ELLEN CRISTINA DE CARVALHO MENDONÇA

Influência da contaminação do campo operatório na resistência de união à dentina

São Paulo

2010

ELLEN CRISTINA DE CARVALHO MENDONÇA

Influência da contaminação do campo operatório na resistência de união à dentina

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, para obter o título de Mestre, pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia.

Área de Concentração: Dentística

Orientador: Profa. Dra. Adriana Bona Matos

São Paulo

2010

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo-na-Publicação
Serviço de Documentação Odontológica
Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Mendonça, Ellen Cristina de Carvalho

Influência da contaminação do campo operatório na resistência de união à dentina / Ellen Cristina de Carvalho Mendonça; orientador Adriana Bona Matos. -- São Paulo, 2010.

56p. : fig.; 30 cm.

Dissertação (Mestrado)-- Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Área de Concentração: Dentística.-- Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

1. Restauração com material estético – Contaminação – Análise.
2. Resina Composta – Sistema adesivo auto-condicionante – Contaminantes.
3. Microscopia eletrônica de varredura – Resistência de União - Dentística. I. Matos, Adriana Bona. II. Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Mendonça ECC. Influência da contaminação do campo operatório na resistência de união à dentina. Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Aprovado em: / /2010

Banca Examinadora

Prof(a). Dr(a). _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a). _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a). _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Este trabalho é dedicado integralmente aos meus pais Dr. Paulino José de Mendonça (in memoriam) e Joana D'arc de Carvalho Mendonça.

É pela força e determinação mostradas não com vãs palavras, mas com exemplos de toda uma vida que eu cheguei até aqui e chegarei a qualquer outro bom lugar em minha vida.

Nada seria possível sem vocês e nada teria sentido sem vocês!

A vocês dois, seres humanos fascinantes, pais amorosos, profissionais dedicados, amigos fiéis, eu rendo todo o meu amor! Pois esse foi o maior ensinamento que eu aprendi com vocês: AMOR, FÉ e CARIDADE.

Tudo que há de bom em mim será sempre dedicado a vocês!

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Agradeço ao meu pai, meu amigo, meu colega, meu exemplo, meu provedor, meu amor.

Agradeço a você **Dr. Paulino José de Mendonça** por ser um pai tão maravilhoso, um amigo tão presente. Você sempre foi meu grande incentivador. Sempre viu em mim muito mais do que eu acho que jamais verei. Pra você eu sempre fui a maior, a melhor! E foi pela sua crença que eu fui acreditando também em mim e ousei dar vãos mais altos.

Durante a redação deste trabalho, constantes foram os impulsos de te mostrar cada capítulo finalizado. Mas sei que com certeza você está lendo tudo isso de algum lugar. Lendo com os olhos desse coração imenso que lutou até o fim.

Meu amor, eu sei que seu maior medo era nos deixar, mas também sei que você nunca vai deixar que cuidar das três meninas dos seus olhos – de onde quer que você esteja.

A dor de não poder mais te abraçar dilacera meu coração, e há dias que eu não consigo conter as lágrimas. Mas maior ainda é o meu compromisso de ser feliz, lembrando do sorriso no seu rosto e do seu desejo de me ver crescer com sucesso!

Muito, muito, muito obrigada. Eu te amo profundamente e sinto sua falta todos os dias. Mas sei que um dia vamos nos reencontrar e eu vou poder abraça-lo de novo.

AGRADECIMENTOS

A Deus, digno de toda honra, glória e louvor, por segurar em minha mão e muitas vezes me carregar no colo.

A Prof^ª. Dr^ª. Adriana Bona Matos, minha orientadora, mas muito mais que isso, amiga, e até mesmo uma segunda mãe! Não caberiam nessas páginas todo o carinho e admiração que eu tenho por essa mulher de atos firmes e coração absolutamente generoso. Você tem lugar especial em meu coração sempre!

A Prof^ª. Dr^ª. Miriam Lacalle Turbino, coordenadora do Programa de Pós Graduação da Dentística pelo seu grande apoio, incentivo e pela confiança de que eu chegaria até aqui. Obrigada pela disposição, sempre, em me ajudar.

A Prof^ª. Dr^ª. Márcia Martins Marques, mais uma professora que se tornou uma amiga querida, por todo o apoio, tanto profissional quanto pessoal.

Ao Prof. Dr. Narciso Garone-Netto, que desde a minha graduação, é um professor querido e profissional ímpar – exemplo que deve sempre ser seguido por todo aluno de odontologia.

As Prof^ª.(s) Dr^ª.(s) Ana Cecília Corrêa Aranha e Patrícia Freitas, por quem eu tenho carinho muito especial, pois mais que professoras as considero amigas queridas!

A Prof^ª. Dr^ª.Margareth Oda, pela torcida, pelo carinho, pelas longas e divertidas conversas pela manhã, que faziam melhor o meu dia!

Ao Prof. Dr. Michel Nicolau Yussef pelo grande apoio e carinho no momento mais difícil de minha vida. Obrigada pelas palavras de incentivo – eu as guardo em meu coração!

Ao Prof. Dr. Marcelo Jose Strazzeri Bonecker pelo seu incrível trabalho na Comissão de Internacionalização, dando oportunidades ímpares de crescimento aos alunos da FOU SP.

A todos os professores do Programa da Pós Graduação da FOU SP e do Departamento de Dentística por se esmerarem na formação de excelência de seus alunos, estando sempre dispostos a ajudar, investigar, pesquisar e produzir.

Aos funcionários do Departamento de Dentística: Soninha, Aldo, Ana, David, Leandro, Telma, Arnaldo e Luizinho. E também a todos os funcionários do LELO (Laboratório Especial de Laser em Odontologia), especialmente a Lili.

A Secretaria de Pós Graduação: Alessandra, Donata, Cátia e Nair.

Ao setor de Convênios e a Graziella F. de Castro Malagutti.

A delicada, prestativa e doce enfermeira da Clínica da FOUSP – Rose, por tirar o meu sangue para que eu pudesse dá-lo para minha pesquisa.

A SDO (Serviço de Documentação Odontológica) e todos os seus funcionários.

Prof. Dr. Reinaldo Brito e Dias, presidente da Comissão de Pós Graduação.

A Prof^a. Dr^a. Maria Cecília Salvadore (IFUSP) e Fernanda de Sá Teixeira e ao Laboratório de Filmes Finos do IFUSP.

A Faculdade de Odontologia da USP, na figura de seu diretor Prof. Dr. Rodney Garcia Rocha.

A Maurício Martins Canas, da Vacuette (Greiner Bio-One Brasil)

A CAPES pelo apoio financeiro.

A minhas amigas adoradas de pos, Andréa Dias Lago e Tais Scaramucci. Na minha cabeça e no meu coração, não seria possível estar aqui sem vocês.

As minhas amigas de pós do time das minhas preferidas: Marina Stela Bello, Taciana Anfe, Camila Gugliemi, Simone Moretto e Leila Ferreira.

Aos meninos: Sérgio Brossi Botta (meu braço direito na pós), Samuel Nilo Vieira (meu braço esquerdo na IC) e Fernando Aparecido Kawaguchi – o Cidão!

Aos colegas de pós graduação por uma convivência rica, de ajuda mútua que sempre me fez crescer.

A minhas amigas de toda a vida: Fabiana Felix Pereira, Eloisa Badin, Maria Fernanda Hersan Nadal, Fernanda Bortolai Martins, Renata Visconti, Renata Silva Nogueira, Daniela Ueno, Adriana Escudeiro, Camila Lanfredi, Patrícia Ferramola, Mike Karacsoniy e Joana Seccato Moro.

A todos do Ministério Bola de Neve em Santo André, por tanto amor, tanto apoio, tanta dedicação quando eu mais precisei. Obrigada por todas as orações, que eu creio, me levaram em todos os momentos em que eu caí. Agradecimentos especiais ao Pastor Giba, Fabiana Storte César e Gustavo César da Silva, Andressa, Kátia, Tammy, Nany, Renata, Robinho, Fininho, André, Aloisio, Ricardo.

Aos meus amados Tatyana Mello Moretti e Rodrigo Monroe – por serem amigos-irmãos. Meu amor e gratidão por vocês é tão grande que só podia ser sobrenatural! Que Deus os abençoe grandemente – sempre!

A todos do Joanna de Angelis – por esta casa ser, e ter sido sempre um porto seguro para minha família. Por todo o amor e todas as vibrações.

