UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU

ADRIANA RODRIGUES DE FREITAS

Análise da manutenção de integridade estrutural de órgãos dentários e a influência de diferentes métodos de descontaminação e armazenamento

BAURU
2011

ADRIANA RODRIGUES DE FREITAS

Análise da manutenção de integridade estrutural de órgãos dentários e a influência de diferentes métodos de descontaminação e armazenamento

Dissertação apresentada a Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências Odontológicas Aplicadas.

Área de concentração: Odontologia em Saúde Coletiva
Orientadora: Profa. Dra. Sílvia Helena de Carvalho Sales Peres

Versão corrigida

BAURU
2011

F884a

Freitas, AR

Análise da manutenção de integridade estrutural de órgãos dentários e a influência de diferentes métodos de descontaminação e armazenamento / Adriana Rodrigues de Freitas. – Bauru, 2011.

132 p. : il. ; 31cm.

Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Bauru. Universidade de São Paulo

Orientador: Profª. Drª. Sílvia Helena de Carvalho Sales Peres

Nota: A versão original desta dissertação encontra-se disponível no Serviço de Biblioteca e Documentação da Faculdade de Odontologia de Bauru - FOB/USP.

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, por processos fotocopiadores e outros meios eletrônicos.

Assinatura:

Data: 02 de Junho de 2011.

Comitê de Ética da FOB-USP
Protocolo nº: 118/2008
Data: 26 / 11 / 2008

DADOS CURRICULARES

Adriana Rodrigues de Freitas

Nascimento	05 de Agosto de 1982
Naturalidade	São Paulo - SP
Filiação	Antenor Rodrigues de Freitas Maria Antonia Cordeiro de Freitas
2001- 2005	Curso de Graduação em Odontologia, na Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP
2007-2008	Curso de Aperfeiçoamento em Perícias Forenses, na Faculdade de Odontologia de Bauru – USP
Associações	CRO-SP – Conselho Regional de Odontologia do Estado de São Paulo APCD – Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas SBPqO – Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica IADR – International Association for Dental Research

DEDICATÓRIA

A Deus,

pelo dom da vida e pela força para transpor os obstáculos encontrados
em meu caminho.

Aos meus pais Antenor e Maria Antônia,

pelo exemplo de honestidade e perseverança, pelo amor incondicional e suporte,
essenciais para que eu pudesse me aventurar em busca de meus sonhos.
Muito obrigada por tudo.
Amo muito vocês.

AGRADECIMENTOS

Aos meus irmãos Alessandra e Alex,
pelo amor, compreensão e apoio nas horas mais difíceis.
Vocês são muito especiais em minha vida.

Ao meu cunhado Rodrigo,
pelo carinho e apoio, por vezes emocional outras vezes técnico, contribuindo para o bom andamento de meus trabalhos.

Ao meu sobrinho Lucas,
um dos grandes amores da minha vida, pelo carinho e momentos de grande descontração que sempre me proporciona com sua imensa alegria.

A amiga Maira,
pela amizade e também pelo incentivo a sempre buscar o conhecimento.

A todos os meus familiares,
que mesmo distantes sempre contribuíram com suas orações e pensamento positivo.

A amiga Stefanie,
por insistir em me mostrar sempre o lado bom da vida e me encorajar a buscar novos desafios.

Às minhas queridas amigas Ângela, Aline, Érica e Suzana,
Pelo carinho, companheirismo, parceria nos trabalhos desenvolvidos neste curso e acima de tudo pela amizade que construímos. Adoro vocês!

AGRADECIMENTOS

Agradeço em especial à minha orientadora
Silvia Helena de Carvalho Sales Peres,
por ter me recebido de braços abertos, pela paciência e
pelos ensinamentos tão valiosos que levarei para o resto de minha vida.
Agradeço ainda por ter se tornado, acima de tudo, uma grande amiga.

Ao Professor Arsenio Sales Peres,
que me acolheu nesta instituição e acreditou em meu potencial,
proporcionando assim a realização de alguns de meus sonhos.

Aos Professores do Departamento de Saúde Coletiva
José Roberto de Magalhães Bastos, Magali de Lourdes Caldana, José Roberto Pereira Lauris, Roosevelt da Silva Bastos, Heitor Marques Honório e Nilce Emy Tomita, pelos conhecimentos e experiências transmitidos, e pelo tratamento acolhedor que marcam este departamento.

A amiga e colega de pós-graduação Juliane Marsicano,
pela amizade, carinho, e precioso auxílio na realização deste trabalho.

Aos queridos amigos e colegas de pós-graduação Érica Carvalho, Patrícia Grec, Fabio Carvalho, Cristiane Carvalho, Lívia Maria, Sandra Hortense, Marta Mapengo, Cheila Xavier, Patricia Matos, Ismar Filho e Maurício Spin
pela amizade, auxílio e companheirismo.

A funcionária do Departamento de Saúde Coletiva Rosa Maria da Silva,
pelo carinho imenso e atenção com que sempre trata a todos os pós-graduandos, e pela grande amizade que construímos.

As funcionárias do Departamento de Saúde Coletiva
Silvia Tonin, Marta Liporacci e Helena Mantovani pela atenção, carinho e disposição para ajudar.

Aos funcionários André e Renato,
pelo carinho, paciência e suporte na realização dos experimentos laboratoriais.

À Universidade de São Paulo, na pessoa do Reitor João Grandino Rodas.

À Faculdade de Odontologia de Bauru, na pessoa do diretor
José Carlos Pereira.

À comissão de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Bauru,
na pessoa do presidente Paulo César Rodrigues Conti.

Ao Departamento de Odontopediatria, Ortodontia e Saúde Coletiva,
na pessoa do chefe de departamento Guilherme dos Reis Pereira Janson.

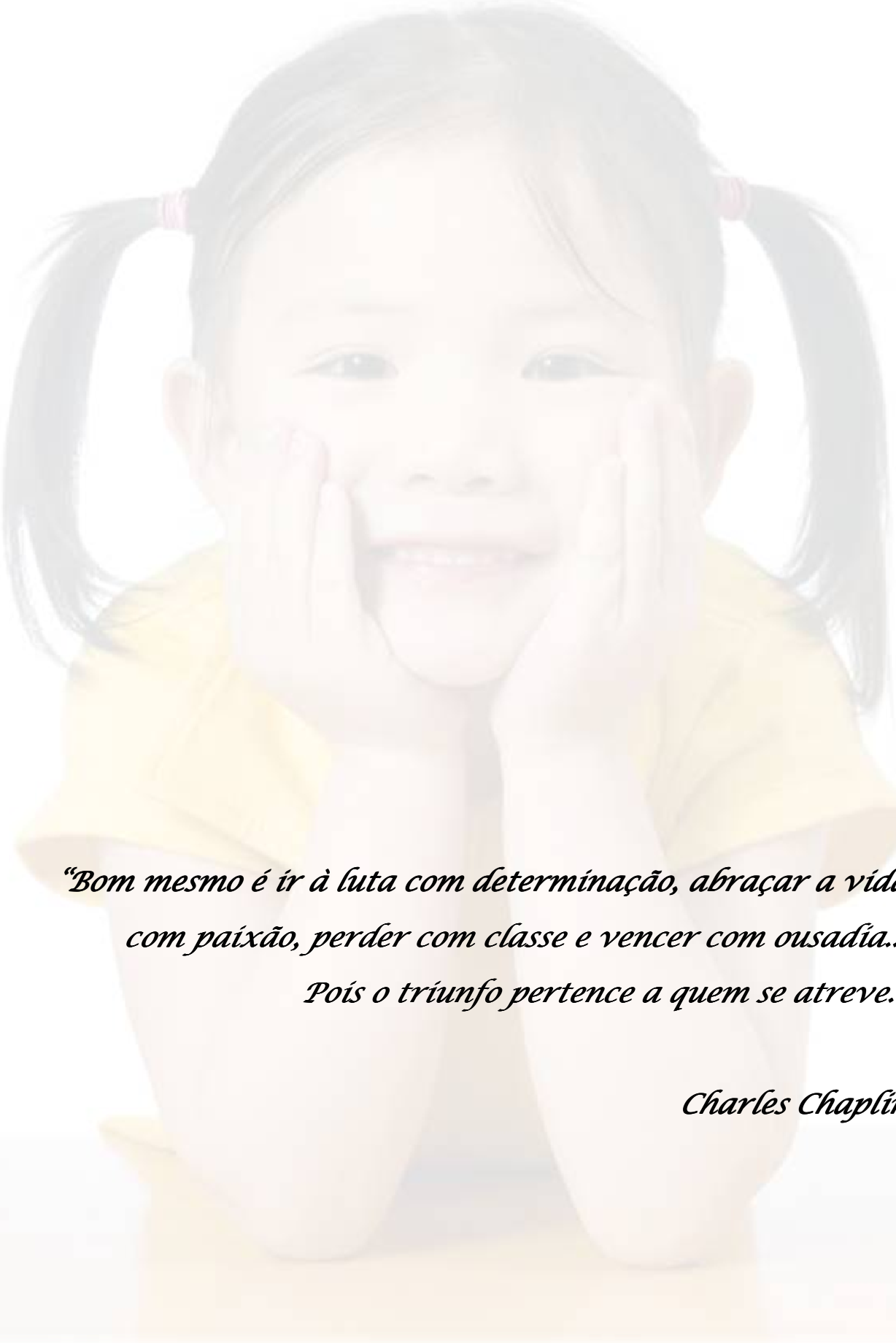
Ao Departamento de Ciências Biológicas, em especial às Áreas de Microbiologia e Bioquímica, que gentilmente cederam espaço em seus laboratórios para a realização desta pesquisa.

Ao Centro Integrado de Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Bauru,
na pessoa do coordenador Vinícius Carvalho Porto.

Aos funcionários da biblioteca, pelo apoio e pelas orientações científicas.

Ao Departamento de Ortodontia e Odontopediatria da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, na pessoa do professor Fausto Medeiros Mendes, pelo empréstimo de um dos equipamentos utilizados nesta pesquisa.

A todos, minha sincera gratidão!



"Bom mesmo é ir à luta com determinação, abraçar a vida com paixão, perder com classe e vencer com ousadia... Pois o triunfo pertence a quem se atreve."

Charles Chaplin

Resumo

RESUMO

Este estudo teve como proposta analisar a efetividade e a influência de diferentes métodos de descontaminação e armazenamento de dentes humanos, visando à manutenção de suas propriedades e integridade estrutural. A amostra foi constituída por 126 molares hígidos recém-extraídos, cedidos ao Banco de Dentes Humanos da FOB-USP, que foram distribuídos de forma randômica em 4 grupos de acordo com o método de processamento empregado: controle - água destilada, timol a 0,1%, azida de sódio a 0,02% e autoclave. Foram realizados testes microbiológicos (07, 15 e 30 dias), de fluorescência a laser e de microdureza de superfície (0, 15 e 30 dias). A análise do teste microbiológico foi realizada de modo qualitativo (presença ou ausência de crescimento bacteriano) e quantitativo (frequências absolutas e relativas), enquanto nos testes de fluorescência a laser e microdureza de superfície houve a aplicação de Análise de Variância e teste de Tukey ($p<0,05$). Na análise microbiológica a autoclave foi o único método capaz de inibir o crescimento bacteriano, em todos os períodos. No teste de fluorescência a laser a solução de timol a 0,1% se mostrou mais viável na manutenção da integridade do órgão dentário, uma vez que não apresentou variações significativas nos valores de fluorescência a laser entre os tempos analisados ($p>0,05$). A análise de microdureza de superfície evidenciou a perda de estrutura dentária em todos os métodos utilizados, sendo que a azida de sódio permitiu uma menor perda de tecido dentário, entretanto este método promoveu perda de estrutura dentária nos espécimes entre o tempo 0 e 15 dias (de 440,20±19,75, para 247,40±21,09), e reendurecimento da superfície dentária entre o tempo 15 e 30 dias (276,93±13,37). Dentre os métodos de processamento analisados nenhum foi capaz de aliar a efetividade na descontaminação e no armazenamento com a manutenção da integridade estrutural dos órgãos dentários.

Palavras-chave: Dente. Controle de Infecções. Bancos de Espécimes Biológicos.

Abstract

ABSTRACT

Analysis of the maintenance of structural integrity of dental organs and the influence of different methods of decontamination and storage

This study aimed to analyze the effectiveness and the influence of different methods of decontamination and storage of human teeth, in order to maintain their properties and structural integrity. The sample consisted of 126 recently extracted molars, assigned to the Human Teeth Bank of Bauru Dental School-University of São Paulo, which were distributed randomly into four groups according to the method of processing employed: control - distilled water, thymol 0.1%, sodium azide 0.02% and autoclave. The tests performed were Microbiological tests (7, 15 and 30 days), laser fluorescence and surface microhardness (0, 15 and 30 days). The analysis of microbiological test was performed qualitatively (presence or absence of bacterial growth) and quantitatively (absolute and relative frequencies), while on tests of laser fluorescence and surface microhardness were applied ANOVA and Tukey test ($p < 0.05$). In the microbiological analysis the autoclave was the only method able to inhibit bacterial growth in all periods. In the laser fluorescence test thymol solution at 0.1% proved to be more viable in maintaining the integrity of the dental organ, since it did not show significant variations in the laser fluorescence values among the analyzed periods ($p > 0.05$). The surface microhardness analysis showed the tooth structure loss in all methods used, and sodium azide led to a smaller tooth tissue loss, however this method promoted the tooth structure loss in the specimens between 0 and 15 days (of 440.20 ± 19.75 to 247.40 ± 21.09), and the hardened tooth surface between 15 and 30 days (276.93 ± 13.37). Among the processing methods analyzed none was able to combine the effectiveness in the decontamination and storage with the maintenance of the structural integrity of the dental organs.

Key words: Tooth. Infection Control. Biological Specimen Banks.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- FIGURAS

Figura 1 - Amostra, grupos piloto e de estudo analisados..... 71

Figura 2 - Grupos de estudo e amostra para a análise microbiológica 73

Figura 3 - Tempos e grupos de estudo da análise microbiológica 74

Figura 4 - Análise microbiológica para os grupos controle, timol e azida 75

Figura 5 - Análise microbiológica para o grupo autoclave 75

Figura 6 - Diluições, semeadura e incubação das amostras 77

Figura 7 - Grupos de estudo e amostra para o teste de fluorescência a laser 79

Figura 8 - Teste de fluorescência a laser 79

Figura 9 - Obtenção dos espécimes de esmalte dentário 82

Figura 10 - Avaliação de microdureza de superfície nos espécimes 83

Figura 11 - Grupos de estudo e amostra no teste de microdureza de superfície 84

Figura 12 - Análise do meio após cultura de 6 horas em estufa a 37°C 89

Figura 13 - Placas referentes às amostras armazenadas por 7 dias 90

Figura 14 - Placas referentes às amostras armazenadas por 15 dias 90

Figura 15 - Placas referentes às amostras armazenadas por 30 dias 91

Figura 16 - Registro e valores médios de microdureza de superfície (em KHN) 94

- GRÁFICOS

Gráfico 1 - Desempenho dos grupos nos tempos 0 e 30 dias e porcentagem de variação no período, no teste de fluorescência a laser..... 92

Gráfico 2 - Desempenho dos grupos em relação à microdureza de superfície, nos tempos inicial e final, e porcentagem de variação no período, na análise de microdureza de superfície..... 95

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Tabela de conversão de valores de fluorescência a laser, fornecida pelo fabricante 78

Tabela 2 - Análise dos meios após 6 horas de cultura: Turvação (+) Límpido (-) 88

Tabela 3 - Média e desvio padrão dos valores obtidos, teste de fluorescência a laser 91

Tabela 4 - Análise de Variância a dois critérios Grupo X Tempo, teste de fluorescência a laser 92

Tabela 5 - Análise de Variância a um critério do percentual de variação entre os tempos inicial e final, teste de fluorescência a laser..... 93

Tabela 6 - Teste de Tukey da porcentagem de variação entre os tempos inicial e final, teste de fluorescência a laser 93

Tabela 7 - Média e desvio padrão dos valores de microdureza de superfície de esmalte, em KHN, obtidas nos grupos 94

Tabela 8 - Análise de Variância a dois critérios Grupo X Tempo, na análise de microdureza de superfície 95

Tabela 9 - Análise de Variância a um critério do percentual de variação entre tempo inicial e final, na análise de microdureza de superfície..... 96

Tabela 10 - Teste de Tukey da porcentagem de variação nos tempos inicial e final, na análise de microdureza de superfície 96

APÊNDICE A Teste de Tukey, comparação entre grupos em T = 0, no teste de fluorescência a laser..... 123

APÊNDICE B Teste de Tukey, comparação entre grupos em T = 15, no teste de fluorescência a laser..... 123

APÊNDICE C Teste de Tukey, comparação entre grupos em T = 30, no teste de fluorescência a laser..... 123

APÊNDICE D Teste de Tukey, comparação entre tempos (0, 15 e 30 dias) no grupo controle, no teste de fluorescência a laser..... 124

APÊNDICE E Teste de Tukey, comparação entre tempos (0, 15 e 30 dias) no grupo timol, no teste de fluorescência a laser..... 124

APÊNDICE F Teste de Tukey, comparação entre tempos (0, 15 e 30 dias) no grupo azida, no teste de fluorescência a laser..... 124

APÊNDICE G Teste de Tukey, comparação entre tempos (0, 15 e 30 dias) no grupo autoclave, no teste de fluorescência a laser..... 125

APÊNDICE H Teste de Tukey, comparação entre grupos em t = 0, na análise de microdureza..... 125

APÊNDICE I Teste Tukey, comparação entre grupos em t = 15, na análise de microdureza..... 125

APÊNDICE J Teste de Tukey, comparação entre grupos em t = 30, na análise de microdureza..... 126

APÊNDICE L Teste de Tukey, comparação entre tempos, grupo controle, na análise de microdureza..... 126

APÊNDICE M Teste de Tukey, comparação entre tempos, grupo timol, na análise de microdureza..... 126

APÊNDICE N Teste de Tukey, comparação entre tempos, grupo azida, na análise de microdureza..... 127

APÊNDICE O Teste de Tukey, comparação entre tempos, grupo autoclave, na análise de microdureza..... 127

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

in vitro (latim)	em laboratório
in situ (latim)	em sítio, no local
BDH	Banco de Dentes Humanos
FOB	Faculdade de Odontologia de Bauru
USP	Universidade de São Paulo
nm	nanômetro
FO	Faculdade de Odontologia
pH	potencial de hidrogenação
CIP	Centro Integrado de Pesquisa
mL	mililitro
µL	microlitro
µM	micrômetro
BHI	Brain Heart Infusion
UFC	Unidades Formadoras de Colônias
mm	milímetro
cm	centímetro
g	grama
KHN	valor de dureza Knoop
C	constante para o cálculo da dureza Knoop
c	carga
d	comprimento da maior diagonal de impressão
ANOVA	Análise de Variância
dp	desvio padrão

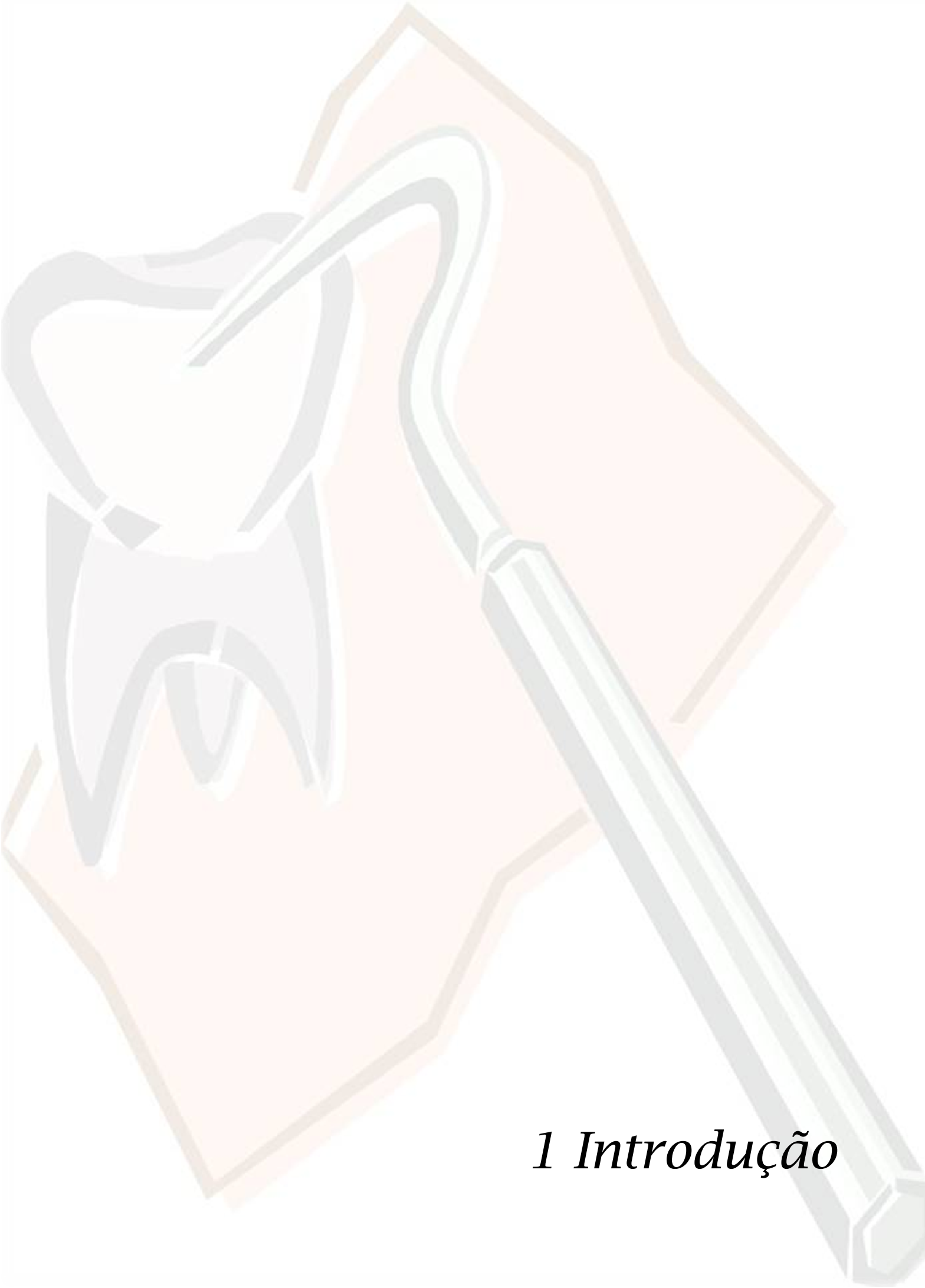
LISTA DE SÍMBOLOS

%	por cento
°C	grau Centígrado
<	menor
>	maior
+	positivo
-	negativo
±	mais ou menos
p	nível de significância

SUMÁRIO

1 **INTRODUÇÃO** 43
2 **REVISÃO DE LITERATURA** 49
2.1 ESTRUTURA DO ÓRGÃO DENTÁRIO 49
2.2 UTILIZAÇÃO DE ÓRGÃOS DENTÁRIOS 50
2.2.1 No ensino 51
2.2.2 Na pesquisa 52
2.2.3 Em restaurações biológicas 54
2.3 POTENCIAL PATOGÊNICO DOS ÓRGÃOS DENTÁRIOS 54
2.4 DESCONTAMINAÇÃO E ARMAZENAMENTO DE ÓRGÃOS DENTÁRIOS 56
2.4.1 Descontaminação 56
2.4.2 Armazenamento 58
2.5 INFLUÊNCIA DO PROCESSAMENTO DE ÓRGÃOS DENTÁRIOS EM ESTUDOS IN VITRO 61
3 **PROPOSIÇÃO** 67
3.1 OBJETIVO GERAL 67
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 67
4 **MATERIAL E MÉTODOS** 71
4.1 ASPECTOS ÉTICOS 71
4.2 AMOSTRA 71
4.3 TESTES 72
4.3.1 Análise Microbiológica 72
4.3.2 Fluorescência a Laser 77
4.3.3 Microdureza de Superfície 80
4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA 84
5 **RESULTADOS** 87
5.1 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA 87
5.2 FLUORESCÊNCIA A LASER 91
5.3 MICRODUREZA DE SUPERFÍCIE 94
6 **DISCUSSÃO** 99
7 **CONCLUSÕES** 109

REFERÊNCIAS 113
APÊNDICES 123
ANEXOS 131



1 Introdução

1 INTRODUÇÃO

Os órgãos dentários são constituídos por mais de dois tipos de tecidos, possuem forma reconhecida e exercem funções específicas no organismo, assim como os demais órgãos do corpo humano (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1999). Entretanto, os cuidados dispensados a estes órgãos após a sua remoção não são adequados, sendo negligenciada a correta armazenagem, descarte, e, quando da sua utilização, o consentimento livre e esclarecido de seus doadores.

