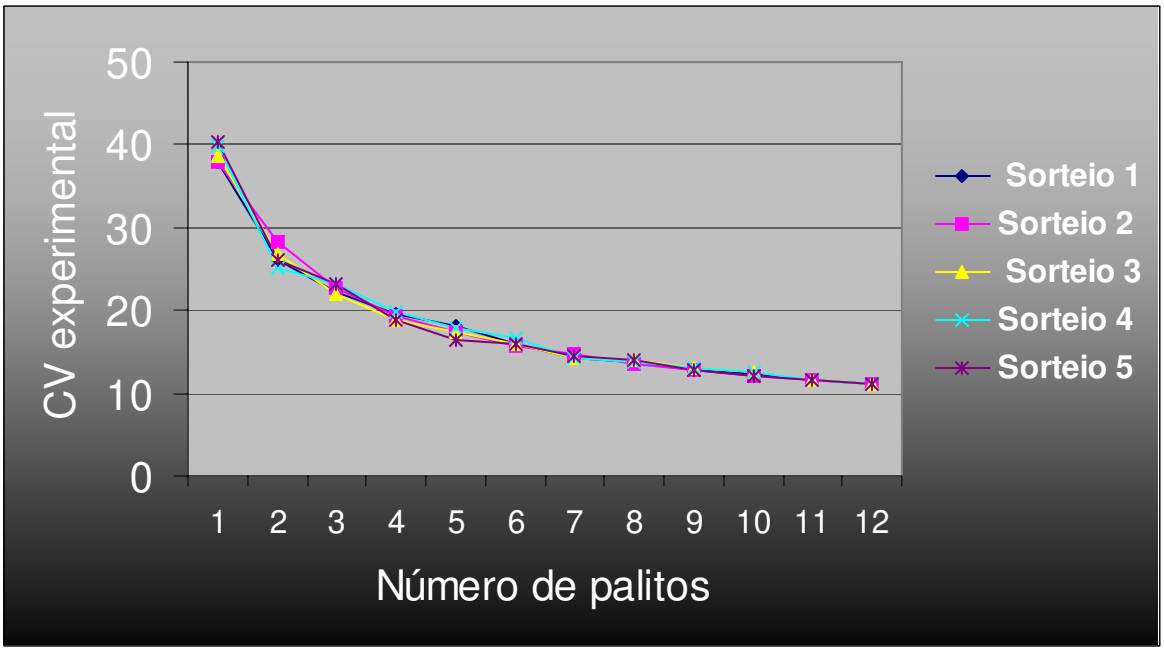

Figura 8- Curvatura dos Coeficientes de Variação Experimentais em função do número de palitos, nos diferentes sorteios, utilizando-se 20 dentes por grupo.

A equação de regressão da curvatura e o Coeficiente de determinação (R^2) foram calculados, para cada sorteio, demonstrando um R^2 elevado, variando entre 99,12 a 99,87 (Tabela 17).

O valor da abscissa onde ocorre o ponto de máxima curvatura, em cada sorteio, variou de 6,58 a 6,96 (Tabela 17). Com isso, na utilização de 20 dentes por grupo, o número mínimo de palitos por dente foi de 7.

Tabela 17- Estimativa do tamanho da parcela experimental (Xc), pelo método da máxima curvatura modificado, com 20 dentes por grupo, analisadas em diferentes sorteios.

Sorteios	Regressão	R^2	Xc
1	$37,856x^{-0,4881}$	99,73	6,96
2	$38,863x^{-0,5015}$	99,87	6,71
3	$37,929x^{-0,4897}$	99,86	6,58
4	$38,719x^{0,4961}$	99,12	6,68
5	$38,951x^{-0,5056}$	99,41	6,72

Para 10 dentes por grupo, os mesmos procedimentos acima descritos foram, novamente, realizados. Desta forma, a Análise de Variância foi realizada e os Quadrados Médios do resíduo foram calculados, conforme demonstram as Tabelas 18 a 22. Os Coeficientes de Variações experimentais foram calculados nos diferentes tamanhos de parcela, com diferentes sorteios (Tabela 18 a 22).

Tabela 18- CV experimental do sorteio 1 para 10 dentes por grupo.

Palitos	QMR	Média	CV exp
1	115,39	26,20	40,98
2	58,54	26,19	20,65
3	93,51	27,43	20,35
4	75,70	26,25	16,56
5	84,03	27,30	15,01
6	89,30	26,76	14,41
7	81,08	26,06	13,05
8	84,22	26,91	12,05
9	81,01	27,26	11,00
10	83,43	27,14	10,64
11	83,32	26,78	10,27
12	84,35	27,06	9,79

Tabela 19- CV experimental do sorteio 2 para 10 dentes por grupo.

Palitos	QMR	Média	CV exp
1	101,40	27,17	37,05
2	93,18	26,83	25,43
3	102,38	25,83	22,61
4	87,38	26,56	17,59
5	80,42	27,94	14,35
6	75,43	26,67	13,29
7	86,84	26,51	13,28
8	91,09	27,15	12,42
9	82,32	27,39	11,04
10	79,59	27,14	10,39
11	85,71	27,35	10,20
12	84,35	27,06	9,79

Tabela 20- CV experimental do sorteio 3 para 10 dentes por grupo.

Palitos	QMR	Média	CV exp
1	64,85	28,95	27,81
2	80,08	27,31	23,16
3	67,12	28,17	16,78
4	73,27	27,17	15,74
5	89,64	28,04	15,10
6	91,61	27,20	14,36
7	70,96	26,69	11,92
8	79,62	27,15	11,61
9	89,60	27,06	11,65
10	87,24	27,21	10,85
11	84,69	26,87	10,32
12	84,35	27,06	9,79

Tabela 21- CV experimental do sorteio 4 para 10 dentes por grupo.

Palitos	QMR	Média	CV exp
1	110,98	28,43	37,05
2	66,26	27,16	21,19
3	86,38	27,74	19,33
4	67,75	27,10	15,18
5	75,717	27,37	14,21
6	85,69	27,46	13,76
7	73,40	26,68	12,13
8	88,47	26,68	12,46
9	84,87	26,87	11,42
10	87,94	27,19	10,90
11	83,24	27,32	10,06
12	84,35	27,06	9,79

Tabela 22- CV experimental do sorteio 5 para 10 dentes por grupo.