A Maria Tereza, Ângela, Marlizinha, Ivete, Stefannie – amigas da minha mãe que eu tomo emprestadas sempre que quero, e as faço minhas amigas!

A Luciana Freitas Krauss e Roberta Carla Carbonatto, pela fidelidade ao meu pai, e depois a mim.

Ao querido amigo Prof. Norberto Gonsales Júnior, por sua generosidade em prometer ajudar-me ao meu pai em seu leito de morte. E por sua generosidade maior ainda em cumprir esta promessa. Durante toda minha vida, e além dela, eu e minha mãe e minha irmã seremos gratas a você!

Ao Prof. Danilo Hori Belinni pela amizade e apoio.

Ao Dr. Wellington Eduardo Belotti, por me ajudar a dar continuidade ao trabalho árduo do meu pai.

A todos os pacientes por sua incrível admiração pelo meu pai e pela confiança depositada em mim em continuar esta história.

A minha família querida, tanto os Carvalho quanto os Mendonça! Como é bom ter uma família que nos ama, como é bom ter um lugar seguro para estar e a quem recorrer em momentos fáceis ou difíceis. A TODOS vocês meu amor, gratidão e admiração!

A Gustavo Mendonça, meu primo querido e sua esposa, Daniela. Você foi o filho que meu pai não teve, mas ao longo da vida escolheu com o coração. E hoje agradeço a você por ser o irmão mais velho que meu coração escolheu. Obrigada por todas as alegrias que você

proporcionou ao meu pai, e por ter me ajudado na concluir este trabalho, revisando e sugerindo modificações!

A Mônica Vasconcelos de Andrade e Delvonei Álvares de Andrade, por cederem sua casa, e seu coração em qualquer hora do dia e da noite!

A minha madrinha Dirce Benedita de Carvalho – meu amor e carinho.

A minha tia Maria Celeste Mendonça – para mim um farol, um porto seguro, um exemplo de dedicação, uma grande mãe.

A minha tia Maria Helena de Carvalho Vasconcelos, porque o seu lugar é especial sempre! Obrigada por eu ser sempre a sua “Primeira Moranguinho”.

A minha tia Dair Oliveira de Carvalho, por esse laço de amor quase inexplicável que com certeza me salvou quando eu era apenas um bebê.

A minha segunda família – Maria Gomes Mendes, Brás Mendes e minhas amigas-irmãs Raquel (marido e filhos também) e Gabriela!

A minha irmã Priscilla (minha BBG), por ser essa pessoa amada profundamente pelo meu coração. Irmã que me incentiva constantemente a crescer – ainda que eu não queira. Estarei sempre aqui por você. Sempre.

Ao meu cunhado queridíssimo – Rodolfo Teixeira dos Santos e toda sua família – por cuidar de nós e nos dar alegria quando a dor encobria qualquer possibilidade de esperança.

Mais uma vez, e sempre, a minha mãe – mãezinha linda que eu amo tanto. A você, que merece toda a felicidade do mundo, a você que é meu exemplo de inteligência, dedicação e superação, a você todo o meu amor, para sempre.

Ao Orlando Serrano, por chegar generosamente para ser mais um tijolinho nesta família!

A família Moura Robles – Leonel e Isa, André e Érica, e em especial aos meus sogros Ângelo Robles e Maria Aparecida Moura Robles. Mara, nossa amizade é tão sincera e profunda, que tenho certeza, teríamos nos encontrado de qualquer forma – mas que benção é tê-la como sogra, além de amiga. Obrigada por ceder sua casa, seu ombro e seu coração para que eu pudesse finalizar este trabalho!

As minhas sobrinhas Maria Eduarda Corrado Robles e Fernanda Corrado Robles. Vocês são meu carregador de baterias! Quanto tudo parece não ter jeito, lembro das minhas preciosas! É um privilégio poder ver vocês crescerem!

Por último, mas não menos importante – mas para fechar com chaves de ouro este agradecimento, a você, meu Rafael Moura Robles. O amor que eu sempre esperei e que chegou como o sol após a chuva. Pouco antes de te conhecer eu tinha pesadelos constantes e, quando acordava pensava – nenhum pesadelo pode ser pior que a tristeza da realidade que estou vivendo agora. E a partir do momento que eu te conheci voltei a sonhar. A ao acordar de cada sonho eu agradecia – porque agora, nenhum sonho poderia ser melhor que ter o amor da minha vida ao meu lado. Com você voltou a esperança. Você é um ser humano cheio de luz com quem eu vou construir uma linda família – TE AMO 4EVER!

“Saudade é não saber. Não saber o que fazer com os dias que ficaram mais compridos, não saber como encontrar tarefas que lhe cessem o pensamento, não saber como frear as lágrimas diante de uma música, não saber como vencer a dor de um silêncio que nada preenche.”

Martha Medeiros

“É muito melhor arriscar coisas grandiosas, alcançar triunfos e glórias, mesmo expondo-se a derrota, do que formar fila com os pobres de espírito que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem nessa penumbra cinzenta que não conhece vitória nem derrota.”

Theodore Roosevelt

RESUMO

Mendonça ECC. Influência da contaminação do campo operatório na resistência de união à dentina [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2010.

Os estudos sobre contaminação apresentam difícil comparação devido a variedade dos delineamentos experimentais como o tipo de substrato testado, o momento na sequência do procedimento adesivo em que a contaminação acontece e a forma como essa contaminação é tratada de maneira a limpar este campo operatório. Assim, novos estudos fazem-se necessários para investigar com maior profundidade as condições já descritas na literatura e assim, obter um protocolo de conduta mais seguro para lidar com a contaminação. Esse estudo objetivou analisar, através de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), a interface adesiva de restaurações realizadas com sistema adesivo autocondicionante de dois passos (Clearfill SE Bond – Kuraray), contaminadas por sangue em dois momentos diferentes, recebendo essa contaminação dois tratamentos distintos. Para tanto foram selecionados 15 molares humanos que foram divididos em 5 grupos experimentais (n=3): G1 – controle (sem contaminação); G2 – contaminação antes do primer, com tratamento de lavagem e secagem; G3 – contaminação antes do primer com tratamento de secagem; G4 – contaminação após *bond* fotopolimerizado com tratamento de lavagem e secagem; G5 – contaminação após *bond* fotopolimerizado com tratamento de secagem. Os dentes foram submetidos ao corte do terço oclusal da coroa para obtenção de superfície dentinária plana. Essa superfície foi regularizada com lixas SiC e a camada de esfregaço padronizada foi obtida com lixa SiC #600 por 1 min. Os espécimes foram contaminados, de acordo com os grupos experimentais, com sangue obtido de um único doador – o próprio autor – armazenado em tubos Vacuette® com heparina sódica e utilizado em até 7 dias. Então foram restaurados com uma camada de resina flow (Filtek Z-350 Flow – 3M-ESPE) e duas camadas de resina microhíbrida (Filtek Z-350 – 3M-ESPE). Após a construção dos espécimes, estes foram seccionados ao meio e passaram por preparo para análise em MEV. Os resultados obtidos foram descritos de duas formas: Análise Morfológica: onde foram observadas alterações na formação da camada híbrida (CH) em grupos com a presença do contaminante, e Análise Morfométrica, que foi analisada estatisticamente, e pode-se constatar uma relação entre a presença do contaminante e a

diminuição do tamanho de tags em μm , quando comparados ao grupo controle ($p \leq 0,05$). Adicionalmente, foi observado que o tratamento de lavagem com água não foi suficiente para reestabelecer a formação de camada híbrida semelhante a observada no grupo controle.

Palavras-chave: Contaminação do campo operatório. Dentina. Sangue. Adesivo auto-condicionante. Microscopia eletrônica de varredura.

ABSTRACT

Mendonça ECC. Influence of the contamination of the operator Field at dentin bonding strength [dissertation]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2010.