Após a sua extração os elementos dentários podem ser utilizados em atividades didáticas (COSTA *et al*, 2007; BRASIL *et al*, 2002; PAULA *et al*, 2001), científicas (KOMABAYASHI *et al*, 2009; CASELATO *et al*, 2007; DEWALD, 1997) e clinico – terapêuticas (TANNURE *et al*, 2009; AGUIAR *et al*, 2000; SCHNEIDER *et al*, 1997; BUSATO *et al*, 1985).

A utilização de órgãos dentários em atividades didáticas foi demonstrada em um estudo com acadêmicos do Estado de Minas Gerais, onde 88,9% dos alunos entrevistados haviam sido solicitados a utilizar órgãos dentários em sua vida acadêmica, sendo que em 80% dos casos para treinamento laboratorial. Ainda nesta pesquisa, 40% dos acadêmicos alegaram ter conseguido dentes em clínicas particulares (COSTA *et al*, 2007).

A utilização de elementos dentários em experimentos laboratoriais *in vitro* contribui para o desenvolvimento de novas técnicas e materiais odontológicos (FARAH *et al*, 2010; MANTON *et al*, 2010). Embora estudos *in vitro* tenham melhorado a compreensão do processo de desmineralização e remineralização, não se pode simular a natureza complexa da cavidade oral. Por outro lado, os estudos *in situ* servem como uma ponte entre a situação clinica sem controle de váriaveis e a situação de laboratório (SRINIVASAN *et al*, 2010). A utilização de elementos dentários nestas modalidades de pesquisa requer especial atenção por parte dos pesquisadores, uma vez que o órgão dentário é considerado como potencial fonte de patógenos (SCHULEIN, 1994).

A confecção de restaurações biológicas através de coroas ou fragmentos dentários é um método de restauração que preserva a estrutura dentária e possibilita um resultado estético satisfatório, recuperando assim a anatomia dentária e a função oclusal, por meio de uma relação custo-benefício favorável quando comparada ao

material dentário artificial (COSTA *et al*, 2007). Os elementos dentários extraídos também podem ser aproveitados para a confecção de mantenedores de espaço em crianças que perderam precocemente seus dentes por cárie dentária ou traumatismos (TANNURE *et al*, 2009).

O uso de elementos dentários de origem desconhecida em atividades acadêmicas e científicas coloca em risco a saúde de quem os manipula e pode ainda alimentar um comércio ilegal de órgãos humanos (BRASIL *et al*, 2002).

A proposta de funcionamento de um banco de dentes como um grande arquivo foi proposta por Schwartz (1994), quando do estudo da possibilidade de se realizar transplantes dentários, onde estes elementos seriam identificados e catalogados, e as informações sobre doadores e receptores poderiam ser compatibilizadas (SCHWARTZ, 1994). Foi relatada a presença de bancos de dentes em vários países no mundo com procedimentos semelhantes para o processamento de órgãos dentários (IMPARATO, 2003).

Os Bancos de Dentes Humanos (BDH) são definidos como “os locais responsáveis pela captação, retirada, processamento, armazenamento e a distribuição de órgãos dentais para fins terapêuticos, de ensino e pesquisa” (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

As ações dos BDHs tanto no fornecimento de órgãos dentários para a realização de pesquisas científicas, formação acadêmica, quanto na conscientização e valorização do órgão dentário, contribuem positivamente para que o desenvolvimento científico da Odontologia seja acompanhado de princípios éticos e legais (SALES-PERES *et al*, 2009).

Estudo realizado em uma Faculdade de Odontologia do Estado de Santa Catarina demonstrou grande resistência por parte dos alunos em doarem suas coleções particulares de dentes ao BDH da instituição, sendo o motivo desta resistência o desconhecimento sobre o funcionamento da entidade (ZUCCO *et al*, 2006).

A utilização de dentes extraídos requer a adoção de medidas para o controle de infecções, como o uso de equipamentos de proteção individual tais como gorro, máscara, luvas e óculos de proteção (IMPARATO, 2003; SCHULEIN, 1994).

Recurso como a descontaminação dos órgãos dentários também se faz necessário a fim de garantir a segurança de pesquisadores e acadêmicos. O processo de desinfecção visa eliminar microrganismos em sua forma vegetativa,

muitas vezes sem a destruição de esporos bacterianos ou fúngicos. Já os processos de esterilização mostram-se capazes de destruir todas as formas de vida microbiana, quer seja em forma vegetativa ou esporulada (IMPARATO, 2003).

As formas de armazenamento e o tempo decorrido até a sua utilização são importantes fatores a serem considerados quando do manejo de órgãos dentários, sendo capazes de alterar as propriedades físicas das estruturas constituintes dos mesmos, como por exemplo, a dentina (KOMABAYASHI *et al*, 2009; RAUM *et al*, 2007; STRAWN *et al*, 1996).

A manutenção da integridade do elemento dentário deve ser sempre considerada quando da escolha do método de descontaminação e de armazenamento a serem utilizados, tendo em vista que estes podem interferir nos resultados de testes laboratoriais como os de resistência de união (MOBARAK *et al*, 2010; CAVALCANTI *et al*, 2009; CASELATO *et al*, 2007; HUMEL *et al*, 2007; LEE *et al*, 2007; TOLEDANO *et al*, 2007; LI *et al*, 2001; TITLEY *et al*, 1998; GOODIS *et al*, 1993; PASHLEY *et al*, 1993), microinfiltração (LI *et al*, 2001; ARAÚJO *et al*, 1999; CAMPS *et al*, 1996; HALLER *et al*, 1993) e permeabilidade dentinária (CAMPS *et al*, 1994; GOODIS *et al*, 1993; PASHLEY *et al*, 1993; GOODIS *et al*, 1991).

A justificativa para a realização deste estudo baseia-se na necessidade de se comprovar a efetividade de diferentes métodos de processamento de órgãos dentários, visando não só o controle de infecções cruzadas como também a manutenção de suas propriedades e integridade estrutural, para que se possa realizar a cessão de elementos dentários de forma adequada tanto para as atividades didáticas quanto para as atividades científicas.

2 Revisão de Literatura

2 REVISÃO DE LITERATURA

A presente revisão de literatura será apresentada em tópicos, para que seja mais didática e organizada.

2.1 ESTRUTURA DO ÓRGÃO DENTÁRIO

Os órgãos dentários são formados por duas partes distintas a coroa e a raiz, que são unidas em uma porção intermediária estrangulada denominada colo. Participam de importantes funções como a mastigação, na articulação de palavras e também na estética facial (MADEIRA, 2000). Estas estruturas são formadas por duas porções calcificadas, esmalte e dentina, e uma porção não calcificada, a polpa (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1999).

O esmalte é um tecido altamente mineralizado que recobre a coroa dentária, é proveniente da atividade de secreção e de reabsorção das células epiteliais, sendo assim um tecido acelular (AVERY, 2005). É a estrutura do corpo humano mais rica em cálcio e também a mais dura, pois contém 97% de sais de cálcio em sua composição, e apenas 3% de água e matéria orgânica. Em sua composição estrutural encontram-se os prismas do esmalte (unidade estrutural básica do esmalte), que são estruturas alongadas hexagonais, calcificadas, assim como o material cimentante que os unem (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1999).

A dentina é formada principalmente pelos produtos de secreção dos odontoblastos, é o tecido mineralizado que constitui o corpo dos dentes, servindo também como cobertura protetora da polpa dentária. O tecido dentinário maduro é constituído por cerca de 70% mineral, 20% matriz orgânica e 10% de água, quando nos referimos ao seu peso, ou então de 30% orgânica e 20% de água com base em seu volume básico. Na dentina, a hidroxiapatita é o principal componente inorgânico encontrado na matriz dentinária, e encontram-se na forma de placas achatadas com aproximadamente 60 a 70 nm de comprimento, 20 a 30 nm em sua largura e 3 a 4 nm de espessura (AVERY, 2005). A principal característica estrutural deste tecido deve-se à presença dos túbulos dentinários, estruturas responsáveis pela permeabilidade dentinária. A permeabilidade pode ser descrita como uma consequência da densidade tubular, ou seja, da quantidade e diâmetro dos túbulos por área específica (THOMAS, 1985).

A polpa dentária é formada por tecido conjuntivo mucoso, em indivíduos jovens, e tecido conjuntivo frouxo em adultos. Predominam em sua estrutura os fibroblastos estrelados e fibras colágenas orientadas em várias direções, porém sem formar feixes (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1999). O tecido pulpar é dotado de células que a conferem funções como a odontogênica, nutritiva, sensorial e de defesa, o que lhe permite atuar na preservação da vitalidade dentária através da manutenção da homeostase normal e dos processos de reparo após injúrias (AVERY, 2005).

2.2 UTILIZAÇÃO DE ÓRGÃOS DENTÁRIOS

A utilização de dentes humanos é realizada há muitos séculos desde os povos da antiguidade, e estes eram valorizados não só por sua função, mas também como sinônimo de força e de beleza (IMPARATO, 2003).

Os órgãos dentários extraídos são rotineiramente utilizados em atividades didáticas (COSTA *et al*, 2007; BRASIL *et al*, 2002; PAULA *et al*, 2001), científicas (KOMABAYASHI *et al*, 2009; CASELATO *et al*, 2007; DEWALD, 1997) e clinico – terapêuticas (TANNURE *et al*, 2009; AGUIAR *et al*, 2000; SCHNEIDER *et al*, 1997; BUSATO *et al*, 1985). E para que isso ocorra de forma ética é importante seguir as normas propostas para as pesquisas realizadas no Brasil.

A aquisição destes elementos deve respeitar os princípios básicos da bioética como autonomia, não-maleficência, beneficência e justiça. Nos casos em que os dentes são obtidos de forma irregular o principal questionamento se faz acerca da vontade do indivíduo em doá-los. O respeito à autonomia dos indivíduos deve abranger, além do direito de escolha individual, a privacidade e a liberdade do sujeito de pesquisa (MARSICANO *et al*, 2008).

A Resolução nº196/96 do Conselho Nacional de Saúde (BRASIL, 1996) assegura os princípios éticos nas pesquisas que envolvem a participação de seres humanos. Segundo o texto, as pesquisas em pessoas com diagnóstico de morte encefálica devem ser pautadas no consentimento explícito da família, documento comprobatório da morte e respeito integral à dignidade, sem mutilação ou violação. Assim, a utilização de órgãos ou partes do corpo humano, como os dentes, em pesquisas devem obedecer às exigências legais.

A Lei Brasileira de Transplantes (BRASIL, 2001) possibilitou o reconhecimento dos elementos dentários como órgãos e ainda *dispõe sobre a remoção de órgãos, tecidos e partes do corpo humano para fins de transplante e tratamento e dá outras providências*. A lei permite a disposição gratuita de tecidos, órgãos e partes do corpo humano, em vida ou post mortem, para fins de transplante e tratamento. Os cirurgiões-dentistas que exageram e falseiam diagnósticos para realizar extrações dentárias com a finalidade de venda dos dentes podem ser enquadrados segundo o artigo 14 (parágrafos 1º e 2º), quando o crime é cometido mediante paga ou promessa de recompensa ou por outro motivo torpe e quando este resulta ainda para o paciente em debilidade permanente de membro, sentido ou função e prevê pena de no mínimo três anos de reclusão e multa.

As pesquisas que envolvem a utilização de dentes humanos também devem ser realizadas em instituições de pesquisa credenciadas, que possuem um Comitê de Ética em Pesquisa em consonância com a legislação vigente, infra-estrutura de suporte à pesquisa suficiente, e devem demonstrar expressamente de onde e como serão obtidos os elementos dentários a serem utilizados. O consentimento livre e esclarecido dos doadores é imprescindível para comprovar a origem destes dentes (IMPARATO, 2000).

2.2.1 No ensino

Na busca aos elementos dentários necessários às atividades acadêmicas, estudantes curvam-se a um comércio de dentes humanos, prática que transgride leis, princípios bioéticos, e que pode ainda colocar em risco a saúde daqueles que os manipulam, pois estes órgãos possuem origem desconhecida e raramente são submetidos a processos de descontaminação antes de seu uso (CARVALHO, 2001).

Estima-se que uma Faculdade de Odontologia deva utilizar em média 3.000 dentes humanos, por semestre, em atividades de ensino e pesquisa (IMPARATO, 2000). Considerando-se o número de cursos existentes em todo o país, acredita-se que são utilizados mais de 560.000 elementos dentários por semestre, o correspondente aos arcos dentários de aproximadamente 20.000 pessoas, com 28 dentes cada (CFO, 2009).

Em pesquisa realizada no Estado de São Paulo Gabrielli Filho *et al.* verificaram que quase a metade dos acadêmicos entrevistados (47%) havia comprado dentes humanos em sua vida acadêmica, seja para uso laboratorial ou pesquisas e destes aproximadamente 40% obtiveram estes dentes em cemitérios, por intermédio de coveiros (GABRIELLI FILHO *et al*, 1999).

Um estudo analisou a comercialização de dentes humanos envolvendo 924 estudantes de Odontologia e observou-se que 70,6% dos estudantes entrevistados, no Rio de Janeiro, haviam adquirido dentes humanos e a maior parte das aquisições de dentes também havia sido feita em cemitérios. As principais disciplinas que exigiram a apresentação de dentes para o aprendizado foram a Endodontia e a Dentística (PAULA *et al*, 2001).

A utilização de dentes humanos por acadêmicos da Faculdade de Odontologia da USP foi investigada sendo observado que em 95%, dos 190 questionários distribuídos, os estudantes entrevistados tinham ciência de que o comércio de dentes é ilegal, porém 45% compraram dentes para a execução de atividades laboratoriais pré-clínicas (BRASIL *et al*, 2002).

A percepção de graduandos e pós-graduandos em Odontologia indianos foi analisada mostrando que apenas 85,71% destes indivíduos consideraram que elementos dentários extraídos apresentavam potencial patogênico e por volta de 88% buscaram realizar algum processo de descontaminação prévio à utilização de dentes em suas atividades didáticas (KUMAR *et al*, 2005).

Estudo realizado na Faculdade de Odontologia da Unimontes (Estado de Minas Gerais) mostrou que 88,9% dos alunos entrevistados haviam sido solicitados a utilizar órgãos dentários em sua vida acadêmica, sendo que em 80% dos casos para treinamento laboratorial. Ainda nesta pesquisa, 40% dos acadêmicos alegaram ter conseguido dentes em clínicas particulares (COSTA *et al*, 2007).

2.2.2 Na pesquisa

O estudo *in vitro* envolve experiências realizadas fora de qualquer organismo vivo e permite acompanhar um processo bioquímico em um ambiente "simplificado". Apesar de muito úteis, estudos *in vitro* são obviamente muito limitados, já que em um organismo vivo ocorrem inúmeros outros processos que podem interferir na ação daquela substância, um resultado positivo em um estudo *in*

vitro, portanto, é apenas o primeiro passo no estudo de um medicamento ou técnica, por exemplo. Os estudos *in vitro* são mais simples, mais baratos e realizados em maior quantidade, gerando uma base de conhecimentos usados para determinar quais as linhas mais promissoras de ação (CASTRO, 2004).

A utilização de elementos dentários em experimentos laboratoriais *in vitro* contribui para o desenvolvimento de novas técnicas e materiais odontológicos (FARAH *et al*, 2010; MANTON *et al*, 2010). Uma vez que elementos dentários recém-extraídos nem sempre estão disponíveis em número suficiente para a realização destas pesquisas estes são armazenados em soluções desinfetantes durante o período de coleta a fim de prevenir a colonização bacteriana dos dentes e a contaminação cruzada de pesquisadores (HALLER *et al*, 1993).

Embora estudos *in vitro* tenham melhorado a compreensão do processo de desmineralização e remineralização, não se pode simular a natureza complexa da cavidade oral. Por outro lado, os estudos in situ servem como uma ponte entre a situação clinica sem controle de váriaveis e a situação de laboratório (SRINIVASAN *et al*, 2010).

Os modelos de estudo *in situ* para cárie dentária, por exemplo, envolvem a utilização de dispositivos que criam circunstâncias da boca humana que simulam o processo de cárie dentária, controlando as variáveis clínicas e mantendo as situações controladas dos laboratórios (SOUZA *et al*, 2010; ZERO, 1995).

Para analisar desafios erosivos e abrasivos também se tem adotado modelos *in situ,* visando simular os desafios *ex vivo*, na tentativa de se reproduzir os processos de desmineralização e relacionar aos benefícios da saliva humana (SALES-PERES *et al*, 2007).

Portanto, estudos *in situ* são mais desejáveis para obter informações clinicamente relevantes na des-remineralização da estrutura do dente, seja para cárie, erosão dentária ou no teste de novos materiais odontológicos (GRAZZIOTIN *et al*, 2011; LIPPERT *et al*, 2011).

2.2.3 Em restaurações biológicas

O uso de elementos dentários e seus fragmentos têm sido relatados com relativo sucesso na confecção de restaurações, coroas naturais e aparelhos protéticos.

Chosack e Eildelman (1964) propuseram a colagem de um fragmento dentário ao remanescente utilizando resina composta na tentativa de devolver funções como mastigação e estética (CHOSAK e EIDELMAN, 1964).

Outra pesquisa descreveu o uso da nova técnica passo a passo quando da colagem de fragmentos dentários extraídos e armazenados em um Banco de Dentes (GABRIELLI *et al*, 1981).

Há relatos na literatura científica de casos clínicos onde elementos dentários foram reutilizados para a confecção de coroas biológicas, sendo que o procedimento mostrou-se viável tecnicamente, de baixo custo e de boa aceitação por parte do paciente (SCHNEIDER *et al*, 1997).

Aguiar et al. (2000) relataram que apesar deste tipo de procedimento não ter conseguido um resultado estético ideal, para um dado caso clínico, a colagem homógena do fragmento dentário foi um meio alternativo para a restauração de elementos dentários fraturados (AGUIAR *et al*, 2000).

A utilização de dentes decíduos na confecção de mantenedores de espaço estéticos foi relatada como alternativa ao modelo tradicional, que além de guardar o espaço para o dente sucessor ao elemento dentário perdido ainda proporciona o restabelecimento estético do paciente (TANNURE *et al*, 2009).

Os Bancos de Dentes Humanos são de grande importância no acesso aos órgãos dentários, uma vez que contribuem na obtenção, esterilização e armazenagem dos órgãos dentários (IMPARATO, 2003).

2.3 POTENCIAL PATOGÊNICO DOS ÓRGÃOS DENTÁRIOS

A necessidade da realização de controle de infecções cruzadas através dos dentes utilizados nas atividades laboratoriais foi enfatizada, sendo preconizados cuidados para o manejo seguro dos elementos dentários extraídos (SCHULEIN, 1994).

A utilização de elementos dentários de origem desconhecida pode expor os acadêmicos e os pesquisadores ao risco de contaminação, via órgão dentário. Ficou demonstrado que os dentes podem ser considerados como uma fonte potencial de infecções aos acadêmicos e deveriam então ser desinfetados antes de seu uso (TATE e WHITE, 1991).

Microorganismos potencialmente patogênicos têm sido identificados em elementos dentários utilizados para a prática de abertura coronária durante as atividades laboratoriais (DOMINICI *et al*, 2001). Estes microorganismos podem causar doenças como gripes, pneumonia, tuberculose, herpes, hepatite e até a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (COUNCIL ON DENTAL MATERIALS et al., 1988 apud DEWALD, 1997).

O aerossol gerado a partir de procedimentos odontológicos possui partículas que podem permanecer em suspensão no ar por horas, e até mesmo penetrar nas vias respiratórias dos indivíduos presentes no ambiente (DEWALD, 1997).

Costa *et al*. (2007) relataram que 89,8% dos acadêmicos pesquisados afirmaram realizar procedimentos para a descontaminação dos elementos dentários antes de seu manuseio, sendo descritos desde a simples lavagem em água até a esterilização em autoclave, e tendo sido o hipoclorito de sódio em diferentes concentrações o meio mais citado (COSTA *et al*, 2007).

A necessidade de se realizar procedimentos para o controle de infecções cruzadas foi enfatizada por Schulein (1994) que preconizou uma seqüência de passos para o manejo seguro de órgãos dentários extraídos (SCHULEIN, 1994). A técnica propôs a importância do uso de equipamento de proteção individual como máscara, gorro, luvas, óculos de proteção e o uso de substâncias germicidas para descontaminação dos dentes.

Shaffer *et al*. (1985) afirmaram que o controle de infecção deve ser realizado nas atividades que envolvam uso de dentes humanos extraídos para reduzir o risco de transmissão de doenças (SHAFFER *et al*, 1985).

Recomendações da American Dental Association (ADA) e do Centre for Disease Control (CDC) tratam da remoção de organismos capazes de transmitir doenças de itens utilizados em práticas odontológicas, como os órgãos dentários utilizados para o desenvolvimento e aperfeiçoamento de técnicas operatórias (KUMAR *et al*, 2005).

As medidas para o controle de infecções via órgãos dentários não devem se restringir apenas à desinfecção ou esterilização dos dentes, como também a esterilização dos instrumentais e uso de equipamentos de proteção individual (DOMINICI *et al*, 2001).

2.4 DESCONTAMINAÇÃO E ARMAZENAMENTO DE ÓRGÃOS DENTÁRIOS

2.4.1 Descontaminação

Segundo Imparato (2003) é difícil selecionar um método de descontaminação e padronizá-lo para todos os dentes, independente de condição, uma vez que ainda não há método que associe eficácia e preservação da integridade dentária e que seja economicamente acessível aos Bancos de Dentes Humanos (IMPARATO, 2003).

Caselato *et al.* (2007) ressaltaram a importância da escolha de método de descontaminação que não altere as propriedades do substrato, a fim de que não haja interferência em testes com materiais restauradores ou no sucesso de restaurações biológicas (CASELATO *et al*, 2007).

A descontaminação dos órgãos dentários pode ser realizada através de métodos químicos (soluções) e métodos não químicos (calor úmido, radiação gama e óxido de etileno).

Dentre os métodos químicos utilizados destacam-se as soluções de formalina (CASELATO *et al*, 2007; HUMEL *et al*, 2007; LEE *et al*, 2007; KUMAR *et al*, 2005; DOMINICI *et al*, 2001; WHITE *et al*, 1994; HALLER *et al*, 1993; TATE e WHITE, 1991), glutaraldeído (CASELATO *et al*, 2007; LEE *et al*, 2007; DOMINICI *et al*, 2001; TATE e WHITE, 1991) e timol (HUMEL *et al*, 2007; ZISKIND *et al*, 2003; WHITE *et al*, 1994; HALLER *et al*, 1993).

O uso da solução de formalina para a descontaminação de dentes humanos tem se mostrado controverso na literatura científica. A formalina é um composto de formaldeído, álcool metílico e acetato de sódio em água. Em um estudo sobre a microinfiltração em sistemas adesivos dentinários observou-se que o grupo de dentes conservados em solução de formalina a 10% apresentou valores significativamente menores em relação aos demais grupos, porém os autores

atribuem este resultado a uma alteração no substrato ocasionado pela formalina (HALLER *et al*, 1993). De acordo com Caselato *et al*. (2007) não foram encontradas diferenças significativas na resistência adesiva e microinfiltração marginal de espécimes estocados em formalina em relação aos outros métodos testados (CASELATO *et al*, 2007). Em testes laboratoriais sobre meios de desinfecção de dentes humanos para fins didáticos observou-se que a formalina foi a única solução capaz de penetrar na câmara pulpar efetivamente (TATE e WHITE, 1991).