Palitos	QMR	Média	CV exp
1	78,75	29,25	30,33
2	83,39	27,76	23,25
3	101,18	25,51	22,76
4	79,99	28,45	15,71
5	94,08	26,87	16,13
6	79,30	27,81	13,07
7	85,94	26,49	13,22
8	78,51	27,73	11,29
9	90,06	26,35	12,00
10	82,24	26,95	10,64
11	85,71	27,35	10,20
12	84,35	27,06	9,79

As diminuições dos Coeficientes de variação experimentam em função do tamanho da parcela, nos diferentes sorteios, foi representada graficamente na Figura 9.

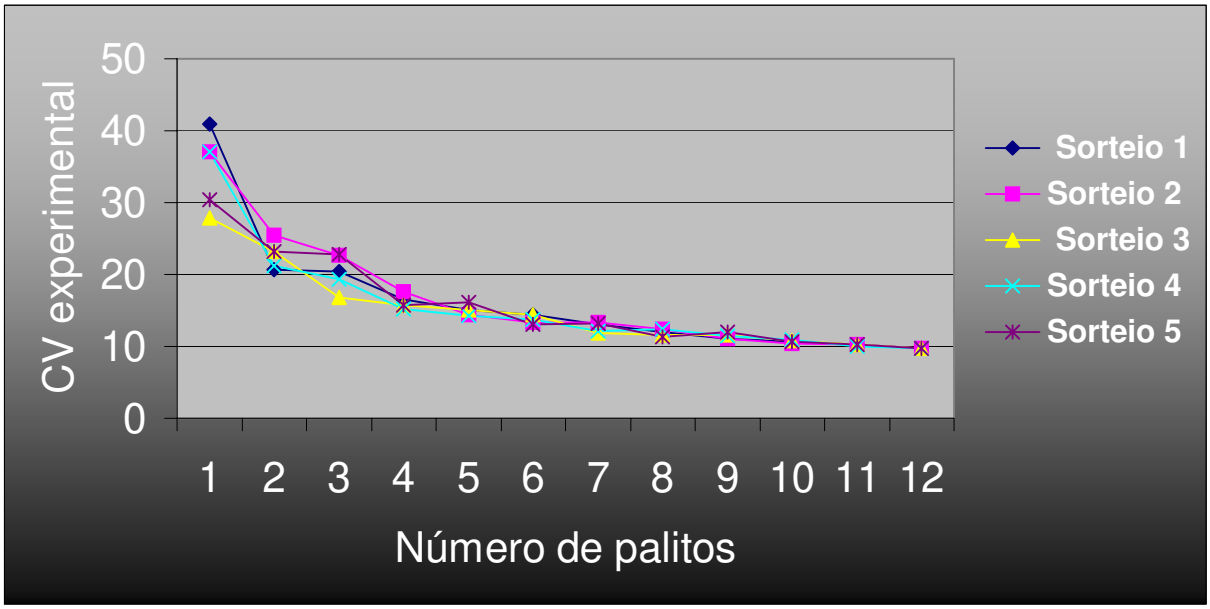

Figura 9 - Curvatura dos Coeficientes de Variação Experimentais em função do número de palitos, nos diferentes sorteios, utilizando-se 10 dentes por grupo.

A equação de regressão da curvatura e o Coeficiente de determinação (R^2) foram calculados, para cada sorteio, demonstrando um R^2 elevado, variando entre 96,38 a 98,85 (Tabela 23).

O valor da abscissa onde ocorre o ponto de máxima curvatura, em cada sorteio, variou de 5,26 a 6,62 (Tabela 23). Com isso, na utilização de 10 dentes por grupo, o número mínimo de palitos por dente foi de, aproximadamente, 7.

Tabela 23 - Estimativa do tamanho da parcela experimental (Xc), pelo método da máxima curvatura modificado, com 10 dentes por grupo, analisadas em diferentes sorteios.

Sorteios	Regressão	R^2	Xc
1	$35,887x^{-0,5299}$	96,87	6,41
2	$37,562x^{-0,549}$	98,85	6,62
3	$28,731x^{-0,4244}$	97,98	5,26
4	$33,09x^{-0,4969}$	97,47	6,02
5	$32,479x^{-0,4761}$	96,38	5,89

5.3 LOCALIZAÇÃO DENTINÁRIA

O quadro da Análise de Variância (Tabela 24), utilizando-se a análise em esquema de parcelas subdivididas, demonstrou diferença estatisticamente significativa para o tipo de adesivo utilizado (p=0,00001). O sistema adesivo Single Bond foi superior ao sistema adesivo Tyrian/ One Step Plus. Houve diferença estatística para as diferentes linhas (p=0,00001) e colunas (p=0,00561). Houve a presença de interação entre o sistema adesivo utilizado e a linha em que o palito se localizava (p=0,01098).

Tabela 24 - Quadro da Análise de Variância, em esquema de medidas repetidas.

Causas da Variação	GL	SQ	QM	Valor de F	Prob. > F
Adesivo	1	59369,7091	59369,7091	97,509	0,00001
Resíduo (A)	78	47491,2680	608,8624		
Parcelas	79	106860,9771			
Coluna	2	775,7977	387,8988	5,2743	0,00561
Linha	3	3394,2357	1131,4119	15,3838	0,00001
Ades * Col	2	250,1732	125,0866	1,700	0,18108
Ades * Lin	3	825,5441	275,1813	3,7416	0,01098
Col * Lin	6	604,9377	100,8229	1,3709	0,22250
Ades* Col*Lin	6	577,8607	96,3101	1,3095	0,24915
Resíduo (B)	858	63102,1587	73,5456		
Total	959	176391,6854			

Média Geral= 25,72
Coeficiente de Variação (A)=27,68%
Coeficiente de variação (B)=33,33%

O desdobramento da interação entre adesivo e linha foi realizado no programa SANEST e a comparação entre os grupos foi realizado através do teste de Tukey. (Tabela 25 e 26)

Tabela 25 - Valores de união em MPa nas diferentes linhas e colunas para o sistema adesivo Single Bond.