Studies on contamination are difficult to compare due to the variety of experimental designs as the type of substrate, the time when contamination takes place during the adhesive procedure and how this contamination is treated in order to clean the operator field. Thus, further studies are needed to investigate more thoroughly the conditions described in the literature and obtain a protocol to deal with contamination. This study aimed to observe, by scanning electron microscopy (SEM), the interface of adhesive restorations performed with a two-step self-etching adhesive system (Clearfill SE Bond - Kuraray), contaminated with blood at two different times, receiving two different treatments to the contamination. Therefore, 15 selected human molars were divided into five experimental groups ($n = 3$): G1 - control (no contamination), G2 - contamination before primer, and rinsing and drying treatment, G3 - contamination before priming treatment, then drying; G4 - contamination after light curing bond, rinsing and drying treatment; G5 - after light curing bond and drying. The teeth were then sectioned in order to obtain a flat dentin surface. This surface was regularized with SiC sandpaper and a standardized smear layer was obtained with SiC sandpaper # 600 for 1 min. The specimens were subsequently contaminated, according to the experimental groups, with blood obtained from a single donor - the author - stored in Vacuette® tubes with sodium heparin and used within 7 days. They were restored with a layer of flowable composite (Filtek Z-350 Flow - 3M-ESPE) and two layers of microhybrid resin (Filtek Z-350 - 3M-ESPE). After construction, the specimens were divided in two, exposing the center of restoration and passed through preparation for SEM analysis. The results were described in two ways: Morphological Analysis where changes were observed in hybrid layer (HL) formation of groups in the presence of the contaminant, and Morphometric Analysis, which was analyzed statistically and an association between presence of the contaminant and a decreasing size of tags was found when compared to the control group ($p \leq 0.05$). Additionally, it was observed that treatment of washing with water was not sufficient to restore the formation of hybrid layer similar to that observed in the control group.

Keywords: Contamination of the operatory field. Dentin.Blood. Self-etch Adhesive system. Scanning electron microscopy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 4.1 - Representação esquemática do preparo dos espécimes. Sequência A-H.....	26
Figura 4.2 - A: Molar humano recém-extraído. B: Sequência de lixas SiC. C: Espécime após corte tendo sua superfície aplainada. D: Imagem da área de dentina superficial obtida	27
Figura 4.3 -. Contaminação dos espécimes: A: Sangue armazenado em todos Vacuette com heparina. B e C: Pipeta Graduada em microlitros. D: Captação do sangue com a pipeta para ser aplicado no espécime. E: Sangue seco na superfície do espécime	30
Figura 4.4 - Corpo de prova restaurado	31
Figura 4.5 - Armazenamento individual de cada metade do espécime e numeração conforme a figura.....	33
Figura 4.6 - Tela do Microsoft PowerPoint 2007 mostra a grade com quadriculado de 1cm ² sobre a imagem da fotomicrografia com aumento de 168% e a equivalência do quadriculado em centímetros quadrados e a escala presente na fotomicrografia	34
Figura 4.7 - Tela do Microsoft PowerPoint 2007 mostra a imagem da fotomicrografia rotacionada de forma que a camada híbrida coincida com a linha vermelha e mostra também a contagem de tags tanto em frequência, como em densidade e comprimento	36
Figura 5.1 - Fotomicrografias do grupo G1. Setas laranjas indicam tags de resina longas. Camada híbrida íntegra com tags em toda extensão (A, B e C).....	38
Figura 5.2 - Fotomicrografias do grupo G2. Seta laranja indica tags mais curtas que as do grupo G1. Seta vermelha indica regiões com ausência de tags na camada híbrida.	39
Figura 5.3 - Fotomicrografias do grupo G3. Setas laranjas indicam tags mais curtas que as do grupo G1	40

- Figura 5.4 - Fotomicrografias do grupo G4. Setas laranja indicam tags mais curtos do que os do grupo G1. Setas vermelhas indicam ausencia de tags ao longo da camada hibrida. Setas verdes indicam o destacamento da camada híbrida e dos tags da dentina. Setas azuis indicam presença de sangue destacando a camada de adesivo da camada de resina.....41
- Figura 5.5 - Fotomicrografias do grupo G5. Setas laranjas indicam tags mais curtos do que os do grupo G1. Setas vermelhas indicam ausencia de tags ao longo da camada hibrida. Setas azuis indicam presença de sangue destacando a camada de adesivo da camada de resina.....42
- Figura 5.6 - Gráfico da frequencia media de tags na camada híbrida em percentual. As linhas verticais indicam o desvio padrão. Letras iguais mostram não haver diferença estatisticamente significante entre os grupos.....44
- Figura 5.7 - Densidade de tags presentes na camada híbrida por cm. As linhas verticais indicam o desvio padrão. Letras iguais indicam não haver diferença estatisticamente significante entre os grupos.....45
- Figura 5.8 - Comprimento médio de tags (em μm) por grupo experimental. As linhas verticais indicam o desvio padrão. Letras diferentes demonstram haver diferença estatisticamente significante entre os grupos.....46

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	REVISÃO DE LITERATURA	20
3	PROPOSIÇÃO	24
4	MATERIAIS E MÉTODO	25
4.1	Preparo da Amostra	25
4.2	Divisão dos Grupos Experimentais	28
4.3	Obtenção do Sangue Heparinizado	28
4.4	Procedimento de Contaminação dos Espécimes	29
4.5	Montagem dos Corpos de Prova	31
4.6	Preparo da Amostra para Análise em Microscópio Eletrônico de Varredura	32
4.7	Análise das Fotomicrografias	34
4.7.1	Análise Morfométrica	35
5	RESULTADOS	37
5.1	Análise Morfológica	37
5.2	Análise Morfométrica	43
5.2.1	Frequência de Tags de Resina	44
5.2.2	Densidade de Tags	45
5.2.3	Comprimento Médio de Tags	46
6	DISCUSSÃO	47
7	CONCLUSÕES	50
	REFERÊNCIAS	51
	ANEXO A	55
	ANEXO B	56

1 INTRODUÇÃO

O uso do isolamento absoluto está intimamente associado a um atendimento odontológico de excelente qualidade e representa uma forma de controlar que umidade proveniente de fluidos bucais atinja o campo operatório. Alcançar esta condição durante o procedimento restaurador é mandatório para obter resultados finais em restaurações com resina composta compatíveis com os padrões de excelência. Entretanto, algumas situações clínicas dificultam a colocação do isolamento absoluto ou mesmo, sua eficácia quando em posição; por exemplo: em preparos cavitários onde a margem estende-se próximo a gengiva ou em nível subgengival e durante a restauração de lesões cervicais não cariosas ou lesões em raiz.

Adicionalmente, um número aproximado de apenas 17%^{1, 2} dos profissionais usam o isolamento absoluto na prática clínica diária. Dentro deste contexto, a contaminação do campo operatório por fluidos bucais é uma situação recorrente na prática da odontologia, enfatizando o valor de estudos acerca deste assunto.

A influência da contaminação do campo operatório por sangue pode ser atribuída ao seu alto conteúdo protéico³ que, aliado as macromoléculas como fibrinogênio e plaquetas, podem formar um filme sobre a superfície dentinária obstruindo a penetração do sistema adesivo nos túbulos dentinários⁴.

Estudos recentes relatam que sistemas adesivos hidrofílicos são menos sensíveis a contaminação por saliva quando comparados aos agentes de união hidrofóbicos. Sistemas adesivos auto condicionantes ganharam popularidade entre os dentistas na prática clínica por serem de fácil aplicação, redução do tempo operatório, não ser necessário lavar após aplicação de ácido fosfórico, e eliminar o problema da super- ou sub- secagem da dentina, além de apresentar menor sensibilidade pós operatória para o paciente. Entretanto, os efeitos da contaminação por sangue nesses sistemas adesivos não estão completamente esclarecidos.

Os estudos sobre contaminação apresentam difícil comparação devido a variedade dos delineamentos experimentais como o tipo de substrato testado, o momento na sequência do procedimento adesivo em que a contaminação acontece e a forma como essa contaminação é tratada de maneira a limpar este campo operatório. Há ainda alguns tratamentos propostos na

tentativa de reverter o efeito da contaminação, os resultados foram conflitantes. Foi observado também que, a maioria dos estudos acerca da contaminação por sangue durante o procedimento adesivo estão relacionados à fixação de braquetes ortodônticos. Todas essas variáveis podem ter grande importância na variação dos resultados de resistência de união obtidos – reforçando a dificuldade de obter consenso através da literatura.

Assim, novos estudos fazem-se necessários para investigar com maior profundidade as condições já descritas na literatura e assim, obter um protocolo de conduta mais seguro para lidar com a contaminação.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Em 1982, Pashley et al.⁵ estudaram os efeitos do plasma na permeabilidade dentinária, concluindo que este contaminante reduzia efetivamente o fluxo do fluido dentinário dentro dos túbulos da dentina.