O glutaraldeído é um dialdeído composto por cinco carbonos saturados e que possui excelente atividade esporicida, ação esta dada pela lise de proteínas celulares e também considerada rara entre os agentes químicos, geralmente apenas bactericidas (IMPARATO, 2003). A efetividade desta solução na descontaminação de elementos dentários foi analisada empregando-se esporos de um microorganismo resistente aos processos de esterilização, o *Bacillus stearothermophilus*. Observou-se que a solução de glutaraldeído foi efetiva em apenas 50% das amostras analisadas (DOMINICI *et al*, 2001). Para Tate e White (1991) a solução de glutaraldeído poderia ser utilizada como um efetivo desinfetante da superfície dentária, porém apenas quando a parte interna dos dentes não fosse acessada (TATE e WHITE, 1991).

O timol é um composto fenólico que atua como agente oxidante reagindo com radicais livres, sendo largamente empregado para inibir o crescimento de microorganismos nos meio de conservação (GOODIS *et al*, 1993), podendo ocasionar a inibição da polimerização de monômeros de metacrilato, o que poderia influenciar em testes de adesividade dentinária (HUMEL *et al*, 2007; ZISKIND *et al*, 2003; HALLER *et al*, 1993). É um dos meios de descontaminação mais utilizado tanto em estudos *in vitro* (DE-MELO *et al*, 2010; FARAH *et al*, 2010; RODRIGUEZ e BARTLETT, 2010) quanto em estudos *in situ* (LIPPERT *et al*, 2011; SALES-PERES *et al*, 2007; ZAURA-ARITE e TEN CATE, 2000), porém são escassos na literatura científica estudos sobre sua efetividade no controle de infecções cruzadas via órgãos dentários.

São descritos também métodos de esterilização que não se utilizam de soluções como o calor úmido da Autoclave (CASELATO *et al*, 2007; HUMEL *et al*, 2007; LEE *et al*, 2007; KUMAR *et al*, 2005; DOMINICI *et al*, 2001; AMAECHI *et al*, 1998; PARSELL *et al*, 1998; TATE e WHITE, 1991), Óxido de Etileno (PASHLEY *et*

al, 1993) e Radiação Gama (HUMEL *et al*, 2007; AMAECHI *et al*, 1998; STRAWN *et al*, 1996; WHITE *et al*, 1994).

A esterilização em autoclave é considerada como um efetivo método para uso em dentes humanos tanto para atividades didáticas quanto para a pesquisa (DOMINICI *et al*, 2001). Este processo promoveu valores satisfatórios de força de adesão frente a diferentes sistemas adesivos (HUMEL *et al*, 2007). A utilização de autoclave para a esterilização de dentes extraídos para fins didáticos foi recomendada por se tratar de uma técnica de baixo custo, fácil execução e efetividade no controle de infecções (PARSELL *et al*, 1998). A efetividade de diferentes métodos de desinfecção e esterilização foi comparada em diferentes modelos de estudos. Elementos dentários foram expostos a um resistente microorganismo e submetidos à esterilização, sendo os meios mais efetivos a esterilização por autoclave e a exposição à formalina por 7 dias (DOMINICI *et al*, 2001).

O óxido de etileno é um gás incolor e solúvel em água, poderoso agente esterilizante e pode ser inflamável em concentrações superiores a 3% no ar, sendo tóxico quando inalado (IMPARATO, 2003). Testes de permeabilidade dentinária indicaram que este método não ocasionou alterações significativas (PASHLEY *et al*, 1993).

A radiação gama é utilizada na indústria alimentícia e em ambientes hospitalares, sendo letal a todas as formas de vida bacteriana. Este processo é de custo elevado e de execução complexa, podendo até promover mudanças de coloração da estrutura dentária (IMPARATO, 2003). Em estudo sobre o uso desta modalidade, dentes extraídos foram expostos ao microorganismo *Bacillus subtilis*, largamente utilizado para monitoramento de processos de esterilização, e esterilizados com eficiência e não apresentando alterações da estrutura dentária (WHITE *et al*, 1994).

2.4.2 Armazenamento

A condição e o tempo de armazenamento dos elementos dentários extraídos parecem ser importantes variáveis em pesquisas que se utilizam deste tipo de material, em especial os estudos *in vitro* (PIMENTEL *et al*, 2002), mas a falta de padronização nas metodologias utilizadas para a estocagem de dentes humanos

pode comprometer os resultados de vários estudos, uma vez que a natureza química de alguns meios utilizados pode comprometer a estrutura dentária.

Os meios de armazenagem podem ser utilizados para prevenir a desidratação dos espécimes, como também pode incorporar substâncias antimicrobianas a fim de evitar o crescimento de microorganismos nas soluções e controlar alterações no pH destas soluções (ZISKIND *et al*, 2003).

Segundo Costa et al. a forma de armazenamento dos dentes extraídos é capaz de interferir principalmente na dentina alterando as propriedades físicas e ópticas, permeabilidade, resistência adesiva, influenciando os testes de microinfiltração, adesão, tração, cisalhamento e endodontia (COSTA *et al*, 2007).

Assim como na descontaminação, o armazenamento de elementos dentários pode ser realizado através de métodos químicos (soluções) e métodos não químicos (congelamento, criopreservação e desidratação).

Dentre as soluções utilizadas para o armazenamento de órgãos dentários encontram-se azida de sódio (KOMABAYASHI *et al*, 2009; HUMEL *et al*, 2007; TOLEDANO *et al*, 2007; LI *et al*, 2001; ARAÚJO *et al*, 1999), água destilada (KOMABAYASHI *et al*, 2009; LEE *et al*, 2007; ARAÚJO *et al*, 1999; GOODIS *et al*, 1993), cloramina (HUMEL *et al*, 2007; LEE *et al*, 2007; ROLLAND *et al*, 2007; TITLEY *et al*, 1998; CAMPS *et al*, 1996), soro fisiológico (LEE *et al*, 2007; RAUM *et al*, 2007; ARAÚJO *et al*, 1999; CAMPS *et al*, 1994; LOWE *et al*, 1994; GOODIS *et al*, 1993).

A azida de sódio (NaN_3) é um sal de ácido hidrazóico obtido pela ação de óxido de nitrogênio (N_2O) em sodamina quente ($NaNH_2$), comercialmente apresenta-se como um sólido cristalino ou branco e com boa solubilidade em água (LEITE, 2007). Esta solução tem sido utilizada a fim de inibir o crescimento microbiano em dentes devido a um mecanismo de complexo de íons metálicos e deslocamento de enzimas. Por não se tratar de uma solução fixadora, é esperado que haja menos ligações cruzadas com o colágeno presente na estrutura dentária (KOMABAYASHI *et al*, 2009; HUMEL *et al*, 2007).

A solução de cloramina apresenta-se como um efetivo desinfetante de superfície que é reduzido a *para*-tolueno-sulfonamida (*p*TSA) quando em contato com material orgânico, sendo a ação deste substrato sobre a estrutura dentária ainda desconhecida (ROLLAND *et al*, 2007). Esta substância tem sido recomendada

para o controle de infecções para fins científicos, tendo em vista que não apresenta efeitos adversos na parte orgânica da dentina (TITLEY *et al*, 1998). Em alguns testes de adesividade não apresentou resultado satisfatório como solução para o armazenamento de órgãos dentários (HUMEL *et al*, 2007; TITLEY *et al*, 1998).

A água destilada possui baixo custo, fácil obtenção e tem sido relatada como solução de armazenamento, utilizada em Bancos de Dentes Humanos (IMPARATO, 2003), não sendo observadas diferenças entre dentes estocados nesta solução e outros como a formalina (KOMABAYASHI *et al*, 2009). Em estudo sobre a influência do armazenamento dos elementos dentários sobre a resistência ao cisalhamento observaram-se os melhores resultados em dentes estocados em água destilada (LEE *et al*, 2007).

O soro fisiológico foi uma das primeiras soluções utilizadas para o armazenamento de órgãos dentários (IMPARATO, 2003), contudo observaram-se alterações na estrutura dentária de elementos submetidos a testes de resistência de união e permeabilidade dentinária (GOODIS *et al*, 1993). A utilização desta solução também ocasionou alterações nas propriedades elásticas da dentina (RAUM *et al*, 2007) e diminuição significativa da resistência ao cisalhamento (LEE *et al*, 2007).

Há também relatos de uso de meios alternativos às soluções como o congelamento (HUMEL *et al*, 2007; FRANCESCUT *et al*, 2006; ARAÚJO *et al*, 1999), a criopreservação (CAMPS *et al*, 1996; CAMPS *et al*, 1994) e a desidratação dos dentes (TOLEDANO *et al*, 2007; ARAÚJO *et al*, 1999).

O processo de congelamento de elementos dentários pode ser realizado a seco ou com a imersão dos espécimes em água ou solução salina. Este método foi recomendado na literatura como o que melhor preserva as características do tecido dentário (HUMEL *et al*, 2007; FRANCESCUT *et al*, 2006; ARAÚJO *et al*, 1999).

A criopreservação é uma técnica de conservação que preserva as características biológicas do tecido ou órgão armazenado (IMPARATO, 2003). O armazenamento de órgãos dentários por meio desta técnica permite sua estocagem em grande número, além não interferir na permeabilidade dentinária (CAMPS *et al*, 1994).

A desidratação de dentes extraídos para posterior armazenamento parece ser uma alternativa simples para a sua guarda. Diferenças significativas não foram observadas quando se compararam a adesividade em dentes desidratados ou

armazenados em soluções, evidenciando-se apenas o aparecimento de fissuras na superfície de esmalte e ocasional separação de esmalte e dentina (MOBARAK *et al*, 2010). Araújo *et al*. (1999) demonstram a inferioridade nos resultados de grupos submetidos a esta técnica em testes de microinfiltração marginal, mesmo quando os dentes são reidratados previamente aos testes (ARAÚJO *et al*, 1999).

A umidade do tecido dentinário parece ser um importante fator a ser considerado no momento de escolha do meio de armazenagem dos dentes extraídos. Há relato do uso de soluções de azida de sódio e formalina para o armazenamento de elementos dentários por períodos de até 14 dias, havendo aumento na umidade em todos os grupos, porém sem diferença significativa entre os meios (KOMABAYASHI *et al*, 2009).

O tempo de armazenamento dos elementos dentários parece ser outro fator importante a ser considerado, quando da sua utilização em atividades científicas como os estudos *in vitro* (GOODIS *et al*, 1993). Mudanças químicas e nas propriedades ópticas da superfície dentinária foram relatadas em função do meio de armazenagem e do tempo, fatores importantes a ser considerados ao se estudar este tecido (CAVALCANTI *et al*, 2009; STRAWN *et al*, 1996).

Em estudo sobre a influência dos meios de conservação sobre a permeabilidade dentinária o fator tempo mostrou-se relevante para amostras analisadas em 8, 15 e 180 dias (GOODIS *et al*, 1993).

Os efeitos do meio de armazenagem e do tempo necessitam ser mais bem esclarecidos, caracterizados e controlados quando do uso de tecido dentinário, uma vez que as informações disponíveis na literatura científica sobre as alterações estruturais da dentina em diferentes meios de armazenagem mostram-se insuficientes (STRAWN *et al*, 1996). Espécimes armazenados por 12 meses em solução de azida de sódio apresentaram aumento na nanoinfiltração marginal em um sistema adesivo (LI *et al*, 2001).

2.5 INFLUÊNCIA DO PROCESSAMENTO DE ÓRGÃOS DENTÁRIOS EM ESTUDOS *IN VITRO*

Uma das maneiras adotadas pelos clínicos para selecionar os produtos e as técnicas para uso em sua rotina de trabalho é comparar seus desempenhos em testes *in vivo* e *in vitro* (LEE *et al*, 2007).

A resistência de união (MOBARAK *et al*, 2010; CAVALCANTI *et al*, 2009; CASELATO *et al*, 2007; HUMEL *et al*, 2007; LEE *et al*, 2007; TOLEDANO *et al*, 2007; LI *et al*, 2001; TITLEY *et al*, 1998; GOODIS *et al*, 1993; PASHLEY *et al*, 1993) e a microinfiltração (LI *et al*, 2001; ARAÚJO *et al*, 1999; CAMPS *et al*, 1996; HALLER *et al*, 1993) de diferentes sistemas adesivos frente aos diferentes métodos de descontaminação e armazenamento de elementos dentários tem sido amplamente abordada na literatura científica.

Mobarak *et al.* (2010) relataram que as variáveis tempo e condições de armazenamento de elementos dentários (solução de cloramina e desidratação) não foram capazes de interferir significativamente na resistência de união à microtração de dois sistemas adesivos (MOBARAK *et al*, 2010). Fato observado em outro estudo, onde a solução utilizada foi timol e os dentes foram submetidos ao armazenamento em diferentes tempos (24 horas, 15 dias, 30 dias e 180 dias), não foram encontradas interferências das condições estudadas nos resultados do teste de resistência de união à microtração (CAVALCANTI *et al*, 2009).

A permeabilidade dentinária é uma das propriedades dos elementos dentários que pode ser afetada pelos métodos de descontaminação ou armazenamento selecionados (CAMPS *et al*, 1994; GOODIS *et al*, 1993; PASHLEY *et al*, 1993; GOODIS *et al*, 1991). Em condições normais a dentina está protegida pelo esmalte na porção coronal e pelo cemento na porção radicular. Quando, por algum motivo, o dente perde parte dessas estruturas a dentina fica exposta ao meio bucal podendo tornar-se hiperestésica uma vez que seus túbulos estão abertos e desprotegidos, sujeitos a levar estímulos, mecânicos, elétricos, térmicos e osmóticos que constantemente acometem os dentes, diretamente para as terminações nervosas da polpa (PEREIRA, 1995). Segundo Pashley, Livingston e Greenhill (1978) a mínima permeabilidade dos espécimes é determinada pela presença de *smear layer* ocluindo os túbulos, permitindo a mínima passagem de fluidos pela dentina. De acordo com esses autores, a alteração que a *smear layer* provoca na superfície da dentina é responsável por 86% da resistência total da movimentação de fluidos no interior da dentina (PASHLEY *et al*, 1978). A permeabilidade máxima é determinada pela remoção da *smear layer* por desmineralização, que provoca um aumento significativo na filtração dos fluidos pela dentina.

O efeito da esterilização de elementos dentários através de autoclave e óxido de etileno na permeabilidade dentinária foi estudado, não sendo observadas alterações significativas desta propriedade (PASHLEY *et al*, 1993). A conservação de dentes através da criopreservação mostrou-se eficiente na preservação da permeabilidade dentinária de espécimes submetidos a esta técnica por até 90 dias (CAMPS *et al*, 1994).

O processamento de órgãos dentários utilizados em pesquisas também pode interferir em outras propriedades físicas destes elementos como a resposta a testes de fluorescência (FRANCESCUT *et al*, 2006). A superfície dentária fluoresce quando irradiada pela luz de determinados comprimentos de onda, onde a luz do laser é absorvida por substâncias orgânicas e inorgânicas presentes nos tecidos dentários, e pelos metabólitos das bactérias presentes na boca. São estes metabólitos que demonstraram resultar na fluorescência vermelha da dentina cariada (JABLONSKI-MOMENI *et al*, 2011). Uma proposta apresentada na literatura científica se pauta no uso de fluorescência induzida por laser para tentar quantificar a perda mineral do esmalte foi introduzida através do aparelho DIAGNOdent. Este aparelho é um método de diagnóstico quantitativo da cárie por fluorescência induzida por um laser de diodo emitindo na faixa do visível (vermelho) com comprimento de onda de 655 nm (HIBST e GALL, 1998). A luz de excitação é transmitida ao dente através de uma fibra óptica e a detecção ocorre através de um feixe de fibras arranjado concentricamente ao redor desta fibra. A cárie fluoresce mais do que o esmalte e dentina saudáveis (PULGA, 2001).

Francescut *et al.* (2006) analisaram a perda mineral e de bactérias por influência do meio de armazenagem nos valores de fluorescência a laser, mensurados em dentes extraídos e encontraram diferenças significativas entre aqueles que foram congelados apenas e outros submetidos a diferentes meios químicos. Relataram que a redução nos valores de fluorescência poderia estar relacionada tanto a uma modificação química dos receptores de luz, quanto a mudanças nas propriedades ópticas dos dentes como a dispersão de tecidos duros durante longos períodos de armazenagem. Os autores concluíram que são necessários outros estudos utilizando diferentes meios de armazenagem para que possa esclarecer a influência dessa condução nas propriedades da fluorescência (FRANCESCUT *et al*, 2006).

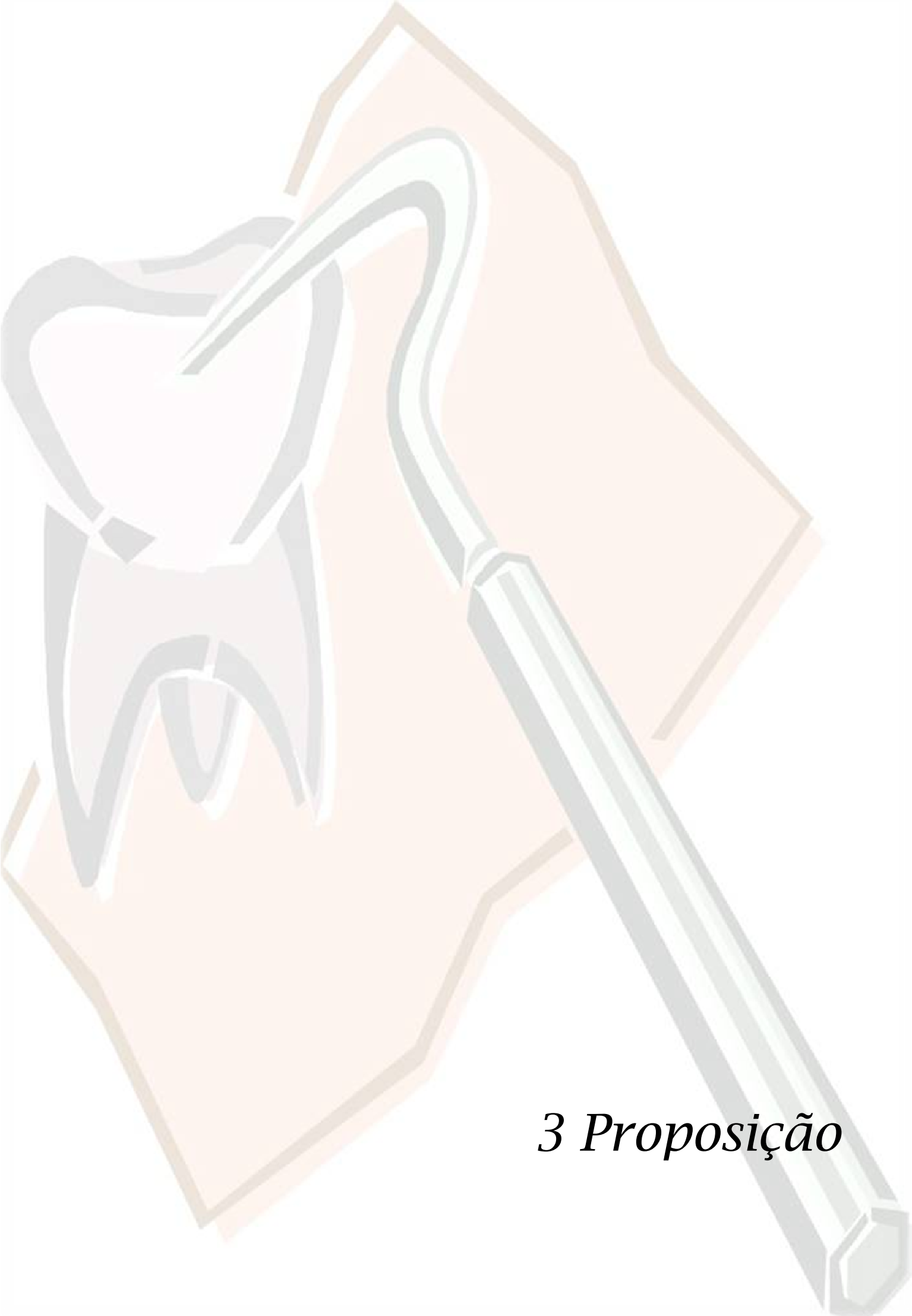
Em um estudo sobre a efetividade de diferentes métodos de esterilização sobre a susceptibilidade do esmalte dentário utilizado em testes cariogênicos intra-orais os autores observaram alterações na coloração da superfície de esmaltes dos espécimes utilizados e destacaram a utilização da esterilização através da exposição a raios gama para este tipo de teste (AMAECHI *et al*, 1998).

Mudanças químicas e nas propriedades ópticas da superfície dentinária foram relatadas em função do meio de armazenagem e do tempo. Os dentes foram previamente esterilizados por raios gama e armazenados em diferentes soluções (água filtrada, timol, etanol e formalina), os autores sugerem a estocagem de dentes em água purificada e filtrada quando da utilização do tecido dentinário (STRAWN *et al*, 1996).

Parsell et al. (1998) analisaram os efeitos da esterilização em autoclave sobre elementos dentários através de um teste quantitativo (microdureza de superfície) e outro qualitativo (percepção de corte). Observaram-se modificações na microdureza dos espécimes submetidos à autoclave, que não influenciaria na utilização destes dentes em atividades didáticas, e na análise qualitativa não foi possível distinguir entre os dentes submetidos à autoclave ou não (PARSELL *et al*, 1998).

A fim de se estudar a preservação das propriedades microelásticas do esmalte e da dentina *in vitro* realizou-se um estudo sobre a influência do meio de armazenamento nestas características, sendo observadas alterações em espécimes estocados em solução salina, dado pela rápida dissolução de minerais na dentina (RAUM *et al*, 2007).

Segundo a literatura científica consultada, tanto a eleição de um método de descontaminação/armazenamento de órgãos dentários, quanto o tempo de estocagem destes elementos parecem ser conflitantes e dependentes dos testes *in vitro* ou *in situ* a serem realizados posteriormente, sendo então necessários novos estudos acerca da efetividade dos diferentes meios de descontaminação e armazenamento de dentes e a sua influência nas características físicas dos espécimes analisados.