Colunas	Linhas				***Tukey***
	1	**2**	**3**	**4**	
1	28,89	32,46	33,62	32,12	**b**
2	36,13	35,43	35,44	32,86	**a**
3	33,14	36,50	35,87	30,53	**b**
Tukey	**a**	**a**	**ab**	**b**	

Letras diferentes representam diferença estatística siginficante p≤0,05 para o teste de Tukey.

Tabela 26 - Valores de união em MPa nas diferentes linhas e colunas para o sistema adesivo Tyrian/ One Step Plus.

Colunas	Linhas				***Tukey***
	1	**2**	**3**	**4**	
1	18,36	19,03	18,81	13,71	**b**
2	20,11	23,20	18,67	12,79	**a**
3	18,72	18,99	18,08	13,80	**b**
Tukey	**a**	**a**	**a**	**b**	

Letras diferentes representam diferença estatística siginficante $p \leq 0,05$ para o teste de Tukey.

Os resultados demonstraram que tanto para o sistema adesivo Single Bond quanto para o sistema adesivo Tyrian/ One Step Plus os melhores resultados encontrados foram para os palitos localizados na coluna central, sendo estatisticamente superior aos resultados das colunas laterais ($p \leq 0,05$).

Já nas diferentes linhas, o sistema adesivo Single Bond apresentou diferenças estatisticamente significantes entre as linhas 4 (mais cervical) em relação as linhas 1 e 2, os quais foram semelhantes entre si. A linha 3 apresentou um comportamento semelhante tanto aos das linhas 1 e 2 quanto a linha 4 (Tabela 25).

O sistema adesivo Tyrian/ One Step Plus demonstrou que os palitos localizados na linha 4 (cervical) apresentaram os valores menores, diferindo estatisticamente entre as demais linhas (1,2 e 3). Entretanto, não houve diferenças estatísticas entre as linhas 1, 2 e 3 (Tabela 26).

5.4 PADRÃO DE FRATURA

O teste Exato de Fisher demonstrou diferenças estatísticas significantes ($p<0,0001$) do tipo de sistema adesivo em relação ao padrão de fratura encontrado (Tabela 27). Para ambos os sistemas adesivos o padrão do tipo adesivo foi significativamente maior que os demais padrões de fratura (Figura 10). Entretanto, houve um maior número de fraturas coesiva em dentina no sistema Single Bond, 44 (9,17%) que para o sistema adesivo Tyrian + One Step Plus 9 (1,88%). Já o sistema Tyrian + One Step Plus demonstrou um maior número de fatias perdidas no corte 44 (9,17%) e no manuseio 38 (7,92%) em relação ao sistema Single Bond 3 (0,63%) e 13 (2,71%), respectivamente (Tabela 27).

Tabela 27 - Freqüência (porcentagem) dos tipos de fratura dos palitos nos sistemas adesivos Single Bond e Tyrian / One Step Plus.

Sistema adesivo	**Tipo de fratura**				
	Adesiva	*Coesiva em Dentina*	*Coesiva em resina*	*Perdidas*	*Perdidas no corte*
Single Bond	417 (86,88%)	44 (9,17%)	3 (0,63%)	13 (2,71%)	3 (0,63%)
Tyrian/ One Step Plus	389 (81,04%)	9 (1,88%)	0 (0%)	38 (7,92%)	44 (9,17%)

$P<0,0001$ no teste de Exato de Fisher.

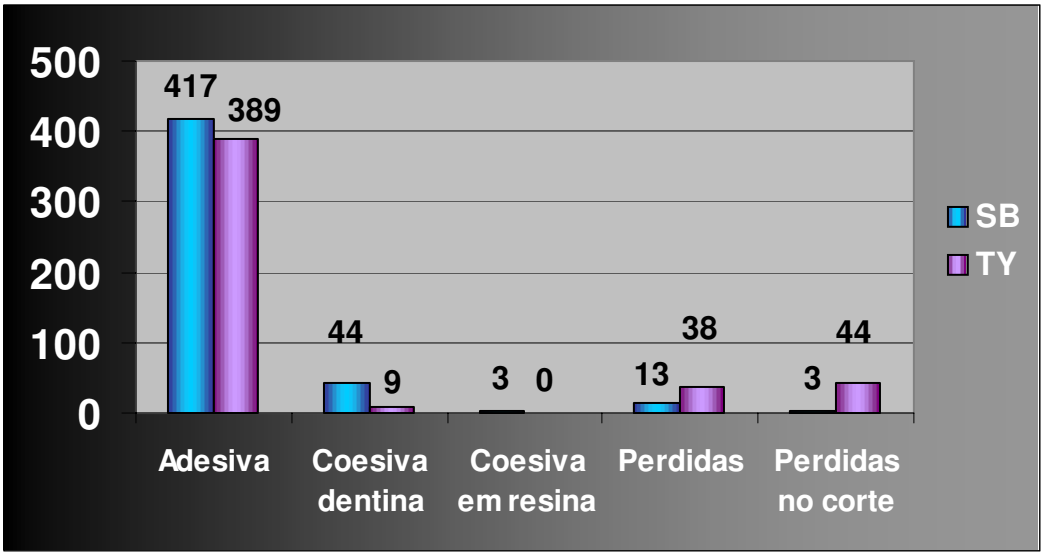

Figura 10 - Valor do Padrão de fratura dos sistemas adesivos (Single Bond e Tyrian + One Step Plus).

6. DISCUSSÃO

A não rejeição da hipótese de nulidade entre grupos, baseado no valor de p, não significa que estes, necessariamente sejam idênticos ou semelhantes. Principalmente, em casos em que se verifica um poder de teste baixo (Freiman *et al.,* 1978). Um dos fatores que interfere, diretamente, no poder do teste é o tamanho da amostra (Tu *et al.,* 2005).

A utilização de um número reduzido de dentes e um grande número de palitos por dente, considerando este último como a unidade experimental, com a justificativa que a variabilidade inter-dentes e intra-dentes são semelhantes (Pashley *et al*, 1999), não é adequada. A variabilidade intra-dentes se mostra superior quando comparada com a variabilidade inter-dentes (Loguercio *et al.,* 2005ª; Arias *et al.,* 2006).