Em 1988, Pashley et al.⁶ concluíram que a contaminação com sangue antes da aplicação do sistema adesivo, em superfície previamente condicionada ou não, diminuiu a resistência de união (RU) do adesivo tanto *in vivo* quanto *in vitro*. Os autores indicaram que a RU poderia ser recuperada re-preparando a região de dentina contaminada com um instrumento cortante rotatório (ICR).

Em 1993, Xie et al.⁷ também concluíram que o sangue presente como contaminante durante a aplicação de sistema adesivo do tipo condicione-e-lave, teve efeito deletério na RU. Ressalta-se que este ensaio foi realizado após a realização do condicionamento ácido, sendo o contaminante tratado com secagem. Porém, quando esta mesma situação de contaminação era tratada com a lavagem do campo operatório, seguida de secagem e recondicionamento ácido, os valores de RU obtidos eram semelhantes ao do grupo controle (sem contaminação).

Miles et al.⁸, em 1994, avaliaram a influência da contaminação de sistemas adesivos do tipo condicione-e-lave de terceira geração, que foram utilizados para o selamento de ápices radiculares seccionados. Neste trabalho, a contaminação ocorreu antes da aplicação do primer e nenhum tratamento foi aplicado na tentativa de remover o contaminante, mostrando resultados de RU menores do que o grupo controle (sem contaminação). Apenas o adesivo a base de 4-metacriloxietil trimetilato anidro (4-META) não sofreu influência da contaminação. Este componente, por conter grupos químicos hidrofílicos e hidrofóbicos, permeia a dentina, apesar de o campo operatório estar contaminado.

Powers et al.⁴, em 1995, utilizaram o sistema adesivo do tipo condicione-e-lave (Gluma 2000) e resina composta híbrida para testar a influência de vários contaminantes na RU, dentre eles, o sangue. O contaminante foi aplicado antes do condicionamento da dentina e, na presença deste, os valores de RU apresentados foram de 20% a 100% menores que os valores

do grupo controle. Os autores afirmam ainda que quando a superfície contaminada é recondicionada os valores de RU obtidos são similares aos do grupo controle.

Abdalla e Davidson⁹, em 1998, avaliaram a influência de contaminantes em sistemas adesivos de fraco único. A contaminação com sangue ocorreu após o condicionamento ácido e recebeu como tratamento a secagem, obtendo valores de RU menores do que os do grupo controle para todas as marcas comerciais testadas. Além do teste de resistência de união, neste estudo também foi analisada a interface adesiva através de microscopia eletrônica de varredura (MEV). Os autores demonstraram uma relação direta entre os menores resultados de RU e uma menor quantidade de tags de resina formados.

Em 2000, Dietrich et al.¹⁰ analisaram a influência da contaminação por sangue em sistema adesivo do tipo condicione-e-lave em restaurações “sanduíche” (restauradas com ionômero de vidro e resina composta) comparadas com restaurações convencionais (sistema adesivo e resina composta) em preparos com a margem gengival 1 mm abaixo da junção esmalte-cimento. A contaminação ocorreu após o condicionamento ácido e foi tratada apenas com secagem, indicando aumento da microinfiltração nas restaurações convencionais contaminadas. Nas restaurações do tipo “sanduíche”, os resultados de microinfiltração não foram influenciados pelo fator contaminação.

Ainda em 2000, Kaneshima et al.¹¹ objetivaram determinar em qual momento da aplicação de um cimento resinoso a contaminação com sangue seria mais deletéria. Para tanto, foram utilizados três tipos de condicionamento da superfície dentinária: primer auto-condicionante, condicionamento com ácido fosfórico seguido de aplicação do primer e condicionamento com ácido fosfórico e aplicação de solução de hipoclorito de sódio a 10%, seguido de aplicação do primer. A contaminação ocorreu antes e depois de cada condicionamento de superfície descrito e os resultados mostraram que sempre que a contaminação ocorria antes do condicionamento da superfície, independente do tipo de condicionamento, ela não exercia influência nos resultados de RU. Porém, os resultados de RU eram menores quando a contaminação ocorria após o condicionamento e era apenas lavada com água, sem a reaplicação do agente condicionante. Na condição em que o contaminante que foi aplicado após o condicionamento da superfície, os valores de RU foram recuperados quando o contaminante foi lavado, a superfície re-condicionada e o primer re-aplicado. Este estudo mostra claramente a importância do momento da contaminação na análise dos resultados. É importante ressaltar que dentre os trabalhos descritos na literatura,

cada um deles utiliza materiais, tratamento e momentos de contaminação diferentes, dificultando a comparação e a adoção de um padrão de conduta para este tipo de situação.

Em relação ao tipo de sangue utilizado, a maioria dos trabalhos estudados utiliza como contaminante sangue fresco de um único doador ¹². Devido a dificuldade de obtenção desta amostra, alguns trabalhos começaram a utilizar sangue venoso armazenado com algum anticoagulante¹². A influência do tipo de sangue utilizado na contaminação, entretanto, ainda não havia sido estabelecida. Assim, em 2002, Dietrich et al.¹² compararam sangue fresco com sangue heparinizado, utilizado como contaminante após o condicionamento ácido, verificando que existe diferença entre os resultados de adaptação marginal analisados com MEV, recomendando que o sangue fresco fosse utilizado para estudos in vitro.

Em 2003, van Schalkwyket al.¹³ estudaram o comportamento de dois sistemas adesivos de frasco único quando o campo operatório foi contaminado após o condicionamento com ácido fosfórico e o contaminante foi apenas seco, não recebendo qualquer outro tratamento. Os resultados dos grupos contaminados com sangue mostraram diminuição da RU quando comparados ao grupo controle (sem contaminação).

Em 2004, Eiriksson et al.¹⁴ estudaram a influência da contaminação com sangue na resistência de união de incrementos de resina utilizando dois sistemas adesivos distintos: condicione-e-lave e auto-condicionante. A contaminação para ambos os sistemas adesivos ocorreu após a fotopolimerização do material, tendo sido aplicados três tratamentos: secagem do sangue, lavagem do sangue e secagem, lavagem do sangue e secagem com reaplicação do sistema adesivo. Os resultados mostraram que o sangue seco na superfície do material restaurador é prejudicial a RU dos incrementos de resina. Ainda assim, o tratamento de lavagem, independente da reaplicação do sistema adesivo ou não foi efetivo para restaurar os valores de RU dos grupos contaminados para os valores do grupo controle.

Yoo e Pereira¹⁵, em 2006, avaliaram a influência da contaminação com sangue após a fotopolimerização de um sistema adesivo auto-condicionante de frasco único aplicando dois tratamentos diferentes para este contaminante: 1. Reaplicação do sistema adesivo diretamente sobre a contaminação e 2. Lavagem do sangue, seguido de secagem e reaplicação do sistema adesivo. Para ambos os tratamentos, os valores de RU foram menores do que os valores de RU do grupo controle, mostrando que nenhum tratamento proposto foi eficaz quando a contaminação ocorreu nas condições apresentadas neste estudo.

Raffaini et al.¹⁶, em 2008, estudaram o efeito da contaminação com sangue em dentes decíduos utilizando um sistema adesivo do tipo condicione-e-lave de frasco único. A contaminação ocorreu após o condicionamento com ácido fosfórico e esta foi submetida a quatro tratamentos diferentes: Lavagem do sangue e secagem suave com papel absorvente, apenas secagem com ar, lavagem e secagem com ar, e sem tratamento. Os resultados mostram que o sangue influenciou nos valores de RU para todos os grupos contaminados. Os grupos tratados com lavagem com água, entretanto apresentaram valores de RU maiores quando comparado aos valores dos grupos que receberam o tratamento de apenas secagem ou nenhum tratamento.

Em 2008, Tachibana¹⁷ estudou a metodologia mais adequada para obtenção, manipulação e conservação do sangue como contaminante em estudos de contaminação do campo operatório. Comparando o uso do sangue fresco ou uso do sangue heparinizado, utilizado imediatamente, após 24h e após 7 dias de armazenamento concluiu-se que não existiu diferença entre os grupos experimentais, podendo o pesquisador escolher a forma de obtenção do contaminante de acordo com sua conveniência.

3 PROPOSIÇÃO

Este trabalho teve o objetivo de analisar qualitativa e quantitativamente, através de MEV, a influência da presença do contaminante na formação da interface adesiva de restaurações de resina composta realizadas com sistema adesivo auto-condicionante.