3 Proposição

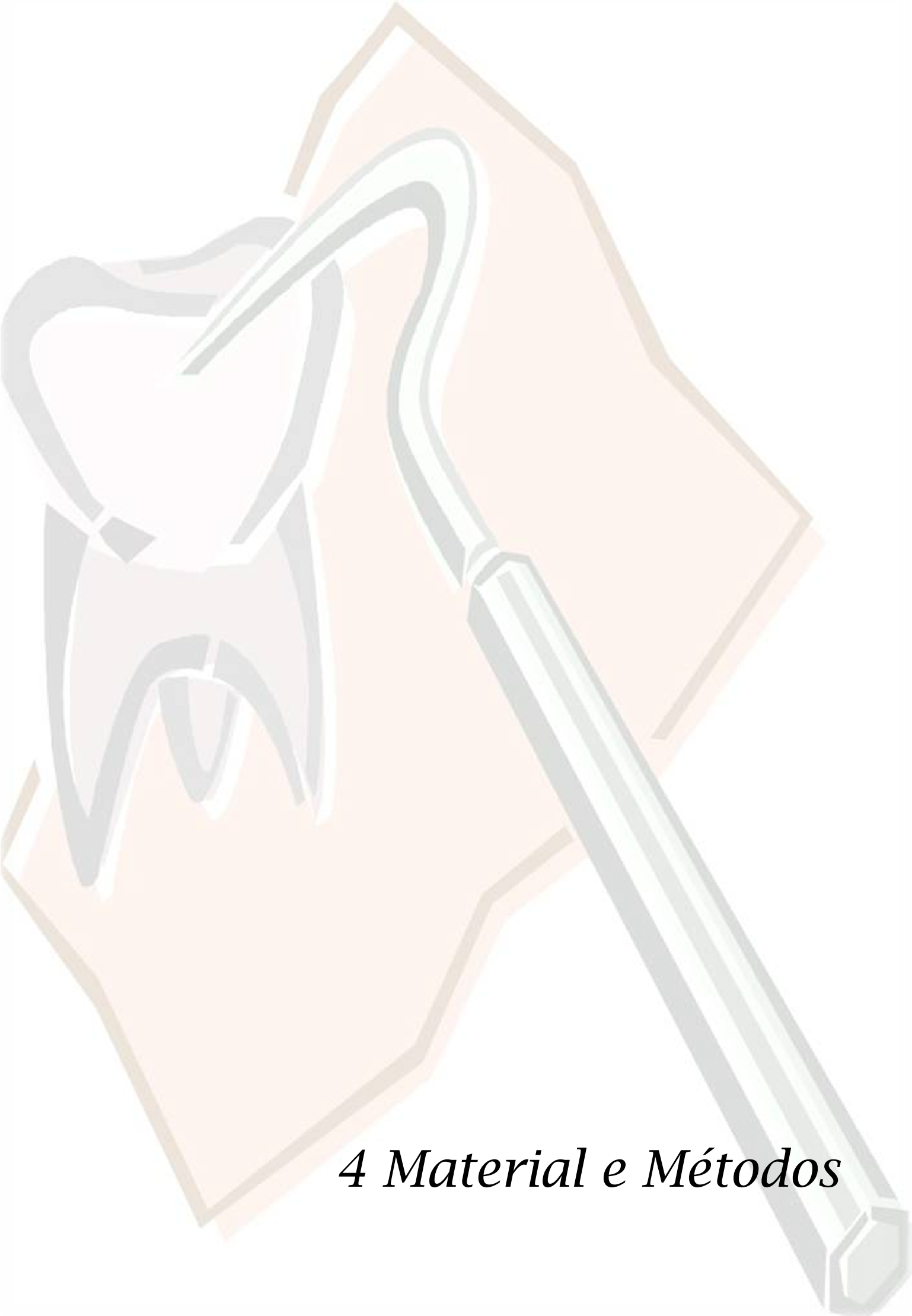
3 PROPOSIÇÃO

3.1 OBJETIVO GERAL

Analisar a efetividade e a influência de diferentes métodos de descontaminação e armazenamento de dentes humanos, visando à manutenção de suas propriedades e integridade estrutural.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Analisar a efetividade de diferentes métodos de descontaminação adotados quando do uso de elementos dentários extraídos, através de análise microbiológica;
- ✓ Analisar as alterações na estrutura dentária destes elementos através de testes de Fluorescência a Laser e de Microdureza de Superfície.



4 Material e Métodos

4 MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização do presente estudo houve uma integração entre o Centro Integrado de Pesquisa (CIP), o Banco de Dentes Humanos (BDH) e o Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Odontologia de Bauru-USP. Foram utilizadas as infra-estruturas físicas de laboratórios e equipamentos disponíveis no CIP e no Laboratório de Microbiologia, enquanto o BDH realizou a cessão dos elementos dentários utilizados para os testes executados.

4.1 ASPECTOS ÉTICOS:

Este projeto foi encaminhado para apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Bauru (CEP FOB-USP), processo nº 118/2008 aprovado em 26/11/2008.

4.2 AMOSTRA:

Foram utilizados 126 molares hígidos recém-extraídos (Figura 1), cedidos ao BDH da FOB-USP, que foram armazenados em recipientes plásticos identificados e contendo água filtrada, desde a sua extração até seu preparo prévio (limpeza através de curetas, escova de cerdas em náilon e água corrente). Estes elementos dentários foram distribuídos de forma randômica em 5 grupos, um piloto e outros 4 de estudo de acordo com o método de processamento empregado:

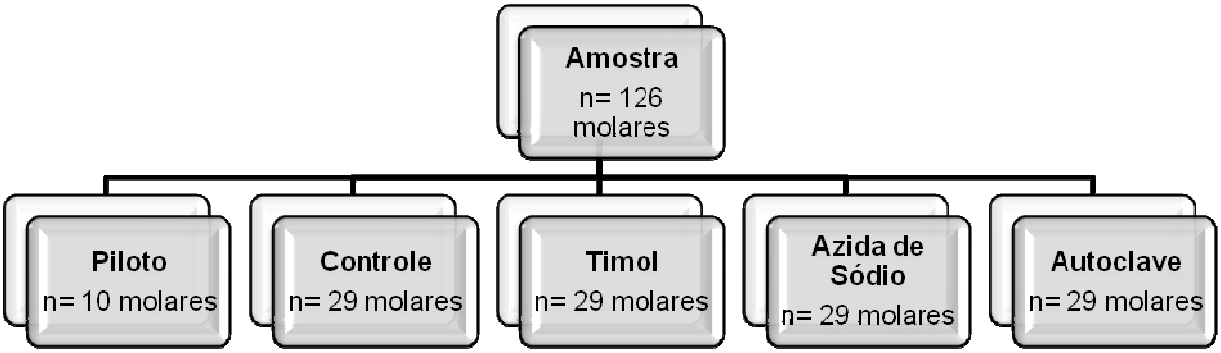


Figura 1 – Amostra, grupos piloto e de estudo analisados.

4.3 TESTES

Em cada grupo teste os elementos dentários foram subdivididos e submetidos a três testes: Microbiológico, de Fluorescência a Laser e de Microdureza de Superfície.

A fim de garantir a fidelidade dos resultados obtidos neste estudo realizou-se a titulação das soluções utilizadas: Solução de Timol a 0,1% e Solução de Azida de Sódio a 0,02%.

4.3.1 Análise Microbiológica:

Etapa Piloto:

Inicialmente realizou-se um estudo piloto a fim de se determinar a presença ou a ausência de contaminação prévia nos órgãos dentários, uma vez que estes elementos foram cedidos ao BDH da FOB-USP e sua origem era desconhecida.

Em uma câmara de fluxo laminar foram selecionados 10 molares permanentes hígidos, cinco para o grupo controle e cinco para o grupo piloto experimental. Em seguida estes dentes foram depositados em dois recipientes estéreis com tampa contendo 40 mL de caldo Brain Heart Infusion (BHI) cada. Em um dos recipientes inoculou-se 40 µL de caldo contendo esporos do microorganismo *Bacillus subtilis* (teste), enquanto o outro recipiente permaneceu sem contaminação (controle). Ambas as amostras foram acondicionadas em estufa a 37°C, onde permaneceram por um período de 24 horas.

Após o período de incubação foram retiradas as amostras dos caldos, seu conteúdo depositado em lâminas de vidro que foram, na sequência, fixadas pela Coloração de Gram (BRASIL, 1997). As lâminas foram analisadas em microscópio óptico e as cepas dos microorganismos identificadas para cada grupo.

Etapa experimental:

Foram submetidos a esta análise 60 molares, 15 para cada grupo teste. Para a realização deste estudo foi utilizada uma câmara de fluxo laminar para limitar a influência de fatores externos às análises.

Para análise microbiológica, escolheu-se o microorganismo *Bacillus subtilis*, por ser resistente, apresentar grande potencial para esporulação e já ter sido empregado em estudos similares sobre a descontaminação de dentes humanos (WHITE *et al*, 1994), sendo que foram cedidos imersos em caldo BHI na concentração de 3,5 x 10^4, pelo Laboratório de Microbiologia da FOB-USP.

Os elementos dentários foram expostos ao *Bacillus subtilis* através de sua imersão em tubos de ensaio contendo 40 mL de caldo BHI (Brain Heart Infusion) e 40µL de caldo contendo esporos do microorganismo, por um período de 24 horas, em estufa e à temperatura de 37ºC.

Após esta etapa os dentes pertencentes ao grupo Autoclave foram envoltos em gaze e acondicionados em envelopes auto selantes, sendo levados à Autoclave para um ciclo de esterilização de 15 minutos a 121ºC, sendo excluído o processo de secagem no aparelho.

Na etapa seguinte os elementos dentários de todos os grupos foram retirados da solução (Controle, Timol e Azida) ou embalagem (Autoclave), com auxílio de pinça clínica estéril e imersos nas respectivas soluções para os testes (figura 2).

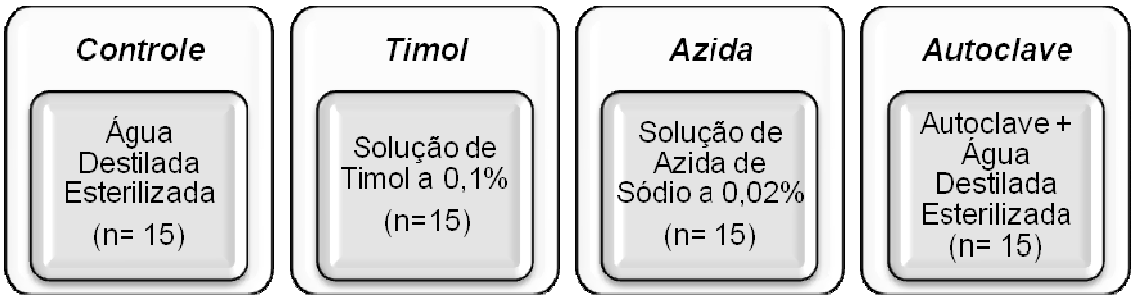


Figura 2 – Grupos de estudo e amostra para a análise microbiológica.

Cada grupo foi armazenado em tubos tipo Falcon, sob refrigeração (4ºC) e ao abrigo da luz como segue:

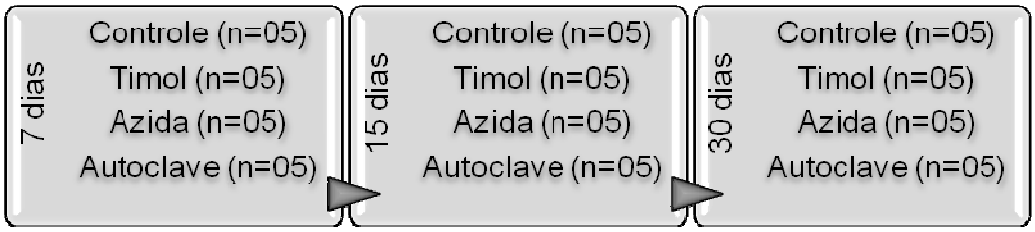


Figura 3 – Tempos e grupos de estudo da análise microbiológica.

Após os dados períodos (Figura 3), os tubos contendo os dentes foram retirados do refrigerador e deixados por 5 minutos à temperatura ambiente. Em seguida os dentes foram retirados das soluções, secos em gaze estéril e introduzidos em novos tubos contendo caldo BHI (Brain Heart Infusion), que foram armazenados em estufa por 6 horas a 37ºC.

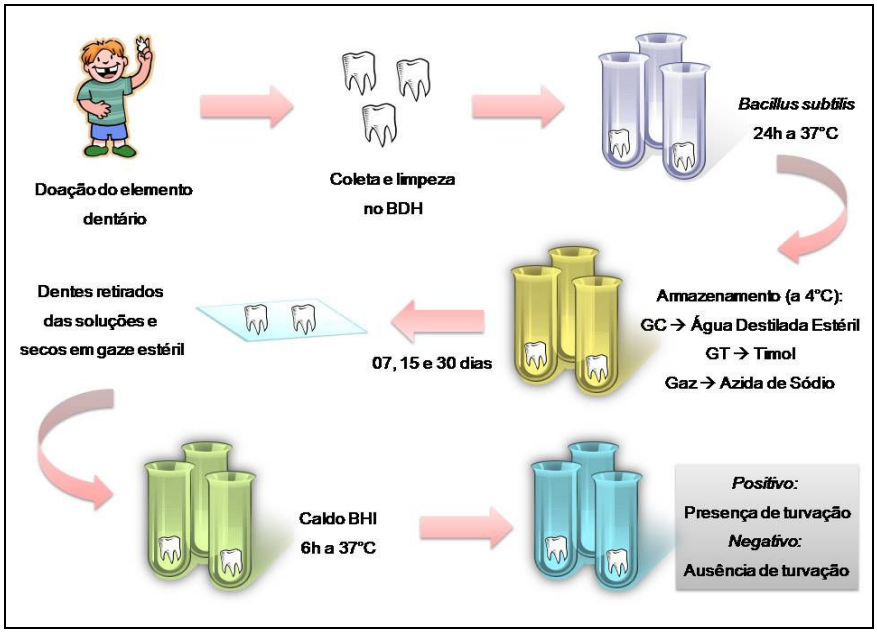


Figura 4 – Análise microbiológica para os grupos controle, timol e azida.

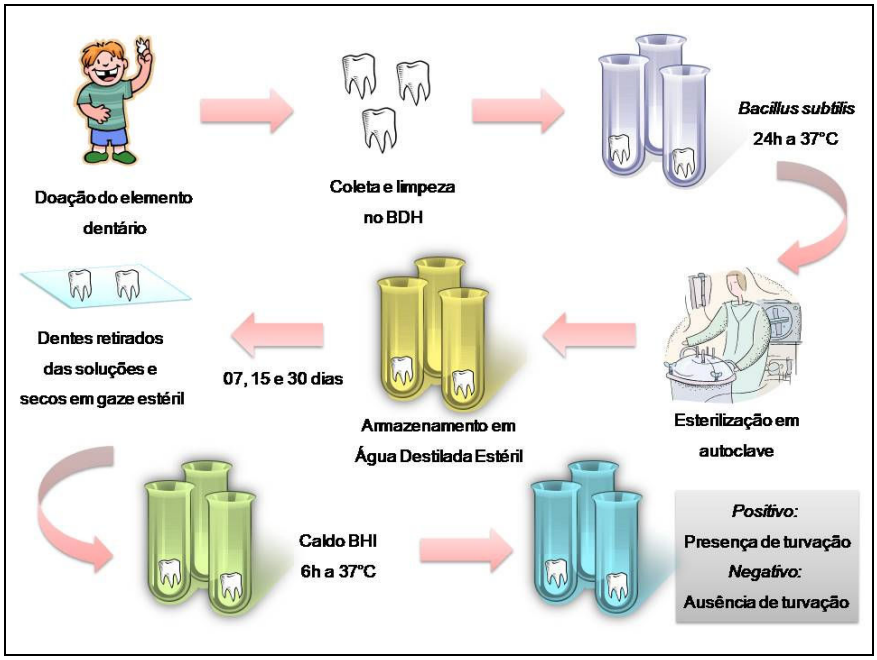


Figura 5 – Análise microbiológica para o grupo autoclave.

Análise das amostras

Decorrido o período de espera de 6 horas, os tubos contendo caldo + dente foram submetidos à análise inicial quanto à turvação do meio (Figuras 4 e 5). Originalmente o meio de cultura (caldo BHI) se apresentava com coloração amarela clara e límpida, sendo considerada esta condição como resultado negativo ao crescimento bacteriano, e quando da presença de turvação deste meio as amostras foram consideradas como positivas, para o crescimento bacteriano.

Para confirmar os resultados desta análise (positivos ou negativos) realizaram-se diluições decimais seriadas (10^{-1} a 10^{-3}), semeadura e incubação do caldo contido nos tubos. As diluições foram realizadas em tubos de ensaio contendo 9 mL de solução fisiológica estéril (Figura 6).

A transferência das soluções de um tubo para outro foi realizada com auxílio de pipetas graduadas estéreis. Nesta etapa 1mL de caldo foi retirado do tubo contendo o dente e transferido para o tubo da primeira diluição (10^{-1}), então 1mL do conteúdo deste tubo foi transferido para o segundo e assim por diante, até o terceiro tubo. Alíquotas de 50µl das diluições 10^{-2} e 10^{-3} foram semeadas na superfície de placas contendo Agar BHI, por meio de uma pipeta graduada automática, iniciando-se sempre da solução mais diluída para a menos diluída. Os inóculos foram espalhados sobre os meios contidos nas placas com auxílio de um bastão de vidro estéril e em forma de L.

A incubação das placas foi realizada em estufa por 24 horas a 37°C. Após este período as placas foram analisadas quanto à presença/ausência de Unidades Formadoras de Colônias (UFC).

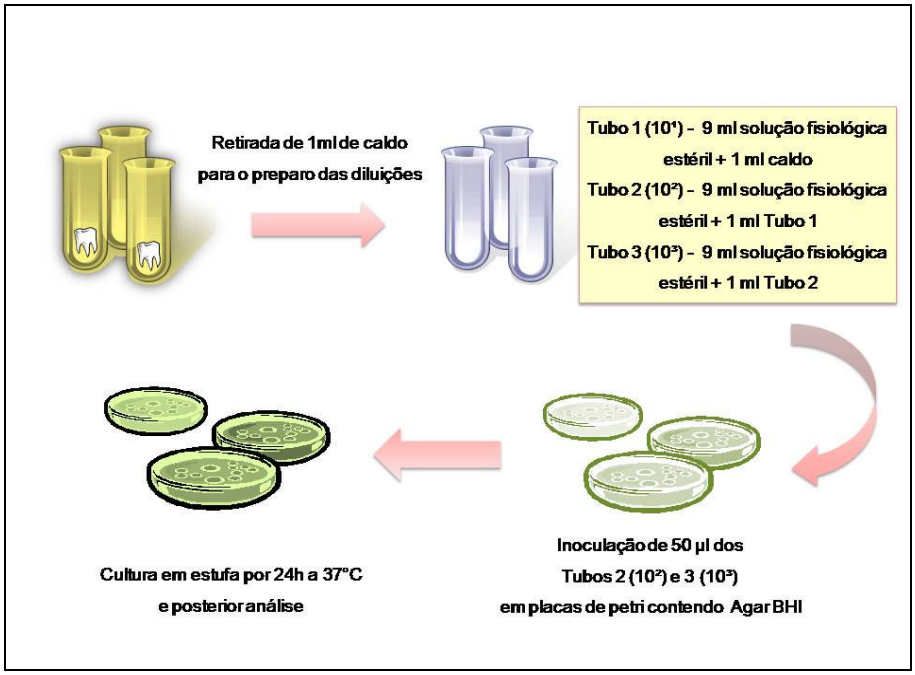


Figura 6 – Diluições, semeadura e incubação das amostras.

4.3.2 Fluorescência a Laser

Registro inicial dos valores de Fluorescência a Laser

Foram submetidos a esta análise 40 molares, 10 para cada grupo teste. Os dentes foram submetidos à análise de Fluorescência a Laser através do aparelho DIAGNOdent® (KAVO, BIBERACH, ALEMANHA), gentilmente cedido pelo Departamento de Ortodontia e Odontopediatria da FO-USP. De acordo com as instruções do fabricante, antes do início da mensuração de cada elemento dentário, foi realizada a calibração do aparelho em seu padrão cerâmico.

Este aparelho é utilizado rotineiramente para a detecção de cáries em dentes de paciente em consultórios odontológicos e para este fim utiliza-se a classificação fornecida pelo fabricante (Tabela 1).

Tabela 1 – Tabela de conversão de valores de fluorescência a laser, fornecida pelo fabricante.

Valor	Critério
0 a 5	Ausência de cárie
6 a 10	Lesão na metade externa do esmalte, inicial ou pouco avançada
11 a 20	Lesão na metade interna do esmalte (junção amelo dentinária)
21 a 24	Lesão de dentina (metade externa da dentina)
≥ 25	Lesão de dentina avançada (metade interna da dentina)
99	Indica lesão pulpar

Previamente a cada mensuração os dentes foram deixados por 5 minutos à temperatura ambiente. Em seguida estes foram imersos em água deionizada, secos em gaze estéril e distribuídos de forma randômica em quatro grupos (Controle, Timol, Azida de Sódio e Autoclave).

Para cada dente utilizado obteve-se um valor de referencia na superfície lisa adjacente à utilizada no estudo. Foram selecionados e identificados cinco sítios na superfície vestibular de cada elemento dentário para análise, obtenção e registro dos valores, sendo obtida posteriormente uma média para cada elemento dentário e grupo de estudo.

Para o grupo Autoclave após os registros iniciais, os dentes foram acondicionados em embalagens auto selantes e submetidos ao processo de esterilização (15 minutos a 121 ºC, excluindo-se o processo de secagem).

Etapa experimental:

Após análise inicial da fluorescência a laser os elementos dentários foram acondicionados em recipientes plásticos com tampa, imersos nas respectivas soluções (Figura 7) e armazenados sob refrigeração (4ºC) e ao abrigo da luz.

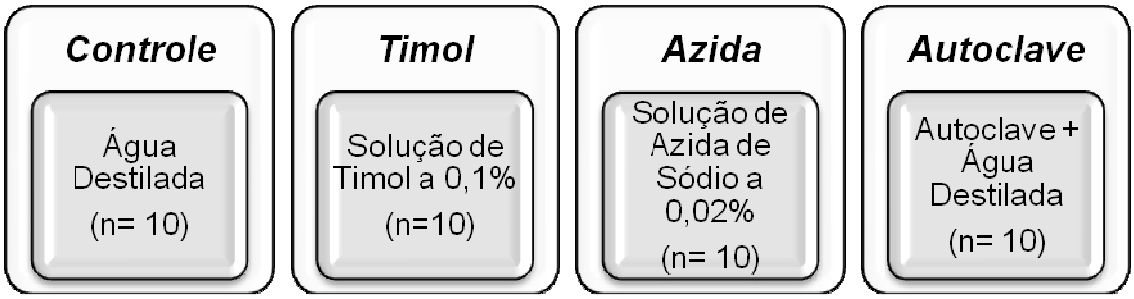


Figura 7 – Grupos de estudo e amostra para o teste de fluorescência a laser.

Figura 8 – Teste de fluorescência a laser.

Novos registros de fluorescência a laser (Figura 8) foram obtidos após 15 e 30 dias de armazenamento nas soluções.

4.3.3 Microdureza de Superfície

Obtenção e preparo dos espécimes de esmalte

Foram utilizados 16 molares hígidos. Após a extração os dentes foram limpos com auxílio de curetas, escova de cerdas em nylon e água, sendo posteriormente armazenados sob refrigeração, em recipientes com tampa contendo água deionizada até o momento de sua utilização.

Para o preparo dos espécimes de esmalte os elementos dentários foram seccionados com o auxílio de um aparelho de corte de precisão ISOMET Low Speed Saw (BUEHLER LTD., LAKE BLUFF, IL, USA), obtendo-se duas frações, vestibular e lingual. Para este primeiro corte realizou-se a fixação prévia dos dentes com cera pegajosa Kota (KOTA IND. E COM. LTDA., SÃO PAULO, SP, BRASIL), sendo posteriormente adaptado à máquina de corte.

Em seguida as secções foram fixadas com godiva termoativada (KERR CORPORATION, U.S.A.) em um dispositivo metálico para a realização de novo corte. Com o auxílio de dois discos diamantados dupla face - XL 12205, “High concentration”, 102 mm X 0,3 mm X 12,7 mm (EXTEC CORP., ENFIELD, CT, USA/ REF: 12205) e um espaçador de aço inoxidável (7cm de diâmetro, 4mm de espessura e orifício central de 1,3 cm) entre os discos com velocidade de 300rpm, refrigerado com água deionizada, foram obtidos os blocos de esmalte de 4 mm X 4 mm da porção mais plana da coroa, através de uma secção dupla no sentido cérvico-incisal e outra no sentido mésio-distal. Novamente os espécimes foram selecionados e aqueles que apresentaram rachaduras ou manchas foram eliminados.

Para a planificação e polimento dos espécimes os blocos foram fixados com cera pegajosa Kota (KOTA IND. E COM. LTDA., SÃO PAULO, SP, BRASIL) com o auxílio de uma cureta (DUFLEX, 55 G/SS, WHITE, ARTIGOS DENTÁRIOS LTDA, RIO DE JANEIRO, BRASIL) e uma lamparina (JON, SÃO PAULO, BRASIL) no centro de um disco de acrílico cristal (30 mm de diâmetro por 8 mm de espessura). O conjunto (disco/dente) foi adaptado em uma Politriz Metalográfica (APL 4, AROTEC, COTIA, SP, BRASIL) com sistema de polimento múltiplo capaz de realizar o polimento automático de 6 corpos de prova permitindo o paralelismo entre

as superfícies polidas e a base de acrílico onde foram fixados os espécimes. Para a planificação utilizou-se uma lixa de silicone carbide de granulação 320 (CARBIMET PAPER DICS, 30-5108-320, BUEHLER), com refrigeração de água deionizada, até que os blocos obtivessem espessura de aproximadamente 4 mm. Para tanto, a politriz foi acionada em baixa velocidade, com 2 pesos padrão de 86 g, durante 30 segundos a 3 minutos, até se alcançar à espessura desejada.