Além disso, a Análise de Variância (ANOVA) apresenta suposições que devem ser seguidas para uma correta análise dos dados. Estas suposições são baseadas na distribuição normal, homogeneidade de variâncias, efeitos aditivos dos tratamentos e independência de erros (Pimentel Gomes, 1990; Chen *et al.,* 2002). Desta forma, quando os palitos do mesmo dente são considerados independentes, ou seja, não dependente do dente, dos quais foram retirados, a suposição de independência de erros da ANOVA não é respeitada (Loguercio *et al.,* 2005a). Com isso, a utilização do dente como a unidade experimental no teste de microtração se mostra mais apropriado para a obtenção de resultados confiáveis.

Em experimentos aleatorizados, o efeito do tratamento do grupo experimental observado ($\overline{E}_t$) é a estimativa do efeito real do tratamento (E_t). Já os valores do grupo controle representam o efeito

observado no grupo controle ($\overline{E}_c$), o qual, também, é uma estimativa do efeito real do tratamento do grupo controle (E_c).

A diferença observada entre $\overline{E}_c$ - $\overline{E}_t$ é a estimativa da efetividade do tratamento. Entretanto, mesmo que E_t e E_c sejam iguais, as diferenças observadas, normalmente, serão diferentes de zero ($\overline{E}_c$ - $\overline{E}_t$) devido ao acaso. Esses valores das diferenças observadas entre o grupo tratado e o controle ocorrerão em diferentes probabilidades. Assim, quando a diferença observada entre os tratamentos apresenta uma baixa probabilidade de ocorrer devido ao acaso, a afirmação que $E_c = E_t$, ou seja, a hipótese de nulidade (H_0), é rejeitada. Esta probabilidade é definida como nível de significância (α). O teste de hipóteses estima a probabilidade de rejeitar-se H_0 (valor de p) e errar. Desta forma, quando $p \leq \alpha$, a hipótese de nulidade é rejeitada.

Assim, quando rejeita-se H_0, existe um risco de estar errando (erro falso-positivo), o qual é denominado de erro tipo I. A probabilidade α de se cometer o erro tipo I é uma constante definida no planejamento do experimento (α = 0,05 ou 0,01). Porém, quando $p > \alpha$ a hipótese de nulidade não é rejeitada. Todavia, também pode-se ter um erro embutido (erro falso-negativo), denominado como erro do Tipo II. A probabilidade deste tipo de erro acontecer é conhecida como β e a probabilidade de evitar o erro tipo II é expressa como 1-β ou poder do teste (Moye, 2000; Feinstenstein, 1997).

O número de dentes, a variabilidade entre os grupos, a variabilidade intra-grupos e o número de grupos são fatores importantes na determinação do poder do teste utilizado. A presença de uma grande variação dentro dos grupos representa uma dispersão maior dos dados que influencia o erro experimental, tornando mais difícil a detecção de diferenças significativas entre os grupos (Meira *et al.*,

2004). Desta forma, o Coeficiente de Variação (CV) é um parâmetro dependente do desvio-padrão e da média experimental. A variação experimental do teste de microtração tem se mostrado entre 30 a 40%. Porém Pashley *et al.*, em 1999, demonstraram valores inferiores, variando entre 10 a 20%.

No presente estudo observou-se um CV de 27% (erro experimental) e uma variação entre as médias dos grupos de 43% (efeito do tratamento). O CV pode ser associado com a sensibilidade do método de μTBS, sendo os valores de união afetados por fatores intrínsecos da metodologia de μTBS (YOSHIKAWA *et al.*, 1999; Reis *et al.,* 2004; El Zohairy *et al.,* 2005; Yamaguchi *et al.,* 2005; Sadek *et al.,* 2005; Loguercio *et al.,* 2005b) e propriedades do substrato dental (Ogata *et al.,* 2001; Pereira *et al.,* 1999).

Apesar do valor de CV (27%), os resultados demonstraram diferenças estatisticamente significante entre os grupos, quando utilizou-se 40 dentes por grupo ($p<0,0001$). Este resultado pode ser explicado devido à grande diferença entre os tratamentos (43%) e ao grande número de dentes utilizados por grupo, obtendo-se um poder maior que 99%. Por outro lado, mesmo com a utilização de 6 dentes por grupo, o poder do teste ainda seria de 88% (tabela 1).

Experimentos que apresentam um poder de teste de 80% são considerados satisfatórios para a análise dos dados (Aguinis *et al.,* 2005; Saam *et al.,* 2005). Sendo assim, no presente estudo, a hipótese de nulidade foi rejeitada com um $p<0,0001$. Porém, é importante ressaltar que se 2 dentes fossem utilizados, neste experimento, a probabilidade de, erroneamente, não detectar diferença entre os grupos seria de 78% (tabela 1). Desta forma, pesquisas que utilizam um número reduzido de dentes para o ensaio de microtração, podem

apresentar alta probabilidade de estar cometendo o erro do tipo II (aceitando H_0 quando esta é falsa). Com isso, é necessário que pesquisador esteja atento na capacidade do teste de detectar um efeito de tratamento importante, levando em consideração quais os significados e tipos de conclusões podem ser deduzidas dentro das limitações do experimento, como por exemplo, o método estatístico utilizado (Freiman *et al.,* 1978).

Portanto, um planejamento adequado deve ser realizado, determinando a hipótese de nulidade e a diferença entre os grupos de interesse para o pesquisador. Ou seja, a diferença (em porcentagem) entre o grupo controle e o tratado que o pesquisador considera relevante. Com isso, o cálculo do poder do teste deve ser realizado, durante este planejamento, através de estudos pilotos, para determinar e probabilidade de encontrar essa diferença, se existir, o número de amostras (dentes) que deverão ser utilizados para a determinação do erro que possa estar sendo cometido (Erro β).

No presente estudo, ao utilizar-se 5% de diferença entre as médias, mesmo com a utilização de 40 dentes por grupo, a probabilidade de detectar diferenças significantes entre os grupos, rejeitando H_0, foi de 57% com um coeficiente de variação experimental de 10% (Tabela 3). Ao fixar em 20 e 30% de CV (tabela 4 e 5), dependendo da diferença entre grupos adotada, o número ótimo de dentes é maior, apresentado uma variação para a obtenção de um poder adequado e, conseqüentemente um baixo erro β.