4 MATERIAIS E MÉTODO

Neste estudo *in vitro* foram utilizados 15 molares humanos permanentes provenientes Banco de Dentes da Faculdade de Odontologia da USP. Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética da FOUSP com parecer favorável número 101/08.ANEXO A e B.

4.1 Preparo da Amostra

A totalidade da amostra (15 molares humanos) foi seccionada em sua face oclusal com auxílio da máquina de seccionamento de espécimes (Labcut 1010, EXTEC, Einfeld-CT, EUA) para obtenção de uma superfície uniforme de dentina (Figura 4.1). Em seguida, a superfície de dentina foi planificada com auxílio de uma politriz automática (Ecomet 6/Automet 2 – Buehler Ltd, Lake Bluff, IL, EUA – Processo FAPESP 03/12182-4) com lixa de carbetto de silício (SiC) de granulação #120 (Buehler, Ltd., Lake Buff, IL, EUA).

Após a planificação, foi realizado o refinamento da superfície com lixas de Carbetto de Silício (SiC) de granulação decrescente: #240 por 15s, #320 por 15s e #400 por 30s. Esfregação padronizado foi obtido com a lixa de granulação #600, utilizada por 1min¹⁸ (Figura 4.1-B e Figura 4.2).

Figura 4.1 - Representação esquemática do preparo dos espécimes. Seqüência A-H

Figura 4.2 - A: Molar humano recém-extraído. B: Sequência de lixas SiC. C: Espécime após corte tendo sua superfície aplainada. D: Imagem da área de dentina superficial obtida

4.2 Divisão dos Grupos Experimentais

Os 15 molares humanos foram divididos segundo os grupos experimentais propostos na Tabela 4.1 (n=3).

Tabela 4.1 - Divisão dos grupos experimentais (n=3)

Momento da contaminação	Sem contaminação	Contaminação antes do primer		Contaminação após o <i>bond</i> fotopolimerizado	
<i>Tratamento do contaminante</i>	<i>Sem tratamento (Controle)</i>	<i>Lava e seca</i>	<i>Seca</i>	<i>Lava e seca</i>	<i>Seca</i>
Grupos	G1	G2	G3	G4	G5

4.3 Obtenção do Sangue Heparinizado

O sangue utilizado neste experimento foi obtido a partir de um único indivíduo autor do trabalho e utilizado unicamente neste estudo.

O sangue venoso foi coletado de uma veia do antebraço mediano. O procedimento de coleta foi realizado por profissional capacitado, que utilizou materiais descartáveis e manipulou o material biológico dentro das normas de biossegurança. Este sangue foi imediatamente acondicionado em um tubo Vacuette (BD, São Paulo, SP) com capacidade para 9ml, contendo heparina sódica ¹⁷(Figura 4.3-A). Em seguida uma parte foi utilizada para

contaminação do grupo 1 (G1) e o restante foi acondicionado em geladeira a 4°C por até uma semana ¹¹ para ser utilizado nos grupos 2 e 3 (G2 e G3). Os demais grupos (G4 e G5) foram contaminados com o sangue coletado na semana seguinte à primeira coleta, seguindo os mesmos padrões de heparização e armazenamento.

4.4 Procedimento de Contaminação dos Espécimes

As faces oclusais planificadas de dentina foram contaminadas em diferentes momentos do procedimento adesivo, de acordo com a tabela 1. Para tal, foram utilizados, 1,5µl ⁷de sangue heparinizado (Figura 4.3-B), aferido por uma micropipeta (Micropipet, Pipetman, Gilson Inc., Middleton, WI, EUA) (Figura 4.3-C e D), aplicado sobre a superfície de dentina com o auxílio de um aplicador descartável (KGbrush, KG Sorensen, São Paulo, SP) por 30s ⁷de modo que toda a área preparada fosse recoberta pelo contaminante (Figura 4.3-E). Em seguida, foram aplicados os tratamentos de acordo com a tabela 4-1.

Para os grupos (G2 e G4) nos quais a contaminação receberia lavagem antes da continuação do procedimento restaurador, os espécimes foram lavados com jato da água da seringa tríplice por 20s a uma distância de 10 cm e em seguida secos com um jato de ar, livre de óleo, por 20s a uma distância de 10 cm ¹⁴.

Para os grupos (G3 e G5), o sangue foi seco com um jato de ar, livre de óleo, por 20s a uma distância de 10 cm ¹⁴de maneira que se depositasse sobre a dentina uma camada de sangue seco. Este corresponderia ao pior cenário de contaminação do campo operatório.

Figura 4.3 -. Contaminação dos espécimes: A: Sangue armazenado em todos Vacuette com heparina. B e C: Pipeta Graduada em microlitros. D: Captação do sangue com a pipeta para ser aplicado no espécime. E: Sangue seco na superfície do espécime

4.5 Montagem dos Corpos de Prova

Figura 4.4 - Corpo de prova restaurado

O sistema adesivo autocondicionante de dois passos Clearfill SE Bond (Kuraray, Osaka, Japão – Lote 01146A Val.:2009/12) foi aplicado seguindo as orientações do fabricante. O *primer* foi aplicado ativamente por 20 segundos em toda a extensão da superfície de dentina com aplicador descartável (KGbrush, KG Sorensen, São Paulo, SP), seguido de leve jato de ar, por 5 segundos, para possibilitar a evaporação do solvente. Em seguida, sobre a superfície onde foi aplicado o *primer*, foi aplicada fina camada de resina fluida (*bond*) com novo aplicador descartável, afinada com leve jato de ar e fotopolimerizada com o aparelho fotopolimerizador (Optilight Plus, Gnatus, Ribeirão Preto, SP), por 10 segundos.

Em todos os espécimes, logo após a aplicação do sistema adesivo, um incremento da resina composta Flow (Filtek Flow Z350 - 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA Cor: A1 Lote 7BA Val: 07/2010) foi colocado sobre a superfície de dentina e fotopolimerizado individualmente por 20s, com o aparelho fotopolimerizador (Optilight Plus, Gnatus, Ribeirão Preto, SP), com intensidade de luz emitida em torno de 400 mW/cm^2 . Em seguida, 2 incrementos de resina composta (Filtek Z350 - 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA, Cor: A2 Lote 8GU Val: 05/2010) foram colocados sobre a resina flow e fotopolimerizados individualmente por 20s, perfazendo

um corpo de prova de aproximadamente 5 mm de altura (Figura 4.4). Todos os espécimes foram armazenados em água destilada, em estufa a 37°C, por 24h.

4.6 Preparo da Amostra para Análise em Microscópio Eletrônico de Varredura

Findo esse período, os espécimes foram levados a uma máquina de seccionamento de espécimes (Isomet 1000 - Buehler Ltd, Lake Bluff, IL, EUA -Proc. Fapesp 05/04701-7) e tiveram suas raízes seccionadas 2 mm abaixo da junção amelo-cementária (Figura 4.1-E) e a polpa de cada dente foi removida com o auxílio de uma cureta para dentina. Imediatamente após, foram imersos individualmente em solução de Glutaraldeído 2,5% por 24h^{19, 20} e então os espécimes foram lavados com solução de tampão fosfato por 15 min, sendo realizada a troca desta solução por 3 vezes, totalizando um tempo total de 1h. Após este processo, os espécimes foram lavados com água destilada por 1 min.

Os espécimes foram novamente seccionados na máquina de seccionamento no sentido mesio-distal (Figura 4.1-H e Figura 4.5). Obtidas as duas metades, a superfície oposta a área de interesse foi planificada com auxílio da politriz (lixa SiC #120 por 20s) para melhor estabilização dos espécimes no momento da análise morfológica.

As superfícies de interesse de cada metade dos espécimes foram lixadas com o auxílio da politriz automática (Ecomet 6/Automet 2 – Buehler Ltd, Lake Bluff, IL, EUA) com a seguinte sequência: lixas d'água #600 por 20s, #1200 por 20s, #4000 por 20s. Ressalta-se que os espécimes foram enxaguados em água entre as lixas. Em seguida, as superfícies foram polidas com pasta diamantada para polimento 3µm (Buehler, Ltd., Lake Buff, IL, EUA) com disco de feltro por 10s. Para limpeza final dos resíduos provenientes do processo de polimento, os espécimes foram imersos em água destilada e levados a cuba ultrassônica por 10 min, havendo uma troca da água na metade do período.