Em seguida os blocos foram removidos do disco de acrílico e limpos com xilol (MERCK, DARMSTADT- GERMANY) para que todo o resíduo de cera aderido a eles seja removido. Posteriormente, os espécimes foram novamente fixados com cera pegajosa no centro da placa de acrílico com a face de dentina voltada contra a placa. Utilizou-se lixas de carbeto de silício de granulação 600 e 1200 (EXTEC. CORP.) em alta velocidade até a obtenção de uma superfície de aspecto vítreo, durante 2 a 3 minutos. Entre as trocas de lixas, os discos contendo os blocos foram lavados em ultra-som T7 Thornton (UNIQUE IND. E COM. DE PRODUTOS ELETRÔNICOS LTDA., SÃO PAULO, SP), durante 2 minutos, com água deionizada (200mL), a fim de impedir interferência dos grãos na lisura do tecido.

Para o polimento final utilizou-se um pano de feltro (EXTEC. CORP.) umedecido em solução de diamante de 1µm (BUEHLER), durante 3 minutos. Após o último polimento, os blocos retornaram ao ultra-som, durante 10 minutos. Os blocos foram armazenados em suas placas de acrílico sob refrigeração, cobertos por gaze umedecida em água deionizada e ficaram armazenados até a sua utilização (Figura 9).

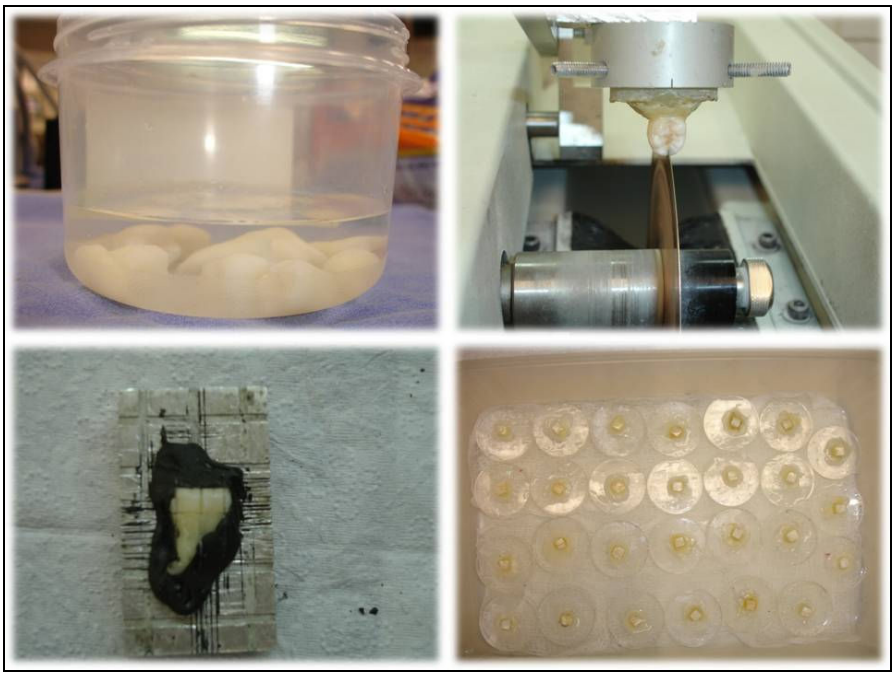


Figura 9 – Obtenção dos espécimes de esmalte dentário.

Avaliação da Microdureza de Superfície Inicial

A avaliação da microdureza de superfície inicial foi realizada por meio do Microdurômetro Shimadzu (HMV 2000/ SHIMADZU CORPORATION, JAPAN. FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU-SP) acoplado a um software específico para análise de imagens (INDENTEC, CAMS-WIN-NEW AGE INDUSTRIES/ USA). Utilizou-se um penetrador diamantado piramidal tipo KNOOP, aplicado com carga de 25 gramas (g) por 5 segundos. Foram realizadas 5 endentações, sendo uma central, uma acima e outra abaixo, uma à esquerda e outra à direita, com distâncias aleatórias entre elas, englobando diferentes áreas da superfície com mais de 1000 µm da lateral do bloco. Para medir as endentações realizadas, duas marcas pontilhadas que aparecem na tela do computador deveriam se sobrepor aos vértices agudos do losango correspondente à endentação, determinando o comprimento da maior diagonal e, conseqüentemente, os resultados da dureza de KNOOP por meio do cálculo automático feito pelo software através da seguinte equação:

$$KHN = \frac{C \times carga}{d^2}$$

Onde:

- KNH = valor de dureza Knoop
- C (constante) = 14.230
- Carga = 25 g
- d = comprimento da maior diagonal da edentação

A média do comprimento da diagonal maior das cinco endentações foi utilizada para excluir fragmentos com microdureza fora do padrão. Foram desprezados os fragmentos com um valor médio de microdureza 5% acima ou abaixo da média de todos os fragmentos e, aqueles com desvio-padrão do comprimento das endentações acima de 10% do valor de sua própria média. Alguns espécimes foram descartados quando apresentaram trincas ou não estiveram totalmente paralelos após o polimento.

Esta avaliação foi realizada antes da etapa experimental, para mensurar a microdureza inicial.

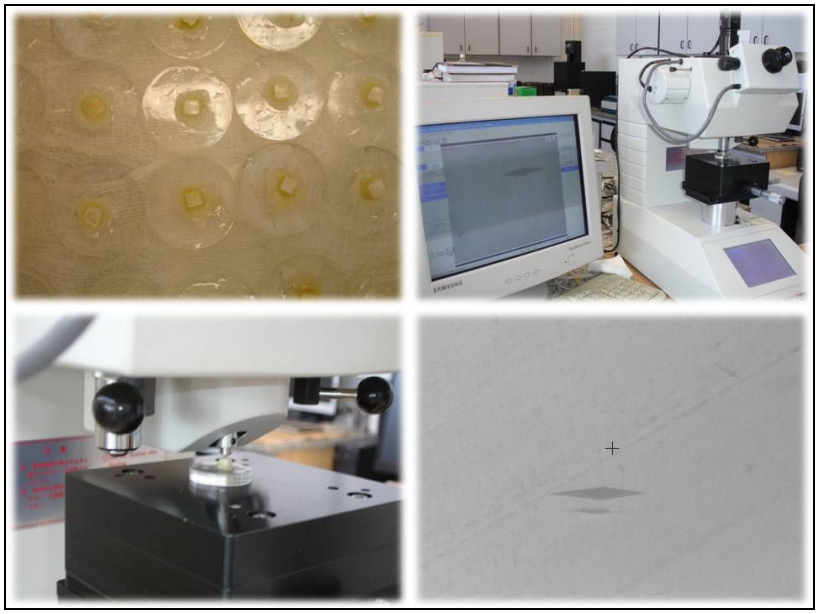


Figura 10 – Avaliação de microdureza de superfície nos espécimes.

Etapa experimental

Após a avaliação superficial inicial, os espécimes foram randomicamente distribuídos entre os grupos experimentais (Figura 11) a fim de avaliar a influência de diferentes meios de descontaminação e armazenamento na microdureza de superfície dos espécimes.

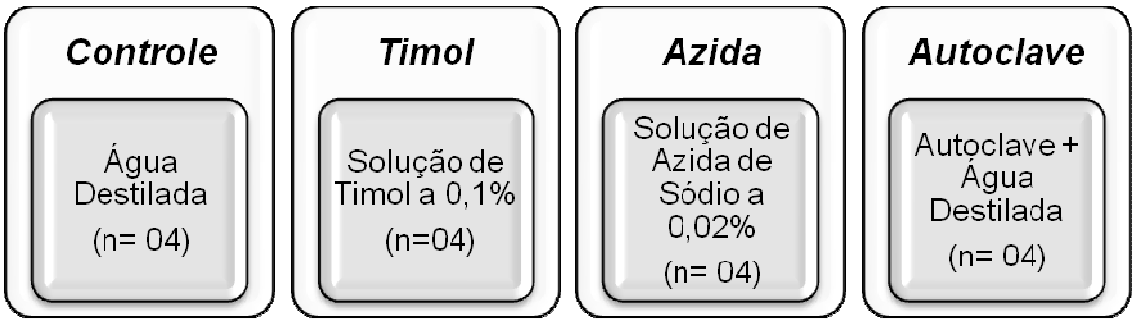


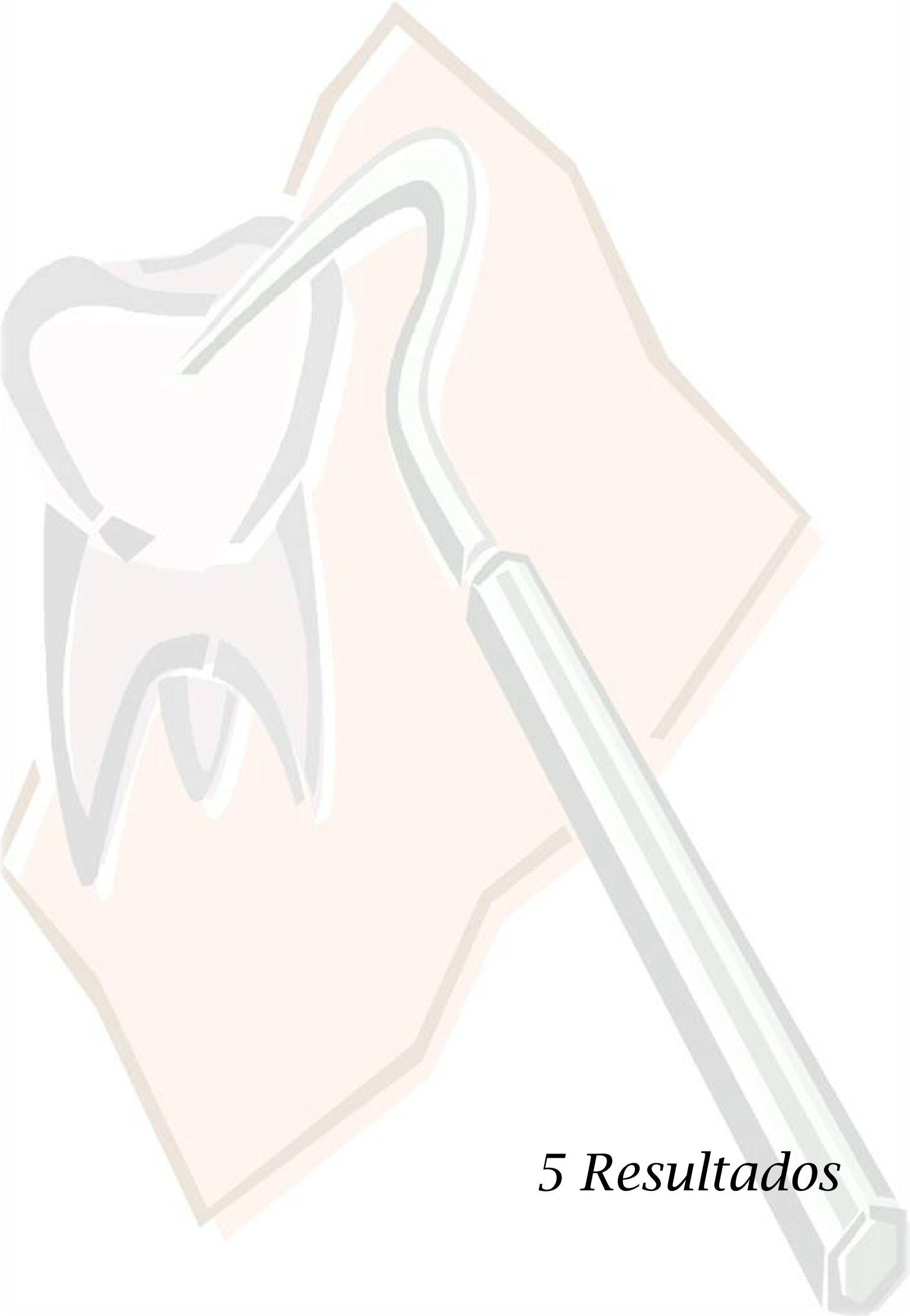
Figura 11 – Grupos de estudo e amostra no teste de microdureza de superfície.

Os espécimes foram armazenados sob refrigeração a 4°C e ao abrigo da luz nestas soluções, sendo submetidos a novas análises com 15 e 30 dias de armazenamento.

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos na Análise Microbiológica foram analisados de modo qualitativo, de acordo com a ausência/presença de crescimento bacteriano nos meios de cultura, e quantitativo através de freqüências absolutas e relativas.

Nos testes de Fluorescência a Laser e Microdureza de Superfície a análise dos dados deu-se de forma descritiva e analítica. Para testar a homogeneidade dos dados utilizou-se a Análise de Variância (ANOVA) a um e dois critérios com modelo misto, para a comparação entre grupos e tempos de armazenamento. Obtendo-se $p<0,05$ para ANOVA aplicou-se teste Tukey para comparações individuais dos grupos de estudo, adotando-se nível de significância de 5% para ambos os testes.



5 Resultados

5 RESULTADOS

Os resultados estão descritos em tópicos de acordo com cada teste realizado a fim de facilitar sua descrição.

5.1 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

Estudo Piloto

No estudo piloto realizado não foram observadas diferenças morfológicas entre as formas bacterianas encontradas nas lâminas do grupo teste (cocos e bastonetes), contaminado com o microorganismo e, do grupo controle que continha apenas caldo BHI.

Experimento

As análises do teste microbiológico foram realizadas através da análise do meio de cultura dos tubos (Figura 12) e também através da análise do crescimento bacteriano em placas semeadas e incubadas por 24 horas.

Os resultados da análise dos meios contidos nos tubos estão descritos na tabela 2.

Tabela 2 – Análise dos meios após 6 horas de cultura: Turvação (+) Límpido (-)

Tempo	Controle	Timol	Azida de Sódio	Autoclave
7 dias				
1	+	+	+	-
2	+	+	+	-
3	+	+	+	-
4	+	+	+	-
5	+	+	+	-
15 dias				
6	+	+	+	-
7	+	+	+	-
8	+	+	+	-
9	+	+	+	-
10	+	+	+	-
30 dias				
11	+	+	+	-
12	+	+	+	-
13	+	+	+	-
14	+	+	+	-
15	+	+	+	-

A análise dos meios de cultura dos tubos foi realizada após um período de 6 horas de armazenamento em estufa. O grupo GA (autoclave) não apresentou turvação inicial em nenhum dos períodos estudados (7, 15 e 30 dias), porém após 24 horas em estufa houve turvação de 40% das amostras (6 em 15 amostras).

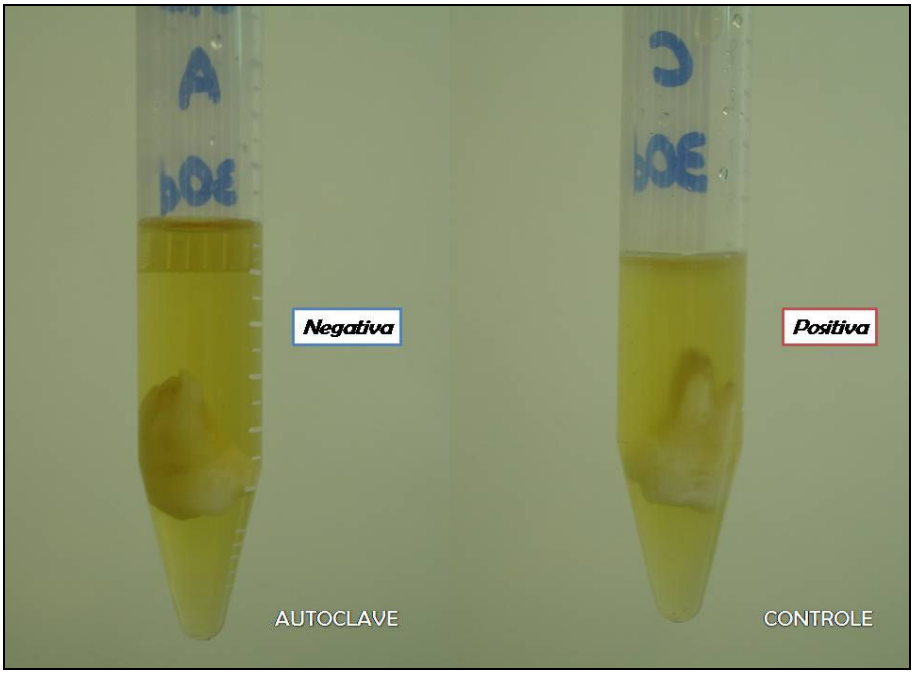


Figura 12 – Análise do meio após cultura de 6 horas em estufa a 37°C.

A análise das placas produzidas a partir das diluições do conteúdo dos tubos (meio de cultura e dentes) foi realizada de modo qualitativo (presença ou ausência de crescimento bacteriano), uma vez que houve grande proliferação de microorganismos nas placas, o que impossibilitou a contagem de Unidades Formadoras de Colônias (UFC).

As placas referentes aos grupos submetidos à armazenagem por 7 dias (Figura 13) apresentaram crescimento de microorganismos nos grupos Controle, Timol e Azida, apresentando resultado negativo apenas nas placas referentes ao grupo Autoclave, o que se repetiu nas amostras dos tempos 15 (Figura 14) e 30 dias (Figura 15).

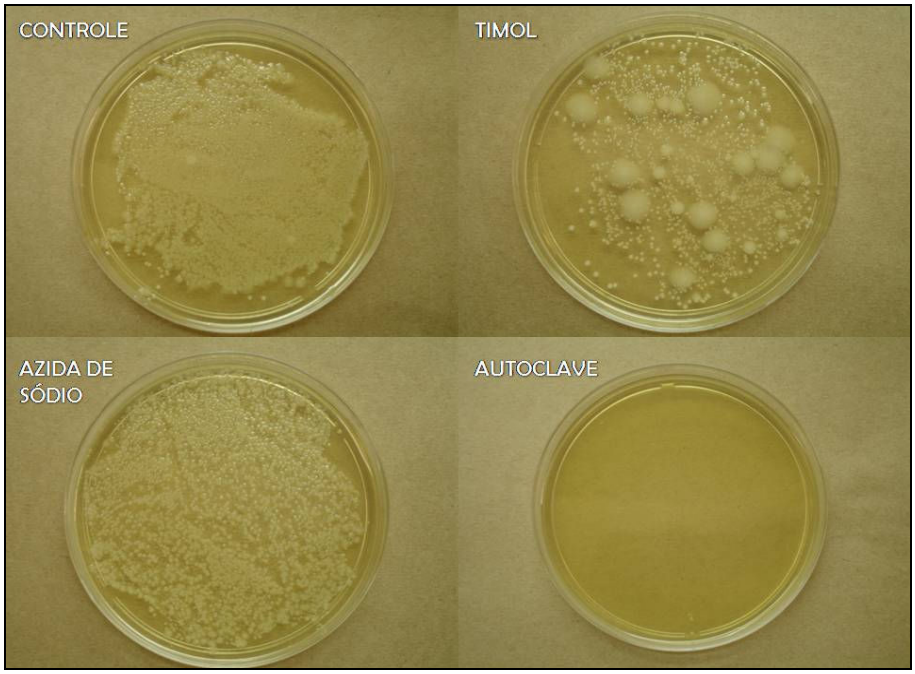


Figura 13 – Placas referentes às amostras armazenadas por 7 dias.

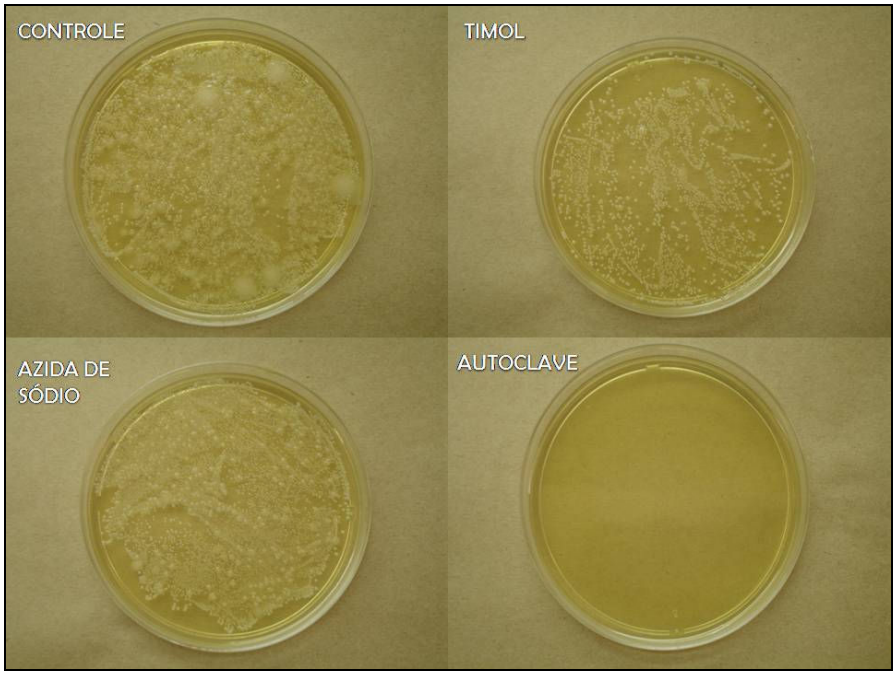


Figura 14 – Placas referentes às amostras armazenadas por 15 dias.

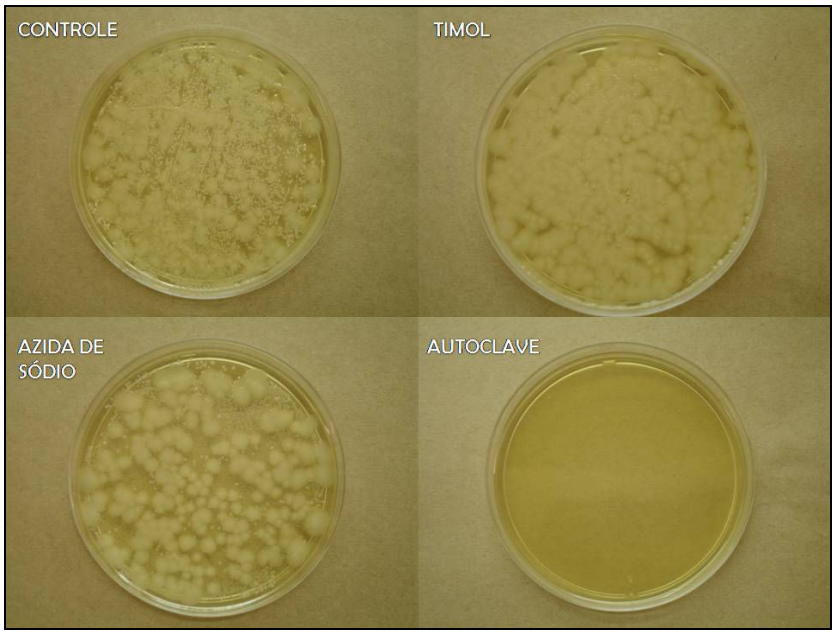


Figura 15 – Placas referentes às amostras armazenadas por 30 dias.

5.2 FLUORESCÊNCIA A LASER

Os principais resultados obtidos no teste de fluorescência a laser estão descritos a seguir (Tabelas 3 a 6 e Gráfico 1).

Tabela 3 - Média e desvio padrão dos valores obtidos, teste de fluorescência a laser.

Grupos	T = 0 Média±dp	T = 15 Média±dp	T = 30 Média±dp
Controle	1,74±0,51	1,96±0,57	2,14±0,56
Timol	1,70±0,41	1,60±0,41	1,48±0,41
Azida de Sódio	1,84±0,55	2,00±0,57	1,72±0,49
Autoclave	1,78±0,36	2,62±0,56	2,30±0,44

O grupo autoclave apresentou valores médios de fluorescência a laser de 5,32 (±1,17) imediatamente após o processo de esterilização.

Tabela 4 – Análise de Variância a dois critérios Grupo X Tempo, teste de fluorescência a laser.