Neste estudo, o qual apresentou um CV de 27% e uma diferença entre tratamentos de 43% com a utilização de 6 dentes por grupo obteve-se um poder do teste de 88%. Entretanto, este número pode variar dependendo das condições experimentais de cada estudo.

Portanto, um experimento piloto e um adequado planejamento são estágios importantes para definir o número de dentes ideais para a detecção dos efeitos dos tratamentos, através do cálculo do poder do teste (Caplan *et al.,* 1999; Hoening *et al.,* 2001).

Outra consideração importante é o número de palitos por dente (tamanho da parcela) a ser adotada no ensaio de microtração. Segundo Pashley *et al* (1999), uma das vantagens deste ensaio é a obtenção de múltiplos palitos do mesmo dente. Entretanto, a heterogeneidade entre os dentes pode ser controlada durante o delineamento do estudo, com o estabelecimento do número de dentes por grupo, como demonstrado acima, e também com a determinação do tamanho da parcela, os quais são fontes que afetam o erro experimental (Neto *et al.*, 2004).

Com isso, o método de máxima curvatura modificada representa graficamente o coeficiente de variação em função do tamanho da parcela, relacionando-os através de uma equação de regressão. Este é um método preciso para a determinação da relação entre o coeficiente de variação e o número de palitos por dente, através da identificação do ponto de máxima curvatura pela equação de regressão, a qual, permite a detecção de valores intermediários entre os números de palitos originais, propostos no experimento (Viana *et.al.,* 2002).

O CV experimental variou entre 11,13 a 39,53%; 11,19 a 37,93% e 9,79 a 37,05%, quando utilizou-se 40 dentes por grupo (tabelas 6 a 10), 20 dentes por grupo (tabelas 12 a 16) e 10 (tabelas 18 a 22) dentes por grupo, respectivamente. A diminuição do número de palitos por dente resultou no aumento do CV_{exp} , indicando a relação inversa entre estes parâmetros (Ortiz, 1995; Vianna *et al.,* 2002).

O teste de microtração apresenta grande sensibilidade a pequenas variações. A localização dos palitos afeta os valores de adesão (Loguercio *et al.*, 2005b), devido a heterogeneidade da dentina (Mannocci *et al.*, 2004). Desta forma, a utilização de um número reduzido de palitos, nos diferentes sorteios, demonstrara um alto CV (Figuras 7, 8 e 9). Assim, o aumento do número de palitos resultou na diminuição do erro experimental.

Baseado nas diferentes curvas, as equações de regressão foram determinadas, apresentando um coeficiente de determinação (R^2) variando entre 0,96 a 0,99, nos diferentes sorteios e tamanhos de parcelas (tabelas 11, 17 e 23). Os valores de R^2 demonstraram um adequado ajuste da equação e, conseqüentemente, um alto grau de confiabilidade do tamanho de parcela estimado, sendo em média de 6,5 palitos por dente (Figuras 7, 8 e 9). A representação gráfica demonstra um valor de máxima curvatura entre 6 e 7, sendo que o valor da abscissa de máxima curvatura (X_c) deve ser considerada como o número mínimo de palitos por dente.

Baseado nos cálculos, o presente estudo demonstrou que a utilização de 40, 20 ou 10 dentes por grupo não alterou o número mínimo de palitos por dente. Isso se deve porque o uso de 10, 20 ou 40 dentes por grupo apresentou um poder de 98%, >99% e >99%, respectivamente. O alto poder apresentado com os diferentes números de unidades experimentais (dentes) contribuiu com a precisão experimental, resultando em nenhuma alteração no tamanho da parcela (número de palitos). Desta forma, o cálculo do número de dentes, no ensaio de microtração, e a utilização de pelo menos 7 palitos por dente é essencial para a precisão experimental.

Outro fator importante a ser observado é a influência da localização dos palitos nos valores de união. No presente estudo, a região em que os palitos foram dispostos na dentina influenciou nos valores de união para o teste de microtração. Os palitos da coluna central apresentaram melhores resultados que os palitos das laterais ou periferia. Os resultados estão de acordo com os encontrados por Loguercio *et al.,* em 2005b, que verificaram uma diferença significativa nos valores dos palitos localizados na periferia com os localizados na região central. Segundo os autores uma adesão durável é mais difícil quando as margens da restauração estão localizadas totalmente em dentina. Embora, Bouillaguet *et al.*, em 2001, não relataram dependência entre a região e os valores de união em superfícies oclusais planas, no presente estudo os resultados foram inversos. Uma hipótese é que a planificação da superfície dentinária para a obtenção de toda a área de união a ser utilizada, promove a exposição de diferentes profundidades dentinária.

O teste apresenta uma grande sensibilidade de técnica, sendo que pequenas variações no substrato podem alterar os valores de união. Pode-se verificar que os sistemas adesivos utilizados apresentam uma interação importante com o substrato. Para o sistema Single Bond os melhores resultados foram para os palitos localizados no terço incisal quando comparado com os palitos da região cervical.

Devido à diferença de direcionamento tubular na superfície dentinária, ocorre uma variação da densidade tubular, da permeabilidade e da umidade regional. A umidade é um fator importante em prevenir o colapso do colágeno da dentina desmineralizada, após o condicionamento ácido (Pashley *et al.*, 1992). Entretanto, o excesso de água contribui negativamente para as propriedades adesivas do material (Pereira *et al.*, 1999). O

condicionamento ácido remove a "Smear Layer" e os "Smear plugs" permitindo a perfusão intrínseca da umidade proveniente da câmara pulpar e produzindo uma condição de maior umidade em regiões próximas da polpa. Nos sistemas que apresentam o solvente a base de água pode ocorrer uma menor remoção do excesso de água, diluindo o primer, resultando na diminuição do grau de conversão do monômero e, conseqüentemente, diminuindo nos valores de união (Pereira *et al.*, 1999; Perdigão *et al.*, 2001; Hashimoto *et al.*, 2002). O Single Bond apresenta água na sua composição, a região cervical a densidade tubular é maior, podendo ocorrer um aumento da umidade nesta região e, conseqüentemente, valores de união menores.