De posse dos espécimes devidamente limpos, foi realizado o condicionamento ácido da superfície de interesse para exposição dos tags de resina. Este procedimento foi feito

aplicando ácido fosfórico 37% por 20s sobre a superfície de cada espécime individualmente, seguido de lavagem com água da seringa triplice por 30s. Em seguida, os espécimes foram imersos individualmente em solução de Hipoclorito de Sódio 1% por 30min e então lavados com água por 30s.

Figura 4.5 - Armazenamento individual de cada metade do espécime e numeração conforme a figura

Após estas etapas, os espécimes foram imersos em solução de glutaraldeído 2,5% (SPI – CHEN – Spi supplies, West Chester, PA, EUA) por 2 horas para fixação e depois lavados com solução de tampão fosfato de sódio 0,1M, pH7,4 (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, EUA) com 3 lavagens de 5min cada, sendo que a solução era descartada após contato com os espécimes.

Na fase de desidratação, todos os espécimes foram armazenados individualmente e passaram pela seguinte sequência: Álcool 30% por 10min (duas imersões de 5min); Álcool 50% por 10min (duas imersões de 5min); Álcool 70% por 10min (duas imersões de 5min); Álcool 90% por 10min (duas imersões de 5min); Álcool 96% por 10min (duas imersões de 5min); Álcool Absoluto por 20min (quatro imersões de 5min).

Para secagem dos espécimes foi utilizado hexadimetil disilazona (HMDS – Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) por 10min, sendo este descartado em local apropriado após o uso. Após 20min os espécimes foram secos com papel absorvente.

Após o preparo para microscopia, cada espécime foi colado com fita dupla face em *stubs* de alumínio e cobertos com fina película de ouro e então observados num microscópio eletrônico de varredura (JEOL 6460 – LV, Jeol Ltd. Tokio, Japão – FAPESP Proc.#00/08231-1) pertencente ao Laboratório de Filmes Finos do IFUSP, em aumento padronizado de 500X, sempre no centro de cada espécime, focalizando a camada híbrida logo acima da câmara

pulpar. Como cada espécime foi dividido em duas metades (Figura 4.5) e ambas foram analisadas, sendo escolhida a metade que melhor representou o resultado para o respectivo grupo experimental.

4.7 Análise das Fotomicrografias

Figura 4.6 - Tela do Microsoft PowerPoint 2007 mostra a grade com quadriculado de 1cm² sobre a imagem da fotomicrografia com aumento de 168% e a equivalência do quadriculado em centímetros quadrados e a escala presente na fotomicrografia

Após obtidas e selecionadas 3 fotomicrografias de cada grupo (1 de cada espécime) estas foram analisadas qualitativamente (análise morfológica) e quantitativamente com o auxílio do software Microsoft Office PowerPoint 2007 (Microsoft Corp., Redmond, WA, EUA) ²¹

(análise morfométrica). Os dados provenientes da análise morfométrica serão avaliados estatisticamente.

4.7.1 Análise Morfométrica

Utilizando o software de criação de slides, foi criado para cada fotomicrografia um arquivo específico. O slide foi padronizado com um formato de 25cm x 19cm e a imagem foi posicionada no slide com aumento padronizado de 168% sob uma grade de 25 x 19 cm com quadrados de 1cm². Num primeiro momento foi feita a equivalência da escala presente na imagem com o quadriculado (Figura 4.6). Então a imagem foi girada de forma que a camada híbrida visível na imagem coincidesse com uma das linhas horizontais da máscara. Esta linha foi destacada com a cor vermelha (Figura 4.7).

A partir deste ponto, três análises foram feitas:

1) Frequência de Tags Resinosos: número de quadrados nos quais era possível ver a formação de tags de resina divididos pelo número total de quadrados que compreendia a camada híbrida da imagem em questão (Figura 4.7);

2) Densidade de Tags por cm: Número de tags em cada quadrado, somados e divididos pelo número total de quadrados que possuíam tags na camada híbrida da imagem em questão (Figura 4.7);

3) Comprimento médio de Tags em μm : Comprimento máximo de tags foi marcado em cada coluna e então a soma desses valores foi dividida pelo número total de quadrados que possuíam tags na camada híbrida da imagem em questão (Figura 4.7). O valor obtido foi convertido para μm a partir da referência de escala dada pela própria imagem, obtendo assim o valor médio do comprimento em μm (Figura 4.6).

Figura 4.7 - Tela do Microsoft PowerPoint 2007 mostra a imagem da fotomicrografia rotacionada de forma que a camada híbrida coincida com a linha vermelha e mostra também a contagem de tags tanto em frequência, como em densidade e comprimento

Os dados obtidos na análise morfométrica foram submetidos ao teste de análise de variância (ANOVA de um fator) seguida pelo teste de Tukey para comparação entre os grupos. A análise estatística foi realizada com o software Minitab (Minitab Inc., State College, PA, EUA), sendo que o nível de significância adotado foi o de 5% ($p \leq 0,05$)

5 RESULTADOS

5.1 Análise Morfológica

Os espécimes dos grupos experimentais foram fotografados com aumento padronizado de 500X. Neste trabalho optou-se por mostrar a imagem de cada um dos três espécimes de cada grupo experimental agrupadas, três imagens, uma para cada grupo A, B e C. De uma maneira geral, em todas as fotomicrografias pode-se observar os constituintes da interface dentina-resina: resina composta do tipo flow (RF), sistema adesivo (SA), camada híbrida (CH) e dentina (D).

No grupo G1 (controle) (Figura 5.1), sem a presença do contaminante, observa-se a formação de camada híbrida (CH) íntegra, com presença de tags em toda sua extensão. Há também tags longos e íntegros (seta laranja). Ressalta-se que neste grupo foi observado o maior número de tags (densidade de tags/cm) ao longo da extensão da CH quando comparado aos demais grupos experimentais.

Figura 5.1 - Fotomicrografias do grupo G1. Setas laranjas indicam tags de resina longos. Camada híbrida íntegra com tags em toda extensão (A, B e C)

No grupo G2(Figura 5.2), onde a contaminação ocorreu antes do primer e o tratamento foi lavagem e secagem, observam-se tags de resina mais curtos (seta laranja) e em menor número quando comparados com os tags observados no grupo controle. Neste grupo não há formação de tags em toda extensão da CH (seta vermelha) como observado no grupo anterior.

Figura 5.2 - Fotomicrografias do grupo G2. Seta laranja indica tags mais curtos que os do grupo G1. Seta vermelha indica regiões com ausência de tags na camada híbrida.

No grupo G3 (Figura 5.3), onde o contaminante foi aplicado antes do *primer* e tratado com secagem, foi observado CH homogênea semelhante a do grupo G1, quanto a presença constante de tags ao longo da CH. No que se refere a quantidade de tags de resina, observa-se menor número quando comparado ao G1. A principal diferença notada neste grupo é a formação de tags curtos (seta laranja).

Figura 5.3 - Fotomicrografias do grupo G3. Setas laranjas indicam tags mais curtos que os do grupo G1

No grupo G4 (Figura 5.4), onde o sangue foi aplicado após a fotopolimerização do sistema adesivo lavado com água e seco com ar, observa-se um defeito entre a camada de adesivo e resina flow (seta azul A, B e C), identificando-se que a falha ocorre no local onde foi depositado o contaminante. Neste grupo os tags de resina têm formação (seta laranja A, B e C) e frequência semelhante ao grupo G3, entretanto seu comprimento é maior. Observa-se ainda que, em apenas um espécime deste grupo (C), a camada híbrida e os tags de resina foram destacados da dentina (seta verde) deixando toda a extensão dessa falha sem formação de CH (seta vermelha).

Figura 5.4 - Fotomicrografias do grupo G4. Setas laranja indicam tags mais curtos do que os do grupo G1. Setas vermelhas indicam ausência de tags ao longo da camada híbrida. Setas verdes indicam o destacamento da camada híbrida e dos tags da dentina. Setas azuis indicam presença de sangue destacando a camada de adesivo da camada de resina

No grupo G5 (Figura 5.5) observa-se comportamento heterogêneo entre os espécimes deste grupo. Ao mesmo tempo se identifica a formação de tags de resina de comprimento curto (A e C) e longo (B) (seta laranja). Em relação a formação da CH neste grupo, o mesmo comportamento heterogêneo foi observado, identificando-se formação de CH contínua com presença de tags (A e B) enquanto em outro espécime (C) há regiões da CH sem a presença de tags de resina (seta vermelha). Ressalta-se neste grupo que a dimensão da falha observada entre o SA e a RF é maior do que as observadas no grupo G4, além da presença de resíduos.