	Efeito	Efeito	Erro	Erro	F	*P*
Grupo	3	2,093	36	0,587	3,562	**0,023**
Tempo	2	0,784	72	0,070	11,192	**0,000**
Grupo/Tempo	6	0,577	72	0,070	8,243	**0,000**

Foram observadas relações significativas entre os grupos de estudo, o tempo de armazenamento e, na interação destas duas variáveis (p<0,05).

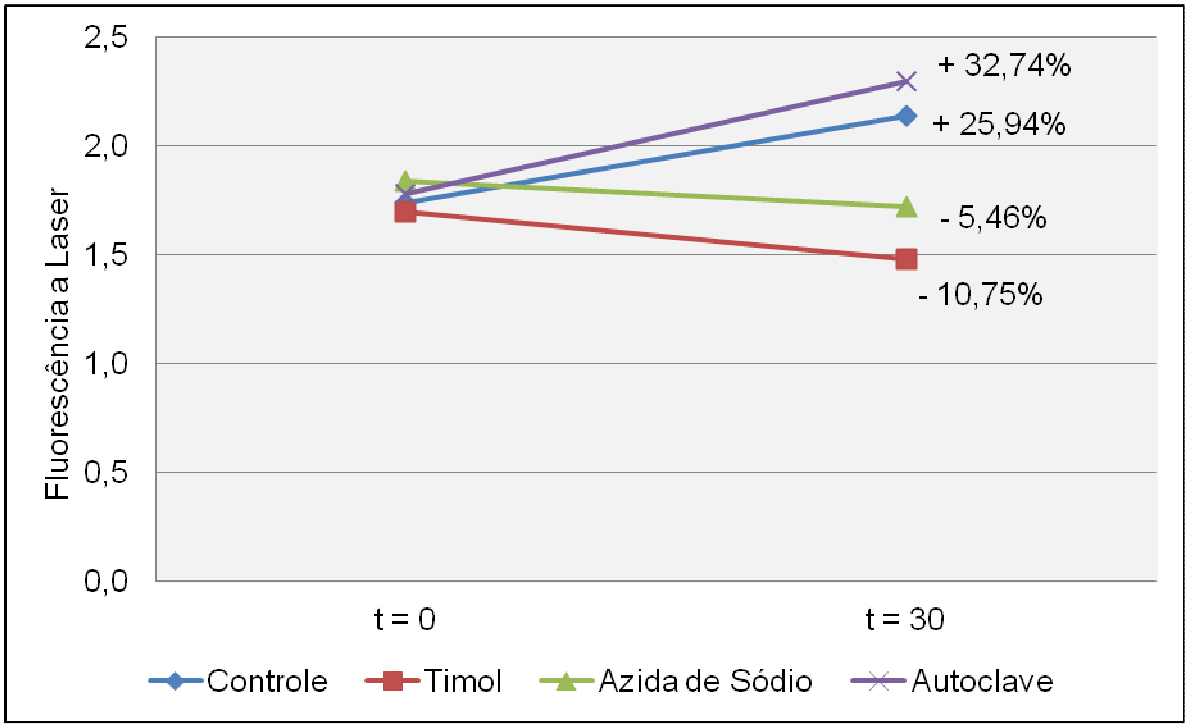


Gráfico 1 – Desempenho dos grupos nos tempos 0 e 30 dias e porcentagem de variação no período, no teste de fluorescência a laser.

Nos grupos analisados observou-se aumento nos valores de fluorescência a laser em Autoclave (32,74%) e Controle (25,94%), enquanto nos grupos Azida e Timol houve uma diminuição dos valores no dado período (-5,46% e -10,74%, respectivamente).

Tabela 5 – Análise de Variância a um critério do percentual de variação entre os tempos inicial e final, teste de fluorescência a laser.

	Efeito	Efeito	Erro	Erro	F	*P*
Grupo	3	4798,685	36	585,431	8,196	**0,000**

No teste de fluorescência a laser, os percentuais de variação entre os resultados iniciais e finais dos diferentes grupos analisados foram submetidos à análise de variância a um critério (Tabela 5), evidenciando-se diferença significativa entre os grupos (p<0,001).

Tabela 6 – Teste de Tukey da porcentagem de variação entre os tempos inicial e final, teste de fluorescência a laser.

	Controle	Timol	Azida	Autoclave
Controle		**0,008**	**0,030**	0,922
Timol			0,961	**0,001**
Azida				**0,006**
Autoclave				

A partir dos resultados obtidos na análise de variância (ANOVA), foi realizado o Teste Tukey para a porcentagem de variação dos valores entre os tempos inicial e final (0 e 30 dias).

Em relação ao desempenho individual o grupo Autoclave obteve a mais alta porcentagem de variação em seus valores médios inicial e final (32,74%), sendo estes valores considerados significativos em relação aos grupos Timol (p=0,001) e Azida (p=0,006).

O grupo Timol obteve uma diminuição nos valores médios iniciais e finais de fluorescência (-10,75%), sendo considerada significativa em relação ao grupo Controle (p=0,008).

No grupo Azida observou-se uma variação negativa de 5,46% e relação significativa em comparação ao grupo Controle (p=0,030).

5.3 MICRODUREZA DE SUPERFÍCIE

Os principais resultados obtidos na análise de Microdureza de Superfície estão descritos a seguir (Tabelas 7 a 10, Figura 16 e Gráfico 2).

Tabela 7 – Média e desvio padrão dos valores de microdureza de superfície de esmalte, em KHN, obtidas nos grupos.

Grupos	T = 0 Média±dp	T = 15 Média±dp	T = 30 Média±dp
Controle	456,53±12,29	118,53±10,01	97,53±11,89
Timol	446,80±21,35	225,93±36,51	172,93±53,57
Azida de Sódio	440,20±19,75	247,40±21,09	276,93±13,37
Autoclave	440,07±9,16	194,80±41,73	161,01±30,39

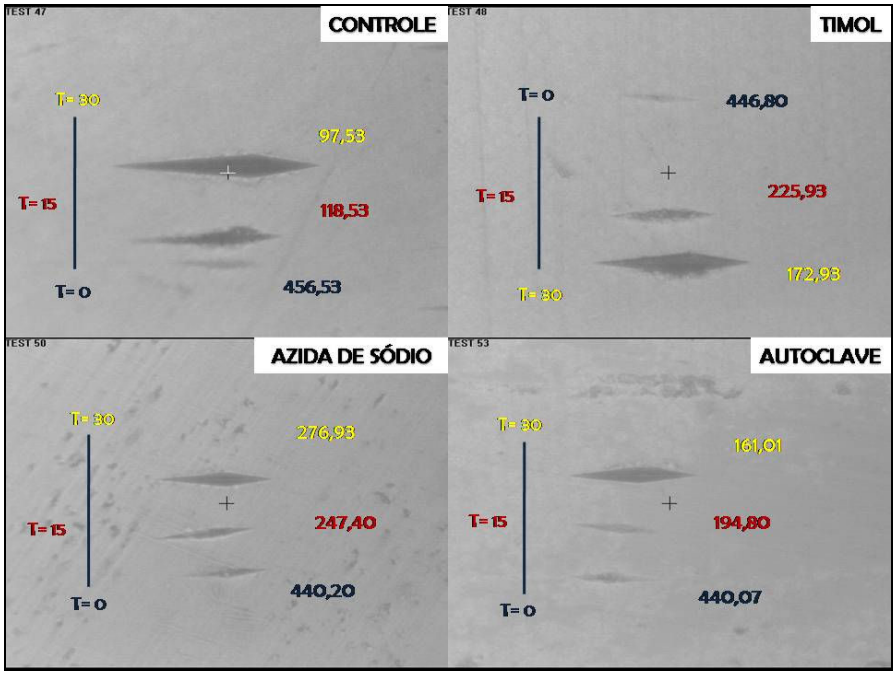


Figura 16 – Registro e valores de microdureza de superfície (em KHN).

Tabela 8 – Análise de Variância a dois critérios Grupo X Tempo, na análise de microdureza de superfície.

	Efeito	Efeito	Erro	Erro	F	*p*
Grupo	3	14620,333	8	1432,500	10,206	**0,004**
Tempo	2	269508,625	16	385,586	698,956	**0,000**
Grupo/Tempo	6	5837,390	16	385,586	15,138	**0,000**

Foram observadas relações significativas entre os grupos de estudo, o tempo de armazenamento e na interação destas duas variáveis através da análise da microdureza de superfície dos espécimes.

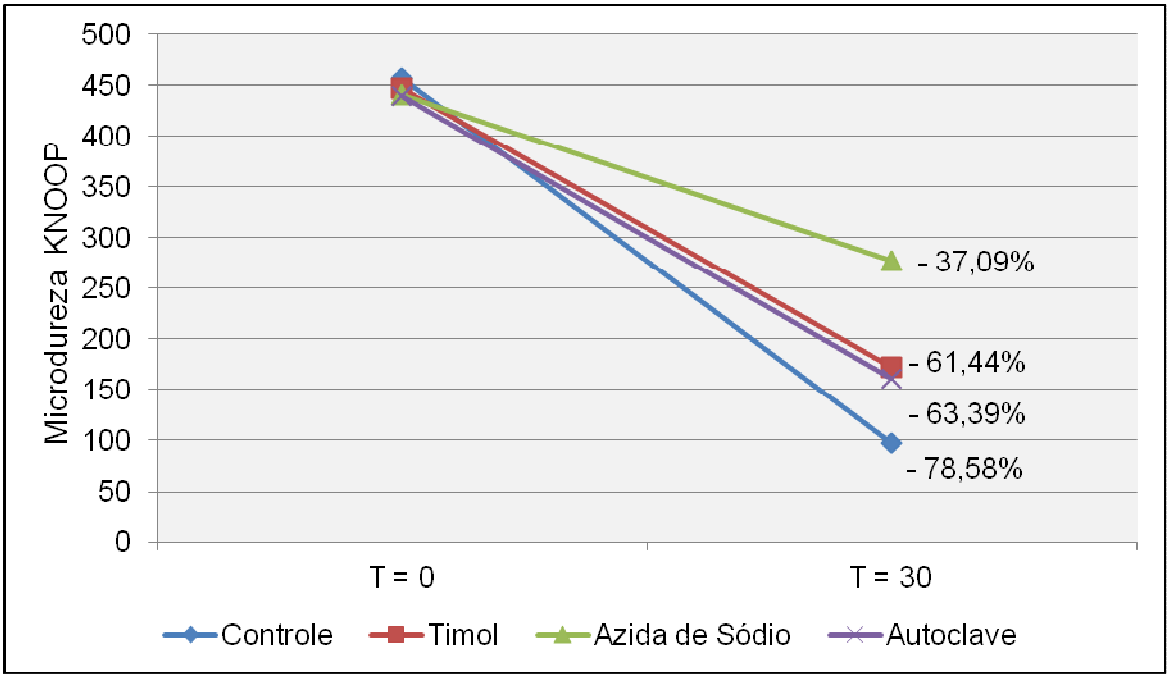


Gráfico 2 – Desempenho dos grupos em relação à microdureza de superfície, nos tempos inicial e final, e porcentagem de variação no período, na análise de microdureza de superfície.

Em todos os grupos analisados observou-se diminuição nos valores de microdureza de superfície, variando de -37,09% (Azida) a -78,58% (Autoclave).

Tabela 9 – Análise de Variância a um critério do percentual de variação entre tempo inicial e final, na análise de microdureza de superfície.

	Efeito	Efeito	Erro	Erro	F	*p*
Grupo	3	883,726	8	46,548	18,984	**0,000**

Na análise de microdureza de superfície, os percentuais de variação entre os resultados iniciais e finais dos diferentes grupos analisados foram submetidos à análise de variância a um critério (Tabela 9), evidenciando-se diferença significativa entre os grupos ($p<0,001$).

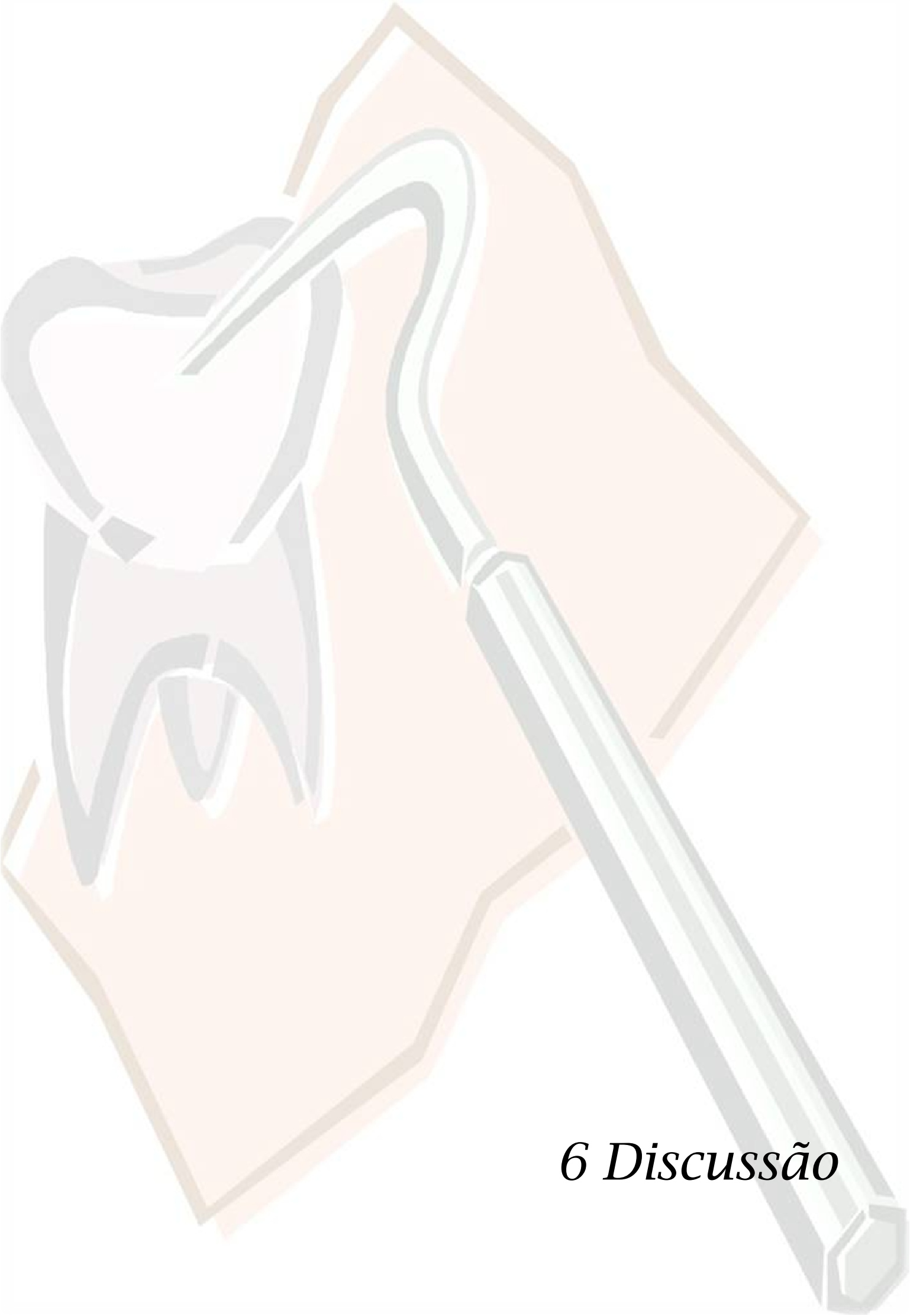
Tabela 10 – Teste de Tukey da porcentagem de variação nos tempos inicial e final, na análise de microdureza de superfície.

	Controle	Timol	Azida	Autoclave
Controle		0,059	**0,000**	0,097
Timol			**0,010**	0,984
Azida				**0,006**
Autoclave				

A partir dos resultados obtidos na análise de variância (ANOVA), foi realizado o Teste Tukey para a porcentagem de variação dos valores entre os tempos inicial e final (0 e 30 dias).

Em relação ao desempenho individual o grupo Autoclave obteve alta porcentagem de variação em seus valores médios inicial e final (-63,39%), sendo estes valores considerados significativos em relação ao grupo Azida ($p=0,006$).

O grupo Azida, que obteve a menor taxa de variação dentre os grupos (-37,09%), e apresentou relação significativa com os grupos Controle ($p<0,001$) e Timol ($p=0,010$).



6 Discussão

6 DISCUSSÃO

A utilização de órgãos dentários requer a adoção de cuidados específicos para que estes não sofram alterações físicas ou bioquímicas e que também ofereçam segurança àqueles que os manipulam (IMPARATO, 2003). Grande parte dos elementos dentários que chegam aos BDH tem origem desconhecida, devendo assim ser submetidos a processos de descontaminação prévios à sua manipulação por acadêmicos e pesquisadores. Dada a inexistência de uma substância-padrão para a descontaminação e o armazenamento de órgãos dentários após a sua extração, é possível a ocorrência na literatura científica de estudos que se utilizaram de materiais similares ou iguais, porém que apresentaram resultados finais diferentes (SILVA *et al*, 2006).

A limitação encontrada neste estudo foi a contaminação previa dos elementos dentários utilizados. Para verificar como deveria ser conduzida a análise microbiológica procedeu-se a etapa piloto, envolvendo amostra contaminada e sem contaminação. Os resultados mostraram não haver diferença entre as formas bacterianas encontradas em lâminas de ambas as amostras.

Uma alternativa a este viés seria a esterilização prévia dos dentes através de imersão em formalina a 10% por sete dias (KUMAR *et al*, 2005; DOMINICI *et al*, 2001) ou processamento em autoclave (DOMINICI *et al*, 2001; DEWALD, 1997), porém esta manobra não seria aplicável as necessidades das pesquisas, uma vez que estes processos poderiam influenciar nos resultados dos testes futuros aos quais os dentes poderiam ser submetidos. Em acréscimo, deve-se destacar que estes processos seriam pouco viáveis para a rotina de um BDH.

Neste estudo utilizou-se 4 grupos (timol, azida de sódio, auto-clave e controle) para analisar a efetividade de métodos na descontaminação de órgãos dentários.

A esterilização dos dentes em autoclave foi utilizada como controle negativo para a análise microbiológica, enquanto o armazenamento simples em água destilada foi utilizado como controle positivo.

A autoclave é descrita como um método de esterilização simples, barato e acessível para a descontaminação de elementos dentários utilizados para fins didáticos e científicos (IMPARATO, 2003; DOMINICI *et al*, 2001). Apesar das

amostras dos tubos referentes ao grupo Autoclave não terem apresentado crescimento bacteriano no período estipulado de 6 horas (Tabela 2) após a análise inicial estas amostras foram mantidas em estufa por um período de 24 horas, a fim de se avaliar possíveis alterações em um período prolongado, fato observado em 40% dos tubos. Esta contaminação tardia dos meios pode ser atribuída à viabilidade da presença de microorganismos nos túbulos dentinários ou devido à presença de fissuras na superfície dentária (ZAPATA *et al*, 2008).

No presente estudo, o processamento dos elementos dentários em autoclave mostrou-se efetivo nas amostras analisadas após 7, 15 e 30 dias de esterilização e armazenamento dos mesmos.

As soluções de timol e azida de sódio são comumente utilizadas como meios de armazenamento para elementos dentários por apresentarem atividade bacteriostática (KOMABAYASHI *et al*, 2009; HUMEL *et al*, 2007; TOLEDANO *et al*, 2007; SILVA *et al*, 2006; ZISKIND *et al*, 2003). A análise microbiológica realizada neste estudo demonstrou a ineficiência das soluções de timol a 0,1% e azida de sódio a 0,02% na inibição de crescimento bacteriano em amostras de dentes armazenados nestas soluções por períodos de 7, 15 e 30 dias.

Em estudo realizado por Amaechi *et al.* (1998) o uso da solução de timol a 0,1%, para armazenamento e descontaminação, foi preconizado para elementos dentários a serem submetidos a teste de cariogenicidade. Os autores afirmaram que blocos de esmalte armazenados em solução de timol e posteriormente manipulados com luvas estéreis não constituíram fonte de contaminação cruzada para dispositivos intra-orais (AMAECHI *et al*, 1998). Neste estudo os experimentos microbiológicos foram realizados em uma câmara de fluxo laminar, com a utilização de equipamento de proteção individual e instrumental estéril, para impedir a ocorrência de alguma interferência de fatores externos.

A solução de azida de sódio tem sido empregada como meio de armazenagem para dentes humanos e bovinos utilizados em diversos experimentos (KOMABAYASHI *et al*, 2009; HUMEL *et al*, 2007; TOLEDANO *et al*, 2007; LI *et al*, 2001; ARAÚJO *et al*, 1999), porém sua real ação no controle de infecções cruzadas via órgão dentário ainda parece não estar clara.

Dentre as amostras referentes ao grupo Azida, analisadas neste estudo, observou-se crescimento bacteriano em 100% dos tubos (Tabela 2) e placas (Figuras 13 a 15). Outra substância que vem sendo utilizada de maneira semelhante

à azida de sódio é a cloramina (MOBARAK *et al*, 2010; CASELATO *et al*, 2007; HUMEL *et al*, 2007; LEE *et al*, 2007; ROLLAND *et al*, 2007), porém esta substância não foi avaliada neste estudo. A cloramina é uma solução desinfetante que age em contato com a superfície dentária e tem sido recomendada para o armazenamento de elementos dentários utilizados em testes de adesividade, porém sua ação na descontaminação de dentes humanos deve ser melhor esclarecida (ROLLAND *et al*, 2007).

Dentre os métodos de descontaminação analisados (autoclave, timol e azida de sódio), neste estudo a autoclave foi o único capaz de promover a inibição de crescimento bacteriano em amostras submetidas ao processo e armazenadas por 7, 15 e 30 dias, método este com eficácia demonstrada na literatura científica (KUMAR et al, 2005; DOMINICI et al, 2001; PARSELL et al, 1998; PASHLEY et al, 1993).

A escolha do método de processamento de elementos dentários deve assegurar o controle de infecções cruzadas através destes órgãos, porém outra importante característica desejável deste método é a preservação da estrutura dentária.

No teste de fluorescência a laser buscou-se avaliar mudanças na estrutura dentária de elementos submetidos ao armazenamento em água destilada, timol, azida de sódio e dentes submetidos à esterilização em autoclave e posteriormente armazenados em água destilada. O DIAGNOdent® tem sido utilizado não só em estudos clínicos, com também em estudos *in vitro* que avaliam as condições que alteram a estrutura dentária (ASTVALDSDOTTIR *et al*, 2010; FRANCESCUT *et al*, 2006; MENDES *et al*, 2006).

A capacidade de resposta à fluorescência a laser nos órgãos dentários depende não só da estrutura dos tecidos mineralizados, como também da presença de substâncias chamadas fluoróforos ou cromóforos, que são moléculas que absorvem e emitem luz em um comprimento de onda específico (NOVAIS *et al*, 2004). Estas substâncias podem ser produzidas pelas bactérias responsáveis pela cárie dentária e fluorescem quando excitadas pela luz vermelha de dispositivos a laser (KONIG *et al*, 1998).

O grupo controle, água destilada, apresentou desempenho linear durante todo o experimento (Tabela 3), ocorrendo aumento significativo nos valores de fluorescência a laser entre os tempos inicial e final (p=0,002). Já no grupo Timol foi

observada situação contrária, onde os valores de fluorescência a laser sofreram declínio no período avaliado (0, 15 e 30 dias), entretanto sem diferenças significativas (p>0,05). Para Francescut et al. (2006) as soluções de armazenamento podem reduzir a concentração de fluoróforos nas amostras pela diluição ocasionando diminuição da resposta à fluorescência a laser (FRANCESCUT *et al*, 2006). Neste caso a solução de timol pode ter favorecido a diminuição da concentração deste fluoróforos através de seu potencial bacteriostático, e nas amostras imersas em água destilada, grupo controle, houve a situação inversa onde os microorganismos encontraram meio viável para se estabelecer.

O grupo referente à solução de azida de sódio apresentou elevação dos valores de fluorescência a laser aos 15 dias de armazenamento, e posteriormente apresentou decréscimo significativo (p=0,045) nestes valores entre os tempos 15 e 30 dias. Komabayashi et al (2009) observaram que espécimes armazenados em solução de azida de sódio apresentaram aumento inicial da umidade dentinária, sendo estabilizados após alguns dias de imersão nesta solução (KOMABAYASHI *et al*, 2009). No presente estudo a solução de azida de sódio foi capaz reduzir os fluoróforos. Duas hipóteses podem ser aventadas, sendo a primeira ter produzido efeito bacteriostático 15 dias após o armazenamento. A segunda ter permitido dispersão do conteúdo mineral (FRANCESCUT *et al*, 2006). Entretanto, parece mais viável a do efeito bacteriostático.