Já para os adesivos auto-condicionantes, como o Tyrian/One Step Plus, a presença de primers ácidos que agem na dentina modificando a "Smear Layer" e os "Smear plugs", diminui a permeabilidade dentinária, e assim, diminuindo a sensibilidade da umidade proveniente da câmara pulpar (Pereira *et al.*, 1999). Desta forma, a região apresenta um fator menos sensível para estes tipos de sistemas. Assim, pode verificar-se que apenas os palitos mais cervicais (linha 4) apresentaram os menores valores quando comparados com as demais linhas. Entretanto, o sistema adesivo Tyrian apresentou valores menores que o sistema Single Bond.

O teste de microtração apresenta-se como um dos testes mais utilizados para medir a resistência à união dos mais variados materiais e situações. Porém, por ser um teste sensível a pequenas variações é necessário um criterioso estudo das suas variáveis e limitações. Assim, estudos pilotos, planejamentos adequados e uma padronização dos fatores que influenciam o erro experimental são necessários para que este seja utilizado em condições apropriadas e assim o pesquisador tenha a possibilidade de obter conclusões adequadas.

7 CONCLUSÃO

Com base nos dados do experimento as conclusões foram:

- O número de dentes por grupo depende da diferença entre os grupos e do coeficiente de variação. No presente estudo a utilização de 6 dentes apresentou uma probabilidade do erro tipo II inferior a 20%.

- O número mínimo de palitos por dente foi de 7 palitos, independente do número de dentes utilizados por grupo.

- Os melhores valores de adesão foram nos palitos centrais e incisais, dependendo do sistema adesivo utilizado.

REFERÊNCIAS:

Aguinis H, Beaty JC, Boik RJ, Pierce CA. Effect size and power in assessing moderating effects of categorical variables using multiple regression: a 30-year review J Appl Psychol. 2005; 90: 94-107.

Arias VG, Soeiro CRM, Ambrosano GMB, Pimenta LAF. How to define experimental unit for microtensile test. Academy of Dental Materials, 2006; 20: 117, abstract 81.

Bedran-de-Castro AKB, Pereira PNR, Pimenta LAF. Long-term bond strength of restorations subjected to thermo-mechanical stresses over time. Am.J.Dent. 2004; 17: 337-341.

Bouillaguet S, Ciucchi B, Jacoby T, Wataha JC, Pashley DH. Bonding characteristics to dentin walls of class II cavities, *in vitro*. Dent.Mater. 2001; 17: 316-321.

Buonocore, MG, Wileman W, Brudevold F. A report on a resin composition capable of bonding to human dentin surfaces. J Dent Res. 1956; 35: 846-851.

Caplan DJ, Slade GD, Gansky SA. Complex sampling: implications for data analysis. J Public Health Dent. 1999; 59: 52-59.

Cardoso PE, Braga RR, Carrilho MR. Evaluation of micro-tensile, shear and tensile tests determining the bond strength of three adhesive systems. Dent Mater. 1998; 14: 394-8.

Chen X, Zhao PL, Zhang J. A note on ANOVA assumptions and robust analysis for a cross-over study. Stat Med. 2002; 21: 1377-1386.

Cho BH, Dickens SH. Effects of the acetone content of single solution dentin bonding agents on the adhesive layer thickness and the microtensile bond strength. Dent Mater. 2004; 20: 107-115.

El Zohairy AA, de Gee AJ, de Jager N, Van Ruijven LJ, Feilzer AJ. The influence of specimen attachment and dimension on microtensile strength. J Dent Res. 2004; 83: 420-424.

Feinstenstein AR. Clinical Biostatistics. St Louis, 1997 CV Mosby.

Freiman JA, Chalmers TC, Smith Jr H, Kuebler RR. The importance of Beta, the type II error and sample size in the design and interpretation of the randomized control trial. New Engl J Med. 1978; 299: special article

Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Sano H, Endo K, Oguchi H. The extent to which resin can infiltrate dentin by acetone-based adhesives. J Dent Res. 2002; 81: 74-78.

Hoening JM, Heisey D. The abuse of power: the pervasive fallacy of power calculations for data analysis. Am Stat. 2001; 55: 19-24.

Loguercio AD, Barroso LP, Grande RHM, Reis A. Comparison of intra- and intertooth resin dentin bond strength variability. J Adhes Dent. 2005a; 7: 151-158.

Loguercio AD, Uceda-Gomez N, Carrilho MR, Reis A. Influence of size and regional variation on long-term resin-dentin bond strength. Dent Mater. 2005b; 21: 224-231.

Mannocci F, Pilecki P, Bertelli E, Watson TF. Density of dentinal tubules affects the tensile strength of root dentin. *Dent Mater.* 2004; 20: 293-6.

Meier VD, Lessman KJ. Estimation of optimum field plot shape and size for testing yield in *Crambe abyssinica Hochst*. Crop Science. 1971; 11: 648-650.

Meira JBC, Souza RM, Driemeier L, Ballester R. Stress concentration in microtensile tests using uniform material. J Adhes Dent. 2004; 6: 267-273.

Moye LA. Statistical reasoning in medicine: the intuitive p-value primer. New York: Springer-Verlag. 2000.

Munk JD, Landuyt KV, Coutinho E, Poitevin A, Peumans M, Lambrechts P, *et al*. Micro-tensile bond strength of adhesive*s* bonded to class-I cavity-bottom dentin after thermo-cycling. Dent Mater. 2005; 21: 999-1007.

Nakabayashi N. Resin reinforced dentin due to infiltration of monomers into the dentin at the adhesive interface. J Jpn Soc Dent Mater Dev. 1982; 1: 78-81.

Nakabayashi N, Ashizawa M, Nakamura M. Identification of a resin-dentin hybrid layer in vital human dentin created in vivo: durable bonding to vital dentin. Quint Int. 1992; 23 (2): 135-141.

Neto DH, Sediyama T, Souza MA, Cecon PR, Yamanaka CH, Sediyama MAN, *et al.* Tamanho de parcelas em experimentos com trigo irrigado sob plantio direto e convencional. Pesq Agropec Bras. 2004; 39: 517-524.