Figura 5.5 - Fotomicrografias do grupo G5. Setas laranjas indicam tags mais curtos do que os do grupo G1. Setas vermelhas indicam ausência de tags ao longo da camada híbrida. Setas azuis indicam presença de sangue destacando a camada de adesivo da camada de resina

5.2 Análise Morfométrica

Os dados obtidos através da análise morfométrica feita com o Microsoft PowerPoint 2007 (Microsoft Corp., Redmond, WA, EUA) foram tabulados em planilhas no Microsoft Excel 2007 (Microsoft Corp., Redmond, WA, EUA) e os resultados obtidos foram analisados de forma descritiva. A partir das tabelas foram confeccionados gráficos do tipo barra para ilustrar a situação encontrada em cada grupo. Os dados analisados foram: Frequência de tags de resina em percentual (Figura 5.6) Densidade de tags presentes na camada híbrida por cm (Figura 5.7) e Comprimento Médio de tags em μm (Figura 5.8).

O resultados da ANOVA de um fator indicou não haver diferenças estatísticas significantes entre os grupos experimentais para as condições Frequência de Tags de Resina ($F=0,75$ e $p=0,581$) e Densidade de Tags ($F=1,55$ e $p=0,261$). Contudo, houve diferença estatisticamente significativa para a condição Comprimento de Tags ($F=5,71$ e $p=0,012$). Ao comparar os grupos entre si, detectou-se maior comprimento de tags para o grupo G1, onde não houve contaminação, do que em todos os demais grupos experimentais (contaminados). Analisando as demais comparações pertinentes ao estudo, observou-se não haver diferença entre os grupos contaminados, com todos eles apresentando tags de comprimento reduzido (Figura 5.8).

5.2.1 *Frequência de Tags de Resina*

Figura 5.6 - Gráfico da frequência média de tags na camada híbrida em percentual. As linhas verticais indicam o desvio padrão. Letras iguais mostram não haver diferença estatisticamente significativa entre os grupos

5.2.2 Densidade de Tags

Figura 5.7 - Densidade de tags presentes na camada híbrida por cm. As linhas verticais indicam o desvio padrão. Letras iguais indicam não haver diferença estatisticamente significativa entre os grupos

5.2.3 Comprimento Médio de Tags

Figura 5.8 - Comprimento médio de tags (em μm) por grupo experimental. As linhas verticais indicam o desvio padrão. Letras diferentes demonstram haver diferença estatisticamente significativa entre os grupos

6 DISCUSSÃO

A contaminação com sangue e saliva é uma questão importante durante o tratamento restaurador^{9, 22} especialmente quando não é possível instalar o isolamento absoluto^{9, 12, 14, 23-26}. Vários fabricantes recomendam que, em caso de não ser possível a isolamento total, a tentativa de manter o campo seco deve ser feita através de isolamento relativo com rolos de algodão²⁷. Preparos com margens subgengivais são considerados particularmente propensos a contaminação com sangue durante procedimentos clínicos^{6, 28-33} que pode levar a ocorrência de microinfiltração e cárie secundária^{14, 26}.

Estudos a respeito dos efeitos de diferentes contaminantes, tais como, água, saliva, plasma, óleo lubrificante de peças de mão e/ou micromotor, cimentos a base de eugenol, outros cimentos temporários, na adesão aos tecidos dentais^{3, 6, 34-36} mostram que a contaminação com plasma reduz a RU em esmalte (33%) e dentina (70%). Autores^{6, 9, 24, 27} postulam que o conteúdo protéico de alguns contaminantes pode impedir que os monômeros penetrem tanto nas retenções de esmalte, como na rede de colágeno de dentina exposta, reduzindo a adesão.

O tipo de sistema adesivo, o momento da contaminação, o tipo de substrato, o tipo de sangue (fresco ou com anticoagulante), bem como outros fatores de variação presentes nos estudos que investigam os efeitos da contaminação com sangue nas restaurações adesivas, dificultam as comparações entre os trabalhos, tornando o assunto complexo e não esclarecido^{12, 26}.

Os sistemas adesivos auto-condicionantes tornaram-se muito populares devido a sua facilidade de aplicação; menor número de componentes e de passos operatórios; o conceito

de “não-lavagem”, que elimina o problema de excesso de secagem ou excesso de umidade presente na dentina; redução da sensibilidade pós-operatória; e a menor sensibilidade técnica associada à adesão a uma matriz colágena desidratada^{23, 37-39}. Quando os preparos cavitários são restaurados sem o uso do isolamento absoluto, o sangramento gengival pode ocorrer após a lavagem do ácido fosfórico, que acidentalmente pode entrar em contato com a margem cavosuperficial do preparo; o que não ocorre quando se utiliza adesivo auto-condicionante³².

Estudos experimentais comparativos de vários sistemas adesivos auto-condicionantes demonstraram desempenho adesivo superior do Clearfil SE Bond em esmalte e dentina superficial ou profunda⁴⁰. Desta forma, uma avaliação dos efeitos da contaminação com sangue acerca deste adesivo especificamente seria fundamental.

A maioria dos estudos acerca da influência da contaminação com sangue na RU são realizados em esmalte e voltados para a adesão de brackets ortodônticos. Neste contexto, Reynolds⁴¹ afirma que uma força de adesão de no mínimo 6 a 8 MPa seria capaz de suportar as forças ortodônticas. Entretanto esses valores de MPa podem ser aplicados apenas para estudos em ortodontia, fazendo com que os resultados não possam ser comparados com estudos na área de dentística restauradora. Ressalta-se ainda que na área de dentística existem estudos^{11, 14, 15} sobre a contaminação com sangue específicos com adesivos auto-condicionantes são poucos, dada a importância deste tipo de adesivo na atualidade devido a tendência de simplificar o procedimento adesivo⁴².

Dietrich et al.¹² em 2002 ressaltaram o fato de que o sangue armazenado com anticoagulante poderia alterar os resultados dos valores de RU obtidos nos estudos com ensaio de resistência a tração. Entretanto, Tachibana¹⁷ em 2008 mostrou com seu trabalho que não existe diferença estatisticamente significativa entre grupos contaminados com sangue fresco ou heparinizado para teste de micro-cisalhamento. Desta forma, devido a facilidade de

uso, neste estudo foi utilizado sangue obtido de doador único, armazenado em tubos com anticoagulante.

Os resultados obtidos neste estudo confirmam que a contaminação com sangue resulta em uma camada híbrida diferente, quando comparada à formada na ausência do contaminante, especialmente no que se refere ao tamanho dos tags de resina formados. Abdalla et al.⁹ em 1998 confirmam estes resultados observando relação direta entre redução de RU e formação de tags resinosos de menor comprimento. Outra suposição para os resultados observados reside no fato das proteínas do sangue se depositarem sobre a dentina prejudicando a permeação do sistema adesivo²⁵.

Observou-se ainda neste trabalho que quando a contaminação com sangue ocorre após a fotopolimerização do *bond* (G4 e G5), resultados morfológicos diferentes foram observados, identificando-se a presença de falha na interface resina flow-sistema adesivo não observada nos demais grupos experimentais. Estes resultados diferentes podem estar relacionados com a menor espessura total do *bond*²⁴ ou com ruptura da superfície de oxigênio livre presente na camada não totalmente polimerizada do *bond*. Entretanto, o efeito da ruptura da camada não-polimerizada não está completamente esclarecido²⁵.

Assim, considera-se fundamental a utilização de isolamento absoluto para a obtenção de restaurações adesivas de boa qualidade.

7 CONCLUSÕES

A presença do sangue durante a realização do procedimento adesivo interferiu na formação da CH, independente do momento operatório em que ela ocorreu. O contaminante foi o responsável pela formação de tags de resina de menor tamanho.

REFERÊNCIAS¹

Joynt RB, Davis EL, Schreier PH. Rubber dam usage among practicing dentists. *Oper Dent*. 1989 Autumn;14(4):176-81.

Strydom C. Handling protocol of posterior composites Rubber Dam. *SADJ*. 2005 Aug;60(7):292-3.

Barakat MM, Powers JM. In vitro bond strength of cements to treated teeth. *Aust Dent J*. 1986 Dec;31(6):415-9.

Powers JM, Finger WJ, Xie J. Bonding of composite resin to contaminated human enamel and dentin. *J Prosthodont*. 1995 Mar;4(1):28-32.