No grupo autoclave houve aumento inicial dos valores de fluorescência a laser logo após a esterilização dos dentes, sendo aferido nesta amostra valor médio de 5,32, valor considerado pelo fabricante como lesão inicial ou pouco avançada na metade externa do esmalte (Tabela 1), demonstrando uma perda de estrutura nos elementos dentários (AMAECHI et al, 1998). Porém no decorrer dos períodos analisados (15 e 30 dias) houve decréscimo destes valores (Tabela 3), evidenciando um possível reendurecimento dos tecidos dentários, injuriados durante o processo esterilização e redução da concentração dos fluoróforos da amostra.

No teste de fluorescência a laser dentre os métodos analisados (controle, autoclave, timol e azida de sódio), o timol apresentou diminuição nas médias dos valores registrados (Gráfico1), porém não apresentando alterações significativas (p>0,05). Já nos demais grupos, controle, autoclave, e azida de sódio, os elementos dentários apresentaram variações significativas nos valores de fluorescência (p<0,05), evidenciando possíveis alterações em sua estrutura.

A análise de microdureza avalia a dureza superficial de um espécime, sendo relacionada diretamente ao seu conteúdo mineral. Esta técnica pode ser considerada altamente sensível e de fácil reprodução quando são utilizadas pequenas cargas (CARDOSO, 2009).

Estudos *in vitro* e *in situ* têm sido conduzidos adotando a microdureza inicial para randomizar os espécimes entre os grupos de estudo, e a final para comparar a perda de dureza após a exposição a ciclos de des-remineralização (SALES-PERES *et al*, 2007).

Neste estudo os espécimes de esmalte foram submetidos a avaliações em Microdurômetro Shimadzu nos tempos 0, 15 e 30 dias, sob carga de 25 g durante 5 segundos. Os espécimes foram planificados e polidos para que pudessem ser analisados no microdurômetro. As amostras de todos os grupos de estudo apresentaram diminuição dos valores médios de microdureza KNOOP durante os períodos avaliados (Tabela 7). Todos os grupos testados apresentaram alguma perda de dureza, sendo que o grupo controle apresentou a maior perda de microdureza no período avaliado (-78,58%), seguido pelos grupos autoclave (-63,39%), timol (-61,44%) e azida de sódio (-37,09%) (Gráfico 2).

A água utilizada como controle foi do tipo destilada, o que de alguma forma favoreceu a perda de dureza dos espécimes de esmalte. Frente a este achado, uma questão deve ser investigada no futuro, que se refere à possibilidade de se substituir a água deionizada por água fluoretada, no armazenamento de espécimes de esmalte, na tentativa de minimizar a perda de dureza. Caso venha a ser comprovada esta ação benéfica da água fluoretada, este veículo poderia ser adotado como padrão para o armazenamento dos blocos a serem utilizados em pesquisas.

Os grupos autoclave e timol apresentaram percentual de diminuição nos valores médios de microdureza semelhantes (-63,39% e -61,44%, respectivamente), porém sem diferenças significativas entre os grupos (p>0,05). Em um estudo realizado por Parsell *et al* (1998) sobre a influência da esterilização de elementos dentários em autoclave e analisados pela microdureza de superfície Vicker´s, demonstrou não haver diferenças significativas entre os espécimes submetidos à autoclave e outras formas de esterilização. Foram constatadas apenas diferenças significativas entre os substratos analisados, esmalte (pequena diminuição) e dentina (grandes perdas) (PARSELL *et al*, 1998). Segundo relatos encontrados na

literatura científica a solução de timol demonstrou capacidade de promover prejuízo nas propriedades do tecido dentinário, quando analisadas a permeabilidade (GOODIS *et al*, 1993; GOODIS *et al*, 1991), a resistência de união (TITLEY *et al*, 1998) e a microinfiltração (HALLER *et al*, 1993).

Estudos *in vitro*, em sua maioria, têm utilizado o timol como desinfetante previamente à preparação dos espécimes. Este agente parece não oferecer grandes propriedades, tendo em vista que promoveu perda de dureza significativa e alta contagem de unidades formadoras de colônias. Por outro lado, na fluorescência pode-se observar que houve redução nos valores de fluorescência indicando diminuição dos microrganismos produtores de fluoróforos (FRANCESCUT *et al*, 2006).

Em estudos *in situ* não se deve recomendar somente o uso timol como método de desinfecção, uma vez que os voluntários irão colocar os espécimes na boca e permanecer por um período, o que na análise microbiológica não foi capaz de inibir o crescimento de microorganismos. Destaca-se a importância de se repensar do protocolo para estudos desta natureza. Já para os *in vitro* o timol pode ser considerado como uma alternativa para o armazenamento dos blocos de esmalte.

Pesquisas *in situ* têm utilizado o emprego de solução de formaldeído a 2%, previamente à preparação dos espécimes, por um período de 7 dias (GRAZZIOTIN *et al*, 2011; SOUZA *et al*, 2010), e imersão em solução de timol (LIPPERT *et al*, 2011) como metodologia para a descontaminação de elementos dentários. A utilização de solução de clorexidina para a desinfecção dos dispositivos intra bucais palatinos, previamente ao uso deste aparelho pelo voluntário, possui vantagens comprovadas como a ação bactericida e bacteriostática por remover a película adquirida e por apresentar pH neutro (6,8) (THYLSTRUP E FEJERSKOV, 1994).

Uma pesquisa conduzida por Goodis *et al* (1991) verificou o efeito do timol como meio de armazenagem para análise da permeabilidade dentinária, sendo demonstrado um aumento desta permeabilidade em um período de 8 dias (GOODIS *et al*, 1991). Este fato deve ser considerado com reserva, entretanto deve-se aventar a possibilidade de utilizar o timol em estudos *in vitro* de permeabilidade.

Dentre os métodos analisados, a azida de sódio apresentou o menor percentual de perda na microdureza de superfície (-37,09%), quando se analisou

todo o período de armazenamento (30 dias). Entretanto, observou-se que a azida promoveu perda de estrutura dentária nos espécimes no período 15 dias (Tabela 7), e reendurecimento da superfície dentária no período 30 dias. A instabilidade desta solução foi demonstrada em um estudo realizado sobre a influência de longos períodos de armazenagem na umidade dentinária, onde espécimes submetidos à azida apresentaram oscilação destes valores no período inicial e posterior estabilidade (KOMABAYASHI *et al*, 2009), indo ao encontro dos achados do presente estudo.

Além das metodologias acima citadas deve-se considerar a questão relativa aos tempos de exposição. O tempo de armazenamento dos espécimes analisados também influenciou significativamente alguns resultados deste estudo ($p<0,05$). A análise de variância entre os tempos inicial e final nos grupos de estudo (Tabelas 5 e 9) demonstrou a influência deste fator tanto no teste de fluorescência a laser ($p<0,001$), quanto na análise de microdureza de superfície ($p<0,001$). Esta condição parece ainda parece não ter encontrado consenso na literatura científica (MOBARAK *et al*, 2010; CAVALCANTI *et al*, 2009; KOMABAYASHI *et al*, 2009; LI *et al*, 2001; CAMPS *et al*, 1996).

O tempo de armazenamento de elementos dentários nas diferentes condições apresentadas foi capaz de influenciar os resultados deste estudo, sendo que o tempo foi menos favorável no período de 30 dias, em todos os grupos (controle, timol, azida e autoclave). As alterações químicas e as propriedades ópticas dos tecidos dentários são fatores importantes a ser considerados, quando da escolha da solução e do tempo de armazenamento (CAVALCANTI *et al*, 2009; KOMABAYASHI et al, 2009; STRAWN *et al*, 1996).

No presente estudo as soluções de timol a 0,1% e de azida de sódio a 0,02% não foram capazes de promover a inibição do crescimento bacteriano em amostras contaminadas, por esta razão outras hipóteses poderão ser investigadas como, por exemplo, o emprego de diferentes concentrações destas soluções a fim de se estabelecer uma padronização na utilização das mesmas.

Para os elementos dentários recém-extraídos e destinados à pesquisa, sugere-se o armazenamento em solução de timol a 0,1%, para estudos *in vitro* que objetivem investigar o processo de des-remineralização, quer seja para cárie, permeabilidade dentinária ou desgaste dentário. Os resultados obtidos neste estudo reforçam a possibilidade de uso deste desinfetante indo ao encontro de vários

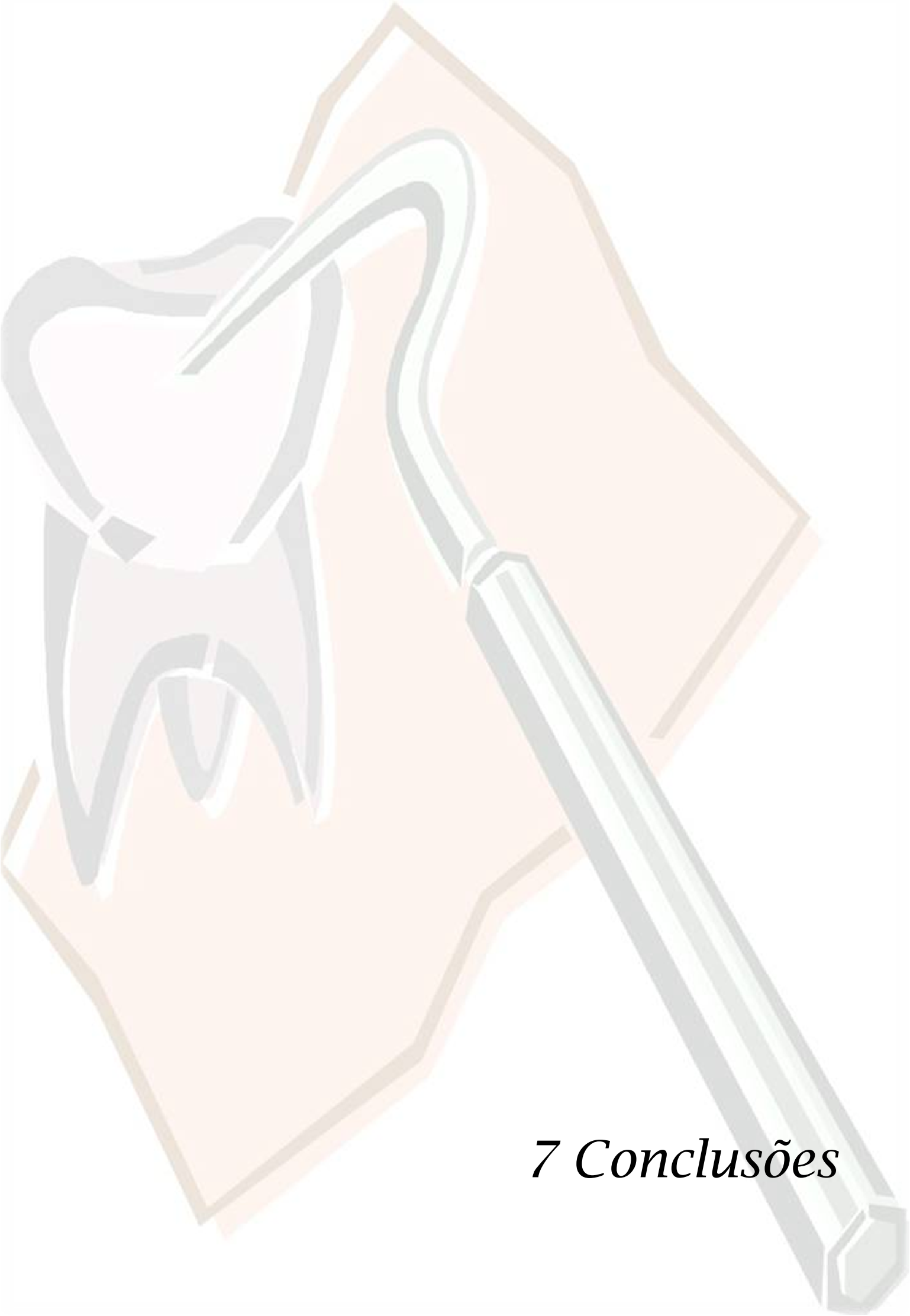
trabalhos disponíveis na literatura científica (DE-MELO *et al*, 2010; CAVALCANTI *et al*, 2009; HUMEL *et al*, 2007; ZISKIND *et al*, 2003; WHITE *et al*, 1994; HALLER *et al*, 1993).

Por outro lado, há um protocolo para o processamento de órgãos dentários para estudos de adesividade de materiais odontológicos *in vitro*, onde a solução proposta para o armazenamento é solução de cloramina a 0,5% (ISO, 2003), por se tratar de uma solução relativamente segura, de boa relação custo benefício e parece não interferir nos resultados deste tipo de estudo (DEWALD, 1997).

No que se refere à padronização do processamento de órgãos dentários em BDH, como a esterilização de elementos dentários em autoclave, mostrou-se efetiva no controle de infecções cruzadas. Por essa razão, sugere-se seu emprego na descontaminação de dentes humanos para uso em atividades didáticas com posterior armazenamento em água destilada, uma vez que as alterações de estrutura dentária avaliadas não comprometeriam o treinamento laboratorial dos acadêmicos.

Os órgãos dentários recém extraídos a serem utilizados em futuras pesquisas podem ser armazenados em água purificada e filtrada, para posterior seleção do método de desinfecção de acordo com o estudo a ser realizado. Para o processamento desse órgão em um método, deve-se relacionar o teste escolhido à metodologia de processamento mais indicada.

A padronização dos processos de descontaminação e armazenamento de órgãos dentários utilizados em atividades didáticas e científicas requer a adoção de métodos que sejam seguros, de custo acessível, de fácil execução e que ocasionem mínima alteração possível na estrutura dentária. Neste sentido são necessários novos estudos sobre a efetividade e a influência destas metodologias na estrutura do órgão dentário.

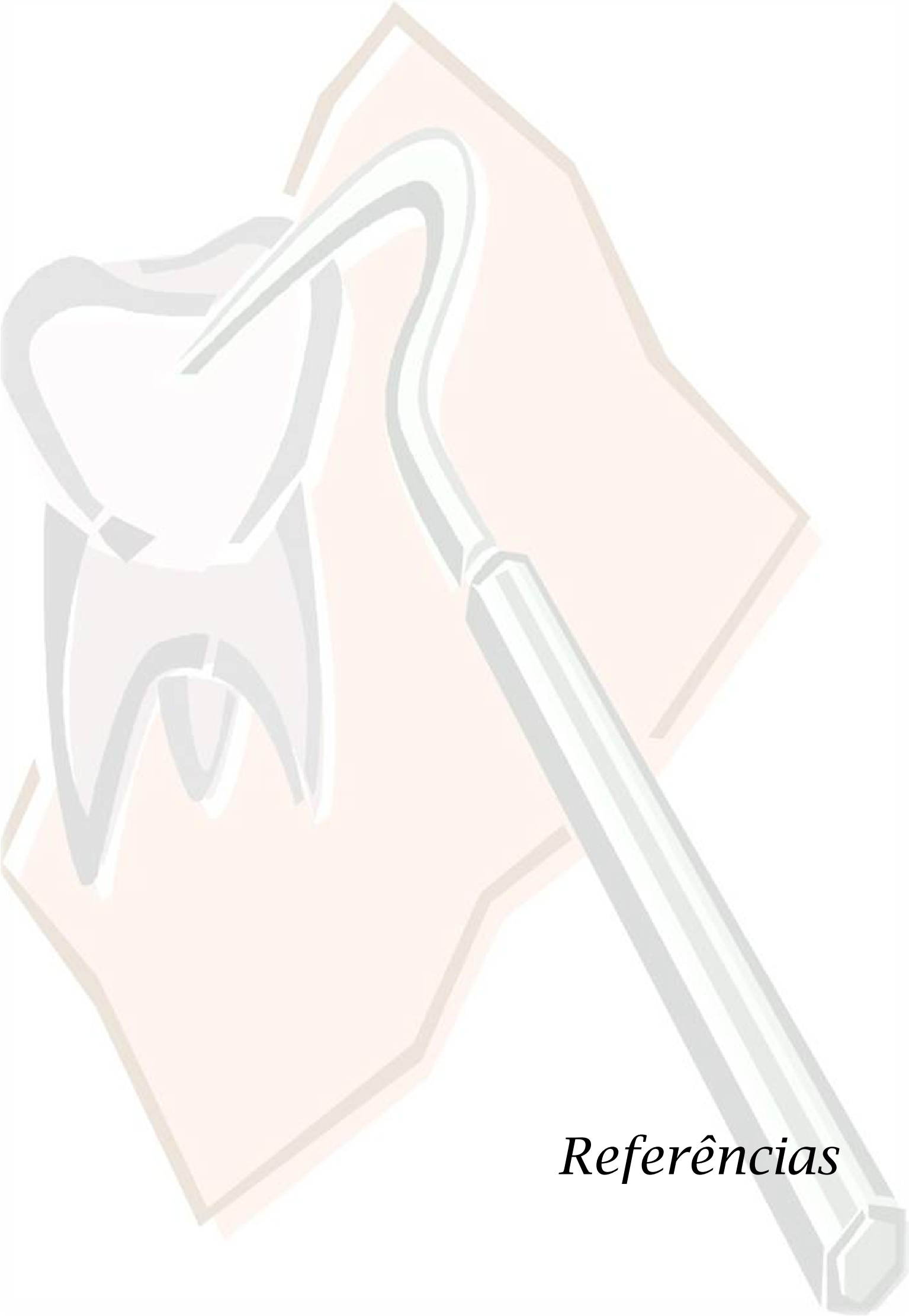


7 Conclusões

7 CONCLUSÕES

Após a análise dos resultados pode-se conclui que:

- ✓ A esterilização de órgãos dentários em autoclave foi o único método capaz de inibir o crescimento bacteriano nas amostras analisadas;
- ✓ No teste de fluorescência a laser a solução de timol a 0,1% se mostrou mais viável na manutenção da integridade do órgão dentário;
- ✓ A análise de microdureza de superfície evidenciou a perda de estrutura dentária em todos os métodos de descontaminação e armazenamento utilizados, sendo que a azida de sódio permitiu uma menor perda de tecido dentário;
- ✓ Dentre os métodos de processamento analisados nenhum foi capaz de aliar a efetividade na descontaminação e no armazenamento com a manutenção da integridade estrutural dos órgãos dentários.



Referências

REFERÊNCIAS

Aguiar K, Nascimento T, Corona S and Dibb R (2000). Colagem Homógena: técnica alternativa para dentes anteriores fraturados. *RGO* 48(3):153-4.

Amaechi BT, Higham SM and Edgar WM (1998). Efficacy of sterilisation methods and their effect on enamel demineralisation. *Caries research* 32(6):441-6.

Araújo R, Araújo M, Silva R, Gonçalves S, Huhtala M and Rodrigues J (1999). Influence of various storage solution on microleakage. *Journal of dental research* 78(5):964.

Astvaldsdottir A, Tranaeus S, Karlsson L and Peter Holbrook W (2010). DIAGNOdent measurements of cultures of selected oral bacteria and demineralized enamel. *Acta Odontol Scand*.

Avery JK. Desenvolvimento e histologia bucal. 3 ed. Porto Alegre/São Paulo: Artmed/Santos 2005.

Brasil. Conselho Nacional de Saúde. Resolução nº 196, de 16 de Outubro de 1996. Diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Diário Oficial da União 1996.

Brasil. Lei nº 10.211 de 23 de Março de 2001. Dispõe sobre a remoção de órgãos, tecidos e partes do corpo humano para fins de transplante e tratamento e dá outras providências. Brasília: Diário Oficial da União 2001.

Brasil. Técnica de Coloração de Gram. In: AIDS PNdDSTe, ed. Brasília: Ministério da Saúde 1997:63.

Brasil SA, Ana PA, Franchim GH and Imparato JCP (2002). Uso de dentes humanos no ensino laboratorial, meios de aquisição e desinfecção pelos alunos de graduação da FOUSP. *Pesq Odont Bras* 16:Supl. 31.

Brasil. Ministério da Saúde ANdVS. Manual de prevenção e controle de riscos em serviços odontológicos. Brasilia: Ministério da Saúde 2006:156.

Busato A, Bertuol A, Ogrodowski R and Pereira D (1985). Colagem de fragmentos dentários: colagem heterógena em dentes fraturados com reforço metálico na face palatina. *RGO* 33(4):326-8.

Camps J, Baudry X, Bordes V, Dejou J, Pignoly C and Ladeque P (1996). Influence of tooth cryopreservation and storage time on microleakage. *Dent Mater* 12(2):121-6.

Camps J, Martin P, Ladeque P, Rieu R and Fuseri J (1994). Influence of tooth cryopreservation on human dentin permeability, in vitro. *Dent Mater* 10(3):210-4.

Cardoso CAB. Análise da maturação em profundidade do esmalte de dentes com diferentes idades eruptivas por meio da microdureza longitudinal [Dissertação]. Bauru: Universidade de São Paulo; 2009.

Carvalho C (2001). Dentes na mira da ética. *RBO* 58(2):108-11.

Caselato C, Wanderley M, Marquezan M, Raggio D and Rodrigues C (2007). Efeito de métodos de descontaminação na resistência de união à dentina de dentes decíduos. *RPG Rev Pós Grad* 13(4):307-11.

Castro AT. Entendendo as pesquisas médicas. 2004.

Cavalcanti AN, Santos-Daroz CB, Voltarelli FR, Lima AF, Peris AR and Marchi GM (2009). Efeito dos períodos de armazenamento na resistência de união de um sistema adesivo autocondicionante à dentina bovina. *Rev Odontol UNESP* 38(4):222-7.

Chosak A and Eidelman E (1964). Rehabilitation of a fractured incisor using the patient´s natural crown - case report. *J Dent Child* 31(1):19-21.

Costa S, Mameluque S, Brandão E, Melo A, Pires C, Rezende E*, et al* (2007). Dentes humanos no ensino odontológico: procedência, utilização, descontaminação e armazenamento pelos acadêmicos da UNIMONTES. *Revista da ABENO* 7(1):6-12.

Council on Dental Materials, Instruments as Equipament, Council on Dental Practice, Council on Dental Therapeutics. (1988) apud DeWald JP (1997). The use of extracted teeth for in vitro bonding studies: a review of infection control considerations. *Dent Mater* 13(2):74-81.

de-Melo MA, Passos VF, Alves JJ, Barros EB, Santiago SL and Rodrigues LK (2010). The effect of diode laser irradiation on dentin as a preventive measure against dental erosion: an in vitro study. *Lasers Med Sci*.

DeWald JP (1997). The use of extracted teeth for in vitro bonding studies: a review of infection control considerations. *Dent Mater* 13(2):74-81.

Dominici JT, Eleazer PD, Clark SJ, Staat RH and Scheetz JP (2001). Disinfection/sterilization of extracted teeth for dental student use. *Journal of dental education* 65(11):1278-80.

Farah R, Drummond B, Swain M and Williams S (2010). Linking the clinical presentation of molar-incisor hypomineralisation to its mineral density. *Int J Paediatr Dent* 20(5):353-60.

Francescut P, Zimmerli B and Lussi A (2006). Influence of different storage methods on laser fluorescence values: a two-year study. *Caries research* 40(3):181-5.

Gabrielli F, Dinelli W, Fontana U and Porto CdA (1981). Apresentação e avaliação clínica de uma técnica de restauração de dentes anteriores, com fragmentos adaptados de dentes extraídos. *RGO* 29(2):83-7.

Gabrielli Filho P, Imparato JCP and Guedes-Pinto AC (1999). Comércio de dentes humanos nas faculdades de Odontologia do Estado de São Paulo (resultados parciais). *Rev Pós-grad FOUSP* 6(3):229.

Goodis HE, Marshall GW, Jr. and White JM (1991). The effects of storage after extraction of the teeth on human dentine permeability in vitro. *Archives of oral biology* 36(8):561-6.