Nikaido T, Kunzelman K-H, Chen H, Ogata M, Harada N, Yamaguchi S, *et al*. Evaluation of thermal cycling and mechanical loading on bond strength of a self-etching primer system to dentin. Dent Mater. 2002; 18: 269-275.

Ogata M, Okuda M, Nakajima M, Pereira PNR, Sano H, Tagami J. Influence of the direction of tubules on bond strength to dentin. Oper Dent. 2001; 26: 27-35.

Ortiz R. Plot techniques for assessment of brunch weight in banana trials under two systems of crop management. Agr J. 1995; 87:63-69.

Pashley DH. The effects of acid etching on the pulpodentin complex. Oper Dent. 1992; 17: 229-242.

Pashley DH, Sano H, Ciuchi B,Yoshiyama M, Carvalho RM. Adhesion testing of dentin bonding agents: A review. Dent Mater., 1995; 11: 117-125.

Pashley DH, Carvalho RH, Sano H, Nakajima M, Yoshiyama M, Shono Y, *et al*. The microtensile bond test: a review. J Adhes Dent. 1999; 1: 299-309.

Perdigão J, Frankenberger R. Effect of solvent and rewetting time on dentin adhesion. Quint Int. 2001; 32: 385-390.

Pereira PN, Okuda M, Sano H, Yoshikawa T, Burrow MF, Tagami J. Effect of intrinsic wetness and regional difference on dentin bond strength. Dent Mater. 1999; 15: 46-53

Pimentel Gomes F. Curso de Estatística experimental. 13ª ed., Piracicaba, 1990.

Reis A, Carrilho MRO, Schroeder M, Tancredo LLF, Loguercio AD. The influence of storage time and cutting speed on microtensile bond strength. J Adhes Dent. 2004; 6: 7-11.

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: 117-121.

Saam T, Kerwin WS, Chu B, Cai J, Kampschulte A, Hatsukami TS,*et al*. Sample size calculation for clinical trials using magnetic resonance imaging for the quantitative assessment of carotid atherosclerosis. J Cardiovasc Magn Reson. 2005; 7: 799-808.

Sadek FT, Cury AH, Monticelli F, Ferrari M, Cardoso PEC. The influence of the cutting speed on bond strength and integrity of microtensile specimens. Dent Mater. 2005; 21: 1-6.

Sano H, Ciucchi B, Matthews WG, Pashley DH. Tensile properties of mineralized and demineralized human and bovine dentin. J Dent Res. 1994a; 73: 1205-1211.

Sano H, Shono T, Sonoda H, Takatsu T, Ciucchi B, Carvalho R, *et al.* Relationship between surface area for adhesion and tensile bond strength--evaluation of a micro-tensile bond test. Dent Mater. 1994b; 10: 236-40.

Sano H, Yoshiyama M, Ebisu S, Burrow MF, Takatsu T, Ciucchi B, *et al.* Comparative SEM and TEM observations of nanoleakage within hybrid layer. Oper Dent. 1995; 20: 160-167.

Tanumiharja M, Burrow MF, Tyas MJ. Microtensile bond strengths of seven dentin adhesives systems. Dent Mater. 2000; 16: 180-187.

Tu Y-K, Blance A, Clerehugh V, Gilthorpe MS. Statistical power for analyses of changes in randomized controlled trials. J Dent Res. 2005; 84: 283-287.

Viana AES, José ARS, Matsumoto SN, Sales-Junior SG. Estimation of optimum plot sizes in field experiments with annatto. Bragantia, 2002; 61: 181-185.

Yamaguchi K, Miyazaki M, Takamizawa T, Tsubota K, Rikuta A. Influence of crosshead speed on micro-tensile bond strength of two-step adhesive systems. Dent Mater. 2005; 20: 1-6.

YOSHIKAWA T, SANO H, BURROW MF, TAGAMI J, PASHLEY DH. Effects of dentin depth and cavity configuration on bond strength. J Dent Res. 1999; 78: 898-905.

Anexo 1 – 40 dentes

Sorteio 1 – 40 dentes por grupo.

Número de palitos	Palitos excluídos
12	0
11	11
10	4, 5
09	2, 9 e11
08	4, 6, 10 e 11
07	1, 2, 5, 6 e 7
06	4, 5, 6, 7, 9 e 12
05	5, 6, 7, 8, 9, 10 e 12
04	2, 3, 4, 6, 7, 8, 9 e11
03	1, 2, 3, 5, 6, 8, 9, 10 e 11
02	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 10, 11 e 12
01	1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 e 12

Sorteio 2 – 40 dentes por grupo.

Número de palitos	Palitos excluídos
12	0
11	11
10	1 e 3
09	3, 4 e 6
08	2, 3, 6 e 8
07	1, 7, 8, 10 e 11
06	1, 2, 4, 8, 9 e 12
05	1, 2, 3, 7, 8, 9, e 12
04	1, 2, 4, 5, 7, 8, 9 e12
03	2, 3, 4, 5, 8, 9, 10, 11 e 12
02	3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 e 12
01	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 e12

Sorteio 3 – 40 dentes por grupo.

Número de palitos	Palitos excluídos
12	0
11	8
10	2 e5
09	7, 8, e 12
08	5, 6, 7, e 11
07	4, 6, 7, 8 e 10
06	1, 2, 5, 6, 9 e 10
05	3, 4, 7, 8, 10, 11 e 12
04	1, 2, 4, 5, 6, 7, 8 e 10
03	1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9 e 10
02	1, 2, 3, 5, 6, 7, 9, 10, 11 e 12
01	1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11 e 12

Sorteio 4 – 40 dentes por grupo.

Número de palitos	Palitos excluídos
12	0
11	8
10	5 e 3
09	7, 2, e 1
08	1, 3, 5 e 10
07	2, 3, 6, 11 e 12
06	1, 5, 6, 7, 8 e10
05	2, 5, 8, 9, 10, 11 e12
04	1, 3, 4, 5, 6, 7, 11 e 12
03	1, 2, 4, 5, 6, 8, 10, 11 e 12
02	2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 e 12
01	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11 e12

Sorteio 5 – 40 dentes por grupo.