Pashley DH, Nelson R, Kepler EE. The effects of plasma and salivary constituents on dentin permeability. *J Dent Res*. 1982 Aug;61(8):978-81.

Pashley EL, Tao L, Mackert JR, Pashley DH. Comparison of in vivo vs. in vitro bonding of composite resin to the dentin of canine teeth. *J Dent Res*. 1988 Feb;67(2):467-70.

Xie J, Powers JM, McGuckin RS. In vitro bond strength of two adhesives to enamel and dentin under normal and contaminated conditions. *Dent Mater*. 1993 Sep;9(5):295-9.

Miles DA, Anderson RW, Pashley DH. Evaluation of the bond strength of dentin bonding agents used to seal resected root apices. *J Endod*. 1994 Nov;20(11):538-41.

Abdalla AI, Davidson CL. Bonding efficiency and interfacial morphology of one-bottle adhesives to contaminated dentin surfaces. *Am J Dent*. 1998 Dec;11(6):281-5.

Dietrich T, Kraemer M, Losche GM, Wernecke KD, Roulet JF. Influence of dentin conditioning and contamination on the marginal integrity of sandwich Class II restorations. *Oper Dent*. 2000 Sep-Oct;25(5):401-10.

¹De acordo com o estilo Vancouver.

Kaneshima T, Yatani H, Kasai T, Watanabe EK, Yamashita A. The influence of blood contamination on bond strengths between dentin and an adhesive resin cement. *Oper Dent*. 2000 May-Jun;25(3):195-201.

Dietrich T, Kraemer ML, Roulet JF. Blood contamination and dentin bonding--effect of anticoagulant in laboratory studies. *Dent Mater*. 2002 Mar;18(2):159-62.

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

Eiriksson SO, Pereira PN, Swift EJ, Heymann HO, Sigurdsson A. Effects of blood contamination on resin-resin bond strength. *Dent Mater*. 2004 Feb;20(2):184-90.

Yoo HM, Pereira PN. Effect of blood contamination with 1-step self-etching adhesives on microtensile bond strength to dentin. *Oper Dent*. 2006 Nov-Dec;31(6):660-5.

Raffaini MS, Gomes-Silva JM, Torres-Mantovani CP, Palma-Dibb RG, Borsatto MC. Effect of blood contamination on the shear bond strength at resin/dentin interface in primary teeth. *Am J Dent*. 2008 Jun;21(3):159-62.

Tachibana A. Influência da contaminação com sangue e de diferentes agentes de limpeza na adesão de um sistema autocondicionante aos tecidos dentais [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2008.

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

Moretto SG. Análise morfológica e da resistência de união da superfície dentinária irradiada com os lasers de Er:YAG e Er,Cr:YSGG [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2009.

Duarte SJ, Lolato AL, de Freitas CR, Dinelli W. SEM analysis of internal adaptation of adhesive restorations after contamination with saliva. *J Adhes Dent*. 2005 Spring;7(1):51-6.

Geraldo-Martins VR. Análise do selamento marginal de restaurações realizadas após remoção de cárie radicular com o laser de Er, Cr:YSGG [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2007.

Ernst CP, Brandenbusch M, Meyer G, Canbek K, Gottschalk F, Willershausen B. Two-year clinical performance of a nanofiller vs a fine-particle hybrid resin composite. *Clin Oral Investig*. 2006 Jun;10(2):119-25.

Yazici AR, Tuncer D, Dayangac B, Ozgunaltay G, Onen A. The effect of saliva contamination on microleakage of an etch-and-rinse and a self-etching adhesive. *J Adhes Dent*. 2007 Jun;9(3):305-9.

Peschke A, Blunck U, Roulet JF. Influence of incorrect application of a water-based adhesive system on the marginal adaptation of Class V restorations. *Am J Dent*. 2000 Oct;13(5):239-44.

Sattabanasuk V, Shimada Y, Tagami J. Effects of saliva contamination on dentin bond strength using all-in-one adhesives. *J Adhes Dent*. 2006 Oct;8(5):311-8.

Faltermeier A, Behr M, Rosentritt M, Reicheneder C, Mussig D. An in vitro comparative assessment of different enamel contaminants during bracket bonding. *Eur J Orthod*. 2007 Dec;29(6):559-63.

Fritz UB, Finger WJ, Stean H. Salivary contamination during bonding procedures with a one-bottle adhesive system. *Quintessence Int*. 1998 Sep;29(9):567-72.

Sfondrini MF, Cacciafesta V, Scribante A, De Angelis M, Klersy C. Effect of blood contamination on shear bond strength of brackets bonded with conventional and self-etching primers. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2004 Mar;125(3):357-60.

Sayinsu K, Isik F, Sezen S, Aydemir B. Light curing the primer-beneficial when working in problem areas? *Angle Orthod*. 2006 Mar;76(2):310-3.

Reddy L, Marker VA, Ellis E, 3rd. Bond strength for orthodontic brackets contaminated by blood: composite versus resin-modified glass ionomer cements. *J Oral Maxillofac Surg*. 2003 Feb;61(2):206-13.

Oztoprak MO, Isik F, Sayinsu K, Arun T, Aydemir B. Effect of blood and saliva contamination on shear bond strength of brackets bonded with 4 adhesives. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2007 Feb;131(2):238-42.

Schattenberg A, Werling U, Willershausen B, Ernst CP. Two-year clinical performance of two one-step self-etching adhesives in the restoration of cervical lesions. *Clin Oral Investig*. 2008 Sep;12(3):225-32.

Oonsombat C, Bishara SE, Ajlouni R. The effect of blood contamination on the shear bond strength of orthodontic brackets with the use of a new self-etch primer. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2003 May;123(5):547-50.

Johnson ME, Burgess JO, Hermes CB, Buikema DJ. Saliva contamination of dentin bonding agents. *Oper Dent*. 1994 Nov-Dec;19(6):205-10.

Matos AB, Oliveira DC, Vieira SN, Netto NG, Powers JM. Influence of oil contamination on in vitro bond strength of bonding agents to dental substrates. *Am J Dent*. 2008 Apr;21(2):101-4.

Pinzon LM, Oguri M, O'Keefe K, Dusevish V, Spencer P, Powers JM, et al. Bond strength of adhesives to dentin contaminated with smoker's saliva. *Odontology*. 2010 Feb;98(1):37-43.

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

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

Tay FR, Pashley DH. Have dentin adhesives become too hydrophilic? *J Can Dent Assoc*. 2003 Dec;69(11):726-31.

Kaaden C, Powers JM, Friedl KH, Schmalz G. Bond strength of self-etching adhesives to dental hard tissues. *Clin Oral Investig*. 2002 Sep;6(3):155-60.

Reynolds IR. A review of direct orthodontic bonding. *Br J Orthod*. 1975;2:171-8.

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

ANEXO A**Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da FOUSP (1)**

Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia
Comitê de Ética em Pesquisa

PARECER DE APROVAÇÃO
Protocolo 101/2008

O grupo de trabalho indicado pelo Comitê de Ética em Pesquisa APROVOU o protocolo de pesquisa: **"Influência do efeito do Laser de Er:YAG e da clorexidina na limpeza da contaminação do campo operatório na resistência de união a dentina – estudo longitudinal"**, de responsabilidade do(a) Pesquisador(a) **Ellen Cristina de Carvalho Mendonça**, sob orientação da Professor(a) Doutor(a) **Adriana Bona Matos**.

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados a este Comitê relatórios anuais referentes ao andamento da pesquisa e ao término cópia do trabalho em "cd". Qualquer emenda do projeto original deve ser apresentada a este CEP para apreciação, de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

São Paulo, 11 de agosto de 2008

Prof. Dr. João Gualberto de Cerqueira Luz
Coordenador do CEP-FOUSP

ANEXO B

Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da FOU SP (2)

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

DECLARAÇÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo recebeu e aceitou o pedido de alteração do título do projeto de: "Influência do efeito do Laser de Er:YAG e da clorexidina na limpeza da contaminação do campo operatório na resistência de união à dentina – estudo longitudinal", para: **"Influência da contaminação do campo operatório na resistência de união à dentina"**, de responsabilidade da Pesquisadora **Ellen Cristina de Carvalho Mendonça**, sob orientação da Profa. Dra. Adriana Bona Matos, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo Protocolo 101/2008.

São Paulo, 21 de maio de 2010.

Prof. Dra. Marcia Turollo Wanderley
Coordenadora do CEP-FOUSP