Goodis HE, Marshall GW, Jr., White JM, Gee L, Hornberger B and Marshall SJ (1993). Storage effects on dentin permeability and shear bond strengths. *Dent Mater* 9(2):79-84.

Grazziotin GB, Rios D, Honorio HM, Silva SM and Lima JE (2011). In situ investigation of the remineralizing effect of saliva and fluoride on enamel following prophylaxis using sodium bicarbonate. *Eur J Dent* 5(1):40-6.

Haller B, Hofmann N, Klaiber B and Bloching U (1993). Effect of storage media on microleakage of five dentin bonding agents. *Dent Mater* 9(3):191-7.

Hibst R and Gall R (1998). Development of a diode Laser - Based fluorescence caries detector. *Caries research* 32:294.

Humel M, Oliveira M, Cavalli V and Giannini M (2007). Effect of storage and disinfection methods of extracted bovine on bond strength to dentin. *Braz J Oral Sci* 6(22):1402-6.

Imparato JCP (2000). A utilização de dentes humanos, em pesquisas, treinamento acadêmico e/ou profissional e procedimentos clínicos. *J Bras Clin Estet Odonto* 4(22):9.

Imparato JCP. Banco de dentes humanos. Curitiba: Editora Maio 2003.

ISO/ TS. Dental Materials - testing of adhesion to tooth structure. 2003.

Jablonski-Momeni A, Ricketts DN, Rolfsen S, Stoll R, Heinzel-Gutenbrunner M, Stachniss V*, et al* (2011). Performance of laser fluorescence at tooth surface and histological section. *Lasers Med Sci* 26(2):171-8.

Junqueira LC and Carneiro J. Histologia Básica. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan 1999.

Komabayashi T, Ahn C, Zhang S, Zhu Q and Spangberg LS (2009). Chronologic comparison of root dentin moisture in extracted human teeth stored in formalin, sodium azide, and distilled water. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics* 108(1):e50-4.

Konig K, Flemming G and Hibst R (1998). Laser-induced autofluorescence spectroscopy of dental caries. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 44(8):1293-300.

Kumar M, Sequeira PS, Peter S and Bhat GK (2005). Sterilisation of extracted human teeth for educational use. *Indian journal of medical microbiology* 23(4):256-8.

Lee JJ, Nettey-Marbell A, Cook A, Jr., Pimenta LA, Leonard R and Ritter AV (2007). Using extracted teeth for research: the effect of storage medium and sterilization on dentin bond strengths. *Journal of the American Dental Association (1939)* 138(12):1599-603.

Leite EMD. Dicionário digital de termos médicos. 2007 30/05/2011 [Disponível em: http://www.pdamed.com.br/diciomed/pdamed_0001_02987.php

Li HP, Burrow MF and Tyas MJ (2001). The effect of long-term storage on nanoleakage. *Operative dentistry* 26(6):609-16.

Lippert F, Lynch RJ, Eckert GJ, Kelly SA, Hara AT and Zero DT (2011). In situ Fluoride Response of Caries Lesions with Different Mineral Distributions at Baseline. *Caries research* 45(1):47-55.

Lowe A, Strawn SE, Marshall GW, Marshall S and Watanabe L (1994). Evaluation of dentin after storage in various solutions. *Journal of dental research* 73:223.

Madeira MC. Anatomia do dente. 2 ed. São Paulo: Sarvier 2000.

Manton DJ, Cai F, Yuan Y, Walker GD, Cochrane NJ, Reynolds C*, et al* (2010). Effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate added to acidic beverages on enamel erosion in vitro. *Aust Dent J* 55(3):275-9.

Marsicano JA, Ramos Júnior ES, Assumpção TS, Sales-Peres SHC and Sales-Peres A (2008). Pesquisa em seres humanos: aspectos médicos, jurídicos, psicológicos e religiosos. *RGO* 56(3):327-32.

Mendes FM, de Oliveira E, de Faria DL and Nicolau J (2006). Ability of laser fluorescence device associated with fluorescent dyes in detecting and quantifying early smooth surface caries lesions. *J Biomed Opt* 11(2):024007.

Mobarak EH, El-Badrawy W, Pashley DH and Jamjoom H (2010). Effect of pretest storage conditions of extracted teeth on their dentin bond strengths. *The Journal of Prosthetic Dentistry* 104(2):92-7.

Novais CM, Pires-Alves M and Silva FF (2004). PCR em tempo real: uma inovação tecnológica da Reação em cadeia da polimerase. *Biotecnologia cienc desenvolv* 33:10-3.

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

Pashley DH, Livingston MJ, Reeder OW and Horner J (1978). Effects of the degree of tubule occlusion on the permeability of human dentine in vitro. *Archives of oral biology* 23(12):1127-33.

Pashley EL, Tao L and Pashley DH (1993). Sterilization of human teeth: its effect on permeability and bond strength. *American journal of dentistry* 6(4):189-91.

Paula S, Bittencourt L, Pimentel E, Gabrielli Filho P and Imparato JCP (2001). Comercialização de dentes nas Universidades. *Pesq Bras Odontoped Clin Integr* 1(3):38-41.

Pereira JC (1995). Hiperestesia dentinária. Aspectos clínicos e formas de tratamento. *Maxi-Odonto* 1(2):1-24.

Pimentel E, Bittencourt L, Volschan B and Dias K (2002). Armazenamento de dentes extraídos para estudos in vitro: revisão de literatura. *RBO* 59(4):224-6.

Pulga FG. Estudo clínico comparativo entre o uso de lasers e métodos convencionais de diagnóstico e tratamento em dentes decíduos da presença de lesão cariosa [Dissertação]. São Paulo; 2001.

Raum K, Kempf K, Hein HJ, Schubert J and Maurer P (2007). Preservation of microelastic properties of dentin and tooth enamel in vitro--a scanning acoustic microscopy study. *Dent Mater* 23(10):1221-8.

Rodriguez JM and Bartlett DW (2010). A comparison of two-dimensional and three-dimensional measurements of wear in a laboratory investigation. *Dent Mater* 26(10):e221-5.

Rolland SL, Carrick TE, Walls AW and McCabe JF (2007). Dentin decontamination using chloramine T prior to experiments involving bacteria. *Dent Mater* 23(12):1468-72.

Sales-Peres A, Sales-Peres SHC and Freitas AR (2009). Bancos de dentes humanos: ética e legalidade no uso de órgãos dentários. *Rev Assoc Paul Cir Dent* 63(3).

Sales-Peres SH, Pessan JP and Buzalaf MA (2007). Effect of an iron mouthrinse on enamel and dentine erosion subjected or not to abrasion: an in situ/ex vivo study. *Archives of oral biology* 52(2):128-32.

Schneider M, Macedo R and Abreu R (1997). Coroas biológicas. *Stomatos* (4):22-8.

Schulein TM (1994). Infection control for extracted teeth in the teaching laboratory. *Journal of dental education* 58(6):411-3.

Schwartz O. Criopreservação de dentes antes do reimplante ou transplante. In: Andreasen JO, ed. *Atlas de reimplante e transplante de dentes*. São Paulo: Panamericana 1994:241-56.

Shaffer SE, Barkmeier WW and Gwinnett AJ (1985). Effect of disinfection/sterilization on in-vitro enamel bonding. *Journal of dental education* 49(9):658-9.

Silva MF, Mandarino F, Sassi JF, Menezes M, Centola ALB and Nonaka T (2006). Influência do tipo de armazenamento e do método de desinfecção de dentes extraídos sobre a adesão à estrutura dental. *Revista de Odontologia da Universidade Cidade São Paulo* 18(2):175-80.

Souza DC, Hashizume LN, Eidelwein M and Maltz M (2010). Effect of different frequencies of fluoride dentifrice and mouthrinse administration: an in situ study. *Braz Oral Res* 24(4):388-93.

Srinivasan N, Kavitha M and Loganathan SC (2010). Comparison of the remineralization potential of CPP-ACP and CPP-ACP with 900ppm fluoride on eroded human enamel: An in situ study. *Archives of oral biology*.

Strawn SE, White JM, Marshall GW, Gee L, Goodis HE and Marshall SJ (1996). Spectroscopic changes in human dentine exposed to various storage solutions--short term. *Journal of dentistry* 24(6):417-23.

Tannure PN, Valinoti AC and Maia LC (2009). The use of a natural tooth crown following traumatic injuries in primary dentition. *J Clin Pediatr Dent* 33(4):275-8.

Tate WH and White RR (1991). Disinfection of human teeth for educational purposes. *Journal of dental education* 55(9):583-5.

Thomas HF (1985). The dentin-predentin complex and its permeability: anatomical overview. *Journal of dental research* 64 Spec No:607-12.

Thylstrup, A. and Fejerskov, O. Textbook of clinical cariology. 2º Ed. Copenhagen, Munksgaard, 1994.

Titley KC, Chernecky R, Rossouw PE and Kulkarni GV (1998). The effect of various storage methods and media on shear-bond strengths of dental composite resin to bovine dentine. *Archives of oral biology* 43(4):305-11.

Toledano M, Osorio R, Osorio E, Aguilera FS, Yamauti M, Pashley DH*, et al* (2007). Durability of resin-dentin bonds: effects of direct/indirect exposure and storage media. *Dent Mater* 23(7):885-92.

White JM, Goodis HE, Marshall SJ and Marshall GW (1994). Sterilization of teeth by gamma radiation. *Journal of dental research* 73(9):1560-7.

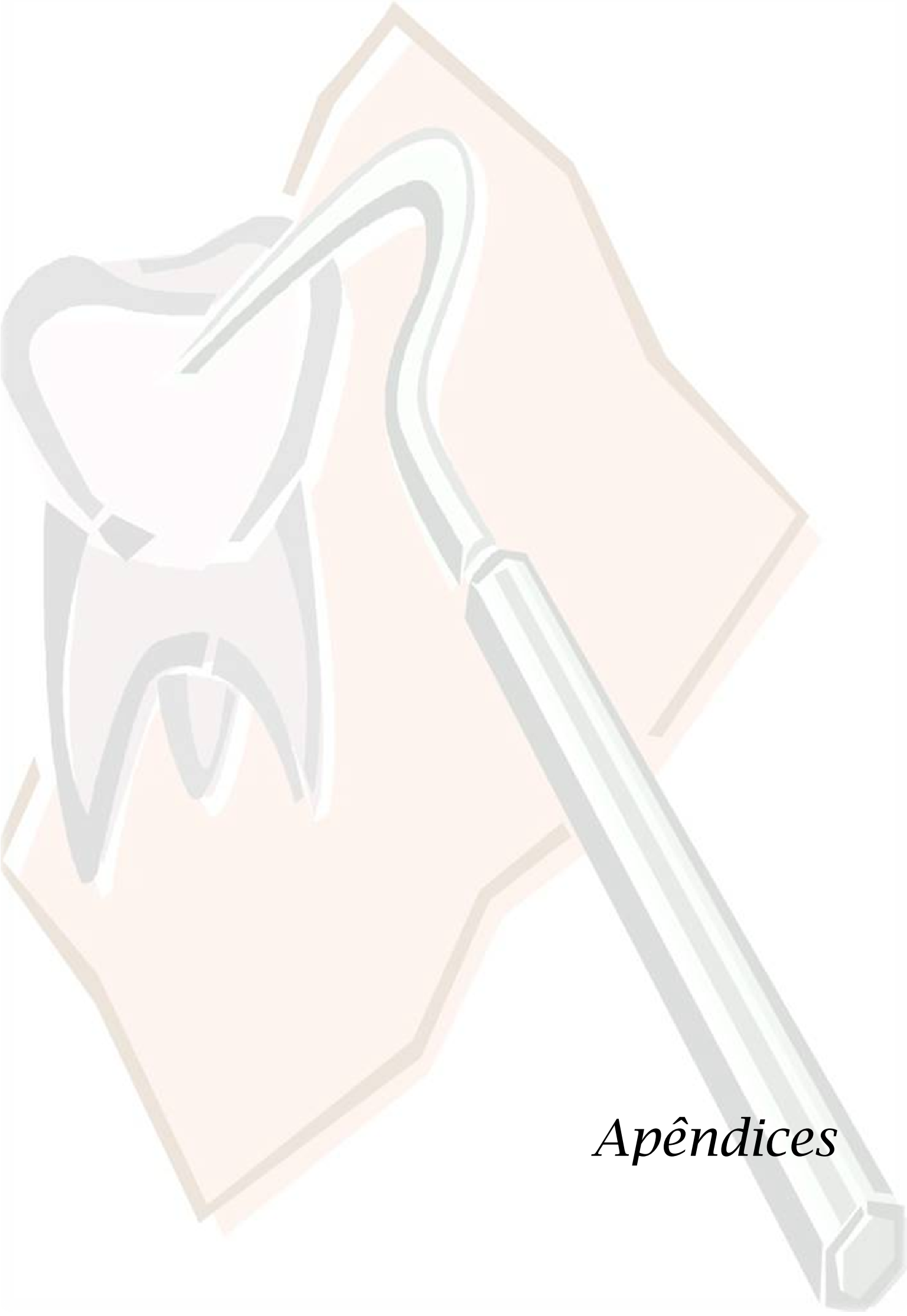
Zapata RO, Bramante CM, de Moraes IG, Bernardineli N, Gasparoto TH, Graeff MS*, et al* (2008). Confocal laser scanning microscopy is appropriate to detect viability of Enterococcus faecalis in infected dentin. *J Endod* 34(10):1198-201.

Zaura-Arite E and ten Cate JM (2000). Effects of fluoride- and chlorhexidine-containing varnishes on plaque composition and on demineralization of dentinal grooves in situ. *Eur J Oral Sci* 108(2):154-61.

Zero DT (1995). In situ caries models. *Adv Dent Res* 9(3):214-30; discussion 31-4.

Ziskind D, Gleitman J, Rotstein I and Friedman M (2003). Evaluation of cetylpydinium chloride for infection control in storage solution. *Journal of Oral Rehabilitation* 30:477-81.

Zucco D, Kobe R, Fabre C, Madeira L and Baratto Filho F (2006). Avaliação do nível de conhecimento dos acadêmicos do curso de Odontologia da UNIVILLE sobre a utilização de dentes extraídos na graduação e banco de dentes. *RSBO* 3(1):54-8.



Apêndices

APÊNDICE A – Teste de Tukey, comparação entre grupos em T = 0, no teste de fluorescência a laser.

	Controle	Timol	Azida	Autoclave
Controle		0,997	0,962	0,997
Timol			0,905	0,980
Azida				0,991
Autoclave				

APÊNDICE B – Teste de Tukey, comparação entre grupos em T = 15, no teste de fluorescência a laser.

	Controle	Timol	Azida	Autoclave
Controle		0,440	0,998	**0,041**
Timol			0,347	**0,000**
Azida				0,060
Autoclave				

APÊNDICE C – Teste de Tukey, comparação entre grupos em T = 30, no teste de fluorescência a laser.

	Controle	Timol	Azida	Autoclave
Controle		**0,020**	0,223	0,878
Timol			0,681	**0,002**
Azida				**0,049**
Autoclave				

APÊNDICE D – Teste de Tukey, comparação entre tempos (0, 15 e 30 dias) no grupo controle, no teste de fluorescência a laser.

	T = 0	T = 15	T = 30
T = 0		0,099	**0,002**
T = 15			0,199
T= 30			

APÊNDICE E – Teste de Tukey, comparação entre tempos (0, 15 e 30 dias) no grupo timol, no teste de fluorescência a laser.

	T = 0	T = 15	T = 30
T = 0		0,757	0,281
T = 15			0,672
T= 30			

APÊNDICE F – Teste de Tukey, comparação entre tempos (0, 15 e 30 dias) no grupo azida, no teste de fluorescência a laser.

	T = 0	T = 15	T = 30
T = 0		0,321	0,518
T = 15			**0,045**
T= 30			

APÊNDICE G – Teste de Tukey, comparação entre tempos (0, 15 e 30 dias) no grupo autoclave, no teste de fluorescência a laser.

	T = 0	T = 15	T = 30
T = 0		**0,000**	**0,001**
T = 15			**0,043**
T= 30			

APÊNDICE H – Teste de Tukey, comparação entre grupos em t = 0, na análise de microdureza.

	Controle	Timol	Azida	Autoclave
Controle		0,884	0,634	0,628
Timol			0,958	0,956
Azida				0,999
Autoclave				

APÊNDICE I – Teste Tukey, comparação entre grupos em t = 15, na análise de microdureza.

	Controle	Timol	Azida	Autoclave
Controle		**0,010**	**0,003**	0,057
Timol			0,818	0,605
Azida				0,219
Autoclave				

APÊNDICE J – Teste de Tukey, comparação entre grupos em t = 30, na análise de microdureza.

	Controle	Timol	Azida	Autoclave
Controle		0,078	**0,000**	0,149
Timol			**0,017**	0,966
Azida				**0,009**
Autoclave				

APÊNDICE L – Teste de Tukey, comparação entre tempos, grupo controle, na análise de microdureza.

	T = 0	T = 15	T = 30
T = 0		**0,000**	**0,000**
T = 15			0,200
T= 30			

APÊNDICE M – Teste de Tukey, comparação entre tempos, grupo timol, na análise de microdureza.

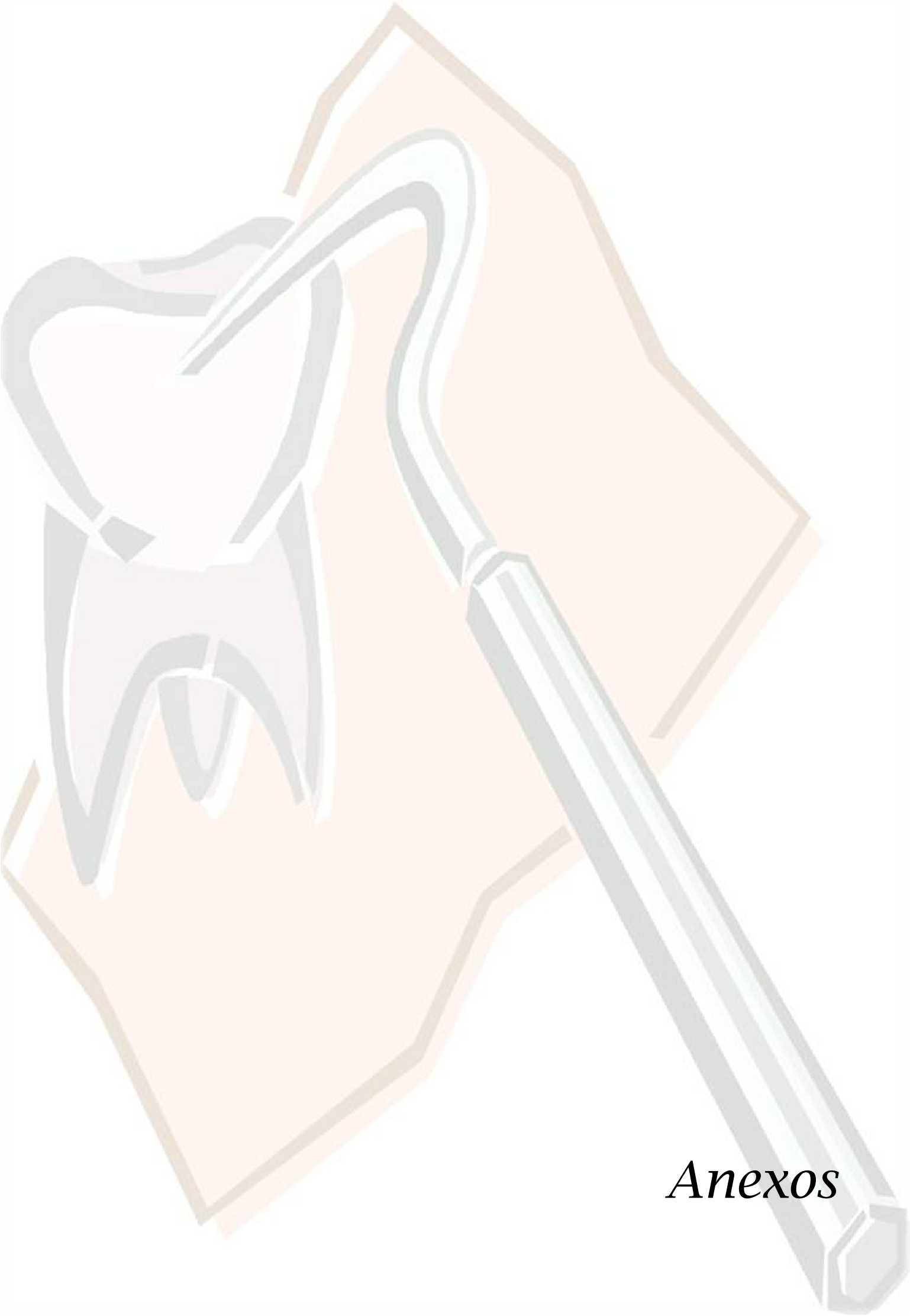
	T = 0	T = 15	T = 30
T = 0		**0,001**	**0,000**
T = 15			0,166
T= 30			

APÊNDICE N – Teste de Tukey, comparação entre tempos, grupo azida, na análise de microdureza.

	T = 0	T = 15	T = 30
T = 0		**0,000**	**0,000**
T = 15			**0,003**
T= 30			

APÊNDICE O – Teste de Tukey, comparação entre tempos, grupo autoclave, na análise de microdureza.

	T = 0	T = 15	T = 30
T = 0		**0,000**	**0,000**
T = 15			0,304
T= 30			



Anexos

ANEXO A – Aprovação do Projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisas

Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru
Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 – Bauru-SP – CEP 17012-901 – C.P. 73
PABX (0XX14)3235-8000 – FAX (0XX14)3223-4679

Comitê de Ética em Pesquisa (14)3235-8356
mferrari@fob.usp.br

Processo nº 118/2008

Bauru, 05 de dezembro de 2008.

Senhora Professora,

Informamos que após o envio da documentação solicitada referente ao projeto de pesquisa encaminhado a este Comitê de Ética em Pesquisa ***"Análise da captação, processamento e usos de órgãos dentários em uma Instituição de Ensino Superior Pública"*** de autoria de Adriana Rodrigues de Freitas, sob sua orientação, foi novamente analisado e considerado **APROVADO** por este Colegiado, em reunião realizada no dia 26 de novembro de 2008.

Solicitamos que ao término do trabalho, seja enviado a este Comitê um relatório final para novo parecer, o qual será utilizado para publicação científica.

Atenciosamente,

Profª Drª Maria Teresa Atta
Coordenadora

Profª Drª Sílvia Helena de Carvalho Sales Peres
Docente do Departamento de Odontopediatria, Ortodontia e Saúde Coletiva

ANEXO B – Aprovação do Relatório Final pelo Comitê de Ética em Pesquisas

Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru
Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 – Bauru-SP – Brasil – CEP 17012-901 – C.P. 73
PABX (0XX14)3235-8000 – FAX (0XX14)3223-4679

Comitê de Ética em Pesquisa (14)3235-8356
e-mail: mferrari@fob.usp.br

Proc. CEP nº 118/2008

Bauru, 3 de março de 2011.

Senhora Professora,

Em atenção à solicitação de Vossa Senhoria para alteração do título do projeto de pesquisa "Análise da captação, processamento e usos de órgãos dentários em uma Instituição de Ensino Superior Pública", de autoria de Adriana Rodrigues de Freitas, sob sua orientação, ***para*** *ANÁLISE DA MANUTENÇÃO DE INTEGRIDADE ESTRUTURAL DE ÓRGÃOS DENTÁRIOS E A INFLUÊNCIA DE DIFERENTES MÉTODOS DE DESCONTAMINAÇÃO E ARMAZENAMENTO*, informamos a autorização deste Colegiado, considerando não haver impedimentos éticos.

Informamos também que o Relatório Final referente ao trabalho de pesquisa foi analisado por um Relator deste Comitê de Ética em Pesquisa, em reunião realizada no dia 23 de fevereiro de 2011, e considerado APROVADO.

Atenciosamente,

Prof. Dr. Flávio Augusto Cardoso de Faria
Coordenador

Profª Drª Sílvia Helena de Carvalho Sales Peres
Docente do Departamento de Odontopediatria, Ortodontia e Saúde Coletiva