Número de palitos	Palitos excluídos
12	0
11	5
10	9 e 7
09	2, 8 e 11
08	3, 5, 6 e 10
07	1, 3, 4, 8 e 12
06	1, 2, 6, 7, 10 e 11
05	1, 2, 3, 5, 6, 8 e 12
04	1, 2, 3, 4, 7, 9, 10 e 12
03	2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 e 11
02	1, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11 e 12
01	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11 e 12

Anexo 2- 20 dentes

Dentes excluídos:
5, 8, 14, 7, 11, 12, 3, 9, 1, 17, 18, 20, 22, 26, 28, 29, 35, 34, 36, 39, 42, 43, 47, 49, 53, 58, 59, 60, 62, 64, 67, 68, 69, 71, 72, 75, 77, 78, 51 e 80.

Sorteio 1 – 20 dentes por grupo.

Número de palitos	Palito excluído
12	0
11	11
10	4 e 5
09	2, 9 e 11
08	4, 6, 10 e 11
07	1, 2, 5, 6 e 7
06	4, 5, 6, 7, 9 e12
05	5, 6, 7, 8, 9, 10 e 12
04	2, 3, 4, 6, 7, 8, 9 e 11
03	1, 2, 3, 5, 6, 8, 9, 10 e 11
02	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 10, 11 e 12
01	1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 e 12

Sorteio 2– 20 dentes por grupo.

Número de palitos	Palito excluído
12	0
11	11
10	1 e 3
09	3, 4, e 6
08	2, 3, 7 e 9
07	4, 6, 7, 8 e 11
06	4, 6, 7, 9, 11 e 12
05	1, 4, 5, 6, 8, 11 e 12
04	1, 2, 3, 4, 5, 6, 8 e 12
03	1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10 e 12
02	1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10 e 12
01	1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 e 12

Sorteio 3– 20 dentes por grupo.

Número de palitos	Palito excluído
12	0
11	9
10	3 e 8
09	7, 10 e 12
08	2, 3, 8 e 12
07	1, 2, 3, 6 e 10
06	2, 3, 5, 7, 9 e 12
05	2, 3, 5, 7, 9, 11 e 12
04	1, 2, 3, 4, 5, 7, 9 e 12
03	1, 2, 3, 6, 7, 8, 9, 10 e 11
02	1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 e 11
01	1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11 e 12

Sorteio 4– 20 dentes por grupo.

Número de palitos	Palito excluído
12	0
11	1
10	8 e 12
09	2, 5 e 10
08	2, 3, 4 e 8
07	1, 4, 5, 6 e 9
06	4, 5, 7, 8, 10 e 12
05	3, 4, 5, 9, 10, 11 e 12
04	2, 4, 5, 6, 8, 9, 10 e 11
03	1, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10 e 11
02	1, 2, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11 e 12
01	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 e 12

Sorteio 5– 20 dentes por grupo.

Número de palitos	Palito excluído
12	0
11	9
10	1 e 5
09	1, 6 e 10
08	3, 5, 9 e 12
07	1, 4, 6, 7 e 8
06	1, 3, 5, 6, 8 e 11
05	1, 2, 4, 5, 6, 7 e 9
04	1, 2, 4, 6, 7, 8, 11 e 12
03	1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10 e 11
02	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10 e 12
01	1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11 e 12

Anexo 3 – 10 dentes

Dentes excluídos:
5, 8, 14, 35, 28, 39, 11, 7, 18, 26, 20, 36, 12, 3, 22, 17, 9, 34, 1, 29, 21, 15, 13, 2, 33, 37, 10, 32, 6, 19, 42, 43, 44, 46, 47, 49, 50, 51, 53, 54, 56, 58, 60, 61, 62, 63, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 77, 78, 79 e 80.

Sorteio 1 – 10 dentes por grupo.

Número de palitos	Palito excluído
12	0
11	9
10	6 e 12
09	1, 3, e 8
08	1, 4, 7 e 9
07	2, 3, 6, 9 e 10
06	2, 3, 4, 5, 7 e 10
05	1, 2, 5, 6, 7, 8 e 11
04	2, 3, 5, 6, 7, 8, 9 e 11
03	3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11 e 12
02	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 11 e 12
01	1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 e 12

Sorteio 2 – 10 dentes por grupo.

Número de palitos	Palito excluído
12	0
11	8
10	1 e 2
09	1, 7 e 12
08	6, 8, 10 e 11
07	2, 4, 6, 9 e 10
06	2, 3, 5, 7, 9 e 12
05	1, 2, 3, 7, 8, 10 e 12
04	1, 3, 4, 6, 8, 9, 10 e 11
03	3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 e 11
02	1, 2, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 e 12
01	2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 e 12

Sorteio 3 – 10 dentes por grupo.

Número de palitos	Palito excluído
12	0
11	6
10	10 e 12
09	4, 5 e 7
08	2, 3, 6 e 8
07	1, 2, 3, 9 e 11
06	1, 2, 5, 7, 8 e 10
05	2, 4, 5, 6, 7, 8 e 12
04	2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 e 12
03	1, 2, 3, 4, 5, 8, 9, 11 e 12
02	1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11 e 12
01	1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11 e 12

Sorteio 4 – 10 dentes por grupo.

Número de palitos	Palito excluído
12	0
11	12
10	5 e 8
09	3, 10 e11
08	3, 4, 6 e 10
07	2, 3, 6, 9 e 12
06	2, 3, 5, 8, 10 e 12
05	1, 2, 3, 4, 7, 8 e 9
04	1, 2, 3, 4, 5, 9, 11 e 12
03	2, 3, 4, 5, 8, 9, 10, 11 e 12
02	1, 2, 3, 6, 7, 8, 9, 10, 11 e 12
01	1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 e 12

Sorteio 5 – 10 dentes por grupo.

Número de palitos	Palito excluído
12	0
11	8
10	3 e 7
09	5, 9 e 10
08	1, 2, 4, e 12
07	1, 5, 6, 9 e 8
06	1, 2, 4, 5, 11 e 12
05	4, 5, 6, 7, 8, 9 e 11
04	1, 2, 4, 5, 6, 8, 11 e 12
03	1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, e 10
02	1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 10, 11 e 12
01	1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11 e 12